



**Universidad de Sevilla**

Escuela Técnica Superior de  
Ingeniería Agronómica



**Consejo Superior de  
Investigaciones Científicas**

Instituto de la Grasa.

**TRABAJO FIN DE GRADO**

# **Análisis de la calidad del aceite de oliva virgen: relación entre la estabilidad oxidativa y la composición fenólica**

Titulación: Grado en Ingeniería Agrícola, especialidad Explotaciones Agropecuarias

**Autora:**

LUCIA PASTRANA MONCAYO

Sevilla, septiembre 2016



**Universidad de Sevilla**

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica

Grado en Ingeniería Agrícola especialidad Explotaciones Agropecuarias

**Consejo Superior de Investigaciones Científicas**

Instituto de la Grasa. Departamento de Fisiología y Tecnología de Productos Vegetales

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**Análisis de la calidad del aceite de oliva virgen:  
relación entre la estabilidad oxidativa y  
la composición fenólica**

**Autora:** LUCIA PASTRANA MONCAYO

**Tutores:**

DR. JOSÉ MARÍA  
GARCÍA MARTOS

Instituto de la Grasa (CSIC)

DRA. MARÍA DEL CARMEN FLORIDO  
FERNÁNDEZ

Dpto. Cristalografía, Mineralogía  
y Química Agrícola  
ETSIA, Universidad de Sevilla

Sevilla, septiembre 2016

# AGRADECIMIENTOS

Con el presente trabajo fin de grado finalizan mis estudios como ingeniera agrícola. Quería agradecer a varias personas la ayuda que me han prestado en la realización de este trabajo fin de grado. En ellas, y, en primer lugar, a mis tutores, por todo lo que me han enseñado y lo que me han transmitido durante la realización del TFG.

Al Dr. José María García Martos, tutor del trabajo, por haber confiado en mí en todo momento para la realización de este proyecto y, además, por su inestimable ayuda y enseñanzas, sin las cuales hubiera sido muy difícil la realización de este trabajo. Ante todas las dificultades que se han presentado, siempre ha estado dispuesto a dedicarme su tiempo y su conocimiento.

A mi tutora del trabajo, la Dra. María del Carmen Florido Fernández quiero agradecerle el apoyo y dedicación que me ha dado durante los últimos meses y por confiar en mí y buscarme el trabajo fin de grado que realmente me gustaba. No sólo me ha guiado en la elaboración de este trabajo de fin de grado, también me ha enseñado todo lo necesario para realizar una buena estadística. Gracias por tu dedicación y siempre predisposición a cualquier hora del día. Se lo agradezco de corazón.

También quiero agradecer la ayuda de M<sup>a</sup> Carmen Martínez Peláez, siempre dispuesta a ayudarme, aconsejarme y a enseñarme todo su conocimiento sobre la metodóloga analítica del aceite de oliva en laboratorio. Siempre dispuesta a todo y con una gran simpatía. He aprendido mucho de ti.

A mi familia, mi padre, madre, hermana, abuelos..., que han sido un apoyo constante. Que me han proporcionado la mejor educación y lecciones de vida. Y me han enseñado que con trabajo, esfuerzo y constancia todo se consigue. Gracias por todo lo me habéis dado.

A Jaime la persona que más fuerza me da, más me aconseja, la que me ha ayudado en cada momento en todo este año de universidad y siempre ha sabido resolver todas mis dudas y ha estado a mi lado dándome todo el apoyo para seguir adelante. Gracias por alegrarme la vida y hacerme tan feliz.

Y finalmente, y no menos importante a todos mis amigos, por estar ahí cuando os he necesitado y por entender mis ausencias cuando estaba estudiando. Y como no mencionar a mi Guadalupe, que sin ella mis años de universidad y erasmus no hubiesen sido lo mismo.

En general gracias a TODOS.

## RESUMEN

El aceite de oliva virgen es un zumo oleoso extraído del fruto por medios exclusivamente físicos. Sus excelentes características sensoriales, indiscutiblemente superiores a cualquier otro aceite y su reconocido valor nutricional lo hacen cada vez más requerido por los mercados internacionales. Sin embargo, el elevado coste de su cosecha y procesamiento lo encarece respecto a los que se cosechan con maquinaria y se extraen con disolventes químicos, no pudiendo competir con ellos en el precio de venta. De aquí que sea evidente, que el factor de mercado prioritario para este producto sea ofrecer el mayor grado de calidad posible. En este trabajo se plantea analizar los parámetros de calidad que presentan distintos aceites de oliva vírgenes, extraídos en el laboratorio, para intentar correlacionar las variables más referentes de calidad como la baja acidez, baja oxidación, alta estabilidad o presencia de atributos sensoriales positivos, con el contenido en componentes mayoritarios (composición de ácidos grasos) y minoritarios (antioxidantes naturales, pigmentos fotosintéticos y esteroides), a fin de establecer el grado de dependencia de los primeros con respecto a los segundos. Se hará especial hincapié en la identificación de los compuestos fenólicos que intervengan en mayor medida como antioxidantes naturales, protegiendo a los aceites de su enranciamiento. Se ha evaluado un total de 129 muestras de aceite de diferente procedencia y variedad con el fin de elaborar una ecuación que nos permita identificar con rapidez la calidad de los aceites de olivas estudiados en laboratorio.



# Índice

<b>1. Introducción</b>	11
1.1. El cultivo del olivo	12
1.1.1. Taxonomía y morfología	12
1.1.2. Origen del cultivo	18
1.1.3. Variedades	19
1.1.4. Importancia actual	21
1.2. El aceite de oliva	26
1.2.1. El aceite de oliva y su importancia	26
1.2.2. Composición del aceite de oliva	27
1.2.3. Calidad y tipos de aceites de oliva	28
1.2.4. Parámetros químicos que definen su calidad	32
1.2.5. Producción mundial y española de aceite de oliva	35
1.3. Objetivos del trabajo	38
<b>2. Materiales y métodos</b>	39
2.1. Datos de las muestras	40
2.2. Métodos analíticos	40
2.2.1. Grado de Acidez	40
2.2.2. Índice de peróxidos (IP)	41
2.2.3. Prueba espectrofotométrica en el ultravioleta (K232, K270)	42
2.2.4. Pigmentos: Carotenos y clorofilas	43
2.2.5. Estabilidad oxidativa “Rancimat”	44
2.2.6. Tocoferoles	44
2.2.7. Polifenoles Totales	45
2.2.8. Ácidos grasos	46
2.3. Análisis estadístico	47
<b>3. Resultados y discusión</b>	49
3.1. Estadística descriptiva de cada variable	50
3.2. Análisis de componentes principales	56
3.3. Regresión lineal múltiple	62

<b>4. Conclusiones</b> .....	67
<b>5. Bibliografía</b> .....	69



## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Hojas de olivo .....	14
<b>Figura 2.</b> Detalles del olivo .....	16
<b>Figura 3.</b> Principales países productores de aceite de oliva. Campaña 2014/2015 (COI, 2015). .....	21
<b>Figura 4.</b> Principales países productores de aceituna de mesa. Campaña 2014/2015 (COI, 2015). .....	22
<b>Figura 5.</b> Producción mundial de aceitunas de mesa .....	24
<b>Figura 6.</b> Producción nacional de aceitunas de mesa.....	24
<b>Figura 7:</b> Superficie (ha) del cultivo del olivo en Andalucía. (Junta de Andalucía Estadística, 2014) .....	25
<b>Figura 8.</b> Obtención de los diferentes tipos de aceites de oliva.....	30
<b>Figura 9.</b> Evolución de la producción de aceite de oliva en España (Miles de toneladas) .....	37
<b>Figura 10:</b> Grafico de cajas y bigotes de la estabilidad oxidativa total del conjunto de muestras .....	53
<b>Figura 11:</b> Grafico de cajas y bigotes de la estabilidad oxidativa por fincas .....	53
<b>Figura 12:</b> Grafico de cajas y bigotes para la acidez total .....	54
<b>Figura 13:</b> Grafico de cajas y bigotes de la acidez para cada una de las fincas .....	54
<b>Figura 14:</b> Grafico de relación del ácido oleico y ácido linoleico.....	55
<b>Figura 15:</b> Grafico de relación del ácido oleico y la estabilidad oxidativa .....	55
<b>Figura 16:</b> Grafico que enfrenta la relación entre la razón oleico/linoleico y la estabilidad oxidativa.....	56
<b>Figura 17:</b> Representación conjunta de los componentes 1 y 2 del ACP para las variables .....	60
<b>Figura 18:</b> Representación conjunta de los componentes 1 y 3 del ACP para las variables .....	60
<b>Figura 19:</b> Representación conjunta de los componentes 1 y 2 de ACP para las muestras de aceite de oliva .....	61
<b>Figura 20:</b> Representación conjunta de los componentes 1 y 3 de ACP para las muestras de aceite de oliva.....	61
<b>Figura 21:</b> Estabilidad oxidativa calculada frente a estabilidad oxidativa según el modelo de regresión lineal múltiple de la ecuación (1). .....	64

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Destino, importancia y difusión de las principales variedades de olivo cultivada en España .....	20
<b>Tabla 2.</b> Distribución del olivar en España .....	23
<b>Tabla 3:</b> Distribución de la superficie de secano y regadío en olivar (ha). (MAGRAMA, 2014) .....	23
<b>Tabla 4.</b> Características exigidas de acuerdo al reglamento de la Comisión de las Comunidades Europeas para la clasificación del aceite de oliva. ....	29
<b>Tabla 5.</b> Producción de aceite de oliva en el mundo (Miles de toneladas) .....	36
<b>Tabla 6:</b> Abreviaturas de las variables y unidades de medida .....	48
<b>Tabla 7:</b> Estadísticos descriptivos de los parámetros de calidad de aceite de oliva .....	50
<b>Tabla 8:</b> Estadísticos descriptivos de los tocoferoles.....	50
<b>Tabla 9:</b> Estadísticos descriptivos de los fenoles.....	51
<b>Tabla 10:</b> Estadísticos descriptivos de los ésteres metílicos.....	51
<b>Tabla 11:</b> Varianza total explicada .....	57
<b>Tabla 12:</b> matriz de componentes rotados del ACP para las muestras de aceite de oliva <sup>a</sup> .....	58



# 1. Introducción

## 1.1 EL CULTIVO DEL OLIVO

### 1.1.1 Taxonomía y morfología

El olivo, *Olea europaea* L., pertenece a la familia botánica *Oleaceae*, que comprende especies de plantas distribuidas por las regiones tropicales y templadas del mundo. Las plantas de esta familia son mayormente árboles y arbustos, a veces trepadores. Muchas de ellas producen aceites esenciales en sus flores o frutos, algunos de los cuales son utilizados por el hombre. De unos 29 géneros de esta familia, los que tienen interés económico u hortícola son *Fraxinus* (fresno), *Jasminum* (jazmín), *Ligustrum* (aligustre), *Phillyrea* (agracejo), *Syringa* (lilo) y *Olea* (Heywood, 1978). Hay unas 35 especies en el género *Olea*. Incluida en la especie *Olea europaea* L. están todos los olivos cultivados y también los acebuches u olivos silvestres (Besnard *et al*, 2009). Hay diferencias de opinión sobre cómo subclasificar dentro de la especie, pero generalmente se considera que los olivos cultivados pertenecen a la subespecie sativa y los olivos silvestres (acebuches) a la subespecie *sylvestris*. La selección varietal debió hacerse de entre aquellos individuos silvestres (acebuches) que destacaban por su productividad, por el tamaño de sus frutos, por su contenido en aceite y por su adaptación al medio. (Barranco *et al*, 2008).

- **Estructuras vegetativas**

#### 1. Árbol

El olivo, *Olea europaea* L. subsp. *europaea* es la única especie de la familia de las oleáceas cuyo fruto, la aceituna u oliva, es comestible. El olivo, es un árbol típicamente mediterráneo adaptado a inviernos templados y veranos secos y calurosos. Es un árbol poco elevado, los ejemplares cultivados más altos no superan a los 10 m, es perennifolio y longevo, puede superar los 500 años de edad. Su tronco es grueso, de diámetro irregular, y la corteza pardo-grisácea se agrieta y acanala característicamente con la edad, debido a un peculiar sistema vascular que conecta cada rama con un haz específico de raíces.

En su crecimiento pueden distinguirse una fase juvenil y otra adulta diferenciadas por la capacidad reproductora, solamente en la segunda, en el potencial para el enraizamiento, mayor en la fase juvenil, y en diferencias morfológicas en hojas y ramos. La transición del

estado juvenil al adulto no es solamente temporal, a partir de los 5-8 años en árboles que se han originado de semillas, sino también espacial, siendo las zonas más cercanas al suelo las más juveniles. (Barranco *et al*, 2008).

## **2. Raíces**

La morfología del sistema radical del olivo depende del sistema de multiplicación utilizado y de las condiciones del suelo. Actualmente, la mayoría de las plantas de olivo comercializadas provienen de estaquillas que dan lugar a la formación de múltiples raíces adventicias que se comportan, en su mayoría, como raíces principales. La profundidad, la extensión lateral y el grado de ramificación de éstas dependerán del tipo y estructura del suelo, así como de la aireación y contenido de agua del mismo. (Fernández *et al*, 1991). Suelos aireados hacen que las raíces crezcan más perpendiculares al suelo, llegando a alcanzar más de 7 metros de profundidad. Conforme va disminuyendo la aireación del suelo, va aumentando el ángulo entre las raíces y el tronco, formándose una red muy amplia de raíces superficiales. Esto es lo más común en los cultivos, donde la mayoría de las raíces se encuentran a 1 metro o menos de profundidad.

## **3. Ramas**

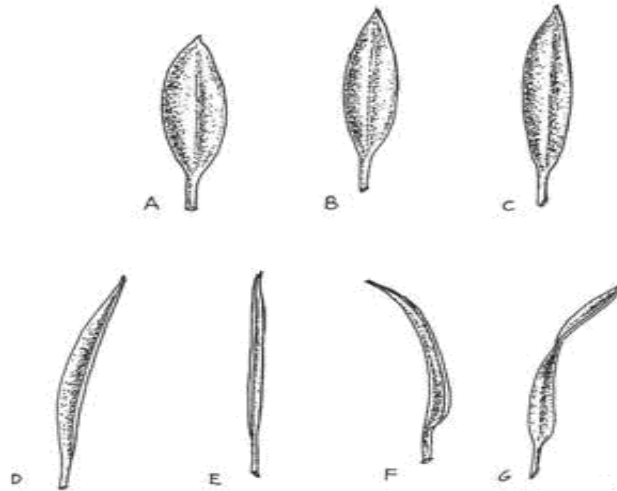
Las ramas del olivo son fuertes, de corteza lisa, delgada y grisácea, espinosa en la variedad silvestre, y poseen el potencial de desarrollar sus propias raíces, especialmente las ramas tomadas de las regiones inferiores del tronco. Tanto la forma en que se distribuyen las ramas del árbol (lloronas, erguidas o abiertas) como su capacidad para crecer en grosor y longitud, son características específicas de cada variedad diferente de los olivos.

## **4. Hojas**

Las hojas del olivo son simples, de forma lanceolada y con bordes enteros (Fig. 1), que se disponen de dos en dos en cada nudo de forma opuesta. Normalmente, sobreviven dos o tres años, aunque también permanecen en el árbol hojas de mayor edad. El limbo tiene una longitud entre 3 y 9 cm y una anchura entre 1-1,8 cm. La estructura anatómica de la hoja sirve para su adaptación a ambientes de alta transpiración, es decir, para protegerla de la pérdida del agua. Por el haz, la superficie superior, las hojas son de color verde-oscuro

y brillan debido a la presencia de una gruesa cutícula. El envés, la superficie inferior, tiene un color blanco-plateado porque está cubierto por pelos aparasolados, encargados de formar una capa protectora sobre la superficie de la hoja. En el envés también se encuentran los estomas que son estructuras encargadas en asegurar el intercambio de gases. (Barranco *et al*, 2008).

**Figura 1.** Hojas de olivo.



A, tipo elíptica; B, elíptico-lanceolada; C, lanceolada-lineal; D, hipopnástica; E, plana; F, epinástica; G, helicoidal. Fuente: Laguna (2012).

- **Estructuras reproductivas**

- 1. Yemas**

Con respecto a la posición, las yemas se distinguen en: apicales, axilares y adventicias. Se llaman apicales o terminales, las que se encuentran en la extremidad de los brotes y originan su elongación; axiales o laterales, las que se encuentran en las axilas de las hojas; y adventicias, las que se forman sobre las hojas y en puntos no determinados. En el olivo predominan las yemas axilares, pero, sin embargo, son frecuentes e importantes las yemas adventicias que se encuentran en varias partes del árbol, de las cuales, se desarrollan ramos que sirven para la reconstrucción de las ramas, e incluso del árbol, cuando el tronco, por la causa que sea, desaparece. En cuanto a la época de vegetación, se pueden considerar: las yemas vegetativas que, formadas durante el periodo estival-otoñal, se desarrollan, solamente, en la primavera siguiente; latentes, las que se conservan sin

germinar durante dos o tres años consecutivos; y prontas, las que, completada la constitución morfológica y biológica, entran en el mismo año en vegetación (Guerrero, 1988; Rapoport, 1998).

## **2. Inflorescencias**

Las inflorescencias se desarrollan en las axilas de las hojas de los nudos del crecimiento vegetativo del año previo a la floración. La forma de las inflorescencias es paniculada, es decir, tienen un eje central del cual salen ramificaciones que a su vez también pueden estar ramificadas (Fot. 1). Están aisladas o forman grupos de tres o cinco. Pudiendo tener entre 10 y 40 flores según el cultivar y las condiciones fisiológicas y ambientales (Barranco *et al.*, 2008). En las inflorescencias se presentan flores de dos tipos: perfectas y estaminíferas. Las flores perfectas son hermafroditas o bisexuales, compuestas de estambres y pistilo bien desarrollados. Las estaminíferas o masculinas, también conocidas como imperfectas, tienen el ovario rudimentario o ausente, y parecen formarse debido a un fallo en el desarrollo del mismo. Como consecuencia de la falta de un ovario funcional, las flores estaminíferas no pueden dar lugar a la formación de un fruto. La proporción de flores estaminíferas, así como el número de flores por inflorescencia, varía según el cultivar y el año. La presencia de estas flores estaminíferas en proporciones que pueden llegar hasta el 50 % o más en años normales, no suele reducir la producción. (Barranco *et al.*, 2008).

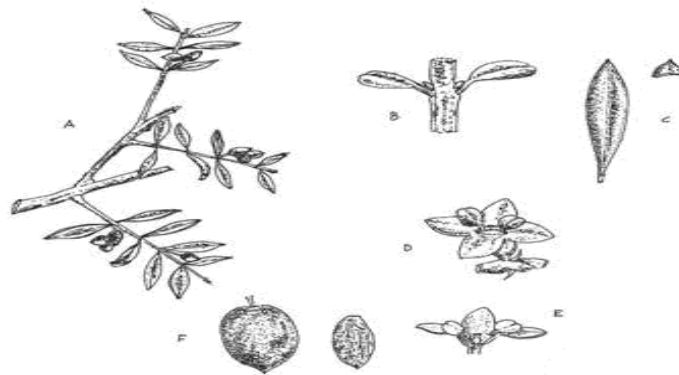
## **3. Flor**

Aparecen en mayo-junio en forma de inflorescencias que nacen en las axilas de las hojas. Son pequeñas y de simetría regular (actinomorfa). El cáliz, constituido por el conjunto de los sépalos, es un pequeño tubo campanulado de color blanco verdoso que se mantiene junto a la base del ovario después de la caída de pétalos. La corola está compuesta por 4 pétalos blancos o blanco-amarillentos unidos a su base. Los estambres son 2 y están insertos en la corola en orientación opuesta. Constan de un filamento corto y una antera relativamente grande. En el centro de la flor, se encuentra el pistilo, compuesto por un ovario súpero, un breve estilo y un estigma bilobulado y papiloso. Como consecuencia de la fecundación, uno de los 4 óvulos (también llamados primordios seminales) será fecundado y seguirá su desarrollo para formar la semilla.

