



**UNIVERSIDAD DE JAÉN**  

---

**ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR  
DE LINARES  
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA  
QUÍMICA, AMBIENTAL Y DE LOS  
MATERIALES**

**TESIS DOCTORAL**

**INFLUENCIA DE LOS FACTORES  
TECNOLÓGICOS EN LA CALIDAD Y EN EL  
CONTENIDO EN ANTIOXIDANTES DEL  
ACEITE DE OLIVA VIRGEN**

**PRESENTADA POR:  
ANTONIA DE TORRES SÁNCHEZ**

**DIRIGIDA POR:  
DR. D. MANUELA MOYA VILAR  
DR. D. FRANCISCO ESPÍNOLA LOZANO  
DR. D. ANTONIO JIMÉNEZ MÁRQUEZ**

**JAÉN, 29 DE MAYO DE 2013**

**ISBN 978-84-8439-138-8**



# TESIS DOCTORAL

## INFLUENCIA DE LOS FACTORES TECNOLÓGICOS EN LA CALIDAD Y EN EL CONTENIDO EN ANTIOXIDANTES DEL ACEITE DE OLIVA VIRGEN

**Antonia de Torres Sánchez**

Aspirante al Grado de Doctor

**Los directores de la Tesis Doctoral**

Dr. D. Manuel Moya Vilar

Titular de Universidad  
Dpto. Ingeniería Química, Ambiental y de los Materiales  
Universidad de Jaén

Dr. D. Francisco Espínola Lozano

Titular de Universidad  
Dpto. Ingeniería Química, Ambiental  
y de los Materiales  
Universidad de Jaén

Dr. D. Antonio Jiménez Márquez

Investigador Titular  
IFAPA. Mengíbar (Jaén)  
Consejería de Agricultura, Pesca y  
Medio Ambiente.  
Junta de Andalucía

Jaén, Febrero 2013



*Mi agradecimiento más sincero a los Drs. Manuel Moya Vilar, Francisco Espínola Lozano y Antonio Jiménez Márquez, directores de esta Tesis Doctoral.*

*Este trabajo finalmente ve la luz, gracias a todas aquellas personas que durante esta travesía me han demostrado su apoyo, su complicidad y en definitiva su cariño.*

*Gracias*



*A Juan Carlos y a Javier*



*“Y con la rama de olivo cargada de frutos  
el hombre sana y se purifica”*

Virgilio (Eneida, s.I a.C.)



# ÍNDICE

---



---

<b>1. Resumen</b> .....	1
<b>2. Antecedentes</b> .....	7
<b>2.1. Radicales libres y antioxidantes</b> .....	9
<b>2.2. Importancia de la ingesta de antioxidantes en la dieta</b> .....	11
2.2.1. Alimento funcional: compuestos fenólicos .....	12
2.2.2. Compuestos fenólicos .....	14
<b>2.3. El aceite de oliva virgen</b> .....	17
2.3.1 Composición .....	18
2.3.1.1. Compuestos mayoritarios.....	19
2.3.1.2. Compuestos minoritarios.....	21
2.3.1.3. Compuestos volátiles .....	25
<b>2.4. Antioxidantes presentes en el aceite de oliva virgen</b> .....	26
2.4.1. Compuestos fenólicos .....	26
2.4.2. Tocoferoles .....	32
2.4.3. Pigmentos .....	35
2.4.3.1. Clorofilas y feofitinas .....	35
2.4.3.2. Carotenoides .....	36
<b>2.5. Elaboración de aceite de oliva virgen</b> .....	37
2.5.1. Almazara .....	37
2.5.2. Recepción, limpieza y lavado.....	39
2.5.3. Almacenamiento del fruto.....	40
2.5.4. Preparación de la pasta .....	40
2.5.4.1. Molienda.....	41
2.5.4.2. Batido .....	42
2.5.4.3. Coadyuvantes tecnológicos .....	42
2.5.5. Decantación centrífuga .....	44
2.5.6. Lavado de aceites .....	45
2.5.7. Almacenamiento de los aceites.....	47

<b>2.6. Factores que afectan a la presencia de antioxidantes en el aceite de oliva virgen</b> .....	48
2.6.1. Factores agronómicos .....	48
2.6.1.1. Factores agronómicos intrínsecos.....	48
2.6.1.2. Factores agronómicos extrínsecos.....	50
2.6.2. Factores tecnológicos.....	54
2.6.2.1. Molienda del fruto .....	54
2.6.2.2. Batido de la pasta de aceituna .....	56
2.6.2.3. Separación de las fases sólida-líquida .....	58
2.6.2.4. Separación líquido-líquido .....	59
2.6.2.5. Almacenamiento .....	59
<b>3. Objetivos</b> .....	61
<b>4. Materiales y métodos</b> .....	65
<b>4.1. Material vegetal</b> .....	67
4.1.1. Toma de muestra .....	68
4.1.2. Transporte y conservación de las aceitunas .....	68
4.1.3. Caracterización de las muestras de aceitunas.....	69
4.1.3.1. Índice de madurez .....	69
4.1.3.2. Humedad y materias volátiles de las pastas de aceituna y orujos .....	70
4.1.3.3. Contenido graso de las pastas de aceitunas y orujos	70
<b>4.2. Coadyuvantes tecnológicos</b> .....	71
<b>4.3. Extracción de los aceites: Abencor</b> .....	73
<b>4.4. Análisis de aceites</b> .....	75
4.4.1. Acidez libre .....	75
4.4.2. Índice de peróxidos .....	76
4.4.3. Absorción en el ultravioleta: $K_{270}$ , $K_{232}$ , $\Delta K$ .....	77
4.4.4. Pigmentos fotosintéticos.....	78
4.4.5. Polifenoles totales .....	79
4.4.6. Contenido en ortodifenoles.....	80
4.4.7. Perfil cromatográfico de tocoferoles .....	81
4.4.8. Perfil cromatográfico de los compuestos fenólicos .....	81

