



UNIVERSIDAD DE JAÉN
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE LINARES

TRABAJO FIN DE GRADO

ESTUDIO FISICOQUÍMICO DE ESTABILIDAD DE ACEITES ENRIQUECIDOS EN NUEVOS ANTIOXIDANTES

Alumno: Julio Alberto Martínez Díaz

Tutor: Ruperto Bermejo Román

Depto.: Departamento de Química Física y
Analítica

Octubre, 2015

Escuela Politécnica Superior de Linares

Grado en Ingeniería Química Industrial

TRABAJO FIN DE GRADO

**ESTUDIO FISICOQUÍMICO DE
ESTABILIDAD DE ACEITES
ENRIQUECIDOS EN NUEVOS
ANTIOXIDANTES**

Alumno: Julio Alberto Martínez Díaz

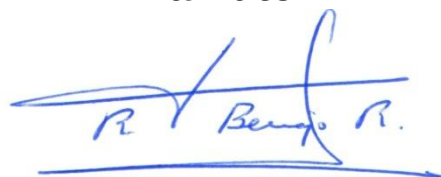
Tutor: Ruperto Bermejo Román

Depto.: Departamento de Química Física y Analítica

Firma Alumno:



Firma Tutor:



Octubre, 2015

ÍNDICE:

Índice de Figuras:	4
Índice de Gráficas:.....	4
Índice de Tablas:.....	5
1. RESUMEN	6
2. INTRODUCCIÓN	8
2.1. Estudios basados en la medida de color	8
2.1.1. Condiciones que afectan al color	9
2.1.2. Expresión numérica del color.....	10
2.1.3. Medida de la diferencia de color	11
2.2. Microalgas como fuente de productos de interés	13
2.3. Luteína y β -caroteno como agentes antioxidantes y preventivos	14
2.3.1. Degeneración macular asociada a la edad (DMAE)	14
2.3.2. Enfermedades cutáneas	16
2.3.3. Luteína y β -caroteno: su papel preventivo	18
2.3.4. Otras aplicaciones de la luteína y β -caroteno	20
2.3.5. Fuentes de luteína y β -caroteno. Las microalgas como alternativa	20
2.3.6. El aceite de oliva como vehículo para incorporar luteína y β -caroteno	22
2.4. El aceite de Oliva Virgen extra	24
2.4.1. Antioxidantes presentes en el aceite de oliva virgen	25
2.4.1.1. Compuestos Fenólicos.....	26
2.4.1.2. Tocoferoles	27
2.4.1.3. Pigmentos	28
2.4.2. Importancia de la ingesta de antioxidantes en la dieta	29
2.4.3. El color del aceite de oliva	31
2.5. Factores que influyen en el color y afectan a la presencia de antioxidantes en el aceite de oliva	32
2.5.1. Factores agronómicos	33
2.5.1.1. Factores agronómicos intrínsecos.....	34
2.5.1.2. Factores agronómicos extrínsecos	35
2.5.2. Factores tecnológicos	40
2.5.2.1. Proceso de elaboración	40
2.5.2.1. Preparación de la pasta	41

2.5.2.2. Extracción.....	42
2.5.2.3. Conservación	43
3. MATERIALES Y MÉTODOS	45
3.1. Materiales.....	45
3.1.1. Microalga <i>Scenedesmus almeriensis</i>	45
3.1.2. Aceites	46
3.2. Métodos.....	47
3.2.1. Extracción y purificación de antioxidantes	47
3.2.2. Caracterización colorimétrica de antioxidantes y aceites.....	48
3.2.3. Medidas de estabilidad de los aceites	49
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	50
4.1. Extracción y purificación de antioxidantes.....	50
4.2. Obtención y caracterización de aceites enriquecidos en carotenoides	51
4.3. Estudios de estabilidad de los aceites enriquecidos en carotenoides.....	55
4.3.1. Estabilidad en función de la radiación incidente: foto-estabilidad	56
4.3.1.1 Foto-estabilidad en función de la variedad de fruto de los AOVEs	56
4.3.1.2. Foto-estabilidad en función del índice de maduración de los AOVEs.....	66
4.3.1.3. Foto-estabilidad de Aceites de girasol y de maíz:	74
4.3.1.4. Comparativa global del estudio de foto-estabilidad:	82
4.3.2. Estabilidad en función de la temperatura: termo-estabilidad ..	86
4.3.2.1. Termo-estabilidad de AOVEs en función del fruto.....	87
4.3.2.2. Termo-estabilidad de AOVEs en función de la madurez de fruto	95
4.3.2.3. Termo-estabilidad en aceites de girasol y maíz.....	99
4.3.2.4. Comparativa global del estudio de termo-estabilidad:	104
5. CONCLUSIONES	107
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	108

Índice de Figuras:

Número	Nombre	Página
<u>1</u>	Espectro electromagnético	5
<u>2</u>	Espacio de color CIELAB con coordenadas a^* y b^* , con L^* constante.	11
<u>3</u>	Espacio de color CIELAB con las coordenadas L^* , a^* y b^* .	11
<u>4</u>	Diferencias de color en el espacio $L^*a^*b^*$	12
<u>5</u>	Términos para describir diferencias de color en claridad y saturación.	12
<u>6</u>	Cambios que provoca la degeneración macular senil (DMAE) ...	13
<u>7</u>	Estructura química de la luteína.	17
<u>8</u>	Estructura del β -caroteno.	18
<u>9</u>	Flor de marigold o caléndula (<i>Tagetes erecta</i>).	20
<u>10</u>	Imágenes de <i>S. almeriensis</i> tomadas mediante microscopio ...	45
<u>11</u>	Imagen de la biomasa liofilizada de <i>Scenedesmus almeriensis</i> .	45
<u>12</u>	Extracto de antioxidantes (132 mg/ml) en aceite de oliva virgen extra.	47
<u>13</u>	Muestras de aceite (patrón y con antioxidantes) para el estudio ...	48
<u>14</u>	Muestras de aceites sometidas a iluminación en cabina de control ...	49
<u>15</u>	Imagen de la biomasa de <i>Scenedesmus almeriensis</i> y del extracto ...	50
<u>16</u>	Colores iniciales de los 22 aceites de foto-estabilidad.	84
<u>17</u>	Color final de los aceites de oliva por variedad de fruto.	84
<u>18</u>	Color final de aceites de oliva por madurez de fruto y aceite de ...	84
<u>19</u>	Color final de aceites de girasol (Hacendado y Koipesol) y maíz.	85
<u>20</u>	Muestras introducidas en el termostato de precisión.	85

Índice de Gráficas:

Número	Nombre	Página
<u>1</u>	Comparativa de deg. Arbequina patrón frente Arbequina enriquecido	58
<u>2</u>	Comparativa de degradación Frantoio patrón frente Frantoio enriquecido	60
<u>3</u>	Comparativa de degradación Picual patrón frente Picual enriquecido	63
<u>4</u>	Comparativa de degradación Royal patrón frente Royal enriquecido	65
<u>5</u>	Comparativa de las curvas de degradación de los AOVEs según su variedad	66
<u>6</u>	Comparativa de degradación de AOVEs Picual octubre	68
<u>7</u>	Comparativa de degradación AOVEs Picual noviembre	70
<u>8</u>	Comparativa de degradación AOVEs Picual diciembre	73
<u>9</u>	Comparativa de degradación AOVEs según la madurez del fruto	73
<u>10</u>	Comparativa de los aceites de girasol y maíz (patrón frente a enriquecido).	82
<u>11</u>	Comparativa global de las curvas de degradación de los aceites patrón	83
<u>12</u>	Comparativa global de las curvas de deg. de los aceites enriquecidos	84
<u>13</u>	Degradación AOVE var. Arbequina (patrón frente enriquecido) (120 °C)	88
<u>14</u>	Degradación AOVE variedad Frantoio (patrón frente enriquecido) (120 °C)	90
<u>15</u>	Degradación AOVE variedad Picual (patrón frente enriquecido) (120 °C)	92
<u>16</u>	Degradación Royal patrón frente Royal enriquecido (120 °C)	93
<u>17</u>	Comparativa de degradación de AOVEs según su variedad (120 °C)	94
<u>18</u>	Comparativa de degradación de AOVEs Picual madurez del fruto (120 °C)	98
<u>19</u>	Comparativa de degradación de aceites de girasol (120 °C) durante 84 horas	102
<u>20</u>	Comparativa degradación Aceite de maíz (120 °C) durante 144 horas	104
<u>21</u>	Comparativa de los aceites patrón del estudio de termo-estabilidad	105
<u>22</u>	Comparativa de los aceites enriquecidos del estudio de termo-estabilidad	106

Índice de Tablas:

Número	Nombre	Página
1	Composición de la microalga <i>Scenedesmus almeriensis</i>	22
2	Parámetros colorimétricos de aceites utilizados sin enriquecimiento	53
3	Parámetros color de aceites enriquecidos (2,8 mg carotenoides / ml de aceite)	54
4	Diferencias de color por parámetros color de aceites enriquecidos frente patrón.	54
5	Degradación de color del AOVE variedad Arbequina (Patrón) en 65 días	56
6	Degradación de color del AOVE variedad Arbequina enriquecido en 65 días	57
7	Degradación de color del AOVE variedad Frantoio (Patrón) en 65 días	58
8	Degradación de color del AOVE variedad Frantoio enriquecido en 65 días	59
9	Degradación de color del AOVE variedad Picual (Patrón) en 65 días	61
10	Degradación de color del AOVE variedad Picual enriquecido en 65 días	62
11	Degradación de color del AOVE variedad Royal (Patrón) en 65 días	63
12	Degradación de color del AOVE variedad Royal enriquecido en 65 días	64
13	Degradación de color del AOVE Picual Octubre (Patrón) en 65 días	66
14	Degradación de color del AOVE Picual Octubre enriquecido en 65 días	67
15	Degradación de color del AOVE Picual Noviembre (Patrón) en 65 días	68
16	Degradación de color del AOVE Picual Noviembre enriquecido en 65 días	69
17	Degradación de color del AOVE Picual Diciembre (Patrón) en 65 días	71
18	Degradación de color del AOVE Picual Diciembre enriquecido en 65 días	72
19	Parámetros colorimétricos de aceites de semillas sin enriquecimiento	74
20	Parámetros colorimétricos de aceites de semillas enriquecidos en antioxidantes	75
21	Degradación de color del aceite de girasol Coosol en 65 días	75
22	Degradación de color del aceite de girasol Coosol enriquecido en 65 días	76
23	Degradación de color del aceite de girasol Hacendado en 65 días	77
24	Degradación de color del aceite de girasol Hacendado enriquecido en 65 días	77
25	Degradación de color del aceite de girasol Koipesol en 65 días	78
26	Degradación de color del aceite de girasol Koipesol enriquecido en 65 días	79
27	Degradación de color del aceite de maíz Koipe Asua (Patrón) durante 65 días	80
28	Degradación de color del aceite de maíz Koipe Asua enriquecido en 65 días	81
29	Degradación del AOVE variedad Arbequina (120 °C) durante 144 horas	87
30	Degr. del AOVE variedad Arbequina enriquecido (120 °C) durante 144 horas	87
31	Degradación del AOVE variedad Frantoio (120 °C) durante 144 horas	88
32	Degr. del AOVE variedad Frantoio enriquecido (120 °C) durante 144 horas	89
33	Degradación del AOVE variedad Picual (120 °C) durante 144 horas	90
34	Degradación del AOVE variedad Picual enriquecido (120 °C) durante 144 horas	91
35	Degradación del AOVE variedad Royal (120 °C) durante 144 horas	92
36	Degradación del AOVE variedad Royal enriquecido (120 °C) durante 144 horas	93
37	Degradación del AOVE Picual de octubre (120 °C) durante 84 horas	95
38	Degradación del AOVE Picual de octubre enriquecido (120 °C) durante 84 horas	96
39	Degradación del AOVE Picual de noviembre (120 °C) durante 84 horas	96
40	Degr. del AOVE Picual de noviembre enriquecido (120 °C) durante 84 horas	96
41	Degradación del AOVE Picual de diciembre (120 °C) durante 84 horas	97
42	Degr. del AOVE Picual de diciembre enriquecido (120 °C) durante 84 horas	97
43	Degradación del aceite de girasol Coosol (120 °C) durante 84 horas	99
44	Degradación del aceite de girasol Coosol enriquecido (120 °C) durante 84 horas	99
45	Degradación del aceite de girasol Hacendado (120 °C) durante 84 horas	100
46	Degr. del aceite de girasol Hacendado enriquecido (120 °C) durante 84 horas	100
47	Degradación del aceite de girasol Koipesol (120 °C) durante 84 horas	101
48	Degr. del aceite de girasol Koipesol enriquecido (120 °C) durante 84 horas	101
49	Degradación del aceite de maíz (120 °C) durante 144 horas	102
50	Degradación del aceite maíz enriquecido (120 °C) durante 144 horas	103

1. RESUMEN

Existen en la actualidad una serie de enfermedades oftalmológicas y dermatológicas asociadas al déficit de antioxidantes en la mácula ocular y en la piel de los seres humanos. Todavía no hay fármacos que corrijan estas enfermedades, por lo que la única estrategia viable es la prevención de las mismas. Una de las vías de prevención con mejores perspectivas, es la ingesta de alimentos ricos en antioxidantes en nuestra dieta diaria.

Así, existe un interés creciente en el desarrollo de alimentos funcionales (alimentos capaces de proporcionar efectos beneficiosos para la salud, adicionalmente a su valor nutritivo o energético). En este contexto, con este trabajo se pretende la funcionalización de diferentes tipos de aceite (aceite de oliva virgen extra, aceite de girasol y de maíz) mediante la adición de cantidades controladas de un extracto rico en antioxidantes procedente de microalgas marinas.

Se ha desarrollado una metodología para obtener este extracto rico en antioxidantes procedente de una estirpe de microalga (*Scenedesmus almeriensis*) consistente en la purificación mediante un sistema de dos fases. La composición en % en peso del extracto es de un 13,3% de β -caroteno, un 0,25% de luteína y un 1% de otros carotenoides.

Además en este trabajo se ha realizado un estudio fisicoquímico de los diferentes aceites enriquecidos con el extracto de antioxidantes. Se ha analizado la influencia de la exposición de las muestras a radiación ultravioleta (foto-estabilidad) y a la temperatura (termo-estabilidad).

Así, se ha utilizado un extracto de antioxidantes de concentración igual a 132 mg/ml, del que se han añadido 303 μ l de extracto a once muestras de aceites para el estudio de fotoestabilidad (cubetas con 14 ml de aceite) y 368 μ l de extracto para el estudio de termoestabilidad (tubos con 17 ml de aceite), consiguiendo de esta forma una concentración en ambos estudios de 2,8 mg carotenoides/ ml de aceite. Con esta concentración obtenemos aceites enriquecidos con 0,048 mg de luteína/ml de aceite.

Si sumamos el consumo anual per cápita de aceite de oliva (9,6 litros/año) junto con los de aceite de girasol (3,3 litros/año) ([olimerca](#)):

$$\left(\frac{9,6 \text{ l}}{\text{año}} + \frac{3,3 \text{ l}}{\text{año}}\right) \times \frac{1000 \text{ ml}}{\text{l}} \times \frac{1 \text{ año}}{365 \text{ días}} \times \frac{0,048 \text{ mg luteína}}{\text{ml aceite}} \approx 1,7 \frac{\text{mg luteína}}{\text{día}} \quad (1)$$

Es decir, con la ingesta diaria calculada, de los aceites enriquecidos en antioxidantes, incorporamos a nuestro organismo 1,7 mg, que es una cantidad adecuada, según estudios médicos realizados para la prevención de la degeneración macular senil.

También se ha estudiado la estabilidad de los aceites de oliva virgen extra enriquecidos en función del índice de maduración del fruto y de la variedad del mismo (Arbequina, Frantoio, Picual y Royal). En lo que se refiere a estabilidad, en todos los casos ensayados, los aceites enriquecidos en antioxidantes muestran mayor estabilidad que los aceites sin enriquecer, lo que muestra el efecto positivo del enriquecimiento en antioxidantes. Respecto del análisis químico y en términos generales, el enriquecimiento en antioxidantes no produce variaciones significativas frente a los aceites control, lo que es un dato muy positivo, si se tiene como perspectiva la posible aplicación industrial de este proceso de enriquecimiento.

Los resultados obtenidos muestran que enriqueciendo los aceites con concentraciones de 2,8 mg carotenoides/ml, se obtienen aceites con propiedades fisicoquímicas, colorimétricas y de estabilidad muy aceptables. Según un estudio europeo la ingesta de luteína diaria de un grupo de 80 españoles mostró una mediana de 3,25 mg/día (rango: 1,75 mg/día –4,34 mg/día) ([O'Neill et al., 2001](#)).

Si sumamos la luteína que aportaría el aceite a la dieta con los resultados del estudio, nos daría un rango de consumo entre 3,45 mg/día y 6,04 mg/día, consumo muy similar a la ingesta diaria de luteína recomendada para la prevención de este tipo de enfermedades (6 mg/día) ([Silva, 2004](#)).

De esta forma, se pretende dotar al aceite de oliva de un valor añadido superior al que ya tiene de por sí y ofrecer una alternativa diferente a las actuales, en la lucha contra determinadas enfermedades degenerativas humanas.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. Estudios basados en la medida de color

El color es una percepción que se genera en el cerebro al interpretar las señales nerviosas que le envían los fotorreceptores de la retina del ojo, que a su vez interpretan y distinguen las distintas longitudes de onda que son captadas de la parte visible del espectro electromagnético. Se puede decir que el color no existe por sí mismo, es una percepción relativa.

El fenómeno del color puede ser dividido en dos partes, la primera consiste en el fenómeno puramente físico y requiere tres elementos: una fuente de luz, un objeto y un detector. La interacción de la luz con el objeto puede dar lugar a fenómenos físicos como la refracción, la transmisión, la dispersión, etc. En la segunda ocurren una serie de procesos complicados y no del todo conocidos donde el receptor (el ojo) transmite información al cerebro que lo interpretará como color ([Delgado-Vargas y Paredes-López, 2003](#)).

El color depende de la luz y consecuentemente de la fuente de ésta. 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](#)). Los colores percibidos por el ojo humano están asociados con la radiación de luz en el siguiente rango de valores: azul-violeta ($380 < \lambda < 480 \text{nm}$), verde ($480 < \lambda < 560 \text{nm}$), amarillo ($560 < \lambda < 590 \text{nm}$), naranja ($590 < \lambda < 630 \text{nm}$) y rojo ($630 < \lambda < 750 \text{nm}$).

En nuestra vida diaria, estamos rodeados por un número infinito de colores. No damos importancia al color pero éste tiene una gran presencia en nuestras vidas: influye en nuestros gustos en alimentos y otros tipos de compras. Aunque los colores nos afectan mucho y su importancia es creciente, nuestro conocimiento del color y de su control es a menudo escaso, lo que conduce a una gran cantidad de problemas a la hora de decidir el color de un producto. Como el juicio se hace frecuentemente de acuerdo con la impresión o la experiencia personal, es imposible controlar el color de forma precisa utilizando estándares comunes y uniformes.

Incluso cuando tan sólo miramos a nuestro alrededor, una gran variedad de colores entra en nuestros ojos. Sin embargo, al contrario de lo que ocurre con la longitud o el peso, no existe una escala física para medir el color, lo que hace improbable que todo el mundo conteste del mismo modo cuando se le pregunta qué es un color determinado.

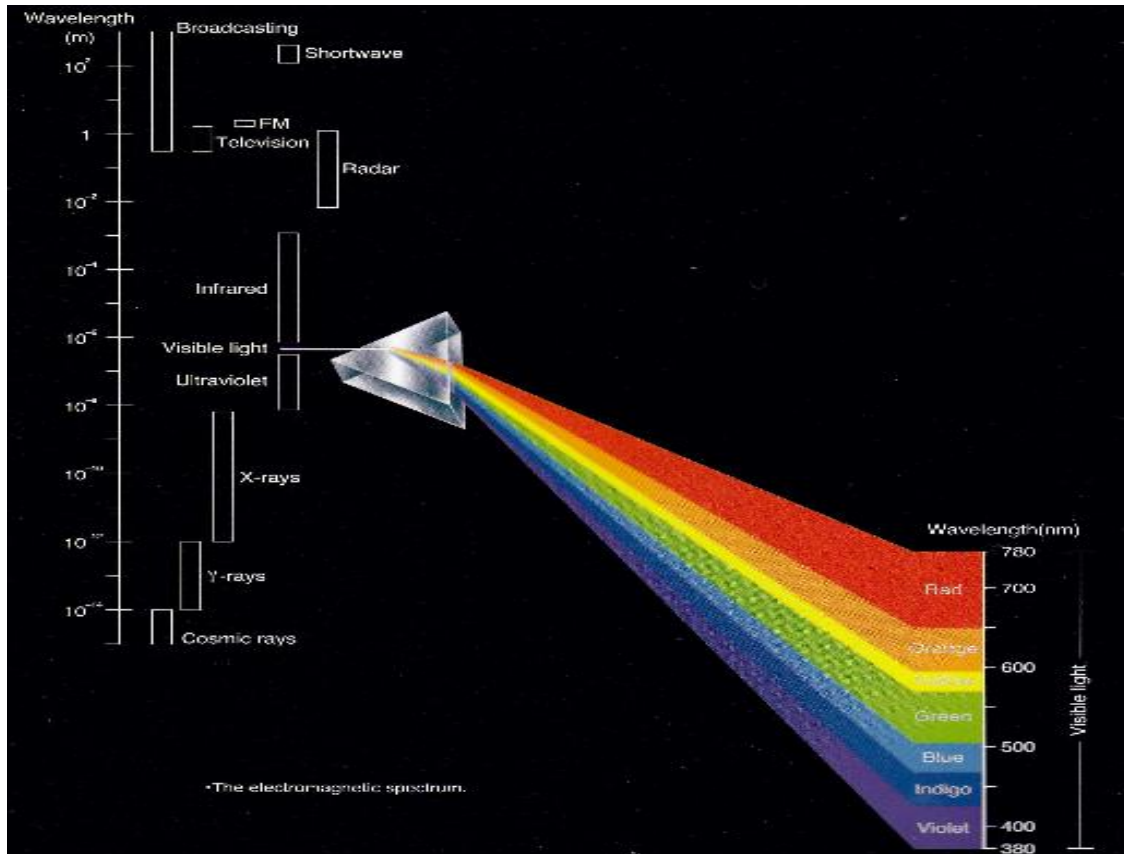


Figura 1 Espectro electromagnético.

2.1.1. Condiciones que afectan al color

Diferencias de fuente de luz

Cada tipo de iluminación hace que el mismo producto parezca diferente: la luz solar, la luz de un fluorescente, la luz de tungsteno, etc.

Diferencias de fondo

Si se coloca un producto delante de un fondo claro parecerá más apagado que cuando se sitúa delante de un fondo oscuro. A esto se le llama efecto de contraste y no es deseable para un juicio preciso del color.

Diferencias direccionales

Cuando se observa un objeto, la visión de éste desde un ángulo ligeramente diferente puede hacer que parezca más claro o más oscuro. Esto se debe a las características direccionales de la pintura del mismo. Algunos materiales de coloración, especialmente las pinturas metalizadas, tienen características altamente direccionales. El ángulo de visualización del objeto (y también el ángulo de iluminación) deberán ser constantes para una comunicación precisa del color.

Diferencias de observador

La sensibilidad de los ojos de cada persona es ligeramente distinta. Incluso en personas consideradas como con una visión "normal" de los colores, puede existir cierta polarización hacia el rojo o el azul. Asimismo, la vista de una persona cambia generalmente con la edad. Debido a estos factores, los colores pueden parecer distintos a los diferentes observadores.

Diferencias de tamaño

Los colores que cubren una zona grande tienden a parecer más claros y vivos que los colores que cubren una zona pequeña. A esto se le conoce como efecto de área. La selección de objetos para zonas grandes basándose en muestras de color pequeñas puede resultar en errores.

2.1.2. Expresión numérica del color

La organización internacional de la luz y el color, la Commission Internationale de l'Eclairage (Comisión Internacional de la Iluminación - CIE) desarrolló sistemas para expresar el color numéricamente. El sistema $L^*a^*b^*$, creado en 1976, proporciona diferencias de color más uniformes en relación con las diferencias visuales y es el utilizado en este trabajo para definir los colores de los aceites y sus diferencias.

Espacio de color $L^*a^*b^*$

El espacio de color $L^*a^*b^*$ (también llamado CIELAB) es actualmente uno de los espacios más populares para medir el color de los objetos y se utiliza ampliamente en casi todos los campos. Es uno de los espacios de color uniformes definidos por la CIE en 1976. En este espacio, L^* indica luminosidad y a^* y b^* son las coordenadas de cromaticidad. En la parte izquierda ([Figura 2](#)) se muestra el diagrama de cromaticidad de a^* , b^* . En este

diagrama, a^* y b^* indican direcciones de colores: $+a^*$ es la dirección del rojo, $-a^*$ es la dirección del verde, $+b^*$ es la dirección del amarillo y $-b^*$ es la dirección del azul.

El centro es acromático; a medida que los valores de a^* y b^* aumentan y el punto se separa del centro, la saturación del color se incrementa. La esfera derecha (Figura 3) es una representación del sólido de colores para el espacio $L^*a^*b^*$; mientras que en la parte izquierda (Figura 2), es una vista de este sólido de colores en sección horizontal en un valor constante de L^* . (Konica Minolta, 2007).

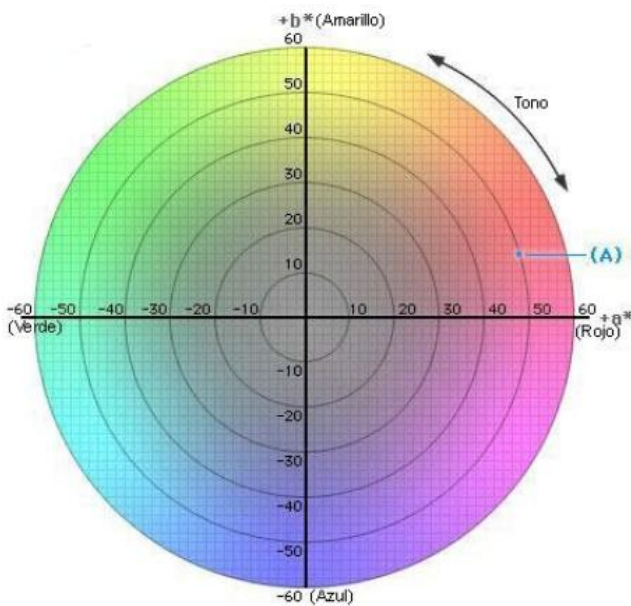


Figura 2 Espacio de color CIELAB con coordenadas a^* y b^* , con L^* constante.

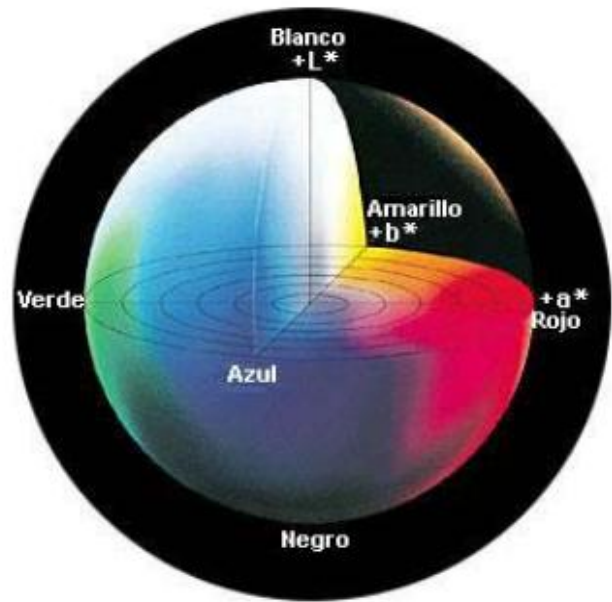


Figura 3 Espacio de color CIELAB con las coordenadas L^* , a^* y b^* .

2.1.3. Medida de la diferencia de color

Los matices diminutos de color constituyen el mayor problema en cualquier lugar donde se utilice el color. Sin embargo, con un colorímetro, incluso esas diminutas diferencias de color pueden expresarse numéricamente y comprenderse fácilmente (Figura 4).

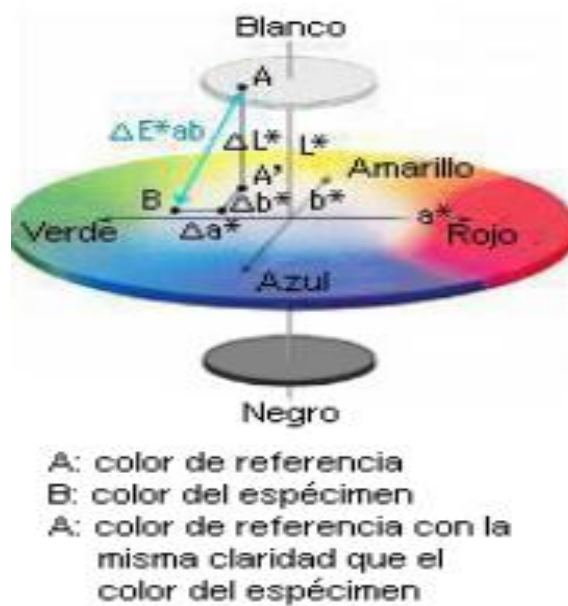


Figura 4 Diferencias de color en el espacio L*a*b*

En el espacio de color L*a*b*, las diferencias de color pueden ser expresadas con un único valor ΔE^*_{ab} , que indica el valor de la diferencia, pero no el camino en que se produce. ΔE^*_{ab} se define con la siguiente ecuación: ([Konica Minolta, 2007](#))

$$\Delta E^*_{ab} = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (2)$$

A pesar de no ser tan exactas como los números, se pueden utilizar palabras para expresar diferencias de color como muestra la [Figura 5 \(Konica Minolta, 2007\)](#).

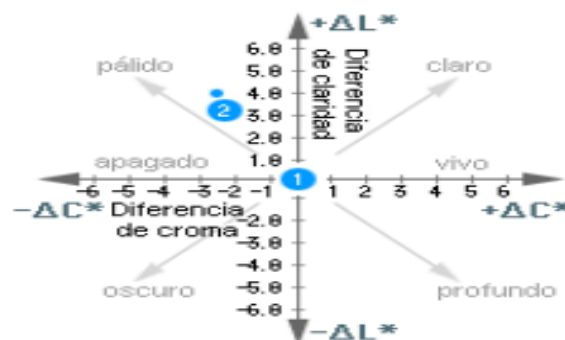


Figura 5 Términos para describir diferencias de color en claridad y saturación.

2.2. Microalgas como fuente de productos de interés

Las microalgas y las cianobacterias son microorganismos unicelulares fotoautótrofos, capaces de obtener energía de la radiación luminosa y de sintetizar sus biomoléculas a partir de dióxido de carbono y agua. Estos organismos han colonizado casi todos los hábitats conocidos, aunque la mayor parte se han adaptado mejor al ambiente acuático, tanto marino como dulceacuícola. Así, los mares y los océanos contienen grandes cantidades de microalgas, estimándose que el 90 % de la fotosíntesis total del planeta es realizada por estos microorganismos acuáticos, siendo claves en la dinámica del dióxido de carbono en la Tierra y constituyendo la base de las cadenas tróficas ([Muller y Tobin, 1986](#)). En la actualidad representan un recurso poco explorado, ya que de las más de 30.000 especies descritas solo unas 50 especies han sido estudiadas con detalle desde el punto de vista fisiológico y bioquímico, y menos de 10 están siendo explotadas comercialmente.

Las microalgas pueden cultivarse en reactores a gran escala bajo condiciones controladas, y su elevada velocidad de crecimiento permite obtener grandes productividades ([Pulz y Scheibenbogen, 1998](#)). El carbono fijado por las microalgas es incorporado a proteínas, carbohidratos y lípidos, de forma que a partir de la biomasa microalgal se pueden obtener una gran diversidad de productos químicos ([Yanagi et al., 1995](#)). Debido a estas razones, los procesos basados en el uso de microalgas están recibiendo un interés creciente y hoy en día se siguen investigando. Uno de los aspectos más interesantes en el campo de la biotecnología de microalgas es la explotación de la capacidad de las microalgas para generar biomasa constituida por biomoléculas complejas como vitaminas, enzimas y sustancias bioactivas de elevado valor comercial ([Shi et al., 2002](#)). Además, muchas de las moléculas que generan son específicas y no pueden ser sintetizadas por otros organismos o plantas superiores.

Derivado de esta composición tan rica de las microalgas, sus principales aplicaciones se centran en la alimentación humana, nutrición animal, y la obtención de compuestos de interés como carotenoides, ácidos grasos, etc.

Respecto a la producción de compuestos de alto valor, las microalgas se caracterizan por una composición bioquímica compleja, rica en sustancias de protección frente a factores ambientales adversos, lo que las hace especialmente interesantes para la producción de este tipo de compuestos.

Hoy en día, existe un amplio abanico de productos de interés que se obtienen comercialmente de microalgas como: ficobiliproteínas, carotenoides, ácidos grasos poliinsaturados y polisacáridos; empleando para ello especies como *Spirulina*, *Dunaliella*, *Porphyridium*, *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Muriellopsis* o *Haematococcus* ([De la Noue y De Pauw, 1998](#)).

En este trabajo se ha utilizado biomasa de la microalga *Scenedesmus almeriensis*, para obtener un extracto rico en carotenoides, con el que enriquecer los aceites ensayados.

2.3. Luteína y β -caroteno como agentes antioxidantes y preventivos

2.3.1. Degeneración macular asociada a la edad (DMAE)

Es muy importante mantener la integridad del área macular retiniana. La concentración de fotorreceptores en esta área requiere un aporte vascular exquisito para mantener una función correcta. Ésta circunstancia la hace más susceptible a alteraciones patológicas. A veces éstas pueden predecirse y así evitar pérdidas mayores de visión central.

La DMAE es la primera causa de pérdida de visión, que puede culminar en ceguera en personas de edad superior a 50 años en occidente, siendo una enfermedad degenerativa que afecta a la mácula lútea responsable de la visión central directa. La [Figura 6](#) muestra el deterioro progresivo de la mácula lútea en personas afectadas por esta enfermedad y los efectos sobre la visión que éste produce.



Figura 6 Cambios que provoca la degeneración macular senil (DMAE) en la retina (parte superior de la imagen) y defectos que se producen en la visión humana (parte inferior de la imagen).

Existen dos formas diferenciadas de DMAE:

La forma seca o atrófica: es la más común

Consiste en una desorganización granular del epitelio pigmentario con hiperplasia de éste en el área macular y formación de drusas. Se degeneran las capas más externas de la retina. La pérdida de visión es variable según el grado. La visión de colores se ve afectada, así como la adaptación a la luz. Es bilateral aunque no simétrica. Rara vez, sin embargo la pérdida es realmente severa.

En la DMAE tipo seca, el paciente suele referir pérdida de agudeza visual y metamorfopsia (desdibujamiento de las líneas rectas). Se pueden observar alteraciones del epitelio pigmentario de la retina en el área macular con zonas de hipo e hiperpigmentación, siendo los patrones de presentación impredecibles.