#### 4. Fruto

La aceituna es un fruto pequeño de forma elipsoidal a globosa. Botánicamente la aceituna es una drupa, con una sola semilla, compuesto por tres tejidos principales: endocarpo (hueso) (Fig. 2), mesocarpo (pulpa o carne) y exocarpo (piel o capa exterior). El conjunto de estos tejidos se denomina pericarpo. Normalmente, mide de 1 a 4 cm de longitud y de 0,6 a 2 cm de diámetro. Entre los cultivares de fruto pequeño, se encuentran Arbequina y Koroneiki. Entre los de fruto grande, Gordal Sevillana y Ascolana. En madurez, la aceituna es negra, negro-violácea o rojiza, pero, en muchos casos, se cosecha antes, en estado verde. (Barranco *et al.*, 2008). Tanto las características del fruto como las del endocarpo son de importancia a la hora de distinguir las variedades del olivo. Los caracteres del fruto en que nos fijamos son: el peso (bajo si está por debajo de los 2 g; medio, entre los 2 y los 4 g; elevado entre los 4 y los 6 g); la forma del fruto (esférica, cuando la relación longitud/anchura es  $<1,25$ , ovoidal si está entre 1,25 y 1,45), forma de la base y ápice; la simetría; la posición del diámetro transversal máximo; la presencia o ausencia de pezón y lenticelas (regiones en su superficie destinadas al intercambio de gases); y el tamaño de éstas. Los caracteres distintivos del endocarpo son: su peso (la media está entre los 03 y los 0.45 g); forma general (esférica, si la relación largo/ancho es menor de 1,4, ovoidal si está entre 1,4 y 1,8, elíptica si está entre 1,8 y 2,2, y alargada si es mayor de 2,2), del ápice y la base; la posición del diámetro transversal máximo, la textura de su superficie, sus surcos (el número medio está entre 7 y 10) y la presencia o ausencia de un mucrón en el ápice.

**Figura 2.** Detalles del olivo.



A, hábito de rama con fruto; B, detalle de brote de ramilla; C, hoja y ápice; D, flor con dos estambres insertos; E, corte de sección de la flor con estambres y gineceo; F, fruto y hueso. Fuente: Laguna (2012).



## 5. La semilla y el embrión

Coincidente con la formación del fruto, el óvulo funcional (también llamado primordio seminal) se desarrolla para formar la semilla. El embrión ocupa casi todo el volumen de la semilla. La cubierta seminal, derivada del tegumento, representa el tejido principal del óvulo, es fina y dura y atravesada por numerosos haces vasculares. El embrión es recto y espatulado, mostrando una estructura típica de 2 cotiledones, radícula y plúmula. La radícula, que es corta, está situada hacia el extremo inferior del eje embrionario y corresponde al sistema radical (Guerrero, 1988; Rapoport, 1998). Los cotiledones u hojas embrionarias son grandes. Entre los cotiledones hay una plúmula pequeña, el órgano de donde se desarrolla el tallo. A partir de la fecundación, y como consecuencia directa de ello, se observa el desarrollo del endospermo y el aumento en tamaño del óvulo. El gran crecimiento del tegumento, el tejido del óvulo que rodea al saco embrionario, conduce a la formación de un cuello en la zona micropilar donde se encuentra el cigoto. Entre tres y cuatro semanas después de floración, el embrión empieza su desarrollo y se aprecia la presencia del proembrión en la base de este cuello, la posterior división celular obliga a la célula apical a desarrollarse rápidamente (Barranco *et al.*, 2008). De la célula apical del proembrión se forma el embrión, propiamente dicho, que es alimentado por el endospermo. Una vez que empiezan las divisiones celulares, el desarrollo del embrión prosigue muy rápidamente, llegando al estado globular a las seis semanas y aparece con los cotiledones desarrollados a las ocho semanas. A los cinco meses el embrión está completamente formado y es capaz de germinar; a partir de este momento, la semilla no experimenta cambios estructurales. Sin embargo, en los últimos meses de maduración del fruto ocurren cambios fisiológicos en la semilla que inducen su latencia (Barranco *et al.*, 2008). En el transcurso de su crecimiento, la mayor parte de endospermo es consumido y el embrión llena casi el interior de la semilla. La semilla, por su parte, llena la cavidad interior del endocarpo que procede del lóculo (Barranco *et al.*, 2008).

### 1.1.2. Origen del cultivo

El olivo es una de las plantas cultivadas más antiguas junto con la vid, la higuera y la palmera datilera, (Rallo, 1995). Los restos de endocarpio encontrados por Zohary y Spiegel-Roy en 1975 en los yacimientos arqueológicos de Teleilat Ghassul (Valle del Jordán) remontan su origen a los 4000-3000 años a.C. en la región geográfica que va desde el sur del Cáucaso hasta las altiplanicies de Irán, Palestina y la zona costera de Siria. Más tarde se extendió por Chipre hacia Anatolia y a través de Creta, hacia Egipto, hasta poblar todos los países ribereños del mediterráneo, constituyéndose como la especie autóctona más característica de la Cuenca Mediterránea y uno de los pilares básicos de su agricultura y alimentación. La historia del olivo es, por tanto, la historia del Mediterráneo. Con el descubrimiento de América pasó y se extendió por el nuevo mundo (California y Sudamérica) y en la actualidad se cultiva también en Sudáfrica, China, Japón y Australia (Nico et al., 2002; Rallo, 2005).

A través de los tiempos, el olivo siempre ha estado vinculado con lo divino y lo sobrenatural, aunque en permanente contacto con el ser humano, para beneficiarle en todos los sentidos. Las referencias documentales y arqueológicas primigenias más fiables acerca de la aparición y uso del aceite de oliva provienen de la época correspondiente al Antiguo Egipto. Aquí, el árbol ya era empleado como un símbolo en los sarcófagos y el aceite de oliva en los sacramentos, con tal importancia que, según su mitología, es la misma diosa Isis quien enseña a los hombres el cultivo del olivo. Para la civilización griega, éste había sido un regalo de la diosa Palas a la ciudad de Atenas y estuvo relacionado con la vida, la paz, la victoria y la fertilidad, siendo junto a la higuera los árboles del Paraíso Terrenal. En España, el cultivo del olivo, como tal, se inició con la civilización fenicia (Rallo, 2005) fruto de las intensas relaciones económicas entre fenicios y griegos, pero no fue hasta la ocupación romana de Hispania, cuando la extensión olivarera empezó a cobrar cierta importancia, especialmente en la Bética. Sin embargo, a pesar del enorme desarrollo del cultivo en todo el Imperio Romano, reflejado en los restos arqueológicos hallados y en los tratados de Catón, Columela, Plinio y Paladio, estos agrónomos clásicos no le dedicaron mucha atención (Calero, 2006), ya que el olivar, a pesar de su importancia cuantitativa y comercial, era considerado como un cultivo casi de relleno complementario a los otros dos de la triada mediterránea (trigo y vid). Posteriormente, los árabes perfeccionaron las técnicas de obtención de aceite y consideraron a éste como un producto imprescindible para la vida social y económica de

los habitantes de la península, conceptos que aún se mantienen vigentes.

### 1.1.3. Variedades

El material vegetal del olivo cultivado en España está compuesto por 272 variedades, existiendo referencias de que las variedades más importantes de la actualidad ya lo eran en el siglo XV (Rallo, 2005). Otra característica del olivo es la localización de las variedades. Normalmente presentan una zona de mayor concentración, pero su influencia decae rápidamente, desapareciendo su cultivo en comarcas relativamente próximas. Está limitada difusión de las variedades fuera de sus iniciales zonas de origen se debe al desconocimiento persistente, del comportamiento de las mismas en otras zonas de cultivo y a las grandes necesidades de material vegetal que requerían los sistemas tradicionales de propagación que han restringido la elección de cultivares a los ya conocidos y disponibles en cada comarca. (Barranco *et al.*, 2008).

En función de su importancia y difusión, las variedades de olivo cultivadas en España se han clasificado en cuatro categorías: principales, secundarias, difundidas y locales.

Variedades *principales* son aquellas que presenta una importante superficie cultivada y son dominantes en una comarca. Las variedades *secundarias* no llegan a dominar en ninguna comarca, pero son base de plantaciones regulares. Las variedades *difundidas* y *locales* se encuentran como arboles aislados en varias o en una sola comarca, respectivamente.

De las variedades cultivadas en España, veinticuatro alcanza la categoría de variedad principal. La tabla 1 recoge el destino, la superficie cultivada y las provincias donde se cultivan las mismas.

**Tabla 1.** Destino, importancia y difusión de las principales variedades de olivo cultivada en España

Variedad	Destino	Superficie (x 1000 ha)	Difusión
`Picual´	A	860	Jaén, Córdoba, Granada
`Cornicabra´	A	269	Ciudad Real, Toledo
`Hojiblanca	A-M	217	Córdoba, Málaga, Sevilla
`Lechin de Sevilla	A	105	Sevilla, Cádiz
`Manzanilla de Sevilla´	M	85	Sevilla, Badajoz
`Morisca´	A	74	Badajoz
`Empeltre´	A	72	Zaragoza, Teruel, Baleares
`Arbequina´	A	71	Lérida, Tarragona
`Manzanilla Cacereña´	A-M	64	Cáceres, Salamanca
`Picudo´	A	60	Córdoba, Granada
`Farga´	A	45	Castellón, Tarragona
`Lechin de Granada´	A	36	Granada, Almería, Murcia
`Verdial de Huelva´	A	34	Huelva, Sevilla
`Gordal sevillana´	M	30	Sevilla
`Verdial de Badajoz´	A	29	Badajoz, Cáceres
`Morrut´	A	28	Tarragona, Castellón
`Sevillenca´	A	25	Tarragona, Castellón
`Villalonga´	A	24	valencia
`Castellana´	A	22	Guadalajara, cuenca
`Verdial de Vélez-málaga´	A	20	Málaga
`Aloreña´	M	17	Málaga
	-	2280	-

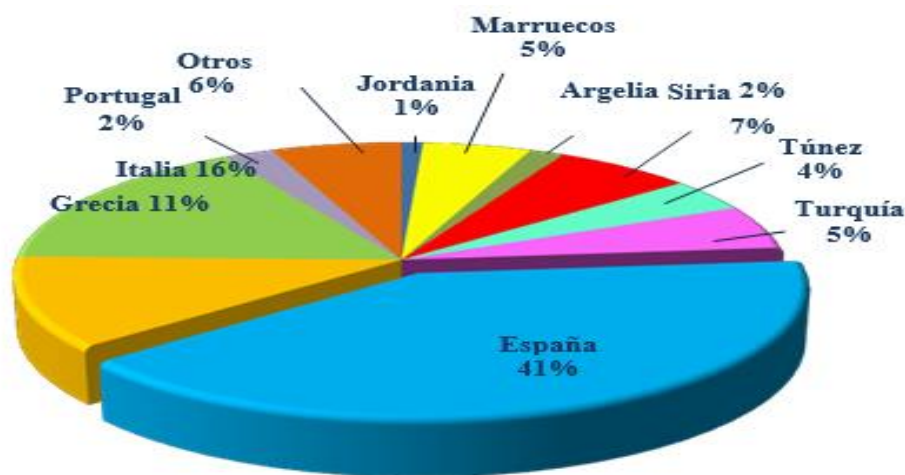
Clave: A: aceite; M: mesa

fuente: Barranco et al, 2008

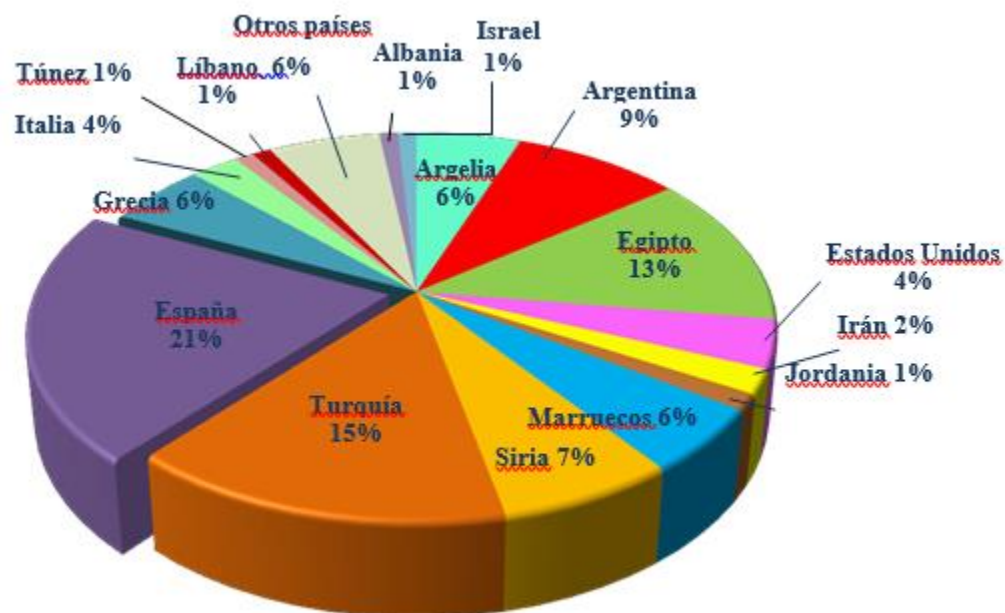
Se puede observar que ninguna variedad de aceite reúne todas las características deseables. Un fruto relativamente pequeño (`arbequina´, `lechin de Granada´), una susceptibilidad a enfermedades (`cornicabra´, `picudo´, `verdial de Badajoz´) y una elevada resistencia al desprendimiento que dificulta su recolección mecanizada (`hojiblanca´, `picudo´, `verdial de Huelva´) son las características más comunes que dificultan la difusión de las variedades actuales. (Barranco *et al.*, 2008).

### 1.1.4. Importancia actual

En la actualidad, el sector del olivar se encuentra experimentando una fase de expansión, en términos de producción y de nuevas tierras de cultivo. Esta expansión es debida al incremento de la demanda de aceite de oliva por mercados nacionales e internacionales, tras la constatación de sus propiedades saludables y nutritivas, que han sido acompañadas por un aumento y modernización en la actividad viverística (Fontanazza y Cipriani, 2001; Porrás-Soriano *et al.*, 2006). Así, actualmente se dedican 1.600 millones de hectáreas al cultivo del olivar (80% de regadío y 20% de secano) que darán lugar a una producción mundial de 2.988.500 t de aceite de oliva y 2.775.000 t de aceituna para mesa, según datos estimativos del Comité Oleícola Internacional para la Campaña 2015/2016 (COI, 2016), un aumento de producción del 22% respecto a la campaña anterior, siendo la región mediterránea, tal y como se observa en la figura 3, donde se concentra el 93 % de la producción global, así como casi el 98 % de la superficie cultivada (Kacem *et al.*, 2009).



**Figura 3.** Principales países productores de aceite de oliva. Campaña 2014/2015 (COI, 2015).



**Figura 4.** Principales países productores de aceituna de mesa. Campaña 2014/2015 (COI, 2015).

El cultivo del olivo (*Olea europea* L.) se extiende entre las latitudes 30 ° y 45 °, tanto en el hemisferio norte como en el hemisferio sur, en regiones de clima Mediterráneo, caracterizadas por veranos secos y calurosos (Barranco *et al.*, 2008). Una de las causas principales de la expansión del cultivo reside en la reconversión del olivar tradicional, que, con una densidad de plantación muy baja, incurría en altos costes productivos. La tendencia actual es ir a modelos de cultivo más intensivos y tecnificados que permitan la mecanización y, por tanto, disminuyan los costes de recolección (Tous, 2009).

El olivar español, presente en 34 provincias de 13 comunidades autónomas, ocupa una superficie de 2.509.677 hectáreas, de las que el 96% corresponden a variedades de aceituna para almazara (2.377.943 hectáreas) y el 4% restante a variedades para mesa (98.597 hectáreas). España es el primer país productor de aceituna del mundo. Es con gran diferencia, el mayor productor mundial de aceite de oliva y sus aceites de oliva son de la mejor calidad. La calidad de los aceites españoles está fundamentada en la diversidad varietal y ecológica de los olivos, en las esmeradas técnicas de cultivo y recolección que aplican los agricultores y en el cuidado en su obtención y elaboración: la industria aceitera española dispone de las mejores y más avanzadas tecnologías. Todo ello contribuye a que los aceites de oliva españoles tengan una excelente calidad y puedan encontrarse en los mejores mercados de todo el mundo.

**Tabla 2.** Distribución del olivar en España

<b>Comunidades Autónomas</b>	<b>Superficie</b>	<b>Hectáreas %</b>
<b>Andalucía</b>	1.515.320	60,38
<b>Extremadura</b>	255.310	10,17
<b>Castilla- La Mancha</b>	397.173	15,83
<b>Cataluña</b>	116.112	4,63
<b>Comunidad Valenciana</b>	91.701	3,65
<b>Aragón</b>	57.346	2,28
<b>Resto</b>	76.715	3,06
<b>Total</b>	2.509.677	100

A nivel mundial, el país con mayor superficie de olivar y producción es España. En el año 2014 se cultivaron 2.593,52 miles ha, el 94,32 % para almazara, el 2,93 % para mesa y el 2,75 % restante para doble aptitud. (Tabla 3). Se estima que la producción de España para la campaña 2015/2016 será de 1.200.000 t de aceite de oliva y 532.000 t de aceituna de mesa, datos del Comité Oleícola Internacional.

**Tabla 3:** Distribución de la superficie de secano y regadío en olivar (ha). (MAGRAMA, 2014)

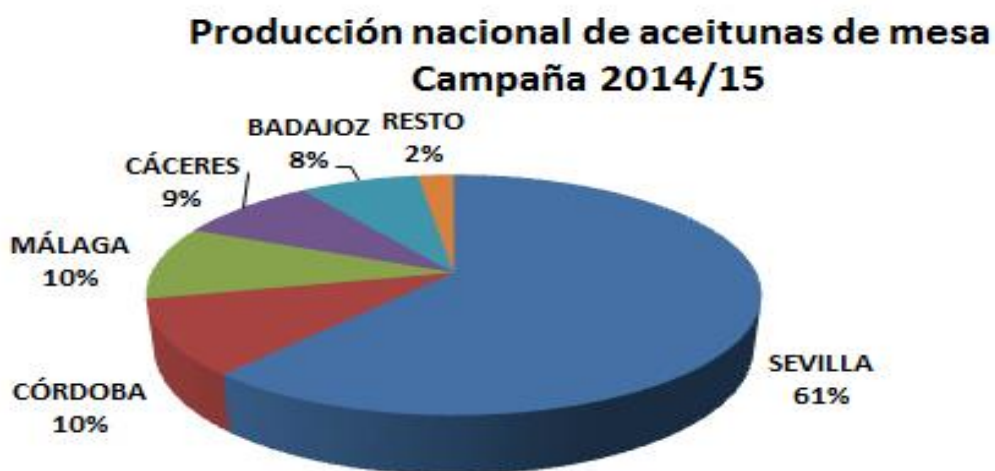
<b>Cultivo</b>	<b>Secano (ha)</b>	<b>Regadío (ha)</b>	<b>Total (ha)</b>
<b>Almazara</b>	1.763.444	682.689	2.446.133
<b>Doble aptitud</b>	48.799	22.635	71.434
<b>Mesa</b>	40.769	35.183	75.956
<b>Total</b>	1.853.011	729.903	2.593 523

España es el primer país productor de aceitunas de mesa del mundo, seguido a mucha distancia de otros países como Egipto, Turquía, Argelia, Grecia, Siria y Marruecos. La producción media mundial de las últimas cinco campañas asciende a 2.563.700 toneladas, de las cuales 529.140 se produjeron en España, es decir, el 21% del total.



