



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Escuela Politécnica Superior de Linares

Trabajo Fin de Grado

FORMULACIÓN DE ALIMENTOS BASADOS EN MATRICES GRASAS ADITIVADOS CON COMPUESTOS DE ALTO VALOR BIOTECNOLÓGICO

Alumno: Nieves Picazo Camilo

Tutor: Prof. D. Ruperto Bermejo Román

Depto.: Química Física y Analítica

Octubre, 2019

UNIVERSIDAD DE JAÉN

ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE LINARES

TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Ingeniería Química Industrial

**FORMULACIÓN DE ALIMENTOS BASADOS
EN MATRICES GRASAS ADITIVADOS CON
COMPUESTOS DE ALTO VALOR
BIOTECNOLÓGICO.**

Alumno: Nieves Picazo Camilo

Tutor: Prof. D. Ruperto Bermejo Román

Depto: Departamento de Química Física y Analítica

Firma Alumno:



Nieves Picazo Camilo

Firma tutor:

Octubre, 2019

AGRADECIMIENTOS

Ahora que finaliza una de las etapas más importantes de mi vida quisiera dar las gracias a todos aquellos que me han ayudado y apoyado hasta llegar aquí.

En primer lugar a mi tutor, Ruperto Bermejo Román, por enseñarme tantos conocimientos, por su ayuda con este trabajo, sus consejos y correcciones, y por hacerme querer la química.

A M^a Carmen Murillo y Ana Belén García, por su continua ayuda en el laboratorio, por transmitirme sus conocimientos y por hacerme sentir una más en el laboratorio.

En segundo lugar, a mis padres, por sin ellos no habría podido llegar hasta aquí. Papá y mamá, gracias por vuestro continuo apoyo y confianza, por vuestros ánimos y por no dejar que tirara la toalla nunca.

También gracias a mi familia por todo, y especialmente a mi hermana Elena, que ha luchado conmigo en esta aventura.

Por último quiero dar las gracias a tres personas que han sido mi apoyo durante estos años, y espero que por muchos más.

A María, la primera persona que conocí cuando llegué a la EPSL, que me hizo sentir como parte de su familia desde el principio.

A Manu, por todo lo que me ha transmitido aun estando lejos de casa, por ser mi apoyo y el mejor amigo que nadie podría tener.

A Javi, por formar una parte tan importante de mí en esta última etapa y por animarme cada día a seguir adelante y luchar.

ÍNDICE

1. RESUMEN.	8
2. INTRODUCCIÓN.	11
2.1. Estudios basados en la medida del color.	11
2.1.1. Condiciones que afectan al color.	12
2.1.2. Expresión numérica del color.	13
2.1.3. Medida de la diferencia de color.	16
2.1.4. B-caroteno como agente antioxidante y preventivo.	17
2.1.5. Degeneración macular asociada a la edad (DMAE).	18
2.1.6. Papel preventivo del β -caroteno.	20
2.1.7. Otras aplicaciones del β -caroteno.	20
2.1.8. Fuentes de β -caroteno.	21
2.2. El aceite de oliva Virgen Extra (AOVE).	21
2.2.1. Antioxidantes presentes en el aceite de oliva virgen.	22
2.2.1.1. Compuestos fenólicos.	23
2.2.1.2. Tocoferoles.	23
2.2.1.3. Pigmentos.	24
2.2.2. El aceite de oliva como vehículo para incorporar β -caroteno.	25
2.2.3. Valor preventivo y terapéutico del aceite de oliva.	25
2.2.4. Importancia de la ingesta de antioxidantes en la dieta.	26
2.2.5. El color del aceite de oliva.	26
2.2.6. Utilización en la cocina. Daño térmico.	27
2.3. El aceite de girasol.	27
2.3.1. Composición.	28
3. MATERIALES Y MÉTODOS.	29
3.1. Materiales.	29
3.1.1. Extracto antioxidante de β -caroteno.	29
3.1.2. Aceites.	29
3.1.2.1. Aceites de oliva.	29
3.1.2.2. Aceites de girasol.	29
3.1.3. Reactivos.	30
3.2. Métodos.	30

3.2.1.	Obtención de la disolución de β -caroteno.	30
3.2.2.	Curvas de colorimetría.	32
3.2.2.1.	Curvas de colorimetría de aceites de oliva.	32
3.2.2.2.	Curvas de colorimetría de aceites de girasol.	33
3.2.3.	Caracterización colorimétrica.	35
3.2.3.1.	Foto-estabilidad.	35
3.2.3.2.	Termo-estabilidad en microondas.	38
3.2.4.	Análisis químico	39
3.2.4.1.	Determinación del índice de acidez de aceites de oliva sin enriquecer y aceites de oliva enriquecidos.	39
3.2.4.2.	Determinación del índice de peróxidos de aceites de oliva sin enriquecer y aceites de oliva enriquecidos.	40
3.2.4.3.	Medida de absorbancia de aceites de oliva sin enriquecer y aceites de oliva enriquecidos.	41
3.2.4.4.	Determinación del índice de anisidina de aceites de oliva sin enriquecer y aceites de oliva enriquecidos.	42
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	45
4.1.	Preparación de la disolución madre de β -caroteno.	45
4.2.	Preparación de disoluciones de análisis químico.	47
4.3.	Preparación de aceites de oliva enriquecidos en β -caroteno.	48
4.4.	Preparación de aceites de girasol enriquecidos.	49
4.5.	Curvas de colorimetría.	50
4.5.1.	Curvas de colorimetría de aceites de oliva.	51
4.5.2.	Curvas de colorimetría de aceites de girasol.	58
4.6.	Termo-estabilidad. Estabilidad frente a la temperatura.	66
4.6.1.	Termo-estabilidad por microondas: AOVEs enriquecidos y AOVEs sin enriquecer.	67
4.6.2.	Termo-estabilidad por microondas: Aceites de Girasol enriquecidos y aceites de girasol sin enriquecer.	75
4.7.	Foto-estabilidad. Estabilidad frente a la radiación UV.	84
4.7.1.	Foto-estabilidad: AOVEs enriquecidos y AOVEs sin enriquecer.	84
4.7.2.	Foto-estabilidad: Aceites de Girasol enriquecidos y aceites de girasol sin enriquecer.	87
4.8.	Análisis químico.	91
4.8.1.	Índice de acidez de aceites de oliva.	91

4.8.1.1.	Índice de acidez de aceites de oliva sin enriquecer.	91
4.8.1.2.	Índice de acidez de aceites de oliva enriquecidos.....	94
4.8.2.	Índice de peróxidos de aceites de oliva.	96
4.8.2.1.	Índice de peróxidos de aceites de oliva sin enriquecer.	96
4.8.2.2.	Índice de peróxidos de aceites de oliva enriquecidos.	97
4.8.3.	Prueba espectrofométrica en el ultravioleta de aceites de oliva.	99
4.8.3.1.	Prueba espectrofométrica en el ultravioleta de aceites de oliva sin enriquecer.	99
4.8.3.2.	Prueba espectrofométrica en el ultravioleta de aceites de oliva enriquecidos.....	101
4.8.4.	Índice de p-anisidina de aceite de oliva	103
4.8.4.1.	Índice de p-anisidina de aceites de oliva sin enriquecer.	105
4.8.4.2.	Índice de p-anisidina de aceites de oliva enriquecidos.....	107
5.	TABLA RESUMEN DE PARÁMETROS QUÍMICOS.....	109
6.	CONCLUSIONES.....	110
7.	ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS.	112
7.1.	Índice de tablas.	112
7.2.	Índice de figuras.	114
8.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	118

1. RESUMEN.

Durante la última década, la palabra antioxidante ha adquirido la misma importancia en salud preventiva que las vitaminas, los minerales y las proteínas ([Islam et al, 2013](#)). El envejecimiento celular es un proceso inevitable que se caracteriza por una disminución general de las funciones fisiológicas. ([Gilca et al, 2007](#))

Se conoce y está demostrado que los síntomas del envejecimiento y las enfermedades degenerativas está provocado por los radicales libres ([Kar et al, 2010](#); [Sharma et al, 2010](#)).

Los radicales libres son moléculas que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo. Esta configuración les hace muy inestable, con una enorme capacidad para combinarse con la mayoría de las biomoléculas celulares, provocando un gran daño en ellas y en las membranas celulares. ([Finkel et al, 2000](#)).

El antioxidante al reaccionar con el radical libre le cede un electrón oxidándose a su vez y transformándose en un radical libre débil, con escasos o nulos efectos tóxicos. Los antioxidantes tienen diferentes mecanismos de acción; unos impiden la formación de radicales libres y/o especies reactivas y otros favorecen la reparación y reconstitución de estructuras biológicas dañadas. ([Barbosa et al, 2008](#))

Por sus características, el aceite podría ser un buen medio para portar pequeñas cantidades de antioxidantes.

En este trabajo se utilizará β -caroteno procedente de la empresa DSM (León, España), y se adicionará a diferentes aceites con vistas a cubrir la ingesta diaria recomendada de antioxidantes y de esta forma, prevenir enfermedades degenerativas y cutáneas.

Se sabe que la ingesta diaria recomendada de β -caroteno es de 4 mg/día. A los aceites se les incorpora β -caroteno con una concentración de 0.083 mg β -caroteno/mL aceite, ya que el consumo medio diario de aceite es de 36.8 mL. De esta forma, mediante la ingesta de aceite se incorporan a la dieta 3 mg de β -caroteno, ya que se supone que el resto se incorpora a la dieta consumiendo frutas y verduras.

Además, se realiza un estudio de la estabilidad de los aceites frente a la acción de la luz y el calor, para evaluar el efecto que produce la incorporación de β -caroteno en el aceite. Se demuestra que, en la mayoría de los aceites utilizados, el aporte de β -caroteno mejora su estabilidad, aumentando la vida útil del aceite.

Por último, se realiza un análisis químico, con el objetivo de determinar si la adición de antioxidantes mantiene dentro de los límites establecidos los parámetros de calidad del aceite, se concluye que no sólo se mantienen, si no que en algunos casos, incluso mejoran algunos parámetros.

ABSTRACT

During the last decade, the word antioxidant has acquired the same importance than vitamins, minerals and proteins in the field about preventive health ([Islam et al, 2013](#)). The cellular ageing is an inevitable process which it is characterized by a general decrease of the physiological functions. ([Gilca et al, 2007](#))

It is known and it is proved that the symptoms of the ageing and the degenerative illnesses is caused by the free radicals ([Kar et al, 2010](#); [Sharma et al, 2010](#)).

Free radicals are molecules which present an unpaired or odd electron in the external orbital concerning their atomic structure. This shape causes their instability and a huge capacity to combine with the most of cellular biomolecules, by provoking a great damage in them and the cellular membranes. ([Finkel et al, 2000](#)).

The antioxidant, when it reacts with the free radical, gives up an electron which it is oxidized and transformed at the same time in a weak free radical with rare or null toxic effects. The antioxidants have different procedures of action; ones prevent the creation of free radicals and/or reactive species, and others favour the repair and reforming of biological damaged structures. ([Barbosa et al, 2008](#))

Due to their characteristics, the oil could be a good means to carry little numbers of antioxidants.

In this dissertation, it will be used β -carotene that comes from DSM entertainment (León, Spain), and this will be added to different oils with the purpose to cover the diary recommended intake of antioxidants and, in this way, to prevent degenerative and cutaneous illnesses.

It is known that the diary recommended intake of β -carotene is 4 mg/day. It is added an amount of 0.083 mg β -carotene/mL of β -carotene to oils, since the diary average consumption of oil is 36.8 mL. In this way, through the consumption of oil, it is incorporated 3mg of β -carotene to the diet because it is supposed that the rest will be added to the diet by eating fruits and vegetables.

Moreover, it is carried out a study about the stability of oils versus the action of the light and the heat in order to assess the effect which produces the incorporation of β -carotene in the oil. And it is demonstrated that the contribution β -carotene improves the stability of the most of used oils by increasing the lifetime of them.

To conclude, it is made a chemical analysis with the aim of determining if the addition of antioxidants maintains the value of the quality of the oil, in its stablished limits. And it is concluded that these are not only maintained, but also in some cases, they even improve some parameters.

2. INTRODUCCIÓN.

2.1. Estudios basados en la medida del color.

El color es la propiedad sensorial más importante que va asociada a la vista, aunque al sentido de la vista también van asociadas otras propiedades: apariencia, forma, superficie, tamaño y brillo. La primera impresión que se tiene de los alimentos es visual y su aceptación en mayor o menor medida depende del color, además esta apreciación da ideas preconcebidas de otros factores de calidad el sabor y el aroma.

El color, por tanto, es una percepción que genera el cerebro cuando interpreta las señales nerviosas que llegan a través de los fotorreceptores de la retina del ojo, al mismo tiempo.

El fenómeno del color se puede dividir en dos partes; una es el fenómeno físico y requiere la luz, un objeto y un detector, la interacción de la luz con el objeto da lugar a fenómenos como la refracción, la transmisión, etc.

La segunda parte, son una serie de procesos donde el ojo (receptor) transmite información al cerebro, que la interpreta como color. ([Delgado Vargas et al., 2003](#))

El color depende de la luz, por lo tanto, el color depende de la fuente de la luz. La luz está compuesta de diferentes longitudes de onda de radiación y la luz visible es el componente más importante en relación a la apreciación del color. La luz visible comprende una parte muy pequeña del espectro electromagnético, con radiaciones de longitudes de onda entre 380 y 750 nm ([Figura 1](#)).

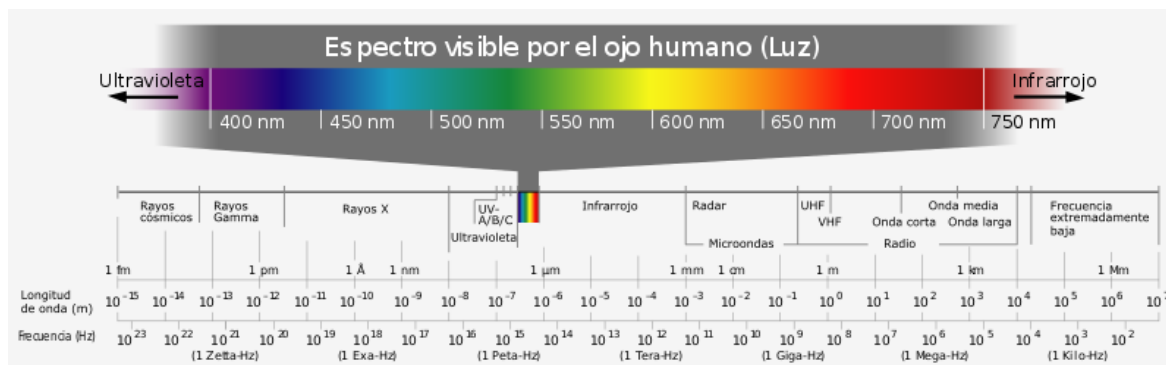


Figura 1. Espectro electromagnético.

El color rodea nuestra vida diaria e influye de manera significativa en nuestros gustos. Nuestro alrededor nos muestra infinidad de colores con sólo una mirada, sin embargo, no existe una escala física para medir el color, lo que hace muy difícil que todo el mundo vea un mismo color igual.

2.1.1. Condiciones que afectan al color.

La apariencia del color de un objeto suele estar influenciada por elementos ambientales, condiciones de superficie e ilusiones ópticas. Estas pueden provocar que un color se vea más oscuro o claro. Algunos efectos que pueden influenciar la apariencia del color son:

- Subjetividad del observador

La sensibilidad del ojo humano varía dependiendo de la persona, esto causa que un mismo color sea visto de diferente forma por cada persona.

- Ángulo de visión

Dependiendo del ángulo desde el que se observa el objeto, aunque sea ligeramente diferente, puede hacer que se vea más claro o más oscuro.

- Fuente de luz

El color de un objeto puede parecer diferente dependiendo de la fuente de luz. Cada tipo de luz, ya sea incandescente, fluorescente, luz solar, etc., tiene un efecto diferente en la apariencia del color de un objeto.

- Condiciones de superficie

La textura, el brillo y otras condiciones de superficie influyen en cómo aparece el color de un objeto.

- Entorno

El fondo de detrás de un objeto puede hacer que un color se vea diferente. Un objeto ubicado frente a un fondo luminoso parece más apagado que un objeto que se sitúa delante de un fondo oscuro. Esto es conocido como el efecto de contraste de color.

- Tamaño del área

Si la superficie de color es muy grande, aparecerá más vivo y brillante que si fuese un área pequeña. Este efecto se denomina efecto de área.

La forma más objetiva de determinar un color es mediante el uso de un espectrocolorímetro o colorímetro, ya que, estos instrumentos son ajenos a la subjetividad del ojo humano.

2.1.2. Expresión numérica del color.

El espacio de color es un método para expresar el color de un objeto utilizando anotación numérica. Fue la Comisión Internacional de l'Eclairage (CIE) (Comisión Internacional de la Iluminación) quien desarrolló este sistema, en el que, están definidos los espacios de color, incluyendo CIE XYZ, CIE $L^*a^*b^*$, y CIE $L^*C^*h^*$, para expresar el color de un objeto. En la [Figura 2](#), se muestra el espacio de color CIELAB en vista horizontal, siendo L^* constante.

Se considera al CIE como la autoridad en la ciencia de luz y color.

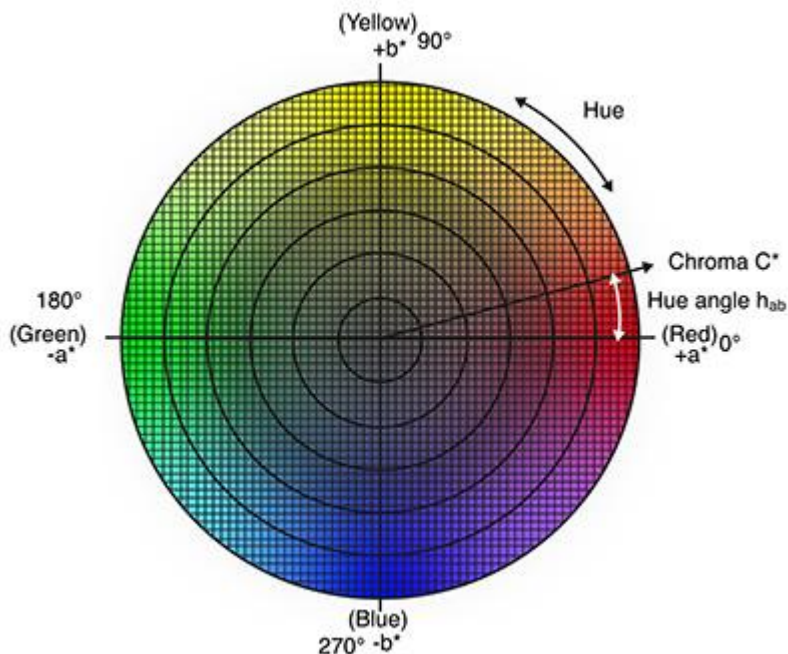


Figura 2. Espacio de color CIE $L^*a^*b^*$ con la coordenada L^* constante.

El espacio de color $L^*a^*b^*$, al que también se puede referir como CIELAB, es uno de los espacios más usados para evaluar el color de un objeto. Es muy utilizado ya que correlaciona los valores numéricos de color con la percepción visual humana.

Dos personas pueden expresar un mismo color con palabras muy diferentes, llevando a confusión. Para evitar esto, el color debe ser expresado en términos numéricos y objetivos.

Al clasificar los colores, se pueden expresar en términos de matiz (color), luminosidad (brillo) y saturación (vividez). Al crear escalas para éstos atributos, se puede expresar de forma precisa el color.

El espacio de color $L^*a^*b^*$ fue creado teniendo en cuenta la teoría de color oponente que dicta que dos colores no pueden ser rojo y verde a la vez o amarillo y azul al mismo tiempo.

La luminosidad la indica L^* , mientras que a^* y b^* son las coordenadas cromáticas, a^* =coordenadas rojo/verde (+a indica rojo y -a indica verde) y b^* = coordenadas amarillo/ azul (+b referido a amarillo y -b indicando azul). (Figura 3).

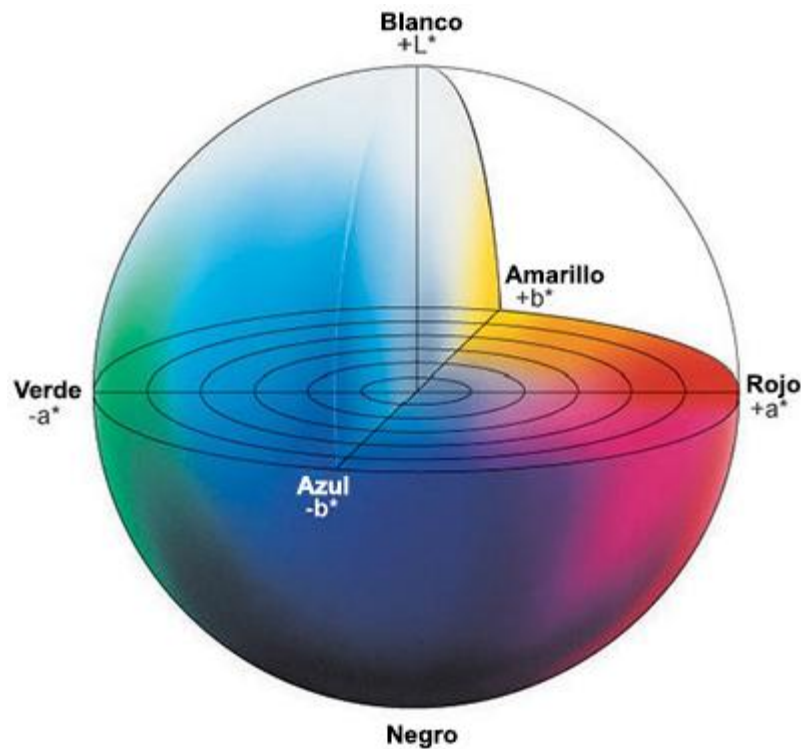


Figura 3. Espacio CIELAB con las coordenadas $L^*a^*b^*$

Los instrumentos de medición de color, como los colorímetros, cuantifican estos atributos fácilmente. Determinan el color de un objeto dentro del espacio de color CIELAB mostrando los valores de cada coordenada, L^* , a^* y b^* . (Konica Minolta, 2014)

2.1.3. Medida de la diferencia de color.

A una misma persona, le pueden parecer dos objetos del mismo color, aunque se pueden encontrar diferencias muy pequeñas e inapreciables a simple vista cuando el color es evaluado con un instrumento de medición.

La diferencia de color se define como la comparación numérica de una muestra con el estándar. Indica las diferencias en coordenadas absolutas de color y se la conoce como Delta (Δ). Delta por $L^*(\Delta L^*)$, $a^*(\Delta a^*)$ y $b^*(\Delta b^*)$ pueden ser positivas o negativas. Sin embargo, ΔE^*_{ab} , que es la diferencia total, siempre es positiva. ([Konica Minolta, 2014](#))

ΔL^* = diferencia en luz y oscuridad (+ = más luminoso, - = más oscuro)

Δa^* = diferencia en rojo y verde (+ = más rojo, - = más verde)

Δb^* = diferencia en amarillo y azul (+ = más amarillo, - = más azul)

ΔE^*_{ab} = diferencia total de color

El valor de la diferencia total de color, se puede definir con la siguiente ecuación. ([Konica Minolta, 2014](#))

$$\Delta E^* = [\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}]^{1/2}$$

La diferencia de color también se puede expresar con palabras, aunque, no llega a ser tan preciso como el uso de la ecuación anterior. Los términos que se utilizan para describir las diferencias en luminosidad y croma, indican la dirección de la diferencia de color, pero no indican el grado de diferencia de color. En la [Figura 4](#), se muestran algunas de las expresiones utilizadas para describir las diferencias.

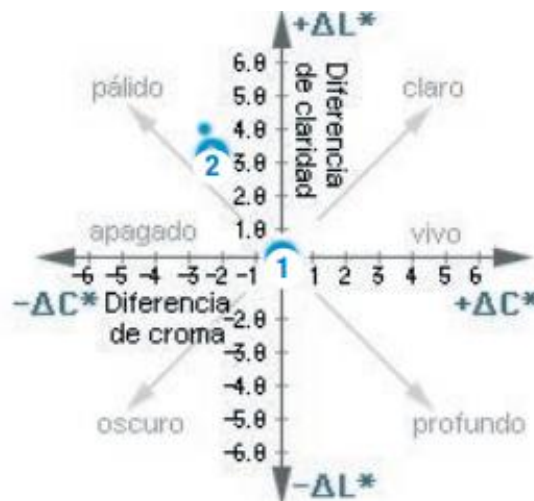


Figura 4. Términos que describen las diferencias de color

2.1.4. B-caroteno como agente antioxidante y preventivo.

Los antioxidantes naturales que se encuentran en vegetales y en algunos animales, han sido estudiados para ser utilizados como fuente de prevención de diversas enfermedades, como cáncer, enfermedades del corazón y degeneración macular, que se relaciona con la edad.

Mediante el consumo de carotenoides se ha demostrado que se puede disminuir la incidencia de ciertas enfermedades. También, los carotenoides, representan una fuente de vitamina A y actividad antioxidante en las células al actuar en la neutralización de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno producidas como parte del metabolismo celular. ([Carranco Jauregui et al 2011](#)).

2.1.5. Degeneración macular asociada a la edad (DMAE).

La degeneración macular asociada a la edad es la causa más frecuente de pérdida irreversible de la visión central en personas adultas mayores. ([Figura 5](#))

Existen diferentes factores de riesgo para este trastorno como: edad, antecedentes familiares, el tabaquismo, obesidad, hipertensión arterial o la dieta baja en ácidos grasos omega-3 y en verduras de hoja de color verde oscuro, entre otras.

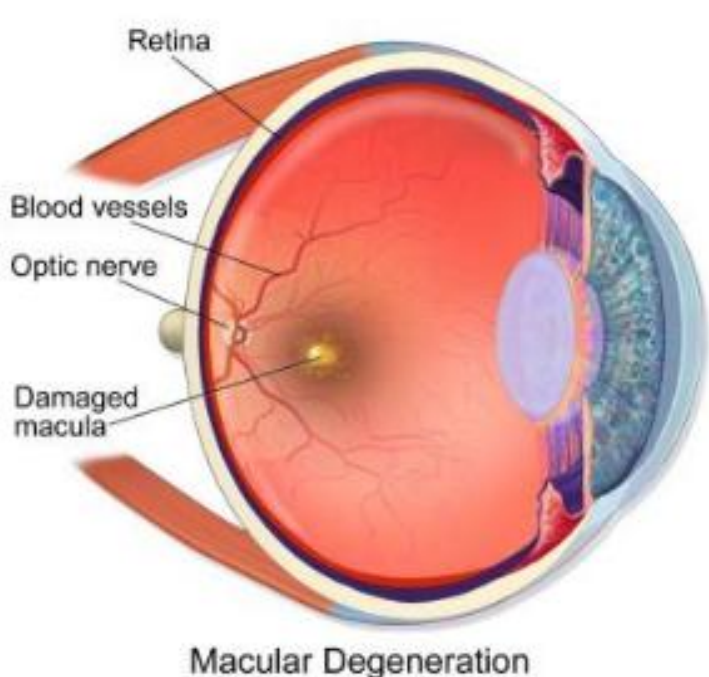


Figura 5. Esquema de un ojo indicando la parte afectada por DMAE

Hay dos formas en las que se puede manifestar la DMAE: de forma seca (no exudativa o atrófica) y de forma húmeda (neovascular o exudativa).

Cuando esta enfermedad se manifiesta, siempre comienza como el tipo seco, después, un 85% de las personas con DMAE sólo tienen la forma seca y un 15% tienen el tipo húmedo. El tipo húmedo causa la pérdida de visión grave, entre un 80 y un 90% de pérdida.

Cuando se trata de DMAE seca, el tejido de la mácula adelgaza. Los productos de desecho acumulados procedentes de los conos y bastones pueden producir depósitos en la retina denominados drusos (manchas amarillas), como se muestran en la [Figura 6](#).

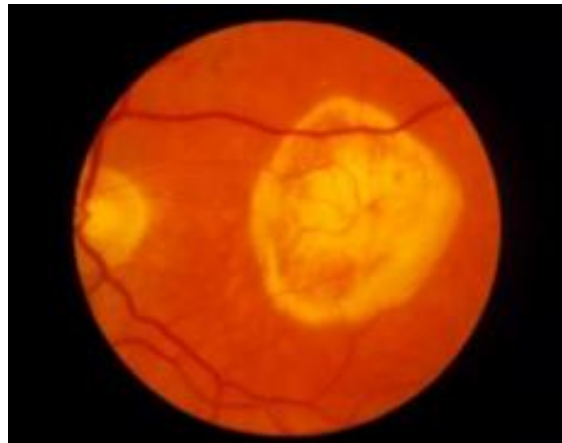


Figura 6.DMAE relacionada con la edad (Seca)

La DMAE húmeda aparece como consecuencia de la seca. Crecen vasos sanguíneos anómalos desde la coroides hasta la mácula y dejan escapar sangre y fluido, como se pueden ver en la [Figura 7](#).

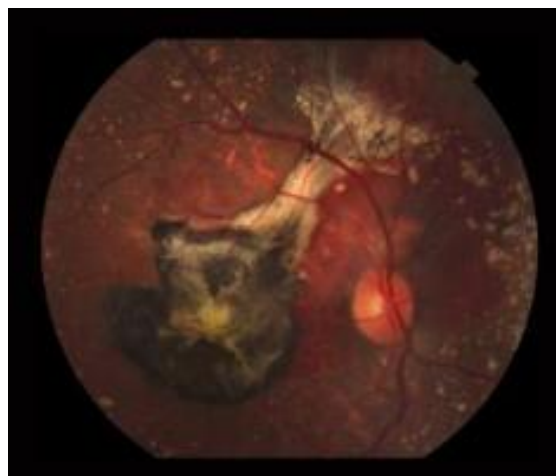


Figura 7.DMAE relacionada con la edad (Húmeda)

Hasta la actualidad no existe un tratamiento para revertir el daño por el tipo seco de la enfermedad (que es el más frecuente). En el caso de la de tipo húmedo, se puede prevenir la pérdida severa mediante fotocoagulación con láser, pero su eficacia es limitada.

Es posible reducir el riesgo de sufrirla mediante la ingesta de suplementos como el β -caroteno. ([Sunir J.Garg, Thomas Jefferson University, 2017](#))

2.1.6. Papel preventivo del β -caroteno.

El β -caroteno es un pigmento perteneciente a la familia de los carotenoides, con actividad de provitamina A. El β -caroteno es el carotenoide más abundante y más eficiente de los que se hallan en los alimentos.

La ingesta de β -caroteno es muy importante para la prevención de enfermedades, además como se trata de una fuente de vitamina A, ayuda a alcanzar los niveles necesarios de ésta y así asegurar un buen desarrollo y crecimiento, así como una buena salud ocular.

El papel del β -caroteno también ha sido estudiado en relación a enfermedades coronarias y en relación al riesgo de cáncer en la piel como consecuencia de la radiación UV. ([Carranco Jáuregui et al, 2011](#))

2.1.7. Otras aplicaciones del β -caroteno.

El β -caroteno es una fuente de vitamina A, que se encuentra en una gran variedad de frutas y verduras, que aportan grandes beneficios para la salud.

El β -caroteno se encuentra en forma de emulsión en alimentos tales como aceites, mantequillas, quesos, etc.

Asimismo, se encuentra el β -caroteno en polvo en golosinas, caramelos, chicles y concentrados de sopa en polvo.