La forma húmeda

Consiste en una degeneración exudativa que suele venir precedida Existen dos formas diferenciadas de DMAE: de drusas o infiltrados coroideos. Puede presentarse como: neovascularización coroidea (red verdosa-grisácea), exudados duros, degeneración hemorrágica y degeneración disciforme. La neovascularización coroidea ocurre como resultado de la ruptura de la barrera epitelio pigmentario/membrana de Bruch, que conduce a la formación de neovasos procedentes de la coriocapilaris, que crecen como respuesta a un estado hipóxico. Al romperse estos vasos liberan líquido y crean un desprendimiento del epitelio pigmentario o la retina sensorial. También se produce una hemorragia que una vez terminado el proceso de cicatrización conduce a la lesión disciforme retiniana.

En la DMAE tipo húmeda el paciente manifiesta disminución de la visión central con su escotoma correspondiente y metamorfopsia. No tiene un patrón típico de aparición pero se puede percibir desde edema macular hasta una hemorragia en dicha zona. El manejo clínico consiste en evitar la exudación si se puede aplicando láser sobre la membrana neovascular antes de que ésta se rompa.

Pacientes en los que se observan drusas en la mácula son más propensos a la degeneración macular relacionada con la edad, independientemente de que sea tipo seca o húmeda. ([csic](#)).

2.3.2. Enfermedades cutáneas

La exposición excesiva al sol puede dañar considerablemente la piel humana. El calor del sol seca las áreas externas de piel desprotegidas y reduce el suministro de aceites lubricantes naturales de la misma. Además, la radiación ultravioleta (UV) del sol puede producir quemaduras y cambios a largo plazo en la estructura de la piel.

Los tipos más comunes de daño solar a la piel son:

- Piel seca: la piel expuesta al sol puede perder gradualmente la humedad y los aceites esenciales, y adquirir una apariencia seca, escamosa y con arrugas prematuras, incluso en personas jóvenes.
- Quemadura de sol: la quemadura de sol es el nombre común que se le da a las lesiones en la piel que aparecen inmediatamente después de la exposición de la piel a la radiación UV. Las quemaduras de sol leves solo causan enrojecimiento de la piel, que puede ser dolorosa, pero los casos más severos pueden producir pequeños bultos llenos de líquido (vesículas) o ampollas más grandes.
- Queratosis actínica: es un pequeño bulto parecido al papel de lija o un parche escamoso de piel dañada por el sol con tono rosado, rojo, amarillo o parduzco. A diferencia de las marcas del bronceado o quemaduras, por lo general, una queratosis actínica no desaparece a menos que se la congele, se la trate químicamente o la extraiga un médico. Una queratosis actínica se desarrolla en áreas de la piel que han estado expuestas a radiación ultravioleta en repetidas ocasiones o por períodos prolongados, y es una señal de advertencia de un alto riesgo de desarrollar cáncer de piel. Aproximadamente entre el 10 y el 15 % de las queratosis actínicas finalmente se convierten en cánceres de células escamosas de la piel.
- Cambios a largo plazo en el colágeno de la piel (proteína estructural): estos cambios incluyen fotoenvejecimiento (envejecimiento prematuro de la piel causado por la exposición al sol) y púrpura actínica

(sangrado de los vasos sanguíneos frágiles debajo de la superficie de la piel). En el caso del fotoenvejecimiento la piel desarrolla arrugas y líneas finas debido a los cambios en el colágeno de la capa profunda de la piel (dermis). En el caso de la púrpura actínica, la radiación ultravioleta daña el colágeno estructural que soporta las paredes de los diminutos vasos sanguíneos de la piel.

Los episodios repetidos de quemaduras de sol y exposición al sol sin protección durante toda una vida, pueden aumentar el riesgo de una persona de desarrollar un melanoma maligno u otras formas de cáncer de piel.

Las personas que tienen piel y ojos claros tienen un mayor riesgo de desarrollar daños relacionados con el sol o cánceres de la piel. Esto se debe a que su piel contiene menos cantidad de un pigmento oscuro llamado melanina, que ayuda a proteger la piel de los efectos de la radiación UV. ([vidaysalud](#))

El cáncer de piel es el tipo más común de cáncer ([cáncer](#)). Por lo general, se forma en la piel que se expuso a la luz solar, pero se puede presentar en cualquier parte del cuerpo.

Hay varios tipos diferentes de cáncer de piel. Los cánceres de células escamosas y de células basales de la piel a veces se llaman cánceres de piel no melanomatosos. El cáncer de piel no melanomatoso suele responder al tratamiento y se extiende a otras partes del cuerpo con poca frecuencia.

El melanoma es más agresivo que la mayoría de los otros tipos de cáncer de piel. Si no se diagnostica a tiempo, es probable que invada los tejidos cercanos y se disemine a otras partes del cuerpo. El número de casos de melanoma está aumentando cada año. Solo 2% de todos los cánceres de piel son melanomas, pero causa la mayoría de las muertes por cáncer de piel.

Los tipos menos frecuentes de cáncer de piel son el carcinoma de células de Merkel, el linfoma cutáneo y el sarcoma de Kaposi.

2.3.3. Luteína y β -caroteno: su papel preventivo

La luteína es un pigmento carotenoideo liposoluble del grupo de las xantofilas que presenta la fórmula $C_{40}H_{56}O_2$ (Figura 7). La luteína presenta dos grupos hidroxilo, aunque en las plantas superiores se encuentra generalmente en forma esterificada formando mono o diésteres. El sistema de dobles enlaces conjugados que contiene esta molécula le confiere su color y el carácter antioxidante. La luteína es un potente antioxidante que se encuentra presente en el cuerpo humano (Palozza y Krinsky, 1992). La luteína está muy relacionada con otros carotenoides como el β -caroteno, zeaxantina o astaxantina, por lo que comparten numerosas propiedades químicas, entre ellas la capacidad antioxidante. Las diferencias estructurales de los distintos carotenoides les otorgan un diferente potencial antioxidante en humanos (Simic, 1992).

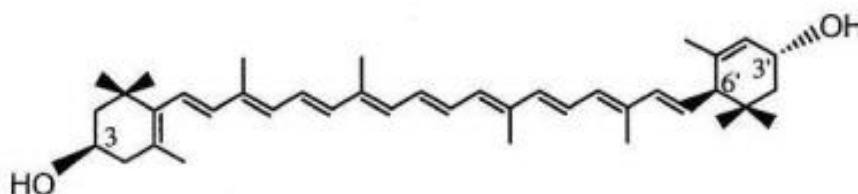


Figura 7 Estructura química de la luteína.

Según numerosos estudios epidemiológicos, un consumo apropiado de luteína en la dieta disminuye el riesgo de contraer enfermedades asociadas con la formación de radicales libres. Así, la luteína es capaz de proteger a las células, así como prevenir y finalizar las reacciones en cadena originadas por los radicales libres. La luteína es acumulada principalmente junto con la zeaxantina en una zona de la retina humana denominada mácula lútea. Esta zona es rica en ácidos grasos poliinsaturados que son atacados por los radicales libres y sufren un proceso de oxidación que se ve atenuado por la presencia de luteína. De este modo, la luteína funciona como un filtro de los rayos ultravioleta del sol y como antioxidante que atrapa radicales libres y especies de oxígeno reactivo (Silva, 2004).

La luteína es el único carotenoide detectado en mácula, en la retina y en el cristalino, y que a su vez constituye el pigmento macular. Tiene un papel protector de los fotorreceptores frente a la agresión oxidativa producida por la exposición a la luz azul y el intenso metabolismo celular. Todos los estudios hasta la fecha coinciden en que la luteína

reduce el riesgo de padecer DMAE, y que puede mejorar el funcionalismo visual en estos pacientes.

La luteína es, junto con la zeaxantina, uno de los carotenoides más importantes para los humanos, y ha sido detectada en el plasma humano y en la leche materna y más significativamente en la mácula de la retina humana donde juegan un importante papel en la protección de la misma. Estudios clínicos han revelado los beneficios que supone la ingesta adecuada de luteína en la protección contra la aparición y/o progresión de enfermedades de elevada incidencia en países desarrollados, como son cáncer, enfermedad cardiovascular, cataratas y degeneración macular senil ([Shi et al., 2002](#)). Este tipo de enfermedades tienen que ver con el déficit de luteína en el organismo y la correspondiente pérdida de protección antioxidante.

Los beneficios de la utilización de luteína se han constatado especialmente en el caso de la degeneración macular senil. Se ha demostrado que el consumo de una dieta rica en luteína reduce el riesgo de sufrir degeneración macular senil y otras dolencias asociadas a la edad ([Schünemann et al., 2002](#)). Aunque el mecanismo de la acción protectora que puede desempeñar de este pigmento se desconoce, se le atribuye la capacidad de filtrar la luz azul o de neutralizar los radicales libres que esta radiación u otros factores puedan llegar a originar.

Para la prevención de las enfermedades degenerativas mencionadas, la ingesta recomendada es de 6 mg por día, lo cual es difícil de alcanzar por modificaciones en la dieta ([Silva, 2004](#)). Por tanto, en grupos de riesgo además de una dieta rica en luteína, se deberían de administrar suplementos de luteína.

El β -caroteno es un pigmento carotenoides liposoluble del grupo de los carotenos que presenta la fórmula $C_{40}H_{56}$ ([Figura 8](#)):

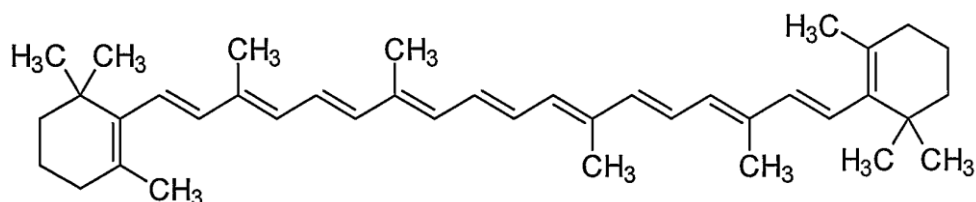


Figura 8 Estructura del β -caroteno.

De los carotenoides que pueden ser convertidos en vitamina A por el organismo (llamados carotenoides provitamina A), el β -caroteno es el más abundante y el más eficiente que se halla en los alimentos.

La ingesta suficiente de β -caroteno es importante, ya que actúa como una fuente segura de vitamina A que ayuda al cuerpo a alcanzar los niveles necesarios para un crecimiento y desarrollo normales, una buena visión y salud ocular, un fuerte sistema inmunitario y una piel sana. Además, es un antioxidante que contribuye a proteger el cuerpo contra los efectos nocivos de los radicales libres, los cuales pueden aumentar el riesgo de desarrollar ciertas enfermedades, inclusive enfermedades cardiovasculares o cáncer. ([nutrifacts](#)).

2.3.4. Otras aplicaciones de la luteína y β -caroteno

El hecho de que los ésteres de luteína sean más solubles en aceites vegetales que los carotenoides sintéticos es un factor favorable para el uso de este compuesto como colorante alimenticio ([Philip y Berry, 1975](#)) por lo que uno de los usos actuales más extendidos de la luteína es su utilización como colorante natural en alimentación humana, en productos como mantequilla, margarina, quesos, bebidas refrescantes y pasta.

Tanto la luteína como el β -caroteno se añaden a piensos de acuicultura para incrementar la coloración de los salmónidos, otros peces y mariscos. También se usan ampliamente en la alimentación avícola, empleándose para mejorar la pigmentación tanto de la piel, como de carne y yemas de huevos ([Livingston, 1986](#)) y en la industria cosmética y como complemento para enriquecer algunos alimentos, aumentando de este modo su valor comercial.

2.3.5. Fuentes de luteína y β -caroteno. Las microalgas como alternativa

Dado su papel esencial en el metabolismo vegetal y concretamente en la estructura y función del aparato fotosintético, los carotenoides se encuentran ampliamente distribuidos en plantas superiores, contándose frutas y verduras entre sus fuentes para consumo humano, y siendo especialmente ricas las de hoja verde.

En el caso de la luteína, ninguna de estas fuentes es directamente aplicable para complementar la ingesta habitual de la población, hasta las dosis recomendadas para la prevención de enfermedades degenerativas (6,0 mg/día). Para esto, habitualmente se recurre al uso de extractos enriquecidos en luteína que, en su mayoría, proceden de flores de caléndula y sirven para suplementar dietas de los grupos de riesgo ([Figura 9](#)).



Figura 9 Flor de marigold o caléndula (*Tagetes erecta*).

En el caso del β -caroteno, la proporción que puede ser absorbido, transportado y aprovechado por el cuerpo una vez ha sido consumido (biodisponibilidad) depende de una serie de factores: el β -caroteno de los suplementos dietéticos se absorbe mejor que el de los alimentos; picar, homogeneizar mecánicamente y cocinar los alimentos aumenta la biodisponibilidad del β -caroteno, y la presencia de grasa en el tracto digestivo es necesaria para la absorción del β -caroteno. ([nutrifacts](#))

A pesar de la amplia distribución de la luteína y β -caroteno en plantas superiores y algunos productos que se usan para la alimentación animal (harina de alfalfa, gluten de maíz y flores de caléndula), la reducida concentración de éstos en estas materias primas hace que se estén buscando otras fuentes en las que se encuentren en mayores concentraciones. Así, se están realizando esfuerzos considerables para hacer posible la producción comercial de estos carotenoides a partir de microalgas ([García González et al., 2005](#)). La biomasa de microalgas es una fuente ventajosa de carotenoides debido a su elevado contenido en estos pigmentos, con respecto a las fuentes tradicionales anteriormente mencionadas ya que, aparecen como moléculas libres en lugar de la mezcla de ésteres, que habitualmente se encuentra en los extractos comerciales procedentes de fuentes tradicionales.

Así, se están realizando esfuerzos considerables para hacer posible la producción comercial de este carotenoide a partir de microalgas ([García González et al., 2005](#)). La biomasa de microalgas es una fuente ventajosa de luteína debido a su elevado contenido en este pigmento, con respecto a las fuentes tradicionales anteriormente mencionadas y a que, aparece como molécula libre en lugar de la mezcla de ésteres, que habitualmente se encuentra en los extractos comerciales procedentes de fuentes tradicionales.

Es importante resaltar en este punto, la existencia de la microalga *Scenedesmus almeriensis*, una nueva especie descubierta y patentada por el Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Almería, que contiene, para un cultivo realizado en 2010, una elevada cantidad de luteína (hasta 7000 ppm), constituyendo ésta el carotenoide mayoritario ([Tabla 1](#)) ([Fernández et al., 2010](#)). Este elevado contenido en luteína, hace de esta fuente una alternativa a la utilización de luteína procedente de la flor de caléndula.

Tabla 1 Composición de la microalga *Scenedesmus almeriensis*

Pigmento	Contenido (mg·g ⁻¹)
Violaxantina	0.234
Astaxantina	0.210
Luteína	7.010
Cantaxantina	0.125
Esteres de astaxantina	0.204
β-caroteno	0.756

2.3.6. El aceite de oliva como vehículo para incorporar luteína y β-caroteno

Es bien conocido que el aceite de oliva posee, debido a su composición química, importantes propiedades que lo hacen un alimento muy saludable y recomendado, presentando además un alto factor de digestibilidad, parámetro muy importante en alimentación. Son muchos los trabajos científicos que avalan la importancia de su

incorporación en una dieta equilibrada, mostrando efectos muy beneficiosos para la salud, entre los que se pueden citar:

- Reduce el nivel del colesterol.
- Disminuye el riesgo de infarto y de trombosis arterial.
- Es eficaz en la lucha contra úlceras, gastritis y acidez en general.
- Regula el tránsito intestinal y beneficia el crecimiento óseo.
- Previene muchas enfermedades degenerativas humanas.

Dentro de la gran variedad de compuestos existentes en el aceite de oliva, se pueden encontrar, entre otros: compuestos hidrocarbonados, esteroides, compuestos diterpénicos y triterpénicos, alcoholes alifáticos, tocoferoles, pigmentos, etc. Las clorofilas y los carotenoides son los pigmentos más abundantes en aceites de oliva virgen. Los carotenoides se encuentran presentes en un intervalo comprendido entre los 5-100 mg/kg, y dependiendo de la naturaleza del aceite se ha encontrado luteína en concentraciones que varían en el intervalo 2-8 mg/kg ([Cichelli y Pertesan, 2004](#)).

Los anteriores valores, indican que la luteína se encuentra en cantidades muy pequeñas y por tanto el aceite de oliva, en su composición original, no puede aportar las cantidades recomendadas para la prevención de enfermedades degenerativas. Sin embargo, es importante resaltar que por sus características y por contener pequeñas cantidades de luteína, puede ser un adecuado medio de vehiculización de este pigmento, pues aumentar la concentración de este componente previamente existente, no debe generar problemas de estabilidad severos, hecho que si podría ocurrir al tratar de añadir un compuesto químico totalmente ajeno al medio receptor.

En el estado actual de las investigaciones sobre el papel de la luteína en la prevención de la DMAE, una de las principales preocupaciones es determinar en qué medida es digerida y absorbida la luteína suministrada en las diferentes fuentes dietarias (estudios de digestibilidad-bioaccesibilidad). Esta preocupación se extiende a los extractos comerciales que actualmente se usan en los complementos nutricionales que contienen luteína. Sólo productos de digestibilidad conocida y adecuada son útiles como aporte de luteína en la dieta humana. Más aún, sólo productos de digestibilidad conocida serán útiles en futuros estudios del papel de la luteína en la prevención de enfermedades oculares.

En este sentido, existen trabajos que describen estudios realizados *in vitro*, en los que se pone de manifiesto que las matrices alimenticias ricas en grasas, como son el aceite de oliva y otras similares, pueden facilitar y/o beneficiar el proceso de bioasimilación de este tipo de carotenoides ([Granado et al., 2010](#); [Nidhi y Baskaran, 2011](#)). También se pueden encontrar estudios de degradación térmica de carotenoides en aceites de oliva y similares que pueden afectar a las propiedades fisicoquímicas y de coloración y por tanto a su apariencia y aceptabilidad ([Aparicio et al., 2011](#)). Del mismo modo, algunas patentes describen la incorporación al aceite de oliva de diferentes carotenoides ([European Patent, 2006](#)).

Por todo lo anteriormente comentado, en este trabajo se pretende utilizar el aceite como medio en el que solubilizar los carotenoides procedentes de la microalga *Scenedesmus almeriensis*, con el objetivo de poder incorporar a través de la “Dieta Mediterránea”, las cantidades necesarias de antioxidantes que ayuden en la prevención de la aparición de enfermedades degenerativas en el ser humano.

2.4. El aceite de Oliva Virgen extra

El aceite de oliva virgen es el mosto oleoso procedente únicamente del fruto del olivo (*Olea Europea Sátiva*), la aceituna, totalmente natural, que cuando es obtenido por sistemas mecánicos correctos y procede de frutos de buena calidad, posee excepcionales características organolépticas (olor, color y sabor) siendo el único entre los aceites vegetales que puede consumirse crudo, conservando integro su contenido en vitaminas, ácidos grasos esenciales y otros productos naturales de importancia dietética. El aceite de oliva virgen es obtenido únicamente por procedimientos mecánicos o por medios físicos, como son el lavado, la decantación, la centrifugación y el filtrado.

Los aceites de oliva vírgenes aptos para el consumo se clasifican en:

- Aceite de oliva virgen extra: aceite de oliva virgen cuya acidez libre expresada en ácido oleico es como máximo 0,8 gramos por 100 gramos y en cuanto a las características organolépticas la mediana de los defectos es igual a 0 y la del atributo "frutado" superior a 0.

- Aceite de oliva virgen: aceite de oliva virgen cuya acidez libre expresada en ácido oleico es como máximo de 2 gramos por 100 gramos y en relación a las características organolépticas la mediana de los defectos es superior a 0 e inferior o igual 2,5 y la del atributo "frutado" superior a 0.
- Aceite de oliva virgen lampante: aceite de oliva virgen cuya acidez libre expresada en ácido oleico es como máximo de 2 gramos por 100 gramos y en cuanto a sus características organolépticas la mediana de los defectos es superior a 2,5. ([Reglamento CE 61/2011](#)).

El consumo de aceite de oliva virgen se ha relacionado con un perfil lipídico de menor riesgo de padecer enfermedades coronarias y con un menor riesgo de desarrollar algunas neoplasias malignas. Un número creciente de estudios apuntan al papel crucial que desempeña el aceite de oliva como integrante básico de la dieta Mediterránea, en sus efectos beneficiosos sobre la salud. Por ejemplo, se ha demostrado que el aceite de oliva reduce el colesterol total en plasma, gracias a su composición de ácidos grasos. También disminuye la fracción de colesterol transportada por las lipoproteínas de baja densidad (LDL) mientras que incrementa la fracción transportada por las lipoproteínas de alta densidad (HDL). Por otra parte, la incidencia de enfermedades cardiovasculares y muertes por enfermedades coronarias es menor entre los habitantes de regiones donde existe hábito de consumo de aceite de oliva ([Aparicio et al., 2003](#)).

2.4.1. Antioxidantes presentes en el aceite de oliva virgen

Los principales antioxidantes del aceite de oliva virgen son los compuestos fenólicos, incluyendo los fenoles lipofílicos e hidrofílicos ([Boskou, 1996](#)). Mientras que los fenoles lipofílicos, entre los que se encuentran los tocoferoles y tocotrienoles pueden encontrarse en otros aceites vegetales, algunos fenoles hidrofílicos del aceite de oliva virgen, no están generalmente presentes en otros aceites y grasas ([Boskou, 1996](#)).

Se puede afirmar que el aceite de oliva virgen puede ser diferenciado de otros aceites vegetales por su particular composición en compuestos fenólicos ([Boskou, 1996](#)).

Los pigmentos, presentes en el aceite de oliva virgen, también tienen propiedades antioxidantes. Se ha descrito la doble capacidad, antioxidante en la oscuridad y pro-oxidante en presencia de luz, de las clorofilas. Los carotenoides también presentan un importante papel como antioxidantes en el aceite de oliva virgen.

2.4.1.1. Compuestos Fenólicos

Los fenoles hidrofílicos del aceite de oliva virgen constituyen un grupo de compuestos, metabolitos secundarios de las plantas, que presentan importantes propiedades organolépticas y para la salud. La concentración de estos compuestos en el mesocarpio de las aceitunas puede suponer el 1-3 % del peso de la pulpa fresca. Se trata de compuestos de carácter polar que pasan al aceite en pequeñas cantidades en el proceso de extracción como consecuencia del equilibrio físico-químico entre dos fases inmiscibles: agua y aceite. Estos compuestos reciben el nombre de polifenoles, tratándose de un término convencional ya que todos no son polihidroxiderivados.

El contenido total normal en polifenoles en el aceite de oliva virgen oscila entre 50 y 500 mg/kg de ácido cafeico, aunque se han descrito aceites con un contenido superior a los 1000 mg/kg ([Uceda et al., 2004](#)).

Los compuestos fenólicos le confieren al aceite de oliva virgen determinadas propiedades a nivel químico, organoléptico y de la salud.

A nivel químico, el efecto antioxidante de estos compuestos ha quedado demostrado en muchos trabajos. La actividad antioxidante del hidroxitirosol, un efecto quelante de iones de metales junto a un efecto secuestrador de radicales libres, ha demostrado tener una capacidad antioxidante igual o superior que otros antioxidantes como la vitamina E y la vitamina C ([Visioli y Galli, 1998](#)).

En cuanto a la implicación de los compuestos fenólicos en las propiedades sensoriales del aceite de oliva virgen, estos compuestos son responsables de atributos positivos como el amargo, picante y astringente ([Andrewes et al., 2003](#)).

El amargor de los aceites puede ser cuantificado químicamente mediante la medida del K225 ([Gutiérrez et al., 1992](#)), parámetro relacionado con la evaluación sensorial del amargo ([COI, 1987](#)).

2.4.1.2. Tocoferoles

Los tocoferoles son los compuestos responsables de la actividad de la vitamina E. El término general vitamina E se utiliza para designar a un grupo de especies naturales de tocoferoles (α , β , γ , y δ) y tocotrienoles. Junto con las vitaminas A, D y K constituyen el grupo de las vitaminas liposolubles, solubles en lípidos y en disolventes orgánicos. Son compuestos que el organismo no puede sintetizar, por lo que su aporte se realiza a través de la dieta, siendo los aceites vegetales una de las principales fuentes de aporte ([Sayago et al., 2007](#)).

La vitamina E se encuentra principalmente en los aceites vegetales (soja, maíz, algodón y girasol), granos, plantas y en el tejido adiposo de los animales. Se localiza principalmente en las hojas y partes verdes de las plantas, que contienen más α -tocoferol que las partes amarillas, mientras que el γ -tocoferol se encuentra en bajas concentraciones ([Gerald y Combs, 1992](#)). También se encuentran en algunas algas marrones, verdes y rojas, en algunas levaduras y hongos, pero no en las bacterias ([Codoceo y Muñoz, 1999](#)).

En el aceite de oliva virgen se ha descrito la presencia de α , β , y γ -tocoferol. El α -tocoferol es mayoritario, alcanzando valores superiores al 95 % del total. El contenido medio en tocoferoles en el aceite de oliva virgen oscila entre los 50 y 300 mg/kg ([Boskou, 1996](#)).

En cuanto a su función, la vitamina E actúa coordinada con otras moléculas y enzimas para la defensa de las células (especialmente glóbulos rojos, células musculares y células nerviosas) frente a los efectos nocivos producidos por los radicales libres, considerándose actualmente como un importante antioxidante que aporta sustancias beneficiosas al organismo ([Gerald y Combs, 1992](#)).

La actividad antioxidante radica en su capacidad de protección de las membranas celulares, acción que realiza impidiendo la oxidación de las mismas por los radicales libres. Dicha oxidación llevaría a una degradación del organismo, especialmente a la

aparición de enfermedades cardíacas o posibles cánceres. Esta vitamina, junto con las vitaminas A y C, conforma el grupo de las vitaminas antioxidantes ([Gerald y Combs, 1992](#)).

La vitamina E, como antioxidante, defiende las células reduciendo el estrés oxidativo, estimula el sistema inmunológico y frena el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer. Asimismo, ayuda a reducir los niveles de colesterol ([Packer y Obermüller-Jevic, 2002](#)).

2.4.1.3. Pigmentos

El aceite de oliva virgen tiene un color que va desde el verde-amarillo hasta el dorado, dependiendo de la variedad y del estado de madurez del fruto. La composición y el contenido total de pigmentos, presentes de forma natural en el aceite de oliva virgen, son importantes parámetros para la determinación de su calidad. Los pigmentos también están involucrados en mecanismos de autooxidación y fotooxidación. Los pigmentos presentes en el aceite de oliva se agrupan en dos clases: clorofilas y feofitinas; y carotenoides.

Clorofilas y feofitinas

Las clorofilas son los pigmentos responsables del color verde de los aceites de oliva vírgenes. Su estructura consiste básicamente en cuatro anillos pirrólicos sustituidos, uno de los cuales 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 magnesio por hidrógeno dando lugar a las feofitinas. Este proceso se produce siempre que se rompe la integridad celular, lo que ocurre cuando 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 primera el pigmento más abundante en los aceites de oliva con un 70-80 % del total ([Ranalli, 1992](#)).

Así mismo en el aceite de oliva coexisten dos tipos de clorofilas: "a" y "b" cuya diferencia fundamental es que "a" tiene un grupo metilo en el C3 y "b" tiene un carbonilo.

El contenido en clorofilas en los aceites de oliva vírgenes varía entre 1 a 20 mg/kg.

[Vázquez en 1980](#) observó que el aceite de oliva virgen es muy sensible a una radiación de 320-700nm. Esta sensibilidad es debida a la presencia de clorofilas que absorben la luz en ese espectro. Las clorofilas y feofitinas tienen un efecto pro-oxidante sobre los lípidos en presencia de la luz, mientras que en la oscuridad actúan como antioxidantes. Por ello, el aceite de oliva virgen, que contiene pigmentos verdes, debe ser protegido de la luz durante su almacenamiento, para minimizar los efectos de la oxidación ([Kiritsakis, 1980](#)). Estos pigmentos facilitan la formación de oxígeno singlete, lo que provoca la oxidación del aceite en presencia de la luz ([Lee et al., 1988](#)). Este oxígeno singlete reacciona rápidamente con las insaturaciones de los ácidos grasos para dar hidroperóxidos. Estos son inestables y se descomponen en radicales libres, que inician la reacción de autooxidación en cadena ([Carlsson et al., 1976](#)).

Carotenoides

Los carotenoides son moléculas liposolubles presentes en todos los organismos fotosintéticos, cuyo color va del amarillo al rojo. La estructura básica de los carotenoides es un tetraterpeno de 40 carbonos, simétrico y lineal. Este esqueleto básico puede modificarse de varias formas, como por ejemplo, por hidrogenación, deshidrogenación, ciclación, migración del doble enlace, etc., dando como resultado una gran diversidad de estructuras. Los carotenoides se dividen según su naturaleza química en dos grupos, carotenos y xantofilas. Los carotenos no presentan sustituciones en la cadena hidrocarbonada mientras que las xantofilas son derivados oxigenados, que contienen uno o más grupos funcionales (hidroxilo, carbonilo, carboxilo, etc.).

Los carotenoides presentan importantes propiedades como colorantes, antioxidantes, como favorecedores del bronceado, en el tratamiento de enfermedades de la piel, e incluso como agentes de prevención de ciertos tipos de cáncer ([Shi et al., 2002](#); [nutrifacts](#)). Sólo las plantas, las algas, y algunos hongos y bacterias sintetizan de forma natural los carotenoides, y por tanto los mamíferos necesitan ingerirlos a través de la dieta. Los carotenoides son de los pigmentos más ampliamente reconocidos debido a sus relevantes aplicaciones, de forma que un elevado número de ellos han encontrado aplicación comercial.

2.4.2. Importancia de la ingesta de antioxidantes en la dieta

Desde el punto de vista biológico, un antioxidante se define como una sustancia que, en concentraciones bajas en relación con el sustrato oxidable, puede retrasar ó evitar la oxidación del sustrato ([Gutteridge, 1995](#)).

Los efectos dañinos de los radicales libres están controlados en el organismo mediante un amplio espectro de antioxidantes de origen endógeno (enzimas, glutatión, albúmina, transferrina, ceruloplasmina, ácido úrico, bilirrubina....) y exógeno (vitamina E y C, carotenoides, escualeno, selenio, compuestos fenólicos, etc.), a través de la dieta.

Según su mecanismo de acción, los antioxidantes se clasifican en primarios, secundarios ó terciarios ([Oliveras, 2005](#)):

Primarios: Impiden la formación de radicales libres, frenan la reacción en cadena de los radicales libres ó son quelantes de metales de transición. Es el caso de las vitaminas E y C y de polifenoles como el resveratrol.

Secundarios: Interrumpen la reacción de propagación de los radicales libres (α -tocoferol, ácido ascórbico) ó desplazan las especies reactivas del oxígeno (ácido ascórbico, carotenoides, y la mayoría de las enzimas antioxidantes), de modo que inhiben la generación de ROS (reactive oxygen species) e impiden la actividad metabólica de carcinógenos ([Visioli et al., 1999](#)).

Terciarios: Reparar el daño causado a las moléculas por los radicales libres ó eliminan aquellas que se han estropeado. Entre ellos citar los antioxidantes hidrosolubles, como la vitamina C, polifenoles, selenio ó N-acetilcisteína.

Muchos compuestos antioxidantes actúan por un único mecanismo mientras otros, como los polifenoles, pueden tener acciones combinadas ([Bravo, 1998](#)).

Existen evidencias científicas de que la dieta Mediterránea clásica tiene un efecto protector sobre procesos asociados con la lesión oxidativa, lo que se atribuye a su alto contenido en compuestos con propiedades biológicas antioxidantes y al elevado contenido en ácidos monoinsaturados ([Fitó, 2003](#)).

Además, varios estudios indican que una dieta rica en grasas monoinsaturadas, como la dieta mediterránea, puede mejorar el perfil lipídico ([Mensink et al., 1992](#)), fenómeno involucrado en la menor incidencia de padecer enfermedad cardiovascular, siendo esto debido, entre otros, a una dieta basada fundamentalmente en el aceite de oliva.

2.4.3. 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, entre otras razones porque es un parámetro independiente de los mencionados por el COI, 1987. Más aún, desde el punto de vista del consumidor, la especificación correcta y precisa del color de los aceites de oliva se hace necesaria para una completa valoración y especificación del mismo. ([CEE, 1991](#)).

El color es un atributo fundamental en la valoración y un primer criterio de juicio sobre la calidad del mismo y sobre las preferencias del consumidor ([Calvo C. et al, 2001](#)).

Esta influencia sobre la aceptabilidad del alimento por parte del consumidor ha despertado un gran interés entre productores y elaboradores, y ha impulsado en los últimos años el desarrollo de técnicas y aparatos de fácil manejo en la industria e incluso en el campo ([Calvo C. et al, 2001](#)), y el trabajo en nuevas líneas de investigación que tienen entre otros objetivos el estudio de la relación existente entre las coordenadas colorimétricas y contenido en pigmentos ([Ruíz R. et al, 2005](#)).

Para la caracterización de los aceites de oliva, son numerosos los estudios realizados que utilizan a componentes químicos mayoritarios, como son los ácidos grasos ([Alonso V. y Aparicio R., 1993](#)), y muy pocos los que utilizan componentes minoritarios (polifenoles, esteroides, alcoholes triterpénicos y pigmentos) para dicha caracterización.

El primer estudio en el que se utiliza el contenido en pigmentos como variable para la caracterización fue el realizado por Gandul-Rojas y Mínguez-Mosquera en el año 1996b. Actualmente para la caracterización, tipificación y autenticidad de aceites italianos y griegos se están utilizando relaciones como la de fracción clorofílica y carotenoide, luteína y β -carotenos entre otras ([Ranalli A. et al, 2005](#)).

En este trabajo se va a obtener el perfil colorimétrico de diferentes aceites de oliva (además de diferentes aceites de semillas) enriquecidos con luteína basándonos en parámetros del espacio CIELAB (L^* , a^* , b^*).

Los pigmentos responsables del color del aceite de oliva forman parte de los componentes minoritarios y no tienen relación química con los ácidos grasos. Los pigmentos están involucrados en los mecanismos de auto-oxidación y foto-oxidación, y se

pueden dividirse en dos grupos: clorofilas y carotenoides. 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](#)).

La concentración de clorofilas en los aceites dependerá, entre otros factores, del sistema empleado en la extracción. En centrifugación directa el contenido en clorofilas es mayor que mediante el prensado clásico. También depende de la madurez y del tipo de frutos, siendo superior el contenido en clorofilas en las primeras épocas del periodo de recogida de la aceituna ([Mínguez-Mosquera et al, 1991](#)).

El contenido de carotenoides del aceite de oliva varía de 1 a 20 mg/kg. De todos ellos, el mayoritario es la luteína y, al igual que en las clorofilas, su cantidad depende del método de extracción, entre otros parámetros.

2.5. Factores que influyen en el color y afectan a la presencia de antioxidantes en el aceite de oliva

El aceite de oliva virgen, a diferencia de cualquier otro tipo de aceite vegetal, es el zumo natural de un fruto que puede consumirse directamente. Debido a esto, todo el proceso, desde el olivo hasta que el aceite llega al consumidor, debe estar controlado para conseguir y mantener aceites de oliva de calidad.