**Figura 5.** Producción mundial de aceitunas de mesa

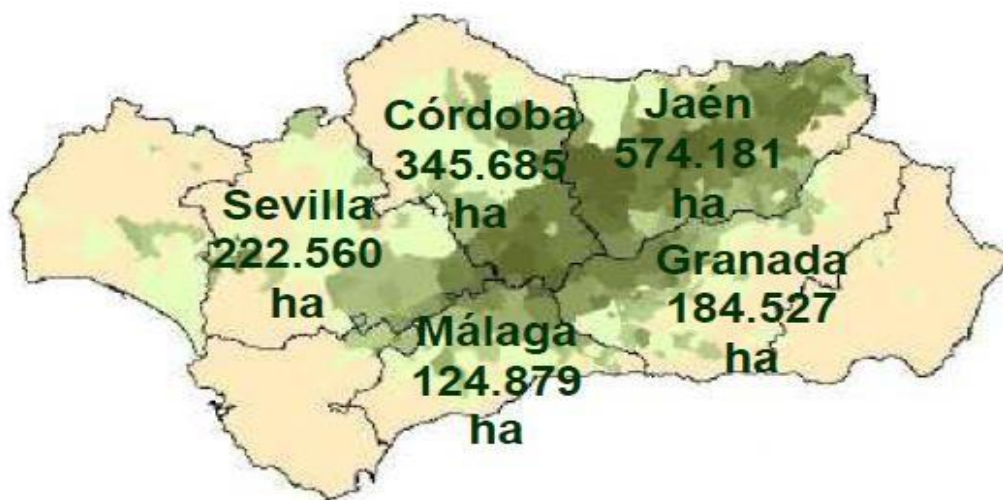
Según los datos de la Agencia de Información y Control Alimentarios (AICA), en la campaña 2014/2015 la producción nacional de aceituna de mesa fue de 546.761 toneladas. Las producciones situadas en Andalucía alcanzaron un total de 451.114 toneladas, lo que supone el 82% de la producción nacional. En este sentido, Sevilla con 335.502, Córdoba con 55.529 y Málaga con 53.919 son las provincias con mayor producción. Se estima que la producción de Andalucía para la campaña 2015/2016 será de 1.030.093 t de aceite de oliva y 409.983 t de aceituna de mesa, datos estimativos del Comité Oleícola Internacional.



**Figura 6.** Producción nacional de aceitunas de mesa



La superficie del olivar en el territorio de Andalucía es de 1,5 millones de hectáreas. El cultivo del olivo está presente en toda Andalucía, destacando en las provincias de Jaén, Córdoba, Granada, Málaga y Sevilla. El gran desarrollo del cultivo en la región andaluza se ha debido no sólo a las características climáticas, sino también al aumento de la productividad y al incremento de nuevas plantaciones en la última década propiciada por la Organización Común de Mercados (OCM) al reformar el sector del aceite de oliva. Esto, asociado a la innovación y mejora de las técnicas de propagación, facilitó la rápida producción de plantas homogéneas (Nico *et al.*, 2002), propulsando al olivar como uno de los cultivos extensivos que más empleos genera por unidad de superficie (más de 46 millones de jornales anuales) (Gómez del Campo y Barranco, 2009), lo que lo convierte en una actividad vital para el tejido rural andaluz (Guzmán Álvarez, 2005). Pero para Andalucía el olivar no es solo un cultivo, es paisaje, cultura, dieta e historia y también un agroecosistema con alto valor medioambiental, constituyendo uno de sus sectores más emblemáticos y vertebradores de la sociedad andaluza.



**Figura 7:** Superficie (ha) del cultivo del olivo en Andalucía. (Junta de Andalucía Estadística, 2014)

## **1.2. EL ACEITE DE OLIVA**

### **1.2.1. El aceite de oliva y su importancia**

El aceite de oliva virgen es el zumo oleoso de las aceitunas que se separa físicamente de los demás componentes del fruto. Se obtiene por sistemas exclusivamente físicos de elaboración y cuando procede de frutos frescos de buena calidad, sin defectos ni alteraciones, y con la adecuada madurez exhibe excepcionales características sensoriales. Es prácticamente el único entre los aceites vegetales que puede consumirse crudo, conservando íntegra su composición en ácidos grasos y el contenido en componentes menores, de elevada importancia saludable-nutricional, destacando el contenido en vitaminas liposolubles y polifenoles. Pero no todo el aceite de oliva virgen que se produce reúne las condiciones antes citadas. Importantes cantidades de este producto han de ser destinadas a refinación, por presentar características organolépticas desagradables y/o un deterioro en los parámetros químicos-físicos legalmente establecidos para evaluar su nivel de calidad comercial (Barranco et al, 2008).

El consumo de aceite de oliva ha estado asociado a la buena gastronomía, conviene resaltar la importancia particular del aceite de oliva en el Mediterráneo, que se identifica como un pilar esencial de la dieta mediterránea. El consumo del aceite de oliva forma parte, por tanto, de nuestro acervo cultural, sin olvidar que es la base económica fundamental de muchas comarcas españolas.

Durante décadas, el valor nutricional del aceite de oliva fue seriamente cuestionado, hasta el punto de que los expertos en nutrición desaconsejaban su consumo en favor de otros aceites vegetales, como el de girasol y maíz. Sin embargo, los estudios realizados desde 1954 por Keys, y posteriormente por Anderson y Grande-Covián (Anderson et al, 1970), demostraron que la tasa de muerte por enfermedades cardiovasculares en los países mediterráneos era inferior a la observada en otros países occidentales. El motivo de estas diferencias parecía radicar en el tipo de alimentación mantenida por estas poblaciones, especialmente en lo referido a la calidad de la grasa consumida. De este modo, empezó a hablarse de la “Dieta Mediterránea”, dieta caracterizada por un alto consumo de cereales, verduras, legumbres y fruta, poca carne y mucho pescado y con el aceite de oliva como grasa culinaria principal. Desde entonces numerosos trabajos han puesto de manifiesto las virtudes cardiosaludables de la “Dieta Mediterránea”. El reconocimiento del valor nutritivo del aceite de oliva ha discurrido de forma paralela al estudio y conocimiento de las cualidades de este tipo de alimentación, tanto por el tipo de grasa mayoritaria en su composición,

como por su contenido en sustancias antioxidantes.

### **1.2.2. Composición**

Desde un punto de vista químico, los componentes del aceite de oliva suelen dividirse en una fracción saponificable, que es la parte propiamente grasa, y otra fracción muy pequeña respecto al peso total del aceite, (entre el 1 y el 2%), llamada fracción insaponificable, de enorme importancia en cuanto a los componentes saludables que contiene.

*Fracción saponificable*, compuesta mayoritariamente por triglicéridos y una pequeña proporción de ácidos grasos libres. Generalmente los ácidos grasos se encuentran formando cadenas llamadas triglicéridos, pero también pueden aparecer aislados, sin formar estas cadenas, son los ácidos grasos libres. La fracción saponificable constituye entre el 98-99%, la mayor parte de la cual son triglicéridos y en menor medida ácidos grasos libres junto con otros componentes con ácidos grasos esterificados, como: mono o diglicéridos, fosfátidos, ceras y ésteres de esteroides. (Harwood y Aparicio, 2000). En el aceite de oliva existe un claro predominio del ácido oleico. El porcentaje de ácido oleico en los aceites de oliva puede oscilar entre el 55 y el 83% respecto al total de ácidos grasos. Por el contrario, tiene bajo contenido en ácidos grasos poliinsaturados (linoleico y linolénico) y saturados (palmítico y esteárico). (Gimeno et al, 2001).

*Fracción insaponificable* la componen una serie de sustancias muy diversas no glicéridas, denominadas componentes menores o secundarios del aceite de oliva. La proporción de estos últimos elementos en el aceite es muy minoritaria (1-3 % en peso). Se incluyen en esta fracción casi la totalidad de los componentes del aceite que no son ácidos grasos, así como la mayoría de los componentes saludables y también los aromáticos. La fracción insaponificable del aceite se obtiene tras la saponificación con un hidróxido alcalino y la extracción con un disolvente. De este modo, los constituyentes menores son compuestos no relacionados químicamente con los ácidos grasos como hidrocarburos, alcoholes alifáticos, esteroides, tocoferoles, carotenoides, clorofilas y compuestos fenólicos (Perez-Jimenez et al, 2005).

### 1.2.3. Calidad y tipos

La calidad puede definirse como “la propiedad o conjunto de propiedades inherentes a una cosa, que permiten apreciarla como igual, mejor o peor que las restantes de su especie” (Barranco et al, 2008). El significado de “calidad de aceite de oliva” se puede definir de muchas maneras. De hecho, no hay una definición universal de calidad que pueda aplicarse acertadamente a cualquier situación. Encontramos definiciones que se refieren al cumplimiento de una normativa reglamentada, hasta las que hablan de los contenidos nutricionales, de la calidad sensorial, calidad comercial, etc. Además, la escala con que se mide la calidad de un determinado producto, en este caso el aceite de oliva, difiere según las distintas sociedades (Maestro y Borja, 1990). En general, los aceites de oliva virgen de calidad deben tener un olor y sabor sin rancidez, alteraciones o contaminación.

La lipólisis o alteración hidrolítica y la oxidación o alteración oxidativa, son los dos procesos más serios que estropean la calidad del aceite de oliva. Dichos cambios pueden comenzar a producirse durante la extracción y sobre todo durante el almacenamiento. (Gimeno et al, 2001). La clasificación y la calidad de un aceite de oliva virgen se determinan por una serie de parámetros incluidos en la reglamentación de la Comisión de las Comunidades Europeas (nº 2568/91 y 1989/2003), entre ellos la valoración sensorial, índices físico-químicos de calidad como son la acidez libre, el índice de peróxidos y la absorbancia ultravioleta. En la Tabla 4 se muestran algunos de los parámetros que exige el reglamento de la Comisión de las Comunidades Europeas para la clasificación del aceite de oliva.

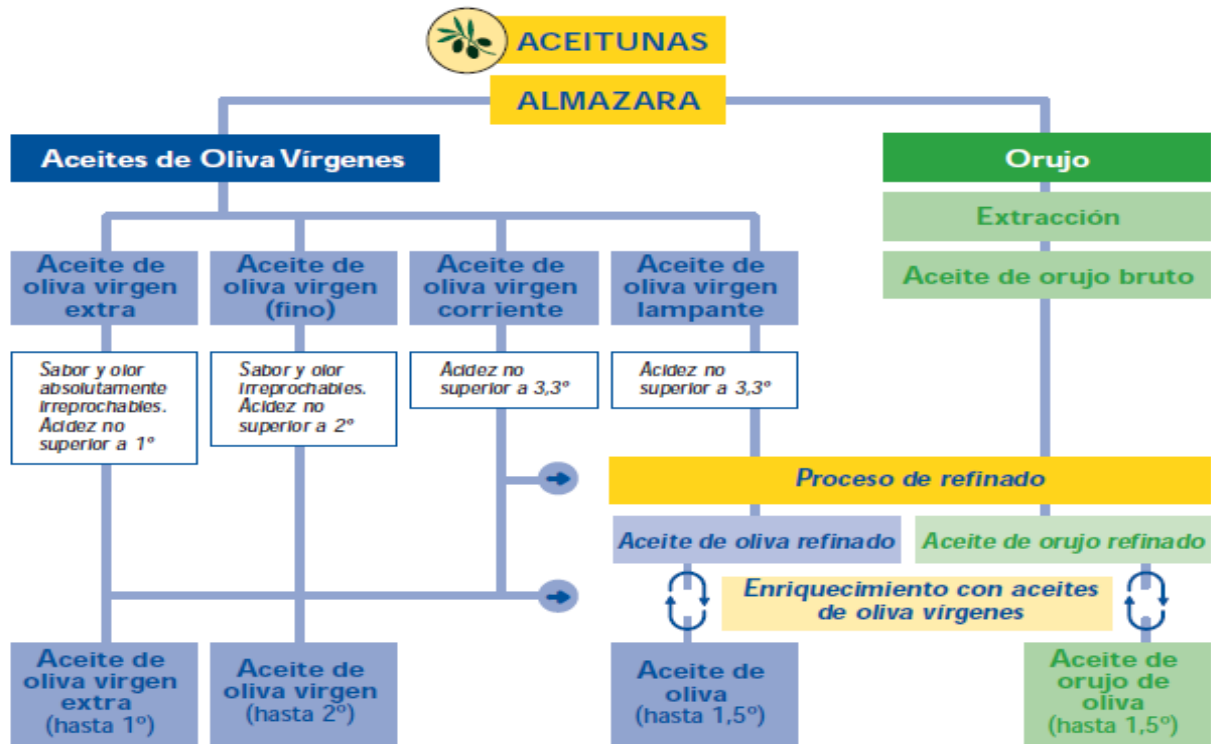
**Tabla 4.** Características exigidas de acuerdo al reglamento de la Comisión de las Comunidades Europeas para la clasificación del aceite de oliva.

Categoría	Acidez (%)	Índice de peróxidos mEq O <sub>2</sub> /kg	Ceras mg/kg	K <sub>270</sub>	AGS en posición 2 De los riacilglicéridos
1. Aceite de oliva virgen extra	≤ 0.8	≤ 20	≤250	≤ 0.22	≤ 1.5
2. Aceite de oliva virgen	≤ 2.0	≤ 20	≤250	≤ 0.25	≤ 1.5
3. Aceite de oliva lampante	> 2.0	-----	≤300	-----	≤ 1.5
4. Aceite de oliva refinado	≤ 0.3	≤ 5	≤350	≤ 1,10	≤ 1.8
5. Aceite de oliva compuesto exclusivamente por aceites de oliva refinados y aceites de oliva vírgenes	≤ 1.0	≤ 15	≤350	≤ 0.99	≤ 1.8
6. Aceite de orujo crudo	-----	-----	>350	-----	≤2.2
7. Aceite de orujo refinado	≤ 0.3	≤ 5	>350	≤ 2,00	≤2.2
8. Aceite de orujo de oliva	≤ 1.0	≤ 15	>350	≤ 1,70	≤2.2

\*AGS, Ácidos grasos saturados.

Fuentes: Barranco et al, 2008

Actualmente el reglamento de la Comisión de las Comunidades Europeas para la clasificación de aceites de oliva, tiene catalogados ocho tipos de aceites de oliva, de los cuales se comercializan en España cuatro. En la Figura 8 se muestran los diferentes tipos de aceites de oliva existentes.



**Figura 8.** Obtención de los diferentes tipos de aceites de oliva

En función del grado de acidez libre y la calidad, el aceite obtenido puede clasificarse en:

- **Aceite de Oliva Virgen:** son aquellos aceites obtenidos exclusivamente por procedimientos físicos, y en unas condiciones de temperatura, que no impliquen la alteración del aceite. Es un producto natural que conserva el sabor, le aroma y las vitaminas de la aceituna. Tiene la personalidad de la zona de donde procede. A su vez se clasifica en:
  - Aceite de oliva virgen extra, presenta un sabor y aroma excepcional y posee una acidez no superior a 0,8 grados. Es el aceite de mayor calidad.
  - Aceite de oliva virgen, con una acidez máxima de 2 grados. Este aceite,

aunque de calidad inferior al anterior, es excelente para el consumo.

- Aceite de oliva lampante, con una acidez superior a los 2 grados, es el peor de los aceites de oliva vírgenes. Este aceite no puede consumirse tal como se produce y necesariamente ha de someterse a un proceso de refinado, dando lugar al aceite de oliva refinado.
- **Aceite de oliva refinado:** los aceites de oliva lampantes de alta acidez o con sus cualidades organolépticas alteradas debido a la calidad del fruto o al proceso de extracción empleado, no son aptos para el consumo directo, por lo que deben ser sometidos a un proceso de refinación. Este procedimiento comprende básicamente procesos de neutralización, decoloración, desgomado, y desodorización. Tras la refinación se obtienen aceites que han perdido su color, sabor, aroma y propiedades naturales originales. Su acidez no será superior a 0,3 grados.
- **Aceite de oliva:** o aceite de oliva compuesto exclusivamente por aceites de oliva refinados y aceites de oliva vírgenes distintos del lampante. Es el producto más consumido en España. De este modo recupera parte de las cualidades nutricionales, de sabor, color y aroma de los aceites vírgenes. Ha de tener una acidez no superior a 1 grado.
- **Aceite de orujo de oliva crudo:** es el obtenido químicamente por medio de disolventes orgánicos del orujo de oliva, un subproducto de la aceituna. Se excluyen los aceites obtenidos por procedimientos de re-esterificación y toda mezcla de aceites de otras naturalezas. No se usa para el consumo directo.
- **Aceite de orujo de oliva refinado:** procede del aceite de orujo de oliva crudo sometido a las operaciones físico-químicas del refinado. Su acidez no podrá ser superior a 0,3 grados, y se utiliza para frituras industriales.
- **Aceite de orujo de oliva:** mezcla de aceite de orujo refinado y de aceite de oliva vírgenes distintos al lampante, con acidez no superior a 1 grado.

#### 1.2.4. Parámetros químicos que definen su calidad

Para evaluar la calidad de un aceite, deben ser analizados los siguientes parámetros químicos:

- **Acidez libre:** La acidez es uno de los parámetros que definen la calidad del aceite de oliva. Se expresa en gramos de ácido oleico por 100 gramos de aceite, midiendo la cantidad de ácidos grasos libres presentes en la muestra de aceite (Barranco et al. 2008). A fin de cuentas, es un índice ligado a la alteración sufrida por el fruto y a las hidrólisis de glicéridos habidas en el proceso de elaboración y conservación. Este parámetro alerta sobre las alteraciones hidrolíticas sufridas por los aceites. Los ácidos grasos se liberan por una ruptura de las moléculas de los triglicéridos a través de sus enlaces éster con la glicerina. Su incremento se debe principalmente a la hidrólisis de los triglicéridos provocada por diferentes causas, tales como la actividad microbiológica (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Colletotrichum*, etc.), el retraso de la época de recolección de la aceituna (Cimato, 1990), anomalías en el proceso de elaboración del aceite, y sobre todo a un inadecuado almacenamiento del fruto antes de su molturación.
- **Índice de peróxidos (IP):** El IP determina la cantidad de hidroperóxidos presentes en el aceite, formados principalmente durante su conservación o exposición en venta, por el fenómeno de la oxidación atmosférica química. El IP permite estimar el grado de oxidación inicial de un aceite y, por tanto, su alteración oxidativa. Esto, unido a que detecta la oxidación antes de que sea perceptible organolépticamente (olor a rancio), le da validez como índice de calidad, a pesar de su gran variabilidad y su poca representatividad respecto al estado global de oxidación de un aceite (Burón y García, 1979). En el aceite, los hidroperóxidos evolucionan más o menos rápidamente a compuestos carboxilados volátiles (aldehídos, cetonas, etc.), responsables del enranciamiento, según las distintas condiciones de conservación de los aceites, referentes a la luz, calor, relación superficie/volumen de los recipientes, etc. (Gutiérrez González-Quijano, 1983). Todos los factores que aceleran la oxidación del aceite (temperatura, luz, aireación, trazas metálicas, etc.) provocan elevaciones en el IP. También puede subir este índice como consecuencia de heladas en frutos no maduros.