2.1.8. Fuentes de β -caroteno.

Los carotenoides son pigmentos liposolubles. Se conocen alrededor de 600 compuestos de esta familia presentes en la naturaleza, plantas y microorganismos. Los carotenoides son los responsables de la gran mayoría de los colores amarillos, anaranjados o rojos presentes en los alimentos vegetales.

En la [Figura 8](#), se muestra la estructura del β -caroteno, que cuenta con 11 dobles enlaces conjugados, en la configuración trans, formando en los extremos anillos.

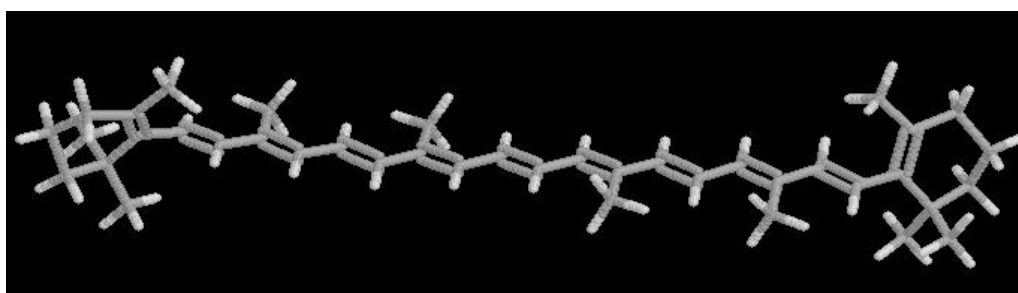


Figura 8. Estructura del B-carotero

Cuando se utilizan las microalgas como fuente antioxidante se tiene la ventaja de que, son rápidas de cultivar y su ciclo de crecimiento es simple, además, su recolección y procesado es sencillo. ([Gong et al, 2016](#))

2.2. El aceite de oliva Virgen Extra (AOVE).

El aceite de oliva virgen es un mosto oleoso. Se obtiene de las aceitunas, que son el fruto del olivo (*Olea Europaea*) y es obtenido por sistemas mecánicos en frío. Los frutos de los que se extrae el aceite han de ser de buena calidad, gracias a esto, el aceite de oliva virgen posee unas características organolépticas excepcionales, lo que hace que sea el único aceite vegetal que se puede consumir crudo

La legislación de la Unión Europea, Reglamento (CE) 1234/2007 sólo permite comercializar las siguientes categorías de aceite de oliva:

- Aceite de oliva virgen extra: Tipo de aceite de máxima calidad, se obtiene únicamente por procedimientos mecánicos, de aceitunas en buen estado. Su sabor y olor son intachables, y su grado de acidez no puede sobrepasar los 0.8°, expresado en porcentaje de ácido oleico libre.
- Aceite de oliva virgen: Los parámetros de calidad son similares a los del aceite de oliva virgen extra. Su principal diferencia es que, no puede superar los 2° de acidez.
- Aceite de oliva: Contiene aceites de oliva refinados y aceites de oliva vírgenes. En la elaboración del aceite de oliva refinado intervienen procesos químicos o térmicos. El grado de acidez no puede superar al 1°.
- Aceite de orujo de oliva: Es mezcla de aceite de orujo de oliva refinado y aceite de oliva virgen o virgen extra. Su grado de acidez final no supera el 1°.

2.2.1. Antioxidantes presentes en el aceite de oliva virgen.

Los compuestos fenólicos son los antioxidantes más importantes del aceite de oliva virgen, mientras que los tocoferoles y tocotrienoles son antioxidantes más propios de otros aceites vegetales.

Se sabe que el aceite de oliva virgen se diferencia otros aceites vegetales por su composición, en particular por los compuestos fenólicos. ([Boskou, 1996](#)). También son antioxidantes los pigmentos que hay presentes en el aceite de oliva, como las clorofilas y los carotenoides.

2.2.1.1. Compuestos fenólicos.

Los compuestos fenólicos forman un amplio grupo de moléculas, estas moléculas tienen, al menos, un anillo aromático que se encuentra unido a uno o más grupos hidroxilo. Además, estos compuestos, son una fracción minoritaria de la composición de aceite de oliva. La solubilidad de los compuestos fenólicos es muy elevada en agua. ([Suárez, 2010](#)).

Aunque los compuestos fenólicos se encuentran en el aceite de oliva en fracción minoritaria, su porcentaje varía dependiendo de factores como el clima, la zona de cultivo o la variedad de aceituna. ([Tripoli y Cols., 2005](#)).

La característica más destacada de los compuestos fenólicos es su capacidad antioxidante, además, son los responsables de parte del sabor del aceite, ya que aportan las notas amargas y picantes del aceite. ([Vitaglione y Cols., 2013](#))

2.2.1.2. Tocoferoles.

Los tocoferoles son los compuestos responsables de la actividad de la vitamina E. La vitamina E, es un término que se utiliza para designar a un grupo de ocho especies naturales de tocoferoles (α , β , γ , y δ) y tocotrienoles. La vitamina E, juntos con las vitaminas A, D y K constituyen el grupo de vitaminas liposolubles, que se caracterizan por ser solubles en lípidos y en disolventes orgánicos. Los tocoferoles son compuestos esenciales que no pueden ser sintetizados por el organismo, por esa razón, las cantidades de estos compuestos que se ingieren en la dieta son pequeñas. ([Sayago et al., 2007](#))

La vitamina E, se coordina con otras enzimas y moléculas para la defensa de las células. Es considerada un importante antioxidante que aporta sustancias beneficiosas al organismo ([Gerald y Combs, 1992](#))

2.2.1.3. Pigmentos.

El color del aceite de oliva va desde el verde-amarillo al dorado. El color depende de la variedad del fruto y su maduración. Los pigmentos son importantes para la determinación de la calidad del aceite de oliva, además, forman parte de mecanismos de autooxidación y fotooxidación.

Los pigmentos, que se encuentran en el aceite de oliva, se dividen en dos clases: clorofilas y feofitinas; y carotenoides.

Carotenoides

Los carotenoides son los responsables del color amarillento del aceite de oliva virgen. Su estructura está formada por un esqueleto de 40 átomos de carbono. ([Olmedilla et al., 2001](#))

Los principales carotenoides son: luteolina, β -caroteno, violaxantina, neoxantina, anteraxantina, luteoxantina, mutatoxantina y β -criptoxantina. El carotenoide mayoritario es la luteolina seguido del β -caroteno ([Aguilera, 2006](#)).

Clorofilas y feofitinas

Las clorofilas son las responsables del color verde de los aceites de oliva vírgenes. Su estructura consiste en cuatro anillos pirróticos sustituidos, uno de ellos está reducido, que están coordinados con un ión Mg^{2+} para formar un complejo planar muy estable. En medio ácido se produce la sustitución del Mg por hidrógeno dando lugar a feofitinas. Este proceso se produce cuando se rompe la integridad celular, debido a que los productos vegetales son sometidos a golpes, rotura, trituración y calentamiento. En el aceite de oliva, como consecuencia del proceso de elaboración, se puede encontrar feofitina “a” y “b”, siendo la “a” la más abundante en aceites de oliva. ([Ranalli, 1992](#))

2.2.2. El aceite de oliva como vehículo para incorporar β -caroteno.

El aceite de oliva posee importantes propiedades que lo hace un alimento muy saludable. Diversos estudios avalan la importancia de su incorporación en una dieta equilibrada, mostrando efectos muy beneficiosos para la salud: reduce el colesterol, disminuye el riesgo de infarto y de trombosis arterial, regula el tránsito intestinal y previene enfermedades degenerativas humanas.

El aceite de oliva en su composición, tiene una gran variedad de compuestos, entre ellos los carotenoides, que junto con las clorofilas son los compuestos más abundantes que se encuentran en el aceite de oliva. Por ellos, debido a que contiene cantidades de carotenoides, puede ser un medio de vehiculización del β -caroteno, ya que se aumenta una concentración ya existente en el aceite de oliva y que no debe provocar problemas.

2.2.3. Valor preventivo y terapéutico del aceite de oliva.

A lo largo de la historia los usos del aceite de oliva en la piel incluían la higiene, la unción corporal y la perfumería. Actualmente, la tendencia que se sigue es utilizarlo como medio para prevenir el envejecimiento y el cáncer de piel. ([Carrillo, 2009](#))

Existen numerosos aspectos en los que el aceite de oliva tiene un papel preventivo y terapéutico, sobre todo a nivel digestivo, se encuentran aspectos interesantes.

En el estómago, reduce la acidez gástrica, evitando úlceras y reduce el riesgo del ataque ácido de la mucosa esofágica.

La ingesta de aceite de oliva da lugar a una sensación de saciedad de mayor grado y favorece la digestión.

A nivel del hígado y la vesícula biliar, disminuye la presencia de cálculos biliares, disminuye el colesterol plásmico aumentando la excreción hepática y contrae la vesícula biliar, permitiendo su vaciado.

En el intestino mejora la absorción de nutrientes como el calcio, hierro y magnesio.

2.2.4. Importancia de la ingesta de antioxidantes en la dieta.

La dieta mediterránea hace referencia a los patrones alimentarios propios de los países mediterráneos. ([Keys et al., 1986](#)).

En la dieta mediterránea existen diferentes variantes, aunque hay algunos puntos comunes a todos como, que el principal aporte de grasa está constituido por el aceite de oliva, que es rico en grasas monoinsaturadas. ([Renaud et al., 1992](#))

Existen evidencias científicas de que la dieta mediterránea tiene efecto protector sobre procesos oxidativos, esto se atribuye a su alto contenido en compuestos antioxidantes y ácidos grasos insaturados. ([Fitó, 2003](#))

Por otra parte, varios estudios indican que la dieta rica en grasas monoinsaturadas puede mejorar el perfil lipídico, fenómeno involucrado en la menor incidencia de padecer enfermedades cardiovasculares, siendo esto debido al alto porcentaje de grasa monoinsaturada consumidas en la dieta mediterránea y fundamentalmente en el aceite de oliva. ([Grundy et al., 1988](#))

2.2.5. El color del aceite de oliva.

El color del aceite de oliva es un criterio básico de su calidad y, aunque su medida no es requerida por la regulación de la CEE ([CEE 2568/91](#)) en la determinación de las características del aceite de oliva, es importante, porque es un parámetro independiente de los mencionados por el COI, 1987.

El color es fundamental sobre la valoración y preferencias del consumidor. Esto ha impulsado a los productores y elaboradores a desarrollar técnicas y a investigar nuevas líneas que tienen como objetivo el estudio del color del aceite. ([Calvo C. et al., 2001](#)).

Los pigmentos responsables del color del aceite de oliva forman parte del grupo de componentes minoritarios. Las clorofilas son las responsables del color verde del aceite y los carotenoides del amarillo. Cada estado de madurez de la aceituna tiene unos límites determinados de concentración de pigmentos ([Moyano M., 2002](#))

2.2.6. Utilización en la cocina. Daño térmico.

Todos los procesos de cocinado que exigen calor, producen daño térmico, que depende de la temperatura y el tiempo de aplicación. ([Mataix Verdú, 2005](#))

El daño térmico provoca en los ácidos grasos modificaciones químicas, especialmente cuando se trata de frituras repetidas, que conducen a la formación de productos tóxicos para el organismo. La agresión térmica se ejerce, tanto sobre los ácidos grasos, como los componentes antioxidantes. ([Mataix Verdú, 2005](#))

2.3. El aceite de girasol.

El aceite de girasol o aceite de maravilla es un aceite de origen vegetal que se extrae del prensado de las semillas de girasol (*Helianthus annuus*). El girasol es una planta originaria de América del norte, que se exportó a Europa a principios del siglo XVI y que se comenzó a cultivar en España en el año 1964, esta planta se encuentra en su mayoría en la zona de Andalucía occidental.

A día de hoy, el aceite de girasol es el aceite de semillas más consumido en España.

El aceite de girasol es de un color amarillo muy tenue, en algunos casos prácticamente incoloro, carece de sabor y olor intenso. A nivel culinario, es un aceite muy empleado, aunque también tiene uso en la industria, por ejemplo, se

emplea como combustible biológico para producir biodiesel, aunque su efecto contaminante es muy elevado.

2.3.1. Composición.

Se encuentran diferentes tipos de aceites de girasol, el normal, con un contenido mayoritario de ácido linoleico, y el alto oleico, con contenidos en ácido oleico de hasta el 90%.

La composición del aceite de girasol que más se comercializa, contiene, por cada 100 g, 62 de ácidos grasos poliinsaturados, de ellos 36,8 g son de ácido inoleico, además también contienen 25 g de ácidos grasos monoinsaturados y 12 g de ácidos grasos saturados.

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. Materiales.

3.1.1. Extracto antioxidante de β -caroteno.

El extracto de antioxidante de β -caroteno utilizado para este trabajo experimental, ha sido obtenido comercialmente de DSM (León, España).

3.1.2. Aceites.

3.1.2.1. Aceites de oliva.

Se utilizan 4 aceites de oliva diferentes, 3 de ellos aceites de oliva virgen extra y otro aceite de oliva virgen. La variedad de tres de ellos es Picual y otro es de variedad Hojiblanca y sus procedencias son Albacete (Castilla-La Mancha), Córdoba y Baeza (Jaén).

- AOVE Lencina, variedad Picual, procedente de Albacete (Castilla-La Mancha)
- AOV Acecasa, variedad Picual, procedente de Albacete (Castilla-La Mancha)
- AOVE Hojiblanca, variedad Hojiblanca, procedente de Córdoba.
- AOVE Señorío del Rey, variedad Picual, procedente de Baeza (Jaén).

3.1.2.2. Aceites de girasol.

Se utilizan 4 aceites de girasol de marcas comerciales obtenidos en supermercados.

- Aceite de girasol Ondosol
- Aceite de girasol Coosol
- Aceite de girasol Auchan
- Aceite de girasol Abaco Sol

3.1.3. Reactivos.

- Disolución etanólica KOH 0,1 M
- Ácido Benzoico
- Cloroformo
- Etanol
- Timolftaeína
- Éter dietílico
- Disolución acuosa de KI
- Disolución acuosa de tiosulfato sódico 0,01 N
- Indicador almidón 10 g/L
- Isoctano
- P-anisidina
- Ácido acético glacial

3.2. Métodos.

3.2.1. Obtención de la disolución de β -caroteno.

Para la obtención de la disolución de β -caroteno, en primer lugar, se calcula la concentración de carotenoides que tiene que tener el aceite de oliva para que una persona consuma diariamente la cantidad de carotenoides recomendada.

Para ello, se obtiene el consumo medio por año en la década de 2000-2010 en España, siendo éste de 566870 Tm de aceite (COI) Como la población de España es de 45958000 habitantes, se determinan los kilogramos de aceite que se consumen por persona y año, siendo:

$$\frac{566,870 \cdot 10^6 \text{ Kg aceite}}{45,958 \cdot 10^6 \text{ personas}} = 12,33 \text{ Kg aceite/persona, año}$$

A continuación, se calculan los gramos de aceite que consume una persona por día.

$$\frac{\frac{12,33 \text{ Kg aceite}}{\text{persona, año}} \cdot 10^3 \frac{\text{g}}{\text{Kg}}}{365 \frac{\text{días}}{\text{año}}} = 33,8 \text{ g aceite/persona, día}$$

Con la densidad ([Limón, P et al., 2015](#)), se calcula el volumen de aceite que se consume por persona y día.

$$\frac{33,8 \text{ g/persona, día}}{0,918 \text{ g/mL}} = 36,8 \text{ mL aceite/persona, día}$$

El consumo de carotenoides recomendado es de 4 mg. ([Valle-Prieto, M.B et al, 2017](#))

Se considera que mediante la ingesta de aceite diario, se quieren consumir con el aceite 3 mg/día de carotenoides, ya que la parte restante también se puede obtener de otras fuentes, como las verduras y frutas.

Por lo tanto, si se consumen 36 mL/día de aceite, sabiendo que se quieren consumir 3 mg de carotenoides, se calcula la concentración de carotenoides que tiene que tener el aceite de oliva.

$$36,8 \text{ mL} \cdot [C] \frac{\text{mg}}{\text{mL}} = 3 \text{ mg}$$

$$[C] = 0,083 \frac{\text{mg carotenoides}}{\text{mL aceite}}$$

El β -caroteno, obtenido comercialmente, tiene una alta densidad, por lo que se diluye en una muestra de aceite de oliva de variedad picual, teniendo finalmente un extracto de concentración de 3,27 mg de β -caroteno/ mL de disolución.

Es importante que, tanto el extracto como la disolución de β -caroteno se agiten siempre antes de ser utilizados, también que estén tapados con papel de aluminio para que no estén expuestos a la luz, ya que se puede degradar el extracto. Una vez se deja de utilizar, se guarda en el frigorífico.

3.2.2. Curvas de colorimetría.

Se estudia la influencia en el color de los aceites adicionados con β -caroteno hasta llegar a la concentración deseada.

Se utiliza un espectrocolorímetro Konica Minolta CM-5 conectado a un ordenador dotado del software SpectraMagic NX PRO USB. El equipo proporciona medidas en el espacio de color CIELAB.

El equipo se calibra periódicamente y se procede a medir los distintos parámetros de color de las muestras, obteniéndose el valor de los parámetros colorimétricos de cada muestra generada (L^* , a^* , b^*) así como la variación de ΔE^*_{ab} por comparación con el aceite original.

3.2.2.1. Curvas de colorimetría de aceites de oliva.

Se estudia la influencia en el color de las adiciones de β -caroteno hasta llegar a una concentración de 0.083 mg/mL.

Para alcanzar dicha concentración, se sabe que, el volumen de la cubeta utilizada en el ensayo tiene una capacidad de 14 mL, por lo tanto, se pone un volumen de 14 mL del aceite en dicha cubeta, siendo este el volumen de muestra que se va a ensayar.

Se calcula, a continuación, qué volumen de la disolución de β -caroteno hay que añadir a los 14 mL de aceite para que se alcance la concentración deseada, es decir, 0.083 mg/mL.

$$0.083 \frac{mg}{mL} = \frac{x \cdot 3.27 \frac{mg}{mL}}{(14 + x)}$$

$$x = 365 \mu L \text{ de disolución de } \beta - \text{caroteno}$$

En total, para que la muestra de aceite ensayada alcance una concentración de 0.083 mg/mL, se adicionan 365 μ L de disolución de β -caroteno en la cubeta de plástico que contiene 14 mL de aceite. La

disolución de β -caroteno se adiciona en volúmenes de 20 en 20 μL , a continuación, se agita la cubeta hasta que la mezcla sea uniforme. Antes de la toma de medidas, se deja la muestra unos minutos hasta que no tenga burbujas de oxígeno, esas burbujas son propias de la agitación. Si la medida se toma teniendo la muestra burbujas, el valor obtenido podría ser erróneo. Las medidas de los parámetros de color se realizan con el espectrocolorímetro Konica Minolta CM-5.

De esta forma, se obtienen las curvas de color para cada aceite ensayado. Las curvas se obtienen representando en el eje de abscisas el volumen de extracto de β -caroteno añadido, y en el eje de ordenadas, la variación de color, ΔE^*ab .

3.2.2.2. Curvas de colorimetría de aceites de girasol.

Se estudia la influencia en el color de las disoluciones de aceites adicionados de β -caroteno hasta alcanzar una concentración deseada.

La disolución de β -caroteno con aceite de oliva de variedad picual utilizada en el ensayo anterior, de concentración 3.27 mg/mL, se diluye hasta obtener una disolución de concentración de 1 mg/mL ya que, el aceite de girasol se satura con mayor rapidez. Se preparan 6 mL de disolución de β -caroteno de concentración 1 mg/mL.

Se calcula, a continuación, qué volumen de la disolución de β -caroteno de concentración de 3,27 mg/mL se necesita para preparar 6 mL de una disolución de β -caroteno de concentración 1 mg/mL.

$$V \cdot 3.27 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} = 6 \text{ mL} \cdot 1 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}$$

$$V = 1.83 \text{ mL}$$

Se ha demostrado que la adición de β -caroteno en aceites de girasol produce disoluciones con color mucho más intenso que las correspondientes en AOVE.

La nueva disolución es de concentración 20 veces menor que la que se tenía inicialmente de 3.27 mg/mL, para que los valores de ΔE^*ab (variación del color) se pudieran medir más fácilmente.

La concentración de la nueva disolución de β -caroteno es finalmente de 0.167 mg/mL.

$$1 \frac{mg}{mL} \cdot 1 mL = x \cdot 6 mL$$

$$x = [disol. \beta - caroteno] = 0.167 \frac{mg}{mL}$$

Se adicionan, como en el ensayo realizado anteriormente con aceites de oliva, un total de 365 μ L de disolución de β -caroteno de concentración 0,167 mg/mL. La disolución de β -caroteno se adiciona en volúmenes de 20 en 20 μ L, en una cubeta de plástico con capacidad para un volumen de 14 mL. Dicha cubeta contiene 14 mL de aceite de girasol al que se le adiciona la disolución de β -caroteno.

Se sigue el mismo procedimiento que en el caso de los aceites de oliva. Una vez se ha adicionado la disolución de β -caroteno, la cubeta se agita hasta que la mezcla sea uniforme. Se deja en reposo hasta que las burbujas que han aparecido debidas a la agitación, desaparezcan, ya que, las burbujas conducen a errores en la medida de los parámetros de color. A continuación, se toman medidas de los parámetros del color y variación de ΔE^*ab , utilizando un espectrocolorímetro Konica Minolta CM-5.

De esta forma, se obtienen las curvas de color para cada aceite ensayado. Las curvas se obtienen representando en el eje de abscisas el

volumen de extracto de β -caroteno añadido, y en el eje de ordenadas, la variación de color, ΔE^*ab .

3.2.3. Caracterización colorimétrica.

3.2.3.1. Foto-estabilidad.

La caracterización colorimétrica, se realiza para el ensayo de foto-estabilidad.

Las muestras utilizadas consisten en volúmenes de 14 mL de aceites de oliva enriquecidos en β -caroteno y sin enriquecer en diferentes cubetas de plástico, así como cubetas de 14 mL de aceites de girasol enriquecidos en β -caroteno y sin enriquecer.

En la [Tabla 1](#), se muestran los aceites empleados con su correspondiente nomenclatura.

Por cada tipo de aceite se preparan dos cubetas: una que sólo contiene aceite, y que en cuya etiqueta se denota con la palabra “sin” y otra cubeta que contiene aceite enriquecido con β -caroteno y que se nombra en su etiqueta mediante la palabra “con”.

Cada aceite se ha caracterizado con una letra del abecedario, siendo de la A a la F, los aceites de oliva, y de la G a la H, los aceites de girasol. Cada cubeta, por tanto, se nombra con una letra seguido de “con” o “sin” dependiendo de si el aceite está enriquecido o no. ([Figura 9 y Figura 10](#))

Las muestras se someten a exposición continua bajo luz ultravioleta en una cabina de radiación de luz UV durante 60 días, tomándose medidas en intervalos temporales regulares. ([Figura 11](#))

Tabla 1. Nomenclatura de los aceites de oliva y los aceites de girasol utilizados para el ensayo de foto-estabilidad en cabina ultravioleta.

Nombre del aceite	Nomenclatura
AOVE LENCINA	A (sin)
	A' (con)
AOVE HOJIBLANCA	B (sin)
	B' (con)
AOV ACECASA	C (sin)
	C' (con)
AOVE SEÑORÍO DEL REY	D (sin)
	D' (con)
ACEITE GIRASOL ONDOSOL	E (sin)
	E' (con)
ACEITE GIRASOL AUCHAN	F (sin)
	F' (con)
ACEITE GIRASOL ABACO SOL	G (sin)
	G' (con)
ACEITE GIRASOL COOSOL	H (sin)
	H' (con)

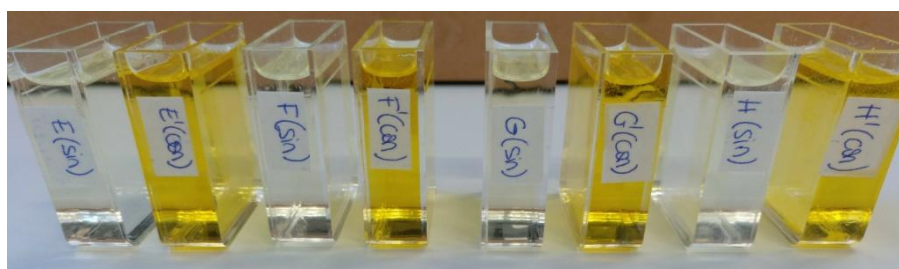


Figura 9. Muestras de aceites de girasol (E, F, G, H) y aceites de girasol enriquecidos con B-caroteno (E', F', G', H')

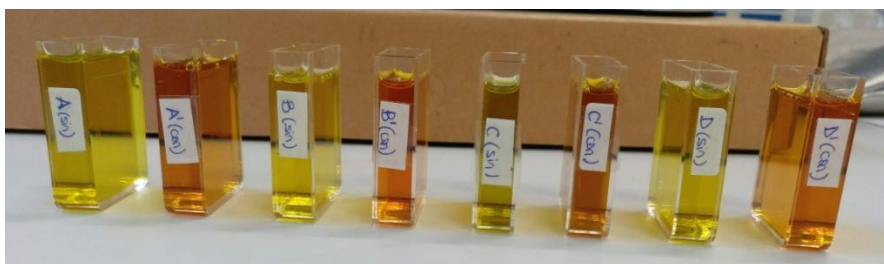


Figura 10. Muestras de aceites de oliva (A,B, C, D) y aceites de oliva enriquecidos con B-caroteno (A', B', C', D')



Figura 11. Cubetas de aceite de girasol y aceite de oliva en el interior de la cabina de luz UV.

3.2.3.2. Termo-estabilidad en microondas.

Los cambios químicos que se producen en aceites suelen deberse a variables como la luz, temperatura y paso del tiempo. Estas alteraciones con respecto a las iniciales se pueden monitorizar siguiendo el cambio de color, ya que existe una estrecha relación entre los cambios químicos y la variación del color de la matriz alimenticia ([Limón, P et al, 2015](#)).

Se realiza un seguimiento de la evolución de color que van sufriendo los aceites por exposición a temperatura (termo-estabilidad), evaluando la variación del color que sufren las muestras.

Se exponen los aceites a radiación por microondas. La metodología que se sigue, comienza preparando las muestras en tubos de vidrio. Los tubos se colocan dentro de vasos de precipitados y se introducen en el microondas a 700W de potencia, en intervalos de 5 minutos hasta alcanzar los 40 minutos de tratamiento al calentamiento por radiación.

En cada intervalo de 5 minutos, el tubo se saca del microondas y se deja enfriar. Cuando se enfría, el aceite se pasa a una cubeta de 14 mL y se miden en el espectrocolorímetro los parámetros de color, así como la variación ΔE^*_{ab} comparando con la muestra de aceite que se tenía inicialmente sin calentar.

Cada muestra se determina de manera individual, nunca metiendo más de un tubo en el microondas.

Se han evaluado en total 8 aceites, 4 aceites de oliva y 4 aceites de girasol.

3.2.4. Análisis químico

3.2.4.1. Determinación del índice de acidez de aceites de oliva sin enriquecer y aceites de oliva enriquecidos.

Esta experiencia se lleva a cabo siguiendo el Reglamento (CEE) nº 2568/91 de la comisión del 11 de julio de 1991 Anexo II.

Se prepara una disolución etanólica KOH 0.1 M de 250 mL. Esta disolución se contrasta antes de usar. Para contrastar se ponen en un erlenmeyer 0.2g de ácido benzoico, 50 mL de cloroformo, 1 mL de etanol y 6 gotas de timolftaleína. A continuación, se valora con KOH.

Una vez hecho el contraste, en un erlenmeyer de 250 mL se adicionan 25 mL de éter dietílico y 25 mL de etanol más 5-6 gotas de timolftaleína y un par de gotas de KOH para neutralizar.

A continuación, se añaden al matraz 10 g de aceite con precisión de 0.02 g y se valora con KOH 0.1M hasta que se alcanza el punto de equivalencia, visible por el cambio de color que experimenta la disolución que se valora.

Para calcular el grado de acidez se sustituye en la siguiente ecuación:

$$\text{Grado de acidez} = \frac{V \cdot P_m \cdot C}{10 \cdot m}$$

Siendo:

V: volumen gastado de KOH

P_m: Peso molecular de ácido oleico

C: Concentración exacta de la disolución de KOH

m: Masa de la muestra, en gramos.

3.2.4.2. Determinación del índice de peróxidos de aceites de oliva sin enriquecer y aceites de oliva enriquecidos.

Esta experiencia se lleva a cabo siguiendo el Reglamento (CEE) nº 2568/91 de la comisión del 11 de julio de 1991 Anexo III.

Primero se prepara una disolución acuosa de KI, una disolución acuosa de tiosulfato sódico 0.01N y se utilizan 5-6 gotas de la disolución almidón como indicador.

En un matraz erlenmeyer con tapón, se pesan 2 gramos de aceite con precisión de 0.001g. A este matraz erlenmeyer se adicionan 10 mL de cloroformo, 15 mL de ácido acético y 1 mL de KI saturado. Se agita durante un minuto y se mantiene tapado y en la oscuridad durante 5 minutos.

Tras 5 minutos en la oscuridad, se añaden 75 mL de agua destilada y 5-6 gotas de almidón, en solución acuosa de 10 g/L. Se valora la disolución con tiosulfato sódico 0.01N.

El índice de peróxidos se calcula sustituyendo en la siguiente ecuación:

$$I.P = \frac{V \cdot N \cdot 1000}{P}$$

Siendo:

V: Volumen gastado de tiosulfato

N: Normalidad del tiosulfato 0,01N

P: Masa de aceite pesado

3.2.4.3. Medida de absorbancia de aceites de oliva sin enriquecer y aceites de oliva enriquecidos.

La prueba espectrofotométrica en el ultravioleta puede proporcionar indicaciones sobre la calidad de la materia grasa, su estado de conservación y las modificaciones inducidas en ella por los procesos tecnológicos. Los valores de estas absorciones se expresan convencionalmente como K (coeficiente de extinción). Este experimento se lleva a cabo siguiendo el Reglamento (CEE) del 4 de diciembre de 2016 Anexo IX.

Las extinciones específicas se miden a 232 y a 270 nm en ciclohexano.

Para medir la extinción a una longitud de onda de 270 nm, se toman 0.1 g de muestra sin enriquecer y se disuelven en un matraz con 10 mL de ciclohexano. Se mide la absorbancia de dicha disolución a una longitud de onda de 270 nm, obteniendo E_{270} .

Por otro lado, para medir la extinción a una longitud de onda de 232 nm, se toman 0.02 g de muestra de aceite y se disuelven con 10 mL de ciclohexano. A continuación, se mide la absorbancia a 232 nm de longitud de onda, obteniendo E_{232} .

Los valores de extinción obtenidos deben estar comprendidos en el intervalo entre 0.1 y 0.8, de lo contrario, es necesario repetir la medición utilizando soluciones más concentradas o más diluidas, según el caso.

El coeficiente de extinción a diversas longitudes de onda se calcula mediante la ecuación:

$$K_{\lambda} = \frac{E_{\lambda}}{C \cdot S}$$

Siendo:

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

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

C: concentración de la solución g/100mL

S: longitud de paso de la cubeta de cuarzo en cm

Con la misma muestra que se mide la absorbancia a 270 nm, se mide la absorbancia $\lambda_{\max+4}$ y $\lambda_{\max-4}$. Estos valores de absorbancia se utilizan para determinar la variación de la extinción específica (ΔK).

$$\Delta K = \left| K_m - \left(\frac{K_{\lambda m-4} + K_{\lambda m+4}}{2} \right) \right|$$

Donde K_m es la extinción específica a la longitud de onda de máxima absorción a 270 nm.