---

<b>4.5. Diseño estadístico de experimentos</b> .....	83
4.5.1. El método tradicional frente al diseño estadístico de experimentos.....	84
4.5.2. Metodología del diseño estadístico de experimentos .....	85
4.5.3. Optimización de la respuesta. Metodología de superficie de respuesta .....	87
4.5.4. Diseño factorial.....	88
4.5.5. Diseño central compuesto rotatable.....	89
<b>4.6. Software utilizado para los análisis estadísticos</b> .....	90
<b>4.7. Interpretación de los modelos factoriales y cuadráticos</b> .....	90
4.7.1. Influencia de la interacción sobre la respuesta .....	91
4.7.2. Influencia del término cuadrático sobre la respuesta .....	93
<b>5. Resultados y discusión</b> .....	95
<b>5.1. Resultados experimentales</b> .....	97
5.1.1. Materia prima: aceituna.....	97
5.1.2. Diseño experimental.....	102
5.1.3. Resultados experimentales .....	104
<b>5.2. Discusión de resultados</b> .....	151
5.2.1. Diseño factorial. Campaña 2007-08.....	151
5.2.1.1. Rendimiento en Aceite .....	152
5.2.1.2. Índice de Acidez .....	154
5.2.1.3. Índice de Peróxidos.....	155
5.2.1.4. $K_{232}$ .....	156
5.2.1.5. $K_{270}$ .....	156
5.2.1.6. Pigmentos .....	157
5.2.1.7. Polifenoles Totales .....	160
5.2.1.8. Ortodifenoles .....	162
5.2.1.9. Hidroxitirosol.....	164
5.2.1.10. Tirosol .....	166
5.2.1.11. Ácido Vanílico .....	167
5.2.1.12. Vanillina .....	169
5.2.1.13. Ácido p-Coumárico .....	169
5.2.1.14. Hy-EDA .....	170
5.2.1.15. Pinoresinol .....	172

5.2.1.16.	Ty-EDA.....	172
5.2.1.17.	Luteolina.....	174
5.2.1.18.	Ácido Cinnámico .....	175
5.2.1.19.	Acetoxi-pinoresinol .....	177
5.2.1.20.	Apigenina .....	178
5.2.1.21.	Hy-EA.....	180
5.2.1.22.	Ty-EA .....	181
5.2.1.23.	Polifenoles Totales HPLC .....	183
5.2.1.24.	α-Tocoferol .....	184
5.2.1.25.	β-Tocoferol .....	186
5.2.1.26.	γ-Tocoferol .....	186
5.2.1.27.	Tocoferoles Totales.....	188
5.2.2.	Diseño central compuesto rotatable. Camp. 2008-09 y 2009-10	190
5.2.2.1.	Rendimiento en Aceite .....	191
5.2.2.2.	Índice de Acidez .....	197
5.2.2.3.	Índice de Peróxidos .....	200
5.2.2.4.	K <sub>232</sub> y K <sub>270</sub> .....	203
5.2.2.5.	Pigmentos fotosintéticos: clorofilas y carotenoides ...	208
5.2.2.6.	Polifenoles Totales .....	214
5.2.2.7.	Ortodifenoles .....	218
5.2.2.8.	Hidroxitirosol.....	221
5.2.2.9.	Tirosol.....	224
5.2.2.10.	Ácido Vanílico.....	226
5.2.2.11.	Vanillina.....	229
5.2.2.12.	Ácido p-Coumárico.....	231
5.2.2.13.	Hy-EDA .....	233
5.2.2.14.	Pinoresinol.....	236
5.2.2.15.	Ty-EDA.....	238
5.2.2.16.	Luteolina.....	240
5.2.2.17.	Ácido Cinnámico .....	243
5.2.2.18.	Acetoxi-pinoresinol .....	245
5.2.2.19.	Apigenina .....	247
5.2.2.20.	Hy-EA.....	250
5.2.2.21.	Ty-EA .....	252
5.2.2.22.	Polifenoles Totales HPLC .....	254
5.2.2.23.	α-Tocoferol .....	257
5.2.2.24.	β-Tocoferol .....	260
5.2.2.25.	γ-Tocoferol .....	262
5.2.2.26.	Tocoferoles Totales.....	265

<b>5.3. Aplicación de los modelos.....</b>	<b>268</b>
<b>6. Conclusiones .....</b>	<b>273</b>
<b>7. Nomenclatura.....</b>	<b>277</b>
<b>8. Bibliografía.....</b>	<b>285</b>



## **1. RESUMEN**

---



El trabajo que se presenta en esta Memoria de Tesis Doctoral ha sido realizado en los laboratorios del Departamento de Ingeniería Química, Ambiental y de los Materiales en la Facultad de Ciencias Experimentales de Jaén y en la Escuela Politécnica Superior de Linares, de la Universidad de Jaén. En el seno del Grupo de Investigación Ingeniería Química y Ambiental, IQUIMA (TEP-233).