- **Contenido en pigmentos fotosintéticos (carotenoides y clorofilas):** Las clorofilas y los carotenoides son dos parámetros responsables de la actividad oxidativa del aceite de oliva por su naturaleza antioxidante en la oscuridad y pro-oxidante cuando están expuestos a la luz (Gandul Rojas y Mínguez Mosquera, 1996a; Rahmani y Csallany, 1991). Aunque en el correspondiente Reglamento de la UE no se exige un análisis de la pigmentación, el color es un atributo básico para determinar las características del aceite de oliva; la presencia de clorofilas en los aceites de oliva vírgenes es inevitable y, además, la mayoría de los consumidores lo asocian con la calidad.
- **Medida espectrofotométrica en la región ultravioleta:** Los índices  $K_{232}$  y  $K_{270}$  son indicadores de la presencia de compuestos de oxidación en un aceite, distintos de los peróxidos. Se originan por una mala conservación del aceite o por modificaciones inducidas por los procesos tecnológicos. El  $K_{232}$  indica la presencia de ácidos grasos poliinsaturados conjugados (linoleico y linolénico). Estos isómeros reaccionan rápidamente con el oxígeno atmosférico, dando hidroperóxidos, por lo que evalúan un paso previo a la oxidación que el IP. El  $K_{270}$ , en cambio, corresponde a la absorbancia que presentan los compuestos con radicales carboxilo (aldehídos y cetonas), que se forman como consecuencia de la rotura de los hidroperóxidos, por lo que evalúa un proceso de oxidación más avanzado que el índice de peróxidos y el  $K_{232}$ . Un elevado valor de estos coeficientes debe coincidir con una menor resistencia a la oxidación del aceite y con un mayor grado de oxidación.
- **Estabilidad oxidativa ‘Rancimat’:** La estabilidad oxidativa de un aceite de oliva virgen es un parámetro de calidad que va cobrando creciente importancia. Según Gutiérrez González (1989), se define como el tiempo necesario para que éste comience a presentar síntomas de enranciamiento tras ser sometido a una oxidación forzada a elevada temperatura ( $\geq 100^{\circ}\text{C}$ ). Desde el punto de vista del consumidor es la valoración físico-química de comprensión más fácil ya que una mayor estabilidad supone un mayor tiempo de utilización del producto. Varía en función de la variedad de aceituna y de las características propias del aceite (grado de insaturación, contenido en antioxidantes naturales y en trazas metálicas, estado de oxidación, etc.), así como según las condiciones en que se haya realizado su conservación (temperatura, luz, exceso de

oxígeno, calidad y tamaño de los recipientes, etc.).

- **Composición en ácidos grasos:** La composición en ácidos grasos de los aceites de oliva vírgenes juega un gran papel en la nutrición del organismo, ya que previene enfermedades coronarias, y son, junto a los polifenoles, los responsables de que la velocidad de oxidación de los aceites disminuya (Barranco *et al.* 2008). Se cuantifican por cromatografía de gases, para lo que es necesaria su transformación previa en ésteres metílicos. Se valora que se exhiba un elevado cociente oleico/linoleico y que el contenido de palmítico sea lo más reducido posible.
- **Polifenoles:** El aceite de oliva virgen es el único aceite vegetal dotado de cantidades apreciables de sustancias fenólicas naturales, compuestos que protegen al organismo de procesos oxidativos, que aportan estabilidad al aceite y que le confieren un especial sabor (amargo y frutado). El estudio de Tekaya *et al.* (2013) demostró que el contenido en polifenoles era directamente proporcional a la estabilidad oxidativa estimada con Rancimat. Estas sustancias, escasamente ácidas e hidrosolubles, se pierden en el proceso de refinado y, por tanto, no están presentes en los aceites de semillas ni en los aceites de oliva y orujo sometidos a este proceso. Entre estos componentes fenólicos, los más importantes son los derivados de dos glucósidos característicos de la aceituna, la oleuropeína y el ligustrósido, como el tirosol o p-hidroxifeniletanol, el hidroxitirosol y una serie de ácidos fenólicos sencillos como el vanílico, p- hidroxibenzoico y p-cumárico, entre otros. El contenido de polifenoles del aceite de oliva varía, por lo general, entre 50 y 500 ppm (expresado en ácido caféico) (Vázquez, 1978). En las aceitunas existen pequeñas cantidades de sustancias de carácter fenólico que pasan en parte al aceite en el proceso de extracción durante la molienda y el batido de aceite oliva. Cuando el aceite se oxida o durante la refinación el contenido en polifenoles desciende notablemente, aunque depende en gran medida de la variedad, procedencia de la aceituna y de su estado de conservación. En general, el contenido de sustancias fenólicas es mayor en los aceites de calidad (Covas *et al.* 2006).

- **Tocoferoles:** Conocidos como vitamina E, los tocoferoles son antioxidantes naturales que previenen el envejecimiento celular (Barranco *et al.* 2008). La vitamina E en estado natural tiene ocho diferentes formas de isómeros, cuatro tocoferoles y cuatro tocotrienoles. Todos los isómeros tienen un anillo aromático, llamado cromano, con un grupo hidroxilo y una cadena poliprenoide saturada. Existen formas alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ), gamma ( $\gamma$ ) y delta ( $\delta$ ), que se determinan por el número de grupos metílicos en el anillo aromático; cada una de las formas tiene su propia actividad biológica. El  $\alpha$ -tocoferol es el compuesto mayoritario en el aceite de oliva virgen. Los tocoferoles juegan un papel importante en la calidad del aceite de oliva virgen extra debido a su actividad antioxidante, siendo más eficaces a concentraciones relativamente bajas (Attia *et al.* 2013).

### 1.2.5. Producción mundial y española

España es una potencia mundial en la producción de aceite de oliva y de aceituna de mesa, ya que cuenta con la mayor superficie de olivar del mundo, distribuida en 34 provincias de la geografía nacional, predominando su presencia en la mitad meridional y el este de la península. Esto le confiere un gran patrimonio económico y un gran valor social, medioambiental, cultural y de salud pública. Además de ser líder mundial en producción de aceite de oliva, también lo es en comercialización y exportación, con una comercialización media en torno a 1.200.000 toneladas al año. Esto supone más de la mitad de la producción de la Unión Europea y el 40% de la producción mundial.

En la actualidad se produce aceite de oliva en 47 países y se están realizando ensayos en otros dos: Madagascar y Corea del Sur, por lo que, es posible, que esta cifra se eleve pronto a 49. La situación climática del resto de países hace que solamente puedan ser productores 54 (Vilar *et al.*, 2015).

La Unión Europea, con España a la cabeza, es la primera productora de aceite de oliva del mundo a gran distancia respecto al resto de países. Sin embargo, la producción de países terceros ha ido creciendo en los últimos años y ya representa más del 30% del total mundial. Además de los países mediterráneos (Líbano, Turquía...), también hay producción de aceite de oliva en lugares tan remotos como Australia, Estados Unidos, Chile o Argentina.

Según el Comité Oleícola Internacional (COI), la producción mundial de aceite de oliva en la

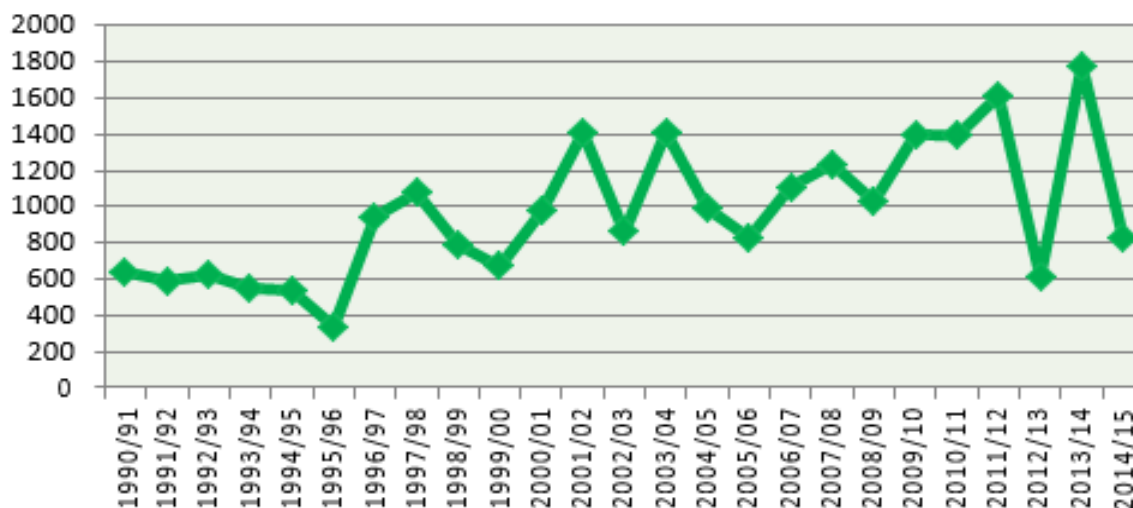
campaña 2013/2014 ascendió a casi 3,3 millones de toneladas, lo que supuso un aumento de más de 500.000 toneladas (un incremento del 20%) respecto a la campaña precedente, aunque no fue suficiente para igualar las cifras de la campaña 2011/2012, que fue la mejor de los últimos cinco años (Tabla 5) y el record histórico hasta la fecha. Sin embargo, la producción de aceite de oliva para la campaña 14/15 fue de 2.393 millones de toneladas, lo que supuso un descenso del 23% en relación con la anterior.

**Tabla 5.** Producción de aceite de oliva en el mundo (Miles de toneladas)

	<b>2009/2010</b>	<b>2010/2011</b>	<b>2011/2012</b>	<b>2012/2013</b>	<b>2013/2014</b>	<b>2014/2015</b>
España	1.401,50	1.391,90	1.615	618,2	1.781,50	825,7
Francia	5,7	6,1	3,2	5,1	4,9	5
Grecia	320	301	294,6	357,9	131,9	300
Italia	430	440	399,2	415,5	461,2	302,5
Portugal	62,5	62,9	76,2	59,2	91,6	90
<b>Total UE</b>	<b>2.224,50</b>	<b>2.209,10</b>	<b>2.395,20</b>	<b>1.416,70</b>	<b>2.476,60</b>	<b>1.532,20</b>
Marruecos	140	130	120	100	120	110
Turquía	147	160	191	195	190	190
Túnez	150	120	182	220	70	260
Siria	150	180	198	175	165	50
<b>Total Mundo</b>	<b>2.973,50</b>	<b>3.075</b>	<b>3.321</b>	<b>2.718</b>	<b>3.270,50</b>	<b>2.393</b>

La producción de aceite de oliva en España en los últimos veinticinco años ha sido muy inestable, con subidas y bajadas muy marcadas (figura 9). Destaca la enorme caída registrada en la campaña 2012/2013, que fue corta y baja. La escasa producción fue consecuencia de tres hechos que coincidieron en el tiempo y en el espacio: el agotamiento del árbol tras tres campañas en niveles hasta entonces históricos; la sequía y la mala floración del olivar debido a las altas temperaturas. La conjunción de estas tres circunstancias hizo que esta cosecha fuera la segunda más baja de la historia, después de la presentada por la campaña 1995/1996, en la que una prolongada sequía determinó una bajada drástica de la producción de aceituna.

**Figura 9.** Evolución de la producción de aceite de oliva en España (Miles de toneladas)



Además de España, que como ya se ha señalado, ocupa el primer lugar en producción con una gran diferencia respecto al resto, otros países productores de aceite dentro de la Unión Europea son Italia, Grecia, Portugal y Francia fundamentalmente. Desde hace unos años otros países sin tradición olivarera se han incorporado a esta lista. Son los casos de Chipre y Eslovenia desde el año 2003 y Croacia a partir de 2013.

La producción mundial de aceite de oliva en la campaña 15/16 se situará en torno a los 2,6 millones de toneladas, según el aforo de producción realizado por el Grupo GEA.

En cuanto a España la producción podría alcanzar, si las circunstancias climatológicas lo permiten, los 1,26 millones de toneladas. Esto supone un incremento significativo de la producción en territorio español después de la baja cosecha obtenida en la campaña 14/15. Italia se situaría en el segundo escalón del ránking de producción, con 330.000 toneladas, lo que implica un crecimiento del 50 por ciento respecto a la campaña anterior. Dentro de España, la mayor producción se encuentra en Andalucía, con un 80,7% de la producción española (31% del total mundial), seguida de Castilla la Mancha con 7,1% y Extremadura con 4,4%. En Andalucía, Jaén es la provincia con mayor producción seguida de Córdoba y Sevilla. Los principales destinos de las exportaciones andaluzas son países de la UE que concentran el 71%, principalmente Italia. También se exporta en menor medida a Portugal, EEUU, Francia, Reino Unido, China y Japón.

### **1.3. OBJETIVOS DEL TRABAJO**

El objetivo en este trabajo es la identificación de los compuestos fenólicos que mayormente son responsables del mantenimiento de la estabilidad de los aceites, mediante el estudio comparativo de esta variable con respecto a los distintos contenidos en los diferentes derivados fenólicos, utilizando un número significativo de muestras de AOV de distinta procedencia y variedad.



## 2. Materiales y métodos

## **2.1 DATOS DE LAS MUESTRAS**

El estudio se ha realizado sobre un total de 129 muestras, siendo la gran mayoría de ellas aceites vírgenes extras, procedentes de diferentes localizaciones, durante el transcurso de la campaña 2012/13. Entre las variedades de olivo nos encontramos con Arbequina, Verdial, Manzanilla de Sevilla y Manzanilla Cacereña.

Las muestras de aceite han sido extraídas en el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) pertenecientes a diferentes estudios realizados en dicho lugar. Al ser un gran número de muestras se han seleccionado 32 muestras para realizar el análisis, el resto se había analizado anteriormente.

Las muestras se almacenaron lejos de la luz en botellas de vidrio color ámbar a 4 ° C hasta el análisis.

Las muestras fueron seleccionadas por fincas con un total de cinco fincas diferentes.

## **2.2 MÉTODOS ANALÍTICOS**

Para la determinación de los índices generales de calidad del aceite de oliva virgen se ha seguido la metodología descrita en el Reglamento de Ejecución (UE) 2015/1833 de la comisión de 12 de octubre de 2015 que modifica el Reglamento (CEE) no 2568/91 relativo a las características de los aceites de oliva y de los aceites de orujo de oliva y sobre sus métodos de análisis como grado de acidez, índice de peróxidos, prueba espectrofotométrica en el ultravioleta ( $K_{232}$  y  $K_{270}$ ), pigmentos y otros parámetros de calidad como son estabilidad oxidativa, tocoferoles, polifenoles y ácidos grasos.

### **2.2.1. Grado de Acidez**

La medida del grado de acidez del aceite expresa el contenido en ácidos grasos libres, expresado como porcentaje de ácido oleico y calculado según el método convencional.

En una balanza de precisión se tara un matraz de boca ancha de 250 mL y se pesan entre 4 y 6 g de la muestra de aceite. Se le añaden 50 mL de una solución de etanol-éter al 50%, neutralizado con hidróxido sódico (NaOH) 0'1 N y se agitó hasta la disolución completa de la grasa.



Se le añaden 3 gotas de indicador fenolftaleína; se agita la solución y se valora con hidróxido sódico hasta que el color vira a rosado.

La fórmula para calcular el grado de acidez expresado en % oleico es:

$$A = \frac{V \times N \times Pm}{P}$$

Siendo:

A= Grado de acidez expresado en porcentaje de ácido oleico

V= Volumen consumido de hidróxido sódico (NaOH) en la valoración

N= Normalidad del hidróxido sódico (NaOH)

Pm= Peso molecular del ácido oleico (282 g/mol).

P= Peso en gramos del aceite

### **2.2.2 Índice de peróxidos (IP)**

La medida del índice de peróxidos se basa en determinar la cantidad (mEq de O<sub>2</sub> activo/Kg de aceite) de peróxidos presentes en las muestras, que ocasionan la oxidación del yoduro potásico en las condiciones de trabajo.

Los peróxidos se originan cuando la aceituna ha sido maltratada o si el aceite no se ha protegido de la luz y el sol. Por tanto, a mayor índice de peróxidos menor capacidad antioxidante del aceite. Los aceites vírgenes no deben sobrepasar un índice de peróxidos de 20 (20 miliequivalentes de oxígenos por kilo de aceite).

El fin del cálculo del índice de peróxido es realizar una yodometría donde se utiliza un matraz Erlenmeyer esmerilado con tapón. En ellos se introduce entre 1,8 y 2,2 g de muestra y se les añade 25 mL de acético-cloroformo (relación 3/2) y 1 mL de yoduro potásico (previamente preparado en el momento mezclando 13,7 g. de yoduro potásico y 10 mL de agua). Se agita suavemente y se pone en oscuridad durante 5 minutos.

Después de esos minutos se le añade 75 mL de agua destilada y varias gotas de almidón para que ejerza el papel de indicador. Se agita fuertemente y se valora con tiosulfato sódico (0.002 N) hasta que el color vire del violeta inicial a un blanco sucio.

La fórmula para calcular el índice de peróxidos expresado en mEq de O<sub>2</sub> activo/Kg de aceite es:

$$IP = \frac{V \times N \times 1000}{P}$$

Siendo:

IP= Índice de Peróxidos expresados en meq O / kg de aceite.

V= Volumen gastado de tiosulfato sódico (0.002 N) en la valoración.

N= Normalidad del tiosulfato sódico usado en la valoración.

P= Peso de la muestra de aceite.

### **2.2.3 Prueba espectrofotométrica en el ultravioleta (K<sub>232</sub>, K<sub>270</sub>)**

La prueba espectrofotométrica en el U.V proporciona indicaciones sobre la calidad del aceite, su estado de conservación y las modificaciones inducidas por los procesos tecnológicos. Las absorciones a estas longitudes de onda se deben a la presencia de dienos y trienos conjugados y compuestos de tipo carbonilo (aldehídos y cetonas). Los valores de estas absorbancias se expresan en extinción específica, convencionalmente como K, denominado coeficiente de extinción. Ambos parámetros nos dan una medida del estado oxidativo, K<sub>232</sub> de oxidación primaria y K<sub>270</sub> de oxidación secundaria, y completan la información obtenida en el índice de peróxidos.

Como para los carotenoides y los pigmentos, también se utiliza la espectrofotometría. Se pusieron en matraces aforados de 10 mL, muestras de diferente peso: de 20-30 mg para la solución que analizará el K<sub>232</sub> y de 200-300 mg para la solución que analizará el K<sub>270</sub>. Se enrasaron con ciclohexano, se agitaron y se llevaron al espectrofotómetro para obtener las medidas.