3.2.4.4. Determinación del índice de anisidina de aceites de oliva sin enriquecer y aceites de oliva enriquecidos.

El método para la determinación de anisidina en aceites y grasas de tipo animal mide la cantidad de aldehídos presentes (principalmente aldehídos α , β -insaturados).

Esta experiencia se lleva a cabo siguiendo la norma española UNE-EN ISO 6885 de junio de 2016 de AENOR.

Se preparan las siguientes disoluciones:

- Disolución de análisis con 1 g de muestra aproximadamente y disuelve con isooctano en matraz de 25 mL.
- Disolución de p-anisidina, 0.061g de p-anisidina en un matraz de 25 mL enrasado con ácido acético.
- Negro: compuesto por 5 mL de isooctano y 1 mL de p-anisidina, y llevado a la oscuridad durante 8 minutos.

Se mide la absorbancia del negro a una longitud de onda de 350 nm, siendo esta $A(\text{negro}) = 0.005$.

Se mide la absorbancia de la disolución de p-anisidina, al igual que el negro, a una longitud de onda de 350 nm. Esta absorbancia, debe ser menor de 0.2, de lo contrario hay que repetir la disolución. $A(\text{p-anisidina}) = 0.044$.

Para medir la absorbancia del blanco, se utiliza isooctano y se mide a una longitud de onda de 350 nm.

Para calcular el índice de p-anisidina, se prepara para cada muestra de aceite, una disolución que reacciona a partir de la disolución de análisis y otra disolución que sí reacciona. La disolución de análisis que reacciona se compone de 5 mL de disolución de análisis y 1 mL de disolución de p-anisidina, después se lleva a oscuridad durante 10 min y se mide su absorbancia.

La disolución de análisis que no reacciona, se compone de: 5 mL de disolución de análisis y 1 mL de ácido acético, se lleva también a oscuridad durante 10 minutos y se mide su absorbancia.

Para calcular el índice de p-anisidina se tiene la siguiente ecuación:

$$A \cdot V = \frac{100 \cdot Q \cdot V}{m} [1.2 (A_1 - A_2 - A_0)]$$

Siendo:

V: Volumen en el que se disuelve la muestra para análisis

m: Masa de la muestra para análisis

Q: Contenido de muestra de la disolución medida en gramos por mililitro (Q=0.01 g/mL)

A₀: Absorbancia de la disolución para análisis sin reaccionar

A₁: Absorbancia de la disolución para análisis que ha reaccionado

A₂: Absorbancia del blanco

1.2: Factor de corrección para la dilución de la solución para análisis con 1 mL de reactivo de ácido acético glacial.

Cuando se está evaluando el deterioro oxidativo de un aceite, se calcula también el valor Totox, mostrado en la [Tabla 36](#).

$$TV = (2 \cdot PV) + AV$$

Siendo:

PV: Índice de peróxidos expresado en meq O₂/Kg

AV: índice de p-anisidina

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1. Preparación de la disolución madre de β -caroteno.

Se preparan 50 mL de disolución de aceite con β -caroteno para cada tipo de aceite de oliva a los que se le realizan diferentes ensayos. Las disoluciones, se preparan a partir del β -caroteno comercial, que se tiene en viales conservados en atmósfera de argón.

Para calcular que cantidad de β -caroteno necesaria, se sabe que la concentración tiene que ser de 0,083 mg/mL. (Dato justificado en el apartado 3.2.1.)

$$0.083 \frac{mg}{mL} = \frac{x (mL) \cdot 3.27 \frac{mg}{mL}}{(50 + x)}$$

$$x = 1.3 \text{ mL de } \beta - \text{caroteno en 50 mL de aceite de oliva.}$$

Como son 4 muestras aceites, se necesitan en total 5.2 mL de β -caroteno.

Para preparar los 5.2 mL (se redondea a 6 mL) de disolución de β -caroteno de concentración 3.27 mg/mL, se calcula qué cantidad de antioxidante del vial hay que coger. ([Figura 12. Izquierda y centro](#))

$$3.27 \frac{mg}{mL} \cdot (6mL + x) = 273 \frac{mg}{mL} \cdot x$$

$$x = 73 \mu L \text{ de } \beta - \text{caroteno del vial comprado}$$

El volumen de β -caroteno calculado, es decir, 73 μ L, se pasa de unidades de volumen a unidades de masa ya que, es conocida su densidad, que es la del aceite, debido a que el β -caroteno comercial, se obtuvo comercialmente diluido en aceite, por ello su densidad es 0.91g/mL.

$$m = \rho \cdot V = 0.91 \frac{g}{mL} \cdot 0.073 \text{ mL} = 0.066 \text{ g}$$

Finalmente la disolución tendrá 6 mL de aceite picual y 66 mg de β -caroteno del vial. [\(Figura 12. Derecha\)](#)

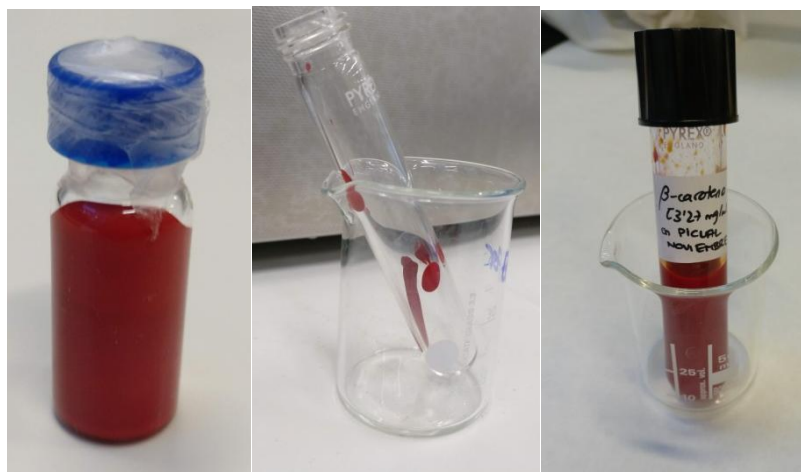


Figura 12. Vial de β -caroteno (izquierda) y disolución de β -caroteno en aceite picual (derecha)

Por último, se recalcula la concentración de la disolución de β -caroteno teniendo en cuenta la masa real de β -caroteno que se ha pesado.

$$m_{\beta\text{-caroteno}} = 0.0671 \text{ g}$$

$$\rho = 0.91 \text{ g/mL}$$

$$[\text{vial } \beta\text{-caroteno}] = 273 \text{ mg/mL}$$

$$V = \frac{m}{\rho} = \frac{0.0671 \text{ g}}{0.91 \text{ g/mL}} = 0.0737 \text{ mL } \beta\text{-caroteno}$$

$$[\text{disol}] \cdot (6 + 0.0737) \text{ mL} = 273 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \cdot 0.0737 \text{ mL}$$

$$[\text{disol}] = 3.31 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ disolución de } \beta\text{-caroteno}$$

Atmósfera de argón

Al tubo de disolución de β -caroteno y al vial de β -caroteno madre se les trata con gas argón para generar atmosfera inerte y evitar la oxidación. Como se aprecia en la [Figura 13](#) con dos agujas en el septum, se introduce por una de ellas argón mientras que por la otra sale el oxígeno del interior del tubo y del vial.

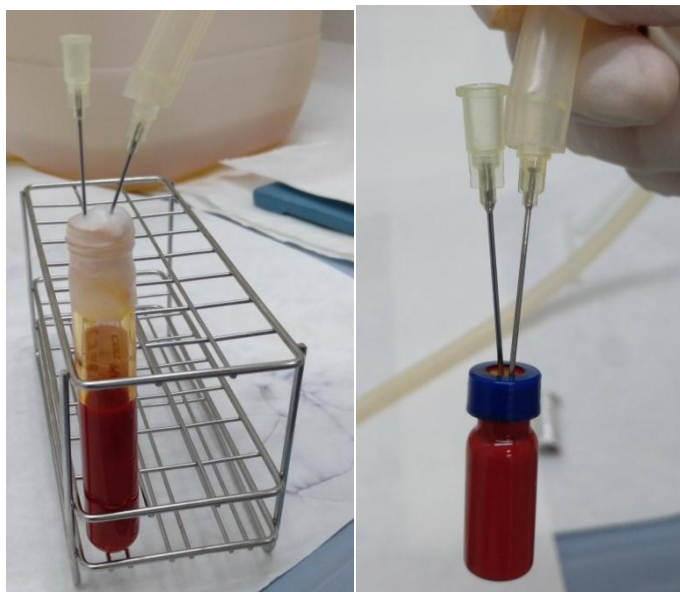


Figura 13. Atmósfera de argón en tubo de disolución y vial.

4.2. Preparación de disoluciones de análisis químico.

-Disolución etanólica KOH 0.1M, 250 mL

Se calculan los gramos de KOH de pureza 85% necesarios y se ensara en un matraz de 250 mL con etanol.

$$0.1 \frac{\text{mol}}{\text{L}} \cdot 0.250 \text{ L} \cdot 56.11 \frac{\text{g puros}}{\text{mol}} \cdot \frac{100 \text{ g impuros}}{85 \text{ g puros}} = 1.65 \text{ g KOH}$$

-Disolución acuosa KI

En un tubo se ponen 14 g de KI con 10 mL de agua destilada y se filtran.

-Disolución acuosa de tiosulfato sódico 0.01N

A) Solución patrón 0.1 mol/L

$$0.1 \frac{\text{mol}}{\text{L}} \cdot 0.250 \text{ L} \cdot 248.18 \frac{\text{g}}{\text{mol}} = 6.2 \text{ g}$$

Se ponen 6.2 gramos de tiosulfato sódico en un matraz de 250 mL y se enrasa con agua destilada.

B) Dilución

Diluir a 100 mL llevando 10 mL de la disolución anterior a 90 mL de agua destilada

-Almidón de concentración 10 g/L

Se disuelven 0.25 g de almidón soluble en un matraz de 25 mL y se diluye con agua hirviendo.

-Fenolftaleína

Para preparar fenolftaleína de 10 g/L en etanol se ponen 0.5 g de fenolftaleína en un matraz de 50 mL y se enrasa con etanol

4.3. Preparación de aceites de oliva enriquecidos en β -caroteno.

Se preparan 4 tubos “falcon” con 4 aceites de oliva diferentes, cada tubo, como se muestra en la [Figura 14](#), contiene un volumen de aceite de 50 mL.

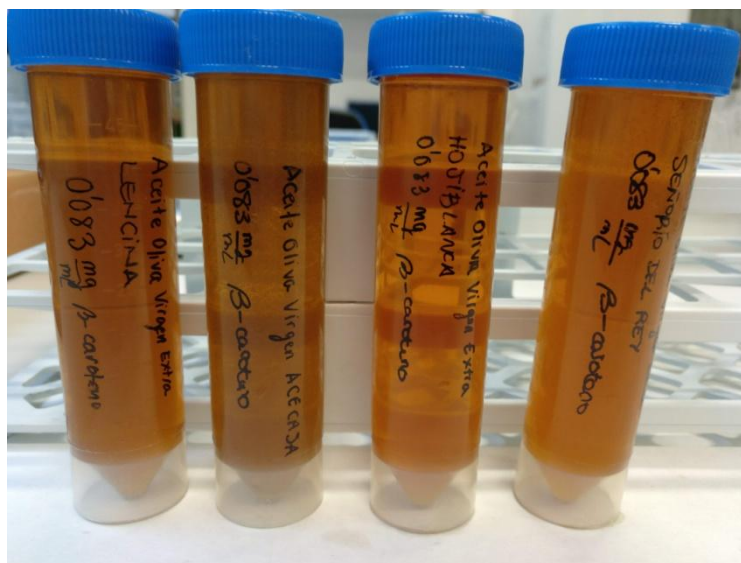


Figura 14. Tubos falcon de aceite de oliva enriquecidos con B-caroteno.

La concentración que se desea es de 0.083 mg/mL, se calcula cuántos mililitros de disolución de β -caroteno (Apartado 4.1), hay que poner para alcanzar esa concentración.

$$0.083 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} = \frac{x \cdot 3.31 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}}{(50 + x)}$$

$$x = 1.29 \text{ mL de } \beta - \text{caroteno en } 50 \text{ mL de aceite}$$

A cada tubo, que contiene 50 mL de aceite de oliva, hay que añadirle 1.29 mL de disolución de β -caroteno para alcanzar una concentración de 0.083 mg/mL.

4.4. Preparación de aceites de girasol enriquecidos.

El aceite de girasol, sólo se va a utilizar para el ensayo de degradación en cabina con luz ultravioleta, por lo tanto, se calcula qué cantidad de disolución de β -caroteno hay que poner en cada cubeta de con 14 mL de aceite de girasol.

El aceite de girasol se enriquece para tener una disolución 20 veces inferior a la del aceite de oliva.(Justificado en el apartado 3.2.2.2.).

Por tanto se necesita una concentración de 0.00415 mg/mL

$$0.00415 \frac{mg}{mL} = \frac{x \cdot 0.167 \frac{mg}{mL}}{(14 + x)}$$

$$x = 0.357 \text{ mL} = 357 \mu\text{L de } \beta - \text{caroteno en cada cubeta.}$$

En cada cubeta, con 14 mL de aceite de girasol, se ponen 357 μL de disolución de β -caroteno.

Se recalcula la concentración ya que, por precisión, se toman 360 μL de β -caroteno.

$$\frac{0.360 \text{ mL} \cdot 0.167 \frac{mg}{mL}}{14 \text{ mL} + 0.360 \text{ mL}} = []$$

$$[\text{cubeta de aceite de girasol}] = 0.00418 \frac{mg}{mL}$$

Finalmente la concentración de cada cubeta de aceite de girasol enriquecido es 0.00418 mg/mL.

4.5. Curvas de colorimetría.

La experiencia referida a las curvas de colorimetría comienza con la preparación de la muestra, se preparan 14 mL de aceite en una cubeta. Progresivamente se va añadiendo β -caroteno de 20 en 20 μL , se homogeniza la muestra y se toman las medidas para obtener una evolución de valores de ΔE^*_{ab} .

4.5.1. Curvas de colorimetría de aceites de oliva.

Las [Tablas 2, 3, 4 y 5](#) recogen los parámetros colorimétricos de 4 aceites de oliva diferentes, 3 de ellos de variedad picual y de los cuáles 1 es virgen, mientras que los otros 2, son vírgenes extra y otro de variedad hojiblanca.

En las [Figuras 15, 16, 17 y 18](#), se aprecia la evolución del color del aceite a medida que la cantidad de β -caroteno añadida aumenta, de manera que, el color verde del aceite pasa progresivamente a un tono anaranjado.

Aceite de oliva virgen “Acecasa”

Tabla 2. Parámetros colorimétricos de la evolución del color del aceite de oliva virgen Acecasa en función del antioxidante añadido; [β -caroteno]= 3.27 mg/mL. ul= microlitros añadidos.

Nombre datos	Volumen de B-caroteno añadido	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	dE*ab(D65)
Aceite de Oliva Acecasa + 0 ul (0)	0	83,63	3,64	121,01	-----
Aceite de Oliva Acecasa + 20 ul (20)	20	81,42	7,55	126,08	6,78
Aceite de Oliva Acecasa + 20 ul (40)	40	79,7	12,21	129,52	12,71
Aceite de Oliva Acecasa + 20 ul (60)	60	77,7	15,73	128,34	15,33
Aceite de Oliva Acecasa + 20 ul (80)	80	76,98	18,56	128,12	17,81
Aceite de Oliva Acecasa + 20 ul (100)	100	75,74	20,57	126,71	19,53
Aceite de Oliva Acecasa + 20 ul (120)	120	75,46	22,45	126,75	21,3
Aceite de Oliva Acecasa + 20 ul (140)	140	74,16	24,07	124,88	22,84
Aceite de Oliva Acecasa + 20 ul (140)*	140	74,27	24,13	125,09	22,89
Aceite de Oliva Acecasa + 20 ul (140)**	140	74,32	24,15	125,23	22,91
Aceite de Oliva Acecasa + 20 ul (160)	160	72,9	25,65	123,1	24,57

Aceite de Oliva Acecasa + 20 ul (180)	180	72,5	26,67	122,62	25,63
Aceite de Oliva Acecasa + 20 ul (200)	200	71,72	28,1	121,62	27,21
Aceite de Oliva Acecasa + 20 ul (220)	220	70,99	29,2	120,7	28,52
Aceite de Oliva Acecasa + 20 ul (240)	240	71,16	30,32	120,92	29,45
Aceite de Oliva Acecasa + 20 ul (260)	260	69,66	30,81	118,55	30,65
Aceite de Oliva Acecasa + 20 ul (280)	280	68,25	31,34	116,29	32,03
Aceite de Oliva Acecasa + 20 ul (300)	300	68,26	32,07	116,42	32,64
Aceite de Oliva Acecasa + 20 ul (320)	320	67,35	32,51	114,92	33,7
Aceite de Oliva Acecasa + 20 ul (340)	340	66,69	32,86	113,88	34,52
Aceite de Oliva Acecasa + 25 ul (365)	365	66,38	33,52	113,49	35,31

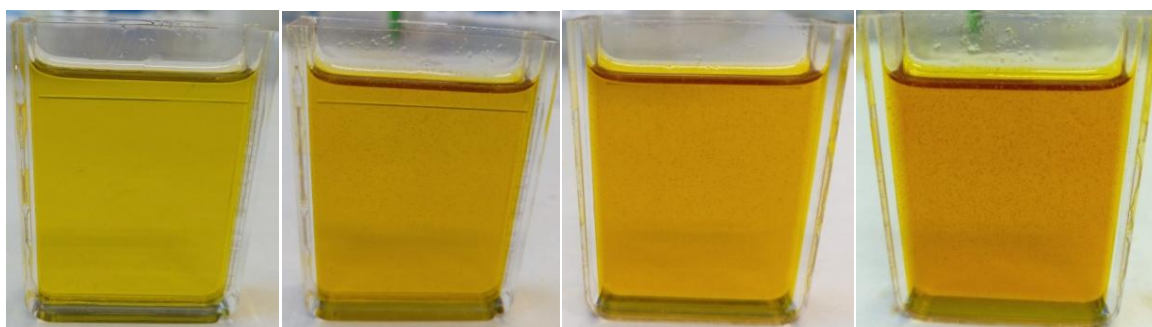


Figura 15. Evolución en las cubetas con aceite de oliva virgen Acecasa; de izquierda a derecha sin antioxidante, con 100, 200 y 365 µl, respectivamente de antioxidante; $[\beta\text{-Caroteno}] = 3.27\text{ mg/mL}$.

Aceite de oliva virgen extra "Lencina"

Tabla 3. Parámetros colorimétricos de la evolución del color del aceite de oliva virgen extra Lencina con antioxidante añadido; $[\beta\text{-caroteno}] = 3.27\text{ mg/mL}$.

Nombre datos	Volumen B-caroteno añadido	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	dE*ab(D65)
Aceite de Oliva "Lencina"	0	85,32	2,82	115,2	-----

Aceite de Oliva "Lencina" + 20 ul (20)	20	82,9	8,46	127,1	13,38
Aceite de Oliva "Lencina" + 20 ul (40)	40	79,71	15,63	130,94	21,04
Aceite de Oliva "Lencina" + 20 ul (60)	60	77,54	18,64	128,86	22,3
Aceite de Oliva "Lencina" + 20 ul (80)	80	77,35	22,06	129,39	25,2
Aceite de Oliva "Lencina" + 20 ul (100)	100	76,08	23,7	127,73	26,04
Aceite de Oliva "Lencina" + 20 ul (120)	120	74,68	26,05	126,09	27,77
Aceite de Oliva "Lencina" + 20 ul (140)	140	74,15	27,81	125,32	29,18
Aceite de Oliva "Lencina" + 20 ul (160)	160	73,22	29,05	123,98	30,19
Aceite de Oliva "Lencina" + 20 ul (180)	180	73,34	30,61	124,48	31,64
Aceite de Oliva "Lencina" + 20 ul (200)	200	72,35	31,29	122,93	32,23
Aceite de Oliva "Lencina" + 20 ul (220)	220	71,17	32,22	121,07	33,14
Aceite de Oliva "Lencina" + 20 ul (240)	240	70,94	32,84	120,79	33,75
Aceite de Oliva "Lencina" + 20 ul (260)	260	70,23	33,32	119,65	34,32
Aceite de Oliva "Lencina" + 20 ul (280)	280	69,46	33,96	118,38	35,08
Aceite de Oliva "Lencina" + 20 ul (300)	300	68,91	34,72	117,49	35,94
Aceite de Oliva "Lencina" + 20 ul (320)	320	68,88	35,45	117,66	36,61
Aceite de Oliva "Lencina" + 20 ul (340)	340	68,23	35,81	116,42	37,17
Aceite de Oliva "Lencina" + 25 ul (365)	365	67,62	36,4	115,59	37,95

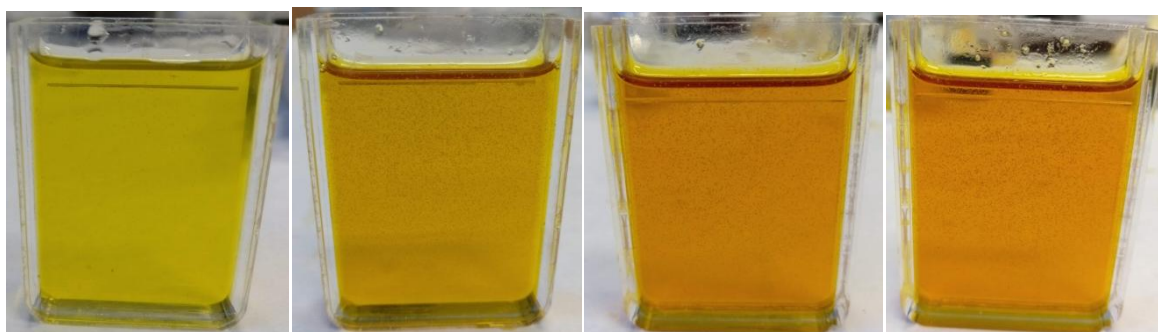


Figura 16. Progresión de cubetas con aceite de oliva virgen extra Lencina; sin antioxidante, con 100, 200 y 365 ul, respectivamente de antioxidante; $[\beta\text{-Caroteno}] = 3.27 \text{ mg/mL}$.

Aceite de oliva virgen extra “Hojiblanca”

Tabla 4. Parámetros colorimétricos de la evolución del color del aceite de oliva virgen extra Hojiblanca con antioxidante añadido; $[\beta\text{-caroteno}] = 3.27 \text{ mg/mL}$.

Nombre datos	Volumen B-caroteno añadido	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	dE*ab(D65)
Aceite Oliva V.Extra Hojiblanca + 0 ul (0)	0	88,89	0,29	103,78	-----
Aceite Oliva V.Extra Hojiblanca + 0 ul (0)	0	88,89	0,29	103,81	0,03
Aceite Oliva V.Extra Hojiblanca + 20 ul (20)	20	85,68	7,24	123,07	20,75
Aceite Oliva V.Extra Hojiblanca + 20 ul (40)	40	83,26	12,33	131,93	31,13
Aceite Oliva V.Extra Hojiblanca + 20 ul (60)	60	82,02	15,65	133,71	34,33
Aceite Oliva V.Extra Hojiblanca + 20 ul (80)	80	80,46	18,47	132,6	35,1
Aceite Oliva V.Extra Hojiblanca + 20 ul (100)	100	80,5	20,91	133,71	37,3
Aceite Oliva V.Extra Hojiblanca + 20 ul (120)	120	79,73	23	133,07	38,17
Aceite Oliva V.Extra Hojiblanca + 20 ul (140)	140	79,05	24,35	132,37	38,64
Aceite Oliva V.Extra Hojiblanca + 20 ul (160)	160	77,82	25,15	130,43	38,09
Aceite Oliva V.Extra Hojiblanca + 20 ul (180)	180	77,63	26,05	130,28	38,63
Aceite Oliva V.Extra Hojiblanca + 20 ul (200)	200	76,87	27,12	129,5	39,06

Aceite Oliva V.Extra Hojiblanca + 20 ul (220)	220	75,67	27,87	127,63	38,78
Aceite Oliva V.Extra Hojiblanca + 20 ul (240)	240	77,04	29,31	129,98	40,85
Aceite Oliva V.Extra Hojiblanca + 20 ul (260)	260	75,81	30,13	128,15	40,68
Aceite Oliva V.Extra Hojiblanca + 20 ul (280)	280	75,31	30,95	127,43	41,03
Aceite Oliva V.Extra Hojiblanca + 20 ul (300)	300	75,07	31,77	127,21	41,6
Aceite Oliva V.Extra Hojiblanca + 20 ul (320)	320	73,91	32,34	125,39	41,45
Aceite Oliva V.Extra Hojiblanca + 20 ul (340)	340	73,58	33,07	124,9	41,88
Aceite Oliva V.Extra Hojiblanca + 25 ul (365)	365	71,93	33,36	122,33	41,53



Figura 17. Progresión de cubetas con aceite de oliva virgen extra Hojiblanca; sin antioxidante, con 100, 200 y 365 ul, respectivamente de antioxidante; $[\beta\text{-Caroteno}] = 3.27 \text{ mg/mL}$.

Aceite de oliva virgen extra “Señorío del Rey”

Tabla 5. Parámetros colorimétricos de la evolución del color del aceite de oliva virgen extra Señorío del Rey con antioxidante añadido; $[\beta\text{-caroteno}] = 3.27 \text{ mg/mL}$.

Nombre datos	Volumen de B-caroteno añadido	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	dE*ab(D65)
AOVE Señorío del Rey + 0 ul (0)	0	87,38	0,13	102,83	-----
AOVE Señorío del Rey + 20 ul (20)	20	84,91	6,61	121,36	19,79

AOVE Señorío del Rey + 20 ul (40)	40	83,26	11,09	130,67	30,2
AOVE Señorío del Rey + 20 ul (60)	60	81,81	14,52	132,96	33,85
AOVE Señorío del Rey + 20 ul (80)	80	80,74	17,14	132,88	35,16
AOVE Señorío del Rey + 20 ul (100)	100	80,33	19,58	133,12	36,68
AOVE Señorío del Rey + 20 ul (120)	120	78,85	20,81	131,19	36,12
AOVE Señorío del Rey + 20 ul (140)	140	79,41	22,71	132,73	38,31
AOVE Señorío del Rey + 20 ul (160)	160	77,96	24,06	130,63	37,87
AOVE Señorío del Rey + 20 ul (180)	180	77,53	25,17	130,18	38,37
AOVE Señorío del Rey + 20 ul (200)	200	77,21	26,45	129,87	39,08
AOVE Señorío del Rey + 20 ul (220)	220	75,66	27,46	127,6	38,7
AOVE Señorío del Rey + 20 ul (240)	240	74,91	28,29	126,5	38,84
AOVE Señorío del Rey + 20 ul (260)	260	74,29	29,01	125,58	39,02
AOVE Señorío del Rey + 20 ul (260)*	260	74,36	29,04	125,66	39,07
AOVE Señorío del Rey + 20 ul (260)**	260	74,43	29,06	125,73	39,1
AOVE Señorío del Rey + 20 ul (280)	280	73,79	29,78	124,85	39,35
AOVE Señorío del Rey + 20 ul (300)	300	73,67	30,52	124,82	39,94
AOVE Señorío del Rey + 20 ul (320)	320	73,43	32,03	124,67	41,1
AOVE Señorío del Rey + 20 ul (340)	340	73,17	32,61	124,27	41,44
AOVE Señorío del Rey + 25 ul (365)	365	72,95	33,38	123,96	41,95

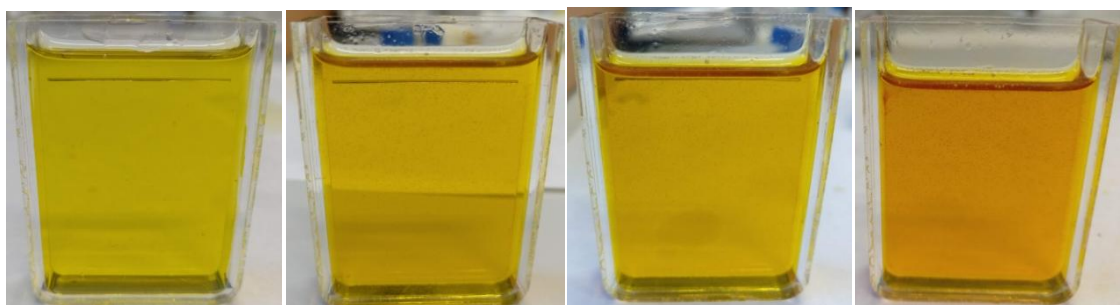


Figura 18. Progresión de cubetas con aceite de oliva virgen extra Señorío del Rey; sin antioxidante, con 100, 200 y 365 μ l, respectivamente de antioxidante; $[\beta\text{-Caroteno}] = 3.27$ mg/mL.

La [Figura 19](#) muestra las 4 curvas de colorimetría de los 4 aceites de oliva estudiados.

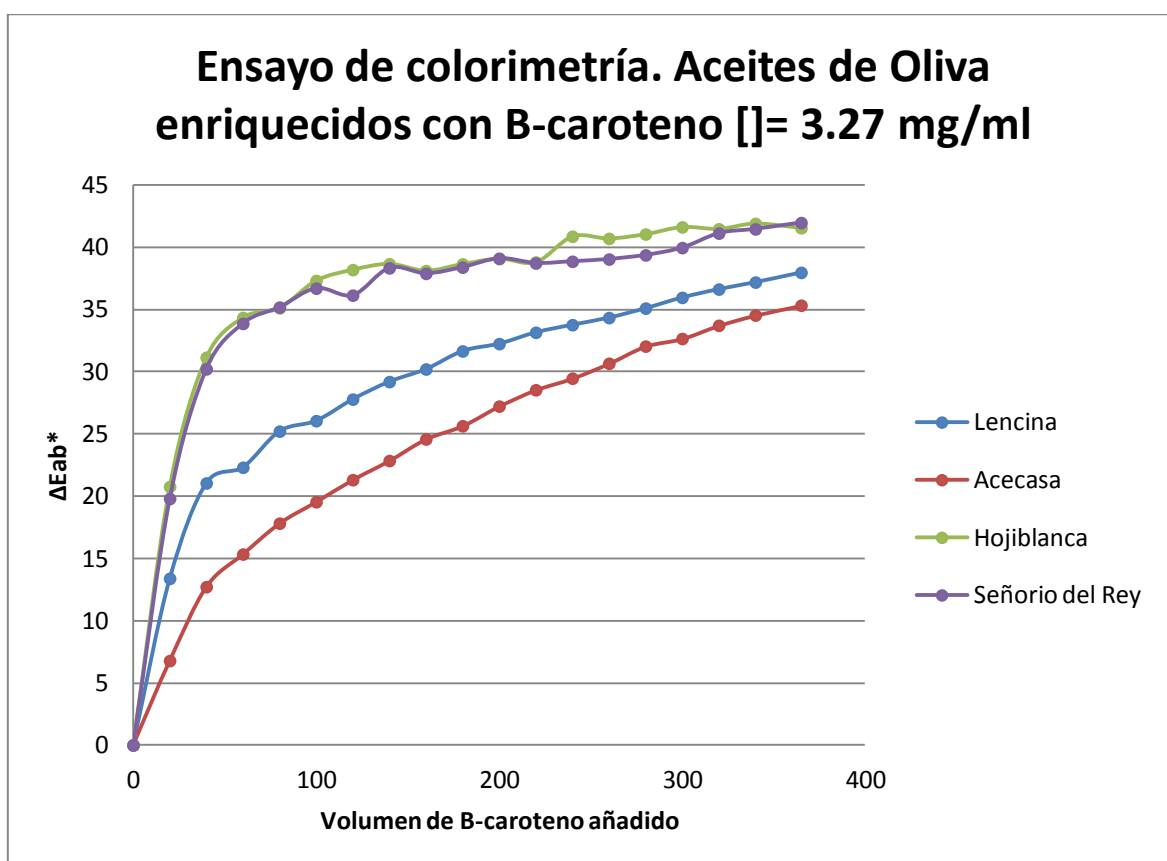


Figura 19. Variación del color en aceites de oliva con antioxidante añadido; $[\beta\text{-caroteno}] = 3.27$ mg/mL.