El efecto beneficioso del aceite de oliva virgen para la salud se atribuye principalmente a su composición en ácidos grasos (alto contenido en ácido oléico) y a su capacidad antioxidante, debido a la presencia en la fracción insaponificable de compuestos fenólicos, tocoferoles (vitamina E), carotenoides y clorofilas.

El contenido y perfil de los antioxidantes, presentes en el aceite de oliva virgen, depende de factores agronómicos y tecnológicos. Entre los factores agronómicos se encuentran: variedad de aceituna, índice de madurez del fruto en el momento de la recolección, características del cultivo (riego o secano), factores edafológicos y condiciones climáticas, principalmente las precipitaciones. Los factores tecnológicos o de elaboración del aceite de oliva virgen son: grado de molienda de la aceituna, temperatura y tiempo de batido de las pastas de aceituna y la dosis de coadyuvante añadida a las pastas durante el batido.

El trabajo de investigación que se presenta se ha centrado en el estudio de la influencia de factores agronómicos y de factores tecnológicos sobre la fracción fenólica, y otros compuestos antioxidantes, del aceite de oliva virgen. Para ello, se ha empleado aceituna de la variedad Picual, en diferentes estados de maduración, procedente de cultivos de secano y de regadío.

Las aceitunas se han recolectado a lo largo de tres campañas oleícolas, 2007-08, 2008-09 y 2009-10, de la misma finca, en diferentes estados de maduración, de cultivos de secano y de regadío. Se han caracterizado en humedad, sólidos y contenido en aceite en base seca.

Para estudiar la influencia de los factores tecnológicos se ha empleado la técnica del diseño de experimentos, con el objeto de obtener el máximo de información con el mínimo de ensayos. En la primera campaña, 2007-08, se ha realizado un diseño factorial  $2^3$ , para determinar el mejor intervalo de variación de las variables de operación (factores). La temperatura de batido de las pastas se ha modificado entre 20 y 60 °C, el tiempo de batido entre 20 y 60 minutos y la dosis de coadyuvante, talco, entre 0 y 2%.

Con los resultados de la campaña 2007-08 se fijaron los factores para las campañas 2008-09 y 2009-10. En estas campañas, con el objetivo de optimizar las diferentes respuestas, o alguna combinación de ellas, según objetivos, se realizó un diseño de superficie de respuesta del tipo central compuesto rotatable (CCR), con 4 factores, uno de ellos categórico. Los factores numéricos estudiados han sido

temperatura, entre 20 y 60 °C, tiempo de batido, entre 20 y 60 minutos, dosis de talco, entre 0,5 y 2 %, y el tamaño de criba, factor categórico con dos niveles, cribas de 4,5 y de 5,5 mm.

Las respuestas estudiadas, en las tres campañas, han sido: rendimiento de extracción, en base húmeda (campaña 2007-08) y en base seca (campañas 2008-08 y 2009-10); acidez, índice de peróxidos  $K_{270}$  y  $K_{232}$ , como parámetros de calidad reglamentada; contenido en pigmentos fotosintéticos (clorofilas y carotenoides) y polifenoles totales por determinación espectrofotométrica. Mediante HPLC se han identificado y cuantificado los siguientes antioxidantes, dentro del grupo de los alcoholes fenólicos hidroxitirosol y tirosol. Los ácidos vanílico, p-coumárico y cinnámico y la vanillina, dentro de los llamados ácidos fenólicos y sus derivados. En el grupo de antioxidantes secoiridoides se han determinado Hy-EDA, Hy-EA, Ty-EDA y Ty-EA. Se han cuantificado lignanos como pinoresinol y (+)-1-acetoxipinoresinol, y las flavonas luteolina y apigenina. Además, se han identificado y cuantificado, por HPLC, los tocoferoles  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ .

Para la respuesta rendimiento, el tiempo de batido de las pastas de aceitunas es el factor principal y más importante, seguido del talco, produciendo un aumento significativo del aceite obtenido. La temperatura no muestra una influencia muy significativa.

Para los parámetros de calidad reglamentada se ha determinado que el talco no parece ejercer influencia alguna, el tiempo tampoco ejerce mucha influencia aunque sí incrementa el índice de peróxidos; y la temperatura de batido de las pastas es el factor que más influye, negativamente, sobre la calidad de los aceites, incrementando todos los parámetros de forma importante.

Los pigmentos fotosintéticos (clorofilas y carotenoides) son muy influenciados positivamente por la temperatura de batido, aumentan con esta y disminuyen con la maduración del fruto. La influencia del talco y el tiempo no es significativa, sobretodo para el primero.

Los polifenoles totales, determinados espectrofotométricamente, y los ortodifenoles tienen un comportamiento similar, aumentan con el índice de madurez hasta un máximo, cercano al envero de los frutos, para luego disminuir. La temperatura es el factor que más influye positivamente sobre estas respuestas. Los aceites procedentes de cultivos de secano tienen un mayor contenido en polifenoles y en ortodifenoles.

Para los alcoholes fenólicos, hidroxitirosol y tirosol, la temperatura es el factor más importante, con influencia positiva, el tiempo y el talco no influyen de forma apreciable. Ambos alcoholes aumentan con el índice de madurez, disminuyendo después de un máximo para valores próximos a IM 3,5.