Los valores de extinción obtenidos deben estar comprendidos en el intervalo entre 0,1 y 0,8; en caso contrario es necesario repetir la medida utilizando soluciones más concentradas o más diluidas según el caso (Frías et al., 1991).

Los valores de estas absorciones se expresan como coeficientes de extinción específica a 232 y 270 nm ( $K_{232}$  y  $K_{270}$ ), que se calcula:

$$K_{\lambda} = \frac{\text{Absorbancia}(\lambda)}{P} \times 100$$

Siendo:

$K_{\lambda}$  = Absorción espectrofotométrica en la región ultravioleta ( $K_{232}$  y  $K_{270}$ )

Absorbancia ( $\lambda$ )= longitud de onda utilizada (232 o 270)

P= peso en mg de la muestra

#### 2.2.4 Pigmentos: Carotenos y clorofilas

El contenido de carotenos y clorofila se midió mediante espectrofotometría con absorción de 472 nm para carotenoides y 670 nm para clorofilas. Para dicha valoración se utilizó en un matraz aforado de 25 mL con cierre esmerilado, se pesaban aproximadamente 7,5 g de muestra, se disolvían en ciclohexano hasta el enrase, y se agitaron para homogeneizarlos. Finalmente se llevaron al espectrofotómetro para obtener las medidas. Los resultados se expresaron en mg/kg de aceite. La fórmula para la determinación de los pigmentos es la siguiente:

- Carotenoides 470 = 
$$\frac{\frac{Ab \times 250}{2000} \times 1000}{P}$$

- Clorofilas 670 = 
$$\frac{\frac{Ab \times 250}{613} \times 1000}{P}$$

Siendo:

Ab = La absorbancia proporcionada por el espectrofotómetro de longitud de onda a 470 o 670

P = Peso de la muestra

### **2.2.5 Estabilidad oxidativa “Rancimat”**

La estabilidad oxidativa se evaluó con el método Rancimat (Gutiérrez González, 1989). El Rancimat es un método de medida de estabilidad oxidativa de aceites y grasas en condiciones aceleradas, basado en la inducción de la oxidación de la muestra por exposición a elevadas temperaturas y flujo de aire. De esta manera permite estimar el tiempo de inducción o tiempo de estabilidad oxidativa, siendo este el momento a partir del cual la muestra ha superado el tiempo en el que permanece estable, y siendo por tanto indicativo de una pérdida de calidad y vida útil de la muestra.

Para la obtención de los resultados se debe pesar en cada tubo de reacción 3 g de cada muestra, el cual se coloca en el bloque de calentamiento, es decir un hueco donde reciben calor y son conectados a unas vasijas, colocadas detrás, estas vasijas están llenas con 75 mL de agua bidestilada, en cuyo interior se sitúan unos electrodos previamente lavados con agua bidestilada, jabón y acetona. Una vez colocado todo, se pone en funcionamiento el aparato, con calefacción a 100 °C y una corriente de aire seco situada entre 15 y 20 L/h. Durante el proceso, el aceite oxidado desprende gases (principalmente metano) que son retenidos en las vasijas por el agua y quedan registrados gracias a un cambio en su conductividad. Todo este procedimiento es recogido por el equipo Rancimat 679 (Metrohm A.G., Herisau, Suiza), mediante una gráfica en la que aparece una línea constante hasta que se produce una subida brusca, indicando la formación de dichos compuestos. El tiempo en horas transcurrido desde el inicio del proceso hasta el punto de mayor curvatura de esta curva experimental (fin del proceso inductivo) es considerado el valor de estabilidad ante la oxidación del aceite que se analiza.

### **2.2.6 Tocoferoles**

Los tocoferoles contribuyen a dar estabilidad al aceite y desempeña un papel beneficioso en la salud por su actividad antioxidante. El tocoferol mayoritario es  $\alpha$ -tocoferol, que supone el 95% del total de los tocoferoles y el más activo biológicamente como vitamina E. El 5% restante constituyen el  $\beta$ -Tocoferol y  $\gamma$ -Tocoferol que poseen un marcado efecto antioxidante.

La determinación de los tocoferoles se realizó siguiendo la norma IUPAC 1992 (2432), cuyo objetivo es la determinación de tocoferoles y tocotrienoles en aceites vegetales y grasas.

El aceite se disuelve en hexano y la disolución se introduce directamente en la columna de cromatografía para la separación individual de los tocoferoles. La detección se realiza mediante fluorescencia, aprovechando las propiedades fluorescentes que tienen estos compuestos.

El procedimiento para la obtención de los tocoferoles es en un matraz aforado de 10 mL se pesan aproximadamente 100 mg de aceite, se disuelven en hexano y se enrasa. Se inyectan 20  $\mu$ L de esta disolución en un cromatógrafo líquido con una microjeringa de 100  $\mu$ L. Dicho cromatógrafo consta de una Bomba LDC Analytical Mod 3200, un inyector Rheodine 7125 y un detector de fluorescencia Jasco 821 FP.

### **2.2.7 Polifenoles totales**

Los compuestos fenólicos tienen gran importancia por su efecto sobre la estabilidad y las características sensoriales de los aceites de oliva vírgenes. En este trabajo se ha analizado mediante cromatografía líquida de alta resolución la fracción fenólica de los aceites de oliva de distintas variedades. Para la extracción, separación y cuantificación de los derivados fenólicos componentes del aceite de oliva se utilizó el método de extracción en fase sólida (EFS) y cromatografía líquida (CLAE) propuesto por Mateos et al. (2001).

El procedimiento fue el siguiente:

Se utilizaron como patrones internos para la cuantificación de las muestras una solución que contiene los ácidos p-hidroxifenilacético, en una concentración del orden de 10-2 mg/mL, y o-cumárico del orden de 10-3 mg/mL en metanol.

Se emplearon columnas de EFS con fase Diol (Superclean, Normal Phase SPE tipo LC-Diol de 500 mg y 3 mL) que retienen los compuestos polares principalmente y más específicamente aquéllos que presentan grupos hidroxilo. El conjunto de compuestos fenólicos se evaluó mediante HPLC con un detector de diodos en línea a 280 y 335 nm (Mateos *et al.*, 2001).

En un matraz cónico se pesó 2,5 g de aceite de cada muestra, para ello se utilizó una balanza de precisión, luego se añadieron 500  $\mu$ L de la disolución que contiene los patrones. En un rota-vapor a 40°C bajo vacío se evapora el metanol de los patrones. La muestra con los patrones se suspende en 6 mL de hexano. Seguidamente, se activaron las columnas de extracción haciéndole pasar sin interrupción primero 6 mL de metanol y luego 6 mL de hexano, sin dejar que se sequen. A continuación, se introdujo la muestra con los 6 mL de la disolución de hexano en la columna,

quedando el aceite y los patrones retenidos en la fase sólida. Se vuelve a lavar el matraz con otros 6 mL de hexano, que también se hacen pasar por la columna, para limpiar los componentes que quedaron retenidos en la misma. Después, se pasaron 4 mL de una mezcla de hexano/acetato de etilo (85:15, v/v) a través de la columna. Se lavó de nuevo el matraz inicial con 10 mL de metanol y se volvió a pasar por la columna, recogiendo el resultado en nuevos matraces cónicos. Se evaporó el disolvente hasta sequedad en un rota-vapor a temperatura ambiente y bajo vacío. El residuo resultante se extrajo con 0,5 mL de metanol/agua (1:1, v/v) en un tubo de donde se tomó la muestra para el fraccionamiento de los compuestos por CLAE. Se agitó y se dejó en reposo durante 4 horas en el frigorífico.

Transcurrido este tiempo se filtró la muestra y se tomaron 20 µL de la disolución para ser inyectada en el inyector de un cromatógrafo (Hewlett-Packard de la serie 1100 equipado con una columna Lichrospher 100RP-18 (4,0 mm de diámetro interno × 250 mm de longitud y 5 µm de diámetro de partícula) y con un detector de diodos en fila Ultravioleta / Visible) El proceso se lleva a cabo a 30 °C con una velocidad de flujo de 1,0 mL/min usando como fase móvil una mezcla de agua: ácido acético (97:3, v/v) (solvente A) combinada con otra de metanol: acetonitrilo (1:1, v/v) (solvente B). El gradiente de solventes cambio desde 95 % (A) – 5% (B) a 70 % (A) - 30 % (B) en 25 minutos, 60 % (A) – 40 % (B) en 10 minutos, 52 % (A) – 48 % (B) en 5 minutos, 30 % (A) – 70 % (B) en 5 minutos hasta el final.

### **2.2.8 Ácidos grasos**

La determinación por cromatografía en fase gaseosa de la composición cualitativa y cuantitativa de los ácidos grasos del aceite de oliva virgen extra se llevó a cabo mediante la obtención de los correspondientes ésteres metílicos.

Para su determinación se pesó 50 mg de la muestra de aceite, se disolvió en 2 mL de heptano y a continuación, se añadió 250 µL de potasa metanólica 2 N. A continuación, se agitó y se dejó aproximadamente 30 minutos para separar las diferentes fases, quedando abajo las glicerinas y arriba los ésteres metílicos. Posteriormente se separa la parte superior y se pone en viales para inyección automática en el cromatógrafo de gases HP 6890. Los análisis se llevaron a cabo con una rampa de temperatura que comenzaron con 165 °C durante 4 minutos, un incremento de 2 °C por minuto hasta alcanzar los 200 °C, y un mantenimiento de esta temperatura durante 15 minutos. La temperatura del inyector era de 200 °C, y la del detector de 250 °C, con un flujo de

gas auxiliar (N<sub>2</sub>) de 30 mL/min, flujo de split de 70 mL/min y una relación de split de 1/40.

En el cromatograma se identifican los picos, que corresponden a los ácidos grasos, calculando los tiempos de retención relativos al ácido oleico (mayoritario en el aceite de oliva virgen). Después se halla el área total de los picos de los ácidos grasos presentes en el aceite, restando del área total las áreas de los picos que no interesen.

$$\text{Ácidos grasos (\%)} = \frac{A_x \times 100}{\sum A}$$

Siendo:

$A_x$  = Área del pico del ácido graso

$\sum A$  = Suma de las áreas de todos los ácidos grasos

### 2.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico de los resultados se usó el programa SPSS Statistics 20 (Statistical Package for the Social Sciences) desarrollado por IBM para Windows 8. Se ha realizado un análisis estadístico descriptivo de media, la mediana, la desviación estándar y del coeficiente de variación de cada variable para el conjunto de 129 muestras de aceite de oliva de diferentes orígenes, para los datos químicos se ha realizado un análisis de los componentes principales con el fin de reducir el número de variables y una regresión lineal múltiple para poder explicar el comportamiento la variable Estabilidad Oxidativa en función de un conjunto de variables químicas seleccionadas.

La tabla 6 recoge la abreviatura que se le asignó a cada variable, el nombre completo y las unidades en las que son medidas.

Estas variables se clasifican en cuatro grandes grupos:

- Parámetros de calidad del aceite de oliva,
- tocoferoles,
- polifenoles y
- esteres metílicos.

**Tabla 6:** Abreviaturas de las variables y unidades de medida

<b>Abreviatura</b>	<b>Variable</b>	<b>Unidades</b>
<b>Ac</b>	Grado de Acidez	% oleico
<b>IP</b>	Índice de peróxidos	mEq O <sub>2</sub> /kg
<b>K232</b>	Absorbancia UV	absorbancia de ultravioleta a 232 nm
<b>K270</b>	Absorbancia UV	absorbancia de ultravioleta a 270 nm
<b>Carot</b>	Carotenos	mg/kg
<b>Clorof</b>	Clorofila	mg/kg
<b>EstOx</b>	Estabilidad Oxidativa	horas
<b>AlfaT</b>	Alfa tocoferol	mg/kg
<b>BetaT</b>	Beta tocoferol	mg/kg
<b>GamT</b>	Gamma tocoferol	mg/kg
<b>DeltaT</b>	Delta tocoferol	mg/kg
<b>TocoT</b>	Tocoferol total	mg/kg
<b>Hty</b>	Hidroxitirosol	mg/kg
<b>Ty</b>	Tirosol	mg/kg
<b>AcVan</b>	Ácido vanílicio	mg/kg
<b>van</b>	Vanillina	mg/kg
<b>Cuma</b>	Acido p-cumárico	mg/kg
<b>AcetHty</b>	Acetato de hidroxitirosol	mg/kg
<b>DHTy1</b>	1° derivado de hidroxitirosol	mg/kg
<b>AcetTY</b>	Acetato de tirosol	mg/kg
<b>DTY1</b>	1° derivado de tirosol	mg/kg
<b>Pino</b>	Pinoresinol	mg/kg
<b>Accin</b>	Acido cinámico	mg/kg
<b>AcetPino</b>	Acetoxypinoresinol	mg/kg
<b>DHTY2</b>	2° derivado de hidroxitirosol	mg/kg
<b>DTY2</b>	2° derivado de tirosol	mg/kg
<b>Acferu</b>	Ácido ferúlico	mg/kg
<b>Luteo</b>	Luteonina	mg/kg
<b>Api</b>	Apigenina	mg/kg
<b>mirístico</b>	Ácido mirístico (14:0)	%
<b>palmítico</b>	Ácido palmítico (16:0)	%
<b>palmitoleico</b>	Ácido palmitoleico (16:1)	%
<b>margárico</b>	Ácido Margárico (17:0)	%
<b>margaroleico</b>	Ácido Margaroleico (17:1)	%
<b>esteárico</b>	Ácido esteárico (18:0)	%
<b>oleico</b>	Ácido oleico (18:1)	%
<b>linoleico</b>	Ácido linoleico (18:2)	%
<b>araquídico</b>	Ácido araquídico (20:0)	%
<b>linolénico</b>	Ácido linolénico (18:3)	%
<b>gondoico</b>	Ácido gondoico (20:1)	%
<b>behénico</b>	Ácido behénico (22:0)	%
<b>lignocérico</b>	Ácido Lignocérico (24:0)	%





### 3. Resultados y discusión

### 3.1 Estadística descriptiva de cada variable

Para el desarrollo de los estudios estadísticos se han calculado los estadísticos descriptivos media, mediana, desviación estándar y coeficiente de variación de cada variable. Se han elaborado las tablas 7, 8, 9 y 10, donde se recogen, además de, los valores máximos y mínimos de cada una de las variables estudiadas para el conjunto de las 129 muestras de aceite procedentes de cinco fincas diferentes.

**Tabla 7:** Estadísticos descriptivos de los parámetros de calidad de aceite de oliva

	<b>media</b>	<b>mediana</b>	<b>mínimo</b>	<b>máximo</b>	<b>desviación estándar</b>	<b>coeficiente de variación</b>
<b>Ac</b> (% oleico)	0,5	0,4	0,2	1,8	0,3	70,7
<b>IP</b> (mEq O2/kg)	4,5	4,7	1,6	9,6	1,8	40,5
<b>K232</b>	1,64	1,60	0,09	2,87	0,37	22,82
<b>K270</b>	0,115	0,103	0,036	0,203	0,038	32,797
<b>Carot</b> (mg/kg)	6,6	5,0	2,3	32,3	4,5	68,4
<b>Clorof</b> (mg/kg)	7,8	5,6	1,9	41,1	5,9	76,4
<b>EstOx</b> (horas)	42,9	36,0	19,7	100,1	19,3	45,0

N= 129 Muestras procedentes de diversos proyectos de investigación del IG (CSIC)

**Tabla 8:** Estadísticos descriptivos de los tocoferoles

<b>Tocoferoles</b> (mg/kg)	<b>media</b>	<b>mediana</b>	<b>mínimo</b>	<b>máximo</b>	<b>desviación estándar</b>	<b>coeficiente de variación</b>
<b>AlfaT</b>	270,6	256,1	23,7	871,5	121,7	45,0
<b>BetaT</b>	1,0	0	0	9,9	2,1	217,1
<b>GamT</b>	0,3	0	0	11,6	1,5	592,1
<b>DeltaT</b>	0	0	0	0	0	0
<b>TocoT</b>	271,8	256,1	23,7	871,5	121,4	44,7

N= 129 Muestras procedentes de diversos proyectos de investigación del IG (CSIC)

**Tabla 9:** Estadísticos descriptivos de los fenoles

<b>Compuestos Fenólicos (mg/kg)</b>	<b>media</b>	<b>mediana</b>	<b>mínimo</b>	<b>máximo</b>	<b>desviación estándar</b>	<b>coeficiente de variación</b>
<b>Hty</b>	3,6	1,3	0	18,6	4,3	120,2
<b>Ty</b>	4,6	2,4	0,5	36,2	5,2	114,0
<b>AcVan</b>	0,4	0,3	0	2,0	0,4	96,9
<b>Van</b>	0,1	0,1	0	0,6	0,1	98,7
<b>Cuma</b>	0,3	0,2	0	2,9	0,4	136,9
<b>AcetHty</b>	11,2	12,5	0	35,9	9,0	80,6
<b>1DHty</b>	30,6	26,3	0	95,6	24,9	81,4
<b>AcetTY</b>	20,7	0	0	125,8	38,9	187,6
<b>1DTY</b>	23,4	16,7	0	88,4	20,6	88,0
<b>Pino</b>	3,8	2,2	0	22,0	4,0	104,4
<b>Accin</b>	0	0	0	0	0	0
<b>AcetPino *</b>	20,5	21,3	0	37,1	7,9	38,3
<b>2DHTY</b>	27,0	4,3	0	182,2	45,8	169,4
<b>2DTY</b>	15,2	10,1	3,5	68,1	12,3	80,9
<b>Acferu</b>	8,1	0	0	43,3	11,4	140,8
<b>Luteo *</b>	2,3	2,4	0,3	5,0	1,0	41,0
<b>Api</b>	0,9	0,8	0,1	4,2	0,5	56,6

N= 129 Muestras procedentes de diversos proyectos de investigación del IG (CSIC)

(\*) No presentan distribución Normal (Test de Kolmogorov-Smirnov para la normalidad) P-valor > 0,05

**Tabla 10:** Estadísticos descriptivos de los ésteres metílicos

<b>Acidos grasos (NC:NI)*</b>	<b>media</b>	<b>mediana</b>	<b>mínimo</b>	<b>máximo</b>	<b>desviación estándar</b>	<b>coeficiente de variación</b>
<b>mirístico (14:0)</b>	0	0	0	0	0	0
<b>palmítico (16:0)</b>	16,2	17,5	9,6	20,4	3,1	19,1
<b>palmitoleico (16:1)</b>	1,5	1,7	0,2	3,2	0,6	43,4
<b>Margárico (17:0)</b>	0	0	0	0	0	0
<b>Margaroleico (17:1)</b>	0	0	0	0	0	0
<b>estearico (18:0)</b>	2,0	1,8	1,4	3,0	0,5	24,0
<b>oleico (18:1)</b>	65,6	62,6	55,2	78,1	6,1	9,3
<b>linoleico (18:2)</b>	13,1	14,7	6,8	18,8	3,2	24,0
<b>araquidico (20:0)</b>	0,5	0,5	0	1,5	0,2	33,3
<b>linolenico (18:3)</b>	0,2	0,3	0	0,5	0,2	79,4
<b>gondoico (20:1)</b>	0,8	0,7	0,4	1,6	0,1	18,8
<b>behenico (22:0)</b>	0,1	0,1	0	0,4	0,1	82,2
<b>Lignocérico (24:0)</b>	0	0	0	0	0	0

N= 129 Muestras procedentes de diversos proyectos de investigación del IG (CSIC)

\*(NC:NI) Numero de carbonos: número de insaturaciones

Por lo general media y mediana no coinciden, esto indica que existe una cierta asimetría en la distribución de frecuencias de las mayorías de las variables. Esta asimetría puede ser debida al diferente origen de la muestra, ya que proceden de diferentes variedades con distintas fechas de toma de muestras o por otros factores que hasta ahora desconocemos.