En principio, cualquier variedad de aceituna es apta para obtener aceites de buena calidad, siempre que se utilicen las técnicas de cultivo adecuadas y todas las operaciones del proceso de elaboración se realicen en las mejores condiciones. Sin embargo, si se quieren obtener aceites con determinados atributos positivos es necesario partir de determinadas variedades que puedan aportar estos atributos.

Según algunos autores, la variedad de fruto es la variable más importante para caracterizar el aceite ([Fiorino y Nizzi, 1991](#)), mientras que otros piensan que las diferencias debidas al estado de maduración son mucho mayores que a las propias del cultivo ([Civantos, 1999](#)).

La influencia de la variedad en las características químicas del aceite se debe, por un lado, a la acumulación de determinados triglicéridos y por otro, y en mayor medida, a la formación y evolución de los otros componentes.

De las técnicas de cultivo, la que más influye en la obtención de aceites de calidad es la protección fitosanitaria del árbol. Para alcanzar esta calidad es absolutamente necesario que los frutos se conserven sanos y que permanezcan en el árbol hasta el momento de la recolección.

La tecnología de extracción y separación puede modificar la cantidad de pigmentos liposolubles que pasan a las diversas fracciones aceite/agua/orujo, por lo que es necesario conocer su contenido en las diversas partes del fruto, la influencia de los mecanismos de extracción y sus relaciones de dispersión en las distintas fracciones de la elaboración.

De los numerosos factores que influyen en la calidad del aceite de oliva virgen, algunos de ellos, tales como la variedad, el grado de maduración o el sistema de extracción utilizado, inciden más directamente sobre las características organolépticas, y más concretamente sobre el color ([Civantos 1999](#)).

Existen dos grandes familias de factores que influyen sobre la presencia de antioxidantes en el aceite de oliva virgen, los agronómicos y los tecnológicos, también conocidos como industriales o de transformación.

2.5.1. Factores agronómicos

Los factores agronómicos inciden en la calidad del aceite de oliva ya que afectan directamente a la aceituna. Se clasifican en:

Intrínsecos: Aquellos que difícilmente pueden modificarse. Entre ellos se encuentra la variedad y el medio en el que se desarrolla la planta.

Extrínsecos: Son los que pueden ser controlados, con relativa facilidad, por el agricultor. Se pueden incluir en este apartado las prácticas culturales, la recolección y el transporte.

2.5.1.1. Factores agronómicos intrínsecos

Variedad de aceituna

La variedad de aceituna influye en el color del aceite obtenido en función de la composición en pigmentos que presente. Como se ha visto anteriormente, las clorofilas comunican la tonalidad verde, y los carotenos participan en la coloración amarillo-rojiza, determinando el color resultante del aceite según la proporción entre ellos. Algunas variedades producen aceites verdes independientemente del grado de maduración, mientras que otras sólo producen aceites verdes cuando el fruto no está totalmente maduro. ([Ridgway, 1993](#)).

Un estudio reciente sobre la composición de clorofilas y carotenos de 9 variedades de aceites de oliva vírgenes de las principales regiones de producción española ha mostrado diferencias cuantitativas que dependen de la variedad y grado de maduración de los frutos, y se ha encontrado que los *cis- α -caroteno*, las xantofilas mono y di-esterificadas y la feoforbida “a” son pigmentos exclusivos de la variedad Arbequina, un hecho que, según los autores, podría ser utilizado como un diferenciador quimo-taxonómico de los aceites de esta variedad ([Gandul-Rojas y Mínguez-Mosquera, 1996](#)).

Estudios posteriores han confirmado la dependencia entre el nivel de pigmentos fotosintéticos en el aceite y la variedad, teniendo siempre en cuenta que el grado de madurez es, igualmente, un importante factor a considerar, ya que implica una pérdida gradual de pigmentos clorofílicos y carotenoides y un incremento de compuestos antociánicos. Las velocidades relativas de desaparición de clorofilas y carotenos son marcadamente diferentes entre variedades, implicando que también su velocidad de catabolismo es una característica propia de cada variedad ([Roca y Mínguez, 2001](#)).

Factores ambientales

El clima ejerce una gran influencia sobre la composición química y la calidad del aceite. Se ha observado que existe una notable influencia de las condiciones meteorológicas sobre la evolución en el crecimiento del fruto y su maduración ([Jacoboni et al., 1999](#)). En un estudio del efecto de los factores agronómicos y estacionales sobre la producción del olivo y las características cualitativas de los aceites se ha puesto de manifiesto que las condiciones climáticas, en particular las precipitaciones, influyen en la

composición química de los aceites. Los compuestos que más se ven influenciados son los alcoholes alifáticos, los compuestos fenólicos y los componentes del espacio de cabeza, de particular importancia en lo que respecta a las características organolépticas y de calidad del aceite de oliva virgen ([Pannelli et al., 1994](#)).

2.5.1.2. Factores agronómicos extrínsecos

Estado de maduración del fruto

El periodo de crecimiento y desarrollo del fruto del olivo se puede establecer en unos 200 días como cifra media, siguiendo, como en la mayoría de las drupas, una curva doble sigmoideal, con una etapa de latencia inicial y otra final. Se produce una primera fase de crecimiento rápido en la que el endocarpio es el principal tejido en desarrollo. En una segunda fase, de crecimiento lento, el endocarpio se endurece progresivamente y tanto el embrión como el hueso alcanzan su tamaño final que ya no varía. La tercera fase, de crecimiento rápido debido al aumento de tamaño de las células de la pulpa, determina el tamaño real del fruto. En esta fase comienza la biosíntesis del aceite y su acumulación de aceite se reduce de manera progresiva, teniendo lugar los procesos de maduración ([Hermoso et al., 1999](#)).

Cuando el fruto está completamente desarrollado, la pulpa representa un 70-90%, el hueso un 9-27% y la semilla un 2-3% del peso total del fruto. Los componentes mayoritarios de la pulpa y de la semilla son el agua y el aceite. En la pulpa, el agua representa un 50-60% y el aceite un 20-30%. En la semilla, los contenidos de agua y aceite tienen valores del orden del 30 y del 27% respectivamente. Por su parte, el hueso tiene contenidos medios más bajos, del orden del 9% de agua y de menos del 1% de aceite. Además, presentan cantidades variables de azúcares, polisacáridos y proteínas.

En el aceite se producen cambios en la proporción de componentes menores, aunque las tendencias a lo largo de la maduración varían según las diferentes familias químicas. En el caso de los ácidos grasos, se ha observado una disminución del ácido palmítico y un aumento del ácido linoléico. El contenido en polifenoles y el grado de amargor alcanzan un máximo cuando la mayoría de los frutos están en envero, disminuyendo conforme avanza la maduración. El contenido en tocoferoles y esteroides

presenta una tendencia a disminuir durante el periodo de maduración. ([Uceda y Hermoso, 1999](#)).

Durante el desarrollo del fruto se producen una serie de cambios que pueden utilizarse como indicadores más o menos específicos de la maduración. Uno de ellos es la variación del color del fruto. La aceituna, que al principio tiene color verde, vira a un color amarillento como consecuencia de una fuerte reducción del contenido en clorofilas. Después comienza la acumulación de antocianinas, determinando su concentración en las células, la intensidad del color, que puede ir del rojizo al violáceo intenso y al negro ([Vázquez- Roncero y Maestro, 1970](#)). En la mayoría de las variedades, la coloración de la piel comienza en el ápice (inicio del envero) y continúa hacia el extremo opuesto junto al pedúnculo (final del envero). Después comienza a colorearse el mesocarpio, desde la parte más exterior hasta que el color violáceo llega al hueso. Se considera como periodo de maduración, según este criterio, el tiempo transcurrido desde la aparición de las manchas violáceas, hasta la coloración definitiva de la piel ([Humanes y Civantos, 1992](#)), siendo variable y estando afectado por las características varietales y las condiciones climáticas.

Se ha estudiado la evolución de los pigmentos cloroplásticos (clorofilas y carotenoides) en los frutos de las variedades “Hojiblanca”, “Manzanilla”, “Picual” y “Picudo”, observándose que el descenso paulatino y homogéneo de la concentración de cada pigmento, a medida que avanza la maduración, es lo que provoca los cambios de color aparente de los frutos. A partir del estado de envero (aceitunas “pintonas”), en el que se produce el cambio cromático, las clorofilas decrecen más rápidamente que los carotenoides, dando paso, a las antocianinas ([Hidalgo et al., 1993](#)).

En el caso del aceite, se produce también una considerable disminución del contenido en pigmentos. En los aceites obtenidos durante el periodo de maduración de aceitunas de siete variedades de la zona del Montsiá (Tarragona), se puso de manifiesto que, en los primeros meses, se produce una brusca disminución del contenido en pigmentos carotenoides (determinados por la medida espectrofotométrica a 450 nm). Esta reducción pasa a ser más suave posteriormente, lo que según los autores podría deberse, principalmente, a dos fenómenos: las oxidaciones que inevitablemente afectan a este tipo de estructuras, y la dilución de los pigmentos debida al aumento del rendimiento en aceite una vez que se detiene la síntesis de carotenoides en las etapas iniciales de maduración ([López et al., 1986](#)).

De forma paralela a lo que ocurre en la aceituna, otros autores han observado también, en aceites procedentes de las variedades “Hojiblanca” y de la italiana “Frantoio” a lo largo del proceso de maduración, una ostensible disminución tanto de clorofilas como de carotenos (β -caroteno), aunque la relación carotenos/clorofilas tiende a aumentar de forma considerable ([Garrido et al., 1990a](#); [Garrido et al., 1990b](#)). A la misma conclusión llegan [Mínguez et al. \(1991\)](#), que además estudian la correlación existente entre la concentración de pigmentos y las características del color de los aceites, observando que los parámetros cromáticos disminuyen también con la maduración. Los autores plantean la posibilidad de obtener índices de color que permitan la clasificación de los aceites según el origen y la variedad de la aceituna.

En general, se considera que las variedades de maduración escalonada mantienen el color verde del aceite relativamente más tiempo que el de la maduración precoz, incluso cuando la recolección se efectúa en épocas más avanzadas ([Fiorino y Nizzi, 1991](#)).

Condiciones de cultivo

Se ha encontrado que los aceites de la variedad Arbequina producidos en Andalucía, Aragón y en la zona de la Denominación de Origen “Les Garrigues” son más verdosos que los de otras zonas estudiadas ([Tous et al., 1997](#)). Los aceites del tipo Garrigues, Siurana-Montsant y Aragón se diferencian principalmente, respecto de los del tipo Siurana-Camp y Andalucía, por tener un color amarillo más intenso.

La influencia conjunta de la variedad y el medio agrológico, puede verse reflejada en la especificación de las características peculiares, el color entre ellas, de los aceites que pertenecen a las diferentes Denominaciones de Origen: los de “Siurana” y “Les Garrigues”, de color verdoso cuando son de recolección temprana y de color amarillo los de recolección tardía y considerados como productos especiales de inconfundible aroma, color y sabor, bien diferenciados de otros aceites; los de “Baena”, cuyo color oscila entre el verde intenso y el amarillo dorado; los de “Sierra de Segura”, de color amarillo verdoso; o los de “Priego”, que diferencian los tipos: “picudo” de color amarillo, “Hojiblanco” de color amarillo dorado y “Picual” de color amarillo verdoso; ([Consejería de Agricultura y Pesca, 1995](#)).

Época de recolección

La elección del momento adecuado de recolección es la base primordial para la elaboración de un aceite de calidad. De esta decisión dependerán en gran medida las características potenciales del aceite obtenido. Obviamente, un factor a tener en cuenta sería la finalización del periodo de formación del aceite en el fruto. Para la variedad Picual se considera que el aceite está completamente formado cuando el fruto alcanza un índice de madurez con valores próximos al 3,5, lo que se corresponde con el momento en que la mayoría de los frutos se encuentran en envero, pocos están negros y aún quedan frutos de color verde-amarillento. En este punto se podría pensar que los frutos en el árbol aún verdes pudieran aumentar su contenido en aceite si se retrasa la recolección. [Beltrán et al. \(2005\)](#) observaron que cuando se había alcanzado éste grado de madurez de los frutos el contenido graso sobre materia seca se había estabilizado, no observándose diferencias en el contenido graso sobre materia seca de la pulpa.

Un retraso en la época de recolección y, en consecuencia, el incremento en el grado de maduración del fruto conlleva la disminución de determinados componentes de los frutos, como los compuestos fenólicos ([Beltrán et al., 2005](#)).

Riego

El olivar se ha cultivado tradicionalmente en condiciones de secano. Es un cultivo bien adaptado a los secanos mediterráneos, con producciones aceptables, y capaz de sobrevivir a periodos de intensa sequía. Sin embargo, desde hace tiempo se ha comprobado experimentalmente que la práctica del riego aumenta considerablemente el rendimiento del olivar, incluso cuando las aportaciones de agua son muy reducidas ([Orgaz y Fereres, 2004](#)).

El riego de los olivos es un factor decisivo en la composición de los aceites, fundamentalmente en cuanto a los componentes antioxidantes se refiere.

[Tovar et al. \(2001\)](#), estudiaron el efecto de la aplicación de diferentes estrategias de riego al olivo de la variedad “Arbequina” sobre la composición del aceite, encontrando que los aceites que procedían de los frutos de los árboles más regados, contenían menos cantidad de pigmentos (clorofílicos y carotenoides), atribuyendo este efecto al hecho de que al aumentar el volumen de agua aplicada al olivo, las pastas que se obtienen son más fluidas por su mayor porcentaje en humedad, por lo que atravesarían las cribas del molino

con más facilidad, sufriendo sus tejidos un menor daño y por lo tanto obteniéndose una menor extracción de los pigmentos localizados principalmente en el epicardio de los frutos.

En cuanto al contenido en α -tocoferol presente en el aceite de oliva, no se aprecian diferencias significativas en su concentración, con el riego del olivar, para las variedades Cornicabra, Arbequina y Morisca ([Tovar et al., 2001](#); [Gómez-Rico et al., 2009](#)).

El contenido total en polifenoles, atendiendo a todos los trabajos donde relacionan riego y calidad desarrollados hasta ahora, casi siempre permiten diferenciar los aceites producidos en riego de los de secano. Normalmente, el contenido en polifenoles aumenta significativamente al reducirse la cantidad de agua de riego aportada, siendo máximo en el olivar no regado. Esta tendencia ha sido observada por diferentes autores en distintas variedades y zonas de cultivo, como la variedad Arbequina en Cataluña ([Tovar et al., 2002](#)), Arbequina en USA ([Berenguer et al., 2006](#)) y también la variedad Picual en la provincia de Jaén ([Salas et al., 1997](#)).

Plagas y enfermedades

Las plagas y enfermedades del olivo inciden negativamente sobre la calidad de los aceites y, en particular, la infección por la mosca del olivo (*Batrocera oleae*) origina aceites con un menor contenido en compuestos fenólicos ([Zunin et al., 1995](#)).

Las plagas y enfermedades pueden alterar el color original del aceite, destacando el caso del *Colletotrichum gloeosporioides*, que produce una alteración conocida como aceituna jabonosa, y que incide directamente en la calidad, produciendo aceites de coloraciones rojizas y elevada acidez, que aumenta linealmente con el porcentaje de frutos atacados ([Civantos et al., 1999](#)).

Por otro lado, el sistema de recolección y los mecanismos de limpieza que se utilicen pueden influir en la cantidad de hojas que acompañen a la aceituna en el momento de su elaboración. Se ha estudiado el efecto de la adición de determinadas cantidades de hojas a aceitunas maduras, previamente a su extracción, sobre la calidad del aceite, encontrando que el contenido de pigmentos clorofílicos aumenta conforme aumenta la cantidad de hojas añadidas. ([Di Giovachino et al., 1996](#)).

2.5.2. Factores tecnológicos

El proceso de extracción del aceite de oliva virgen tiene una gran influencia sobre las características del producto final. La recepción y gestión del fruto es esencial para conseguir aceites de calidad. Así, los frutos que potencialmente pueden dar calidad, aceitunas sanas procedentes del árbol, deben seguir una línea diferenciada desde la recepción hasta la molturación y almacenamiento del aceite.

En el proceso de almazara, los frutos deben pasar, primero, por la línea de limpieza, para eliminar las hojas y ramas que pudieran acompañarlos, pero no deben someterse a lavado, pues ésta técnica provoca pérdida de polifenoles, menor puntuación organoléptica y caída de la estabilidad en el aceite. Una vez limpios, deben procesarse inmediatamente para no alterar los excelentes aceites que contienen ([Uceda et al., 2004](#)).

2.5.2.1. Proceso de elaboración

Uno de los factores más importantes en el color es el efecto que el proceso industrial de obtención del aceite de oliva produce en los pigmentos clorofilicos y carotenoides que se encuentran originalmente en los frutos. En aceites obtenidos en el laboratorio, a partir de aceitunas sanas y maduras, se detecta feofitina (que no se encuentra en los frutos), cuya presencia se atribuye a la degradación de clorofilas durante el proceso de extracción, ya que la proporción de ácidos que se libera en los tejidos del fruto durante las operaciones de molienda, batido y centrifugación favorecen esta reacción. La formación de otros derivados como auroxanteno y neocromo en el aceite (que tampoco aparecen en el fruto inicial) es también consecuencia de la acidez del medio, que favorece la transformación de xantofilas con grupos 5,6 epoxi a sus isómeros 5,8-furanoides.

Cuando la obtención del aceite se realiza con aceitunas que han sufrido un periodo de espera antes de ser procesadas (aceitunas atrojadas), aparecen productos de degradación (Auroxanteno y neocromo) se detectan ya en el fruto de partida (productos que no se encuentran originalmente cuando el fruto está en el árbol), aumentando su cantidad en los correspondientes aceites.

En los frutos, una cantidad apreciable de clorofilas se degrada a feofitina, mientras que otra parte se destruye durante el periodo de post-recolección antes de que el aceite sea extraído. En este mismo periodo, el β -caroteno se degrada, a productos menos coloreados, más rápidamente que la luteína.

La destrucción de clorofilas es mucho más intensa que la de carotenos. Se han encontrado diferencias en las concentraciones de β -caroteno y luteína, separados mediante técnicas cromatográficas para separar carotenoides polares y no polares, según el tipo de aceite y el proceso de elaboración empleado ([Standcher et al. 1987](#)).

Las diferentes operaciones del proceso de elaboración ejercen, de forma individual, una cierta influencia sobre el color del aceite.

2.5.2.1. Preparación de la pasta

Algunos autores han estudiado específicamente la influencia de las operaciones de molienda y batido en el color del aceite:

Tipo de molino

Con el sistema de percolación (extracción parcial), los aceites obtenidos por molturación en empiedro presentaron menos intensidad de color y mayor calidad que si se utiliza un molino de martillos móviles, lo que se explica por la mayor eficacia del triturador metálico sobre la piel del fruto, donde los pigmentos se encuentran en mayor cantidad. Con el sistema de centrifugación, los aceites procedentes de aceitunas molturadas en molino de martillos móviles tienen menos intensidad de color y más calidad que los procedentes de aceitunas molturadas con molino de martillo fijos ([Ranalli, 1992b](#)).

Condiciones de molienda

Los cambios de velocidad del molino y caudal de alimentación modificaron en algunos casos los parámetros cromáticos de los aceites obtenidos, fundamentalmente en la variedad “Arbequina” en la que se obtienen aceites de color menos vivo al aumentar la velocidad. Por otro lado, cuando se utiliza un bajo caudal de alimentación los aceites se hacen más oscuros, mientras que si el caudal es alto, aparecen más claros ([Kassem, 1999](#)).

Temperatura de batido

Cuando el batido se realiza a alta temperatura, se producen aceites con tonalidades más rojizas ([Martínez et al, 1975](#)). La temperatura de la pasta durante el batido condiciona más los aumentos de concentración de pigmentos carotenoides y clorofílicos que la temperatura del mosto oleoso ([Papasseit, 1986](#)).

Tiempo de batido

En algunos casos se han encontrado cambios en las características cromáticas de los aceites obtenidos con tiempos de batido prolongados, apareciendo más pardos y oscuros, así como concentraciones más elevadas de clorofilas ([Kassem, 1999](#)).

Adición de coadyudantes tecnológicos

Al comparar aceites obtenidos mediante un sistema de doble molienda con otros obtenidos tratando la pasta de aceitunas con una determinada enzima, los primeros resultaron más ricos en pigmentos clorofílicos y feofitínicos ([Ranalli y Martinelli, 1994](#)).

Otros autores, encontraron que el tratamiento enzimático produce un aumento del contenido en clorofilas y una disminución del contenido en carotenos ([Ranalli y De Matia, 1997](#)).

2.5.2.2. Extracción

Los diferentes sistemas de extracción (filtración selectiva, prensa, centrifugación en dos y tres fases) pueden incidir de diferente forma en el color del aceite obtenido.

Los aceites obtenidos utilizando el sistema de centrifugación parecen ser más oscuros que los que se obtiene por extracción parcial, lo que se atribuye a una mayor cantidad de clorofilas extraídas por un mayor tiempo de batido ([Kiritsakis et al., 1985](#)). Los aceites obtenidos por sistemas de percolación presentaron menos intensidad de color y menor contenido de pigmentos clorofílicos y carotenoides ([Ranalli, 1992b](#)).

En otro estudio, los aceites obtenidos por sistemas de extracción forzada (prensa y centrifugación), presentaron también concentraciones de pigmentos superiores a los de extracción parcial. El aceite de máxima calidad (extracción parcial), presentó los menores

índices pigmentarios ([Papasseit, 1986](#)). Comparando los aceites obtenidos por el sistema de prensa frente a los de sistema continuo, se observó que el contenido en β -caroteno tiende a ser mayor en los primeros ([Hidalgo et al., 1993](#)).

En aceites procedentes de aceitunas de buena calidad, el contenido en pigmentos clorofílicos es mayor cuando se obtienen por molino de martillos y centrifugación que por presión con empiedro ([Graell et al., 1992](#)).

Los aceites obtenidos por centrifugación en dos fases muestran menos contenido en pigmentos clorofílicos y carotenoides que los obtenidos por el sistema de tres fases aunque la relación entre clorofilas y carotenoides no varía ([Ranalli y Angerosa, 1996](#)).

En un estudio sobre la influencia de una segunda centrifugación en las características del aceite, se ha observado que se producían importantes cambios en el color, apareciendo más oscuros y con tonos pardos ([Alba et al., 1996](#)).

Por otro lado, se ha estudiado también la influencia de las diferentes condiciones utilizadas en el sistema de centrifugación. Se ha observado que los índices de pigmentos aumentan conforme aumenta la cantidad de agua adicionada a la masa durante el proceso de centrifugación. El aumento de las clorofilas se puede explicar por la acción físico-mecánica del agua que al chocar favorece la mezcla, acción que facilita la solubilización en el aceite de la clorofila, contenida principalmente en el tejido lipodérmico. Algo parecido ocurre con la fracción carotenoide, igualmente insoluble en agua y soluble en aceite ([Ranalli, 1988](#)).

2.5.2.3. *Conservación*

Las radiaciones luminosas son la principal causa de la pérdida del color del aceite, por lo que es de gran importancia el material de los diferentes tipos de envases y depósitos que se utilizan para su conservación, así como todas las demás condiciones de almacenamiento.

Durante el periodo de almacenamiento en bodega de aceites de la Denominación de Origen “Borjas Blancas”, se ha observado una pérdida en la intensidad del color del aceite

produciéndose en general un lento y continuo descenso de los índices de color clorofílico y carotenoides ([Graell et al., 1992](#)).

De los envases que permiten pasar la luz, el polietileno parece ser mejor que el vidrio y el PVC, aunque sólo en los primeros meses de almacenamiento. Esto se atribuye a que al ser la decoloración un fenómeno sensiblemente fotoquímico, durante las primeras semanas de oxidación el aceite envasado en polietileno (más permeable al oxígeno pero menos a la luz), es el menos decolorado, si bien cuando la oxidación es muy elevada, la decoloración de aceite de este envase llega a igualar e incluso a sobrepasar a la de los aceites envasados en los demás materiales transparentes.

Por otra parte, se ha estudiado el efecto de la temperatura en las características cromáticas de aceites vegetales, entre ellos aceite de oliva. Las características espectrales del aceite de oliva sufren un marcado cambio tanto con el aumento de temperatura como con el tiempo ([Guillén et al., 1991](#)).

El grado en que la luz influye en la estabilidad del aceite depende, en gran medida, de su composición. Los pigmentos naturales que pasan del fruto al aceite pueden incidir sensiblemente en su estabilidad durante el almacenamiento ([Kiritsakis, 1991](#)). El oxígeno en estado singlete es diferente del oxígeno atmosférico en el estado triple en órbita molecular. Este oxígeno es conocido por su reactividad, que produce una velocidad acelerada de oxidación y, por consiguiente un índice de peróxidos más elevado. La clorofila y la feofitina pueden actuar como fotosensibilizadores que producen oxígeno singlete en presencia de luz, favoreciendo por tanto la fotooxidación del aceite de oliva, mientras que en la oscuridad estos pigmentos tienen un efecto antioxidante. Los carotenos, sin embargo, pueden retrasar la fotooxidación desactivando el oxígeno singlete.

El efecto de la luz en la estabilidad del aceite de oliva se ha estudiado utilizando aceite de oliva sin decolorar, que contiene pigmentos naturales (clorofila, feofitina y carotenos), y muestras de aceite decolorado a las que se añadió β -caroteno y α -tocoferol. El aceite sin decolorar está más expuesto a la oxidación por la luz que el aceite decolorado. También se comprobó que la velocidad de fotooxidación se redujo gracias a la adición de β -caroteno y α -tocoferol, que actuaron desactivando el oxígeno singlete, y por tanto, reduciendo la oxidación del aceite ([Kiritsakis y Osman, 1995](#)).

El aceite de oliva virgen puede consumirse durante la campaña de extracción, aunque por razones comerciales se almacena, en primer lugar, en depósitos de acero inoxidable y, posteriormente, se envasa y se comercializa durante uno o dos años. El almacenamiento del aceite de oliva virgen origina cambios en las características fisicoquímicas y organolépticas del mismo y, por consiguiente, en los compuestos fenólicos ([García, 2003](#)). En general, los polifenoles totales determinados colorimétricamente tienden a disminuir con el tiempo ([Gutiérrez y Fernández, 2002](#)). Sin embargo, cuando se han analizado individualmente algunos de éstos compuestos, se ha encontrado un comportamiento contradictorio. Así, se ha indicado que tanto el hidroxitirosol como el tirosol aumentan su concentración con el tiempo de almacenamiento ([Pagliarini et al., 2000](#)), o bien aumentan durante cierto tiempo y después disminuyen ([Cinquanta et al., 2001](#)).

En cuanto al contenido en tocoferoles, largos periodos de almacenamiento hacen disminuir la cantidad de α -tocoferol presente en el aceite de oliva virgen ([Deiana et al., 2002](#)).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales

3.1.1. Microalga *Scenedesmus almeriensis*

La microalga clorofícea *Scenedesmus almeriensis* ([Figura 10](#)) se ha catalogado como una nueva especie, habiendo sido caracterizada genéticamente mediante secuenciación de rDNA e ITS en la colección de cultivo de algas de la Universidad de Göttingen (Alemania). Ha sido aislada por el departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Almería y depositada en la Colección de Cultivos de Algas y Protozoos (CCAP) con el código CCAP 276/24. Esta especie ha sido patentada por la Universidad de Almería y la Fundación Cajamar para la producción industrial de antioxidantes y extractos ricos en luteína y β -caroteno de aplicaciones biotecnológicas ([Figura 11](#)). Se trata de una microalga termófila que muestra una temperatura óptima de crecimiento de 35°C, que soporta temperaturas de hasta 48°C, lo que la hace especialmente apta para su producción en externo ([Sánchez et al., 2008](#)). Esta microalga puede llegar a acumular hasta el 1% de

su peso en luteína. Su velocidad de crecimiento es alta en comparación con otras especies de microalgas, lo que reduce el riesgo de contaminaciones en los cultivos. La productividad de biomasa llega a valores de hasta 0.95 g/(L·día), siendo la productividad de luteína de hasta 5.3 mg/L·día ([Sánchez et al., 2008](#)).

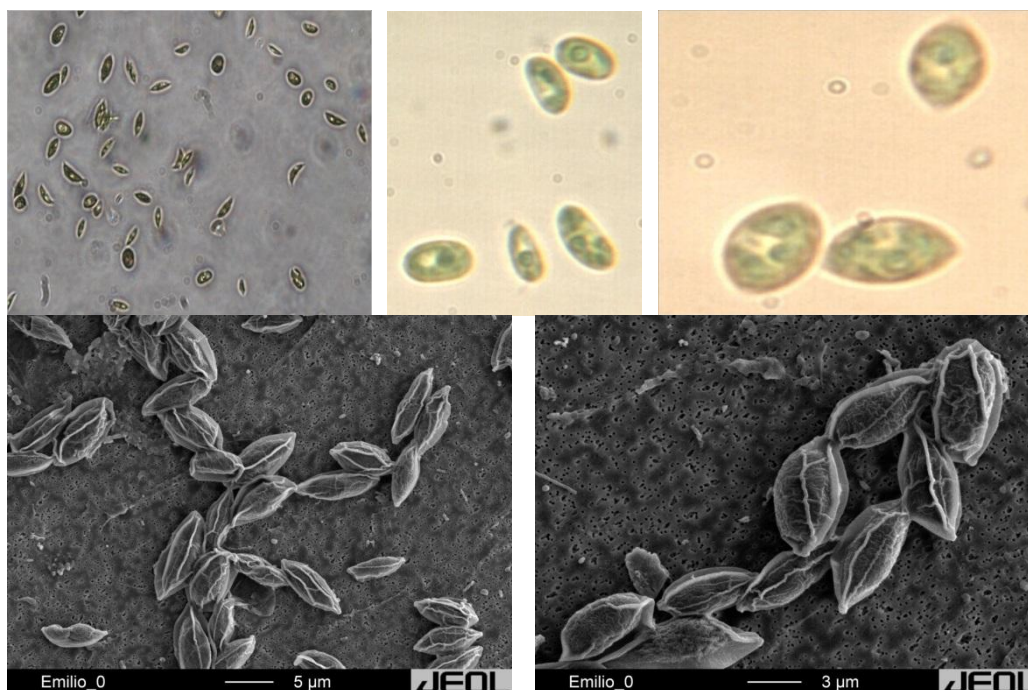


Figura 10 Imágenes de *S. almeriensis* tomadas mediante microscopio óptico y electrónico.



Figura 11 Imagen de la biomasa liofilizada de *Scenedesmus almeriensis*.

3.1.2. Aceites

Se han utilizado aceites de oliva virgen extra procedentes de cuatro diferentes variedades de aceituna: Arbequina, Frantoio, Picual y Royal. Estos aceites proceden de la empresa Castillo de Canena, que generosamente nos ha suministrado las muestras para nuestro estudio.

Para estudiar la influencia del índice de maduración del fruto sobre la estabilidad de los aceites, Castillo de Canena nos envió aceite de oliva virgen extra de la variedad Picual de los meses de Octubre, Noviembre y Diciembre de 2014, en los que se utilizó el mismo proceso de extracción y donde lo único que varió fue la época de recolección de la aceituna.

Además de los siete aceites de oliva virgen extra ya citados (cuatro por variedad de fruto y tres por índice de maduración), el estudio ha contado con tres marcas comerciales de aceite de girasol (Coosol, Hacendado y Koipesol) y un aceite de maíz (Koipe Asua), para realizar un estudio comparativo de la estabilidad de nuestro extracto de antioxidantes en aceites de oliva virgen extra y en aceites refinados de semillas.

3.2. Métodos

3.2.1. Extracción y purificación de antioxidantes

Se han estudiado diferentes metodologías para la obtención de los antioxidantes de nuestra microalga, siendo la que mejor resultado ha arrojado la extracción con hexano. Previo a la recuperación de antioxidantes se ha estudiado el proceso de ruptura celular, habiendo ensayado metodologías tales como: ultrasonidos, presión, congelación-descongelación y molino de bolas. Los mejores resultados se han obtenido usando molino de bolas con los siguientes parámetros de operación: 10 minutos de molienda, bolas de 2'8 cm de diámetro y adición de alúmina como coadyuvante.

Proceso de extracción:

Inicialmente se procedió al proceso de saponificación utilizando los valores óptimos encontrados: temperatura (40 °C), tiempo de procesado (5 min), concentración de KOH (40 g/L) y concentración de biomasa (100 g/L). A continuación se realizó la extracción con hexano, cuyo número de extracciones óptimo ha sido de ocho (95 % de recuperación de luteína) y con una proporción muestra/disolvente igual a 1:1.

Posteriormente se eliminó el disolvente utilizando un rotavapor y obteniendo nuestro concentrado en antioxidantes de intenso color rojo anaranjado. A continuación, se adicionó para arrastrar y recuperar el extracto, aceite de oliva virgen extra, obteniendo de

esta forma una disolución de antioxidantes en aceite de una concentración igual a 132 mg de carotenoides / ml de aceite ([Figura 12](#)).

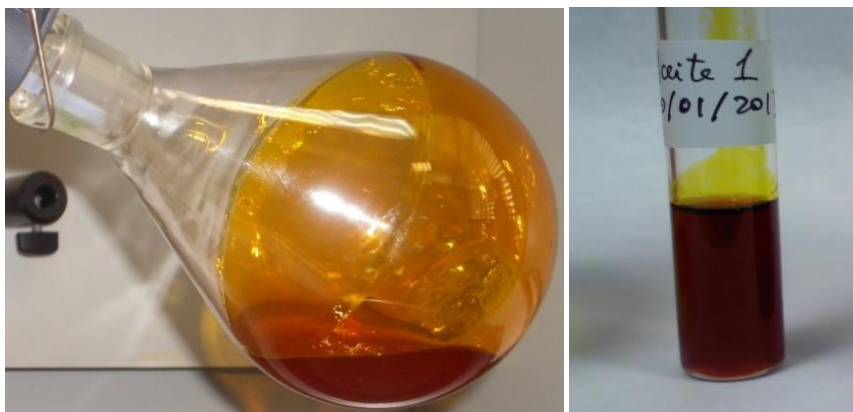


Figura 12 Extracto de antioxidantes (132 mg/ml) en aceite de oliva virgen extra.

3.2.2. Caracterización colorimétrica de antioxidantes y aceites

La determinación espectrofotométrica del color se ha utilizado para caracterizar y monitorizar las muestras de aceites. Así, las medidas de color se han realizado utilizando 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. Se ha utilizado iluminante D65 y observador patrón colorimétrico CIE 1931. Tras la correspondiente calibración del instrumento se procedió a medir los parámetros de color para las muestras. Así, se colocaron 14 ml de cada aceite en dos cubetas transparentes de plástico con unas dimensiones de 4.2 x 3.2 x 1.0 cm ([Figura 13](#)). Una de las cubetas solo contendrá el aceite mientras que la segunda llevará incorporados 303 μ l de extracto (foto-estabilidad) o 368 μ l (termo-estabilidad), midiendo los valores de los parámetros colorimétricos de cada muestra generada (L^* , a^* , b^*), así como la variación del ΔE^*_{ab} por comparación con el aceite original.