Con los ácidos fenólicos la influencia de la temperatura y el tiempo de batido es negativa, principalmente la temperatura. Su contenido en los aceites aumenta ligeramente con el IM hasta máximos próximos al envero. Mayoritariamente, los aceites procedentes de cultivos de secano tienen un mayor contenido en la correspondiente respuesta.

Dentro de los compuestos secoiridoides, los derivados del hidroxitirosol, Hy-EDA y Hy-EA, tienen un comportamiento similar entre ellos, la temperatura juega un papel importantísimo, siendo el factor más importante. Ambos aumentan con el IM de los frutos, presentando un máximo en el envero, y siempre las muestras que proceden de frutos de secano tienen un mayor contenido en estos compuestos que las de regadío. Los compuestos secoiridoides que contienen en sus estructuras moleculares tiroxol, Ty-EDA y TY-EA, tienen un comportamiento similar entre ellos, la temperatura y el tiempo de batido tienen influencia positiva sobre la respuesta, pero el contenido de estos compuestos en los aceites disminuye con el IM de los frutos, en este caso, también los cultivos de secano darán lugar a aceites con mayor contenido en éstos compuestos.

Las flavonas, luteolina y apigenina, tienen en común la influencia negativa del tiempo de batido, sobre el contenido de estos compuestos en los aceites; en cambio, la temperatura muestra influencia negativa para la luteolina y positiva para la apigenina. El contenido de ambos compuestos aumenta con el IM, presentando un máximo para un valor próximo a 3,5. Las muestras de aceite procedentes de cultivos de secano son más ricas en estas flavonas.

Los lignanos, pinosinol y (+)-1-acetoxipinosinol, tienen influencias opuestas de la temperatura y del tiempo de batido. Son positivas para el primero y negativas para el segundo.

Finalmente los tocoferoles, por ser liposolubles, tienen un comportamiento diferente del resto de los antioxidantes, refiriéndose a los tocoferoles totales, presentan una influencia positiva de la temperatura y del tiempo de batido, pero disminuyen a medida que aumenta la maduración de los frutos. Las muestras de secano presentan un mayor contenido en tocoferoles que las de regadío.

En todos los modelos estudiados, durante las tres campañas, la dosis de coadyuvante (talco) añadido a las pastas no tiene una influencia significativa en el contenido en antioxidantes.

Finalmente, para resumir los 420 modelos obtenidos en las dos últimas campañas, en el Apartado 5.3 se muestra la aplicación, de los 56 modelos utilizados para las muestras de aceituna E y F de la campaña 2008-09, con diferentes valores de los factores reales estudiados.



## **2. ANTECEDENTES**

---



## 2.1. RADICALES LIBRES Y ANTIOXIDANTES

Un radical libre es una especie química definida que tiene en su estructura uno o más electrones desapareados, lo que le convierte en un compuesto altamente inestable con gran capacidad de formar otros radicales libres por reacciones químicas en cadena. Una vez generados, los radicales libres aparean rápidamente el electrón desapareado uniéndose a otro radical libre, cediendo ó tomando un electrón de una estructura molecular adyacente no radicalaria, con el fin de estabilizarse.

La reducción parcial de la molécula de oxígeno puede generar especies reactivas como el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y los radicales libres superóxido ( $O_2^-$ ), hidroxilo ( $OH^-$ ) e hidroperoxilo ( $HO_2^-$ ) (Gutteridge, 1995; Hogg, 1998; Oliveras, 2005).

Los óxidos de nitrógeno, óxido nítrico ( $NO\cdot$ ) y dióxido nítrico ( $NO_2\cdot$ ), son asimismo radicales libres. El óxido nítrico tiene especial interés por ser sintetizado por las células endoteliales como factor vasodilatador. Cuando el óxido nítrico reacciona con el superóxido se produce el peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), con gran poder oxidante. La definición de radical libre incluye también los metales de transición cuando éstos tienen uno o más electrones desapareados (Gutteridge, 1995).

A concentraciones moderadas, dada su corta existencia, los radicales libres pueden desempeñar un importante papel en la regulación de varios procesos fisiológicos (Packer *et al.*, 1995), como mediadores de los efectos del factor de crecimiento derivado de las plaquetas sobre las células musculares lisas (Sundaresan *et al.*, 1995), activadores de la enzima *adenilatociclasa* (Tan *et al.*, 1995), ó vasodilatador como en el caso del óxido nítrico (Moncada *et al.*, 1979). Por el contrario, a concentraciones elevadas, pueden dañar la mayoría de los constituyentes celulares y son notablemente peligrosos para los organismos vivos (Droge, 2002).

Los radicales libres se sintetizan fisiológicamente en el organismo humano como parte del metabolismo energético, aunque su producción se incrementa frente a diferentes agresiones, como infecciones, ejercicio físico extremo, dietas desequilibradas, tóxicos alimentarios y contaminantes ambientales, entre otros.

Los radicales libres son capaces de dañar, reversible o irreversiblemente, todo tipo de compuestos bioquímicos, incluyendo ácidos nucleicos, proteínas y aminoácidos libres, lípidos, carbohidratos y macromoléculas del tejido conectivo (Cross *et al.*, 1987). Los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) son especialmente sensibles, dentro del grupo de los lípidos, al ataque de los radicales libres (Violi *et al.*, 2002; Fitó, 2003).