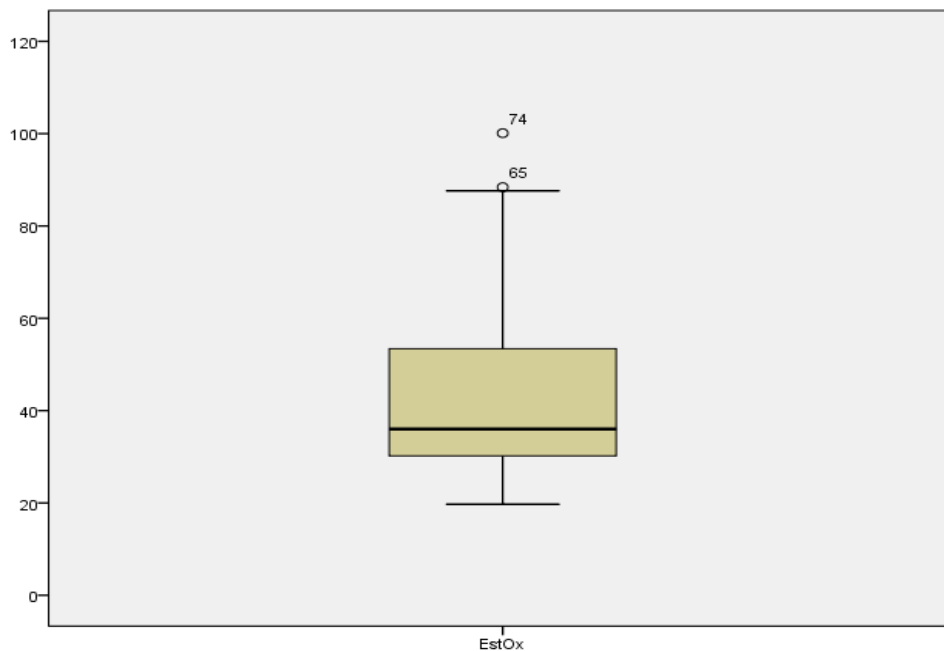
El contraste de Kolmogorov-Smirnov para la normalidad cuyo p-valor indica la aceptación de la normalidad al 95% ha sido positivo para todas las variables menos Luteolina y acetato de Pinoresinol, se indican en la tabla 9 con un asterisco por presentar un p- valor mayor a 0.05.

Los gráficos de cajas y bigotes permiten representar la mediana (línea central) y primer y tercer cuartil (lados superior e inferior de la caja) del conjunto total, o de un grupo, de muestras. Fuera de los bigotes quedarían, en caso de existir, los outliers, o muestras que tienen un valor fuera de rango, con un 95% de confianza.

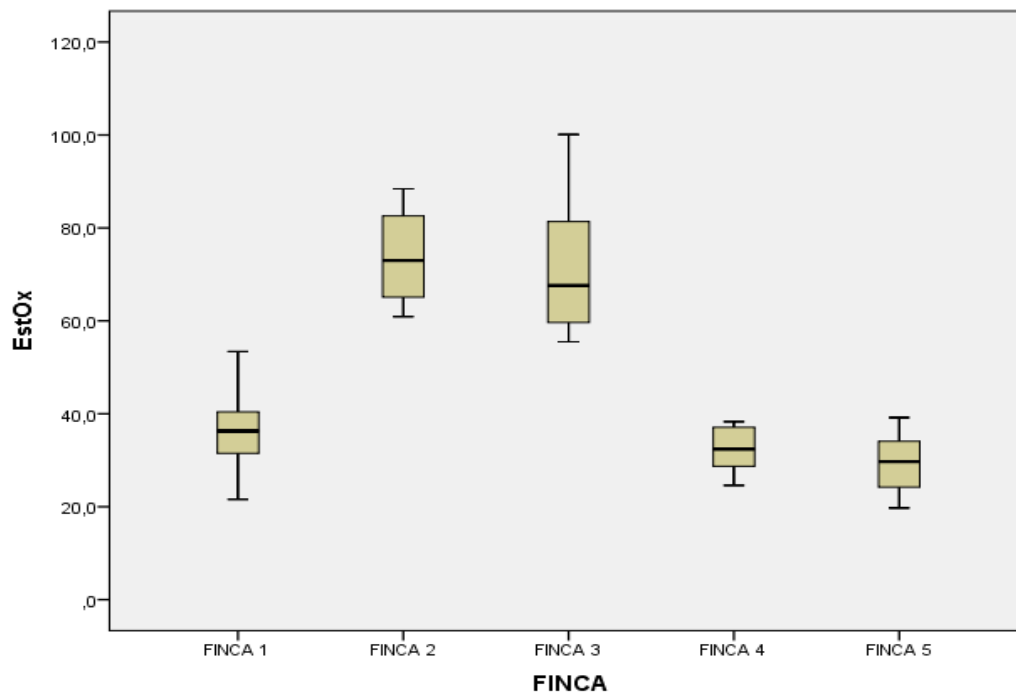
Realizando la representación gráfica de cajas y bigotes, de la variable Estabilidad Oxidativa, para el conjunto de las 129 muestras (figura 10). Se observa que el 50 % de las muestras tienen una estabilidad oxidativa por encima de 40 h. Agrupando las muestras por fincas (figura 11), podemos observar que la estabilidad oxidativa muestra claras diferencias entre las fincas 2 -3 y las fincas 1,4 y 5. Por otro lado también se observan diferentes rangos de variación entre fincas.

Del conjunto de 129 muestras, solo dos aparecen como outliers, sin embargo, al agrupar las muestras según su origen, no se observan outliers. Las muestras 65 y 74 pertenecen a la finca 3, que es una de las que presenta mayores valores de Estabilidad Oxidativa, y mayor variabilidad en dicho parámetro

**Figura 10:** grafico de cajas y bigotes de la estabilidad oxidativa total del conjunto de muestras

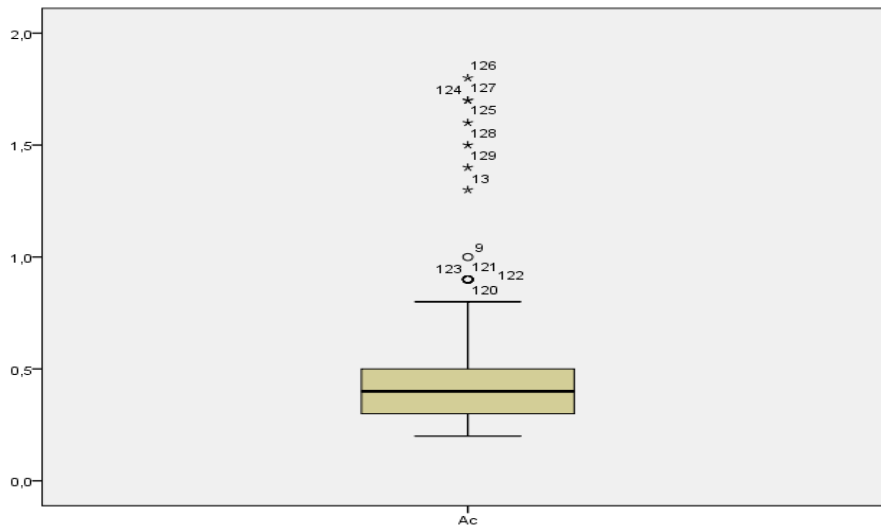


**Figura 11:** grafico de cajas y bigotes de la estabilidad oxidativa por fincas

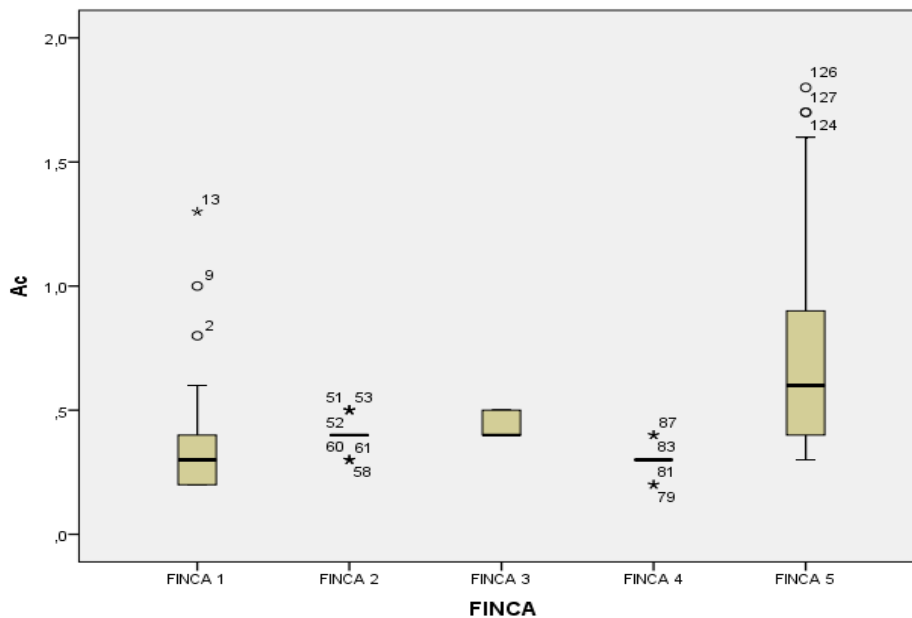


En el gráfico de cajas y bigotes de la variable acidez (figura 13) observamos que la acidez media para el conjunto de muestras es de 0.5 %, y presenta valores similares en todas las fincas. Tiene un comportamiento diferenciado entre fincas en cuanto al rango de dispersión, observándose una alta concentración alrededor de la media de las fincas 2,3 y 4 mientras que en las fincas 1 y 5 la dispersión es mucho mayor, y son las que presentan mayores valores de acidez, identificados como valores fuera de rango con un 95% de confianza.

**Figura 12:** grafico de cajas y bigotes para la acidez total

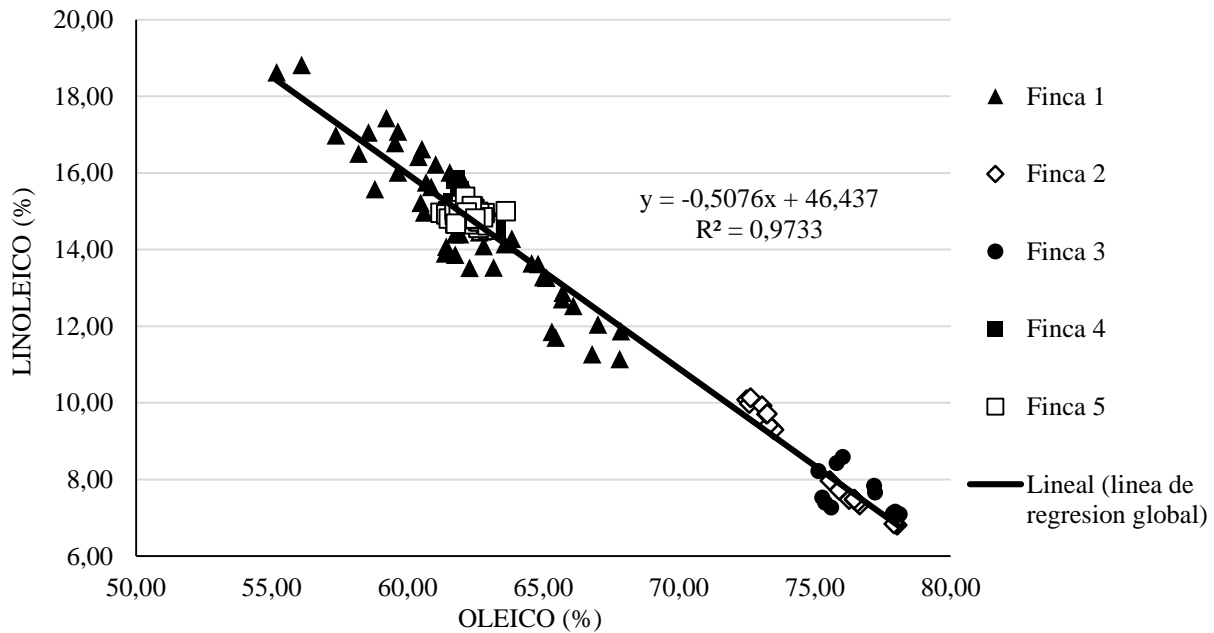


**Figura 13:** grafico de cajas y bigotes de la acidez para cada una de las fincas

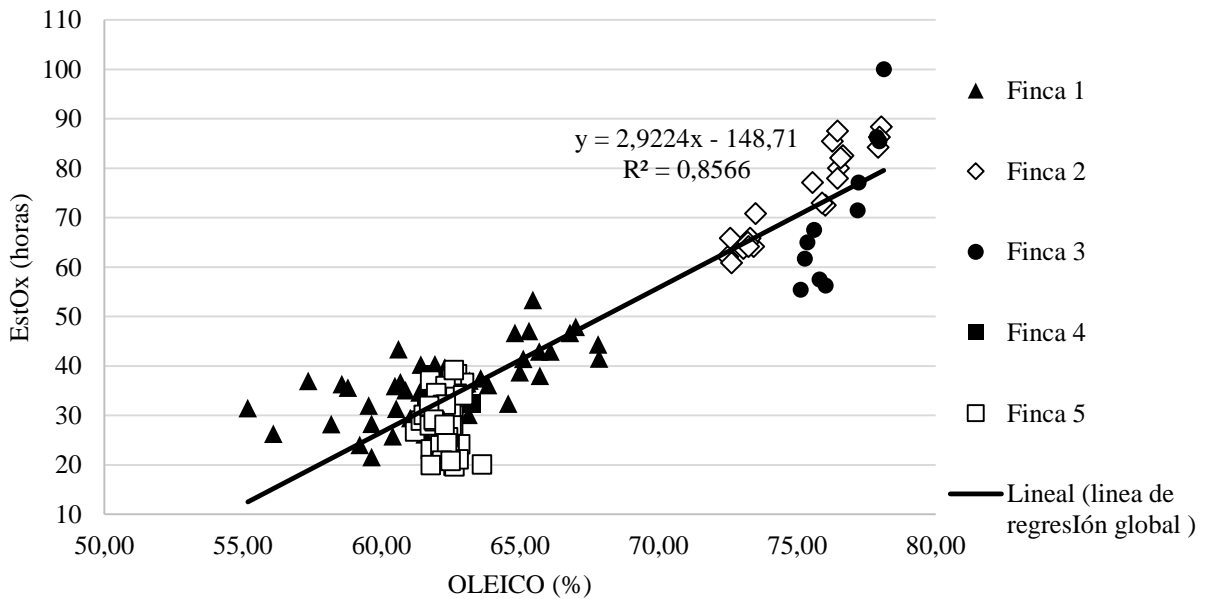


Se ha representado la relación que existe entre el ácido oleico y el ácido linoleico, y también la relación que existe con la estabilidad oxidativa.

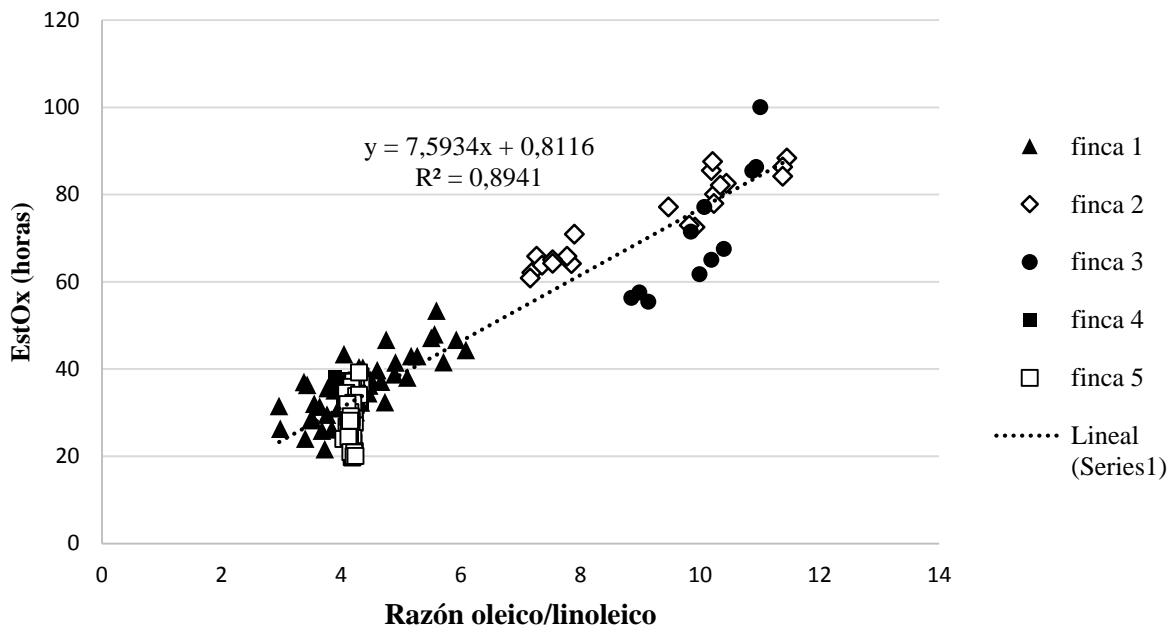
**Figura 14:** grafico de relación del ácido oleico y ácido linoleico



**Figura 15:** grafico de relación del ácido oleico y la estabilidad oxidativa



**Figura 16:** grafico que enfrenta la relación entre la razón oleico/linoleico y la estabilidad oxidativa



En las gráficas representadas se observa una relación del ácido oleico con la estabilidad oxidativa ya que si una aumenta también aumenta la otra. Ocurre lo contrario con el ácido oleico y el ácido linoleico si uno de ellos aumenta el otro disminuye, es decir si aumenta el ácido oleico disminuye el ácido linoleico. Sin embargo, en la relación de la estabilidad oxidativa frente a la razón oleico/linoleico se observa que al aumentar una, aumenta la otra. Esto ya lo demostró Tekaya et al. (2013) y Morales et al (1997) en sus estudios, donde informaron de que la estabilidad de los aceites es mayor, cuando el contenido de ácido oleico (C18: 1) es alta y el contenido de ácido linoleico (C18: 2) es baja, y sugirieron que el cociente entre ácido oleico y linoleico estaba estrechamente asociado con la estabilidad oxidativa de los aceites.

### 3.2 Análisis de componentes principales

El análisis de componentes principales es un método estadístico multivalente de simplificación o reducción de la dimensión de una tabla de casos-variables con datos cuantitativos, para obtener otra de menor número de variables, combinación lineal de las primitivas, que se denominan componentes principales o factores, cuya posterior interpretación permitirá un análisis más simple del problema estudiado. No necesita comprobar la normalidad de la distribución de



las variables ni establecer jerarquías entre ellas (variable dependiente o independiente).

El análisis de componentes principales permite describir, de un modo sintético la estructura y las interrelaciones de las variables originales en el fenómeno que se estudia a partir de las componentes obtenidas que habrá que interpretar y nombrar.