Como se puede apreciar, siguen tendencias muy parecidas. Su ΔE^*ab empieza a estabilizarse hasta alcanzar un color estable como muestra la [Figura 11](#).

El AOV Acecasa es el que presenta menor variación del color, y los AOVES Hojiblanca y Señorío del Rey los que más variación de color presentan. Para este ensayo se han añadido hasta 365 μL de β -caroteno con aceite de oliva picual de forma que al consumir dichos aceites la ingesta de carotenoides fuese de 3 mg.

4.5.2. Curvas de colorimetría de aceites de girasol.

Las [Tablas 6, 7, 8 y 9](#) recogen los parámetros colorimétricos de 4 aceites de girasol diferentes.

En las [Figuras 20, 21, 22 y 23](#), se aprecia la evolución del color del aceite a medida que la cantidad de β -caroteno añadida aumenta, de manera que, el color amarillento casi transparente del aceite de girasol pasa progresivamente a un tono amarillo anaranjado.

Aceite de girasol “Abaco Sol”

Tabla 6. Parámetros colorimétricos de la evolución del color del aceite de girasol Abaco Sol con antioxidante añadido; $[\beta\text{-caroteno}] = 0.167 \text{ mg/mL}$.

Nombre datos	Volumen de B-caroteno añadido	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	dE*ab(D65)
Aceite girasol Abaco + 0 ul (0)	0	99,44	-1,73	6,84	-----
Aceite girasol Abaco + 0ul (0)	0	99,44	-1,72	6,84	0,01
Aceite girasol Abaco + 20ul (20)	20	97,58	-1,02	15,89	9,27
Aceite girasol Abaco + 20ul (40)	40	96,09	-0,26	25,55	19,07
Aceite girasol Abaco + 20ul (60)	60	95,59	0,35	32,72	26,24

Aceite girasol Abaco + 20ul (80)	80	94,72	1,04	40,3	33,9
Aceite girasol Abaco + 20ul (100)	100	94,3	1,54	45,09	38,73
Aceite girasol Abaco + 20ul (120)	120	93,85	2,1	50,78	44,45
Aceite girasol Abaco + 20ul (140)	140	92,98	2,84	57,09	50,87
Aceite girasol Abaco + 20ul (140)*	140	92,99	2,84	57,11	50,88
Aceite girasol Abaco + 20ul (140)**	140	93	2,84	57,11	50,89
Aceite girasol Abaco + 20ul (160)	160	92,22	3,36	61,68	55,54
Aceite girasol Abaco + 20ul (180)	180	92,13	3,93	67,04	60,91
Aceite girasol Abaco + 20ul (200)	200	91,95	4,43	71,17	65,05
Aceite girasol Abaco + 20ul (220)	220	91,62	4,89	74,79	68,71
Aceite girasol Abaco + 20ul (240)	240	91,13	5,4	78,96	72,95
Aceite girasol Abaco + 20ul (260)	260	90,01	5,88	82,19	76,31
Aceite girasol Abaco + 20ul (280)	280	90,41	6,31	86,46	80,53
Aceite girasol Abaco + 20ul (300)	300	89,59	6,75	89,48	83,65
Aceite girasol Abaco + 20ul (320)	320	89,65	7,2	92,59	86,77
Aceite girasol Abaco + 20ul (340)	340	89,13	7,63	95,75	89,99
Aceite girasol Abaco + 20ul (365)	360	88,7	8,07	98,43	92,74

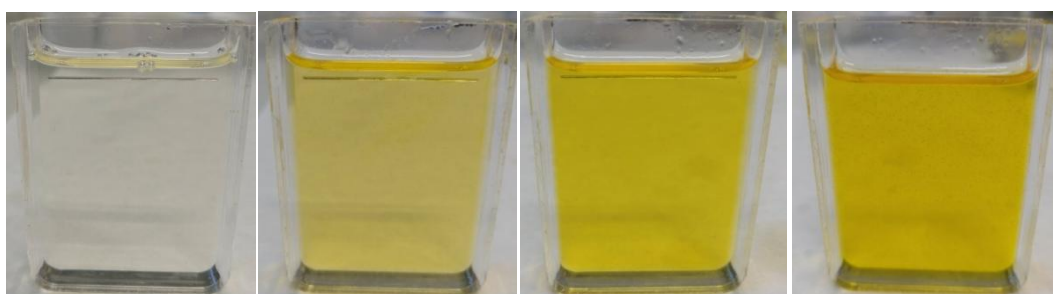


Figura 20. Progresión de cubetas con aceite de girasol Abaco Sol; sin antioxidante, con 100, 200 y 365 ul, respectivamente de antioxidante; [β -Caroteno]= 0.167 mg/mL.

Aceite de girasol “Ondosol”

Tabla 7. Parámetros colorimétricos de la evolución del color del aceite de girasol Ondosol con antioxidante añadido; $[\beta\text{-caroteno}] = 0.167 \text{ mg/mL}$.

Nombre datos	Volumen B-caroteno añadido	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	dE*ab(D65)
Aceite ondosol + 0 ul Bcarot (0)	0	99,44	-1,44	6,24	-----
Aceite ondosol + 3 ul Bcarot (3)	3	99,22	-1,3	7,87	1,65
Aceite ondosol + 3 ul Bcarot (6)	6	99,09	-1,25	8,73	2,52
Aceite ondosol + 3 ul Bcarot (9)	9	98,56	-1,03	12,34	6,18
Aceite ondosol + 3 ul Bcarot (12)	12	98,28	-0,88	14,31	8,17
Aceite ondosol + 3 ul Bcarot (15)	15	97,57	-0,51	19,66	13,58
Aceite ondosol + 3 ul Bcarot (18)	18	97,2	-0,31	22,24	16,2
Aceite ondosol + 3 ul Bcarot (21)	21	97	-0,17	23,73	17,71
Aceite ondosol + 3 ul Bcarot (24)	24	96,83	0	24,51	18,51
Aceite ondosol + 6 ul Bcarot (30)	30	96,31	0,27	28,44	22,49
Aceite ondosol + 10 ul Bcarot (40)	40	95,6	0,73	34,57	28,67
Aceite ondosol + 10 ul Bcarot (50)	50	95,15	1,12	38,49	32,64
Aceite ondosol + 20 ul Bcarot (70)	70	94,37	1,76	45,18	39,39
Aceite ondosol + 20 ul Bcarot (90)	90	93,77	2,3	50,86	45,14
Aceite ondosol + 20 ul Bcarot (110)	110	93,25	2,76	55,84	50,16
Aceite ondosol + 20 ul Bcarot (130)	130	92,78	3,3	60,79	55,16
Aceite ondosol + 20 ul Bcarot (150)	150	92,18	4,1	66,78	61,22
Aceite ondosol + 20 ul Bcarot (170)	170	91,51	4,73	71,95	66,47

Bcarot (170)					
Aceite ondosol + 20 ul Bcarot (190)	190	91,08	5,21	75,87	70,44
Aceite ondosol + 20 ul Bcarot (210)	210	90,74	5,66	79,52	74,14
Aceite ondosol + 20 ul Bcarot (230)	230	90,52	6	82,26	76,9
Aceite ondosol + 20 ul Bcarot (250)	250	90,03	6,31	84,75	79,45
Aceite ondosol + 20 ul Bcarot (270)	270	89,81	6,77	88,56	83,28
Aceite ondosol + 20 ul Bcarot (290)	290	89,41	7,24	91,93	86,71
Aceite ondosol + 20 ul Bcarot (320)	320	89,22	7,53	94,14	88,94
Aceite ondosol + 20 ul Bcarot (340)	340	88,94	7,96	97,2	92,05
Aceite ondosol + 20 ul Bcarot (360)	360	88,85	8,38	100,48	95,34
Aceite ondosol + 20 ul Bcarot (365)	365	88,97	8,61	102,16	97,01

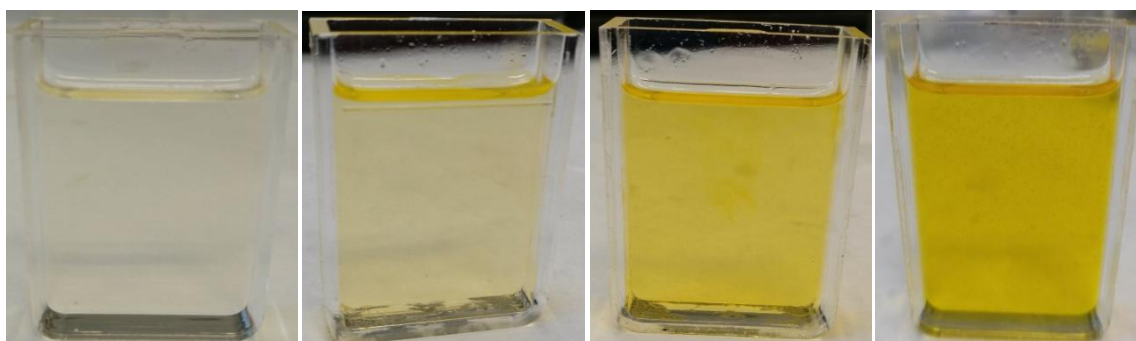


Figura 21. Progresión de cubetas con aceite de girasol Ondosol; sin antioxidante, con 100, 200 y 365 ul, respectivamente de antioxidante; [β -Caroteno]= 0.167 mg/mL.

Aceite de girasol “Auchan”

Tabla 8. Parámetros colorimétricos de la evolución del color del aceite de girasol Auchan con antioxidante añadido; $[\beta\text{-caroteno}] = 0.167 \text{ mg/mL}$.

Nombre datos	Volumen añadido de B-caroteno	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	dE*ab(D65)
Aceite girasol Auchan + 0 ul (0)	0	99,64	-1,38	5,15	-----
Aceite girasol Auchan + 20 ul (20)	20	98,64	-0,99	10,95	5,9
Aceite girasol Auchan + 20 ul (40)	40	97,82	-0,6	17,03	12,05
Aceite girasol Auchan + 20 ul (60)	60	96,77	-0,04	24,73	19,83
Aceite girasol Auchan + 20 ul (80)	80	95,3	0,93	36,25	31,48
Aceite girasol Auchan + 20 ul (80)*	80	95,34	0,94	36,28	31,5
Aceite girasol Auchan + 20 ul (80)**	80	95,36	0,94	36,28	31,51
Aceite girasol Auchan + 20 ul (100)	100	94,8	1,32	40,56	35,84
Aceite girasol Auchan + 20 ul (120)	120	93,98	2	48,04	43,39
Aceite girasol Auchan + 20 ul (140)	140	93,43	2,53	53,65	49,05
Aceite girasol Auchan + 20 ul (160)	160	92,9	3,03	58,56	54,01
Aceite girasol Auchan + 20 ul (180)	180	92,15	3,54	63,27	58,8
Aceite girasol Auchan + 20 ul (200)	200	91,64	4,07	67,99	63,58
Aceite girasol Auchan + 20 ul (220)	220	91,24	4,51	71,7	67,34
Aceite girasol Auchan + 20 ul (240)	240	90,82	4,93	75,17	70,85
Aceite girasol Auchan + 20 ul (260)	260	90,1	5,64	80,78	76,55
Aceite girasol Auchan + 20 ul (280)	280	89,9	6,03	84,01	79,8
Aceite girasol Auchan + 20 ul (300)	300	89,77	6,46	87,62	83,42
Aceite girasol Auchan + 20 ul (320)	320	89,37	6,91	90,91	86,77
Aceite girasol Auchan + 20 ul (340)	340	89,11	7,44	94,83	90,73

20 ul (340)					
Aceite girasol Auchan + 25 ul (365)	365	89,06	7,92	98,21	94,12

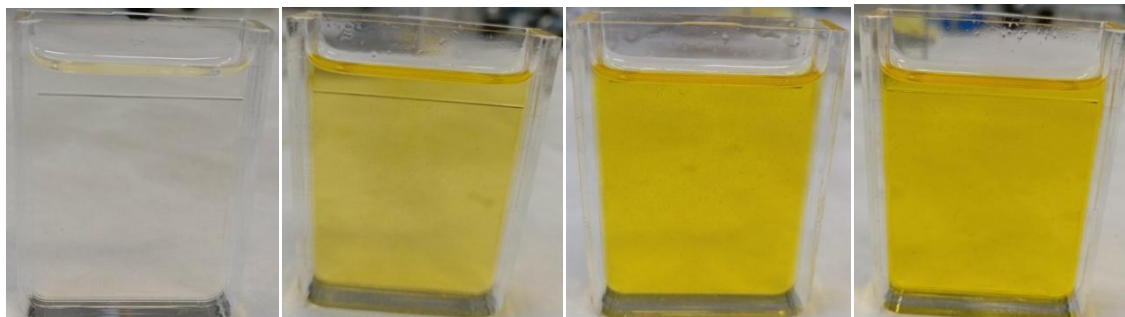


Figura 22. Progresión de cubetas con aceite de girasol Auchan; sin antioxidante, con 100, 200 y 365 ul, respectivamente de antioxidante; $[\beta\text{-Caroteno}] = 0.167\text{ mg/mL}$.

Aceite de girasol "Coosol"

Tabla 9. Parámetros colorimétricos de la evolución del color del aceite de girasol Coosol con antioxidante añadido; $[\beta\text{-caroteno}] = 0,167\text{ mg/mL}$.

Nombre datos	Volumen B-caroteno añadido	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	dE*ab(D65)
Aceite girasol Coosol + 0 ul (0)	0	99,67	-1,24	4,6	-----
Aceite girasol Coosol + 0 ul (0)	0	99,7	-1,24	4,59	0,03
Aceite girasol Coosol + 20 ul (20)	20	98,83	-0,94	8,99	4,48
Aceite girasol Coosol + 20 ul (40)	40	97,69	-0,52	15	10,62
Aceite girasol Coosol + 20 ul (60)	60	96,95	-0,1	20,81	16,48
Aceite girasol Coosol + 20 ul (80)	80	96,21	0,25	25,71	21,44
Aceite girasol Coosol + 20 ul (100)	100	95,65	0,67	30,99	26,76
Aceite girasol Coosol + 20 ul (120)	120	94,55	1,4	39,54	35,42
Aceite girasol Coosol + 20 ul (140)	140	93,69	1,89	45,28	41,24
Aceite girasol Coosol + 20 ul (160)	160	93,1	2,45	51,29	47,3

Aceite girasol Coosol + 20 ul (180)	180	92,67	2,88	55,24	51,29
Aceite girasol Coosol + 20 ul (200)	200	92,33	3,41	60,51	56,58
Aceite girasol Coosol + 20 ul (220)	220	91,09	3,92	64,74	60,97
Aceite girasol Coosol + 20 ul (240)	240	91,19	4,41	69,49	65,69
Aceite girasol Coosol + 20 ul (260)	260	90,42	4,87	73,26	69,55
Aceite girasol Coosol + 20 ul (260)*	260	90,55	4,87	73,33	69,61
Aceite girasol Coosol + 20 ul (260)**	260	90,67	4,88	73,41	69,67
Aceite girasol Coosol + 20 ul (280)	280	90,11	5,31	76,83	73,16
Aceite girasol Coosol + 20 ul (300)	300	90,09	5,73	80,48	76,81
Aceite girasol Coosol + 20 ul (320)	320	89,69	6,07	83,22	79,59
Aceite girasol Coosol + 20 ul (340)	340	89,52	6,69	88,15	84,54
Aceite girasol Coosol + 20 ul (365)	360	88,12	7,14	90,79	87,37

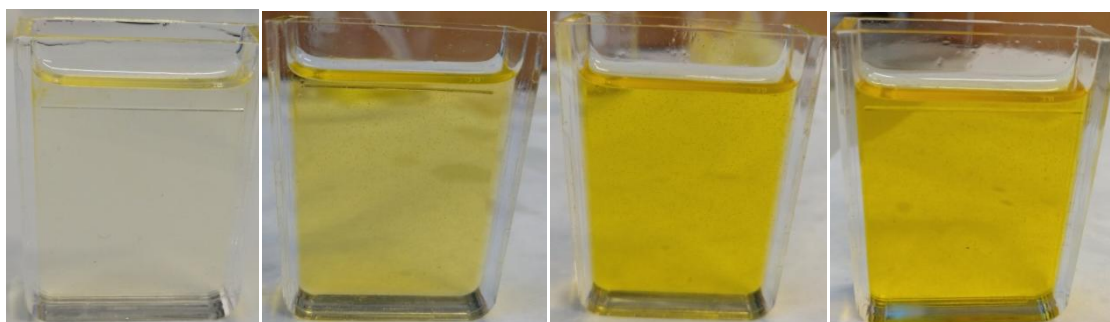


Figura 23. Progresión de cubetas con aceite de girasol Coosol; sin antioxidante, con 100, 200 y 365 ul, respectivamente de antioxidante; $[\beta\text{-Caroteno}] = 0.167\text{ mg/mL}$.

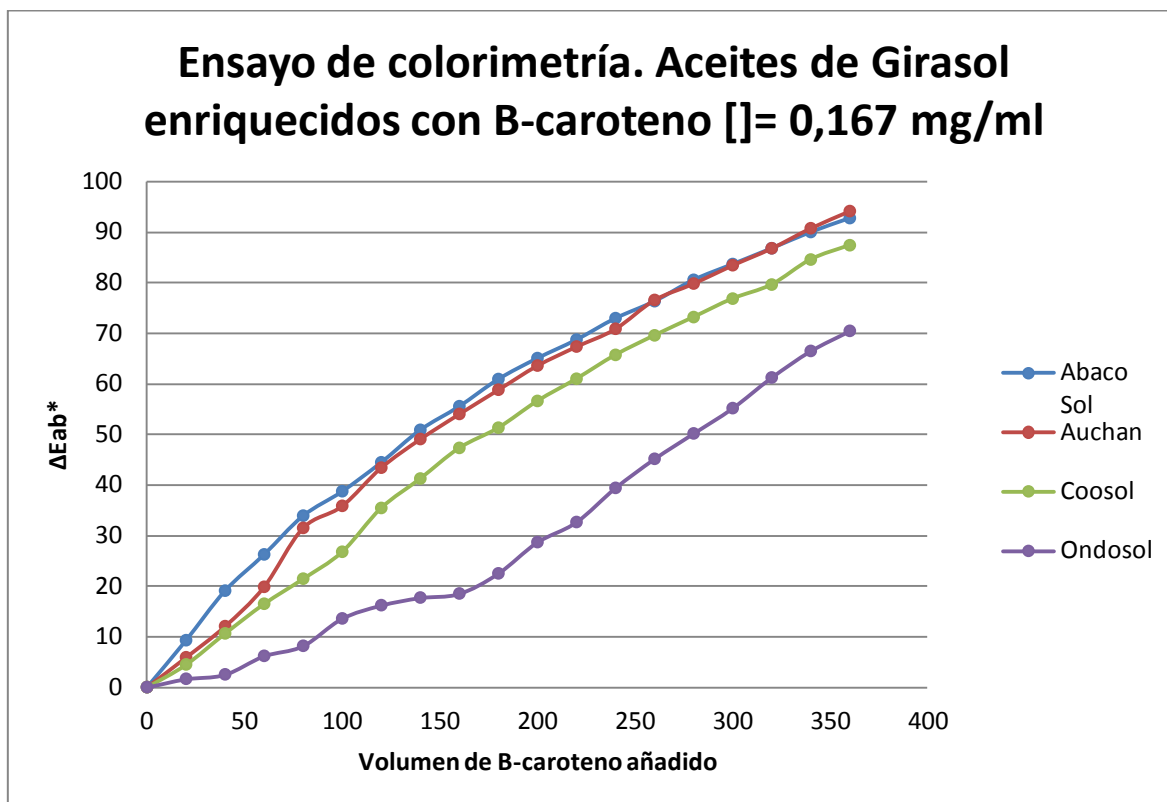


Figura 24. Variación del color en aceites de girasol con antioxidante añadido; [β -caroteno]= 0.167 mg/mL.

En la [Figura 24](#), se muestran las 4 curvas de colorimetría de los 4 aceites de girasol ensayados. Igual que en el caso de los aceites de oliva, se ha añadido un volumen de β -caroteno de hasta 365 μ L. De los cuatro aceites el aceite de girasol Ondosol es el que menor variación presenta, es decir, su variación de color es menor. Este fenómeno es atribuible a que inicialmente tuviera algo más de color que el resto.

Ninguno de los 4 aceites de girasol ensayados se llega a estabilizar, como es el caso de los aceites de oliva, la tendencia que siguen es creciente, ya que la ΔE^*_{ab} siempre sigue creciente.

4.6. Termo-estabilidad. Estabilidad frente a la temperatura.

Los cambios químicos que se producen en aceites suelen estar provocados por variables como la exposición a la luz, la temperatura y el transcurso del tiempo desde que se ha obtenido el aceite.

Todos estos cambios los podemos medir siguiendo el proceso de cambio de color de los aceites, ya que hay una estrecha relación entre los estas alteraciones químicas y la variación de color ([Limon et al.,2015](#)).

Teniendo en cuenta esto, se realiza un seguimiento en que se evalúa el color de los aceites, su degradación frente a la exposición a temperatura (termo-estabilidad).

Para la realización de este experimento, en primer lugar se preparan las muestras de aceites en tubos de vidrio con un volumen de aceite de 17 mL. Cada tubo de manera individual se coloca dentro de un vaso de precipitados, y se introduce en un microondas común a una potencia de 700W. En los primeros 5 minutos se calienta de uno en uno, después de 5 minutos en 5 minutos. Entre intervalo e intervalo de tiempo calentando, el tubo se mete en otro vaso de precipitados con agua fría, para enfriar. Una vez frío el aceite, se vierte a una cubeta de plástico y se mide el color en el espectrocolorímetro. Cuando se finaliza la medida se devuelve el aceite al tubo de cristal y se repite la operación siendo la exposición a la radiación de microondas acumulativa. El experimento finaliza cuando se alcance un total de 40 minutos de radiación por cada tubo de aceite.

Las medidas que se representan para cada muestra del mismo aceite son: una con antioxidante y otra sin antioxidante. En total se han evaluado 8 aceites diferentes, de los cuales, 4 son aceites de oliva y 4 aceites de girasol.

4.6.1. Termo-estabilidad por microondas: AOVes enriquecidos y AOVes sin enriquecer.

En este apartado, se han estudiado 4 aceites de oliva diferentes de la cosecha de 2019 para conocer la influencia del antioxidante en la estabilidad del aceite. De los 4 aceites analizados, 3 son Aceites de Oliva Virgen Extra (“Lencina”, “Señorío del Rey” y “Hojiblanca”) y uno es Aceite de Oliva Virgen (“Acecasa”). Los aceites de oliva “Acecasa” y “Lencina” proceden de Castilla- La Mancha, “Señorío del Rey” de Baeza (Jaén) y el de “Hojiblanca” de Córdoba, siendo este último de variedad Hojiblanca y los otros 3 de variedad Picual.

Aceite de oliva virgen “Acecasa”

En las [Tablas 10 y 11](#) se muestran los resultados obtenidos para el AOV “Acecasa” de variedad Picual con antioxidante y sin antioxidante.

Tabla 10. Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del AOV Acecasa con antioxidante añadido; Microondas, 700 W durante 40 min.

AOV ACECASA (CON ANTIOXIDANTE)				
Nombre datos	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	dE*ab(D65)
AOV ACECASA (min)	72,26	28,72	122,53	-----
0	72,37	28,66	122,77	0,08
1	71,93	31,88	122,42	0,45
2	72,2	31,53	122,74	0,54
3	72,31	31,41	123,03	0,74
4	71,92	31,81	122,39	0,47
5	72	31,66	122,52	0,27
10	75,12	25,68	126,65	4,81
15	76,43	23,43	128,14	7,43
20	76,29	23,81	127,9	8,32
25	77,01	22,65	128,96	9,01
30	77,25	22,18	129,24	10,62
35	77,94	20,82	129,83	12,17
40	77,41	21,96	129,5	10,99

Tabla 11. Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del AOV Acecasa sin antioxidante; Microondas, 700 W durante 40 min.

AOV ACECASA (SIN ANTIOXIDANTE)				
Nombre datos	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	dE*ab(D65)
AOV Acecasa (min)	83,69	3,35	120,92	-----
0	83,69	3,35	120,84	0,27
1	83,63	3,62	121,28	3,18
2	83,67	3,65	121,36	2,82
3	83,62	3,78	121,51	2,74
4	83,71	3,57	121,34	3,11
5	83,77	3,5	121,13	2,95
10	83,9	2,94	116,13	5,87
15	84,18	2,25	113,59	8,77
20	84,66	0,86	110,77	10,5
25	84,28	2,1	112,02	10,04
30	84,55	1,39	109,77	11,35
35	84,72	1,06	108,47	12,7
40	84,58	1,64	108,57	12,5

En la [Figura 25](#) se muestra la comparativa de la degradación de color del aceite “Acecasa” enriquecido y sin enriquecer.

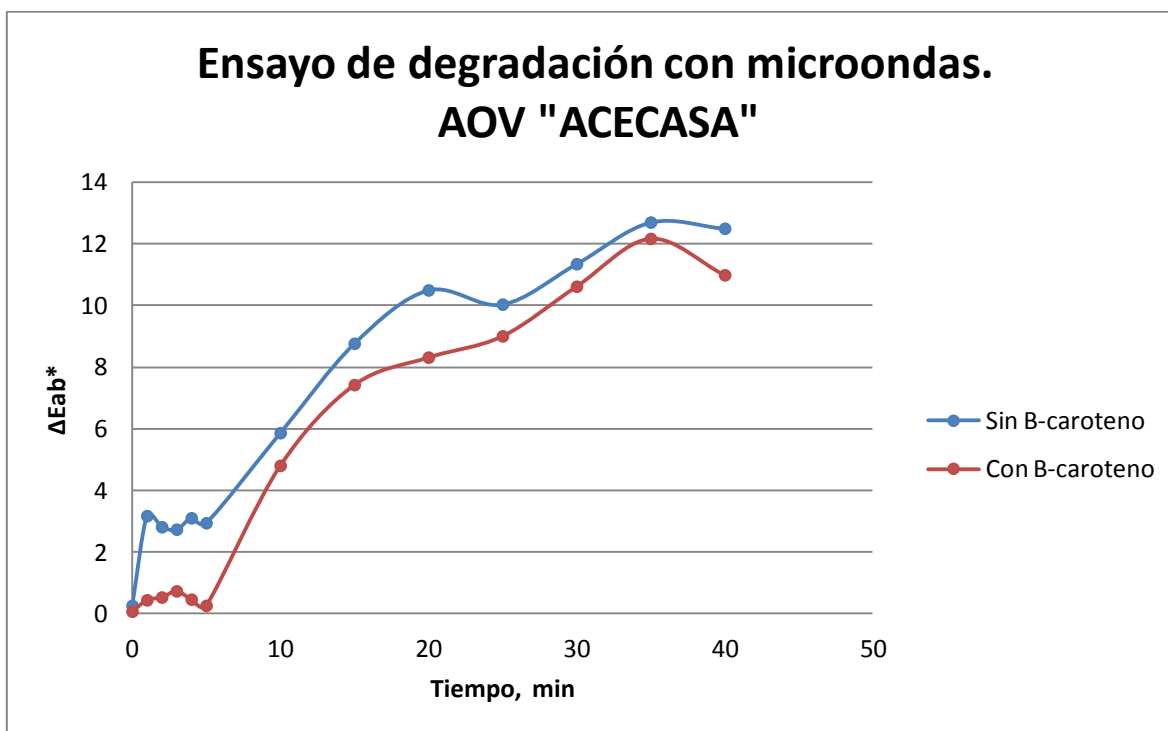


Figura 25. Variación del color del AOV Acecasa con y sin antioxidante añadido; 700W durante 40 min; [β-caroteno]= 3.27 mg/mL.

Aceite de oliva virgen extra “Lencina”

En las [tablas 12 y 13](#) se muestran los resultados obtenidos para el AOVE “Lencina” de variedad Picual con antioxidante y sin antioxidante.

Tabla 12. Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del AOVE Lencina con antioxidante añadido; Microondas, 700 W durante 40 min.

AOVE LENCINA (CON ANTIOXIDANTE)				
Nombre datos	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	dE*ab(D65)
AOVE Lencina (min)	73,59	31,72	124,97	-----
0	73,61	31,73	124,93	0,05
1	74,09	31,54	125,74	0,93
2	74,09	31,47	125,8	1
3	74,12	31,49	125,93	1,12
4	74,29	31,21	126,01	1,36
5	74,22	31,26	125,9	1,22
10	77,27	25,14	129,75	8,93
15	77,39	25	129,9	9,16
20	77,67	24,46	130,19	9,83
25	77,66	25,03	130,25	9,44
30	79,82	19,93	132,35	15,24
35	79,93	19,71	132,33	15,45
40	79,96	19,58	132,33	15,56

Tabla 13. Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del AOVE Lencina sin antioxidante añadido; Microondas, 700 W durante 40 min.

AOVE LENCINA (SIN ANTIOXIDANTE)				
Nombre datos	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	dE*ab(D65)
AOVE Lencina (min)	85,32	2,88	115,67	-----
0	85,32	2,87	115,78	0,11
1	85,75	1,81	114,14	1,91
2	85,55	2,24	114,45	1,39
3	85,76	2,26	114,68	1,24
4	85,73	2,22	114,67	1,27
5	85,73	2,21	114,66	1,27
10	86,48	0,18	103,64	12,38
15	86,6	0,13	99,38	16,57
20	87,01	-0,96	95,96	20,14
25	86,9	-0,49	94,55	21,45
30	87,54	-2,07	88,31	27,89

35	87,72	-2,21	82,99	33,15
40	87,81	-2,38	81,86	34,3

En la [Figura 26](#) se muestra la comparativa de la degradación de color del aceite “Lencina” enriquecido y sin enriquecer.