Las teorías sobre los radicales libres han aumentado el interés sobre el papel de los antioxidantes dietarios en la prevención de muchas enfermedades humanas, como lesiones inflamatorias, deficiencias nutricionales, enfermedades autoinmunes,

enfermedad de Parkinson, infartos de miocardio, neurodegeneración, envejecimiento, neoplasias, aterosclerosis y diabetes (Ceriello *et al.*, 2001).

Una especie oxidante es aquella capaz de aceptar electrones de modo que genera un desequilibrio electrónico en las moléculas vecinas.

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 *et al.*, 2000).

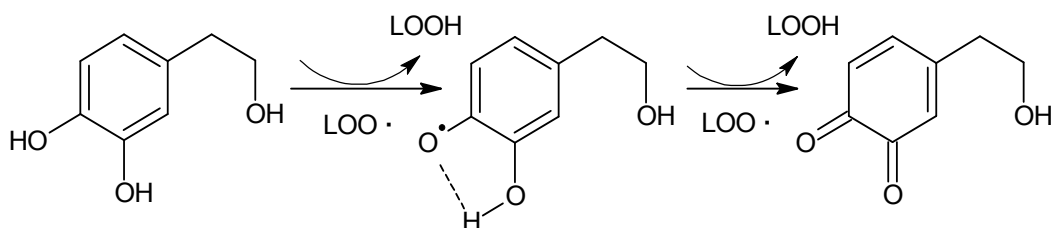
Los efectos dañinos de los radicales libres están controlados en el organismo mediante un amplio espectro de antioxidantes de origen endógeno (enzimas, glutatión, albúmina, transferrina, ceruloplasmina, ácido úrico, bilirrubina....) y exógeno (vitamina E y C, carotenoides, escualeno, selenio, compuestos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

Según sus mecanismos 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, especialmente de las especies reactivas del oxígeno (ROS), ó son quelantes de metales de transición. Se comportan como captadores de los ROS, como es el caso, entre otros, de las vitaminas E y C (Niki *et al.*, 2000) y de polifenoles como el resveratrol (Howitz *et al.*, 2003).
- Secundarios: Interrumpen la reacción de propagación de los radicales libres ( $\alpha$ -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 e impiden la actividad metabólica de carcinógenos (Mukhtar *et al.*, 1999; Visioli *et al.*, 1999a).
- Terciarios: Reparán 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 (Ramón *et al.*, 1996; Bravo, 1998).

Los compuestos fenólicos estabilizan los radicales libres al ceder un hidrógeno de sus grupos hidroxilos, formándose un puente de hidrógeno entre dos grupos cercanos. El grado de actividad de los compuestos fenólicos, y de otros muchos antioxidantes, está relacionado con el número de grupos hidroxilo que posee la molécula (Nicolaiew *et al.*, 1998; Rice-Evans, *et al.*, 1996). En la Figura 2.1, se recoge el mecanismo de actuación como antioxidante del hidroxitirosol (Visioli *et al.*, 1998).



**Figura 2.1.** Mecanismo antioxidante del hidroxitirosol por donación de hidrógeno

A la permanente producción de radicales libres el organismo opone la acción de antioxidantes que lo protegen; cuando este equilibrio entre radicales libres y antioxidantes se pierde, a favor de los primeros, se desencadenan procesos dañinos que se asocian al desarrollo de numerosas enfermedades. La producción de las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno es un proceso natural, inevitable y constante; un continuo biológico. Todas las células, independiente de su tipo, están continuamente produciendo estas moléculas con electrones desapareados (Urquiaga, *et al.*, 2000). El daño que los radicales libres provoquen en los diferentes tejidos depende del balance entre las especies reactivas del oxígeno y nitrógeno y las defensas antioxidantes de que dispone el organismo humano (Muñoz *et al.*, 2007).

## 2.2. IMPORTANCIA DE LA INGESTA DE ANTIOXIDANTES EN LA DIETA

El término “dieta mediterránea” hace referencia a los patrones alimentarios propios de los países mediterráneos de hace 50 años (Keys *et al.*, 1986). Aunque existen distintas variantes de la dieta Mediterránea se puede hablar de unos componentes comunes: 1) el principal aporte de grasa está constituido por el aceite de oliva, rico en grasas monoinsaturadas; 2) consumo alto en vegetales, legumbres, cereales, frutos frescos y secos; 3) moderado consumo de pescado, carne de ave, leche, y productos derivados de la leche; 4) bajo consumo de carne roja (Trichopoulos *et al.*, 1997; Renaud *et al.*, 1995) y moderado de vino (Renaud *et al.*, 1992).

Existen evidencias científicas de que la dieta Mediterránea clásica tiene un efecto protector sobre procesos asociados con la lesión oxidativa (Renaud *et al.*, 1995; De Lorgeril *et al.*, 1999), lo que se atribuye a su alto contenido en compuestos con propiedades biológicas antioxidantes y al elevado contenido en ácidos monoinsaturados (Fitó, 2003).

Así, por ejemplo, López Miranda *et al.* (2000) comprueban que la dieta mediterránea mejora la resistencia a la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL). Los primeros ácidos grasos en peroxidarse son los ácidos grasos poliinsaturados de las LDL (Esterbauer *et al.*, 1987). Este proceso es inhibido por antioxidantes como la vitamina E, encargados de la captación y neutralización de los radicales libres presentes en la partícula LDL (Bays *et al.*, 1993). Los antioxidantes polifenólicos,

presentes en el aceite de oliva virgen, contribuyen notablemente en la susceptibilidad de las LDL a la oxidación (Gutfinger, 1981).