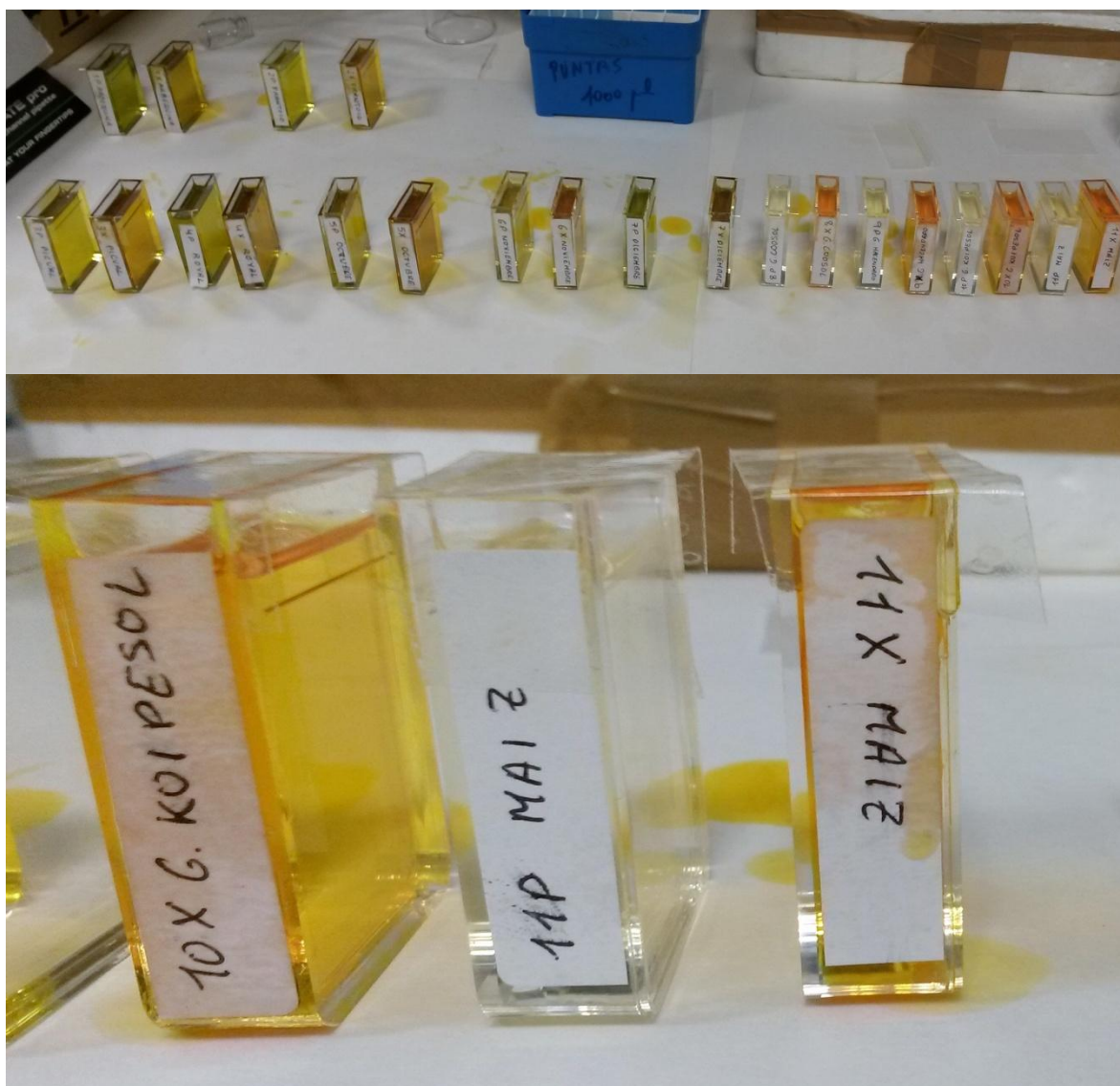


Figura 13 Muestras de aceite (patrón y con antioxidantes) para el estudio de foto-estabilidad (arriba) y detalle de las cubetas de plástico y nomenclatura (abajo).

3.2.3. Medidas de estabilidad de los aceites

En cuanto a las medidas de estabilidad de los aceites enriquecidos en antioxidantes, éstas se han llevado a cabo utilizando las variaciones del color de dichos aceites comparados con los mismos sin enriquecer con extracto, como control de partida. Para las medidas de fotoestabilidad se han sometido las muestras a exposición continua bajo luz ultravioleta en una cabina de control ([Figura 14](#)). Las medidas de control se tomaron a intervalos temporales distribuidos a lo largo de 65 días y se realizaron a temperatura ambiente (20 °C).

Para el caso de las medidas de termoestabilidad de los aceites enriquecidos, las muestras se sumergieron en un termostato de precisión Julabo, dotado de líquido Thermal H5S para poder trabajar a 120 °C. Las medidas se tomaron en dos semanas. La primera semana se midieron valores de ΔE^*_{ab} a cinco aceites (cuatro AOVEs de variedad y el aceite de maíz) cada cierto tiempo durante 144 horas. Ya que no hubo diferencias significativas en los ΔE^*_{ab} entre las dos últimas medidas (72 horas y 144 horas respectivamente), la segunda semana se le midieron valores de ΔE^*_{ab} a los seis aceites restantes (tres AOVEs por madurez de fruto y tres aceites de girasol) durante solo 84 horas.

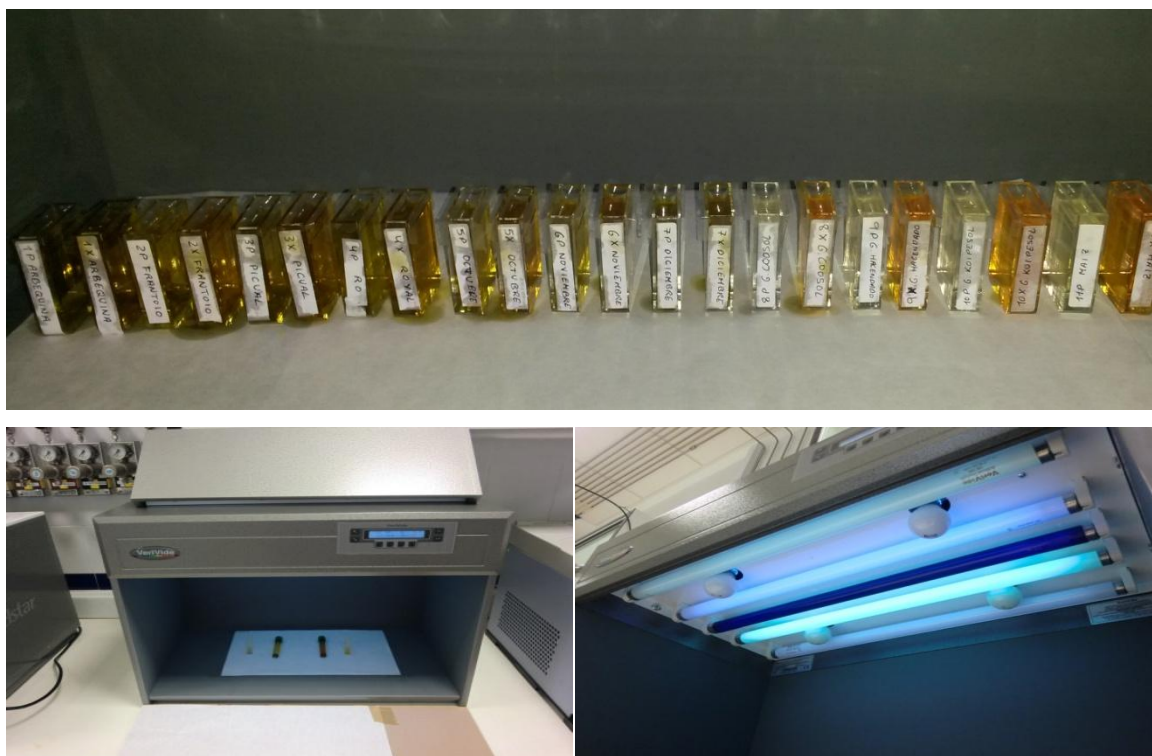


Figura 14 Muestras de aceites sometidas a iluminación en cabina de control de iluminación (arriba), detalle de la cabina de iluminación ultravioleta (izquierda) y detalle de las lámparas (derecha).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Extracción y purificación de antioxidantes

Se ha optimizado un método que incluye tres etapas: rotura celular, saponificación y extracción con hexano. Se ha demostrado que la rotura celular es necesaria con el fin de mejorar el rendimiento de extracción y que la mejor alternativa para aplicaciones industriales es el uso de un molino de bolas. El uso del molino de bolas asegura un ambiente cerrado que previene la desnaturalización de los antioxidantes por oxidación. En

lo que se refiere a la etapa de saponificación, se ha determinado que las condiciones óptimas son la saponificación durante 5 minutos, utilizando una solución de KOH al 4% y una concentración máxima de biomasa de $100 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Se ha observado que la saponificación durante un tiempo mayor o a concentraciones de KOH superiores reduce el rendimiento del proceso por degradación de los antioxidantes. Finalmente, se ha optimizado la extracción con hexano como disolvente biocompatible aceptado para productos de uso alimentario. Para ello se ha propuesto un proceso de extracción líquido-líquido en contracorriente que, con 8 etapas de extracción y una proporción en volumen 1:1 de hexano y de muestra, permite recuperar el 95% de los antioxidantes contenidos en la biomasa. Con el fin de eliminar el hexano, resulta necesario un proceso de destilación en vacío y, para estabilizar los carotenoides se recomienda solubilizarlos en aceite de oliva, obteniéndose un producto que puede ser usado directamente como complemento en antioxidantes o en la formulación de alimentos especiales para consumo humano o animal ([Figura 15](#)).



Figura 15 Imagen de la biomasa de *Scenedesmus almeriensis* y del extracto de carotenoides resuspendido en aceite de oliva.

4.2. Obtención y caracterización de aceites enriquecidos en carotenoides

La composición de nuestro extracto ha sido de 14,55% en peso de antioxidantes (13,3% de β -caroteno, 0,25% de luteína y 1% de otros carotenoides). Para obtener una concentración en mg/ml necesitamos calcular la densidad con un pignómetro:

Peso del pignómetro vacío	31,569 g
Peso del pignómetro con agua	58,354 g
Densidad del agua a la temperatura del laboratorio (26 °C)	0,9968 g/cm ³
Volumen del pignómetro ^{1*}	26,871 ml
Peso del pignómetro más extracto	55,941 g
Densidad del extracto ^{2*}	0,91 g/ cm ³

$$1^* \rightarrow V_{pig.} = \frac{58,354 \text{ g} - 31,569 \text{ g}}{0,9968 \text{ g/cm}^3} = 26,871 \text{ cm}^3 = 26,871 \text{ ml} \quad (3)$$

$$2^* \rightarrow \rho_{ext.} = \frac{55,941 \text{ g} - 31,569 \text{ g}}{26,871 \text{ cm}^3} = 0,907 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3} \approx 0,91 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3} \quad (4)$$

$$\frac{14,55 \text{ g antioxidantes}}{100 \text{ g extracto}} \times 0,91 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3} = 0,132 \frac{\text{g antiox.}}{\text{ml extracto}} = 132 \frac{\text{mg antiox.}}{\text{ml extracto}} \quad (5)$$

Una vez obtenido el extracto de antioxidantes (132 mg/ml) procedente del correspondiente tratamiento de la biomasa de la microalga *Scenedesmus almeriensis*, procedemos a caracterizar los diferentes aceites. Para ello calcularemos la cantidad de extracto necesaria para alcanzar una determinada concentración al añadirse a los aceites. Para este trabajo elegimos una concentración de 2,8 mg carotenoides/ ml de aceite, que nos aportaría a la dieta alrededor de 100 mg/día de antioxidantes entre [β-caroteno \(90,5 mg/día\)](#), [luteína \(1,7 mg/día\)](#) y [otros carotenoides \(6,8 mg/día\)](#).

$$\frac{13,3 \text{ mg } \beta\text{-caroteno}}{14,55 \text{ mg carotenoides}} \times 2,8 \frac{\text{mg carotenoides}}{\text{ml aceite}} = 2,559 \frac{\text{mg } \beta\text{-caroteno}}{\text{ml aceite}} \quad (6)$$

$$\frac{0,25 \text{ mg luteína}}{14,55 \text{ mg carotenoides}} \times 2,8 \frac{\text{mg carotenoides}}{\text{ml aceite}} = 0,048 \frac{\text{mg luteína}}{\text{ml aceite}} \quad (7)$$

$$\frac{1 \text{ mg otros}}{14,55 \text{ mg carotenoides}} \times 2,8 \frac{\text{mg carotenoides}}{\text{ml aceite}} = 0,192 \frac{\text{mg otros}}{\text{ml aceite}} \quad (8)$$

Si sumamos el consumo anual per cápita de aceite de oliva (9,6 litros/año) junto con los de aceite de girasol (3,3 litros/año) ([olimerca](#)):

$$\frac{12,9 \text{ l}}{\text{año}} \times \frac{1000 \text{ ml}}{\text{l}} \times \frac{1 \text{ año}}{365 \text{ días}} \times \frac{2,559 \text{ mg } \beta\text{-caroteno}}{\text{ml aceite}} \approx 90,5 \frac{\text{mg } \beta\text{-caroteno}}{\text{día}} \quad (9)$$

$$\frac{12,9 \text{ l}}{\text{año}} \times \frac{1000 \text{ ml}}{\text{l}} \times \frac{1 \text{ año}}{365 \text{ días}} \times \frac{0,048 \text{ mg luteína}}{\text{ml aceite}} \approx 1,7 \frac{\text{mg luteína}}{\text{día}} \quad (10)$$

$$\frac{12,9 \text{ l}}{\text{año}} \times \frac{1000 \text{ ml}}{\text{l}} \times \frac{1 \text{ año}}{365 \text{ días}} \times \frac{0,192 \text{ mg otros}}{\text{ml ceite}} \approx 6,8 \frac{\text{mg otros}}{\text{día}} \quad (11)$$

Estudio de foto-estabilidad:

Para tener una concentración de 2,8 mg carotenoides/ ml aceite necesitamos añadir a nuestras cubetas con 14 ml de aceite:

$$\frac{x \text{ ml} \cdot 0,132 \frac{\text{g carotenoides}}{\text{ml aceite}}}{(14+x) \text{ ml}} = 0,0028 \frac{\text{g carotenoides}}{\text{ml aceite}}; x = 0,303 \text{ ml} = 303 \mu\text{l} \quad (12)$$

Una vez añadido el extracto, medimos las coordenadas L*, a* y b* de las 22 cubetas de aceite, que nos servirán de punto de partida de degradación. En la [Tabla 2](#), tenemos las coordenadas de los aceites sin añadirles antioxidantes, mientras que en la [Tabla 3](#), tenemos las coordenadas de los aceites enriquecidos en antioxidantes.

Tabla 2 Parámetros colorimétricos de aceites utilizados en las experiencias sin enriquecimiento en antioxidantes procedente de la microalga *Scenedesmus almeriensis*.

Nombre	Aceite	Variedad/marca	L*	a*	b*
1P	Oliva	Arbequina	82,63	0,49	118,67
2P	Oliva	Frantoio	87,06	2,36	113,36
3P	Oliva	Picual	82,05	5,83	122,65
4P	Oliva	Royal	81,14	5,54	122,10
5P	Oliva	P. Octubre	82,80	6,49	123,07
6P	Oliva	P. Noviembre	85,70	3,94	118,68
7P	Oliva	P. Diciembre	83,65	5,23	126,3
8P	Girasol	Coosol	99,51	-1,29	4,87
9P	Girasol	Hacendado	99,18	-2,08	7,92
10P	Girasol	Koipesol	99,34	-1,54	6,35
11P	Maíz	Koipe Asua	99,07	-2,34	9,87

Tabla 3 Parámetros colorimétricos de aceites utilizados en las experiencias enriquecidos en antioxidantes (2,8 mg carotenoides / ml de aceite) procedente de la microalga *Scenedesmus almeriensis*.

Nombre	Aceite	Variedad/marca	L*	a*	b*
1X	Oliva	Arbequina	76,21	18,41	126,9
2X	Oliva	Frantoio	80,47	20,35	133,38
3X	Oliva	Picual	76,63	20,57	127,51
4X	Oliva	Royal	75,44	20,88	125,99
5X	Oliva	P. Octubre	76,94	22,36	128,28
6X	Oliva	P. Noviembre	79,12	21,78	131,40
7X	Oliva	P. Diciembre	77,46	21,74	129,34
8X	Girasol	Coosol	84,96	19,38	138,38
9X	Girasol	Hacendado	84,32	20,74	138,18
10X	Girasol	Koipesol	84,43	20,59	138,19
11X	Maíz	Koipe Asua	84,32	20,94	138,31

Tabla 4 Diferencias de color por parámetros colorimétricos de aceites enriquecidos frente a aceites patrón. Los valores son la media aritmética de tres determinaciones.

Número	Aceite	Variedad/marca	dL*	da*	db*	ΔE^{*ab}
1	Oliva	Arbequina	-6,42	17,92	8,23	20,74
2	Oliva	Frantoio	-6,59	17,99	20,02	27,71
3	Oliva	Picual	-5,42	14,74	4,86	16,44
4	Oliva	Royal	-5,7	15,34	3,89	16,82
5	Oliva	P. Octubre	-5,86	15,87	5,21	17,70
6	Oliva	P. Noviembre	-6,58	17,84	12,72	22,88
7	Oliva	P. Diciembre	-6,19	16,51	3,04	17,89
8	Girasol	Coosol	-14,55	20,67	133,51	135,88
9	Girasol	Hacendado	-14,86	22,82	130,26	133,08
10	Girasol	Koipesol	-14,91	22,13	131,84	134,51
11	Maíz	Koipe Asua	-14,75	23,28	128,44	131,36

Los resultados obtenidos en la [Tabla 4](#) muestran como con la adición del extracto, el color verdoso (oliva) o amarillo (girasol y maíz) de los aceites originales se modifica, en el sentido de que su claridad L*, disminuye (se obtienen aceites más oscuros), siendo más acentuada en los aceites de girasol y maíz (aceites muy claros inicialmente) y sus

coordenadas a^* y b^* aumentan ambas, en mayor cuantía la coordenada a^* para los aceites de oliva (a excepción de la variedad Frantoio) y en mayor cuantía la coordenada b^* en los aceites de semillas (sobre todo en los de girasol y maíz, que tenían una saturación muy baja), de forma que el ángulo de tono disminuye y el croma aumenta (es decir, los aceites presentan un color más anaranjado y saturado). Estos cambios de color eran de esperar, teniendo en cuenta el color oscuro y fuertemente rojo-anaranjado del extracto de antioxidantes adicionado ([Figura 12](#)).

El parámetro ΔE^*_{ab} es el que indica la diferencia de color entre dos muestras sujetas a comparación. Para comprobar la degradación de las 22 muestras de aceite con el tiempo utilizaremos este ΔE^*_{ab} y después lo representaremos gráficamente en ordenadas frente a los días en abscisas, obteniendo así la curva de degradación de cada aceite.

El color que se obtiene con la adición del extracto obviamente difiere del color original del aceite sin enriquecer, aunque esta diferencia es poco significativa en el caso de los aceites de oliva ($\Delta E^*_{ab} < 30$).

Estudio de termo-estabilidad:

Para tener una concentración de 2,8 mg carotenoides/ ml aceite necesitamos añadir a nuestros tubos con 17 ml de aceite:

$$\frac{x \text{ ml} \cdot 0,132 \frac{\text{g carotenoides}}{\text{ml aceite}}}{(17+x) \text{ ml}} = 0,0028 \frac{\text{g carotenoides}}{\text{ml aceite}}; x = 0,368 \text{ ml} = 368 \mu\text{l} \quad (13)$$

4.3. Estudios de estabilidad de los aceites enriquecidos en carotenoides

Los cambios de tipo químico que se producen en los aceites suelen deberse a variables tales como la exposición a la luz, la temperatura y transcurso del tiempo desde la obtención de los mismos. Estas alteraciones con respecto a las propiedades iniciales de los aceites, se pueden monitorizar siguiendo el cambio del color en los mismos, ya que existe una estrecha relación entre los cambios químicos y la variación del color de la matriz (degradación de la misma) ([Limón et al., 2015](#)).

En este sentido, seguir los cambios de color en los aceites es un método relativamente sencillo para evaluar la estabilidad de los mismos frente a las principales

variables de que depende su degradación. Así, se ha estudiado la degradación de distintos aceites frente a la exposición a radiación electromagnética (foto-estabilidad) y frente al calentamiento (termo-estabilidad).

4.3.1. Estabilidad en función de la radiación incidente: foto-estabilidad

Para el estudio de la estabilidad de los aceites frente a la radiación electromagnética (foto-estabilidad), exponemos los aceites a radiación ultravioleta para acelerar el proceso de degradación, reduciendo a dos meses un estudio que podría llevar mucho más tiempo con luz natural. Para llevar a cabo este experimento, hemos introducido las 22 muestras de aceite durante 65 días en una cabina de control de iluminación ([Figura 14](#)), obteniendo los siguientes resultados:

4.3.1.1 Foto-estabilidad en función de la variedad de fruto de los AOVEs

AOVE variedad Arbequina:

Tabla 5: Degradación de color del AOVE variedad Arbequina (Patrón) durante 65 días

Días	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*_{ab}(D65)$
Patrón	82,63	0,49	118,67	-----
0	82,63	0,50	118,50	0,17
1	82,90	1,51	118,30	1,11
2	82,60	3,09	117,20	2,99
5	83,62	5,03	115,70	5,52
7	84,44	5,13	114,78	6,31
9	85,38	4,68	114,16	6,73
12	86,04	4,09	112,89	7,61
14	86,83	3,29	111,52	8,75
16	87,51	2,51	109,95	10,20
19	88,33	1,61	107,44	12,64
21	88,81	0,96	105,42	14,62
23	89,24	0,48	103,65	16,41
26	89,78	-0,19	100,69	19,36
28	90,18	-0,80	98,25	21,81
30	90,52	-1,24	95,76	24,29
33	91,07	-1,91	91,39	28,66
35	91,43	-2,34	88,32	31,73
37	91,83	-2,80	84,75	35,30
40	92,26	-3,15	80,02	39,99
42	92,68	-3,54	76,16	43,87
44	93,11	-3,90	71,96	48,07

47	93,66	-4,20	65,62	54,39
49	94,14	-4,46	60,49	59,52
51	94,66	-4,60	54,62	65,37
54	95,51	-4,58	44,82	75,13
56	96,13	-4,38	37,72	82,21
58	96,73	-3,98	30,99	88,92
61	97,13	-3,62	26,45	93,45
63	97,71	-3,07	20,61	99,28
65	98,16	-2,54	16,14	103,75

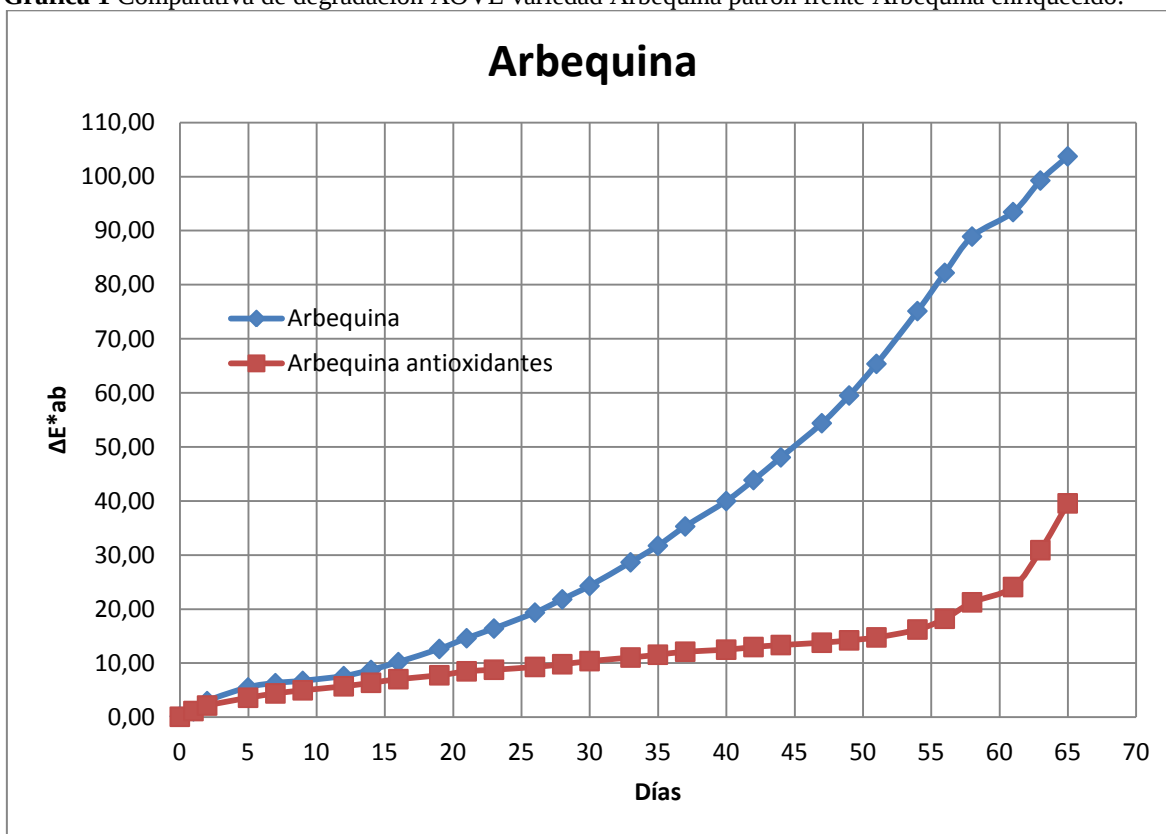
Tabla 6: Degradación de color del AOVE variedad Arbequina enriquecido en antioxidantes durante 65 días

Días	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*ab(D65)$
Patrón	76,21	18,41	126,9	-----
0	76,22	18,39	126,99	0,09
1	76,34	19,50	127,26	1,15
2	76,16	20,58	126,86	2,17
5	77,08	21,63	128,28	3,61
7	77,75	21,86	129,18	4,41
9	78,38	21,79	129,87	4,99
12	78,99	21,61	130,75	5,73
14	79,62	21,19	131,53	6,38
16	80,23	20,60	132,26	7,05
19	80,89	19,90	132,92	7,77
21	81,42	19,13	133,57	8,50
23	81,63	18,78	133,81	8,79
26	82,18	18,00	134,03	9,31
28	82,61	17,29	134,25	9,81
30	82,98	16,73	134,61	10,39
33	83,55	15,84	134,75	11,05
35	83,95	15,20	134,87	11,57
37	84,38	14,47	134,94	12,12
40	84,82	13,78	134,69	12,50
42	85,27	13,00	134,47	12,99
44	85,69	12,15	133,94	13,36
47	86,23	11,10	132,91	13,79
49	86,72	10,08	131,63	14,23
51	87,20	9,02	129,93	14,77
54	87,98	7,26	126,24	16,23
56	88,55	5,81	122,32	18,22
58	89,14	4,46	117,40	21,26
61	89,57	3,49	113,52	24,09
63	90,38	1,62	105,16	30,91
65	91,25	-0,14	95,35	39,57

Una vez tenemos los datos del estudio de foto-estabilidad para el aceite de oliva de la variedad arbequina, tanto en el patrón (Tabla 5) como en el aceite enriquecido en antioxidantes (Tabla 6), se representan en la gráfica 1 para comparar las curvas de degradación. Como se aprecia en la gráfica, a partir de los 14 primeros días, el aceite patrón comienza a degradarse más rápido (ya que habrá perdido la mayor parte de sus antioxidantes, quedando más expuesto a la radiación ultravioleta) que el aceite enriquecido, llegando a superar el valor de 100 unidades de ΔE^*ab , que muestra la diferencia de color con la muestra inicialmente preparada.

El aceite enriquecido, sin embargo, no presenta una rápida degradación hasta los 61 días, no llegando a superar las 40 unidades de ΔE^*ab al final del experimento.

Gráfica 1 Comparativa de degradación AOVE variedad Arbequina patrón frente Arbequina enriquecido.



AOVE variedad Frantoio:

Tabla 7: Degradación de color del AOVE variedad Frantoio (Patrón) durante 65 días

Días	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*ab(D65)$
Patrón	87,06	2,36	113,36	-----
0	87,06	2,36	113,33	0,03
1	87,16	2,12	112,25	1,14
2	87,00	2,31	110,96	2,40

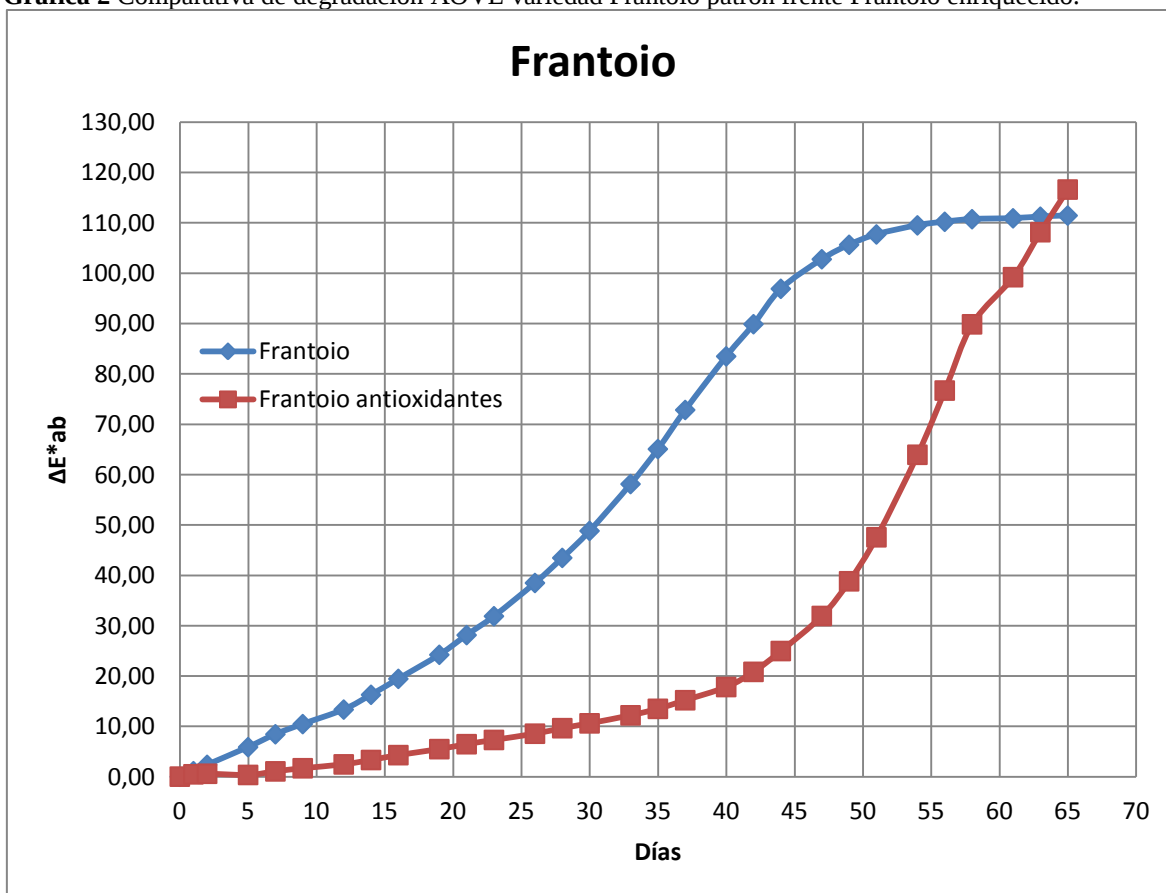
5	87,67	1,74	107,52	5,91
7	88,26	1,32	105,04	8,47
9	88,78	0,89	103,11	10,49
12	89,42	0,38	100,35	13,37
14	90,05	-0,08	97,51	16,31
16	90,72	-0,63	94,48	19,47
19	91,41	-1,31	89,78	24,25
21	91,89	-1,88	85,94	28,16
23	92,32	-2,31	82,24	31,91
26	93,00	-2,91	75,68	38,51
28	93,50	-3,40	70,74	43,49
30	93,99	-3,72	65,39	48,85
33	94,80	-4,10	56,09	58,15
35	95,40	-4,23	49,13	65,10
37	96,09	-4,21	41,37	72,86
40	97,03	-3,79	30,67	83,51
42	97,67	-3,39	24,29	89,89
44	98,36	-2,77	17,23	96,92
47	98,93	-2,04	11,36	102,79
49	99,24	-1,61	8,48	105,66
51	99,45	-1,26	6,42	107,72
54	99,63	-0,92	4,61	109,52
56	99,70	-0,78	3,91	110,23
58	99,76	-0,68	3,40	110,74
61	99,77	-0,63	3,22	110,92
63	99,83	-0,58	2,90	111,24
65	99,86	-0,54	2,68	111,46

Tabla 8: Degradación de color del AOVE variedad Frantoio enriquecido en antioxidantes durante 65 días

Días	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*ab(D65)$
Patrón	80,47	20,35	133,38	-----
0	80,47	20,36	133,32	0,06
1	80,26	20,78	133,17	0,52
2	80,18	20,78	133,02	0,63
5	80,63	20,01	133,27	0,39
7	80,97	19,38	133,51	1,10
9	81,26	18,85	133,69	1,72
12	81,60	18,20	133,92	2,49
14	82,05	17,56	134,40	3,36
16	82,52	16,83	134,83	4,33
19	83,17	15,84	135,08	5,52
21	83,65	15,02	135,29	6,50
23	84,09	14,34	135,51	7,34
26	84,78	13,20	135,32	8,58

28	85,35	12,16	135,03	9,68
30	85,87	11,25	134,55	10,64
33	86,62	9,80	132,72	12,23
35	87,15	8,77	131,35	13,52
37	87,70	7,63	129,18	15,23
40	88,35	6,34	125,61	17,85
42	88,93	5,12	121,92	20,86
44	89,54	3,77	117,02	25,00
47	90,36	2,09	109,09	31,96
49	91,07	0,62	101,64	38,85
51	91,86	-0,85	92,33	47,59
54	93,28	-2,91	75,18	63,97
56	94,37	-3,98	61,96	76,72
58	95,53	-4,49	48,34	89,87
61	96,40	-4,55	38,66	99,23
63	97,27	-4,22	29,38	108,17
65	98,10	-3,57	20,60	116,63

Gráfica 2 Comparativa de degradación AOVE variedad Frantoio patrón frente Frantoio enriquecido.



Una vez tenemos el estudio de foto-estabilidad para el AOVE variedad frantoio ([Tabla 7](#)) para el patrón y ([Tabla 8](#)) para el aceite enriquecido en antioxidantes,

representamos la [gráfica 2](#) para comparar las curvas de degradación. Como se aprecia en la gráfica, desde el primer día el aceite patrón comienza a degradarse mucho más rápido que el aceite enriquecido, que hasta los 44 días no presenta una rápida degradación. Ambos aceites superaron las 100 unidades de ΔE^*ab antes de terminar el experimento (45 días para el patrón y 61 días para el aceite enriquecido), lo que nos indica que la cantidad inicial de antioxidantes presentes en el aceite de la variedad Frantoio es mucho menor que, por ejemplo, en el aceite de la variedad Arbequina. Así, en AOVE variedad Arbequina no se superaba un valor de $\Delta E^*ab > 20$ hasta llegar a los 58 días de exposición, mientras que ahora un AOVE variedad Frantoio supera este valor a los 42 días (16 días antes).