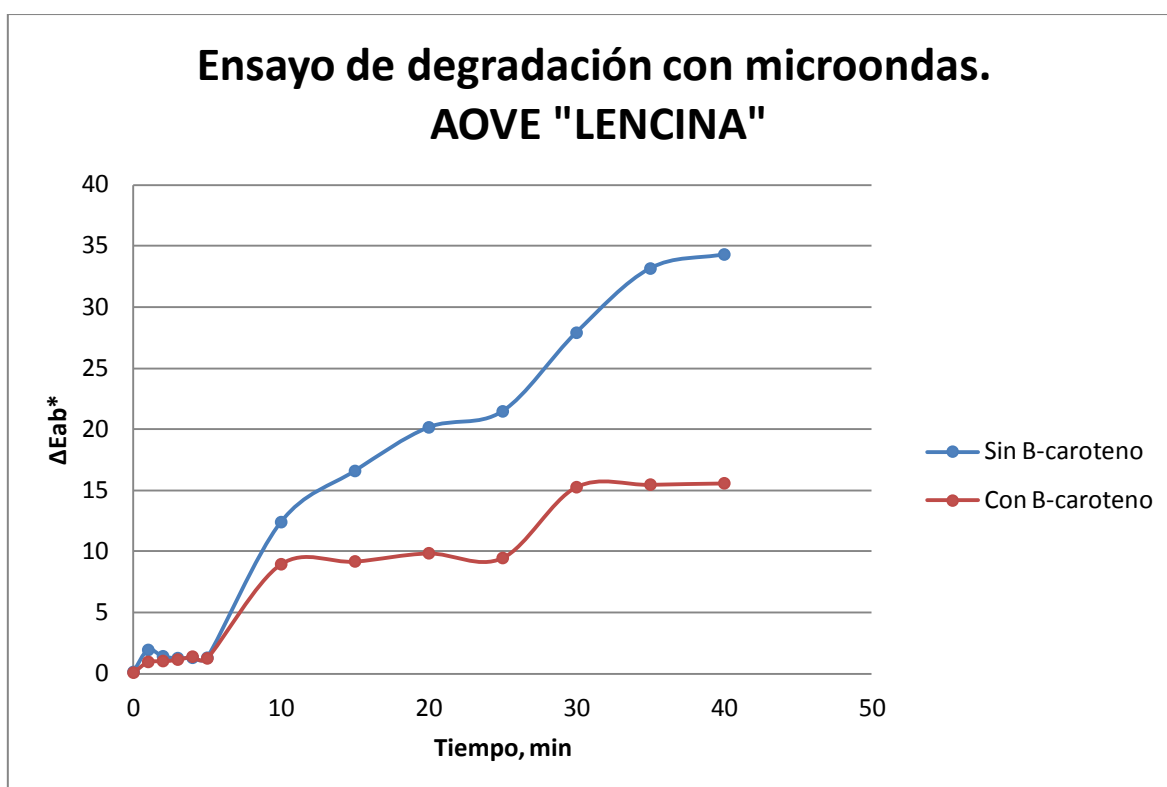


Figura 26. Variación del color del AOVE Lencina con y sin antioxidante añadido; 700W durante 40 min; [β-caroteno]= 3.27 mg/mL.

Aceite de oliva virgen extra “Hojiblanca”

En las [tablas 14 y 15](#) se muestran los resultados obtenidos para el AOVE “Hojiblanca” de variedad Hojiblanca con antioxidante y sin antioxidante.

Tabla 14. Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del AOVE Hojiblanca con antioxidante añadido; Microondas, 700 W durante 40 min.

AOVE HOJIBLANCA (CON ANTIOXIDANTE)				
Nombre datos	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	dE*ab(D65)
AOVE HOJIBLANCA (min)	75,94	32,77	128,78	-----
0	75,94	32,78	128,84	0,06
1	76,25	32,34	129,1	0,61
2	76,52	31,8	129,56	1,38
3	76,49	31,84	129,42	1,26
4	76,68	31,49	129,67	1,72
5	76,84	31,18	129,78	2,08
10	79,8	24,56	133,26	10,12
15	79,83	24,45	133,25	10,21
20	80,47	23,11	133,83	11,8
25	80,87	22,22	134,12	12,8
30	81,12	21,63	134,22	13,44
35	80,95	21,92	134,29	13,16
40	81,14	21,5	134,36	13,6

Tabla 15. Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del AOVE Hojiblanca sin antioxidante añadido; Microondas, 700 W durante 40 min.

AOVE HOJIBLANCA (SIN ANTIOXIDANTE)				
Nombre datos	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	dE*ab(D65)
AOVE Hojiblanca (min)	89,03	0,07	103,2	-----
0	89,04	0,07	103,23	0,04
1	89,1	-0,09	102,98	0,28
2	89,5	-0,85	102,13	1,48
3	89,51	-1	101,8	1,82
4	89,52	-0,86	102	1,59
5	89,43	-0,72	102,19	1,34
10	89,9	-2,37	95,43	8,19
15	90,47	-3,83	90,92	12,96
20	90,71	-3,82	84,52	19,15
25	90,83	-4,13	82,27	21,42
30	91,21	-5	79,53	24,3
35	91,04	-4,58	78,57	25,14
40	91,18	-4,89	76,82	26,92

En la [Figura 27](#) se muestra la comparativa de la degradación de color del aceite “Hojiblanca” enriquecido y sin enriquecer.

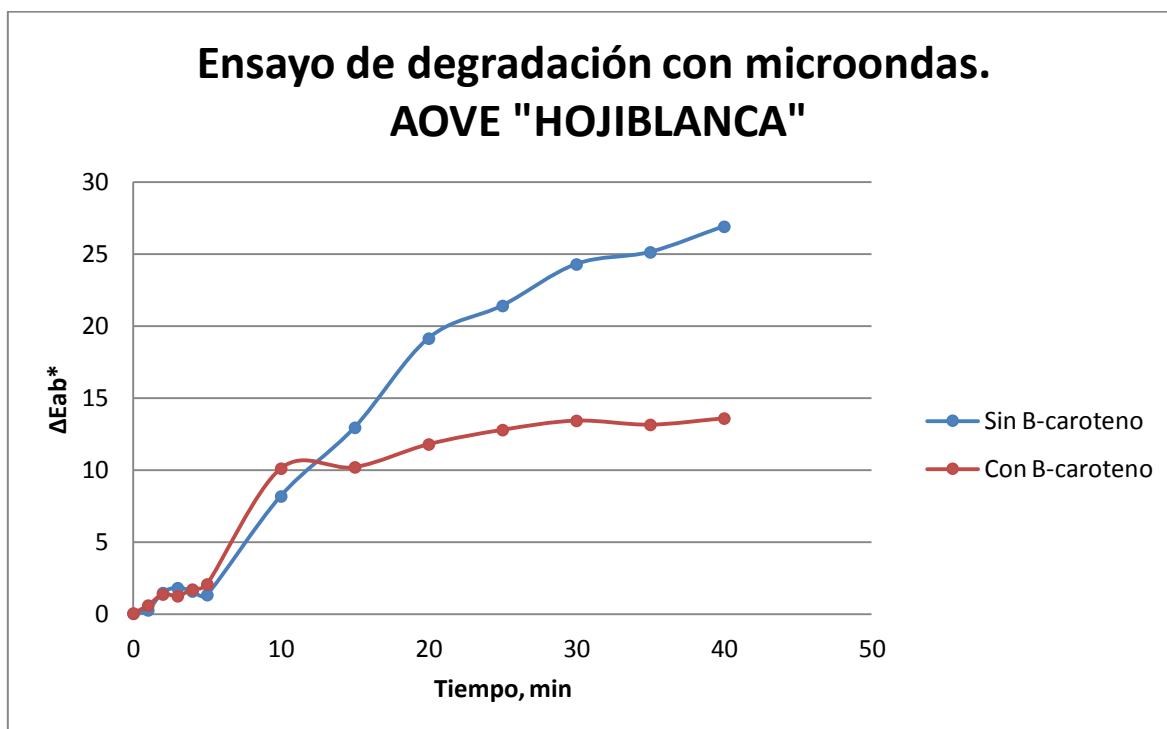


Figura 27. Variación del color del AOVE Hojiblanca con y sin antioxidante añadido; 700W durante 40 min; [β-caroteno]= 3.27 mg/mL.

Aceite de oliva virgen extra “Señorío del Rey”

En las [tablas 16 y 17](#) se muestran los resultados obtenidos para el AOVE “Señorío del Rey” de variedad Picual con antioxidante y sin antioxidante.

Tabla 16. Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del AOVE Señorío del Rey con antioxidante añadido; Microondas, 700 W durante 40 min.

AOVE SEÑORÍO DEL REY (CON ANTIOXIDANTE)				
Nombre datos	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	dE*ab(D65)
AOVE Señorío del Rey (min)	74,77	31,73	126,83	-----
0	74,8	31,74	127,02	0,19
1	75,29	31,73	127,57	0,9
2	75,26	31,81	127,63	0,94
3	75,42	31,47	127,85	1,24
4	75,44	31,44	127,93	1,32
5	75,48	31,41	127,96	1,37
10	78,67	23,99	131,54	9,86
15	78,42	24,5	131,36	9,29
20	78,27	24,76	131,2	8,94
25	78,34	24,53	131,2	9,15

30	78,65	23,94	131,53	9,89
35	78,84	23,54	131,71	10,37
40	79,12	23,67	131,95	11,98

Tabla 17. Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del AOVE Señorío del Rey sin antioxidante añadido; Microondas, 700 W durante 40 min.

AOVE SEÑORÍO DEDL REY (SIN ANTIOXIDANTE)				
Nombre datos	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	dE*ab(D65)
AOVE Señorío del Rey (min)	87,78	0,2	103,5	-----
0	87,78	0,2	103,44	0,06
1	87,93	-0,1	103,14	0,48
2	87,9	-0,04	103,18	0,42
3	87,9	-0,04	103,27	0,35
4	87,71	0,47	103,97	0,55
5	87,78	0,29	103,77	0,29
10	87,91	-1,12	98,92	4,77
15	87,62	-0,08	97,52	5,98
20	88,49	-2,52	86,75	16,98
25	89,04	-3,97	83,08	20,88
30	88,83	-3,69	83,1	20,79
35	88,74	-3,29	83,1	20,72
40	88,89	-3,76	81,46	22,42

En la [Figura 28](#) se muestra la comparativa de la degradación de color del aceite “Señorío del Rey” enriquecido y sin enriquecer.

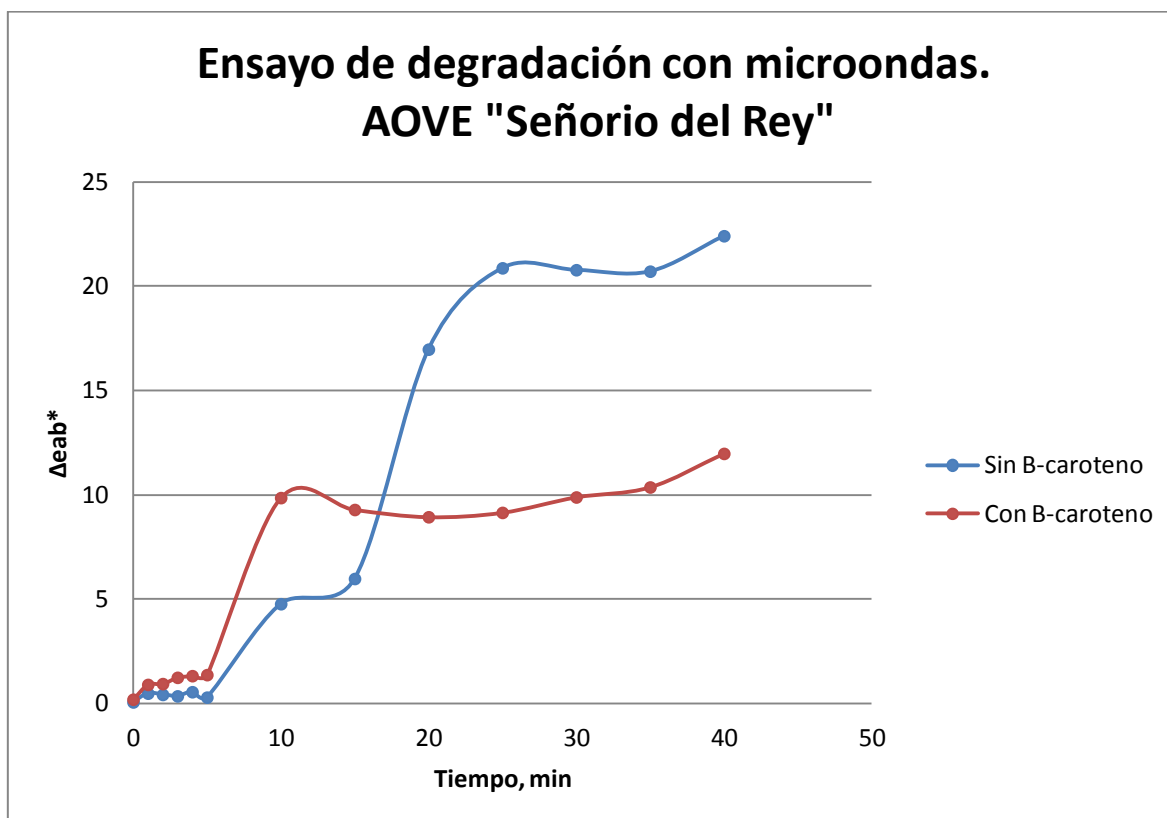


Figura 28. Variación del color del AOVE Señorío del Rey con y sin antioxidante añadido; 700W durante 40 min; $[\beta\text{-caroteno}] = 3.27 \text{ mg/mL}$.

En la [Figura 25](#) se observa como el aceite que no está enriquecido sufre una variación de color mayor que el que está enriquecido con antioxidante. Por lo tanto, el antioxidante mejora la estabilidad de los aceites, es decir, alarga su vida útil.

En la [Figura 26](#) se observa claramente la mejoría en la estabilidad del aceite que está enriquecido, solapándose las curvas de degradación durante los 5 primeros minutos, tras los cuales, el aceite sin antioxidante muestra una degradación muy por encima a la del aceite que contiene el antioxidante.

En la [Figura 27](#) durante los primeros 5 minutos las dos curvas de degradación, con antioxidante y sin antioxidante, se solapan. Cuando el aceite con antioxidante lleva 10 minutos sometido a la radiación por microondas, su degradación es mayor que la del aceite sin antioxidante. Pasados 15 minutos de radiación microondas, el aceite sin antioxidante se degrada más, mientras que el que contiene antioxidante se queda prácticamente estable hasta alcanzar los 40 minutos de radiación.

En la [Figura 28](#) se repite el mismo caso que en la gráfica anterior, correspondiente al aceite de oliva “Hojiblanca”. Ambas curvas se solapan durante los primeros 5 minutos, después se cruzan, hasta que pasados los primeros 15 minutos de exposición a la radiación de microondas, se percibe cómo se está degradando más el aceite con antioxidante que sin él. Finalmente, la curva sin antioxidante queda muy por encima de la que tiene antioxidante. El aceite con antioxidante queda estable.

4.6.2. Termo-estabilidad por microondas: Aceites de Girasol enriquecidos y aceites de girasol sin enriquecer.

En este apartado se han estudiado 4 aceites de girasol diferentes para conocer la influencia del antioxidante en la estabilidad del aceite.

Aceite de girasol “Abaco Sol”

En las [tablas 18 y 19](#) se muestran los resultados obtenidos para el aceite de girasol “Abaco Sol” con antioxidante y sin antioxidante.

Tabla 18. Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del aceite de girasol Abaco Sol con antioxidante añadido; Microondas, 640 W durante 40 min.

ACEITE DE GIRASOL ABACO SOL (CON ANTIOXIDANTE)				
Nombre datos	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	dE*ab(D65)
Aceite de girasol ABACO SOL (min)	92,43	3,44	68,12	-----
0	92,42	3,44	68,21	0,09
1	92,17	3,87	70,99	2,91
2	92,1	3,99	71,74	3,67
3	92,14	3,78	72,03	3,94
4	92,07	3,97	72,19	4,12
5	92,07	3,98	72,18	4,11
10	92,6	2,16	70,36	2,59
15	92,9	1,19	69,54	2,7
20	92,8	1,53	69,65	2,47
25	92,95	1,02	69,49	2,83
30	92,78	1,57	69,66	2,45
35	93,02	0,79	69,27	2,94
40	93,12	0,49	69,06	3,17

Tabla 19. Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del aceite de girasol Abaco Sol sin antioxidante añadido; Microondas, 640 W durante 40 min.

ACEITE DE GIRASOL ABACO SOL (SIN ANTIOXIDANTE)				
Nombre datos	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	dE*ab(D65)
AOV ABACO SOL (min)	99,56	-1,84	7,27	-----
0	99,56	-1,84	7,27	0,01
1	99,61	-1,81	7,19	0,09
2	99,59	-1,82	7,27	0,03
3	99,57	-1,82	7,27	0,02
4	99,57	-1,81	7,26	0,03
5	99,59	-1,8	7,23	0,07
10	99,57	-1,81	7,29	0,03
15	99,56	-1,81	7,27	0,03
20	99,52	-1,82	7,32	0,07
25	99,52	-1,83	7,37	0,1
30	99,52	-1,82	7,35	0,09
35	99,54	-1,8	7,28	0,04
40	99,55	-1,81	7,29	0,04

En la [Figura 29](#) se muestra la comparativa de la degradación de color del aceite “Abaco Sol” enriquecido y sin enriquecer.

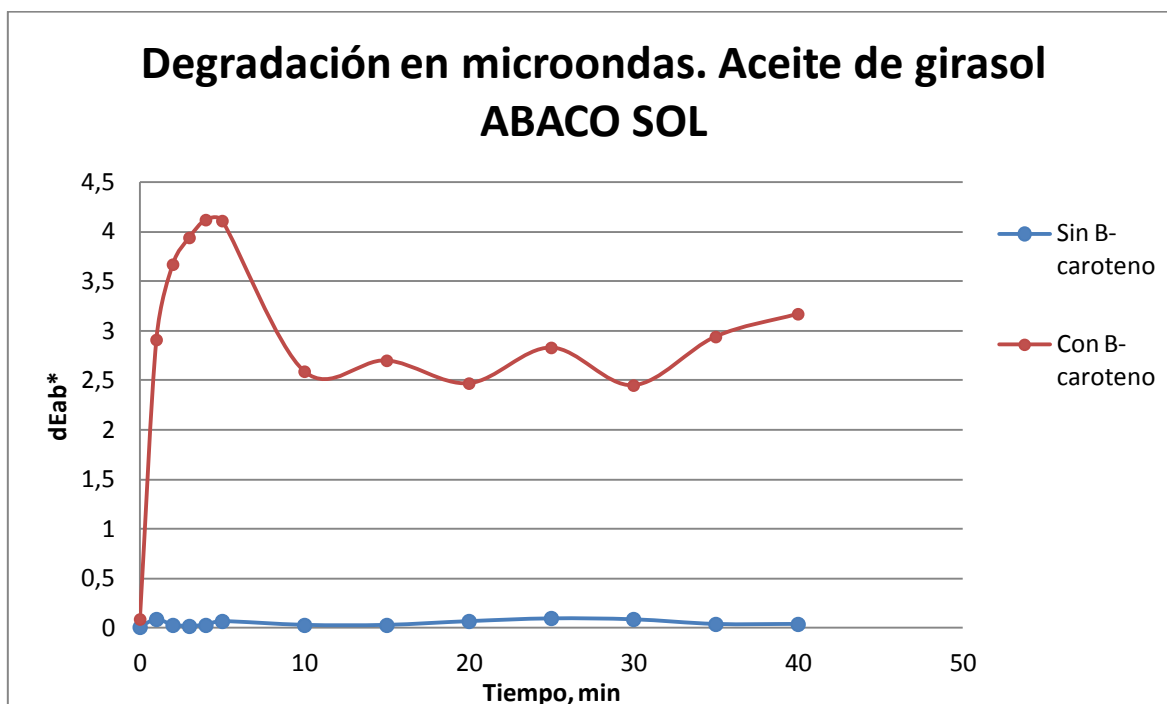


Figura 29. Variación del color del aceite de girasol Abaco Sol con y sin antioxidante añadido; 640W durante 40 min; $[\beta\text{-caroteno}] = 0.167 \text{ mg/mL}$.

Aceite de girasol “Auchan”

En las [tablas 20 y 21](#) se muestran los resultados obtenidos para el aceite de girasol “Auchan” con antioxidante y sin antioxidante.

Tabla 20. Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del aceite de girasol Auchan con antioxidante añadido; Microondas, 640 W durante 40 min.

ACEITE GIRASOL AUCHAN (CON ANTIOXIDANTE)				
Nombre datos	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	dE*ab(D65)
Aceite girasol AUCHAN (min)	93,5	2,34	56,09	-----
0	93,49	2,35	56,19	0,1
1	93,55	2,12	56,78	0,73
2	93,47	2,31	57,21	1,12
3	93,44	2,37	57,35	1,26
4	93,41	2,46	57,36	1,27
5	93,62	1,81	57,21	1,24
10	93,53	2,1	57,1	1,03
15	93,59	1,93	56,84	0,86
20	93,61	1,89	56,75	0,81

25	93,76	1,4	56,31	1
30	93,86	1,08	56,15	1,31
35	93,83	1,18	56,16	1,21
40	94	0,67	55,71	1,79

Tabla 21. Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del aceite de girasol Auchan sin antioxidante añadido; Microondas, 640 W durante 40 min.

ACEITE DE GIRASOL (SIN ANTIOXIDANTE)				
Nombre datos	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	dE*ab(D65)
Aceite girasol AUCHAN (min)	99,72	-1,56	5,86	-----
0	99,72	-1,56	5,86	0
1	99,73	-1,55	5,84	0,02
2	99,73	-1,53	5,82	0,05
3	99,74	-1,52	5,8	0,08
4	99,72	-1,53	5,84	0,03
5	99,72	-1,53	5,83	0,04
10	99,71	-1,55	5,91	0,06
15	99,71	-1,55	5,94	0,08
20	99,71	-1,54	5,93	0,07
25	99,71	-1,55	5,98	0,12
30	99,71	-1,54	5,92	0,07
35	99,69	-1,57	6,01	0,16
40	99,69	-1,56	5,99	0,14

En la [Figura 30](#) se muestra la comparativa de la degradación de color del aceite “Auchan” enriquecido y sin enriquecer.

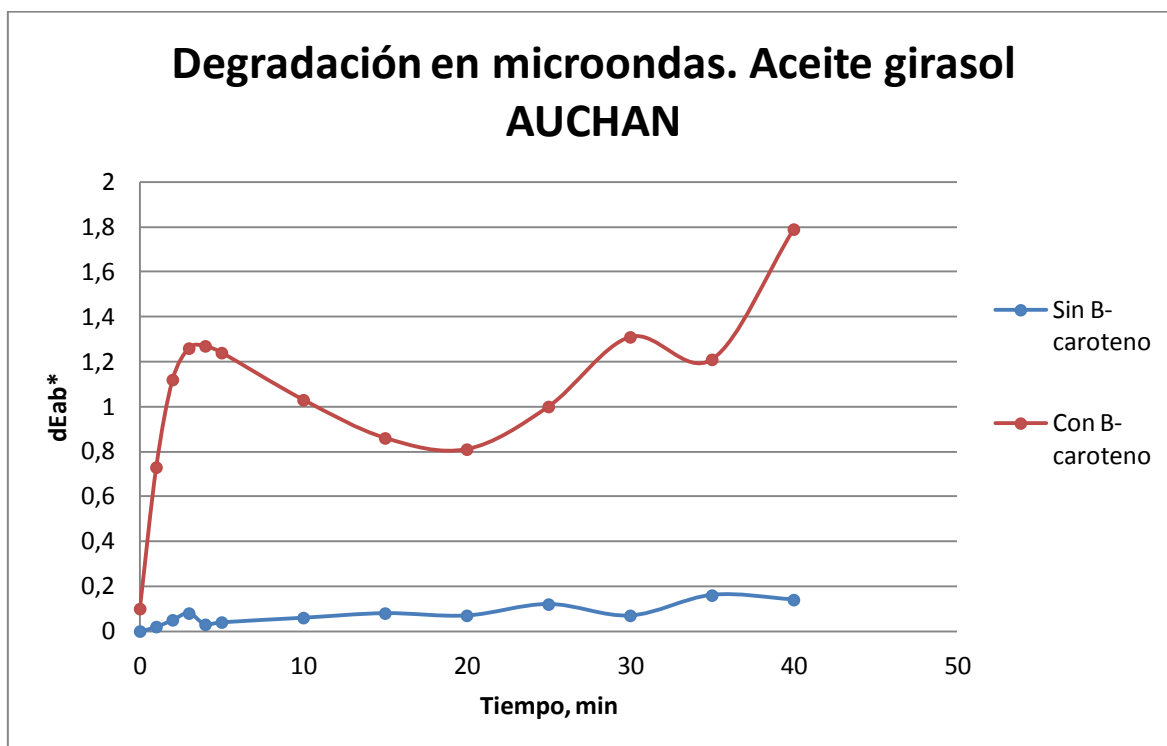


Figura 30. Variación del color del aceite de girasol Auchan con y sin antioxidante añadido; 640W durante 40 min; $[\beta\text{-caroteno}] = 0.167 \text{ mg/mL}$.

Aceite de girasol “Coosol”

En las [tablas 22 y 23](#) se muestran los resultados obtenidos para el aceite de girasol “Coosol” con antioxidante y sin antioxidante.

Tabla 22. Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del aceite de girasol Coosol con antioxidante añadido; Microondas, 640 W durante 40 min.

ACEITE DE GIRASOL COOSOL (CON ANTIOXIDANTE)				
Nombre datos	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	dE*ab(D65)
Aceite girasol COOSOL (min)	94,01	2,25	50,9	-----
0	94,05	2,2	50,5	0,41
1	93,51	2,55	56,53	5,65
2	93,55	2,33	56,87	5,98
3	93,48	2,51	57,2	6,32
4	93,44	2,58	57,16	6,3
5	93,48	2,43	57,13	6,25
10	93,88	1,31	55,78	4,97
15	93,92	1,17	55,61	4,83

20	93,92	1,19	55,65	4,87
25	93,93	1,15	55,62	4,85
30	93,99	1	55,45	4,72
35	94,32	0,02	54,64	4,36
40	94,29	0,11	54,54	4,23

Tabla 23. Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del aceite de girasol Coosol sin antioxidante añadido; Microondas, 640 W durante 40 min.

ACEITE DE GIRASOL COOSOL (SIN ANTIOXIDANTE)				
Nombre datos	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	dE*ab(D65)
Aceite girasol COOSOL (min)	99,8	-1,35	5,09	-----
0	99,8	-1,35	5,09	0
1	99,82	-1,34	5,05	0,04
2	99,82	-1,33	5,06	0,04
3	99,8	-1,34	5,1	0,01
4	99,82	-1,31	5,03	0,07
5	99,83	-1,31	5,01	0,1
10	99,79	-1,34	5,15	0,07
15	99,8	-1,35	5,16	0,08
20	99,81	-1,34	5,15	0,06
25	99,81	-1,34	5,15	0,07
30	99,82	-1,33	5,15	0,07
35	99,79	-1,35	5,19	0,11
40	99,76	-1,35	5,25	0,17

En la [Figura 31](#) se muestra la comparativa de la degradación de color del aceite “Coosol” enriquecido y sin enriquecer.

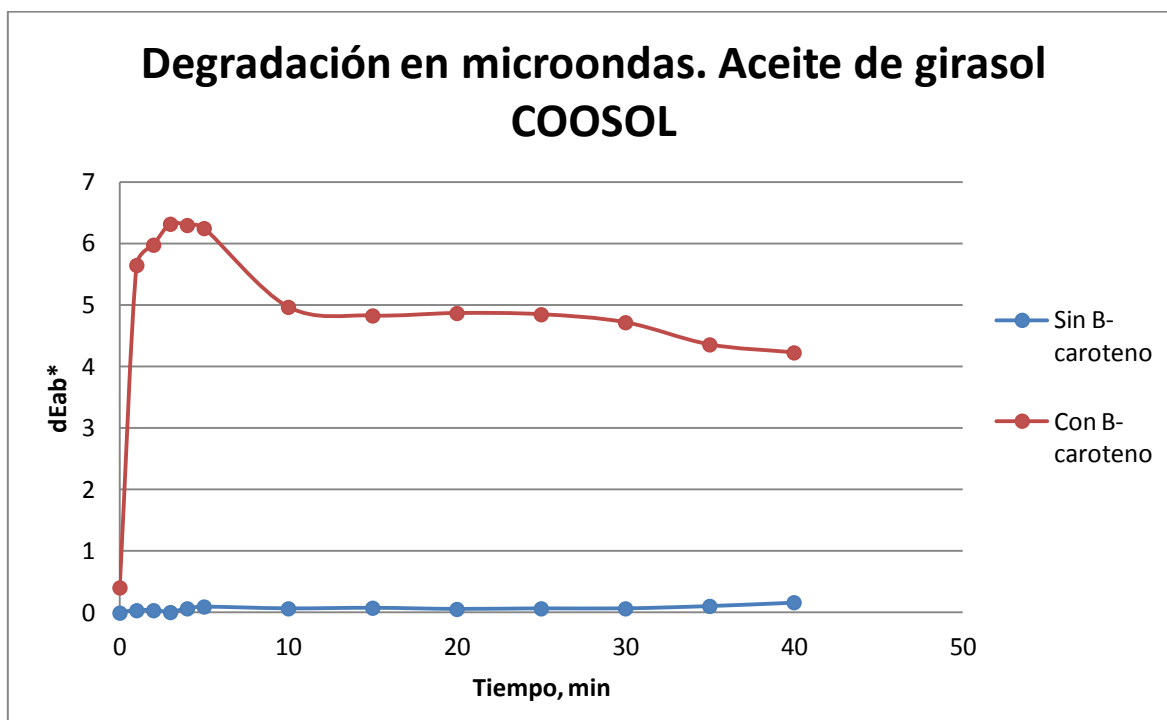


Figura 31. Variación del color del aceite de girasol Coosol con y sin antioxidante añadido; 640W durante 40 min; $[\beta\text{-caroteno}] = 0.167 \text{ mg/mL}$.

Aceite de girasol “Ondosol”

En las [tablas 24 y 25](#) se muestran los resultados obtenidos para el aceite de girasol “Ondosol” con antioxidante y sin antioxidante.

Tabla 24. Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del aceite de girasol Ondosol con antioxidante añadido; Microondas, 640 W durante 40 min.

ACEITE DE GIRASOL ONDOSOL (CON ANTIOXIDANTE)				
Nombre datos	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	dE*ab(D65)
Aceite girasol ONDOSOL (min)	93,25	2,7	54,1	-----
0	93,25	2,7	54,06	0,04
1	92,77	3,02	60,06	5,98
2	92,86	2,79	59,64	5,56
3	92,87	2,69	59,82	5,73
4	92,75	3,08	59,86	5,79
5	92,92	2,5	59,73	5,64
10	92,86	2,52	59,27	5,19
15	92,69	3,11	59,24	5,19

20	93,55	1,01	57,31	3,64
25	93,7	0,57	57,2	3,78
30	93,81	0,36	56,97	3,75
35	93,91	0,05	56,81	3,85
40	93,9	0,16	56,7	3,7

Tabla 25. Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del aceite de girasol Ondosol sin antioxidante añadido; Microondas, 640 W durante 40 min.

ACEITE DE GIRASOL ONDOSOL (SIN ANTIOXIDANTE)				
Nombre datos	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	dE*ab(D65)
Aceite girasol ONDOSOL (min)	99,63	-1,31	5,52	-----
0	99,63	-1,32	5,53	0,01
1	99,68	-1,32	5,5	0,06
2	99,69	-1,31	5,47	0,08
3	99,71	-1,3	5,44	0,11
4	99,69	-1,31	5,48	0,07
5	99,67	-1,32	5,51	0,05
10	99,65	-1,43	5,91	0,41
15	99,65	-1,41	5,91	0,4
20	99,65	-1,41	5,91	0,4
25	99,66	-1,42	5,93	0,43
30	99,63	-1,43	6	0,5
35	99,66	-1,41	5,94	0,43
40	99,65	-1,41	5,95	0,44

En la [Figura 32](#) se muestra la comparativa de la degradación de color del aceite “Ondosol” enriquecido y sin enriquecer.