Por otra parte, varios estudios indican que la dieta rica en grasas monoinsaturadas puede mejorar el perfil lipídico (Grundy *et al.*, 1988; Mensink *et al.*, 1992), fenómeno involucrado en la menor incidencia de padecer enfermedad cardiovascular en el área mediterránea, siendo esto debido, entre otros, al alto porcentaje de grasa monoinsaturada consumida, dieta basada fundamentalmente en el aceite de oliva.

### 2.2.1. ALIMENTO FUNCIONAL: COMPUESTOS FENÓLICOS

En 1999, la *European Commission's Concerted Action Functional Food Science in Europe*, definió alimento funcional como aquel que posee las siguientes características (Diplock *et al.*, 1999):

- Es un alimento, no una capsula, comprimido o cualquier otra forma de complemento dietético.
- Los beneficios funcionales y saludables de estos alimentos, o de los ingredientes específicos, deben fundamentarse en una sólida base científica, que permita la regulación de algún proceso fisiológico concreto:
  - a) Prevenir una enfermedad específica.
  - b) Reforzar los mecanismos de defensa corporales.
- Desempeña sus funciones consumiéndose en las cantidades normalmente previstas por una dieta equilibrada.

La legislación europea no considera los alimentos funcionales como una categoría específica de alimentos, sino como un concepto (Stanton *et al.*, 2005; Coppens *et al.*, 2006).

Se puede decir que, los alimentos funcionales son aquellos dotados de beneficios específicos a nivel fisiológico que los distinguen de los alimentos tradicionales. La funcionalidad de estos alimentos viene determinada por una serie de *compuestos bioactivos* y su presencia y concentración va a estar en función de diversos factores, entre los que se encuentran, climatológicos, agronómicos, tecnológicos y culinarios. Estos *compuestos bioactivos* confieren al alimento las características específicas que lo convierten en funcional: ayudar a la prevención de enfermedades y mejorar el estado de bienestar del individuo; acciones que van más allá de satisfacer las necesidades nutricionales básicas. En definitiva, los *compuestos bioactivos* deben ser considerados como alimentos saludables capaces de mejorar nuestra dieta (Gómez, 2009).

La existencia de compuestos bioactivos se ha visto evidenciada gracias a diversos estudios que han demostrado los efectos beneficiosos para la salud que aportan ciertos tipos de dietas, entre ellas, la dieta mediterránea (De Lorgeril *et al.*, 1999) y su relación con una reducción significativa del riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y otro tipo de enfermedades crónicas (Kris-Etherton *et al.*, 2004).

A pesar de los efectos beneficiosos para la salud de los compuestos bioactivos, éstos no son compuestos esenciales para la vida y, por lo tanto, no forman parte del grupo de los nutrientes. Sin embargo, los efectos producidos por ellos son mucho más sutiles que los de los nutrientes. Mientras que los compuestos bioactivos son capaces de influir en las actividades celulares modificando el riesgo de padecer enfermedades, los nutrientes simplemente previenen el riesgo de contraer una enfermedad debido a una carencia o déficit.

En la Tabla 2.1 se recogen las principales familias de compuestos que forman parte del grupo de compuestos bioactivos (Gómez, 2009).

**Tabla 2.1.** Familias de compuestos bioactivos en alimentos

<b>Isoprenoides</b>	<b>Compuestos Fenólicos</b>	<b>Proteínas/ Aminoácidos</b>	<b>Carbohidratos y derivados</b>	<b>Compuestos Lipídicos</b>	<b>Minerales</b>
Carotenoides	Ácidos Fenólicos	Aminoácidos	Ácido ascórbico	n-3 PUFA	Ca
Saponinas	Alcoholes Fenólicos	Compuestos Alílicos-S	Oligosacáridos	CLA	Se
Tocotrienoles	Flavonoides	Capsaicinoides	Polisacáridos no almidonados	MUFA	K
Tocofenoles	Secoiridoides	Isocianatos		Esfingolípidos	Cu
Terpenos simples	Lignanos Coumarinas Taninos	Indoles		Lecitina Esteroles	Zn

Hasta la fecha se han identificado infinidad de compuestos bioactivos, y este número sigue creciendo de manera asombrosa. Entre las funciones que realizan estos compuestos encontramos que pueden actuar como antioxidantes, inhibidores e inductores de enzimas, de la expresión génica, etc. Pero estas actividades no son suficientes para definir un compuestos bioactivo, además deben tener algún tipo de efecto beneficioso para la salud (Gómez, 2009).

El problema aparece cuando se trata de entender en profundidad cuales son los mecanismos exactos de estos compuestos y el porqué de sus efectos

beneficiosos. Su descubrimiento, relativamente reciente, hace que los mecanismos de absorción, transporte en el organismo y metabolismo sean desconocidos para la gran mayoría de ellos. Se ha de resaltar también la diferente respuesta biológica de cada individuo frente al consumo de compuestos bioactivos, que variará dependiendo de sus características genéticas, su edad, su estado de salud, etc. (Gómez, 2009).

### 2.2.2. COMPUESTOS FENÓLICOS

Los compuestos fenólicos son la fuente más importante de compuestos bioactivos de la dieta humana, estando presentes, generalmente, en forma de glucósidos en los extractos de las frutas, hierbas, vegetales, cereales y legumbres (Muñoz *et al.*, 2007). A lo largo de los años se han identificado más de 8000 compuestos fenólicos y en la actualidad este grupo de compuestos presenta un gran interés nutricional por su contribución al mantenimiento de la salud humana.