AOVE variedad Picual:

Tabla 9: Degradación de color del AOVE variedad Picual (Patrón) durante 65 días

Días	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*ab(D65)$
Patrón	82,05	5,83	122,65	-----
0	82,05	5,83	122,66	0,01
1	82,39	6,14	122,48	0,49
2	82,29	7,20	121,62	1,73
5	83,66	7,48	120,53	3,13
7	84,53	6,84	119,86	3,86
9	85,18	6,24	119,12	4,73
12	85,86	5,50	117,82	6,16
14	86,51	4,81	116,35	7,78
16	87,18	4,10	114,67	9,64
19	88,03	3,26	111,91	12,56
21	88,58	2,59	109,67	14,88
23	89,04	2,08	107,60	17,02
26	89,70	1,28	103,86	20,79
28	90,18	0,60	100,78	23,91
30	90,61	0,03	97,46	27,22
33	91,28	-0,86	91,59	33,08
35	91,71	-1,43	87,42	37,24
37	92,18	-2,03	82,50	42,14
40	92,73	-2,56	75,60	48,97
42	93,27	-3,04	69,83	54,72
44	93,81	-3,45	63,38	61,13
47	94,63	-3,78	53,65	70,79
49	95,35	-3,92	45,71	78,68
51	96,12	-3,79	37,33	87,00
54	97,22	-3,24	25,86	98,38
56	97,84	-2,70	19,48	104,71
58	98,32	-2,17	14,66	109,49

61	98,59	-1,81	11,88	112,26
63	98,88	-1,47	9,43	114,70
65	99,09	-1,19	7,53	116,59

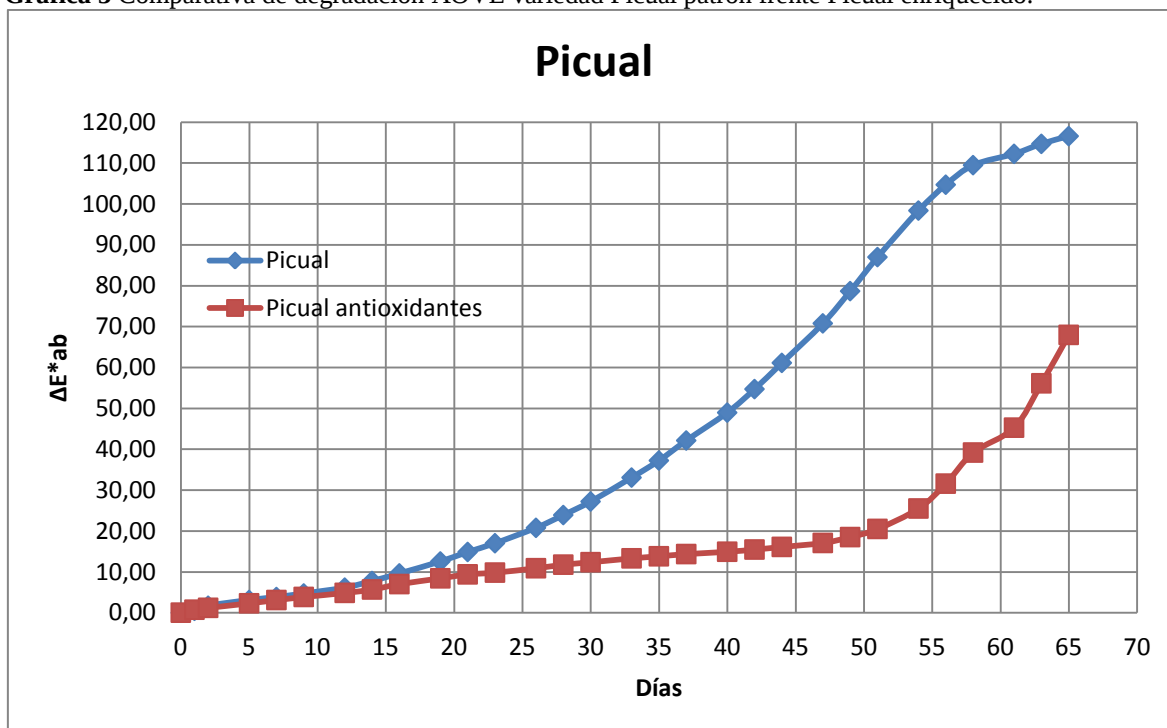
Tabla 10: Degradación de color del AOVE variedad Picual enriquecido en antioxidantes durante 65 días

	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*ab(D65)$
Días	76,63	20,57	127,51	-----
0	76,63	20,58	127,55	0,04
1	76,86	21,17	127,93	0,76
2	76,84	21,71	127,90	1,22
5	77,75	21,84	129,12	2,33
7	78,40	21,60	129,88	3,13
9	78,93	21,24	130,56	3,88
12	79,57	20,78	131,41	4,88
14	80,19	20,23	131,96	5,71
16	80,92	19,51	132,99	7,03
19	81,82	18,54	133,84	8,44
21	82,36	17,70	134,39	9,41
23	82,66	17,32	134,57	9,84
26	83,37	16,37	134,98	10,91
28	83,96	15,42	135,16	11,78
30	84,38	14,81	135,25	12,38
33	85,10	13,62	135,09	13,33
35	85,56	12,83	134,68	13,83
37	86,05	11,94	134,09	14,37
40	86,55	11,01	133,30	14,94
42	87,02	10,09	132,20	15,48
44	87,51	9,08	130,56	16,12
47	88,06	7,88	127,87	17,09
49	88,59	6,67	124,94	18,52
51	89,08	5,50	121,28	20,52
54	89,90	3,56	113,88	25,52
56	90,63	1,90	106,21	31,60
58	91,36	0,40	97,30	39,20
61	91,90	-0,57	90,48	45,29
63	92,88	-2,10	78,79	56,14
65	93,91	-3,26	66,24	67,98

Con los datos obtenidos durante los 65 días, recogidos en las Tablas [9](#) y [10](#) (aceite patrón y aceite enriquecido respectivamente), representamos las curvas de degradación de los aceites de la variedad Picual en la [gráfica 3](#). Al igual que en el caso de los aceites de la variedad arbequina, a partir de los 14 días, la degradación del aceite patrón comienza a ser más rápida que la degradación del aceite enriquecido, por el mismo motivo que en el caso

de la Arbequina. El aceite enriquecido aumenta su degradación a partir de los 51 días ($\Delta E^*ab > 20$).

Gráfica 3 Comparativa de degradación AOVE variedad Picual patrón frente Picual enriquecido.



AOVE variedad Royal:

Tabla 11: Degradación de color del AOVE variedad Royal (Patrón) durante 65 días

Días	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	ΔE*ab(D65)
Patrón	81,14	5,54	122,10	-----
0	81,15	5,54	121,98	0,12
1	81,47	6,20	121,74	0,82
2	81,39	7,45	120,78	2,34
5	83,08	7,38	119,95	3,43
7	84,02	6,58	119,20	4,22
9	84,87	5,89	118,41	5,26
12	85,54	5,28	116,98	6,75
14	86,22	4,63	115,44	8,42
16	87,22	3,88	113,12	10,97
19	88,38	2,88	109,15	15,07
21	89,07	1,99	105,54	18,70
23	89,69	1,23	101,87	22,38
26	90,65	0,03	94,58	29,63
28	91,34	-0,94	88,55	35,65
30	92,08	-1,81	81,16	43,01
33	93,35	-3,04	67,14	56,96
35	94,18	-3,56	57,89	66,15

37	95,18	-3,88	46,80	77,17
40	96,38	-3,63	33,30	90,57
42	97,16	-3,25	25,50	98,31
44	97,78	-2,75	19,34	104,43
47	98,42	-2,05	13,07	110,66
49	98,75	-1,65	10,10	113,60
51	98,98	-1,33	8,05	115,64
54	99,20	-1,02	6,11	117,57
56	99,31	-0,87	5,21	118,47
58	99,39	-0,77	4,64	119,04
61	99,41	-0,73	4,41	119,26
63	99,49	-0,68	4,05	119,63
65	99,54	-0,63	3,77	119,91

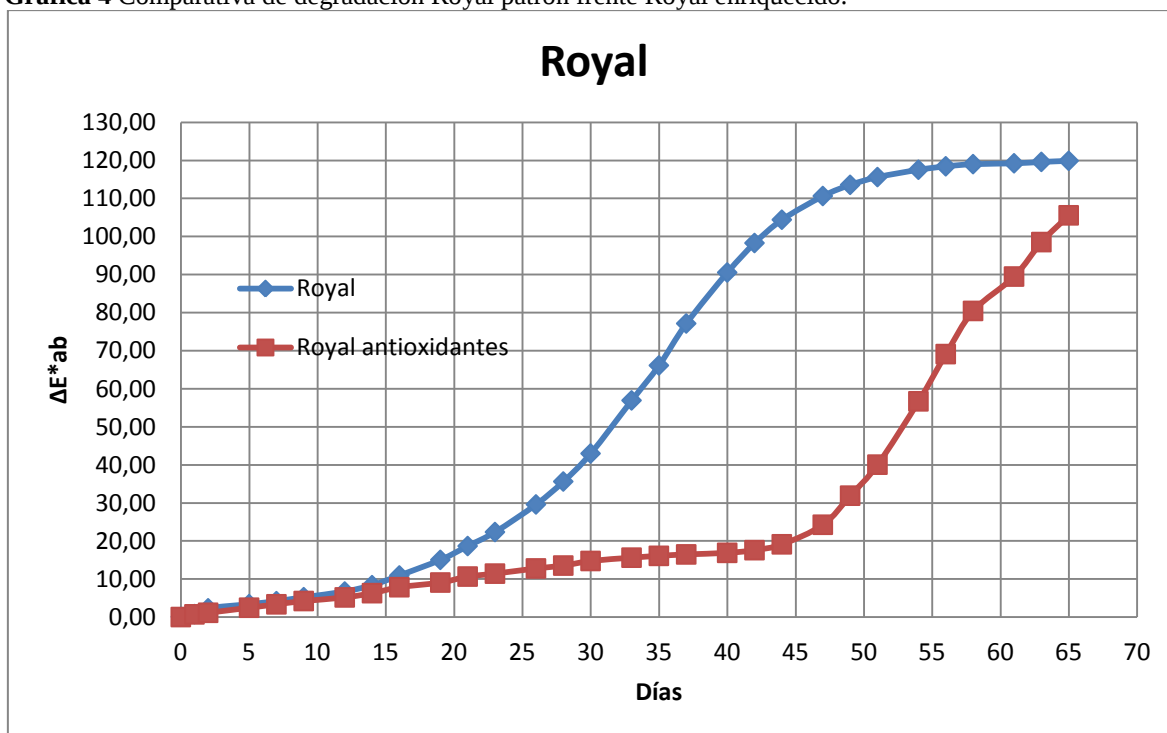
Tabla 12: Degradación de color del AOVE variedad Royal enriquecido en antioxidantes durante 65 días

Días	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*ab(D65)$
Patrón	75,44	20,88	125,99	-----
0	75,43	20,88	125,96	0,04
1	75,73	21,37	126,48	0,75
2	75,74	21,92	126,41	1,16
5	76,73	22,09	127,74	2,49
7	77,38	21,81	128,61	3,39
9	77,94	21,45	129,38	4,25
12	78,59	20,89	130,12	5,20
14	79,24	20,35	131,01	6,32
16	80,16	19,43	132,14	7,88
19	80,92	18,78	132,96	9,11
21	81,85	18,02	134,04	10,68
23	82,38	17,70	134,52	11,45
26	83,29	16,78	135,25	12,81
28	83,88	16,00	135,43	13,57
30	84,62	15,05	135,99	14,77
33	85,44	13,67	135,61	15,64
35	85,97	12,68	135,04	16,12
37	86,53	11,52	133,84	16,50
40	87,23	10,10	131,54	16,91
42	87,84	8,67	128,74	17,62
44	88,53	7,01	124,24	19,15
47	89,57	4,48	114,98	24,29
49	90,52	2,27	104,87	31,93
51	91,40	0,49	95,39	40,08
54	92,89	-2,09	77,16	56,72
56	93,97	-3,42	63,98	69,13
58	95,01	-4,12	52,05	80,47
61	95,90	-4,39	42,61	89,50

63	96,76	-4,30	33,12	98,56
65	97,44	-3,92	25,74	105,59

Tras 65 días de experimento, los resultados sobre la degradación de los aceites Royal patrón y Royal enriquecido se muestran, respectivamente, en las tablas [11](#) y [12](#). Al representarlos en la [gráfica 4](#), podemos ver que, como ya pasaba con la Arbequina y Picual, es a partir de los 14 primeros días cuando empiezan a diferenciarse la degradación de patrón y antioxidante, aunque en cuanto a degradación tiene más similitud con la variedad Frantoio. Ambos llegan a los 100 puntos de degradación con ambas muestras (A los 42 días en el caso del aceite patrón y a los 63 en el caso del aceite enriquecido) y en días muy similares.

Gráfica 4 Comparativa de degradación Royal patrón frente Royal enriquecido.

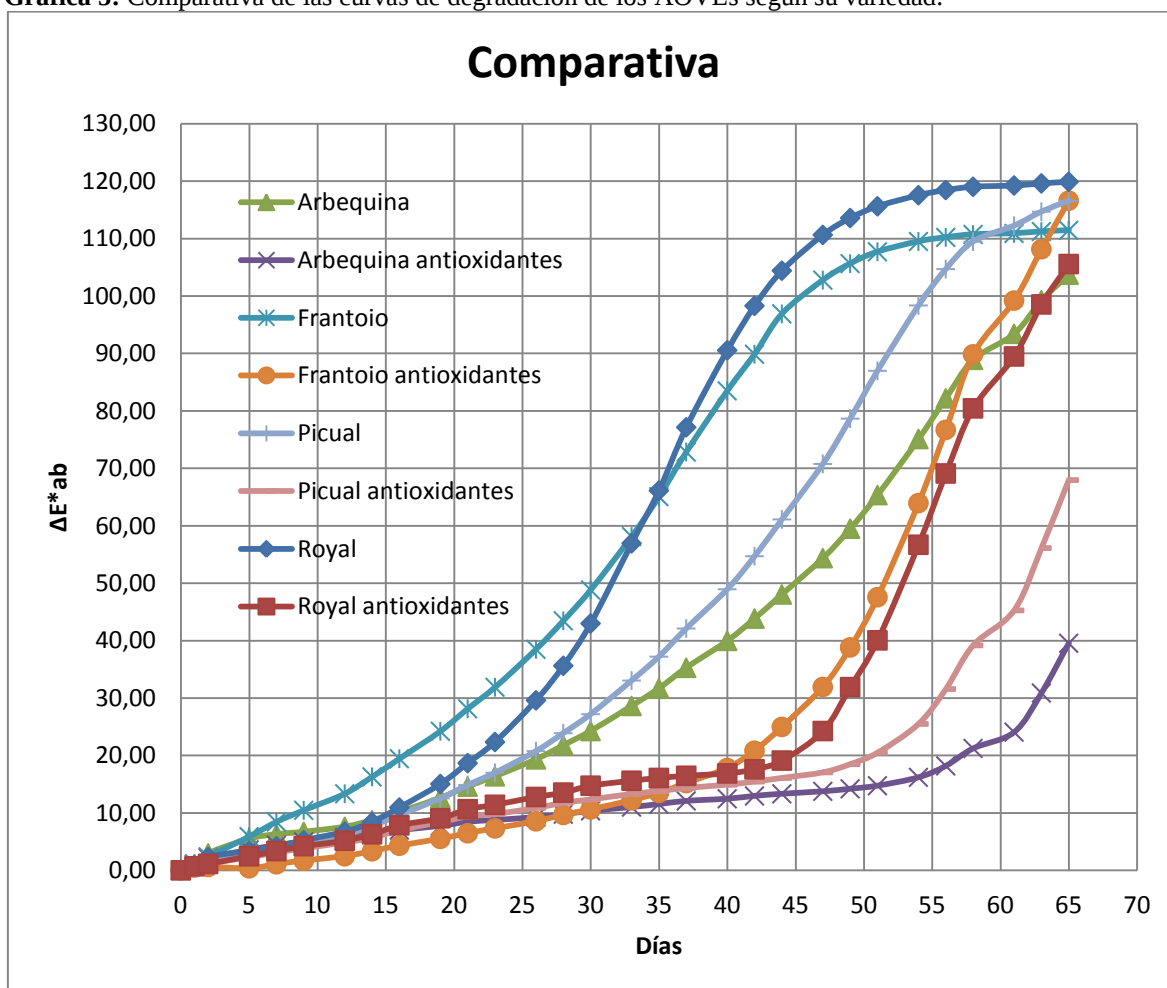


Comparación por variedad de fruto de los AOVEs ensayados:

Si unificamos las cuatro variedades en una sola gráfica, podemos apreciar globalmente todas las curvas de degradación. La [gráfica 5](#) nos muestra las similitudes, ya mencionadas con anterioridad, entre la variedad Frantoio y Royal, con unas pendientes de degradación muy parecidas tanto en el patrón como sobre todo en el aceite enriquecido. Otro aspecto a tener en cuenta es que durante los 35-40 primeros días de experimento, las curvas de los cuatro AOVEs enriquecidos prácticamente se solapan, demostrando que

nuestro extracto se adapta de igual manera a las cuatro matrices, siendo a partir de esos días diferentes las curvas debido también a las diferentes cantidades de antioxidantes que hubiese inicialmente en las matrices. El efecto antioxidante (y por tanto la resistencia a la degradación) es mayor en la variedad Arbequina, seguido luego de la variedad Picual y en menor medida en las variedades Royal y Frantoio.

Gráfica 5: Comparativa de las curvas de degradación de los AOVEs según su variedad.



4.3.1.2. Foto-estabilidad en función del índice de maduración de los AOVEs

AOVE Picual de octubre:

Tabla 13: Degradación de color del AOVE Picual Octubre (Patrón) durante 65 días

Días	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	ΔE*ab(D65)
Patrón	82,80	6,49	123,07	-----
0	82,81	6,48	122,96	0,11
1	83,11	6,82	122,73	0,57
2	83,09	7,63	121,68	1,82
5	84,36	7,24	120,32	3,25
7	85,28	6,39	119,49	4,36
9	85,90	5,70	118,37	5,68

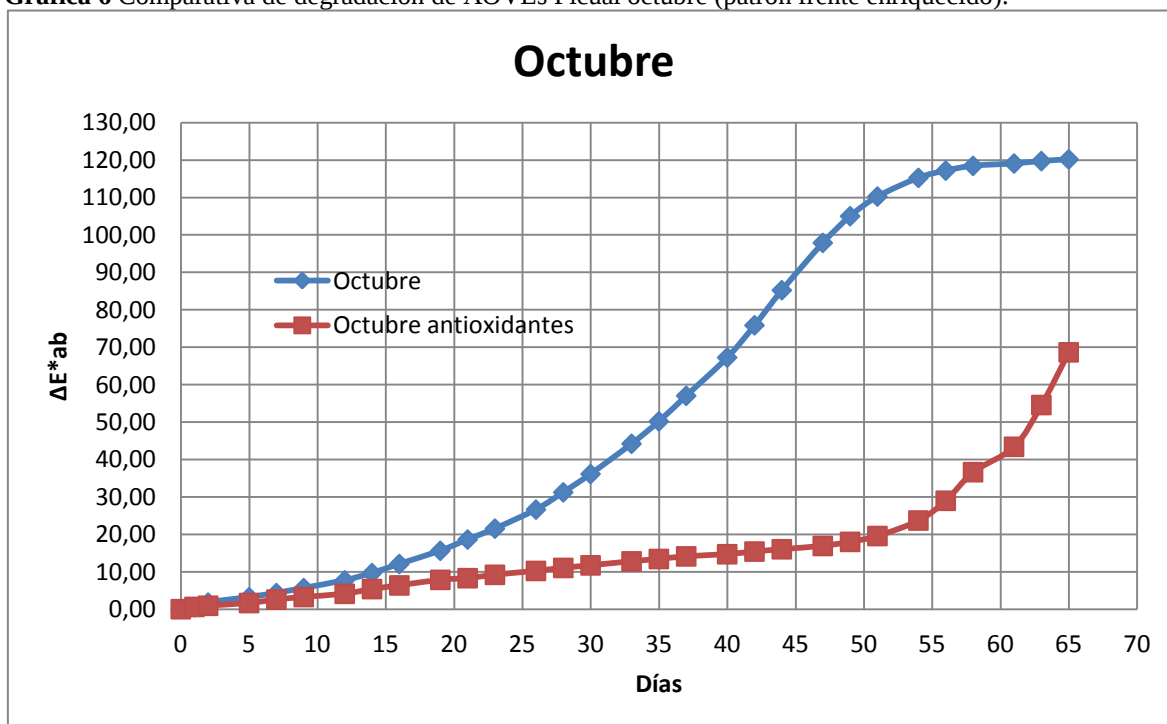
12	86,63	4,88	116,53	7,75
14	87,37	4,16	114,83	9,70
16	88,09	3,43	112,60	12,12
19	88,92	2,54	109,20	15,66
21	89,49	1,79	106,29	18,66
23	89,97	1,19	103,42	21,58
26	90,64	0,29	98,35	26,66
28	91,21	-0,56	93,79	31,27
30	91,69	-1,22	88,88	36,16
33	92,43	-2,18	80,78	44,24
35	92,94	-2,74	74,75	50,23
37	93,52	-3,28	67,88	57,06
40	94,36	-3,68	57,58	67,28
42	95,13	-3,90	48,91	75,89
44	95,99	-3,88	39,48	85,26
47	97,19	-3,31	26,73	97,91
49	97,92	-2,74	19,52	105,05
51	98,45	-2,16	14,24	110,29
54	98,98	-1,48	9,21	115,28
56	99,19	-1,17	7,27	117,21
58	99,34	-0,97	5,99	118,48
61	99,41	-0,85	5,35	119,11
63	99,52	-0,76	4,70	119,76
65	99,59	-0,68	4,25	120,22

Tabla 14: Degradación de color del AOVE Picual Octubre enriquecido en antioxidantes durante 65 días

Días	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*ab(D65)$
Patrón	76,94	22,36	128,28	-----
0	76,93	22,38	128,22	0,06
1	76,96	22,98	128,53	0,66
2	76,97	23,31	128,48	0,97
5	77,88	23,10	129,49	1,70
7	78,47	22,70	130,38	2,62
9	78,95	22,27	130,89	3,30
12	79,54	21,72	131,47	4,17
14	80,21	21,09	132,42	5,43
16	80,78	20,44	133,02	6,40
19	81,59	19,45	133,95	7,89
21	81,90	18,97	134,06	8,34
23	82,36	18,38	134,61	9,24
26	82,99	17,49	135,01	10,28
28	83,46	16,74	135,25	11,08
30	83,89	16,08	135,41	11,77
33	84,53	15,02	135,57	12,83

35	84,94	14,31	135,50	13,46
37	85,41	13,43	135,27	14,16
40	85,88	12,61	134,78	14,74
42	86,40	11,62	134,09	15,45
44	86,86	10,63	132,96	16,07
47	87,46	9,33	130,85	16,95
49	87,99	8,10	128,46	18,04
51	88,51	6,84	125,23	19,60
54	89,38	4,75	118,35	23,74
56	90,15	2,97	111,21	29,02
58	90,96	1,21	101,85	36,65
61	91,58	-0,02	94,05	43,44
63	92,61	-1,75	81,87	54,60
65	93,84	-3,21	66,82	68,68

Gráfica 6 Comparativa de degradación de AOVEs Picual octubre (patrón frente enriquecido).



Representamos los datos de las tablas [13](#) y [14](#) podemos observar las curvas de degradación. En la [Gráfica 6](#) se puede ver un comportamiento muy similar al aceite Picual utilizado dentro de las variedades, aunque las diferencias entre patrón y enriquecido se muestran antes (a partir del día 7).

AOVE Picual de noviembre:

Tabla 15: Degradación de color del AOVE Picual Noviembre (Patrón) durante 65 días

Días	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	ΔE*ab(D65)
------	---------	---------	---------	------------

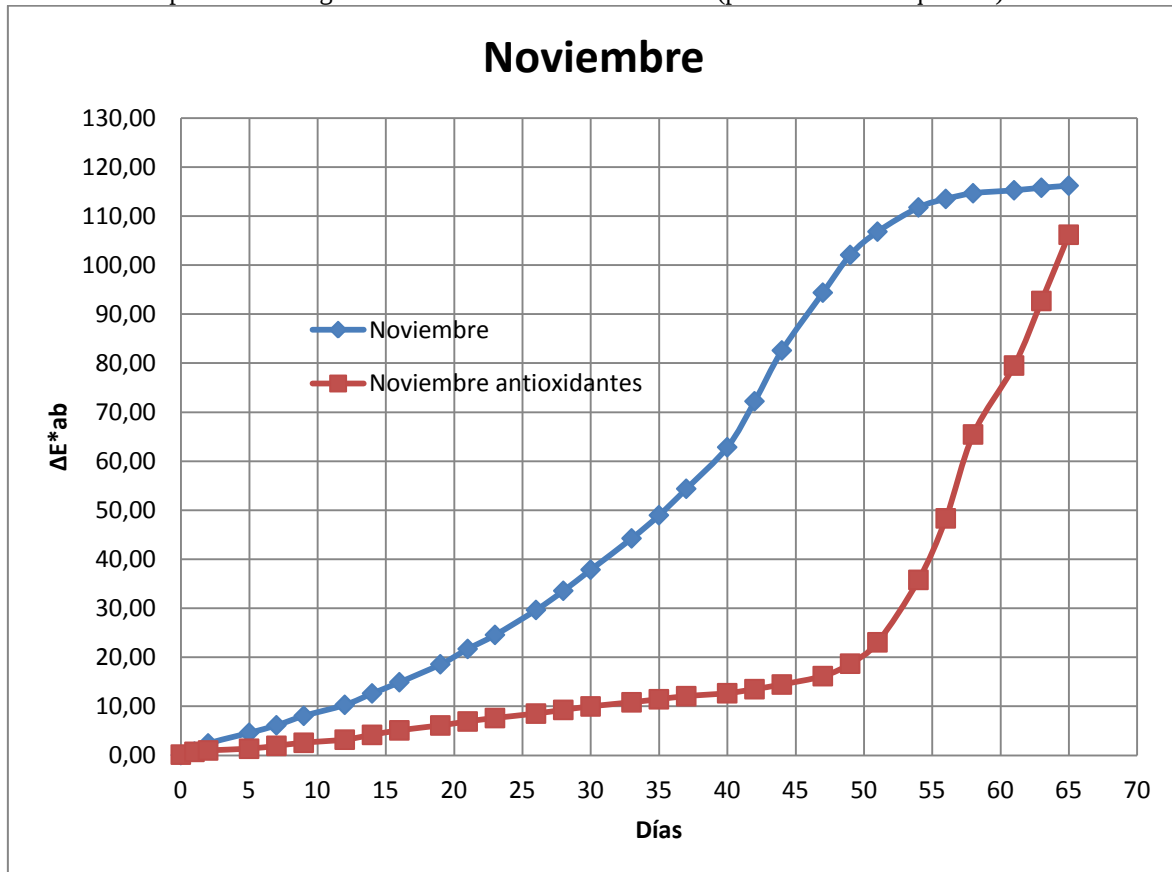
Patrón	85,7	3,94	118,68	-----
0	85,70	3,95	118,64	0,05
1	85,84	4,40	118,10	0,76
2	85,83	5,10	116,56	2,43
5	87,02	4,60	114,32	4,60
7	87,70	3,90	112,89	6,13
9	88,34	3,30	111,09	8,06
12	88,85	2,78	108,95	10,30
14	89,43	2,23	106,74	12,63
16	89,88	1,71	104,55	14,91
19	90,46	1,02	100,98	18,57
21	90,87	0,39	97,91	21,70
23	91,24	-0,08	95,09	24,56
26	91,77	-0,84	90,06	29,65
28	92,18	-1,47	86,20	33,56
30	92,57	-1,95	81,93	37,86
33	93,11	-2,58	75,55	44,25
35	93,49	-2,95	70,83	48,97
37	93,93	-3,33	65,43	54,37
40	94,56	-3,56	56,93	62,84
42	95,42	-3,83	47,55	72,21
44	96,38	-3,79	37,17	82,58
47	97,49	-3,24	25,33	94,37
49	98,25	-2,59	17,62	102,06
51	98,73	-2,07	12,85	106,81
54	99,24	-1,37	7,87	111,76
56	99,41	-1,09	6,14	113,49
58	99,54	-0,89	4,97	114,65
61	99,60	-0,77	4,38	115,25
63	99,68	-0,69	3,86	115,77
65	99,74	-0,61	3,44	116,19

Tabla 16: Degradación de color del AOVE Picual Noviembre enriquecido en antioxidantes durante 65 días

Días	Nombre datos	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*_{ab}(D65)$
Patrón	Antioxidantes (05/02/2015 13:46:41)	79,12	21,78	131,4	-----
0	6X0 (05/02/2015 13:47:00)	79,12	21,79	131,54	0,14
1	6X1 (12/02/2015 13:09:33)	79,01	22,47	131,36	0,70
2	6X2 (13/02/2015 11:46:37)	79,03	22,77	131,35	0,99
5	6X5 (16/02/2015 11:35:12)	79,80	22,51	132,29	1,34
7	6X7 (18/02/2015 12:46:39)	80,27	22,10	132,92	1,93
9	6X9 (20/02/2015 14:19:03)	80,78	21,66	133,35	2,56
12	6X12 (23/02/2015 11:03:27)	81,20	21,15	133,75	3,19
14	6X14 (25/02/2015 10:49:14)	81,71	20,60	134,45	4,17
16	6X16 (27/02/2015 11:25:57)	82,17	20,02	135,08	5,09
19	6X19 (02/03/2015 11:25:46)	82,81	19,21	135,51	6,09

21	6X21 (04/03/2015 13:16:05)	83,24	18,51	135,86	6,90
23	6X23 (06/03/2015 11:03:32)	83,63	17,96	136,18	7,60
26	6X26 (09/03/2015 12:11:27)	84,20	17,09	136,37	8,51
28	6X28 (11/03/2015 11:33:28)	84,62	16,34	136,51	9,26
30	6X30 (13/03/2015 11:36:41)	85,00	15,68	136,65	9,97
33	6X33 (16/03/2015 11:42:04)	85,54	14,65	136,38	10,81
35	6X35 (18/03/2015 11:33:39)	85,88	13,95	136,25	11,43
37	6X37 (20/03/2015 12:38:49)	86,27	13,11	135,79	12,06
40	6X40 (23/03/2015 10:49:15)	86,69	12,24	134,88	12,66
42	6X42 (25/03/2015 12:25:51)	87,16	11,19	133,68	13,49
44	6X44 (27/03/2015 12:42:10)	87,62	10,13	132,05	14,44
47	6X47 (30/03/2015 11:26:19)	88,22	8,65	128,98	16,15
49	6X49 (01/04/2015 10:45:44)	88,82	7,11	125,09	18,69
51	6X51 (03/04/2015 10:58:34)	89,53	5,30	119,10	23,05
54	6X54 (06/04/2015 11:08:30)	90,91	1,97	104,04	35,78
56	6X56 (08/04/2015 11:05:34)	92,05	-0,33	90,42	48,33
58	6X58 (10/04/2015 9:39:00)	93,47	-2,44	72,32	65,44
61	6X61 (13/04/2015 12:39:45)	94,67	-3,60	57,68	79,50
63	6X63 (15/04/2015 13:04:47)	95,91	-4,10	44,01	92,67
65	6X65 (17/04/2015 12:56:09)	97,19	-3,87	29,96	106,18

Gráfica 7 Comparativa de degradación AOVEs Picual noviembre (patrón frente enriquecido).



Con los datos reflejados en las tablas [15](#) y [16](#) y representados en la [gráfica 7](#), podemos ver, que a diferencia de Octubre, el aceite de noviembre enriquecido en antioxidantes llega a las 100 unidades de ΔE^*ab antes de terminar el experimento. También empieza a sufrir una rápida degradación mucho antes (49 días el AOVE de Noviembre frente a los 54 días del AOVE de Octubre), a pesar de que los patrones llegan a las 100 unidades de ΔE^*ab al mismo tiempo (48-49 días), lo que puede reflejar cambios en la matriz entre un aceite de octubre y uno de noviembre que alteran el efecto del extracto.