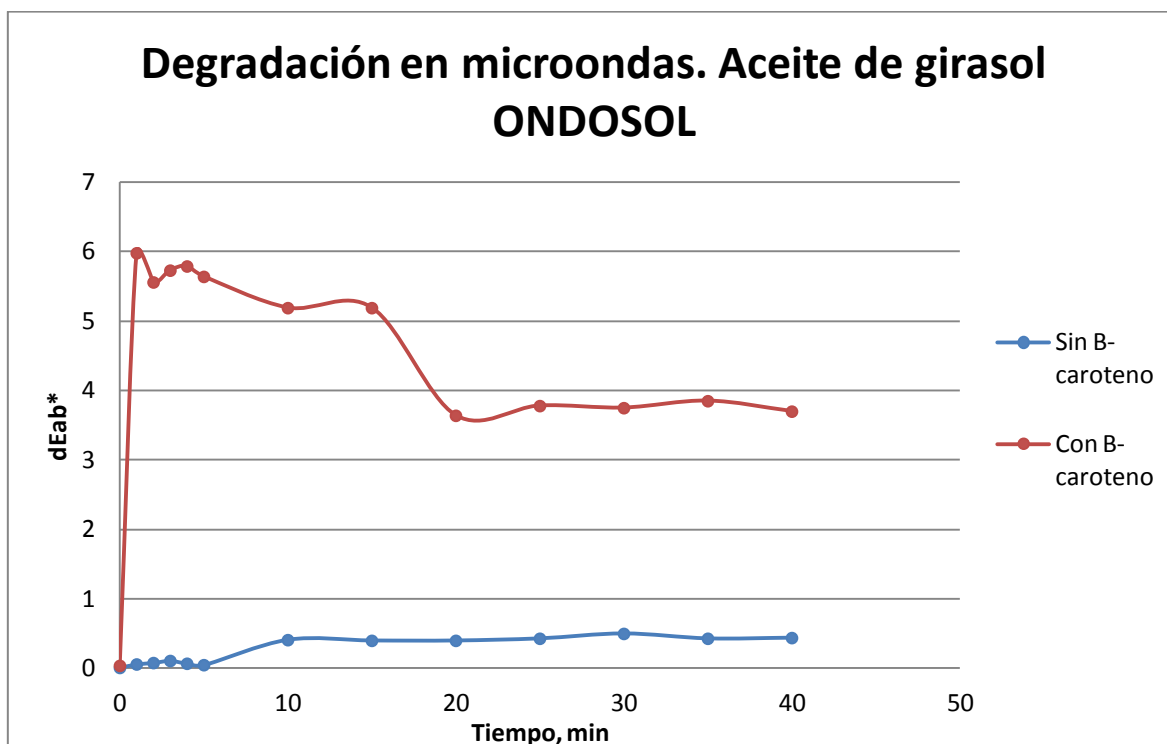


Figura 32. Variación del color del aceite de girasol Ondosol con y sin antioxidante añadido; 640W durante 40 min; $[\beta\text{-caroteno}] = 0.167 \text{ mg/mL}$.

Las 4 gráficas siguen la misma tendencia. Cuando se mide la variación del color en un aceite de girasol, se parte de aceites prácticamente transparentes, esto por tanto, es la razón de que los aceites de girasol sin antioxidante a penas sufren degradación de color después de estar sometidos a radiación microondas durante 40 minutos.

En el caso de los aceites de girasol enriquecidos, cuando se pone el antioxidante, el aceite pasa a un color rojo ladrillo intenso, por lo tanto la variación de color es mayor aunque pasados los 10 minutos de radiación, tiende a estabilizarse la variación del color. Excepto en el caso del aceite de girasol “Auchan”, que no llega a estabilizarse, si no, que su degradación tiene tendencia a aumentar.

4.7. Foto-estabilidad. Estabilidad frente a la radiación UV.

Este experimento se ha llevado a cabo en una cabina de luz UV. El objetivo de utilizar dicha cabina es acelerar el proceso de degradación del aceite, ya que la luz natural es menos agresiva que la radiación ultravioleta y debido a la escasez de tiempo, se utiliza la luz UV.

Las muestras se han preparado directamente en cubetas de plástico, donde posteriormente se tomarán las medidas. La capacidad de las cubetas es de 14 mL. Las cubetas han sido caracterizadas previamente. Las cubetas que contienen aceites de oliva con antioxidante mantienen la misma concentración empleada en experiencias anteriores, 0.083 mg/mL, añadiendo 365 μ L de disolución de β -caroteno. Las cubetas que contienen los aceites de girasol con antioxidante tienen una concentración 20 veces menor que las de los aceites de oliva, es decir, 0.00418 mg/mL, añadiendo también un volumen de 365 μ L.

Las cubetas se han introducido en la cabina de luz UV durante 60 días y se han ido tomando medidas cada 3-4 días aproximadamente.

4.7.1. Foto-estabilidad: AOVEs enriquecidos y AOVEs sin enriquecer.

En las [Tabla 26](#) se representan los datos para los 4 aceites de oliva, enriquecidos con β -caroteno y sin enriquecer.

Los datos de la tabla corresponden a la variación de color, ΔE^*_{ab} , que se obtiene por comparación con el aceite original, para cada día que se han tomado medidas.

Tabla 26. Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del aceite de oliva con y sin antioxidante añadido durante 60 días; [β -caroteno]= 3.27 mg/mL.

	LENCINA		HOJIBLANCA		ACECASA		SEÑORIO DEL REY	
DIAS	A (SIN)	A' (CON)	B (SIN)	B' (CON)	C (SIN)	C' (CON)	D (SIN)	D' (CON)
0	0,08	0,04	0,01	0,04	0,04	0,19	0,01	0
1	1,36	0,31	1,32	0,41	0,82	0,16	0,79	0,39
2	2,15	0,43	2,3	0,38	1,26	0,43	1,74	0,31
3	3,32	0,69	3,33	0,75	1,64	0,76	2,64	0,63
6	5,56	1,42	6,22	1,4	3,07	1,32	5,19	1,12
8	7,91	1,86	8,44	1,81	4,45	1,81	7,19	1,58
10	9,39	2,34	9,82	2,27	5,3	2,17	8,65	1,94
13	12,5	2,99	12,71	2,93	7,22	2,81	11,58	2,52
16	15,56	3,82	15,54	3,61	9,29	3,61	14,39	3,15
20	20,36	4,72	19,8	4,59	12,82	4,46	18,39	4,02
24	24,98	5,87	24,11	5,65	16,96	5,61	22,53	5
28	30,4	6,92	29	6,59	21,42	6,58	27,06	5,92
31	36,24	7,97	33,27	7,54	25,47	7,51	30,91	6,84
37	48,54	9,59	41,93	8,86	34,33	8,99	38,9	8,12
51	90,04	14,26	66,43	12,77	60,92	13,01	61,68	11,89
57	104,78	17,28	83,12	14,94	80,18	15,45	76,56	13,96
60	108,33	19,15	90,17	16,25	90,93	16,92	84,48	15,1

En las [Figuras 33 y 34](#) se muestran todos los aceites de oliva que se han utilizado en el experimento de foto-estabilidad antes de comenzar a aplicar radiación y después de 60 días de experimento.

En todos los aceites utilizados, las diferencias de color son notables, siendo los más destacables los aceites A, B y D, ya que tras 60 días son prácticamente transparentes. Los aceites que mayor degradación han sufrido corresponden a los aceites de oliva Virgen Extra.

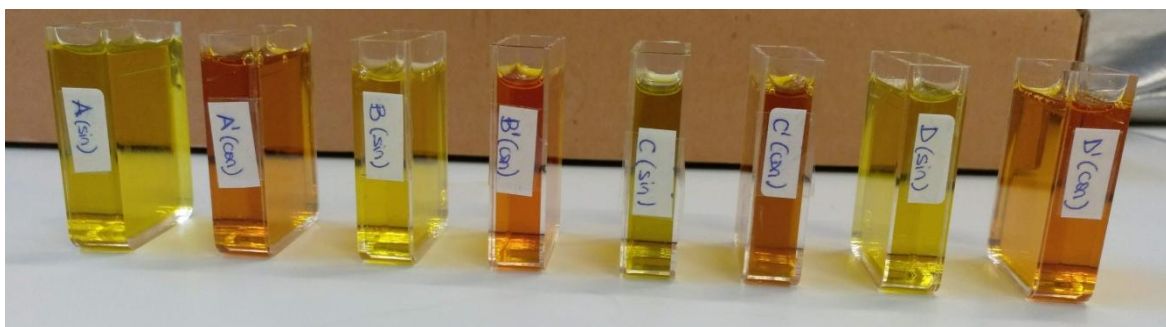


Figura 33. Color de los aceites de oliva ensayados en foto-estabilidad antes de comenzar el experimento.

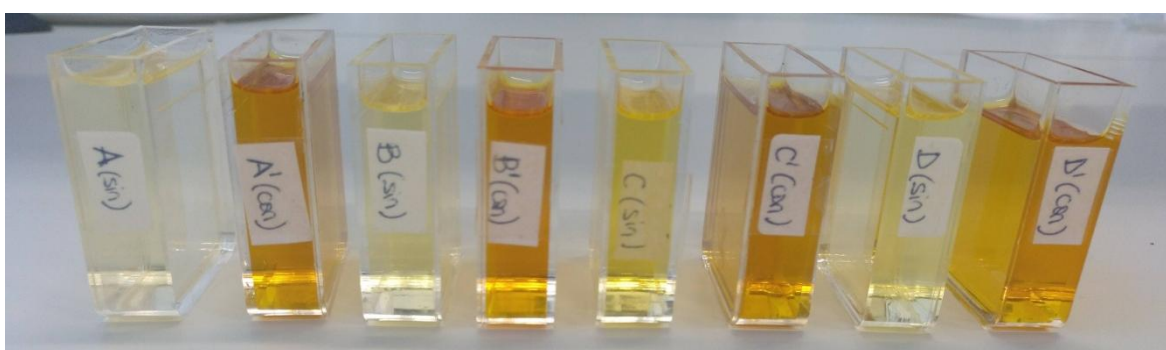


Figura 34. Color de los aceites de oliva ensayados en foto-estabilidad después de 60 días de radiación UV.

En la [Figura 35](#), se comparan las curvas de variación de color de los 4 aceites de oliva estudiados, siendo las curvas, que se sitúan en la parte inferior, A', B', C' y D' las correspondientes a los aceites de oliva enriquecidos, y las curvas, de la parte superior, A, B, C y D las correspondientes a los aceites de oliva sin enriquecer.

Los aceites que no contienen β -caroteno comienzan a sufrir una mayor variación de color a partir de los 10 días de exposición en la cabina. Los 4 muestran comportamientos similares hasta los 30 días de exposición, después, las diferencias de comportamiento empiezan a ser visibles, siendo el aceite A el que mayor variación de color presenta.

Los aceites que contienen β -caroteno, muestran a los largo de los 60 días un comportamiento similar entre ellos. Pasados los 20 días dentro de la cabina, la variación de color comienza a ser mayor aunque es muy pequeña en comparación con los aceites que no se han tratado. Por tanto, se llega a concluir que los aceites que han sido expuestos a

radiación ultravioleta en la cabina, y que contienen β -caroteno, son más estables, con lo que, su vida útil es mayor que la de los aceites que no contienen β -caroteno.

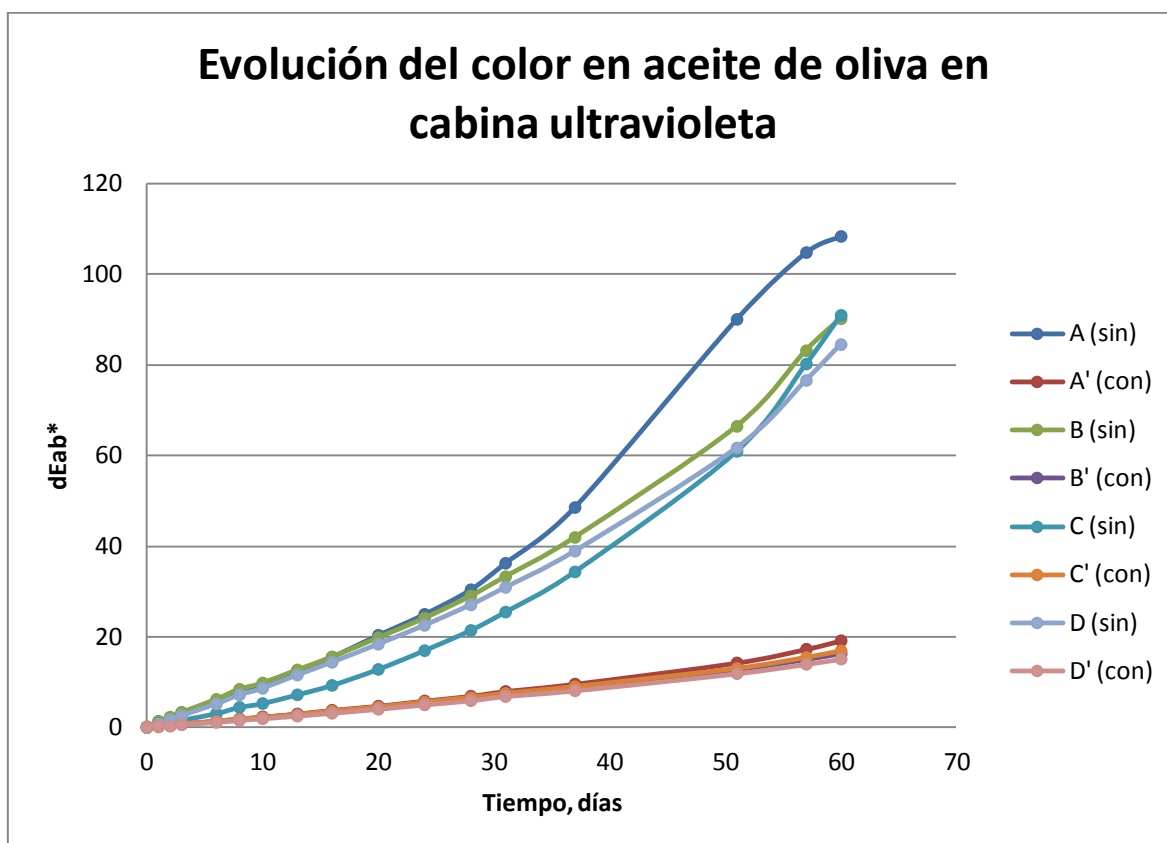


Figura 35. Variación del color del aceite de oliva con y sin antioxidante añadido; 60 días; $[\beta\text{-caroteno}] = 3.27 \text{ mg/mL}$.

4.7.2. Foto-estabilidad: Aceites de Girasol enriquecidos y aceites de girasol sin enriquecer.

En la [Tabla 27](#) se representan los datos para los 4 aceites de girasol, enriquecidos con β -caroteno y sin enriquecer.

Los datos de la tabla corresponden a la variación de color, ΔE^*_{ab} , que se obtiene por comparación con el aceite original, para cada día que se han tomado medidas.

Tabla 27. Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del aceite de girasol con y sin antioxidante añadido durante 60 días; $[\beta\text{-caroteno}] = 0.167 \text{ mg/mL}$.

	ONDOSOL		AUCHAN		ABACO SOL		COOSOL	
DIAS	E (SIN)	E' (CON)	F (SIN)	F' (CON)	G (SIN)	G' (CON)	H (SIN)	H' (CON)
0	0,01	0,03	0	0,01	0	0,02	0,01	0,01
1	1,66	2,41	1,69	4,8	0,92	3,36	1,26	2,25
2	1,88	1,44	1,78	5,39	1,14	3,27	1,38	1,52
3	2,05	0,69	2,27	4,65	1,61	2,64	1,65	0,84
6	2,38	1,42	2,76	2,98	2,4	0,98	2,11	0,73
8	2,49	3,03	2,89	1,61	2,72	0,45	2,37	2,05
10	2,6	4,38	3,09	0,55	3,02	1,53	2,63	2,89
13	2,74	6,89	3,39	1,54	3,46	3,52	2,93	4,76
16	2,8	9,48	3,55	3,01	3,71	5,35	3,05	6,68
20	2,84	13,13	3,69	6,16	4,04	7,99	3,18	9,19
24	2,84	17,04	3,74	9,4	4,2	10,69	3,23	11,68
28	2,84	21,85	3,76	12,81	4,33	13,43	3,26	14,27
31	2,81	26,92	3,77	15,85	4,41	15,74	3,28	16,52
37	2,83	38,79	3,79	23,75	4,53	20,6	3,31	22,1
51	2,93	54,88	4,04	47,51	4,82	39,21	3,49	38,78
57	2,98	56,67	4,22	53,39	4,99	47,74	3,65	43,29
60	3	56,98	4,29	54,62	5,08	51	3,72	44,25

En las [Figuras 36 y 37](#) se muestran todos los aceites de girasol que se han utilizado en el experimento de foto-estabilidad, antes de comenzar a aplicar radiación y después de 60 días de experimento.

En todos los aceites utilizados las diferencias de color son notables, siendo los más destacables los aceites E, F y H, ya que tras 60 días son prácticamente transparentes.

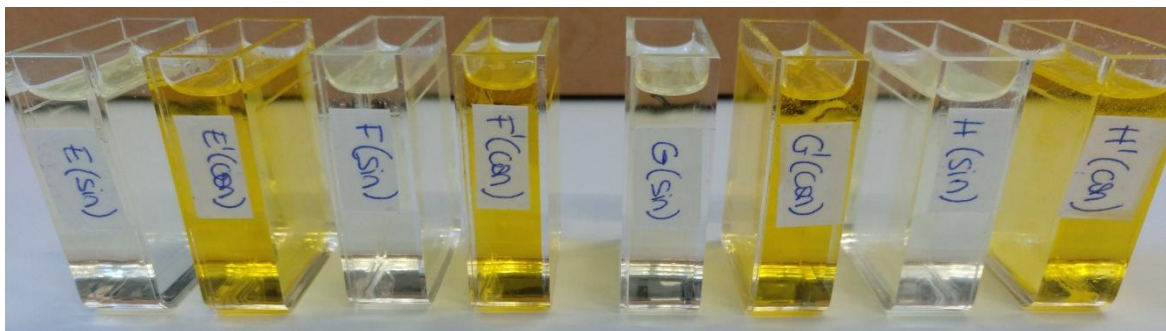


Figura 36. Color de los aceites de girasol ensayados en foto-estabilidad antes de comenzar el experimento.

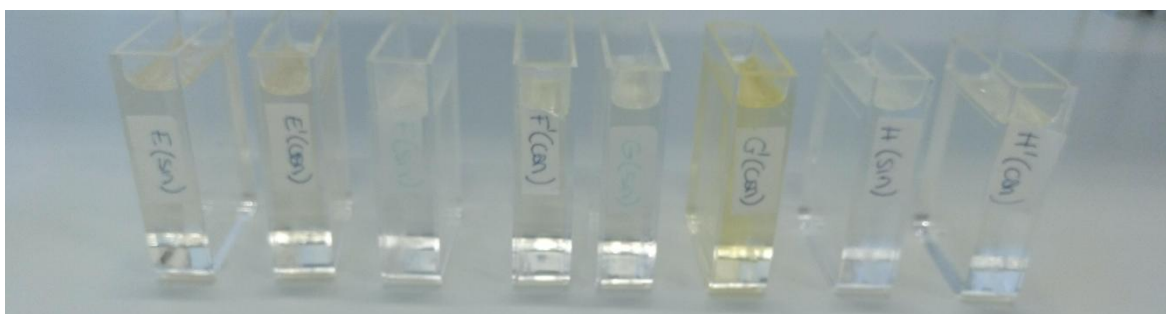


Figura 37. Color de los aceites de girasol ensayados en foto-estabilidad después de 60 días de radiación UV.

En la [Figura 38](#) se comparan las curvas de variación de color de los 4 aceites de girasol estudiados, siendo las curvas E', F', G' y H', situadas en la parte superior, las correspondientes a los aceites de girasol enriquecidos, y las curvas E, F, G y H, situadas en la parte inferior, las correspondientes a los aceites de girasol sin enriquecer.

En este ensayo de foto-estabilidad con aceites de girasol, el objetivo es estudiar la degradación de color que sufren dichos aceites, siendo estudiados cuando no contienen ningún antioxidante y habiéndoles añadido un antioxidante, el β -caroteno.

En el caso de los aceites que no llevan antioxidante, se inicia la experiencia teniendo aceites prácticamente incoloros, esto provoca que la degradación de color a penas sea

notable. La degradación a lo largo de 60 días de exposición en cabina ultravioleta es muy estable.

Por el contrario, los aceites de girasol a los que se les han añadido un antioxidante, inician la experiencia siendo de un color anaranjado, propio del β -caroteno. Como se ha mencionado con anterioridad, la variación de color, ΔE^*_{ab} , se calcula a lo largo de los 60 días de exposición por comparación con el aceite original. El aceite original con el que se compara es el aceite del día 0 de experimento al que se le ha añadido antioxidante.

Por tanto, como en este caso, sí se parte de aceites que tienen color, y es la razón de que en la [Figura 38](#) se muestre una mayor degradación con respecto a los aceites de girasol sin antioxidante.

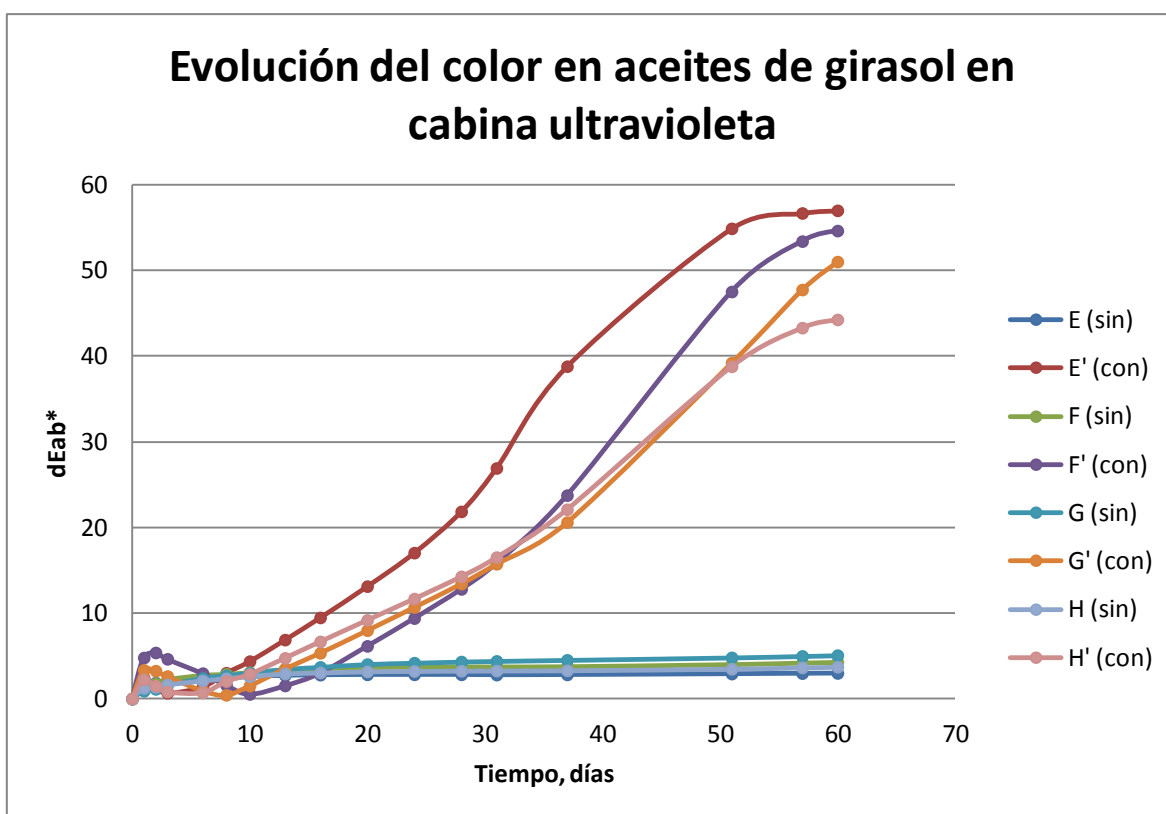


Figura 38. Variación del color del aceite de girasol con y sin antioxidante añadido; 60 días; $[\beta\text{-caroteno}] = 0.167 \text{ mg/mL}$.

4.8. Análisis químico.

Se realiza un análisis químico de los 4 aceites de oliva utilizados en las experiencias anteriores para determinar su índice de acidez, absorbancia, índice de p-anisidina e índice de peróxidos.

Además, se pueden contrastar los comportamientos de degradación obtenidos de cada aceite de oliva con los resultados obtenidos del análisis químico, de manera que se pueda determinar si existe relación entre la composición del aceite y la facilidad con la que éste se degrada.

4.8.1. Índice de acidez de aceites de oliva.

Este experimento se lleva a cabo para determinar los ácidos grasos libres en los aceites de oliva. Los ácidos grasos libres se expresan mediante la acidez calculada como el porcentaje de ácido oleico.

Su determinación se lleva a cabo siguiendo el Reglamento (CEE) nº 2568/91 de la comisión 11 de julio de 1991 mencionado en apartados anteriores.

4.8.1.1. Índice de acidez de aceites de oliva sin enriquecer.

Se prepara una disolución etanólica de KOH 0,1M. Dicha disolución se deja decantar durante 5 días, ya que se observaron sólidos en la disolución. Tras dejar decantar, se desecha la parte que contiene sólidos.

CONTRASTE

Se contrasta la disolución etanólica de KOH.

En un matraz erlenmeyer se ponen 0.2 g de ácido benzoico, 50 mL de cloroformo, 1 mL de etanol y 5-6 gotas de fenolftaleína. Se agita, y se valora con la disolución de KOH 0.1M, obteniéndose los siguientes resultados.

La molaridad de la disolución se calcula con la ecuación:

$$M = \frac{g \text{ ácido benzoico} / P_M \text{ ácido benzoico}}{V \text{ gastado KOH (L)}}$$

g ácido benzoico	0.201
P _M ácido benzoico (g/mol)	122.12
V gastado KOH (ml)	17.2
P _M KOH (g/mol)	282
M (exacta)	0.096

En la [Figura 39](#) se muestra a la derecha la disolución de KOH antes de ser contrastada, y a la izquierda, la disolución de KOH una vez ha sido contrastada. La valoración acaba cuando la disolución pasa de ser incolora a estar turbia.



Figura 39. Disolución de KOH antes (izquierda) y después (derecha) de contrastar.

MEDIDA ÍNDICE DE ACIDEZ

Se toman 10 g de muestra de aceite y se disuelven con una mezcla de 25 mL de éter dietílico y 25 mL de etanol, para a continuación valorar con la disolución de KOH, de la que se obtiene el volumen gastado de KOH. Se utiliza timolftaleína como indicador.

El índice de acidez se calcula mediante la ecuación:

$$\text{Grado de acidez} = \frac{V \cdot P_M \cdot C}{10 \cdot m}$$

Siendo:

V: volumen gastado de KOH

P_M: Peso molecular de ácido oleico

C: Concentración exacta de la disolución de KOH

m: Masa de la muestra, en gramos.

Los resultados obtenidos para aceites de oliva sin enriquecer se muestran en la [Tabla 28](#):

Tabla 28. Datos para la determinación del índice de acidez de diferentes aceites de oliva sin enriquecer.

	Masa aceite (g)	V gastado KOH (ml)	Grado acidez (x medida)	Media Grado acidez	Desviación	Índice acidez
AOVE HOJIBLANCA	10	0,95	0,257184	0,24318961	0,019791057	0,24 ± 0,02
	10,04	0,85	0,229195219			
AOVE LENCINA	10,08	0,95	0,255142857	0,261857143	0,009495434	0,26 ± 0,01
	10,08	1	0,268571429			
AOV ACECASA	10	0,85	0,230112	0,22323582	0,009724387	0,22 ± 0,01
	10,01	0,8	0,21635964			
AOVE SEÑORÍO DEL REY	10,09	0,7	0,187813677	0,195123189	0,010337212	0,20 ± 0,01
	10,03	0,75	0,202432702			

Los resultados obtenidos se encuentran dentro de los límites establecidos en el Reglamento anteriormente mencionado, es decir, su índice de acidez es ≤ 0,8.

La [Figura 40](#) compara la muestra de aceite sin enriquecer antes de valorar y después de valorar, cuando se alcanza el punto de equivalencia y la disolución vira de amarillo a verde botella.

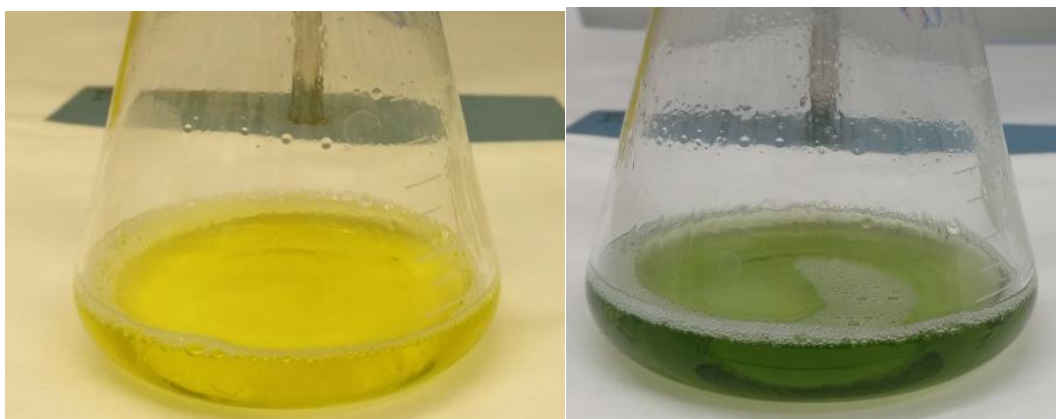


Figura 40. Aceite de oliva sin enriquecer antes de valorar (izquierda) y aceite de oliva después de valorar (derecha).

4.8.1.2. Índice de acidez de aceites de oliva enriquecidos.

El procedimiento que se lleva a cabo es el mismo que en el apartado anterior. En esta experiencia, los aceites utilizados están enriquecidos con β -caroteno.

La disolución de KOH se contrasta, obteniendo los siguientes resultados:

CONTRASTE

g ácido benzoico	0.231
P_M ácido benzoico (g/mol)	122.12
V gastado KOH (ml)	22
P_M KOH (g/mol)	282
M (exacta)	0.086

La molaridad es inferior a la obtenida cuando se contrasta para realizar el ensayo a los aceites de oliva sin enriquecer, esto se puede deber a que se realizó este ensayo en diferentes días.

MEDIDA ÍNDICE DE ACIDEZ

Los resultados obtenidos para aceites de oliva enriquecidos se muestran en la [Tabla 29](#):

Tabla 29. Datos para la determinación del índice de acidez de diferentes aceites de oliva enriquecidos.