Los compuestos fenólicos tienen su origen en el mundo vegetal. Son unos de los principales metabolitos secundarios de las plantas y su presencia en el reino animal se debe a la ingestión de éstas. La distribución de los compuestos fenólicos en los tejidos y células vegetales varía considerablemente de acuerdo al tipo de compuesto químico que se trate, situándose en el interior de las células o en la pared celular. Sus principales funciones en las células vegetales son las de actuar como metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de las plantas, y como agentes protectores frente a la acción de patógenos, siendo secretados como mecanismo de defensa.

Los compuestos fenólicos están relacionados con la calidad sensorial de los alimentos de origen vegetal, tanto frescos como procesados (Martinez-Valverde, 2000).

Químicamente, los compuestos fenólicos contienen al menos un anillo aromático al que están unidos uno ó más grupos hidroxilo (-OH). Existen una gran variedad de compuestos fenólicos, que se pueden dividir en diversos subgrupos:

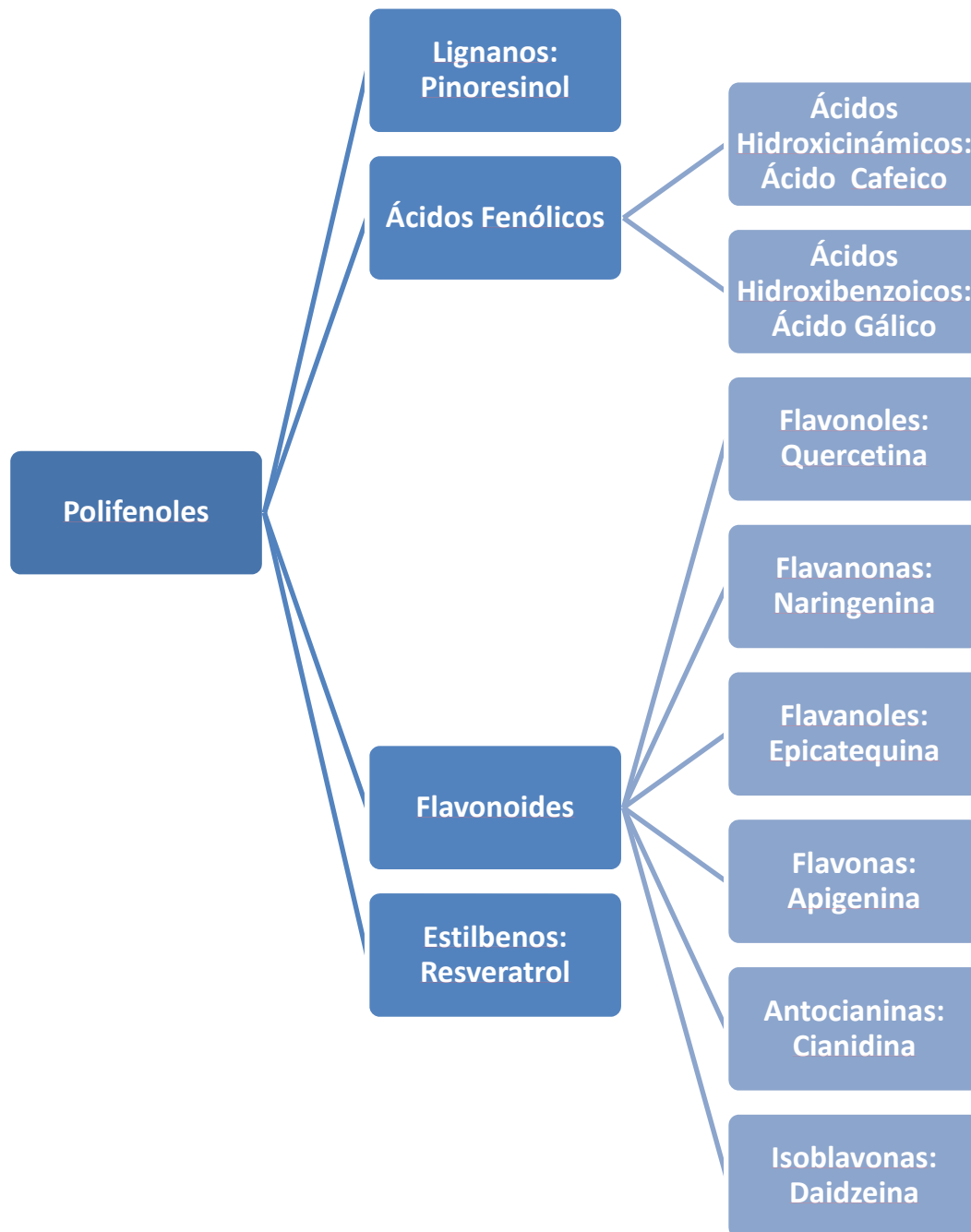
- **Ácidos fenólicos:** contienen un anillo aromático con al menos un grupo hidroxilo y con diferentes grupos funcionales, aldehídos, alcoholes ó ácidos, que pueden estar formando ésteres con los ácidos orgánicos ó unidos a azúcares. Dentro de este grupo se encuentran los ácidos hidroxibenzoicos y los hidroxicinámicos.
- **Flavonoides:** formados por dos anillos aromáticos unidos por un heterociclo oxigenado. Dependiendo del grado de hidrogenación y de la sustitución del heterociclo, se diferencian en: flavonoles, flavanonas, flavanoles, flavonas, antocianinas e isoflavonas. Se encuentran generalmente unidos a azúcares, formando glucósidos.