AOVE Picual de diciembre:

Tabla 17: Degradación de color del AOVE Picual Diciembre (Patrón) durante 65 días

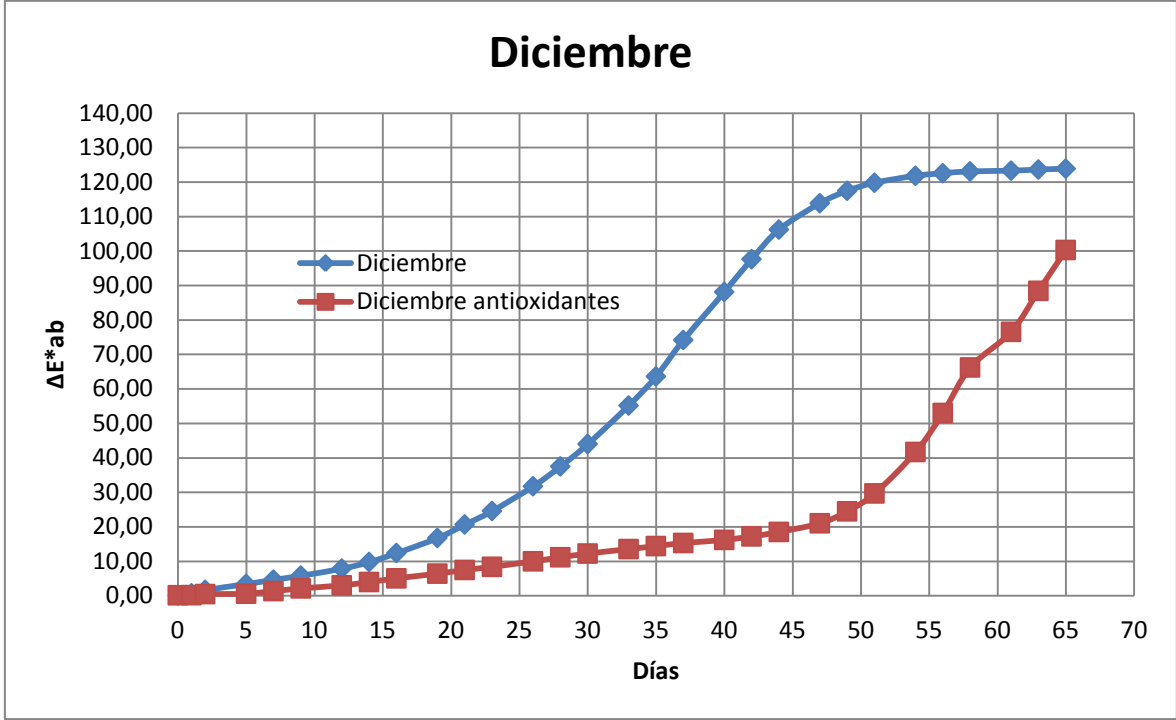
Días	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*ab(D65)$
Patrón	83,65	5,23	126,3	-----
0	83,65	5,23	126,37	0,07
1	83,71	5,07	125,62	0,70
2	83,45	5,39	124,63	1,69
5	84,08	4,97	122,90	3,44
7	84,62	4,51	121,80	4,66
9	85,22	4,17	120,77	5,85
12	86,10	3,64	118,97	7,89
14	86,93	3,26	117,30	9,78
16	87,86	2,62	114,94	12,39
19	88,97	1,70	110,81	16,76
21	89,69	0,90	107,02	20,66
23	90,29	0,22	103,17	24,59
26	91,18	-0,85	96,05	31,76
28	91,76	-1,65	90,34	37,50
30	92,34	-2,33	83,83	44,01
33	93,23	-3,24	72,64	55,17
35	93,91	-3,69	64,16	63,62
37	94,79	-4,05	53,57	74,17
40	95,94	-3,90	39,52	88,12
42	96,84	-3,58	29,97	97,63
44	97,66	-2,98	21,34	106,22
47	98,43	-2,16	13,65	113,86
49	98,81	-1,68	10,03	117,46
51	99,07	-1,34	7,68	119,80
54	99,31	-1,01	5,66	121,82
56	99,39	-0,89	4,92	122,56
58	99,47	-0,80	4,39	123,09
61	99,50	-0,76	4,17	123,30
63	99,57	-0,72	3,84	123,63
65	99,62	-0,68	3,60	123,88

Tabla 18: Degradación de color del AOVE Picual Diciembre enriquecido en antioxidantes durante 65 días

Días	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*ab(D65)$
Patrón	77,46	21,74	129,34	-----
0	77,46	21,74	129,21	0,13
1	77,39	21,84	129,24	0,16
2	77,28	21,85	128,91	0,47
5	77,79	21,26	129,38	0,59
7	78,18	20,71	129,81	1,34
9	78,64	20,31	130,36	2,12
12	79,08	19,70	130,84	3,01
14	79,60	19,16	131,45	3,97
16	80,16	18,53	132,14	5,04
19	80,98	17,75	132,92	6,41
21	81,60	17,06	133,43	7,47
23	82,17	16,45	133,82	8,38
26	83,12	15,43	134,61	9,98
28	83,87	14,47	134,85	11,15
30	84,50	13,68	135,24	12,23
33	85,38	12,35	135,01	13,53
35	85,98	11,44	134,69	14,40
37	86,59	10,34	133,87	15,29
40	87,24	9,18	132,29	16,19
42	87,81	8,04	130,49	17,21
44	88,35	6,86	127,95	18,50
47	89,06	5,31	123,27	21,01
49	89,69	3,82	118,00	24,48
51	90,36	2,27	111,05	29,67
54	91,54	-0,18	96,80	41,69
56	92,54	-1,86	84,34	53,00
58	93,62	-3,20	70,17	66,21
61	94,47	-3,87	59,24	76,54
63	95,56	-4,30	46,78	88,44
65	96,65	-4,13	34,38	100,28

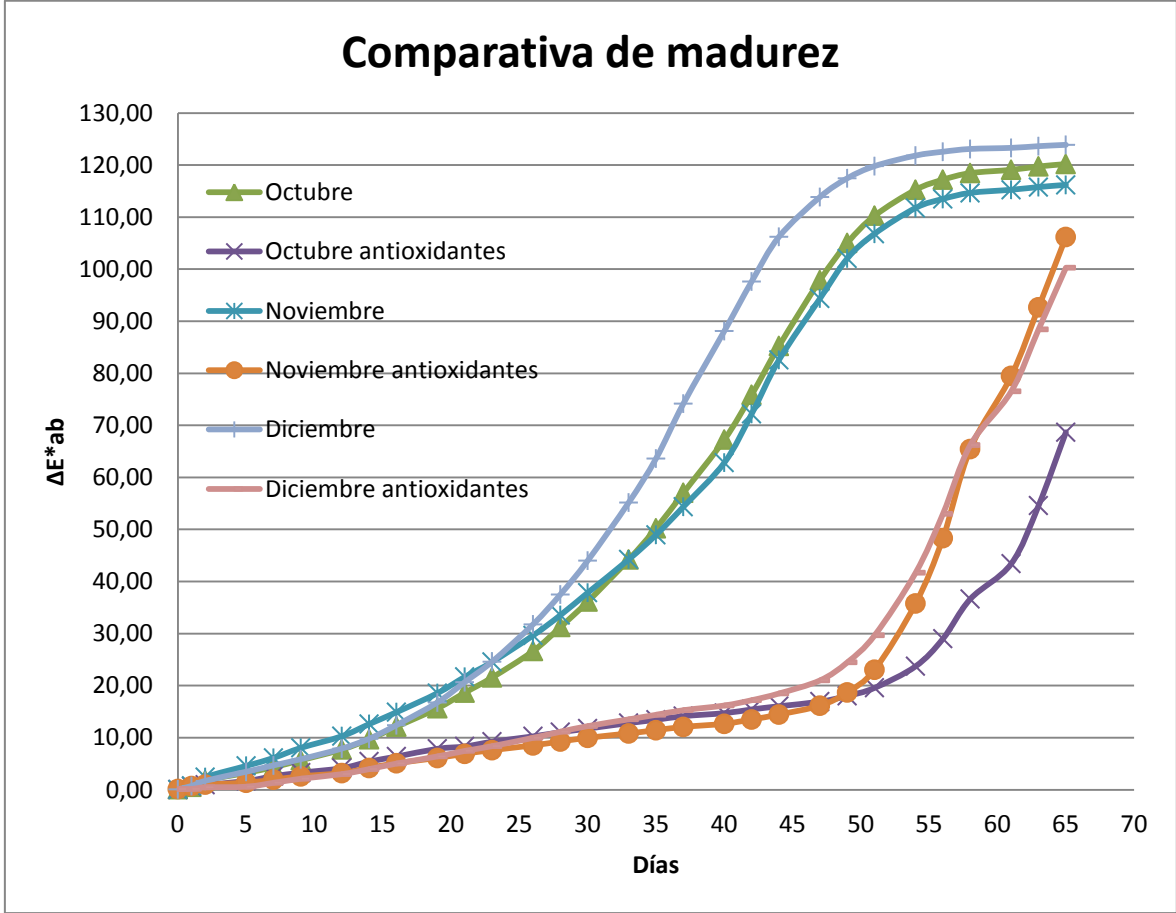
Tras 65 días de experimento, tenemos los datos recogidos de los aceites picual de diciembre en las tablas 17 y 18. Al reflejar esos datos en la gráfica 8 vemos que el aceite patrón llega antes a los 100 puntos de degradación que los aceites de octubre y noviembre (42-43 días frente a los 48-49 días de octubre y noviembre) lo que puede indicar que el aceite inicialmente tenía menos antioxidantes, es decir, que a mayor índice de madurez menor resistencia a la degradación.

Gráfica 8 Comparativa de degradación AOVes Picual diciembre (patrón frente enriquecido).



Comparativa por madurez del fruto:

Gráfica 9 Comparativa de degradación AOVes según la madurez del fruto (patrón frente enriquecido).



Al ver los tres AOVEs de la variedad picual ([Gráfica 9](#)) podemos sacar las siguientes conclusiones. A pesar de que los aceites patrón de Picual Octubre y Picual Noviembre tienen curvas de degradación prácticamente calcadas, la degradación de Octubre enriquecido y Noviembre enriquecido, a partir de los 49 días de experimento, se comporta de manera diferente. Esto puede deberse a que los patrones, aunque tengan la misma cantidad de antioxidantes (curvas de patrones iguales), puede que la proporción de otros compuestos minoritarios del fruto varíe de Octubre a Noviembre.

De hecho, ([Beltrán et al., 2005](#)) recogieron en su estudio que un retraso en la época de recolección y, en consecuencia, el incremento en el grado de maduración del fruto conlleva a la disminución de determinados componentes de los frutos (como los compuestos fenólicos), que pueden ser importantes para la estabilidad de nuestro extracto, y en consecuencia, provocar una mayor degradación del aceite a pesar de tener la misma cantidad de antioxidantes.

4.3.1.3. Foto-estabilidad de Aceites de girasol y de maíz:

El estudio de la foto-estabilidad de los aceites patrón de girasol y maíz, debido a que en su proceso de refinado normalmente se eliminan las sustancias colorantes de los aceites de semillas, no muestra relación la degradación química con la degradación del color de los aceites, ya que éstos ([Tabla 19](#)) inicialmente ya eran casi transparentes (una sustancia incolora tiene por valores $L^*=100$, $a^*=0$ y $b^*=0$) y la degradación de color tiende a la ausencia de color (transparencia). No obstante, mostraremos las tablas de datos recogidas durante el experimento y mostraremos los datos en una gráfica conjunta.

Tabla 19 (Extracto de la [Tabla 2](#)) Parámetros colorimétricos de aceites utilizados en las experiencias sin enriquecimiento en antioxidantes procedente de la microalga *Scenedesmus almeriensis*.

Nombre	Aceite	Variedad/marca	L^*	a^*	b^*
8P	Girasol	Coosol	99,51	-1,29	4,87
9P	Girasol	Hacendado	99,18	-2,08	7,92
10P	Girasol	Koipesol	99,34	-1,54	6,35
11P	Maíz	Koipe Asua	99,07	-2,34	9,87

Los aceites enriquecidos con nuestro extracto ([Tabla 20](#)), sin embargo, si tienen un color inicial muy diferente a los parámetros de la ausencia de color ($L^*=100$, $a^*=0$ y $b^*=0$) por lo que si puede estudiarse una relación entre la degradación química de los aceites y la degradación del color de los mismos. Una vez comparados los aceites enriquecidos entre ellos, cómo no podemos hacer una comparación objetiva con los aceites patrón, compararemos las curvas de degradación de los AOVEs con las curvas de degradación de los aceites de semillas para ver que matrices son mejores para la acción antioxidante de nuestro extracto.

Tabla 20 (Extracto de la [Tabla 3](#)) Parámetros colorimétricos de aceites utilizados en las experiencias enriquecidos en antioxidantes procedentes de la microalga *Scenedesmus almeriensis*.

Nombre	Aceite	Variedad/marca	L^*	a^*	b^*
8X	Girasol	Coosol	84,96	19,38	138,38
9X	Girasol	Hacendado	84,32	20,74	138,18
10X	Girasol	Koipesol	84,43	20,59	138,19
11X	Maíz	Koipe Asua	84,32	20,94	138,31

Aceite de girasol Coosol:

Tabla 21: Degradación de color del aceite girasol Coosol (Patrón) durante 65 días

Días	$L^*(D65)$	$a^*(D65)$	$b^*(D65)$	$\Delta E^*_{ab}(D65)$
Patrón	99,51	-1,29	4,87	-----
0	99,51	-1,29	4,86	0,01
1	99,36	-1,53	6,58	1,74
2	99,46	-1,12	5,01	0,23
5	99,56	-0,88	4,43	0,6
7	99,62	-0,77	4,01	1,01
9	99,71	-0,67	3,53	1,49
12	99,73	-0,61	3,31	1,71
14	99,77	-0,57	3,08	1,94
16	99,79	-0,53	2,89	2,13
19	99,82	-0,5	2,72	2,31
21	99,81	-0,5	2,62	2,4
23	99,84	-0,49	2,57	2,45
26	99,85	-0,47	2,48	2,55
28	99,87	-0,47	2,43	2,6
30	99,88	-0,47	2,38	2,64
33	99,89	-0,47	2,28	2,74
35	99,9	-0,45	2,2	2,82
37	99,91	-0,43	2,09	2,93
40	99,9	-0,41	1,95	3,07

42	99,93	-0,37	1,87	3,16
44	99,95	-0,36	1,79	3,24
47	99,96	-0,34	1,69	3,35
49	99,97	-0,33	1,63	3,4
51	99,98	-0,32	1,59	3,45
54	99,98	-0,31	1,53	3,51
56	99,98	-0,3	1,51	3,53
58	99,98	-0,3	1,48	3,56
61	99,97	-0,3	1,48	3,56
63	99,99	-0,3	1,45	3,59
65	100	-0,3	1,43	3,61

Tabla 22: Degradación de color del aceite girasol Coosol enriquecido en antioxidantes durante 65 días

Días	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*_{ab}(D65)$
Patrón	84,96	19,38	138,38	-----
0	84,96	19,38	138,42	0,04
1	84,72	20,1	138,23	0,77
2	84,76	19,94	137,99	0,72
5	85,18	19,06	138,21	0,42
7	85,46	18,41	138,35	1,09
9	85,75	17,79	138,24	1,78
12	85,99	17,21	138,08	2,41
14	86,34	16,48	137,91	3,24
16	86,65	15,72	137,68	4,09
19	87,04	14,76	136,91	5,28
21	87,34	13,89	135,89	6,48
23	87,63	13,18	135,08	7,51
26	88,09	11,96	132,91	9,73
28	88,49	10,8	130,76	12
30	88,96	9,5	127,56	15,18
33	89,98	6,66	118,05	24,51
35	90,85	4,37	108	34,4
37	92,08	1,53	92,59	49,66
40	93,86	-1,37	69,13	72,84
42	95,52	-2,98	50,11	91,68
44	96,98	-3,47	34,29	107,24
47	98,42	-2,96	19,13	122,07
49	99,08	-2,35	12,35	128,67
51	99,46	-1,8	8,22	132,67
54	99,75	-1,18	4,79	135,98
56	99,84	-0,92	3,6	137,11
58	99,89	-0,73	2,87	137,81
61	99,91	-0,65	2,57	138,09
63	99,94	-0,56	2,26	138,39

65	99,97	-0,49	2,06	138,58
----	-------	-------	------	--------

Aceite de girasol Hacendado:

Tabla 23: Degradación de color del aceite de girasol Hacendado (Patrón) durante 65 días

Días	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*_{ab}(D65)$
Patrón	99,18	-2,08	7,92	-----
0	99,18	-2,07	7,93	0
1	98,99	-2,04	8,95	1,04
2	99,18	-1,56	6,87	1,17
5	99,32	-1,24	5,98	2,12
7	99,36	-1,12	5,61	2,51
9	99,47	-1	4,96	3,17
12	99,49	-0,93	4,76	3,38
14	99,56	-0,85	4,38	3,76
16	99,6	-0,8	4,11	4,05
19	99,63	-0,75	3,86	4,3
21	99,63	-0,73	3,69	4,47
23	99,66	-0,7	3,58	4,58
26	99,68	-0,67	3,43	4,74
28	99,72	-0,66	3,34	4,83
30	99,72	-0,65	3,26	4,91
33	99,74	-0,64	3,14	5,02
35	99,75	-0,62	3,06	5,11
37	99,76	-0,61	2,95	5,22
40	99,76	-0,58	2,79	5,37
42	99,79	-0,55	2,69	5,48
44	99,81	-0,53	2,57	5,61
47	99,83	-0,5	2,43	5,75
49	99,85	-0,48	2,34	5,85
51	99,86	-0,46	2,26	5,93
54	99,87	-0,44	2,17	6,03
56	99,87	-0,43	2,12	6,07
58	99,87	-0,43	2,07	6,12
61	99,87	-0,42	2,05	6,15
63	99,89	-0,41	2,02	6,18
65	99,9	-0,41	1,98	6,21

Tabla 24: Degradación de color del aceite de girasol Hacendado enriquecido en antioxidantes durante 65 días

Días	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*_{ab}(D65)$
Patrón	84,32	20,74	138,18	-----
0	84,31	20,76	138,16	0,02

1	83,87	21,85	138,03	1,2
2	83,92	21,77	137,77	1,17
5	84,34	20,91	138,12	0,18
7	84,63	20,25	138,31	0,6
9	84,95	19,62	138,44	1,31
12	85,18	19,12	138,59	1,89
14	85,56	18,33	138,65	2,76
16	85,86	17,62	138,8	3,54
19	86,19	16,81	138,35	4,36
21	86,49	16,01	137,96	5,22
23	86,75	15,4	137,6	5,9
26	87,17	14,31	136,55	7,22
28	87,56	13,3	135,56	8,53
30	87,91	12,3	133,88	10,14
33	88,61	10,31	129,57	14,19
35	89,29	8,38	123,96	19,49
37	90,18	5,97	115,26	27,89
40	91,5	2,77	98,64	44,02
42	92,78	0,27	83,16	59,3
44	94,15	-1,81	65,96	76,29
47	96,19	-3,31	42,66	99,21
49	97,52	-3,47	28,69	112,9
51	98,43	-3,03	19,05	122,29
54	99,23	-2,19	10,6	130,48
56	99,52	-1,7	7,26	133,69
58	99,69	-1,33	5,32	135,56
61	99,76	-1,15	4,42	136,41
63	99,85	-0,95	3,6	137,2
65	99,89	-0,81	3,09	137,67

Aceite de girasol Koipesol:

Tabla 25: Degradación de color del aceite de girasol Koipesol (Patrón) durante 65 días

Días	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*_{ab}(D65)$
Patrón	99,34	-1,54	6,35	-----
0	99,34	-1,54	6,35	0,01
1	99,04	-1,84	8,47	2,16
2	99,14	-1,47	7,03	0,71
5	99,2	-1,25	6,54	0,37
7	99,23	-1,14	6,23	0,43
9	99,35	-1,03	5,54	0,95
12	99,35	-0,96	5,38	1,13
14	99,43	-0,9	5	1,49
16	99,46	-0,85	4,74	1,75

19	99,49	-0,79	4,48	2,02
21	99,53	-0,78	4,3	2,19
23	99,56	-0,76	4,2	2,3
26	99,58	-0,72	4,02	2,48
28	99,61	-0,71	3,93	2,57
30	99,63	-0,7	3,84	2,66
33	99,62	-0,68	3,73	2,77
35	99,64	-0,68	3,63	2,86
37	99,68	-0,66	3,52	2,98
40	99,66	-0,65	3,37	3,12
42	99,7	-0,63	3,27	3,23
44	99,73	-0,61	3,15	3,35
47	99,75	-0,58	2,98	3,53
49	99,77	-0,55	2,86	3,65
51	99,78	-0,53	2,77	3,75
54	99,79	-0,5	2,63	3,89
56	99,79	-0,48	2,55	3,97
58	99,8	-0,47	2,48	4,04
61	99,8	-0,47	2,46	4,06
63	99,82	-0,45	2,39	4,13
65	99,84	-0,44	2,33	4,19

Tabla 26: Degradación de color del aceite de girasol Koipesol enriquecido en antioxidantes durante 65 días

Días	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*_{ab}(D65)$
Patrón	84,43	20,59	138,19	-----
0	84,43	20,61	138,02	0,17
1	83,86	22,03	138	1,55
2	83,86	21,95	137,9	1,5
5	84,22	21,17	138,11	0,62
7	84,48	20,56	138,12	0,09
9	84,67	20,12	138,2	0,54
12	84,89	19,65	138,46	1,08
14	85,2	19	138,45	1,79
16	85,54	18,23	138,59	2,64
19	85,93	17,31	138,23	3,61
21	86,24	16,48	138,13	4,49
23	86,54	15,78	137,7	5,28
26	86,99	14,62	136,75	6,65
28	87,39	13,57	135,64	8,04
30	87,77	12,5	133,99	9,71
33	88,53	10,33	129,49	14,07
35	89,27	8,24	123,37	19,89
37	90,14	5,86	114,62	28,38
40	91,48	2,67	98,08	44,49

42	92,68	0,26	83,26	59,14
44	94,05	-1,8	66,52	75,7
47	95,97	-3,3	44,36	97,5
49	97,29	-3,53	30,43	111,17
51	98,2	-3,16	20,88	120,48
54	99,05	-2,33	11,84	129,24
56	99,37	-1,82	8,29	132,66
58	99,55	-1,42	6,07	134,79
61	99,63	-1,22	5,1	135,72
63	99,73	-0,99	4,13	136,64
65	99,78	-0,85	3,55	137,19

Aceite de maíz Koipe Asua:

Tabla 27: Degradación de color del aceite de maíz Koipe Asua (Patrón) durante 65 días

Días	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*ab(D65)$
Patrón	99,07	-2,34	9,87	-----
0	99,07	-2,35	9,87	0
1	99,08	-2,15	9,86	0,19
2	99,12	-2,46	9,79	0,15
5	99,14	-2,21	9,72	0,21
7	99,15	-1,62	9,56	0,79
9	99,19	-1,42	9,42	1,03
12	99,16	-1,02	9,47	1,38
14	99,19	-1,01	9,18	1,5
16	99,24	-1,01	8,85	1,68
19	99,28	-1,02	7,62	2,62
21	99,28	-1,04	6,54	3,58
23	99,34	-1,03	5,96	4,13
26	99,44	-0,98	5,42	4,67
28	99,53	-0,98	5,17	4,91
30	99,55	-0,98	5,02	5,06
33	99,55	-0,97	4,98	5,1
35	99,57	-0,99	4,93	5,15
37	99,55	-1,01	5,06	5,02
40	99,51	-1,09	5,28	4,77
42	99,5	-1,12	5,46	4,6
44	99,48	-1,14	5,66	4,4
47	99,46	-1,21	5,85	4,19
49	99,47	-1,24	5,95	4,1
51	99,48	-1,27	5,96	4,07
54	99,48	-1,27	5,99	4,04
56	99,49	-1,3	5,9	4,12
58	99,52	-1,32	5,82	4,2

61	99,39	-1,25	6,24	3,8
63	99,54	-1,31	5,75	4,27
65	99,56	-1,3	5,64	4,38

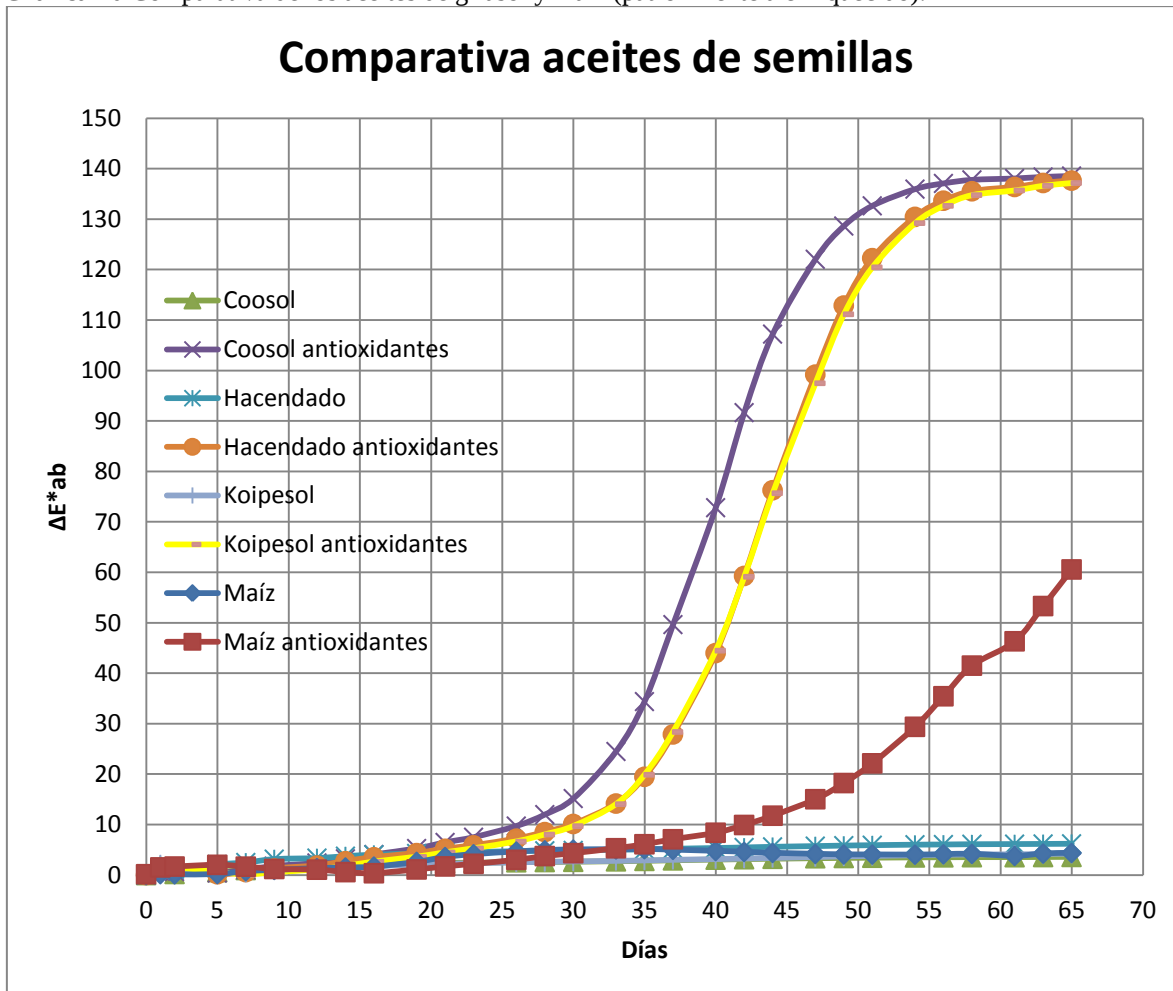
Tabla 28: Degradación de color del aceite de maíz Koipe Asua enriquecido en antioxidantes durante 65 días

Días	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*ab(D65)$
Patrón	84,32	20,94	138,31	-----
0	84,31	20,96	138,14	0,18
1	83,78	22,32	137,96	1,53
2	83,68	22,4	137,72	1,7
5	83,51	22,64	137,54	2,04
7	83,63	22,32	137,66	1,68
9	83,87	21,85	137,64	1,22
12	83,91	21,63	137,59	1,08
14	84,15	21,12	137,77	0,6
16	84,41	20,59	138,22	0,38
19	84,71	19,92	138,04	1,13
21	84,95	19,34	138,14	1,73
23	85,18	18,88	138,07	2,24
26	85,51	18,17	137,95	3,03
28	85,81	17,49	137,97	3,78
30	86,02	16,98	137,8	4,35
33	86,36	16,14	137,23	5,33
35	86,6	15,54	136,56	6,12
37	86,89	14,8	135,82	7,11
40	87,18	14	134,55	8,4
42	87,53	13,12	133,09	9,94
44	87,87	12,18	131,3	11,78
47	88,37	10,82	127,94	15,05
49	88,79	9,63	124,7	18,25
51	89,23	8,4	120,72	22,16
54	89,93	6,48	113,34	29,4
56	90,48	5,05	107,22	35,46
58	90,98	3,85	101,06	41,53
61	91,31	3,05	96,13	46,35
63	91,98	1,67	89,17	53,34
65	92,6	0,53	81,87	60,59

Representando los valores obtenidos de los aceites de girasol y maíz de las tablas [21](#), [23](#), [25](#) y [27](#) (Patrón) junto con los valores para los aceites enriquecidos de girasol y maíz de las tablas [22](#), [24](#), [26](#) y [28](#) en la [gráfica 10](#), vemos que el comportamiento de los cuatro aceites patrón es similar.

En cuanto a los aceites enriquecidos, la curva de degradación del aceite de maíz es muy diferente a las curvas de degradación en los aceites de girasol. El aceite de maíz parece adaptarse mucho mejor a nuestro extracto rico en antioxidantes.

Gráfica 10 Comparativa de los aceites de girasol y maíz (patrón frente a enriquecido).

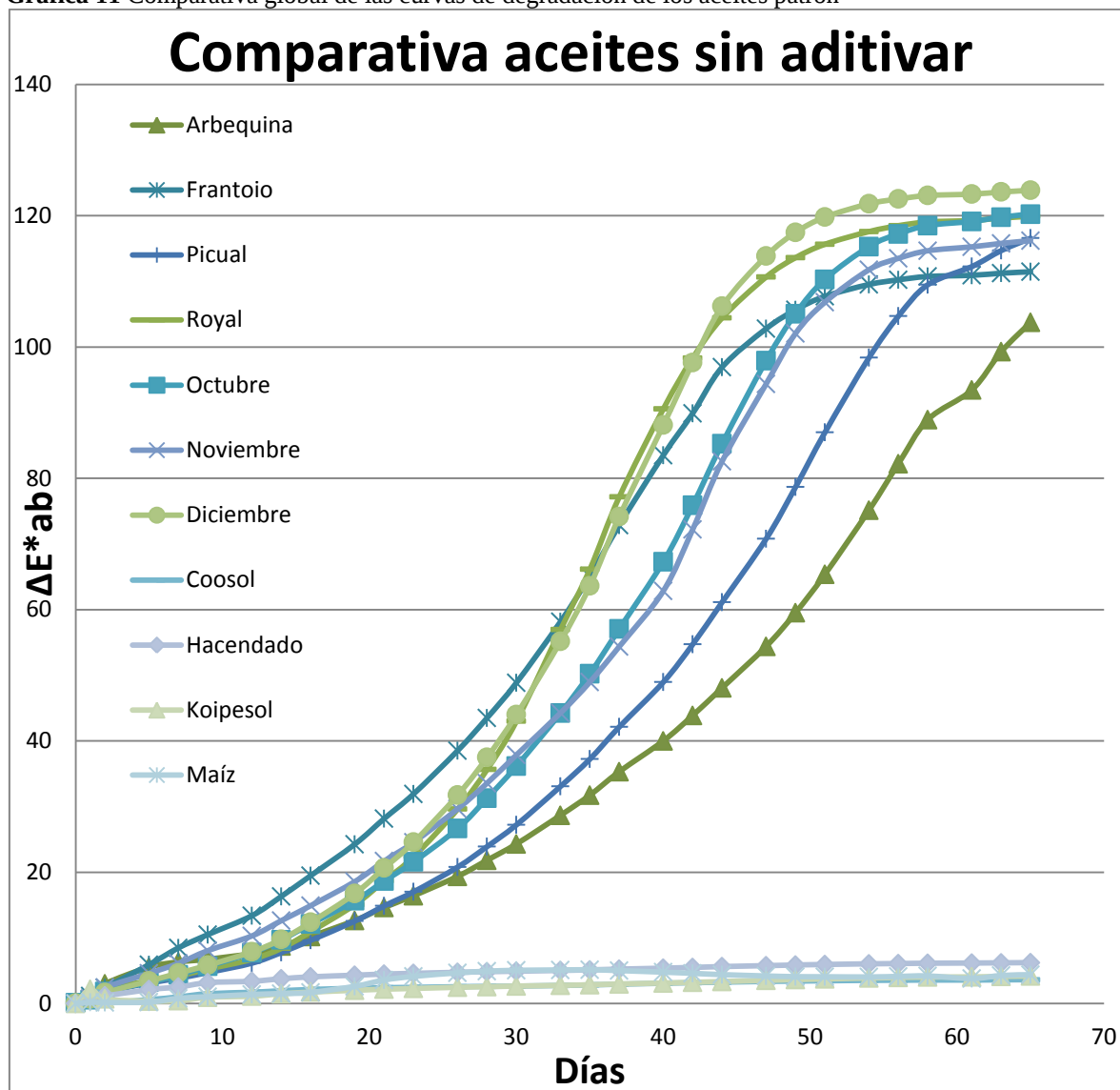


4.3.1.4. Comparativa global del estudio de foto-estabilidad:

Analizando la [gráfica 11](#), vemos que dentro de los aceites de oliva, los dos aceites que menos se han degradado son los AOVes de las variedades Arbequina y Picual.

Dentro de los aceites de semillas, no es posible una comparación ya que, como se ha comentado anteriormente, la degradación química de los aceites no está asociada a la degradación del color, ya que al ser aceites refinados, carecen de él.

Gráfica 11 Comparativa global de las curvas de degradación de los aceites patrón



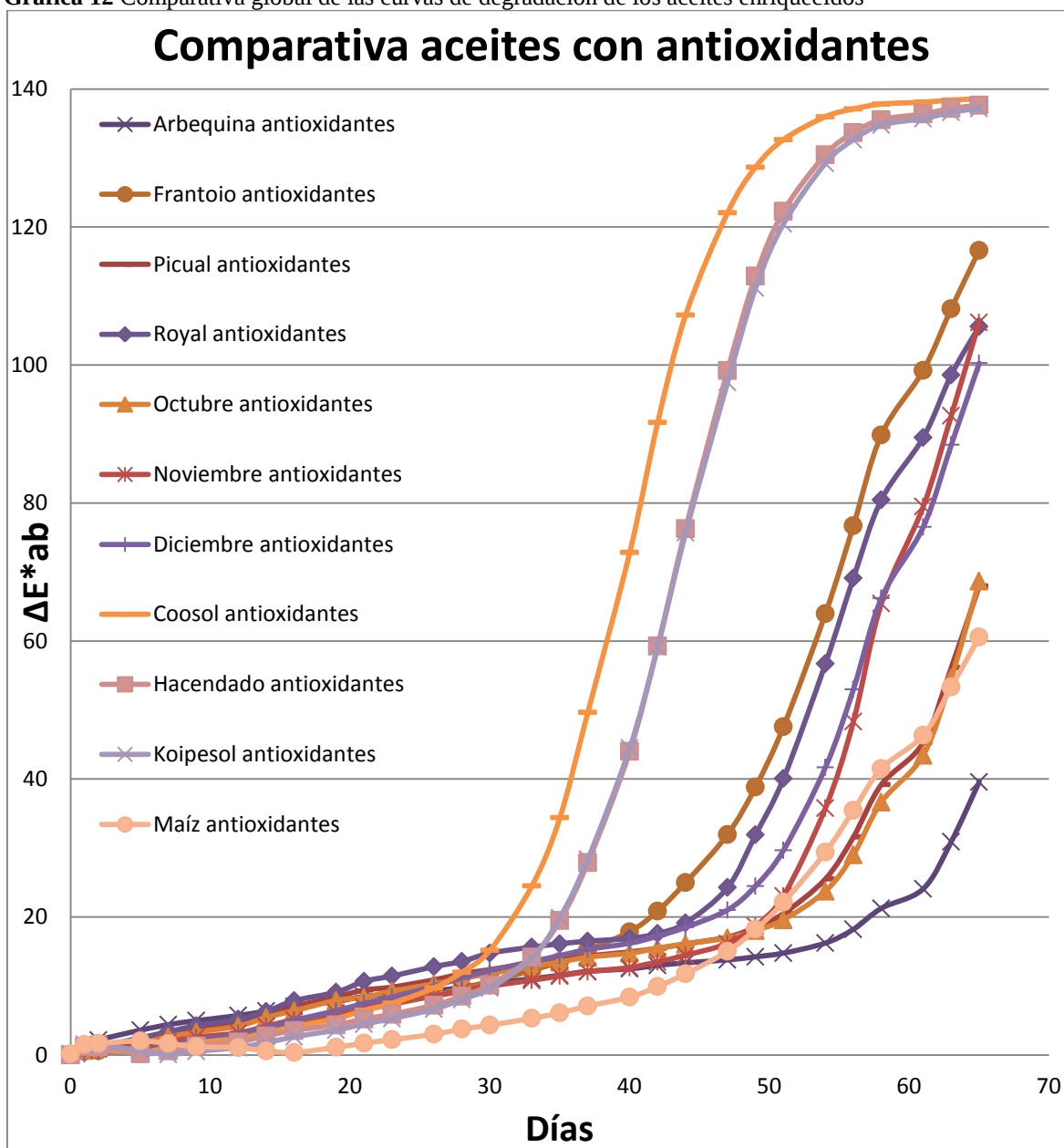
Analizando la [gráfica 12](#), vemos que la degradación de los aceites de girasol es mucho mayor que en el resto de aceites, tanto AOVEs como de semillas, por lo que parece indicar que no son una buena matriz para la estabilidad de nuestro extracto. Con algo menos de degradación, tenemos cuatro aceites de oliva, con unas curvas de degradación similares.