En el estudio realizado se han obtenido los siguientes resultados del análisis de componentes principales:

**Tabla 11:** Varianza total explicada

Componente	Autovalores iniciales		
	Total	% de la varianza	% acumulado
1	14,679	40,775	40,775
2	3,988	11,077	51,853
3	3,449	9,580	61,433
4	2,834	7,872	69,305
5	1,658	4,606	73,911
6	1,488	4,132	78,043
7	1,172	3,255	81,298

El análisis de componentes principales permite extraer 7 componentes con varianza >1, que explican un 81,3% de la varianza (tabla 11). Mediante la rotación Varimax con Kaiser.a (tabla 12) se ha conseguido reducir estos componentes a los 7 componentes principales.

- El primer componente explica el 40,8 % de la varianza total, y agrupa variables, asociadas de forma directa, como la estabilidad oxidativa, ácido oleico, acetato de tirosol, segundo derivado del hidroxitirosol, ácido esteárico, hidroxitirosol, Pinoresinol, K<sub>270</sub>, segundo derivado del tirosol, tirosol, primer derivado del tirosol, y clorofilas. Otras variables se asocian de forma inversa con el primer componente: el ácido linoleico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, índice de peróxido, Vanillina y acetato de hidroxitirosol
- El segundo componente explica el 11,07 % de la varianza total, y agrupa variables como ácido ferúlico, ácido vanílico, ácido cumárico, asociadas de forma directa con el segundo componente. Presenta una correlación negativa el ácido linolénico.

**Tabla 12:** matriz de componentes rotados del ACP para las muestras de aceite de oliva<sup>a</sup>

	Componente						
	1	2	3	4	5	6	7
EstOx	<b>,937</b>	-,008	-,013	,082	,098	,113	,150
Oleico	<b>,928</b>	-,107	-,155	,094	-,063	,031	,184
AcetTY	<b>,922</b>	-,163	-,092	,168	,117	,021	-,037
linoleico	<b>-,918</b>	,040	,105	-,105	,075	-,030	-,200
DHTY2	<b>,915</b>	-,161	-,064	,125	,216	-,081	-,063
palmítico	<b>-,910</b>	,199	,173	-,161	,023	-,025	-,169
esteárico	<b>,904</b>	-,199	,073	,269	,088	-,063	,041
Hty	<b>,865</b>	-,067	-,065	-,033	-,096	-,050	,269
Pino	<b>,856</b>	,048	-,056	,008	,039	-,029	-,191
K270	<b>,846</b>	-,090	,013	,410	,037	-,132	-,069
palmitoleico	<b>-,826</b>	,231	-,012	-,272	-,050	,102	-,070
DTY2	<b>,811</b>	-,150	,024	,083	,272	-,116	-,111
Ty	<b>,764</b>	-,069	-,049	,014	-,159	-,215	,354
IP	<b>-,660</b>	,031	-,037	,441	-,172	-,090	-,223
DTY1	<b>,658</b>	-,049	,123	,129	,596	-,141	-,029
Van	<b>-,540</b>	,510	-,001	,245	,342	-,074	-,021
Clorof	<b>,530</b>	,334	,476	,305	,285	-,189	-,264
AcetHty	<b>-,493</b>	,454	,081	-,392	,162	,327	-,152
Acferu	-,196	<b>,870</b>	,010	-,130	,059	,083	-,062
AcVan	-,310	<b>,804</b>	-,049	-,087	,099	-,004	,030
Cuma	,132	<b>,595</b>	,031	-,290	-,405	,074	,068
linolénico	,472	<b>-,556</b>	-,331	,485	-,077	,015	,025
TocoT	-,198	,034	<b>,933</b>	-,076	-,091	-,015	,020
AlfaT	-,205	,034	<b>,933</b>	-,079	-,091	-,016	-,002
gondoico	-,015	-,105	<b>,613</b>	,271	,292	-,226	,106
Carot	,444	,366	<b>,526</b>	,355	,298	-,183	-,194
araquídico	,137	-,131	,014	<b>,790</b>	,193	-,079	,146
behénico	,318	-,173	,144	<b>,762</b>	,003	-,016	-,015
K232	,356	-,314	-,166	<b>,426</b>	,119	-,142	-,245
AcetPino	-,117	,066	-,119	,161	<b>,809</b>	,030	-,199
DHty1	,585	-,091	,052	,043	<b>,690</b>	,137	-,037
Ac	-,161	-,316	-,185	,184	<b>-,582</b>	-,233	-,217
Api	-,066	-,081	,006	-,162	,001	<b>,902</b>	-,038
Luteo	-,065	,283	-,351	,045	,146	<b>,795</b>	,008
GamT	,117	-,039	,127	-,064	-,180	-,134	<b>,807</b>
BetaT	,356	,057	-,175	,246	,136	,160	<b>,641</b>

Método de extracción: Análisis de componentes principales.

Método de rotación: Normalización Varimax con Kaiser.a

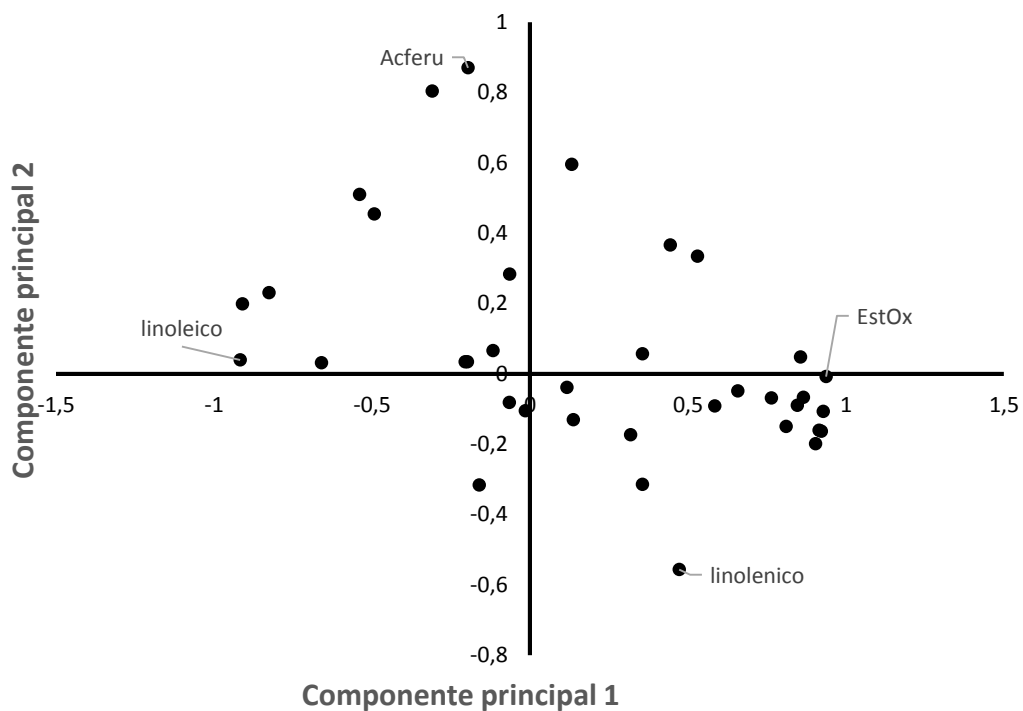
a. La rotación ha convergido en 7 iteraciones.

- El tercer componente explica el 9,58 % de la varianza total, y agrupa variables como tocoferoles totales, alfa tocoferol, ácido gondoico y caroteno.
- El cuarto componente explica el 7,87 % de la varianza total, y agrupa variables como ácido araquídico, ácido behénico y K<sub>232</sub>.
- El quinto componente explica el 4,6 % de la varianza total, y agrupa variables como Acetoxypinoresinol, primer derivado del hidroxitirosol, de forma directa, y la acidez.
- El sexto componente explica el 4,1 % de la varianza total, y agrupa variables como Apigenina y Luteolina.
- El séptimo componente explica el 3,2 % de la varianza total, y agrupa variables como gamma tocoferol y beta tocoferol.

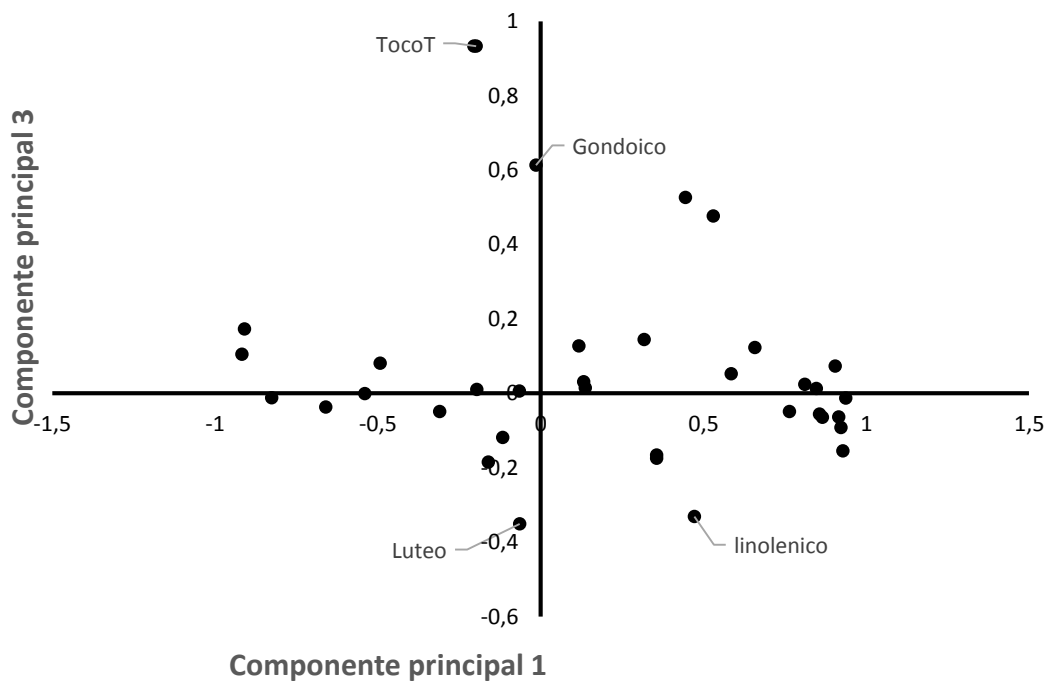
Los tres primeros componentes explican en conjunto un 61 % de la varianza, los hemos representados uno frente al otro para ver la contribución de cada una de las variables que los componen. Los resultados obtenidos para cada componente, C2 y C3, frente a C1 aparecen en los siguientes gráficos (figuras 17 y 18), donde se representa el conjunto total de variables en el nuevo espacio vectorial, se nombran las variables que tienen mayor peso en cada componente.

Las figuras 19 y 20 presentan los valores de los componentes C2 y C3 frente a C1 para las 129 muestras en el nuevo espacio vectorial. En este caso se indica la procedencia de las muestras con diferentes símbolos

**Figura 17:** representación conjunta de los componentes 1 y 2 del ACP para las variables

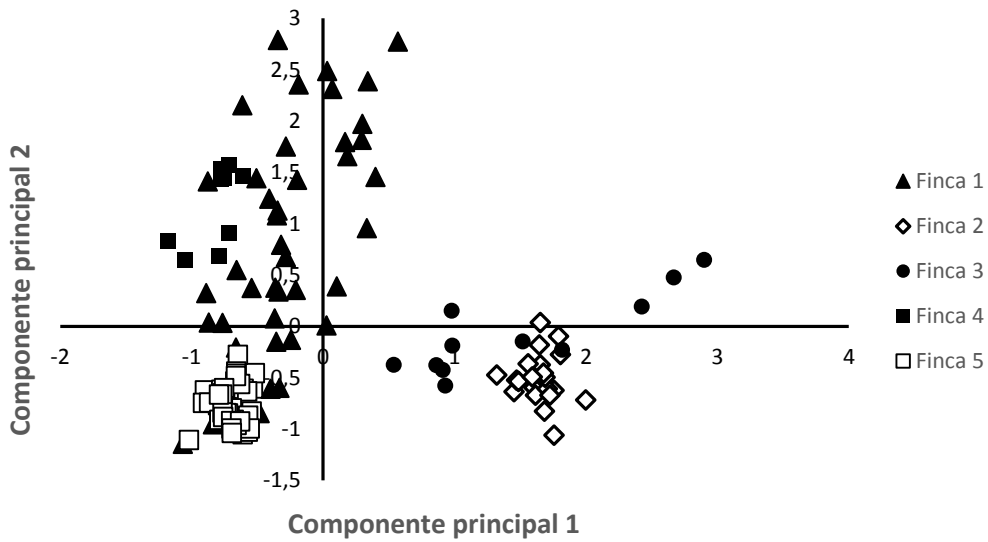


**Figura 18:** representación conjunta de los componentes 1 y 3 del ACP para las variables

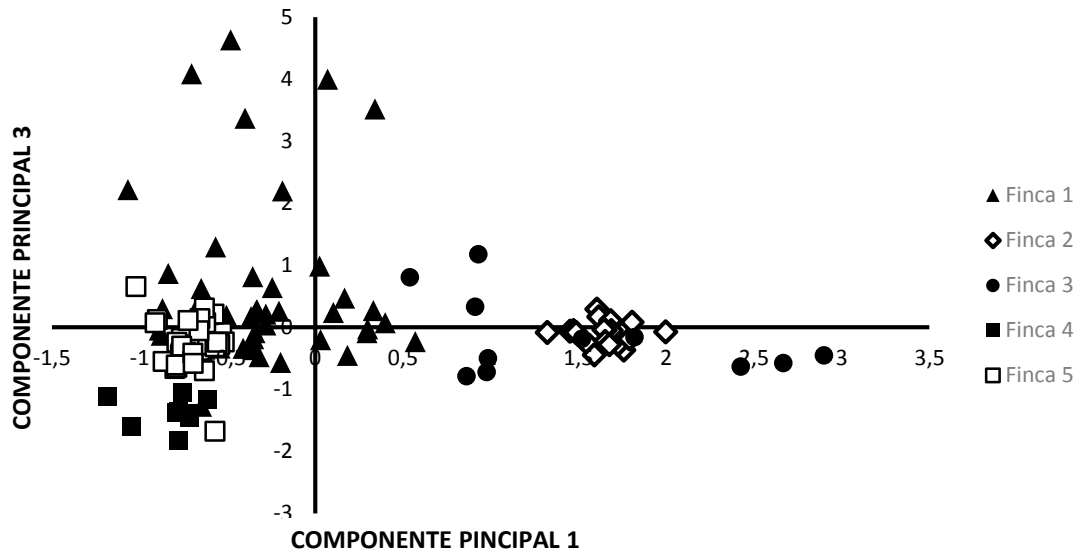


En las figuras 19 y 20 se representan con diferentes símbolos las muestras de las diferentes fincas, en nuestro caso las fincas son cinco, con diferentes tipos de aceites de oliva

**Figura 19:** representación conjunta de los componentes 1 y 2 de ACP para las muestras de aceite de oliva



**Figura 20:** representación conjunta de los componentes 1 y 3 de ACP para las muestras de aceite de oliva



El componente C1, donde tienen gran peso las variables EO y oleico separa claramente dos grupos de muestras, con altos valores positivos del componente C1, las muestras de las fincas 2 y 3. Con valores negativos del Componente C1 aparecen las muestras de las fincas 4 y 5. El conjunto de muestras de la finca 1, aparece en una posición intermedia.

El componente C2, donde tiene gran peso la variable ácido ferúlico, permite separar las fincas 4 y 5. Las muestras de la finca 4 aparecen en la parte superior de la figura 19, con valores positivos del componente C2, mientras que las muestras de la finca 5 aparecen en la parte inferior del gráfico, con valores negativos del componente C2.

Por último, el componente C3, donde tienen gran peso los Tocoferoles totales, parece separar un gran número de muestras de la finca 3, frente a todas las demás muestras que tienen valores bajos o negativos del componente C3.

De todo lo expuesto anteriormente, se constata que las variables más significativas y por tanto con mayor relación con la estabilidad oxidativa son ácido oleico, ácido ferúlico, tocoferoles totales, ácido araquídico, Acetoxypinoresinol, Apigenina y  $\gamma$ -tocoferol.

### **3.3 Regresión lineal múltiple**

La regresión múltiple tiene como objetivo analizar un modelo que pretende explicar el comportamiento de una variable (variable endógena, explicada o dependiente), designada como Y, utilizando la información proporcionada por los valores tomados por un conjunto de variables explicativas (exógenas o independientes) designadas por  $x_1, x_2, x_3, \dots, x_k$ .

El modelo lineal viene dado por la ecuación:

$$Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + \dots + b_kx_k + u$$

Los coeficientes  $b_1, b_2, \dots, b_k$  denotan la magnitud del efecto que las variables independientes ( $x_1, x_2, \dots, x_k$ ) tiene sobre la variable dependiente (Y). El coeficiente  $b_0$  se denomina término constante del modelo. El término  $u$  se denomina término de error.

Hay que eliminar variables que estén fuertemente correlacionadas y aquellas que no son relevantes, en este caso se han eliminado el  $\delta$ -tocoferol, y los ácido cinámico, mirístico, margárico, margaroleico y lignocérico porque todos, o una gran mayoría de los valores que representan son ceros.

Para cumplir la hipótesis de independencia elegimos una variable de cada uno de los componentes principales encontrados:

- Componente principal 1: Ácido oleico
- Componente principal 2: ácido ferúlico
- Componente principal 3: tocoferoles totales
- Componente principal 4: ácido araquídico
- Componente principal 5: Acetoxypinoresinol
- Componente principal 6: Apigenina
- Componente principal 7: gamma tocoferol

Una vez realizado el análisis de regresión lineal múltiple se obtiene un resumen del modelo.

**Resumen del modelo<sup>b</sup>**

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación	Estadísticos de cambio	
					Cambio en R cuadrado	Cambio en F
1	,945 <sup>a</sup>	,893	,886	6,5162	,893	143,721

Modelo	Estadísticos de cambio			Durbin-Watson
	gl1	gl2	Sig. Cambio en F	
1	7 <sup>a</sup>	121	,000	1,374

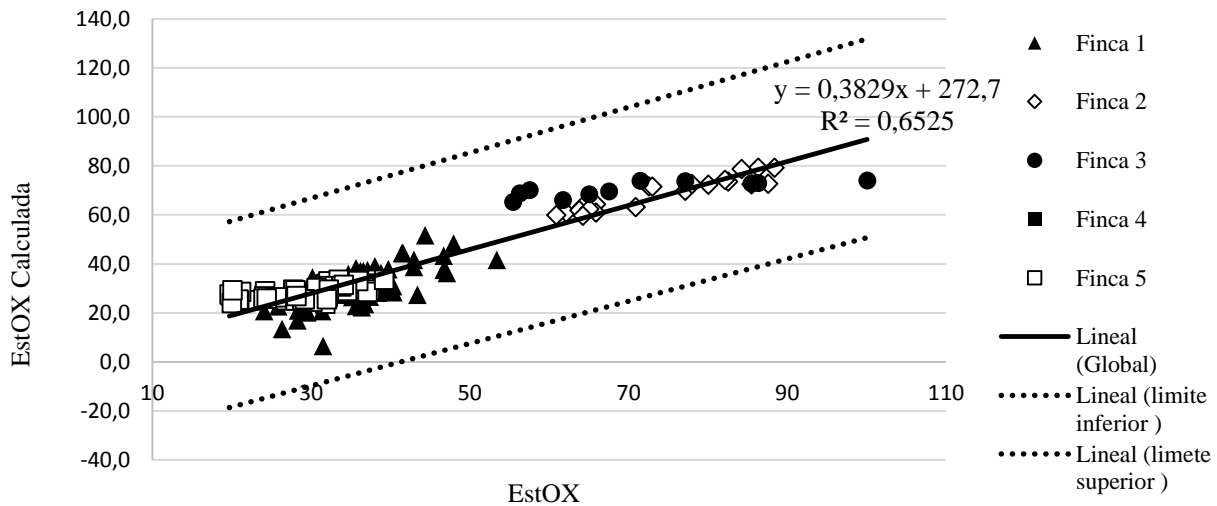
La estabilidad oxidativa se puede predecir a partir de los valores de 7 variables y 121 grados de libertad, (R= 0,945, p valor= 0.000) con la siguiente ecuación:

$$\text{EstOx}_{\text{calculada}} = -183,1 + 3,2 \text{ oleico} + 0,1 \text{ Acferu} + 0,02 \text{ tocoT} + 0,2 \text{ Acetpino} + 2,8 \text{ Api} \quad (1)$$

Para que la ecuación (1) tenga sentido es importante que las unidades en las que se expresen las distintas variables seleccionadas sean las mismas que las que han sido empleadas en este estudio, y que se describen en la tabla 6.