	Masa aceite (g)	V gastado KOH (ml)	Grado acidez (x medida)	Media Grado acidez	Desviación	Índice acidez
AOVE HOJIBLANCA	6,848	0,6	0,212488318	0,205273728	0,01020297	0,21 ± 0,01
	7,102	0,58	0,198059138			
AOVE LENCINA	8,156	0,8	0,237881314	0,241561449	0,0052045	0,24 ± 0,005
	8,109	0,82	0,245241583			
AOV ACECASA	9,996	0,75	0,181962785	0,176989984	0,0070326	0,18 ± 0,007
	10,01	0,71	0,172017183			
AOVE SEÑORÍO DEL REY	7,132	0,45	0,153020191	0,147090163	0,00838632	0,15 ± 0,008
	7,044	0,41	0,141160136			

Los resultados obtenidos se encuentran dentro de los límites establecidos por la CEE, son $\leq 0,8$, luego, siguen siendo AOVE los enriquecidos. También, se observa con este experimento que el contenido en ácidos grasos en los aceites enriquecidos es menor que en los aceites sin enriquecer.

En la [Figura 41](#), se muestran las muestras de aceite enriquecido antes de valorar y después de valorar cuando se alcanza el punto de equivalencia. El punto de equivalencia se alcanza cuando la disolución vira de amarillo anaranjado a verde olivo.

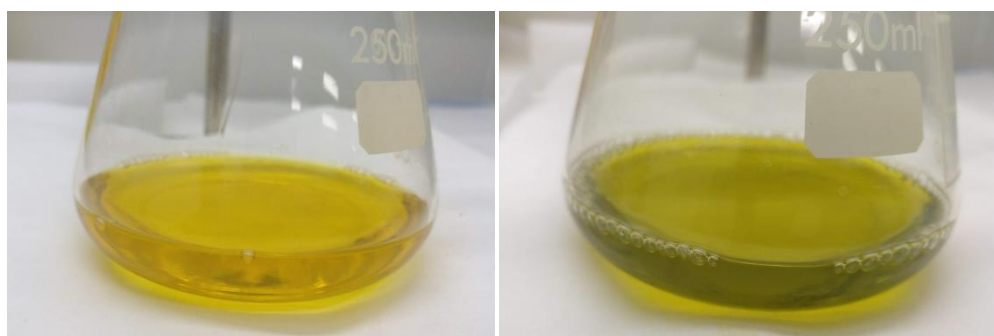


Figura 41. Aceite de oliva enriquecido antes de valorar (izquierda) y aceite de oliva después de valorar (derecha).

4.8.2. Índice de peróxidos de aceites de oliva.

El índice de peróxidos determina la cantidad de peróxidos en la muestra que ocasionan la oxidación del yoduro potásico.

Se realiza este experimento siguiendo el Reglamento (CEE) nº 2016/1784 de la comisión de 30 de septiembre de 2016.

4.8.2.1. Índice de peróxidos de aceites de oliva sin enriquecer.

Se prepara una disolución acuosa de KI y una disolución acuosa de tiosulfato sódico 0,01 N y como indicador almidón. El índice de peróxidos se calcula mediante la ecuación:

$$I.P = \frac{V \cdot N \cdot 1000}{P}$$

Siendo:

V: Volumen gastado de tiosulfato

N: Normalidad del tiosulfato 0.01N

P: Masa de aceite pesado

Tras valorar las muestras sin enriquecer con tiosulfato, los resultados obtenidos se muestran en la [Tabla 30](#).

Tabla 30. Datos para la determinación del índice de peróxidos de diferentes aceites de oliva sin enriquecer.

	M aceite (g)	V gastado (mL)	N tiosulfato	I.P	I.P (media)	Desviación	I.P (final)
AOVE LENCINA	2,015	1,8	0,01	8,9330025	9,197994755	0,253700233	9,2 ± 0,25
	2,013	1,9		9,4386488			
	2,006	1,85		9,222333			
AOVE HOJIBLANCA	2,029	2,55		12,567767	12,28182841	0,273994284	12,28 ± 0,27
	1,999	2,45		12,256128			
	2,038	2,45		12,02159			
AOVE	2,018	1,6		7,9286422	8,103115431	0,244553654	8,10 ± 0,24

SEÑORÍO DEL REY	2,028	1,7	8,382643			
	2,063	1,65	7,9980611			
AOV ACECASA	2,044	2,7	13,209393			
	2,022	2,85	14,094955	13,79744566	0,509280155	13,80 ± 0,51
	2,023	2,85	14,087988			

Los resultados obtenidos se encuentran dentro de los límites establecidos en el reglamento anteriormente mencionado, es decir, ≤ 20 .

En la [Figura 42](#) se muestra la muestra de aceite sin enriquecer antes de valorar y después de valorar, una vez se alcanza el punto de equivalencia cuando vira de color morado a incoloro.

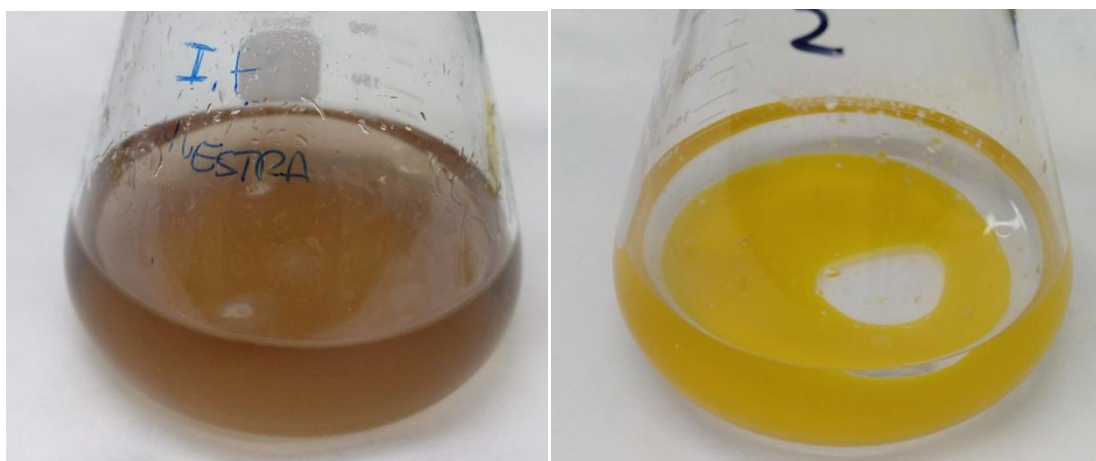


Figura 42. Aceite de oliva sin enriquecer antes de valorar (izquierda) y aceite de oliva después de valorar (derecha).

4.8.2.2. Índice de peróxidos de aceites de oliva enriquecidos.

Se sigue el mismo procedimiento que en el apartado anterior, siendo las muestras de aceites de oliva enriquecidas con β -caroteno.

Tras valorar las muestras enriquecidas con tiosulfato, los resultados obtenidos se muestran en la [Tabla 31](#).

Tabla 31. Datos para la determinación del índice de peróxidos de diferentes aceites de oliva enriquecidos.

	M aceite (g)	V gastado (mL)	N tiosulfato	I.P	I.P (media)	Desviación	I.P (final)
AOVE LENCINA	2,004	1,65	0,01	8,23353293	8,52219538	0,65185206	8,52 ± 0,65
	2,046	1,65		8,06451613			
	1,996	1,85		9,26853707			
AOVE HOJIBLANCA	1,988	2,5	0,01	12,5754527	12,6296967	0,3206926	12,63 ± 0,32
	2,004	2,6		12,9740519			
	2,026	2,5		12,3395854			
AOVE SEÑORÍO DEL REY	1,991	1,75	0,01	8,78955299	9,08438108	0,36349116	9,08 ± 0,36
	2,006	1,8		8,97308076			
	2,002	1,9		9,49050949			
AOV ACECASA	1,992	3,3	0,01	16,5662651	16,8313817	0,60741423	16,83 ± 0,61
	1,997	3,5		17,5262894			
	2,012	3,3		16,4015905			

Los resultados obtenidos se encuentran dentro de los límites establecidos en el reglamento anteriormente mencionado, es decir, ≤ 20 .

Los resultados obtenidos en esta experiencia, con aceites de oliva enriquecidos, son más elevados que los obtenidos en el apartado 4.8.2.1., donde los aceites de oliva no contienen antioxidante.

Respecto a los datos obtenidos de ambas experiencias, se concluye que, mediante la adición de antioxidantes, el índice de peróxidos sigue dentro de los límites establecidos.

En la [Figura 43](#) se muestra la muestra de aceite enriquecidos antes de valorar y después de valorar una vez se alcanza el punto de equivalencia.

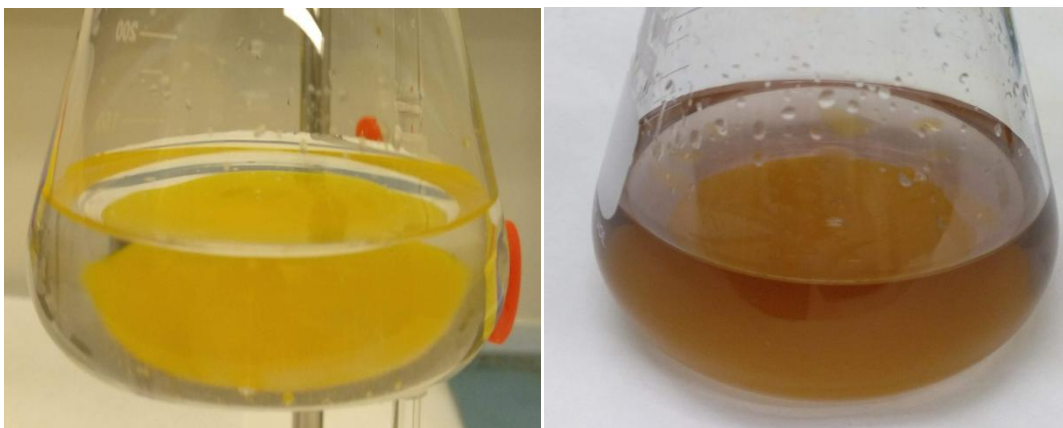


Figura 43. Aceite de oliva enriquecidos antes de valorar (izquierda) y aceite de oliva después de valorar (derecha).

4.8.3. Prueba espectrofotométrica en el ultravioleta de aceites de oliva.

La prueba espectrofotométrica en el ultravioleta puede proporcionar indicaciones sobre la calidad de la materia grasa, su estado de conservación y las modificaciones inducidas en ella por los procesos tecnológicos. Los valores de estas absorciones se expresan convencionalmente como K (coeficiente de extinción). Este experimento se lleva a cabo siguiendo el Reglamento (CEE) del 4 de diciembre de 2016.

4.8.3.1. Prueba espectrofotométrica en el ultravioleta de aceites de oliva sin enriquecer.

Para esta experiencia se preparan dos matraces de diferente concentración para cada tipo de aceite.

Para el primer matraz, se toman 0.1 g de muestra de aceite de oliva sin enriquecer y se disuelven en un matraz de 10 mL con isooctano. Se mide la absorbancia a longitudes de onda de 270 nm y a longitudes de onda de 266 nm y 274 nm para calcular la variación de la extinción específica (ΔK).

Para el segundo matraz, la absorbancia se va a medir a una longitud de onda de 232 nm, por tanto, se toman 0.02 g de muestra y se diluyen en un matraz con 10 mL de isooctano.

El coeficiente de extinción a diversas longitudes de onda se calcula mediante la ecuación:

$$K_{\lambda} = \frac{E_{\lambda}}{C \cdot S}$$

Siendo:

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

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

C: concentración de la solución g/100mL

S: longitud de paso de la cubeta de cuarzo en cm

La variación del valor absoluto de la extinción (ΔK), se define como:

$$\Delta K = \left| K_m - \left(\frac{K_{\lambda m-4} + K_{\lambda m+4}}{2} \right) \right|$$

Donde K_m es la extinción específica a la longitud de onda de máxima absorción, a 270 nm.

Los resultados obtenidos se muestran en la [tabla 32](#):

Tabla 32. Datos para la determinación de la absorbancia de diferentes aceites de oliva sin enriquecer.

	A (232 nm)	A (270 nm)	A (266 nm)	A (274 nm)	K270	K266	K274	K232	ΔK
Aceite Oliva Virgen Extra LENCINA	0,546	0,247	0,213	0,233	0,17	0,15	0,16	2,26	0,01
Aceite Oliva Virgen ACECASA	0,626	0,132	0,148	0,131	0,12	0,13	0,12	2,66	0,005
Aceite Oliva Virgen Extra HOJIBLANCA	0,584	0,2	0,186	0,202	0,18	0,17	0,18	2,35	0,005
Aceite Oliva Virgen Extra SEÑORIO DEL REY	0,485	0,142	0,15	0,142	0,12	0,13	0,12	1,72	0,005

Los resultados obtenidos se encuentran dentro de los límites establecidos por la CEE. Es decir, $K_{232} \leq 250$, $K_{270} \leq 0,22$ e $\Delta K \leq 0,01$.

La [Figura 44](#) muestra los matraces que contienen las muestras de aceite diluidas con isooctano (izquierda y centro), y la cubeta con el blanco (derecha).

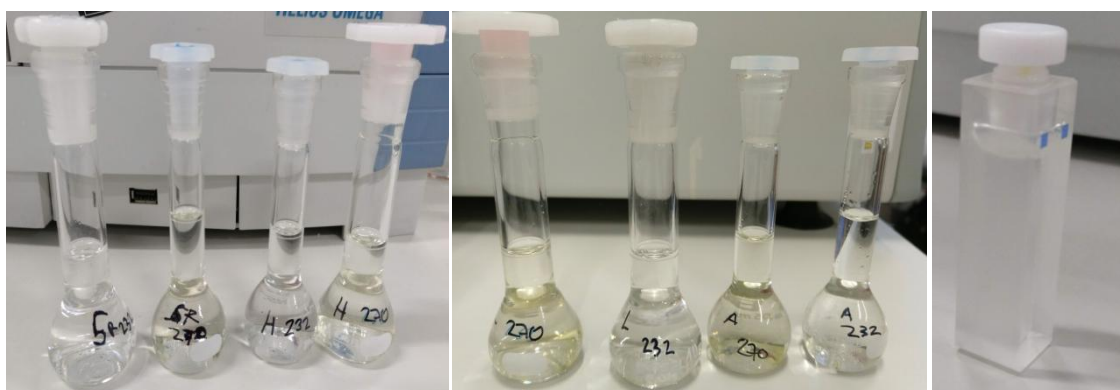


Figura 44. Matraces con las muestras de aceites sin enriquecer (izquierda y centro) y cubeta del blanco (derecha)

4.8.3.2. Prueba espectrofotométrica en el ultravioleta de aceites de oliva enriquecidos.

Se sigue el mismo procedimiento que en el apartado anterior, estando el aceite de oliva enriquecido con β -caroteno.

Los resultados obtenidos se muestran en la [tabla 32](#):

Tabla 33. Datos para la determinación de la absorbancia de diferentes aceites de oliva enriquecidos.

	A (232 nm)	A (270 nm)	A (266 nm)	A (274 nm)	K270	K266	K274	K232	ΔK
Aceite Oliva Virgen Extra LENCINA	0,485	0,248	0,251	0,238	0,21	0,21	0,2	1,87	0,005
Aceite Oliva Virgen ACECASA	0,494	0,189	0,199	0,183	0,17	0,18	0,16	1,98	0
Aceite Oliva Virgen	0,464	0,237	0,236	0,231	0,22	0,22	0,21	2,16	0,005

Extra HOJIBLANCA									
Aceite Oliva Virgen Extra SEÑORIO DEL REY	0,457	0,206	0,214	0,2	0,19	0,19	0,18	1,89	0,005

Los resultados obtenidos se encuentran dentro de los límites establecidos por la CEE. Es decir, $K_{232} \leq 250$, $K_{270} \leq 0,22$ e $\Delta K \leq 0,01$.

Comparando los resultados obtenidos en aceites enriquecidos y sin enriquecer, el K_{232} es mayor en aceites no enriquecidos, mientras que el K_{270} es mayor en aceites enriquecidos, el ΔK es igual en todos los casos.

Se concluye, que la adición de antioxidante en aceites de oliva sigue manteniendo los coeficientes de extinción dentro de los límites establecidos.

La [Figura 45](#) muestra los matraces que contienen las muestras de aceite con β -caroteno diluidas con isooctano y la cubeta con el blanco.

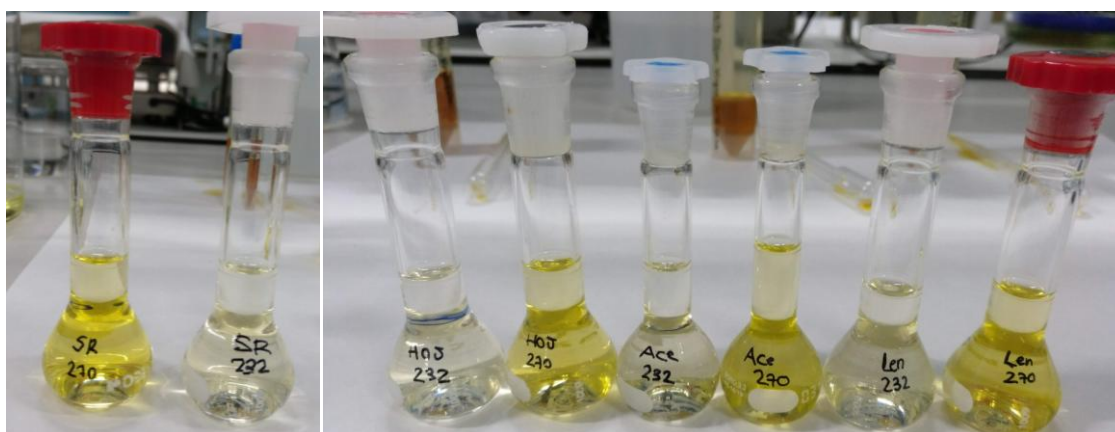


Figura 45. Matraces con las muestras de aceites enriquecidos.

4.8.4. Índice de p-anisidina de aceite de oliva

El método para la determinación de anisidina en aceites y grasas de tipo animal mide la cantidad de aldehídos presentes (principalmente aldehídos α , β -insaturados).

Esta experiencia se lleva a cabo siguiendo la norma española UNE-EN ISO 6885 de junio de 2016 de AENOR.

Se preparan las siguientes disoluciones:

- Disolución de análisis con 1 g de muestra aproximadamente y disuelve con isooctano en matraz de 25 mL.
- Disolución de p-anisidina, 0.061g de p-anisidina en un matraz de 25 mL enrasado con ácido acético.
- Negro; compuesto por 5 mL de isooctano y 1 mL de p-anisidina, y llevado a la oscuridad durante 8 minutos.

Se mide la absorbancia del negro, siendo esta $A(\text{negro}) = 0.005$.

Se mide la absorbancia de la disolución de p-anisidina, esta debe ser menor de 0.2, de lo contrario hay que repetir la disolución. $A(\text{p-anisidina}) = 0.044$.

Para medir el blanco se utiliza isooctano a una longitud de onda de 350 nm.

Para calcular el índice de p-anisidina, se preparan con la disolución de análisis anteriormente preparada, una disolución para análisis que reacciona y una disolución para análisis que no reacciona.

La disolución de análisis que reacciona se compone de 5 mL de disolución de análisis y 1 mL de disolución de p-anisidina, después se lleva a oscuridad durante 10 min y se mide su absorbancia.

La disolución de análisis que no reacciona se compone de 5 mL de disolución de análisis y 1 mL de ácido acético, se lleva también a oscuridad durante 10 minutos y se mide su absorbancia.

Para calcular el índice de p-anisidina se tiene la siguiente ecuación:

$$A \cdot V = \frac{100 \cdot Q \cdot V}{m} [1.2 (A1 - A2 - A0)]$$

Siendo:

V: Volumen en el que se disuelve la muestra para análisis

m: Masa de la muestra para análisis

Q: Contenido de muestra de la disolución medida en gramos por mililitro (Q=0,01 g/mL)

A0: Absorbancia de la disolución para análisis sin reaccionar

A1: Absorbancia de la disolución para análisis que ha reaccionado

A2: Absorbancia del blanco

1.2: Factor de corrección para la dilución de la solución para análisis con 1 mL de reactivo de ácido acético glacial.

Cuando se está evaluando el deterioro oxidativo de un aceite, se calcula también el valor Totox, mostrado en la [tabla 35](#).

$$TV = (2 \cdot PV) + AV$$

Siendo:

PV: Índice de peróxidos expresado en meq O₂/Kg

AV: índice de p-anisidina

El intervalo de variación del índice de p-anisidina se encuentra entre 0 y 100.

4.8.4.1. Índice de p-anisidina de aceites de oliva sin enriquecer.

En la [Tabla 34](#) se muestran los resultados obtenidos:

Los 4 aceites estudiados se encuentran dentro del intervalo que establece su norma, es decir, entre 0-100, siendo el AOVE Hojiblanca el que mayor AV muestra y el AOV Acecasa el que menor.

Tabla 34. Datos para la determinación del índice de p-anisidina en aceites de oliva sin enriquecer.

	m p-anisidina (g)	m aceite (g)	A2 (Negro)	A1 (disolución que reacciona)	A0 (disolución que reacciona)	AV	AV (media)	σ	AV (final)
AOVE LENCINA	0,061	1,027	0,005	0,292	0,073	62,5121714	58,2812734	10,746748	58,28 ± 10,75
		1,005		0,284	0,062	66,2686567			
		1,016		0,231	0,075	46,0629921			
AOV ACECASA		1,003	0,024	0,229	0,082	36,7896311	46,7251463	8,92800095	46,73 ± 8,93
		1,043		0,261	0,073	54,0747843			
		1,016		0,242	0,075	49,3110236			
AOVE HOJIBLANCA		1,072	0,024	0,329	0,081	62,6865672	76,6728421	12,1348575	76,67 ± 12,13
		1,013		0,345	0,06	84,4027641			
		1,031		0,339	0,054	82,929195			
AOVE SEÑORÍO DEL REY		1,01	0,024	0,301	0,06	64,4554455	62,1646739	5,1147215	62,16 ± 5,11
		1,023		0,254	0,062	56,3049853			
		1,036		0,271	0,044	65,7335907			

4.8.4.2. Índice de p-anisidina de aceites de oliva enriquecidos.

Tabla 35. Datos para la determinación del índice de p-anisidina en aceites de oliva enriquecidos

	m p-anisidina (g)	m aceite (g)	A2 (Negro)	A1 (disolución que reacciona)	A0 (disolución que reacciona)	AV	AV (media)	σ	AV (final)
AOVE LENCINA	0,061	1,037	0,024	0,382	0,166	55,5448409	61,9936556	6,82406105	61,99 ± 6,82
		1,011		0,385	0,152	69,1394659			
		1,018		0,364	0,156	61,2966601			
AOV ACECASA		1,022	0,024	0,224	0,124	22,3091977	37,3768238	14,2306058	37,38 ± 14,23
		1,017		0,279	0,146	39,2330383			
		1,02		0,273	0,101	50,5882353			
AOVE HOJIBLANCA		1,019	0,024	0,394	0,133	69,7742885	71,0913947	8,71338404	71,09 ± 8,71
		1,022		0,357	0,142	63,111546			
		1,03		0,407	0,131	80,3883495			
AOVE SEÑORÍO DEL REY		1,062	0,024	0,308	0,104	50,8474576	56,4734084	8,06575571	56,47 ± 8,07
		1,067		0,291	0,103	52,8584817			
		1,05		0,344	0,114	65,7142857			

En esta experiencia el procedimiento que se sigue es igual que el anterior, siendo la muestra de aceite enriquecida con β -caroteno. La disolución de p-anisidina utilizada es la misma que en la experiencia anterior.

Los resultados que se han obtenido se muestran en la [Tabla 35](#). Se observa que los 4 aceites se encuentran dentro del intervalo de variación, siendo también el AOVE Hojiblanca el que mayor AV muestra y el AOV Acecasa el que menor. También se observa que el valor de AV es menor en todos los aceites que han sido enriquecidos con respecto al valor de los aceites no enriquecidos.

La [Figura 46](#) muestra los matraces con las disoluciones que se han preparado para esta experiencia. Los matraces de la izquierda pertenecen a las muestras de aceite sin enriquecer y los de la derecha a los aceites enriquecidos.

Cada experiencia para cada aceite se realiza 3 veces.



Figura 46. Disoluciones de aceite sin enriquecer y disolución de p-anisidina (izquierda) y disoluciones de aceite enriquecido (derecha).

5. TABLA RESUMEN DE PARÁMETROS QUÍMICOS.

Tabla 36. Resumen parámetros químicos.

ACEITES DE OLIVA	PARÁMETROS DE COLOR			PARÁMETROS DE CALIDAD					P-AV	Totox
	a*	b*	L*	FA (%)	PV (mEq O ₂ /kg)	K232	K270	ΔK		
AOVE LENCINA	2,82	115,2	85,32	0,26 ± 0,01	9,2 ± 0,25	2,26	0,17	0,01	58,28 ± 10,75	76,68
AOVE LENCINA (enriquecido)	31,43	125,11	73,65	0,23 ± 0,01	8,52 ± 0,65	1,87	0,21	0,005	61,99 ± 6,82	79,03
AOV ACECASA	3,64	121,01	83,63	0,22 ± 0,01	13,80 ± 0,51	2,66	0,12	0,005	46,73 ± 8,93	74,33
AOV ACECASA (enriquecido)	30,27	123,56	72,84	0,18 ± 0,01	16,83 ± 0,61	1,98	0,17	0	37,38 ± 14,23	71,04
AOVE HOJIBLANCA	0,29	103,78	88,89	0,24 ± 0,02	12,28 ± 0,27	2,35	0,18	0,005	76,67 ± 12,13	101,23
AOVE HOJIBLANCA (enriquecido)	32,2	129	76,06	0,21 ± 0,01	12,63 ± 0,32	2,16	0,22	0,005	71,09 ± 8,71	96,35
AOVE SEÑORIO DEL REY	0,35	102,83	87,38	0,20 ± 0,01	8,10 ± 0,24	1,72	0,12	0,005	62,16 ± 5,11	78,36
AOVE SEÑORIO DEL REY (enriquecido)	31,31	127,54	75,21	0,15 ± 0,01	9,08 ± 0,36	1,89	0,19	0,005	56,47 ± 8,07	74,63

6. CONCLUSIONES.

Tras finalizar la serie de experimentos que engloban este trabajo, se alcanzan las siguientes conclusiones.

1. Se han preparado nuevos alimentos funcionales basados en AOVEs y aceites de girasol por adición a los aceites de β -caroteno.
2. Se confirma que existe una mejoría notable en el valor antioxidante de los aceites a los que se les ha adicionado β -caroteno con respecto a los aceites a los que no se ha adicionado β -caroteno.
3. Gracias a la adición de β -caroteno, se ha podido comprobar que existe una menor velocidad de degradación de los aceites cuando han sido sometidos a radiación UV y a altas temperaturas, por lo que conseguiría aumentar la vida útil de los aceites.
4. En el caso de los aceites de girasol, los cuatro aceites estudiados presentan las mismas características en cuanto a evolución del color. Aunque ocurre el caso contrario que en el de los aceites de oliva, las variaciones de color son mayores en los aceites que contienen antioxidante que los que no. Se llega a la conclusión de que esto ocurre porque el aceite de girasol es prácticamente transparente y al adicionar β -caroteno, que es de color rojo ladrillo, el espectrocolorímetro detecta niveles de diferencia de color mayor y al aplicar calor y luz se genera mayor cambio de color.
5. Se realiza también un análisis químico en los aceites de oliva con vista a estudiar si la adición de antioxidantes mejora la calidad del aceite. Tras la realización del mismo, se llega a la conclusión de que la calidad de los aceites de oliva se mantiene e incluso mejora en algunos parámetros.

En definitiva, la adición de antioxidantes en un alimento habitual en nuestra dieta Mediterránea como es el aceite de oliva, permitiría lograr que el ser humano

consume la cantidad de antioxidantes diaria recomendada, de manera que no sería necesario cambiar de dieta o tomar suplementos. Además, se obtiene un alimento funcional que previene enfermedades, y un producto que mantiene sus condiciones de vida útil durante más tiempo.

7. ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS.

7.1. Índice de tablas.

Tabla 1. Nomenclatura de los aceites de oliva y los aceites de girasol utilizados para el ensayo de foto-estabilidad en cabina ultravioleta.	36
Tabla 2. Parámetros colorimétricos de la evolución del color del aceite de oliva virgen Acecasa en función del antioxidante añadido; [β -caroteno]= 3.27 mg/mL. μ L= microlitros añadidos.	51
Tabla 3. Parámetros colorimétricos de la evolución del color del aceite de oliva virgen extra Lencina con antioxidante añadido; [β -caroteno]= 3.27 mg/mL.....	52
Tabla 4. Parámetros colorimétricos de la evolución del color del aceite de oliva virgen extra Hojiblanca con antioxidante añadido; [β -caroteno]= 3.27 mg/mL.....	54
Tabla 5. Parámetros colorimétricos de la evolución del color del aceite de oliva virgen extra Señorío del Rey con antioxidante añadido; [β -caroteno]= 3.27 mg/mL.	55
Tabla 6. Parámetros colorimétricos de la evolución del color del aceite de girasol Abaco Sol con antioxidante añadido; [β -caroteno]= 0.167 mg/mL.....	58
Tabla 7. Parámetros colorimétricos de la evolución del color del aceite de girasol Ondosol con antioxidante añadido; [β -caroteno]= 0.167 mg/mL.	60
Tabla 8. Parámetros colorimétricos de la evolución del color del aceite de girasol Auchan con antioxidante añadido; [β -caroteno]= 0.167 mg/mL.	62
Tabla 9. Parámetros colorimétricos de la evolución del color del aceite de girasol Coosol con antioxidante añadido; [β -caroteno]= 0,167 mg/mL.	63
Tabla 10. Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del AOV Acecasa con antioxidante añadido; Microondas, 700 W durante 40 min.	67
Tabla 11. Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del AOV Acecasa sin antioxidante; Microondas, 700 W durante 40 min.	68
Tabla 12. Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del AOVE Lencina con antioxidante añadido; Microondas, 700 W durante 40 min.	69
Tabla 13. Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del AOVE Lencina sin antioxidante añadido; Microondas, 700 W durante 40 min.	69

Tabla 14.Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del AOVE Hojiblanca con antioxidante añadido; Microondas, 700 W durante 40 min.....	71
Tabla 15.Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del AOVE Hojiblanca sin antioxidante añadido; Microondas, 700 W durante 40 min.....	71
Tabla 16.Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del AOVE Señorío del Rey con antioxidante añadido; Microondas, 700 W durante 40 min.	72
Tabla 17.Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del AOVE Señorío del Rey sin antioxidante añadido; Microondas, 700 W durante 40 min.	73
Tabla 18.Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del aceite de girasol Abaco Sol con antioxidante añadido; Microondas, 640 W durante 40 min.....	75
Tabla 19.Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del aceite de girasol Abaco Sol sin antioxidante añadido; Microondas, 640 W durante 40 min.....	76
Tabla 20.Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del aceite de girasol Auchan con antioxidante añadido; Microondas, 640 W durante 40 min.	77
Tabla 21.Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del aceite de girasol Auchan sin antioxidante añadido; Microondas, 640 W durante 40 min.	78
Tabla 22.Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del aceite de girasol Coosol con antioxidante añadido; Microondas, 640 W durante 40 min.	79
Tabla 23.Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del aceite de girasol Coosol sin antioxidante añadido; Microondas, 640 W durante 40 min.	80
Tabla 24.Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del aceite de girasol Ondosol con antioxidante añadido; Microondas, 640 W durante 40 min.....	81
Tabla 25.Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del aceite de girasol Ondosol sin antioxidante añadido; Microondas, 640 W durante 40 min.	82

Tabla 26. Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del aceite de oliva con y sin antioxidante añadido durante 60 días; [β -caroteno]= 3.27 mg/mL.....	85
Tabla 27. Parámetros colorimétricos de la evolución de la degradación del color del aceite de girasol con y sin antioxidante añadido durante 60 días; [β -caroteno]= 0.167 mg/mL.....	88
Tabla 28. Datos para la determinación del índice de acidez de diferentes aceites de oliva sin enriquecer.....	93
Tabla 29. Datos para la determinación del índice de acidez de diferentes aceites de oliva enriquecidos.....	95
Tabla 30. Datos para la determinación del índice de peróxidos de diferentes aceites de oliva sin enriquecer.	96
Tabla 31. Datos para la determinación del índice de peróxidos de diferentes aceites de oliva enriquecidos.	98
Tabla 32. Datos para la determinación de la absorbancia de diferentes aceites de oliva sin enriquecer.	100
Tabla 33. Datos para la determinación de la absorbancia de diferentes aceites de oliva enriquecidos.....	101
Tabla 34. Datos para la determinación del índice de p-anisidina en aceites de oliva sin enriquecer.	106
Tabla 35. Datos para la determinación del índice de p-anisidina en aceites de oliva enriquecidos.....	107
Tabla 36. Resumen parámetros químicos.....	109

7.2. Índice de figuras.