Estos aceites (Frantoio, Royal, Picual de Noviembre y Picual de Diciembre) muestran una degradación similar a los aceites menos degradados (Picual de Octubre, Picual del estudio de variedad, Maíz y Arbequina en último lugar) durante los primeros 35-40 días, separándose luego rápidamente. Esto puede deberse a que sus aceites patrón

tengan una cantidad inicial de antioxidantes menor o a que no son matrices tan buenas para nuestro extracto como los otros, reduciendo su estabilidad con el tiempo.

Las mejores matrices para nuestro extracto, en función de su estabilidad frente a la radiación ultravioleta (foto-estabilidad), son tres aceites de oliva (Arbequina, Picual variedad y Picual octubre) y el aceite de maíz.

Gráfica 12 Comparativa global de las curvas de degradación de los aceites enriquecidos



Se le realizaron fotos a los aceites al inicio y final del experimento para comparar su color de manera visual aproximada. En la imagen [16](#) vemos los colores iniciales y en las imágenes [17](#), [18](#) y [19](#) los colores finales.

Imagen 16: Colores iniciales de los 22 aceites de foto-estabilidad.

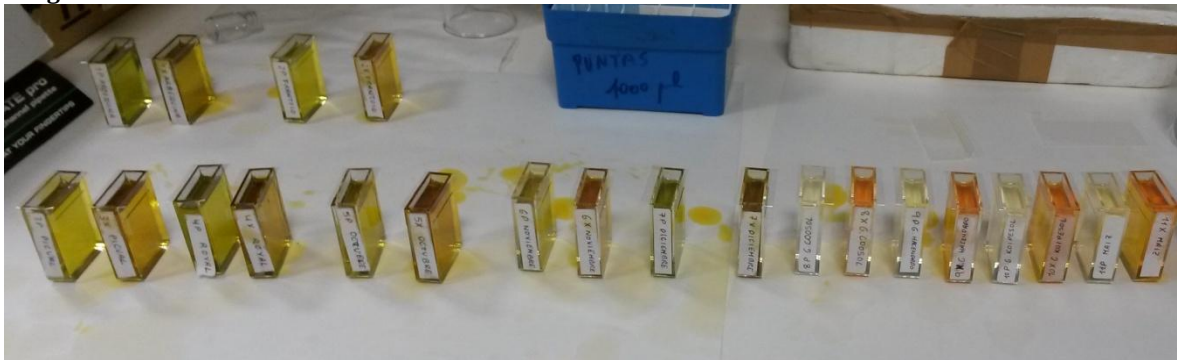


Imagen 17: Color final de los aceites de oliva por variedad de fruto.



Imagen 18: Color final de aceites de oliva por madurez de fruto y aceite de girasol Coosol.

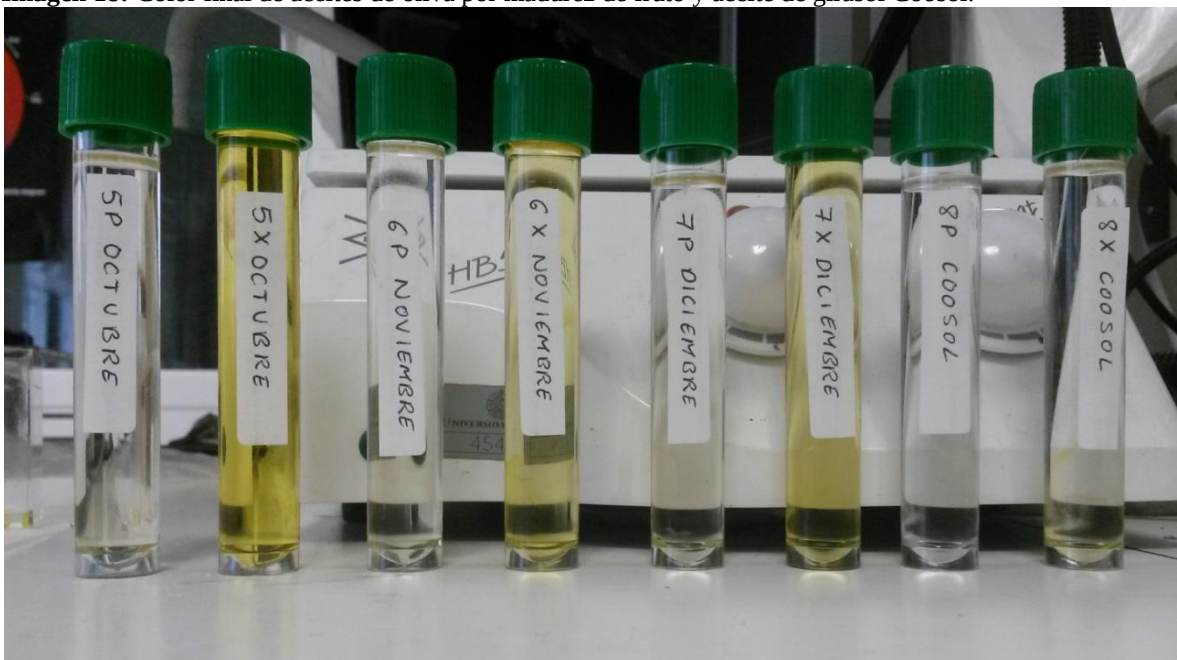


Imagen 19: Color final de aceites de girasol (Hacendado y Koipesol) y maíz.



4.3.2. Estabilidad en función de la temperatura: termo-estabilidad

Para el estudio de termo-estabilidad, las muestras se han sumergido en un termostato de precisión ([imagen 20](#)) para poder trabajar a 120 °C. Las medidas se tomaron en dos semanas. En la primera, se midieron valores de ΔE^*_{ab} a cinco aceites (cuatro AOVEs de variedad y el aceite de maíz) cada cierto tiempo durante 144 horas. Ya que no hubo diferencias significativas en los ΔE^*_{ab} entre las dos últimas medidas (72 horas y 144 horas respectivamente), la segunda semana se le midieron valores de ΔE^*_{ab} a los seis aceites restantes (tres AOVEs por madurez de fruto y tres aceites de girasol) durante solo 84 horas.

Imagen 20: Muestras introducidas en el termostato de precisión.



4.3.2.1. Termo-estabilidad de AOVEs en función del fruto

AOVE variedad Arbequina:

Tabla 29: Degradación del AOVE variedad Arbequina (120 °C) durante 144 horas

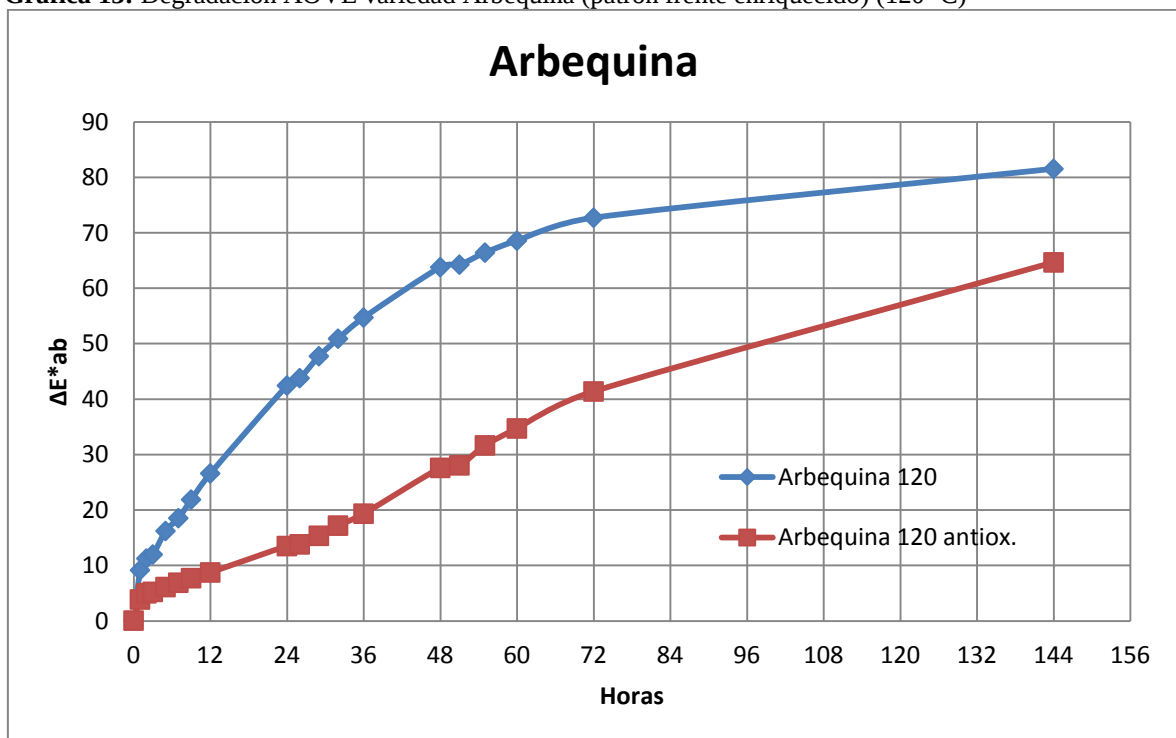
Horas	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*ab(D65)$
Patrón	83,39	1,97	118,31	-----
0	83,39	1,98	118,39	0,08
1	85,08	-1	109,8	9,18
2	86,03	-1,38	107,87	11,28
3	86,26	-1,02	107,04	12,01
5	87,09	-1,81	102,95	16,25
7	87,5	-1,97	100,64	18,56
9	88,07	-2,55	97,4	21,91
12	88,73	-3,36	92,78	26,63
24	90,42	-5,3	77,05	42,48
26	90,25	-5,35	75,67	43,81
29	90,62	-6,03	71,78	47,77
32	90,94	-6,36	68,64	50,93
36	91,36	-6,67	64,84	54,74
48	92,08	-7,19	55,75	63,83
51	91,95	-6,94	55,23	64,28
55	92,28	-7,1	53,09	66,45
60	92,53	-7,02	50,91	68,61
72	93,17	-6,93	46,78	72,74
144	94,44	-7,89	38,1	81,56

Tabla 30: Degradación del AOVE variedad Arbequina enriquecido (120 °C) durante 144 horas

Horas	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*ab(D65)$
Patrón	78,63	15,75	129,3	-----
0	78,65	15,69	129,36	0,09
1	80,74	12,52	129,87	3,9
2	81,89	12,24	130,76	5,01
3	82,09	12,07	130,79	5,27
5	82,79	11,55	130,97	6,14
7	83,3	10,97	131,12	6,92
9	83,79	10,18	130,8	7,74
12	84,4	9,26	130,51	8,77
24	85,19	5,19	123,95	13,53
26	86,07	5,16	124,38	13,84
29	86,43	4,29	122,63	15,38
32	86,79	3,41	120,49	17,22
36	87,16	2,6	117,92	19,37

48	88,04	0,1	108,57	27,63
51	87,87	0,4	107,67	28,09
55	88,37	-0,6	103,97	31,68
60	88,64	-1,03	100,58	34,74
72	89,26	-1,97	93,42	41,41
144	91,37	-6	69,73	64,69

Gráfica 13: Degradación AOVE variedad Arbequina (patrón frente enriquecido) (120 °C)



Una vez tenemos los datos de degradación térmica de los aceites Arbequina patrón (Tabla 29) y enriquecido (Tabla 30), los representamos en la gráfica 13. En esta gráfica podemos ver claramente como el aceite enriquecido tiene una degradación mucho más lineal con el tiempo, lo que implica que una degradación de 40 unidades de ΔE^*ab que el aceite patrón llega en menos de 24 horas, el aceite enriquecido tarda 72 horas, lo que se puede interpretar como un importante incremento de la vida útil de este aceite frente a la temperatura.

AOVE variedad Frantoio:

Tabla 31: Degradación del AOVE variedad Frantoio (120 °C) durante 144 horas

Horas	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*ab(D65)$
Patrón	87,2	2,03	111,03	-----
0	87,2	2,03	111,05	0,02
1	88,81	-2,56	99,88	12,18

2	89,35	-3,61	95,51	16,66
3	89,35	-3,71	93,03	19,02
5	89,79	-4,38	87,44	24,59
7	90	-4,89	82,52	29,48
9	90,56	-5,32	78,42	33,6
12	90,87	-5,35	73,5	38,43
24	92,31	-6,54	55,56	56,37
26	92,54	-6,4	54,88	57,04
29	92,77	-6,53	51,98	59,93
32	92,97	-6,59	49,39	62,51
36	93,16	-6,41	46,87	64,99
48	93,65	-6,57	39,51	72,32
51	93,5	-6,75	39,53	72,31
55	93,72	-7,23	38,21	73,7
60	93,94	-7,42	36,71	75,23
72	94,32	-7,63	34,62	77,35
144	95,4	-8,34	30,06	82,05

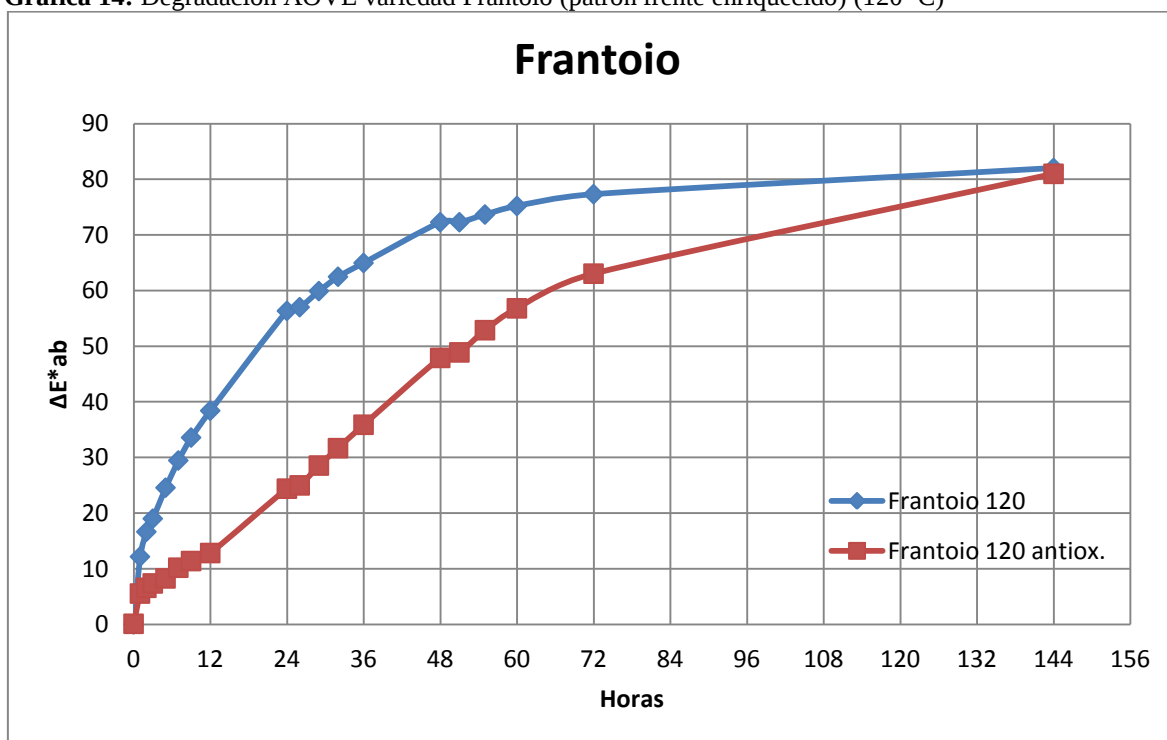
Tabla 32: Degradación del AOVE variedad Frantoio enriquecido (120 °C) durante 144 horas

Horas	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*_{ab}(D65)$
Patrón	82,04	16,28	134,22	-----
0	82,08	16,2	134,15	0,12
1	84,24	11,19	133,78	5,56
2	84,62	10,28	133,28	6,59
3	84,82	9,59	132,85	7,37
5	85,13	8,85	132,27	8,28
7	85,75	7,39	130,87	10,2
9	86,04	6,55	129,82	11,4
12	86,32	5,79	128,18	12,84
24	88,04	1,18	116	24,41
26	88,11	1,27	115,17	25
29	88,41	0,27	111,43	28,57
32	88,65	-0,37	108,07	31,69
36	88,96	-1,17	103,62	35,9
48	89,68	-3,25	91,14	47,92
51	89,56	-3,01	89,91	48,91
55	89,96	-3,78	85,92	52,9
60	90,27	-4,27	81,88	56,83
72	90,74	-4,71	75,4	63,06
144	92,2	-6,73	57,22	81,01

Con los datos de las tablas [31](#) y [32](#) representamos la [gráfica 14](#). En ella vemos que, al igual que en la variedad Arbequina, el aceite enriquecido tiene un comportamiento más

resistente que el patrón, aunque en este caso, con mayor pendiente que el aceite de Arbequina. Aún así, si vemos el tiempo que tardan en alcanzar las 40 unidades de ΔE^*ab (12 horas el patrón y unas 40 el enriquecido) vemos que de nuevo se triplica la vida útil del aceite (aunque es un aceite que se degrada rápido con la temperatura si lo comparamos con el Arbequina).

Gráfica 14: Degradación AOVE variedad Frantoio (patrón frente enriquecido) (120 °C)



AOVE variedad Picual:

Tabla 33: Degradación del AOVE variedad Picual (120 °C) durante 144 horas

Horas	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*ab(D65)$
Patrón	83,12	6,37	122,81	-----
0	83,12	6,38	122,84	0,03
1	84,54	2,44	113,52	10,18
2	85,1	1,93	112,24	11,63
3	85,29	1,93	111,47	12,37
5	85,84	1,48	109,44	14,5
7	86,18	1,12	107,34	16,62
9	86,65	0,35	104,38	19,7
12	87,1	-0,01	101,76	22,35
24	88,84	-2,6	87,8	36,59
26	88,85	-2,73	86,79	37,59
29	89,02	-3,2	83,99	40,42

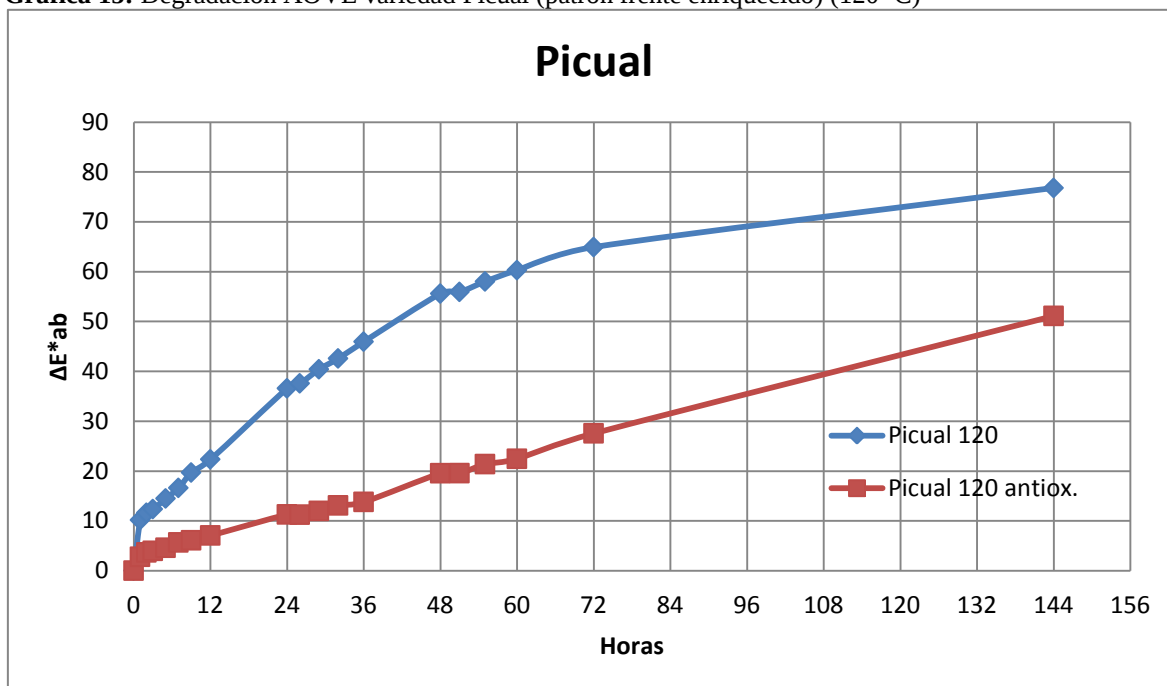
32	89,13	-3,39	81,79	42,59
36	89,44	-3,9	78,46	45,96
48	90,36	-5,22	68,92	55,6
51	90,1	-4,97	68,47	55,94
55	90,33	-5,23	66,41	58,03
60	90,56	-5,37	64,13	60,3
72	91,19	-5,5	59,49	64,93
144	92,82	-6,63	47,75	76,79

Tabla 34: Degradación del AOVE variedad Picual enriquecido (120 °C) durante 144 horas

Horas	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*ab(D65)$
Patrón	79,64	16,03	130,25	-----
0	79,65	16,02	130,26	0,02
1	80,78	13,5	129,83	2,8
2	81,54	12,87	130,27	3,68
3	81,7	12,61	130,22	3,99
5	82,06	12,11	130,38	4,61
7	82,54	11,15	130,15	5,68
9	82,72	10,75	130,06	6,11
12	83,17	9,91	129,71	7,08
24	84,73	6,6	126,67	11,3
26	84,41	6,69	126,17	11,25
29	84,55	6,27	125,27	12
32	84,77	5,68	124,03	13,11
36	84,85	5,44	123,07	13,81
48	85,81	2,96	117,06	19,56
51	85,56	3,31	116,59	19,58
55	85,78	2,78	114,62	21,39
60	85,76	2,78	113,18	22,46
72	86,28	1,59	107,71	27,57
144	88,57	-3,41	83,81	51,12

Con los datos de la [tabla 33](#) (Picual patrón) y los de la [tabla 34](#) (Picual enriquecido), representamos la [gráfica 15](#). Como vemos en ella, la curva de degradación del aceite enriquecido es totalmente lineal, aumentando su vida útil considerablemente. Para una degradación de 40 unidades, el aceite patrón necesita 29 horas y el aceite enriquecido 110 horas (3,8 veces más de vida útil).

Gráfica 15: Degradación AOVE variedad Picual (patrón frente enriquecido) (120 °C)



AOVE variedad Royal:

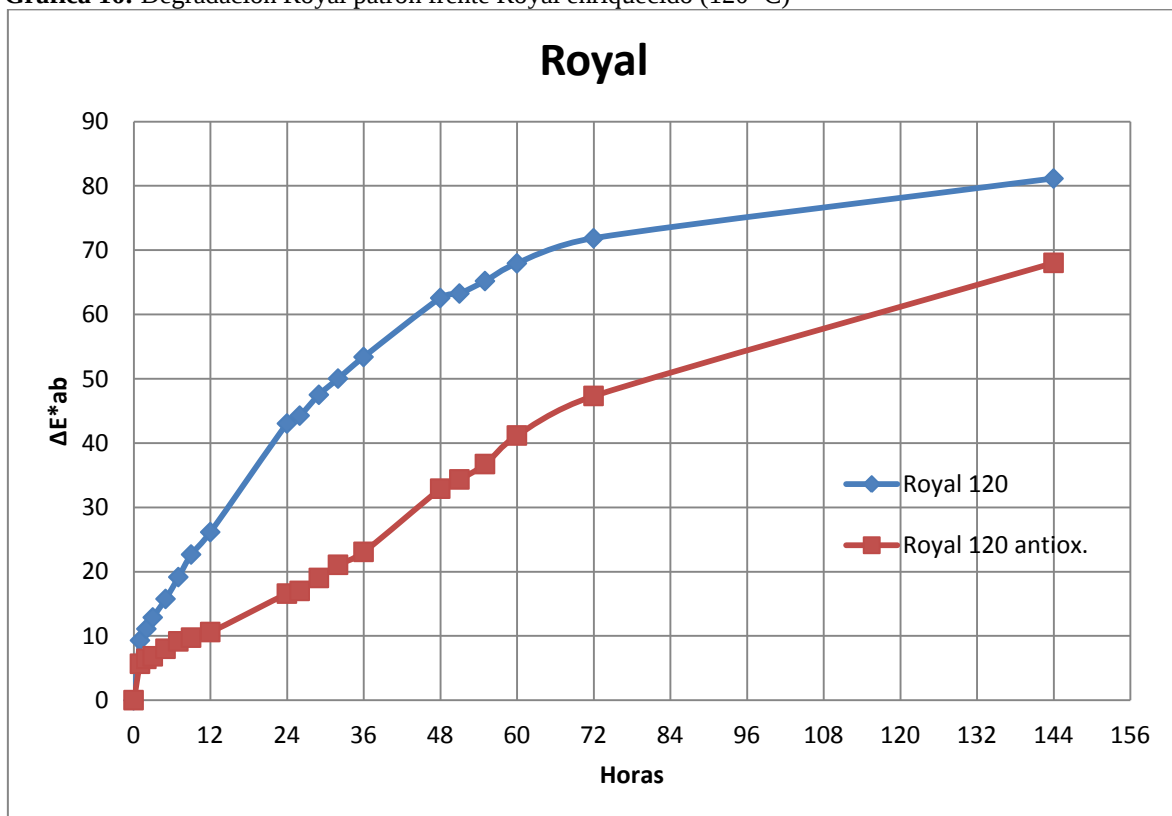
Tabla 35: Degradación del AOVE variedad Royal (120 °C) durante 144 horas

Horas	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	ΔE*ab(D65)
Patrón	81,94	6,08	121,79	-----
0	81,94	6,08	121,79	0
1	84,08	1,92	113,72	9,32
2	84,45	1,58	111,95	11,11
3	84,8	1,22	110,2	12,89
5	85,52	0,65	107,42	15,77
7	85,99	-0,04	104,07	19,17
9	86,46	-0,74	100,63	22,68
12	86,72	-0,87	97,02	26,16
24	88,57	-3,42	80,33	43,05
26	88,66	-3,51	79,08	44,28
29	88,88	-3,87	75,84	47,52
32	89,18	-4,04	73,32	50,04
36	89,45	-4,26	69,94	53,4
48	90,26	-5,17	60,8	62,57
51	90,22	-5,09	60,07	63,27
55	90,46	-5,27	58,14	65,21
60	90,69	-5,52	55,39	67,96
72	91,2	-5,64	51,49	71,86
144	92,69	-7,2	42,45	81,15

Tabla 36: Degradación del AOVE variedad Royal enriquecido (120 °C) durante 144 horas

Horas	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*ab(D65)$
Patrón	77,82	17,69	128,52	-----
0	77,82	17,71	128,51	0,03
1	80,55	12,76	129,35	5,69
2	81,11	12,26	129,65	6,45
3	81,4	11,97	129,71	6,85
5	82,19	11,13	129,99	8,02
7	82,78	10,04	129,55	9,17
9	83,1	9,53	129,26	9,75
12	83,54	8,73	128,47	10,62
24	85,4	4,7	121,49	16,6
26	85,28	4,63	120,55	17,02
29	85,6	3,8	118,09	19,03
32	85,88	3,12	115,58	21,08
36	86,02	2,76	112,92	23,09
48	87,04	0,22	102,18	32,92
51	87,06	0,07	100,51	34,36
55	87,23	-0,27	97,86	36,75
60	87,72	-1,22	93,29	41,19
72	88,18	-1,78	86,63	47,34
144	90,3	-5,18	65,66	68,04

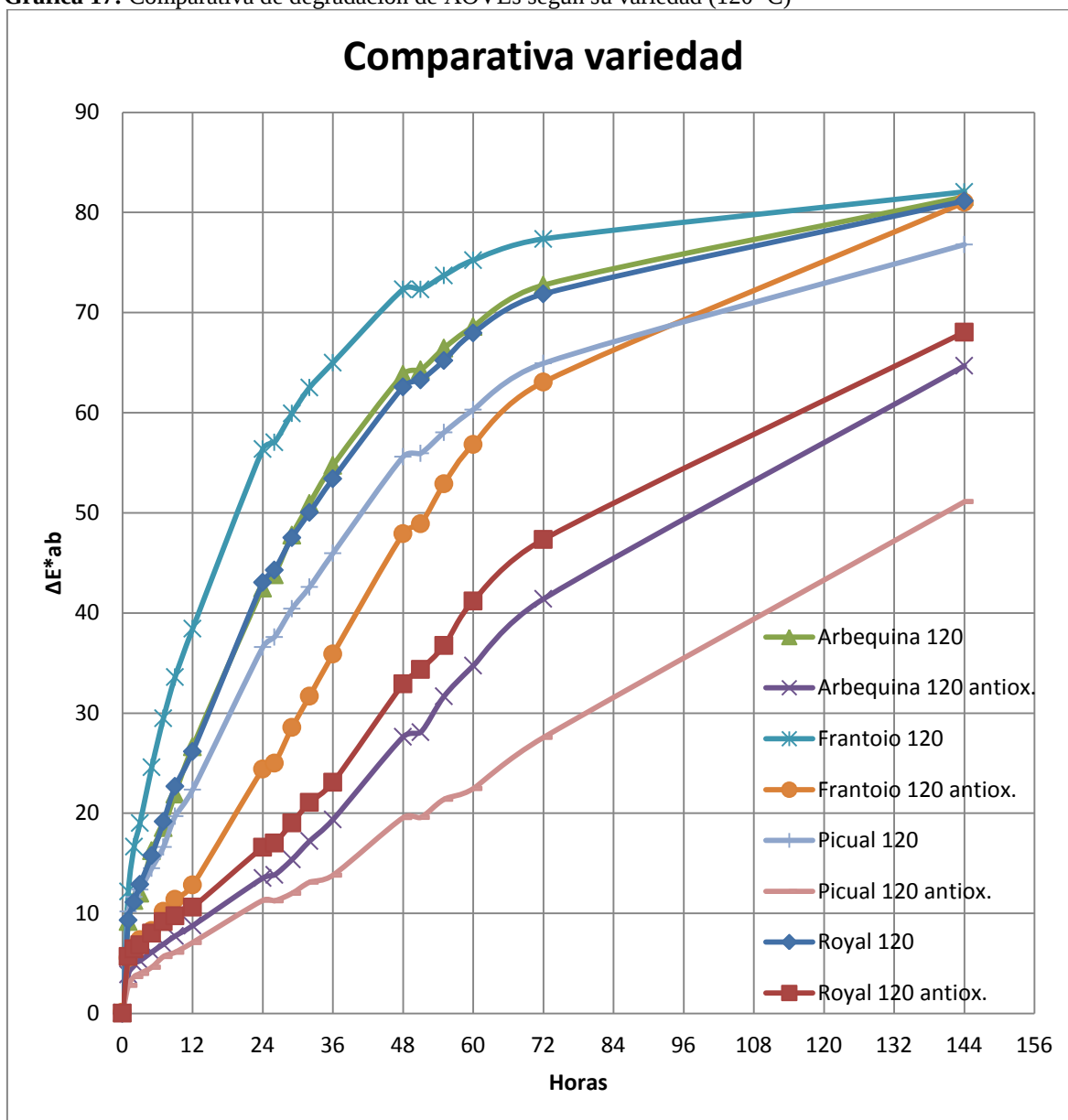
Gráfica 16: Degradación Royal patrón frente Royal enriquecido (120 °C)



Con las tablas [35](#) y [36](#) (Patrón y enriquecido) de la degradación con la temperatura del aceite de la variedad Royal, obtenemos la [gráfica 16](#). Como en el resto de los aceites, la curva de degradación se linealiza al añadirle nuestro extracto, aunque en este caso de manera menos acusada. Para las 40 unidades de ΔE^*ab seguimos teniendo un aumento de vida útil considerable (22 horas el aceite patrón frente a las 60 horas del aceite enriquecido, lo que nos da un aumento de 2,7 veces la vida útil), aunque está muy lejos de las 110 horas que tarda el AOVE variedad Picual.

Comparativa de termo-estabilidad por variedad de AOVEs:

Gráfica 17: Comparativa de degradación de AOVEs según su variedad (120 °C)



Comparando los cuatro aceites en la [gráfica 17](#) podemos ver, por un lado, que el aceite de oliva de la variedad Picual es sin duda el que más vida útil tiene, y por otro lado, que a pesar de las grandes diferencias que existen en el estudio de foto-estabilidad para el aceite Arbequina y Royal ([gráfica 5](#)), en cuanto a termo-estabilidad, su comportamiento es muy similar. Este dato indica que AOVEs como la variedad Royal son más estables frente a la temperatura que frente a la radiación ultravioleta.

Por otro lado, el AOVE variedad, no ha dado buenos resultados en ninguno de los dos experimentos, siendo el que más se degrada frente a la temperatura y a la radiación ultravioleta.

4.3.2.2. Termo-estabilidad de AOVEs en función de la madurez de fruto

Se va a representar a los tres aceites de oliva Picual por madurez de fruto en una sola gráfica ya que, como veremos en ella, su comportamiento es prácticamente el mismo, por lo que considero que solo es necesario explicarlo una vez.

Primero veremos las tablas de datos de los tres y después la gráfica conjunta.