Para conocer la bondad del ajuste se recurre al cálculo de la Estabilidad Oxidativa mediante la ecuación (1) para cada una de las muestras y la representación gráfica (figura 18) de la Estabilidad Oxidativa calculada frente a la Estabilidad Oxidativa medida experimentalmente mediante el método Rancimat (Gutiérrez González, 1989) descrito en el apartado 2.2.5.

**Figura 21:** estabilidad oxidativa calculada frente a estabilidad oxidativa según el modelo de regresión lineal múltiple de la ecuación (1).

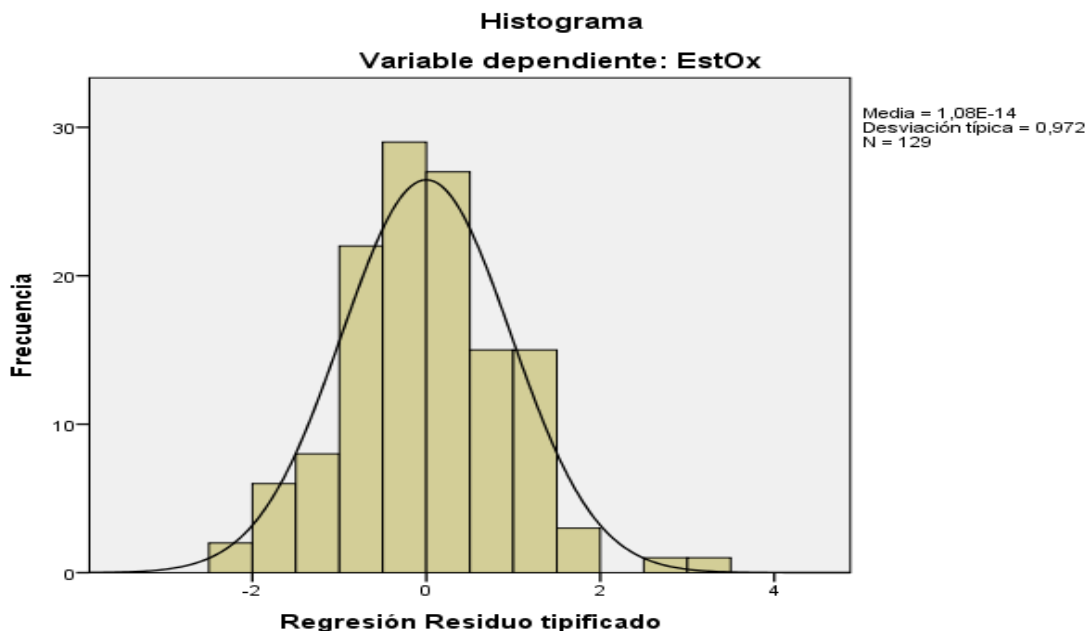


N= 129 muestras

Se representa el límite superior e inferior con un nivel de confianza del 95 %



Los residuos siguen una distribución normal, lo que indica que el modelo está bien ajustado:



La ecuación (1) es válida para muestras de aceite de oliva similares a las de este estudio con valores en el mismo rango de variación.

- Ácido oleico entre 55,2 – 78,1 %
- Ácido ferúlico entre 0 – 43,3 mg/kg
- Tocoferoles totales entre 23,7 – 871,5 mg/kg
- Acetoxypinoresinol entre 0 – 37,1 mg/kg
- Apigenina entre 0,1 – 4,2 mg/kg

Podemos agrupar estas variables químicas predictoras de la Estabilidad Oxidativa en los grupos de variables ya mencionadas (tablas 8 a 10):

- 1) Ácidos grasos: ácido oleico,
- 2) Tocoferoles: tocoferoles totales
- 3) Polifenoles: ácido ferúlico, Acetoxypinoresinol y Apigenina

Todos estos parámetros químicos tienen una gran importancia en la estabilidad oxidativa y son los responsables mayoritariamente de dicha estabilidad oxidativa, algunos autores ya estudiaron la importancia de estos parámetros de calidad.

Los antecedentes encontrados en la bibliografía, sitúan a los aceites objeto de nuestro trabajo dentro de los parámetros normales tratándose de aceites de oliva vírgenes extra. Los trabajos referidos a características fisicoquímicas de los aceites de oliva son múltiples y aquí se detallan algunos de los trabajos más relevantes encontrados.

Totosaus (1990) realizó un seguimiento de los aceites a lo largo de distintas campañas encontrando valores de acidez media en torno a 0,4 - 0,6 %, para IP los valores medios se situaron en 4,5 mEq O<sub>2</sub>/kg y el K<sub>270</sub> se situó en menor de 0,11. Estos valores son similares a los obtenidos en nuestro estudio por lo que podemos decir que se tratan de aceites de oliva vírgenes extras.

Tous et al (1997) analizaron aceites de oliva vírgenes extra de la variedad arbequina, cultivados en distintas zonas de España obteniendo cierta variabilidad en el contenido en ácido oleico, que va desde 65,7% en aceites obtenidos en Andalucía a 73,8 % de aceites de denominación Les Garriges. Estos datos nos demuestran que nos encontramos con aceites de oliva vírgenes extras en nuestro estudio.

Los tocoferoles son excelentes agentes antioxidantes naturales y le entregan estabilidad a la grasa o aceite que los posee, siendo su contenido mayor en los Aceites de Oliva Virgen (Jamett, F. 2007).

La concentración de Tocoferoles en los Aceites de Oliva Vírgenes varía de manera significativa en función de diversos factores como son: grado de madurez del fruto en el momento de la recolección, la variedad de la aceituna, duración del almacenamiento (Pinto, J. 2005), factores agronómicos, el cultivo y condiciones agroclimáticas (Beltrán, G. 2010).

Al comparar los resultados de polifenoles y tocoferoles ambos poseen actividad antioxidante, los primeros otorgan estabilidad oxidativa al aceite, mientras que la actividad antioxidante de los tocoferoles se manifiesta más en un medio biológico, es por ello que se le cataloga como nutriente esencial: Vitamina E.

La presencia de los polifenoles está relacionada con la vida de los aceites de oliva, sustancias como oleuropeína, ácido vanílico, ácido ferúlico, hidroxitirosol y sus derivados...etc., pueden retrasar considerablemente el índice de oxidación de los triglicéridos del aceite de oliva, además de contribuir a las características organolépticas (Boskou, 2006)

El ácido oleico es un ácido graso monoinsaturado que se encuentra en mayor proporción en el aceite de oliva. En un estudio realizado por Berra (1998), demuestra que este ácido graso le confiere al aceite menor riesgo de oxidación.



## 4. Conclusiones

---

En base a los objetivos planteados y a los resultados obtenidos en el apartado anterior, podemos concluir que:

- Todos los aceites estudiados pueden catalogarse en función de los parámetros de calidad como Aceites de Oliva Vírgenes Extra, aunque existan diferencias significativas entre las distintas zonas estudiadas.
- La estabilidad estará en directa relación con el contenido de antioxidantes presentes en los aceites, entre los cuales podemos mencionar los tocoferoles y los polifenoles. Es por esto que la identificación y determinación de estos constituyentes en los aceites de oliva, representa un parámetro importante para la caracterización y diferenciación de los Aceites de Oliva Vírgenes.
- Con el estudio del análisis de los componentes principales se constata que las variables más significativas y por tanto con mayor relación con la estabilidad oxidativa aparecen asociadas en el Componente 1, que explica un 40 % de la varianza total. De forma **directa** se asocian: **ácido oleico**, acetato de tirosol, segundo derivado del hidroxitirosol, ácido esteárico, hidroxitirosol, Pinoresinol, K<sub>270</sub>, segundo derivado del tirosol, tirosol, primer derivado del tirosol, y clorofilas, y de forma **inversa** se relacionan: el **ácido linoleico**, ácido palmítico, ácido palmitoleico, índice de peróxido, Vanillina y acetato de hidroxitirosol. La gran mayoría de las variables asociadas a la Estabilidad Oxidativa son polifenoles y ácidos grasos como oleico, por lo que un aumento de estos componentes en el aceite de oliva conlleva una mayor estabilidad de los aceites producidos.
- Con el estudio de la regresión lineal múltiple se ha encontrado la ecuación que permite explicar la estabilidad oxidativa de los aceites de oliva estudiados, resultando cinco variables significativas en el modelo (R= 0,945, p valor= 0.000): ácido oleico, ácido ferúlico, tocoferoles totales, Acetoxypinoresinol y Apigenina., siendo esta ecuación:

$$\text{EstOx}_{\text{calculada}} = -183,1 + 3,2 \text{ oleico} + 0,1 \text{ Acferu} + 0,02 \text{ tocoT} + 0,2 \text{ Acetpino} + 2,8 \text{ Api}$$

- Con esta ecuación se puede calcular la estabilidad oxidativa de aquellos aceites de oliva similares a los del presente trabajo. Haciendo más económico su estudio ya que solo se estudiarían en laboratorio aquellos parámetros relacionados con los polifenoles, ácidos grasos y tocoferoles, sin la necesidad de estudiar todos los parámetros requeridos en el reglamento.



## 5. Bibliografía

---

## BIBLIOGRAFIA

### A

Anderson, J. T.; Grande, F., & Keys, A.: "Coronary heart disease in Seven Countries", *Circulation*, 1970, 41; 1-211.

### B

Barranco, D., Fernández- Escobar, D. y Rallo, L. (2008). El cultivo del Olivo. 6º Ed. Ediciones Mundi-Prensa y Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. España.

Besnard G., Rubio De Casas R., Christin P.A., Vargas P. (2009). Phylogenetics of Olea (Oleaceae) based on plastid and nuclear ribosomal DNA sequences: Tertiary climatic shifts and lineage differentiation times. *Annals of Botany*. (104): 143-160.

Burón, I.; García, R. (1979). La calidad del aceite de oliva. Comunidades INIA. Ser. Tecnología Agraria, 4, 30p.

Beltrán G., A. Jiménez, C. Del Río, S. Sánchez, L. Martínez, M. Uceda, M. P. Aguilera. 2010. Variability of vitamin E in virgin olive oil by agronomical and genetic factors. España.

Berra, B. (1998) Biochemical and nutritional aspect of the minor component of olive oil. *Olivae*. 73,29-30

Boskou, D. (2006). Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science & Technology*. 17 (9): 505-512

### C

Calero, J.A. 2006. El olivo en la antigüedad. En: Actas de las IV Jornadas de Humanidades Clásicas. Cabanillas Nuñez, C.M. y Calero Carretero, J.A. (Eds.) Consejería de Cultura, Junta de Extremadura. España. p. 293-312.

Comité Oleícola Internacional (COI). 2016. (<http://www.internationaloliveoil.org/>)

Cimato, A. (1990). La caratterizzazione dell'olio extravergine "Tipico Toscano". Editori del Grifo. Montepulciano, 78 p.

Covas, M.I.; Ruiz-Gutiérrez, V.; de la Torre, R.; Kafatos, A.; Lamuela-Raventós, R.M.; Osada, J.; Owen, R.W.; Visioli, F. (2006). Minor components of olive oil. Evidence to date of health benefits in humans. *Nutr Rev*; 64(Suppl 1):20-30.

## F

Fontanazza, G. y Cipriani, M. (2001). Il miglioramento genetico dell'olivo (*Olea europea* L.): sistemi tradizionali e tecniche innovative. Proc. Biotecnologie agrarie ed alimentari, 25–26 October. Mosciano Stazione. Italy, Media edizioni.

Fernández, J. E., Moreno, F., Cabrera, F., Arrue, J. L., Martí-Aranda, J. (1991). Drip irrigation, soil characteristics and the root distribution and root activity of olive trees. *Plant and Soil*. 239-251.

Frías, L., García, A., Hermoso, M; Jiménez, A., Llaveró del Pozo, M. P., Morales, J., Ruano, T., Uceda, M. (1991). Analistas de laboratorio de almazara, *Informaciones Técnicas* 6/91, Junta de Andalucía, Sevilla. 107-114.

## G

Gómez del Campo, M. y Barranco, D. 2009. Situación del olivar en España y el seguro agrario. Universidad Politécnica de Madrid y Universidad de Córdoba. España.

Guzmán Álvarez, J.R. 2005. Territorio y medio ambiente en el olivar andaluz. *Olivicultura y Elaiotécnia*. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. España.

Guerrero, A. (1988). *Nueva olivicultura*. Mundi-Prensa, Madrid, España.

Gimeno, E.; Castellote, A. I.; Lamuela-Raventós, R. M.; de La Torre-Boronat MC; Lopez-Sabater, M. C. Rapid high-performance liquid chromatographic method for the simultaneous determination of retinol, alpha-tocopherol and beta-carotene in human plasma and low-density lipoproteins. *Journal of Chromatography.B, Biomedical Sciences & Applications*.758(2):315-22, 2001.

Gandul Rojas, B.; Mínguez Mosquera, M.I. (1996a). Chlorophyll and carotenoid composition in virgin olive oils from various Spanish olive varieties. *J Am Oil Chem Soc*, 72: 31-39.

Gutiérrez González-Quijano, R. (1983). Normalización y tipificación de la calidad. La legislación vigente nacional e internacional. Ponencia Simposio de Expoliva. pg 63-92. Jaén.

Gutiérrez González-Quijano, R. (1989). Parámetros de calidad del aceite de oliva. III Simposium Nacional del aceite de oliva. Expoliva-89. Jaén.

## H

Harwood J, Aparicio R. Handbook of olive oil, Analysis and Properties: Kluwer Academic Publishers J.L. Harwood, R. Aparicio; 2000.

## J

Jamett F., A. Benavides., H. Troncoso y M. Astorga. 2007. Caracterización de aceites de oliva en zonas de la Región de Coquimbo. 68p. Boletín Inia 161. Instituto de Investigaciones Agropecuarias Intihuasi, La Serena, Chile.

## K

Kacem, M., Kazouz, F., Merabet, C., Rezki, M., de Lajudie, P. y Abdelkader, B. 2009. Antimicrobial activities of *Rhizobium* sp. strains against *Pseudomonas savastoni* the agent responsible for the olive knot disease in Algeria. *Grasas y Aceites*, 60 (2): 139-146.

## M

Maestro Duran, R.; Borja Padilla, R. La calidad del aceite de oliva en relación con la composición y maduración de la aceituna. *Grasas y Aceites* 1990, 41, 171-78

Mateos, R.; Espartero, J.L.; Trujillo, M.; Rios, J.J.; Leon-Camacho, M.; Alcudia, F.; Cert, A. (2001). Determination of phenols, flavones and lignans in virgin olive oil by soil-phase extraction and high-performance liquid chromatography with diodearray ultraviolet detection. *J Agri Food Chem* 49: 2185-2219.

Morales MT; Rios JJ; Aparicio, R. (1997) Changes in the volatile composition of virgin olive oil during oxidation: flavors and offflavors. *J Agric Food Chem* 45:2666–2673



## N

Nico, A.I., Rapoport, H.F., Jiménez-Díaz, R.M. y Castillo, P. 2002. Incidence and population density of plant-parasitic nematodes associated with olive planting stocks at nurseries in southern Spain. *Plant Disease*, Oct.: 175-179.

## P

Porras-Soriano, A., Marcilla-Goldaracena, I., Soriano-Martín, M. L. y Porras-Piedra, A. 2006. Development and resistance to *Verticillium dahliae* of olive plantlets inoculated with mycorrhizal fungi during the nursery period. *The Journal of Agricultural Science*, 144: 151-157.

Perez-Jimenez, F. and others. International conference on the healthy effect of virgin olive oil - Consensus report, Jaen (Spain) 2004. *European Journal of Clinical Investigation* 2005, 35, 421-24.

Pinto J., J. Martínez. 2005. El aceite de oliva y la dieta mediterránea. Instituto de Salud Pública. Dirección General de Salud Pública y Alimentación. Consejería de Sanidad y Consumo.

## R

Rallo, L. 1995. Selección y mejora genética del olivo en España. *Olivae*, 59 (12): 46-53.

Rallo, L. 2005. Variedades de olivo en España: Una aproximación cronológica. En: *Variedades de olivo en España (Antecedentes y Presentación)*. Rallo, L., Barranco, D., Caballero, J.M., del Río, C., Martín, A., Tous J. y Trujillo I. (eds.). Junta de Andalucía, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación y Ediciones Mundiprensa. Madrid. España.

Rahmani, M.; Csallany, A.S. (1991). Chlorophyll and b-carotene pigments in Moroccan virgin olive oils measured by high-performance liquid chromatography. *J Am Oil Chem Soc*, 68: 672-674.

Rapoport, HF. (1998). Botánica y Morfología. En: D. Barranco, R. Fernández-Escobar, L. Rayo (Editores científicos). *El cultivo del olivo*. 61-87. Coedición Mundi-Prensa, S.A. y Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía, Madrid, España.

## T

Tous, J. (2009). Algunas contribuciones sobre Olivicultura y Elaiotecnia desde la perspectiva de la experiencia. GEA Westfalia Separator Andalucía, S.L. Madrid.

Tous, J., Romero, A., Plana, J., Guerrero, L., Diaz, I., Hermoso, F., (1997). Características químico-sensoriales de los aceites de oliva arbequina obtenidos en distintas zonas de España. Grasas y aceites. 48:415-424

Tekaya M., Mechri B., Bchir A., Attia F., Cheheb H., Daassa M., Hammami M. (2013). Enhancement of Antioxidants in Olive Oil by Foliar Fertilization of Olive Trees. J Am Oil Chem Soc 90,1377–1386

Totosaus, J P. (1990), Variaciones en los parámetros de calidad del aceite, dependiendo del sistema de extracción, alimentación, equipos y tecnologías. 66-68

## V

Vázquez, A. (1978). Evolución de los polifenoles durante el aderezo de aceitunas verdes. II. Cambios en los polifenoles totales. Grasas y Aceites 29, 23-27.

Vilar, J; Cárdenas, J.R y Estévez, A. El sector internacional de elaboración de aceite de oliva: Un estudio descriptivo de los distintos países productores. GEA Westfalia Separator Ibérica; 2015.