Figura 1. Espectro electromagnético.....	12
Figura 2. Espacio de color CIE $L^*a^*b^*$ con la coordenada L^* constante.	14
Figura 3. Espacio CIELAB con las coordenadas $L^*a^*b^*$	15
Figura 4. Términos que describen las diferencias de color	17

Figura 5. Esquema de un ojo indicando la parte afectada por DMAE	18
Figura 6.DMAE relacionada con la edad (Seca).....	19
Figura 7.DMAE relacionada con la edad (Húmeda).....	19
Figura 8. Estructura del B-carotero.....	21
Figura 9.Muestras de aceites de girasol (E, F, G, H) y aceites de girasol enriquecidos con B-caroteno (E', F', G', H').....	36
Figura 10. Muestras de aceites de oliva (A,B, C, D) y aceites de oliva enriquecidos con B-caroteno (A', B', C', D')	37
Figura 11.Cubetas de aceite de girasol y aceite de oliva en el interior de la cabina de luz UV.	37
Figura 12.Vial de B-caroteno (izquierda) y disolución de B-caroteno con aceite picual (derecha)	46
Figura 13.Atmósfera de argón en tubo de disolución y vial.....	47
Figura 14.Tubos falcon de aceite de oliva enriquecidos con B-caroteno.	49
Figura 15.Evolución en las cubetas con aceite de oliva virgen Acecasa; de izquierda a derecha sin antioxidante, con 100, 200 y 365 μ l, respectivamente de antioxidante; [β - Caroteno]= 3.27 mg/mL.	52
Figura 16.Progresión de cubetas con aceite de oliva virgen extra Lencina; sin antioxidante, con 100, 200 y 365 ul, respectivamente de antioxidante; [β -Caroteno]= 3.27 mg/mL.	54
Figura 17.Progresión de cubetas con aceite de oliva virgen extra Hojiblanca; sin antioxidante, con 100, 200 y 365 ul, respectivamente de antioxidante; [β -Caroteno]= 3.27 mg/mL.	55
Figura 18.Progresión de cubetas con aceite de oliva virgen extra Señorío del Rey; sin antioxidante, con 100, 200 y 365 μ l, respectivamente de antioxidante; [β -Caroteno]= 3.27 mg/mL.	57
Figura 19.Variación del color en aceites de oliva con antioxidante añadido; [β - caroteno]= 3,27 mg/mL.	57
Figura 20.Progresión de cubetas con aceite de girasol Abaco Sol; sin antioxidante, con 100, 200 y 365 ul, respectivamente de antioxidante; [β -Caroteno]= 0.167 mg/mL.	59

Figura 21. Progresión de cubetas con aceite de girasol Ondosol; sin antioxidante, con 100, 200 y 365 ul, respectivamente de antioxidante; [β -Caroteno]= 0.167 mg/mL.	61
Figura 22. Progresión de cubetas con aceite de girasol Auchan; sin antioxidante, con 100, 200 y 365 ul, respectivamente de antioxidante; [β -Caroteno]= 0.167 mg/mL.	63
Figura 23. Progresión de cubetas con aceite de girasol Coosol; sin antioxidante, con 100, 200 y 365 ul, respectivamente de antioxidante; [β -Caroteno]= 0.167 mg/mL.	64
Figura 24. Variación del color en aceites de girasol con antioxidante añadido; [β -caroteno]= 0.167 mg/mL.	65
Figura 25. Variación del color del AOV Acecasa con y sin antioxidante añadido; 700W durante 40 min; [β -caroteno]= 3.27 mg/mL.	68
Figura 26. Variación del color del AOVE Lencina con y sin antioxidante añadido; 700W durante 40 min; [β -caroteno]= 3.27 mg/mL.	70
Figura 27. Variación del color del AOVE Hojiblanca con y sin antioxidante añadido; 700W durante 40 min; [β -caroteno]= 3.27 mg/mL.	72
Figura 28. Variación del color del AOVE Señorío del Rey con y sin antioxidante añadido; 700W durante 40 min; [β -caroteno]= 3.27 mg/mL.	74
Figura 29. Variación del color del aceite de girasol Abaco Sol con y sin antioxidante añadido; 640W durante 40 min; [β -caroteno]= 0.167 mg/mL.	77
Figura 30. Variación del color del aceite de girasol Auchan con y sin antioxidante añadido; 640W durante 40 min; [β -caroteno]= 0.167 mg/mL.	79
Figura 31. Variación del color del aceite de girasol Coosol con y sin antioxidante añadido; 640W durante 40 min; [β -caroteno]= 0.167 mg/mL.	81
Figura 32. Variación del color del aceite de girasol Ondosol con y sin antioxidante añadido; 640W durante 40 min; [β -caroteno]= 0.167 mg/mL.	83
Figura 33. Color de los aceites de oliva ensayados en foto-estabilidad antes de comenzar el experimento.	86
Figura 34. Color de los aceites de oliva ensayados en foto-estabilidad después de 60 días de radiación UV.	86
Figura 35. Variación del color del aceite de oliva con y sin antioxidante añadido; 60 días; [β -caroteno]= 3.27 mg/mL.	87

Figura 36. Color de los aceites de girasol ensayados en foto-estabilidad antes de comenzar el experimento.	89
Figura 37. Color de los aceites de girasol ensayados en foto-estabilidad después de 60 días de radiación UV.	89
Figura 38. Variación del color del aceite de girasol con y sin antioxidante añadido; 60 días; $[\beta\text{-caroteno}] = 0.167 \text{ mg/mL}$	90
Figura 39. Disolución de KOH antes (izquierda) y después (derecha) de contrastar.	92
Figura 40. Aceite de oliva sin enriquecer antes de valorar (izquierda) y aceite de oliva después de valorar (derecha).	94
Figura 41. Aceite de oliva enriquecido antes de valorar (izquierda) y aceite de oliva después de valorar (derecha).	95
Figura 42. Aceite de oliva sin enriquecer antes de valorar (izquierda) y aceite de oliva después de valorar (derecha).	97
Figura 43. Aceite de oliva enriquecidos antes de valorar (izquierda) y aceite de oliva después de valorar (derecha).	99
Figura 44. Matraces con las muestras de aceites sin enriquecer (izquierda y centro) y cubeta del blanco (derecha)	101
Figura 45. Matraces con las muestras de aceites enriquecidos.	102
Figura 46. Disoluciones de aceite sin enriquecer y disolución de p-anisidina (izquierda) y disoluciones de aceite enriquecido (derecha).	108

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

A

- Aguilera, M.P; Jiménez, A; Beltrán; G. Condiciones de batido de la pasta de aceituna en frutos de Picual de recolección temprana. Vida Rural. 2010. (1/Noviembre/2010). 32-35.
- Alba J., Hidalgo F., Ruíz M.A., Martínez F., Moyano M.J., Cert A.; Pérez M.C.; Ruíz M.V. Características de los aceites de oliva de primera y segunda centrifugación. Grasas y Aceites. 1996. 47 (3), 163-181.
- Alonso V. y Aparicio R.: "Characterization of European virgin olive oils using fatty acids". Grasas y Aceites. 1993. 44, 18-24.
- Andrewes P.; Busch J.; De Joode T.; Groenewegen A.; Alexandre H. Sensory properties of virgin olive oil polyphenols: identification of Deacetoxy- ligstroside aglicon as a key contributor to pungency. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 2003. 51, 1415-1420.
- Aparicio, R.; Harwood, J. Manual del aceite de oliva. A. Madrid Vicente. Ediciones. Mundi-Prensa. Madrid. 2003.
- Aparicio-Ruiz R., Mínguez-Mosquera M.I., Gandul-Rojas B. Thermal degradation kinetics of lutein, beta-carotene and beta-cryptoxantin, Journal of food Composition and analysis. 2011. 24, 6, 811-820.

B

- Barbosa KB; Bressan J; Zulet MA; Martínez Hernández JA. Influence of dietary intake on plasma biomarkers of oxidative stress in humans. An Sist Sanit Navar. 2008. 259-80.
- Beltrán, G.; Aguilera, M.P.; del Rio, C.; Sánchez, S.; Martínez, L. Influence of fruit ripening on the natural antioxidant content of Hojiblanca virgin olive oils. Food Chemistry. 2005. 89, 207-215.

- Berenguer M.J.; Gracia M.S.; Espada J.L. Calidad del aceite de oliva cv. Arbequina bajo suministro variable de riego en Aragón. Actas XIX Congreso Nacional de Riegos. Zaragoza. 2006. 61-63.
- Boskou, D. Olive oil composition. En: Olive oil chemistry and technology. Ed. AOCS Press. Champaign. Illinois. 1996.
- Bravo, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. Nutrition Reviews. 1998. 56, 317-333.

C

- Calvo C., Salvador A., y Fiszman S.M.: "Influence of colour intensity on the perception of colour and sweetness in various fruit flavoured yoghurts". European Food Research and Technology. 2001. 213, 99-103.
- Carranco Jáuregui, E; Calvo Carrillo, C; et al. Carotenoides y su función antioxidante. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. 2011.
- Carrillo, Pedro. Propiedades del aceite de oliva en el mantenimiento de la integridad cutánea. Seminario médico. 2009. Volumen 61, 2: 61-89.
- <http://www.cancer.gov/espanol/tipos/piel> - Carlsson D.J.; Suprunchuk T.; Wiles H.M. Photooxidation of unsaturated oils. Effects of singlet oxygen quenchers. Journal of the American Oil Chemists Society. 1976. 53, 656.
- CEE. Características de los aceites de oliva y de los aceites de orujo de oliva y métodos de análisis. Reglamento 2568/91. DOCE. 1991.
- Cichelli A. & Pertesana G.P.: High-performance liquid chromatography analysis of chlorophylls, pheophytins and carotenoids in virgin olive oils: chemometric approach to variety classification. Journal of Chromatography A. 2004.1046:141-146.
- Cinquanta L.; Esti M.; Di Matteo M. Oxidative stability of virgin olive oils. Journal of the American Oil Chemists Society. 2001. 78, 1197-1202.
- Civantos L.; Contreras R.; Grana R. Obtención del aceite de oliva virgen. 2ª Ed. Editorial Agrícola Española. Madrid. 1999.

- Codoceo R.; Muñoz R.A. Vitaminas liposolubles: vitaminas A, E y K, en Hernández M.; Sastre, A. Ed. Tratado de Nutrición. Díaz de Santos. Madrid. 1999. 177- 202.
- Consejería de Agricultura y Pesca. Reglamento de la Denominación de Origen “Priego de Córdoba” y su Consejo Regulador. Orden de 29/11/1995, Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía, Sevilla. BOJA 158, 14-12-1995.
- Consejo oleícola Internacional (1987). Valoración organoléptica del aceite de oliva virgen. T-20. COI: Análisis Sensorial: Vocabulario General Básico. COI/T.20/DOC.nº4.In.;1987.

D

- De la Noue J. y De Pauw N. The potencial of microalgal biotechnology: a review of production and uses of microalgae. Biotech. 1998. Adv. 6: 725-770. 123
- Deiana M.; Rosa A.; Cao C.F.; Pirisi F.M.; Bandino G.; Dessi A. Novel approach to study oxidative stability of extra virgin olive oils: importance of α -tocoferol concentration. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 2002. 50, 4342-4346.
- Delgado-Vargas F. y Paredes-López O. Natural colorants for food and nutraceutical uses. CRC Press. 2003.
- Di Giovachino, L.; Angerosa F.; Di Giacinto L. Effect of mixing leaves with olives on organoleptic quality of oil obtained by centrifugation. J. Am. Oil Chem. Soc. 1996. 73(3), 371-374.

E

- European Patent. Composition comprising olive oil enriched and supplemented with lutein, WO 2006117826 (A2), Application number: WO2006IT00304 20060502. 2006.

F

- Fernández J.M., Ación F.G., Molina E. Biotechnological production of lutein and its applications, Applied Microbiology and Biotechnology. 2010. 86-1, 27-40.
- Finkel T; Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. Nature 2000. 408, 239-47.

- Fiorino P. y Nizzi F. Maturazione delle olive e variazioni di alcuni componente dell'olio. *Olivae*. 1991. 35, 25-33.

- Fitó M. Efectos antioxidantes del aceite de oliva y de sus compuestos fenólicos. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona. 2003.

G

- Gandul-Rojas B. y Mínguez-Mosquera MI. Chlorophyll and carotenoid composition in virgin olive oils from various Spanish olive varieties. *J.Sci.Food Agric*. 1996. 72, 31-39.

- García A. Caracterización, cuantificación y transformaciones de los compuestos fenólicos en aceite de oliva virgen. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla. 2003.

- García-González M., Moreno J., Manzano C., Florencio F.J., Garcia Guerrero M. Production of *Dunaliella salina* biomass rich in 9-cis- carotene and lutein in a closed tubular photobioreactor. *Journal of Biotechnology*. 2005. 115:81–90. 124

- Garrido J.; Gandul B.; Gallardo L.; Mínguez MI. Pigmentos clorofílicos y carotenoides responsables del color en el aceite de oliva virgen. *Grasas y Aceites*. 1990a. 41(6), 404-409.

- Garrido J.; Gandul B.; Gallardo L.; Mínguez MI., Pereda, J. Composición clorofílica y carotenoide del aceite de oliva virgen. Valor en provitamina A. *Grasas y Aceites*. 1990b. 41(6), 410-417.

- Gerald F. y Combs J.R. The vitamins fundamental aspects in nutrition and health. Academic Press Inc. San Diego. (California). 1992.

-Gilca M; Stoian I; Atanasiu V; Virgolici B. The oxidative hypotethesis of senescence. *J PostgradMed*. 2007. 53, 207-13.

- Gómez-Rico A.; Salvador M.D.; Fregapane G. Virgin olive oil and olive fruit minor constituents as affected by irrigation management based on SWP and TDF as compared to ETc in medium-density Young olive orchards (*Olea europaea* L. cv. Cornicabra and Morisca). *Food Research International*. 2009. 42, 1067-1076.

- Gong Mengyue; Bassi Amarjeet. Carotenoids from microalgas. A review of recent developments. *Biotechnology Advances*. 2016. Doi: 10.1016/j.biotechadv.2016.10.005
- Graell J.; Arbós J., Duró V., Clota J.; Torrelles R.; Ciria R.; Puig J.; Munté M. Calidad del aceite de oliva virgen "D.O. Borjas Blancas". Influencia del proceso de extracción. II Salón Industrial Oleícola SIO'92, Reus, Tarragona. 1992.
- Granado F., López-López I., Herrero-Barbudo C., Blanco-Navarro I., Cofrades S., Pérez-Sacristan B. y Delgado-Pando G. Lutein-enriched frahkfurter-type products: physicochemical characteristics and lutein in vitro bioaccessibility, *Food Chemistry*. 2010. 120, 741-748.
- Grundy, S.M, Florentin, L; Nix, D; Whelen, M.F. Comparasion of monounsaturadet fatty acids and carbohydrates for reducing raised levels of plasma colesrerol in mam. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1988. 47:965-969.
- Guillén R.; Yépez F.; Heredia F.J.; Guzmán M. Chromatic parameters and oxidation index for edible vegetable oils submitted to thermal oxidation. *J. Sci.Food Agric*. 1991. 54, 619-633.
- Gutiérrez F. y Fernández J.L. Determinant parameters and components in the storage of virgin olive oil. Prediction of storage time beyond which the oils is no longer of "extra" quality. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2002. 50, 571-577.
- Gutiérrez F.; Perdiguero S.; Gutiérrez R.; Olías J.M. Evaluation of the bitter taste in virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 1992. 69, 394.
- Gutteridge, J.M. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*. 1995. 41, 1819-1828.

H

- Hermoso M.; Uceda M; Frías L.; Beltrán G. Maduración en El cultivo del olivo, 3 ed. (Barranco D.; Fernández.Escobar R.; Rallo L., ed.).Mundi Prensa, Consejería de Agricultura y Pesca (Junta de Andalucía), Madrid. 1999.
- Hidalgo F.; Navas M.A.; Guinda A.; Ruíz M.A.; León M.; Lanzón A.; Maestro R.; Janer del Valle, M.L.; Pérez M.C.; Cert A.; Alba J.; Gutiérrez F.; Dobarganes M.C.;

Graciani E. La calidad del aceite de oliva virgen: Posibles nuevos criterios para su evaluación. *Grasas y Aceites*. 1993. 44(1), 10-17.

- Humanes J. y Civantos M. Producción de aceite de oliva de calidad. Influencia en el cultivo. Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía, Sevilla. 1992.

I

-Islam MN; Gracia F. Los antioxidantes para la salud óptima. *Rev méd cient*. 2013. 26(2), 3-9.

J

- Jacoboni A.; Pinnol M.; Baltadori A. The production of *Olea europaea* L in Viterbo in relation to the climatological factors. *Acta Horticulturae*.1999. 474, 229-232.

K

-Kar S, Subbaram S, Carrico PM, Melendez JA. Redoxcontrol of matrix metalloproteinase-1: a critical link between free radicals, matrix remodeling and degenerative disease. *RespirPhysiolNeurobiol*. 2010. 174(3): 299-306.

- Kassem I. Influencia de parámetros físicos del sistema de elaboración en la calidad del aceite de oliva virgen, Tesis de Máster en Olivicultura y Elaiotecnia. Almazara Experimental. Instituto de la Grasa, Sevilla. 1999.

- Keys, A; Menotti, A; et al. The diet and 15-year death rate in the Seven Countries Study. *American Journal of Epidemiology*. 1986. 124: 903-915.

- Kiritsakis A. Olive oil. *AOCS, Campaing*, II. 1991.

- Kiritsakis A. The effect of light on the oxidative deterioration of olive oil. *Proc. Int. Congr. Biol. Value Olive Oil*. Chanea. Greece. 1980.

- Kiritsakis A.; Koutsaftakis A.; MiKros L.The effect of processing systems Pieralisy, Hiler and Rapanelli (Sinolea-Decánter) on olive oil quality. *Grasas y Aceites*. 1985. 32(3), 165-170.

- Kiritsakis A.y Osman M. Efectos del β -caroteno y del α -tocoferol en la estabilidad del aceite de oliva. *Olivae*. 1995. 56, 25-28.

- Konica Minolta. Precise color communication .2014. 9242-4830-92.

L

- Lee E.C.; Min D.B. Quenching mechanism of β -carotene on the chlorophyll sensitized photooxidation of soybean oil. *Journal of Food Science*. 1988. 53, 1893. 126
- Limón P.; Malheiro R.; Casal S.; Acién-Fernández F.G.; Fernández-Sevilla J.M.; Rodrigues N.; Rebeca C.; Bermejo R.; Pereira J.A. Improvement of stability and carotenoids fraction of virgin olive oils by addition of microalgae *Scenedesmus almeriensis* extracts. *Journal of Food Chemistry*. 2015. 175, 203-211.
- Livingston A.L. Rapid analysis of xanthophyll and carotene in dried plant materials. *J. Assoc. Anal. Chem.* 1986. 69: 1017-1019.
- López M.C.; Godia O.; Boatella J. Evolución del contenido en carotenoides de los aceites a lo largo de la maduración de las aceitunas del Montsiá. *Grasas y Aceites*. 1986. 37(4), 197-202.

M

- Mann, J.E. and Myers, J., 1968. On pigments, growth and photosynthesis of *Phaeodactylum tricornutum*. *Journal of Phycology*, 4, pp. 349–355.
- Martínez J.M.; Gómez C.; Alba J.; Petruccili G.; Martínez J.M.; Muñoz E.; Cucarachi A.; Carola C.; Fernández P. *Manual de Elaiotecnica*. Agrícola Española, S.A. Madrid. 1975.
- Mataix Verdú, J. *Aceite de oliva virgen y salud*. Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos. Universidad de Granada. 2005.
- Mensink R.P.; Katan M.B. Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins. A meta-analysis of 27 trials. *Artheroscler, Thrombosis and Vascular Biology*. 1992. 12, 911-919.
- Mínguez-Mosquera M.I., Rejano-Navarro L., Gandul-Rojas B., Sánchez Gómez A., Garrido-Fernández J.: Color-pigment correlation in virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* .1991. 68(5):332-336.

- Moyano M: Estudio del color de aceites de oliva vírgenes de Andalucía. Sevilla: Universidad de Sevilla. 2002.

- Muller H.G. y Tobin G. Nutrición y ciencia de los alimentos. Acribia (Ed.). Zaragoza. 1986.

N

- Nidhi, B. y Baskaran, V. Influence of vegetable oils on micellization of lutein in a simulated digestion model, J. Am. Oil Chem. Soc. 2011. 88, 367-372. 127

http://www.nutrifacts.org/no_cache/esp/carotenoides/betacaroteno/resumen/?cid=3756&did=282&sechash=203793a8.

O

- O'Neill, M.E.; Carroll, Y; Corridan, B.; Olmedilla, B; et al. A European carotenoid database to assess carotenoid intakes and its use in a five-country comparative study. Brit. J. Nutr. 2001; 85: 499-507

- Oliveras, M.J. Calidad del aceite de oliva virgen extra. Antioxidantes y función biológica. Tesis Doctoral. Universidad de Granada. 2005.

- Olmedilla, B; Granado, F; Blanco, I. Carotenoides y salud humana. Fundación Española de la Nutrición. Series Informes. Madrid. 2001.

- <http://www.olimerca.com/noticiadet/el-consumo-per-capita-de-aceite-de-oliva-enespana-se-situa-en-96-litrosano/79799f9fa1f30d2bc0977ff68d8ba661>

- Orgaz y Fereres. Riego. En: El cultivo del olivo. Editores: D.Barranco; R. Fernández-Escobar; L.Rallo.; M.P. Consejería de Agricultura y Pesca. 2004.

P

- Packer L. and Obemüller-Jevic U. Vitamin E in disease prevention and therapy: Future perspectives en Packer L.; Traber M.; Kraemer K.; Frei B. Ed. The antioxidant Vitamin C and E. AOCS Press. California. 2002. 255, 288.

- Pagliarini E.; Zandoni B.; Giovanelli G. Predictive study on Tuscan extra virgin olive oil stability under several commercial conditions. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2000. 48, 1345-1351.
- Palozza P. y Krinsky N. I. Antioxidant effects of carotenoids in Vivo and in Vitro: An overview. *Methods Enzymol*. 1992. 213: 403-420.
- Pannelli G.; Servili M.; Selvaggini M.; Montedoro G. Effect of agronomic and seasonal factor on olive (*Olea europaea* L.) production and on the qualitative characteristics of the oil. *Acta Horticulturae*. 1994. 356, 239-243.
- Papasseit J. El color del aceite de oliva extra virgen, características de calidad. *Grass y Aceites*. 1986. 37(4), 204-206. - Philip T. y Berry J.W. Nature of lutein acylation in marigold (*Tagetes erecta*) flowers. *J. Food Sci*. 1975. 40: 1089-1090. 128
- Pulz O. y Scheibenbogen K. Photobioreactors: design and performance with respect to light energy input. *Advances in Biochemical Engineering Biotechnology*. 1998. 59, 123.

R

- Ranalli A. Parámetro cantidad de agua empleada en la extracción continua de las aceitunas con centrifugación. Nota II. Incidencia en la calidad del aceite. *Industrie Alimentari*. 1988. XXVII, 735-745.
- Ranalli A. Variabilidad de los índices cromáticos y analíticos de los aceites de oliva en función de parámetros tecnológicos. *Industrie Alimentari*. 1992 b. XXXI, 513-526.
- Ranalli A. y Angerosa, F. Integral centrifuges for olive oil extraction. The qualitative characteristics of products. *J. Am. Oil Chem. Soc*. 1996. 73(4), 417-422.
- Ranalli A. y De Matia G. Characterization of olive oil produced with a new enzyme processing aid. *J. Am. Oil Chem. Soc*. 1997. 74(9), 1105-1112.
- Ranalli A., Malfatti A., Lucera L., Contento S. y Sortiriuo E.: "Effects of the processing techniques on the natural colorings and the other functional constituents in virgin olive oil". *Food Research International*. 2005.38, 873-878.

- Ranalli A.; Martinelli N. Tecniche industriali biologiche e non convenzionali per il recupero dell'olio dalla pasta di olive. *Industrie Alimentari*. 1994. XXXIII, 1073-1083.
- Ranalli, A. Carotenoids in virgin olive oils: Effect of Technology. *Ital. J. Food Sci.* 1992 a. 1, 53-57 - Reglamento CE 61/2011
- Reglamento CEE 2568/91
- Renaud, S; de Lorgeril, M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *The Lancet*. 1992. 339: 1523-1526.
- Ridgway J. Olive Oil: its attributes and diversity. *Nutr. Food Sci.* 1993. 3, 30-32.
- Roca M. y Mínguez M.I. Changes in chloroplast pigments of olive varieties during fruit ripening. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2001. 49, 832-839.
- Ruíz D., Egea J., Tomás Barberán F.A. y Gil M.I.: "Carotenoids from new apricot (*Prunus armeniaca*, L) varieties and their relationship with flesh and skin color". *Journal of Agriculture and Food Chemistr.* 2005. 53, 6368-6374.

S

- Salas J.; Pastor M.; Castro J.; Vega V. Influencia del riego sobre la composición y características organolépticas del aceite de oliva. *Grasas y Aceites* .1997.48 (2), 74-82.
- Sánchez J.F., Fernández-Sevilla J.M., Acién F.G., Cerón M.C, Pérez-Parra J., Molina-Grima E., Biomass and lutein productivity of *Scenedesmus almeriensis*: influence of irradiance, dilution rate and temperatura. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2008. 79:719–729.
- Sayago, A.; Marín, M.I.; Aparicio, R.; Morales, M.T. Vitamina E y aceites vegetales. *Grasas y Aceites*. 2007. 58 (1), 74-86.
- Schünemann H.J., Mc Cann S., Grant B.J.B., Trevisan M., Muti P. y Freudenheim J.L. Lung function in relation to intake of carotenoids and other antioxidant vitamins in a population-based study. *American Journal of Epidemiology*. 2002. 155(5): 463-471.

- Sharma S; Rakoczy S, Dahlheimer K; Brown-Borg H. The hippocampus of Ames dwarf mice exhibits enhanced antioxidative defenses following kainic acid-induced oxidative stress. *Experimental Gerontology*. 2010. 45(12): 936-49.
- Shi X.M., Jiang Y. y Chen F. High-yield production of lutein by the green microalga *Chlorella protothecoides* in heterotrophic fed-batch culture. *Biotech. Prog.* 2002. 18(4): 723-727.
- Silva S. Luteína, alimento para tu vista. *Food Ingredients*. 2004. 80-81.
- Simic M.G. Carotenoid free radicals. *Methods Enzymol.*1992. 213: 444-453.
- Standcher B.; Zonta F.; Bogoni P. High performance liquid chromatographic analysis of olive oil carotenoids. *J. Micronutr. Anal.* 1987. 3, 97.
- Suarez M. Obtención de extractos fenólicos a partir de subproductos de la oliva y aplicación en el desarrollo de un aceite de oliva enriquecido. Tesis Doctoral. Universitat de Lleida. 2010.
- Sunir J. Gang. Degeneración Macular asociada a la edad (DMAE) MSD Manuals. 2017.

T

- Tous J.; Romero A.; Guerrero L.; Díaz I.; Hermoso JF. Características químicosensoriales de los aceites de oliva “Arbequina” obtenidos en distintas zonas de España. *Grasas y Aceites*. 1997. 48 (6), 415-424.
- Tovar M.J.; Montilva M.J.; Romero M.P. Changes in the phenolic composition of virgin olive oil from Young trees (*Olea europaea* L. cv. Arbequina) grow under linear irrigation strategies. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2001. 49, 5502-5508.
 - Tovar M.J.; Romero M.P.; Alegre S.; Girona J.; Montilva M.J. Composition and organoleptic characteristics of oil from Arbequina olive (*Oleo europea* L.) trees under déficit irrigation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2002. 82, 1755-1763.

- Tripoli, E; Giammarco, M; Tabacchi, G, Di Majo, Giammarco, S; La Guardia, M. The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Nutr Res Rev.* 2005, 18: 98-112.

U

- Uceda M. y Hermoso M. La calidad del aceite de oliva en el cultivo del olivo 3 ed. (Barranco, D.; Fernández-Escobar, R.; Rallo, L., ed). Mundi-Prensa, Consejería de Agricultura y Pesca (Junta de Andalucía), Madrid. 1999. 571-596.
- Uceda M.; Hermoso M.; Aguilera M.P. La calidad del aceite de oliva. En: El Cultivo del Olivo. Barranco, D.; Fernández-Escobar, R.; Rallo, R. (Eds). Mundi Prensa Junta de Andalucía. 2004.
- Uceda M.; Hermoso M.; Aguilera M.P. La calidad del aceite de oliva. En: El Cultivo del Olivo. Barranco, D.; Fernández-Escobar, R.; Rallo, R. (Eds). Mundi Prensa Junta de Andalucía. 2004.

V

- Valle-Prieto, M.B de; Delgado-Adámez. J; Gil, M. V; Martillanes, S; Franco, M. N; Martín-Vertedor, D. Virgin Olive Oil Enriched with Lutein-Zeaxanthin from *Spinacia oleracea*. *Journal of Oleo Science.* 2017. 66(5), 463-468.
- Vázquez A. A study of the polar compounds in olive oil by gas chromatography. *Grasas y Aceites.* 1980. 31, 309.
- Vázquez-Roncero A. y Maestro R. Los colorantes antociánicos de la aceituna madura. I. Estudio cualitativo. *Grasas y Aceites.* 1970. 21(4), 208-214.
- <http://www.vidaysalud.com/salud-de-a-a-z/enfermedades-y-condiciones/piel-danada-por-el-sol/>
- Visioli F.; Galli C. Olive oil phenols and their potential effects on human health. *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* 1998. 46, 4292-4296.
- Vitaglione, P; Savarese, M; Paduano, A, Scalfi, L, Fogliano, V; Sacchi, R. Virgin Olive Oil: A matter of bitterness. *Crit Rev Food Sci.* 2013, 55: 1808-1818.

Y

- Yanagi M., Watanabe Y. y Saiki H. CO₂ fixation by *Chlorella* sp. HA-1 and its utilization. *Energy Conversion Management*. 1995. 36: 713-716.

Z

- Zunin P.; Evangelisti F.; Pagano M.A.; Tiscornia E.; Petacch R. Phenolic compounds in oil obtained from *Olea europea* and anti-*Dacus* treatments *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. 1995. 72, 55-59.