Tabla 37: Degradación del AOVE Picual de octubre (120 °C) durante 84 horas

Horas	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*_{ab}(D65)$
Patrón	83,66	6,16	122,03	-----
0	83,65	6,16	122,01	0,01
1	85,19	1,74	112,41	10,69
2	85,67	1,2	111	12,26
4	86,28	0,47	108,66	14,76
6	86,66	-0,09	106,22	17,26
9	87,35	-0,74	102,84	20,72
12	87,85	-1,76	98,47	25,2
24	89,33	-3,4	86,35	37,37
26	89,23	-3,38	85,15	38,5
36	89,73	-4,29	77,21	46,42
48	90,84	-5,59	68,88	54,9
60	91,07	-5,55	64,72	58,96
72	91,47	-5,93	61,15	62,56
84	91,62	-6,09	57,81	65,86

Tabla 38: Degradación del AOVE Picual de octubre enriquecido (120 °C) durante 84 horas

Horas	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*ab(D65)$
Patrón	76,55	24,98	128,25	-----
0	76,54	24,99	128,2	0,05
1	78,97	19,48	129,82	6,21
2	79,55	19,15	130,54	6,95
4	80,33	18,14	131,17	8,35
6	80,86	17,08	131,3	9,5
9	81,76	16,5	132,58	10,85
12	82,08	15,31	132,15	11,8
24	83,63	11,97	132,29	15,36
26	83,36	12,07	131,99	15,07
36	84,35	9,68	130,57	17,34
48	85,19	7,62	128,67	19,4
60	85,36	6,69	126,8	20,35
72	85,56	5,85	125,11	21,38
84	85,9	4,96	122,83	22,76

Tabla 39: Degradación del AOVE Picual de noviembre (120 °C) durante 84 horas

Horas	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*ab(D65)$
Patrón	86,22	3,71	117,04	-----
0	86,22	3,71	117,09	0,05
1	87,75	-0,84	106,2	11,85
2	88,17	-1,38	104,87	13,33
4	88,61	-2,01	102,38	15,91
6	88,95	-2,68	99,5	18,87
9	89,35	-3,29	95,89	22,49
12	89,94	-4,13	91,88	26,61
24	91,17	-5,72	79,22	39,29
26	91,16	-5,85	78,27	40,24
36	92,12	-7,25	69,84	48,81
48	92,91	-7,87	63,57	55,11
60	93,16	-7,76	59,13	59,44
72	93,65	-7,47	56,17	62,33
84	93,9	-7,26	53,15	65,28

Tabla 40: Degradación del AOVE Picual de noviembre enriquecido (120 °C) durante 84 horas

Horas	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*ab(D65)$
Patrón	78,58	24,22	131,2	-----
0	78,58	24,22	131,33	0,13
1	80,72	18,8	132,06	5,89
2	81,09	18,42	132,42	6,44
4	81,72	17,4	132,76	7,67

6	82,13	16,67	133,01	8,54
9	83,04	15,73	133,83	9,94
12	83,41	14,69	133,75	10,98
24	84,88	11,33	133,68	14,55
26	84,64	11,36	133,27	14,36
36	85,52	8,58	131,35	17,11
48	86,12	6,36	129,01	19,5
60	86,39	5,21	127,3	20,92
72	86,77	4,13	125,59	22,41
84	86,74	3,69	123,75	23,32

Tabla 41: Degradación del AOVE Picual de diciembre (120 °C) durante 84 horas

Horas	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*_{ab}(D65)$
Patrón	83,72	4,6	125,04	-----
0	83,72	4,6	125	0,04
1	85,21	0,22	116,29	9,9
2	85,35	0,14	115,56	10,6
4	85,62	-0,38	112,87	13,29
6	85,79	-0,72	110,35	15,76
9	86,68	-1,09	107,76	18,43
12	87,04	-1,81	103,37	22,84
24	88,11	-3,77	88,35	37,89
26	87,91	-3,65	87,28	38,88
36	88,61	-4,94	77,82	48,42
48	89,11	-5,36	70,85	55,36
60	89,31	-5,47	65,79	60,36
72	89,63	-5,63	61,88	64,25
84	89,84	-5,64	58,74	67,36

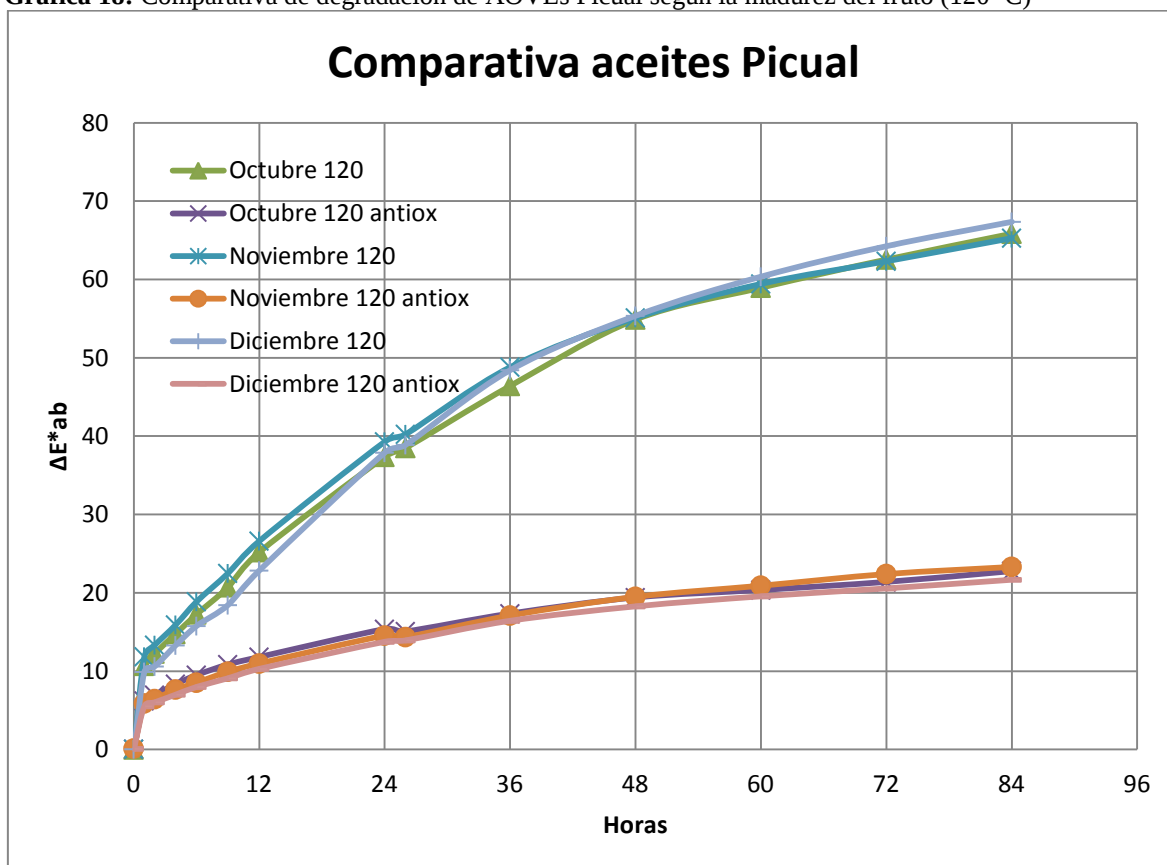
Tabla 42: Degradación del AOVE Picual de diciembre enriquecido (120 °C) durante 84 horas

Horas	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*_{ab}(D65)$
Patrón	76,54	23,48	128,23	-----
0	76,54	23,46	128,31	0,08
1	78,55	18,5	129,46	5,51
2	78,84	18,18	129,88	6,01
4	79,31	17,29	129,9	6,99
6	79,68	16,42	130,23	7,98
9	80,46	15,82	131,12	9,08
12	80,86	14,59	131,02	10,28
24	82,24	11,3	131,03	13,74
26	82,25	11,06	130,81	13,92
36	83,08	8,43	128,79	16,42
48	83,8	6,78	126,99	18,26

60	84,07	5,75	124,98	19,54
72	84,06	5,13	122,88	20,55
84	84,3	4,62	120,94	21,66

Si reflejamos los datos que aparecen en las tablas [37](#), [39](#) y [41](#) (para los aceites patrón) y las tablas [38](#), [40](#) y [42](#) (para los aceites enriquecidos) en la [gráfica 18](#) vemos como las tres curvas de degradación de los aceites patrón solapan en gran medida. Lo mismo pasa con las tres curvas de degradación de los aceites enriquecidos. Como no podemos hacer una comparación a los 40 puntos de degradación, la haremos a los 20 puntos (aunque no sería aún un aceite muy degradado). Mientras que los aceites patrón llegan a los 20 puntos a las 9-10 horas, los aceites enriquecidos con nuestro extracto llegan a las 60 horas, lo que nos da una vida útil 6 veces mayor, un dato muy importante ya que, si a 180 °C tiene la misma tendencia, el aceite de nuestra freidora podría utilizarse 5 o 6 ciclos más antes de degradarse, lo que supondría un ahorro de aceite muy importante.

Gráfica 18: Comparativa de degradación de AOVEs Picual según la madurez del fruto (120 °C)



Estos resultados muestran que la madurez del fruto (a diferencia de lo que pasaba en foto-estabilidad) no produce cambios en el comportamiento del aceite frente a la

temperatura, por lo que cualquier aceite de picual virgen extra sería una buena matriz para nuestro extracto.

4.3.2.3. Termo-estabilidad en aceites de girasol y maíz

Aceites de girasol:

Cómo el experimento de termo-estabilidad de los aceites de girasol se hizo la segunda semana (84 horas) y el aceite de maíz se hizo en la primera semana (144 horas), se representarán en gráficas diferentes.

Tabla 43: Degradación del aceite de girasol Coosol (120 °C) durante 84 horas

Horas	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*_{ab}(D65)$
Patrón	99,17	-1,65	6,41	-----
0	99,17	-1,65	6,41	0
1	99,18	-1,74	6,97	0,57
2	99,28	-1,79	7,02	0,64
4	99,3	-1,76	6,88	0,5
6	99,31	-1,75	6,81	0,43
9	99,51	-1,7	6,59	0,39
12	99,62	-1,67	6,67	0,52
24	99,91	-1,58	6,01	0,84
26	99,92	-1,75	6,58	0,78
36	99,65	-1,63	6,43	0,48
48	99,99	-1,75	6,55	0,84
60	99,55	-1,78	6,65	0,47
72	99,75	-1,92	6,87	0,78
84	99,9	-2,02	7,13	1,09

Tabla 44: Degradación del aceite de girasol Coosol enriquecido (120 °C) durante 84 horas

Horas	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*_{ab}(D65)$
Patrón	86,67	14,4	134,31	-----
0	86,64	14,48	134,45	0,16
1	88,63	8,1	131,66	7,11
2	88,88	7,58	131,22	7,81
4	89,12	6,89	130,38	8,83
6	89,36	6,18	129,46	9,92
9	90,15	5,71	129,13	10,7
12	90,35	5,05	127,76	12
24	91,21	2,8	122,3	17,31
26	91,48	2,68	121,96	17,7

36	91,84	0,72	116,25	23,25
48	92,28	-0,35	111,77	27,52
60	92,24	-1,1	107,63	31,36
72	92,49	-1,51	104,47	34,32
84	92,76	-1,57	101,59	36,92

Tabla 45: Degradación del aceite de girasol Hacendado (120 °C) durante 84 horas

Horas	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*ab(D65)$
Patrón	98,88	-2,51	9,51	-----
0	98,88	-2,51	9,51	0
1	98,94	-2,47	9,31	0,22
2	98,98	-2,54	9,52	0,11
4	98,96	-2,59	9,54	0,12
6	98,96	-2,63	9,58	0,16
9	99,05	-2,67	9,5	0,23
12	99,78	-2,77	9,83	0,99
24	99,77	-2,84	9,53	0,95
26	99,76	-2,9	10,06	1,11
36	99,48	-2,93	10,22	1,02
48	99,58	-3,03	10,45	1,28
60	99,42	-3,07	10,83	1,53
72	99,61	-3,13	11,58	2,27
84	99,39	-3,25	11,96	2,61

Tabla 46: Degradación del aceite de girasol Hacendado enriquecido (120 °C) durante 84 horas

Horas	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*ab(D65)$
Patrón	86,54	14,57	134,78	-----
0	86,54	14,59	134,77	0,03
1	88,51	8,25	131,84	7,24
2	88,71	8	131,97	7,47
4	88,95	7,34	131,22	8,41
6	89,37	6,58	130,57	9,46
9	89,63	5,99	129,66	10,45
12	89,61	5,88	128,5	11,16
24	90,55	3,29	123,77	16,26
26	90,75	3,33	123,63	16,39
36	91,32	1,35	119,02	21,12
48	91,72	0,46	115,67	24,31
60	91,79	-0,1	112,72	27,01
72	92,09	-0,63	110,13	29,48
84	92,18	-0,78	107,69	31,65

Tabla 47: Degradación del aceite de girasol Koipesol (120 °C) durante 84 horas

Horas	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*_{ab}(D65)$
Patrón	98,93	-1,92	8,11	-----
0	98,93	-1,92	8,12	0
1	98,92	-2,02	8,72	0,62
2	99,01	-2,09	8,93	0,84
4	99,03	-2,09	8,88	0,79
6	99,21	-2,11	8,9	0,86
9	99,53	-1,96	9,1	1,15
12	99,48	-2,18	9,72	1,72
24	99,61	-2,04	8,96	1,1
26	99,54	-2,18	9,83	1,84
36	99,44	-2,12	9,35	1,35
48	99,68	-2,09	9,34	1,45
60	99,52	-2,15	9,31	1,35
72	99,46	-2,2	9,44	1,45
84	99,54	-2,26	9,63	1,67

Tabla 48: Degradación del aceite de girasol Koipesol enriquecido (120 °C) durante 84 horas

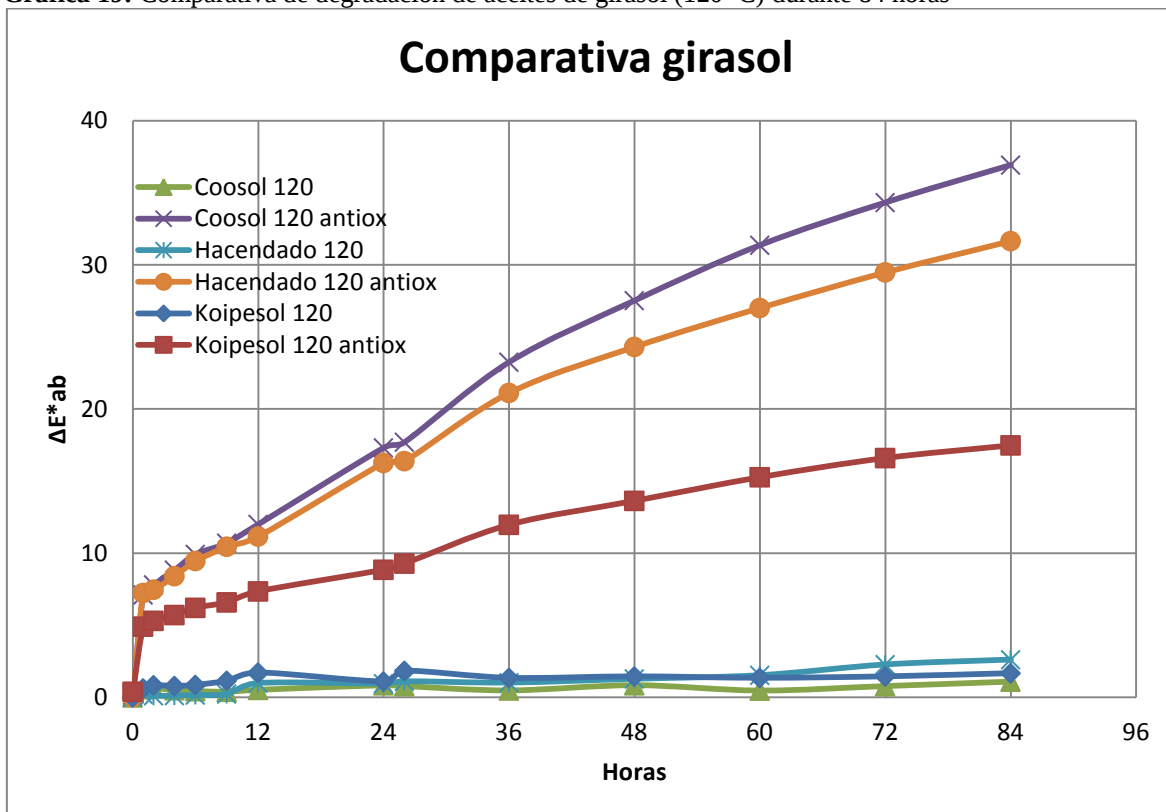
Horas	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*_{ab}(D65)$
Patrón	86,8	13,99	131,54	-----
0	86,77	14,04	131,93	0,39
1	87,99	9,92	134,03	4,91
2	88,22	9,42	133,86	5,31
4	88,46	8,86	133,44	5,71
6	88,67	8,21	132,85	6,21
9	88,94	7,81	132,4	6,59
12	89,23	7,05	131,62	7,35
24	89,95	5,89	129,83	8,85
26	89,85	5,57	129,1	9,28
36	90,36	3,93	126,12	11,97
48	90,76	3,17	124,26	13,63
60	91,08	2,43	122,53	15,27
72	91,25	1,97	120,99	16,6
84	91,27	1,97	119,66	17,48

Una vez presentados los datos de los aceites de girasol patrón (Tablas [43](#), [45](#) y [47](#)) y los aceites de girasol enriquecidos (Tablas [44](#), [46](#) y [48](#)), representamos las curvas de degradación de los aceites en la [Gráfica 19](#). Las curvas de degradación de los aceites enriquecidos son muy lineales, algo que habíamos visto ya en los aceites de oliva, por lo que es posible que, en cuestión de resistencia térmica, si sean buenas matrices para nuestro extracto (en el estudio de foto-estabilidad no se obtuvieron tan buenos resultados). De los

tres aceites, el que mejor comportamiento presenta es el aceite Koipesol, no superando las 20 unidades de ΔE^*ab a las 84 horas de experimento (menos incluso que todos los aceites de oliva del experimento).

Los otros dos aceites tienen una degradación similar entre ellos (un poco más degradado el aceite Coosol) y con el aceite de la variedad Picual. De hecho su degradación es menor que la de los otros tres aceites de oliva del estudio de la variedad.

Gráfica 19: Comparativa de degradación de aceites de girasol (120 °C) durante 84 horas



Aceite de maíz:

Tabla 49: Degradación del aceite de maíz (120 °C) durante 144 horas

Horas	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*ab(D65)$
Patrón	98,59	-3,54	15,43	-----
0	98,58	-3,53	15,43	0
1	97,97	-4,4	22,12	6,78
2	98,03	-4,5	22,95	7,6
3	98,01	-4,45	22,52	7,17
5	98,24	-4,34	21,42	6,05
7	98,38	-4,25	20,93	5,55
9	98,41	-4,19	20,41	5,03
12	98,5	-4,2	19,84	4,46

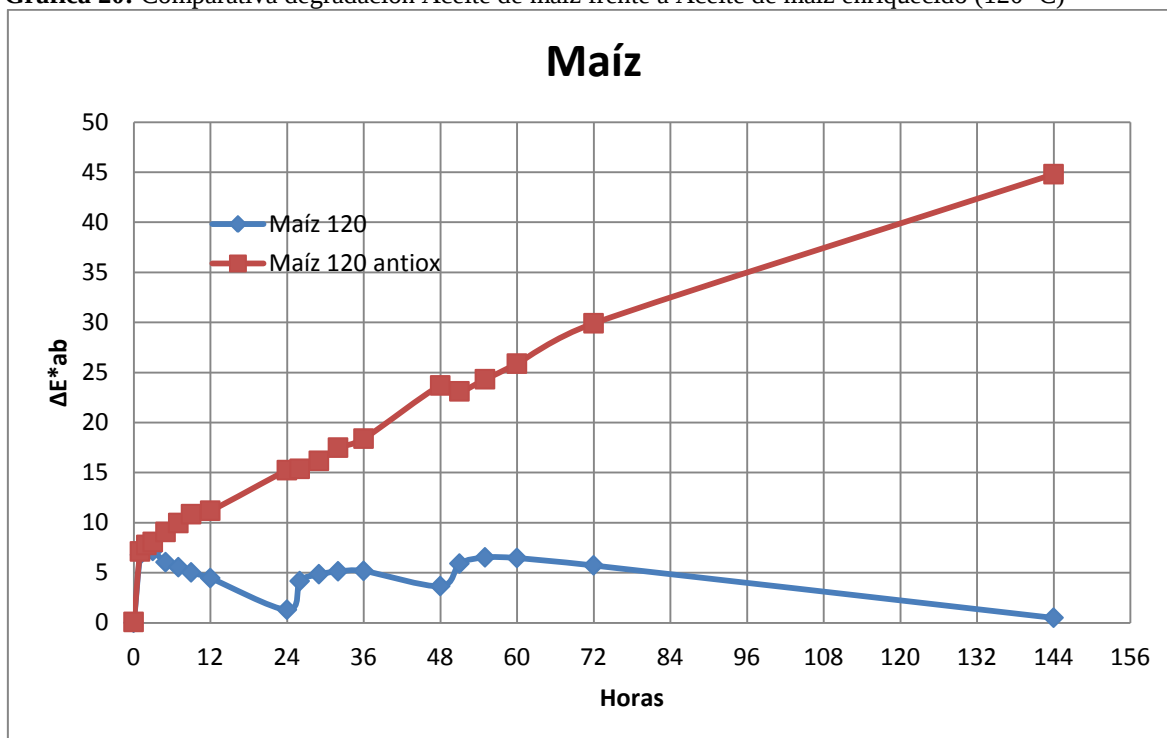
24	98,84	-3,76	16,68	1,3
26	98,68	-4,2	19,53	4,16
29	98,64	-4,33	20,21	4,85
32	98,62	-4,39	20,5	5,14
36	98,63	-4,45	20,53	5,18
48	98,59	-4,19	19,03	3,66
51	98,35	-4,49	21,26	5,91
55	98,42	-4,62	21,87	6,53
60	98,31	-4,67	21,79	6,47
72	98,42	-4,58	21,06	5,73
144	98,87	-3,71	15,79	0,5

Tabla 50: Degradación del aceite maíz enriquecido (120 °C) durante 144 horas

Horas	L*(D65)	a*(D65)	b*(D65)	$\Delta E^*_{ab}(D65)$
Patrón	86,61	15	135,6	-----
0	86,6	15,02	135,52	0,08
1	88,34	9,04	132,1	7,12
2	88,7	8,44	132	7,77
3	88,9	8,2	131,89	8,07
5	89,16	7,49	131,2	9,07
7	89,52	6,79	130,76	9,96
9	89,69	6,27	129,95	10,84
12	89,91	6,06	129,72	11,19
24	90,58	3,99	125,84	15,24
26	90,3	4,09	125,42	15,37
29	90,4	3,77	124,6	16,17
32	90,58	3,21	123,3	17,49
36	90,75	2,96	122,32	18,39
48	91,14	1,32	116,78	23,7
51	90,98	1,68	117,22	23,11
55	91,19	1,32	116,03	24,32
60	91,28	0,98	114,36	25,88
72	91,92	0,28	110,11	29,91
144	93,11	-2,93	95,06	44,8

En las gráficas [49](#) y [50](#) tenemos los datos de degradación de los aceites de maíz patrón y enriquecido respectivamente. Con estos datos representamos la [Gráfica 20](#), donde podemos ver que la degradación del aceite de maíz enriquecido es lineal, algo que hemos visto en el resto de aceites, y además es una degradación lenta (40 puntos de degradación a las 120 horas), por lo que demuestra ser una buena matriz para nuestro extracto también frente a la temperatura.

Gráfica 20: Comparativa degradación Aceite de maíz frente a Aceite de maíz enriquecido (120 °C)



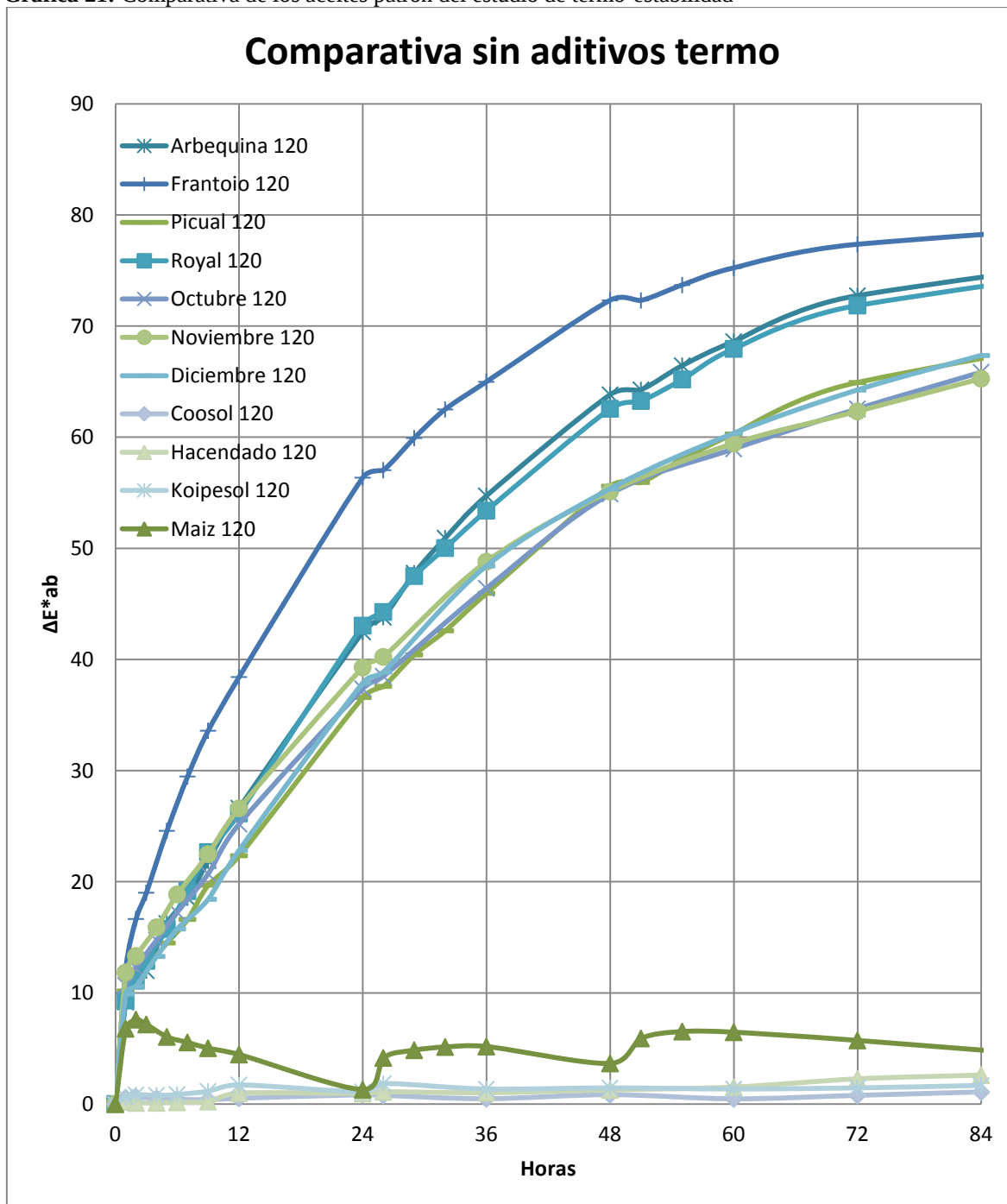
4.3.2.4. Comparativa global del estudio de termo-estabilidad:

Para poder realizar una comparación de todos los aceites, se han delimitado las gráficas en 84 horas, ya que hay aceites con datos hasta 144 horas y aceites con datos hasta 84 horas.

En la [gráfica 21](#) podemos ver como todos los aceites de oliva tienen unas curvas de degradación similares donde se pueden diferenciar tres grupos. En el primer grupo se encuentra el AOVE variedad Frantoio, que es el que más se ha degradado de todos (40 unidades de ΔE^*ab en 13 horas). En segundo lugar, tenemos los AOVEs variedad Arbequina y Royal, con una degradación algo menor (40 unidades de ΔE^*ab en 21-22 horas). El tercer grupo lo forman los cuatro AOVEs de la variedad Picual, con unas curvas de degradación que se solapan las unas a las otras, las cuáles nos vuelven a reflejar que la madurez del fruto no afecta a la resistencia térmica a la degradación. Para alcanzar una degradación de 40 unidades de ΔE^*ab , los aceites Picual necesitan estar entre 26 y 30 horas a 120 °C.

De los aceites de semillas, al igual que en el estudio de foto-estabilidad, no podemos sacar conclusiones en los aceites patrón, ya que su degradación química no se corresponde con la degradación del color.

Gráfica 21: Comparativa de los aceites patrón del estudio de termo-estabilidad

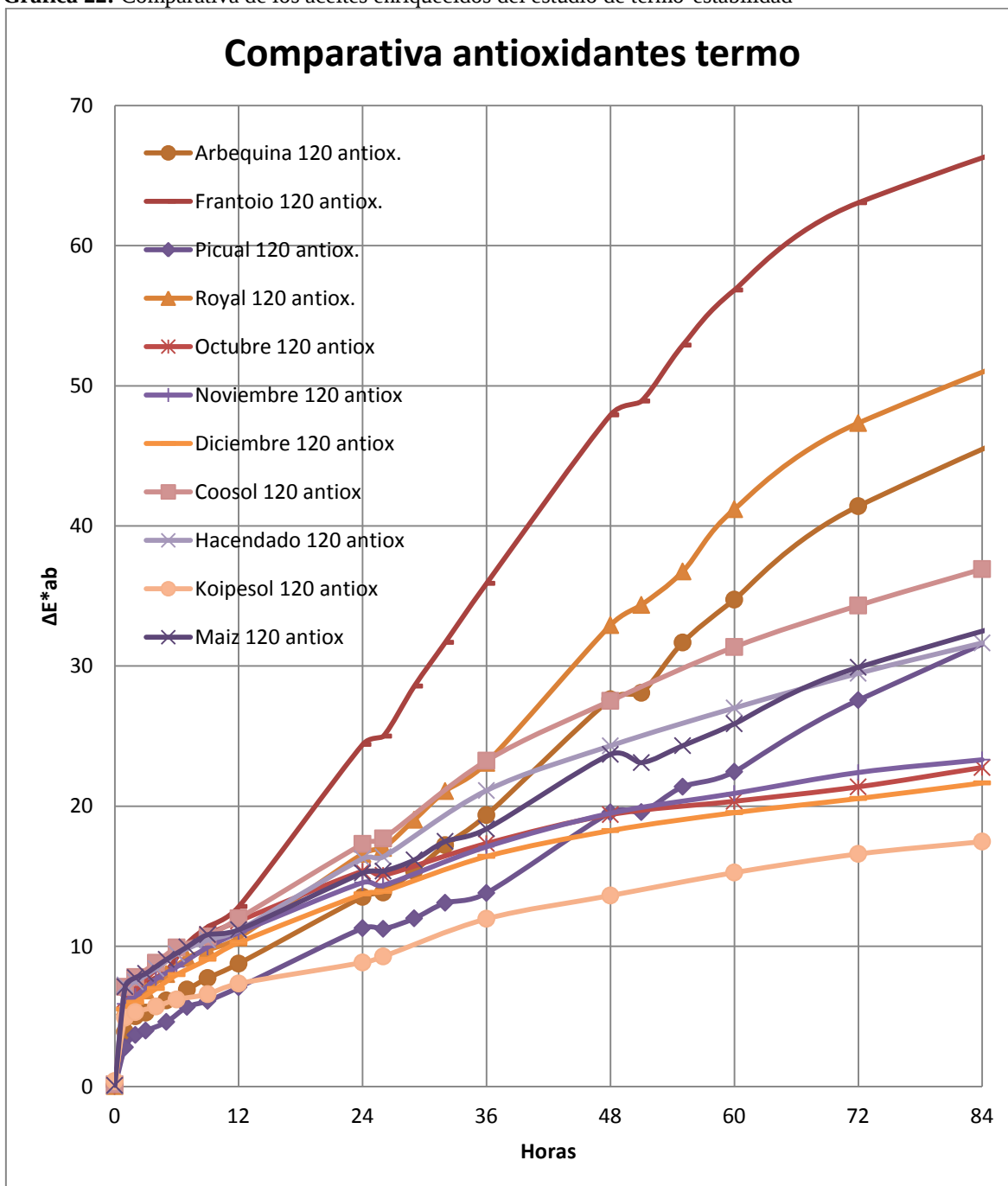


En la [gráfica 22](#) podemos ver las curvas de degradación de los aceites enriquecidos con nuestro extracto. De todos los aceites, el peor en términos de degradación es el AOVE

variedad Frantoio (40 unidades de ΔE^*ab a las 40 horas de experimento). Los otros dos aceites que han llegado a las 40 unidades de ΔE^*ab antes de las 84 de experimento son el AOVE variedad Royal (58 horas) y el AOVE variedad Arbequina (68 horas).

Los aceites de girasol y los aceites de la variedad Picual (que son los aceites más usados para cocinar) tienen una degradación aceptable, sobre todo los tres AOVEs de la variedad Picual del estudio de madurez de fruto (no superando las 23 unidades de ΔE^*ab tras 84 horas de experimento).

Gráfica 22: Comparativa de los aceites enriquecidos del estudio de termo-estabilidad



5. CONCLUSIONES

Tras realizar los experimentos de dos de los puntos fundamentales que se relacionan con la degradación fisicoquímica de un aceite (Estabilidad frente a la radiación electromagnética y Estabilidad frente a la temperatura) a once aceites diferentes, entre AOVEs y aceites de semillas, podemos sacar la conclusión de que la adición de nuestro extracto a las matrices oleosas les produce una mejora importante en sus propiedades fisicoquímicas, aunque no reacciona de la misma manera para todos los aceites ni para los dos experimentos.

Si analizamos la estabilidad de nuestro extracto frente a la exposición a la luz, tenemos como matrices más adecuadas para nuestro extracto (atendiendo por un lado, las diferencias de degradación del aceite patrón y este mismo aceite enriquecido con nuestro extracto, y por otro, a las diferencias de degradación entre los 12 aceites) a los aceites de oliva de la variedad Arbequina y Picual, al aceite picual con fecha de recolección en octubre y al aceite de maíz.

Tras analizar la estabilidad de nuestro extracto frente a la temperatura, hemos obtenido resultados magníficos, multiplicando la vida útil de los aceites del experimento en algunos casos hasta por 6 (en el caso de los aceites de picual según su madurez de fruto) y como mínimo triplicamos la vida útil en otros aceites (Arbequina, Frantoio y Picual). Por ello tenemos como matrices más adecuadas para nuestro extracto a los 4 aceites de oliva de la variedad Picual, a los aceites de girasol (especialmente el aceite de la marca Koipisol) y al aceite de maíz.

Los AOVEs de las variedades Frantoio y Royal no han mostrado una buena relación de degradación en ninguno de los dos experimentos. Aunque sí que aumenta la vida útil de estos aceites frente a la temperatura, su degradación sigue siendo rápida en relación a otros AOVEs.

Los resultados obtenidos, permiten además de incorporar una gran cantidad de antioxidantes beneficiosos para muchos aspectos de nuestra salud (vista, piel, prevención de ciertos tipos de cáncer, déficit de vitaminas,...) a nuestra dieta (sin tener que alterar nuestros hábitos de consumo, porque estarían en un producto que ya consumimos), aumentar la vida útil de nuestros aceites, tanto para consumo en crudo (aumentando el

tiempo necesario para que un aceite bien conservado se degrade, en esencia aumentando su fecha preferente de consumo), como para su uso en cocina (multiplicando la vida útil de nuestros aceites para freír, con el consiguiente ahorro económico y de aceite).

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A

- 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

- 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.

- <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.

- 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 -tocopherol 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.

- http://digital.csic.es/bitstream/10261/54093/3/Manual_Nutricion_Kelloggs_24.pdf

E

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

F

- Fernández J.M., Acién F.G., Molina E. Biotechnological production of lutein and its applications, Applied Microbiology and Biotechnology. 2010. 86-1, 27-40.

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

- 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.

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

- 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.

- 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 Pieralisi, Hiler and Rapanelli (Sinolea-Decanter) 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 .2007. 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.

- 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.

- 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.

-http://www.nutri-facts.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.

- <http://www.olimerca.com/noticiadet/el-consumo-per-capita-de-aceite-de-oliva-en-espana-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.; Zannoni 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.

- 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 quantità di acqua impiegata nella lavorazione continua delle olive con centrifugazione. Nota II. Incidenza sulla qualità dell'olio. Industrie Alimentari. 1988. XXVII, 735-745.

- Ranalli A. Variabilità degli indici cromatici e analitici degli oli vergini d'oliva in funzione di parametri tecnologici. 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 colourings 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

- 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.

- 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.

T

- Tous J.; Romero A.; Guerrero L.; Díaz I.; Hermoso JF. Características químico-sensoriales 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.

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

- 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 caultativo. Grasas y Aceits. 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.

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.