- **Lignanos:** presentan elevada diversidad de estructuras, aunque todas poseen la característica común de estar formadas por dos unidades de fenil-propano enlazadas por el átomo central de sus cadenas laterales.
- **Estilbenos:** tienen un esqueleto básico de 14 átomos de carbono ( $C_6 - C_2 - C_6$ ). Su distribución en los alimentos vegetales no es muy amplia. Como ejemplo, el resveratrol (3,5, 4'-trihidroxiestilbeno) se encuentra en los vinos tintos en concentración de unos 8 ppm (Hooper *et al.*, 2006).

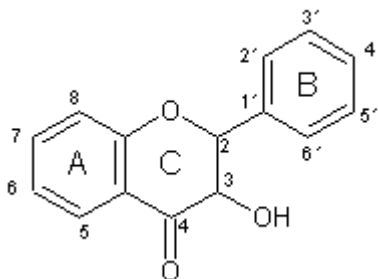
De todos ellos, los grupos de compuestos de mayor importancia desde la perspectiva de la salud humana son los ácidos fenólicos, los flavonoides (flavonas, flavanoles, 3-flavanoles, isoflavonas, flavanonas, antocianidinas) y los lignanos (Hooper *et al.*, 2006 y Gómez, 2009). En la Figura 2.2 se recoge la clasificación química de las familias de los principales compuestos fenólicos presentes en la dieta.

La importancia de los compuestos fenólicos en la dieta se debe a las evidencias encontradas acerca de su capacidad antioxidante. Así, los compuestos fenólicos intervienen como antioxidantes naturales de los alimentos, por lo que la obtención y preparación de alimentos con un alto contenido de estos compuestos supone una reducción en la utilización de aditivos antioxidantes, a la vez que se obtienen alimentos más saludables que, incluso, podrían llegar a englobarse dentro de los alimentos funcionales (Martínez-Valverde *et al.*, 2000). Desde un punto de vista nutricional, la actividad antioxidante se asocia con su papel protector en las enfermedades cardiovasculares (Perona *et al.*, 2004) y el cáncer (Owen *et al.*, 2000) así como en procesos de envejecimiento, por lo que está siendo intensamente estudiado mediante ensayos "in vivo" e "in vitro".

Los compuestos fenólicos pueden ayudar a limitar el daño producido por las enfermedades, actuando directamente sobre las especies reactivas de oxígeno o estimulando sistemas de defensa endógenos. Los grupos fenólicos de estos compuestos son capaces de aceptar un electrón para formar radicales fenoxilo, relativamente estables, deteniendo, así, las reacciones oxidativas en cadena que se producen en las células (Scalbert *et al.*, 2005).



**Figura 2.2.** Clasificación química de las familias de compuestos fenólicos principales presentes en la dieta.



**Figura 2.3.** Esqueleto genérico de flavonas

El número y la posición de grupos hidroxilo, la glicosilación y otras sustituciones determinan la actividad de secuestro de radicales por los grupos fenólicos. Las diferencias que existen entre la actividad de secuestro de radicales están atribuidas a las diferencias estructurales de hidroxilación, glicosilación y metoxilación. Así, para el caso de las flavonas, las disposiciones estructurales que imparten la mayor actividad antioxidante son: la sustitución 3', 4' orto dihidroxilo en el anillo B, las disposiciones en posición meta en los carbonos 5 y 7, el doble enlace entre los carbonos 2 y en combinación con los grupos 4 ceto y 3 hidroxilo (Figura 2.3) (Muñoz *et al.*, 2007). Las estructuras con grupos orto-dihidroxilo son los más importantes pues presentan alta actividad antioxidante (Rice-Evans, *et al.*, 1996; Cai *et al.*, 2006). También es de suma importancia la capacidad de estos compuestos para quelar metales de transición (Teixeira *et al.*, 2005). Por otra parte, en el caso de los ácidos hidroxicinámicos, los monofenoles son menos activos que los polifenoles; un segundo grupo hidroxilo mejora la actividad en posición orto, como el cafeico, o para (Martínez *et al.*, 2000, Muñoz *et al.*, 2007).

### 2.3. EL ACEITE DE OLIVA VIRGEN

El aceite de oliva virgen es el mosto oleoso procedente únicamente de los frutos de olivo (*Olea Europea Sativa*), las aceitunas, 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 íntegro 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 (Gimeno *et al.*, 2002; Perona *et al.*, 2004) y con un menor riesgo de desarrollar algunas neoplasias malignas (Lipworth *et al.*, 1997; Owen *et al.*, 2000; Trichopoulou *et al.*, 1995). 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).

### 2.3.1 COMPOSICIÓN DEL ACEITE DE OLIVA VIRGEN

El aceite de oliva está compuesto principalmente por triglicéridos, y en menor proporción por ácidos grasos libres y un 0,5 a 1 % de constituyentes no glicéridos. Estos constituyentes no glicéridos, componentes menores, son importantes para la estabilidad, sabor y aroma del aceite de oliva virgen. Su análisis cuantitativo determina de forma importante la autenticación de los diversos tipos de aceites de oliva.

Tradicionalmente se ha establecido dos fracciones características del aceite de oliva: la fracción saponificable y la fracción insaponificable, en función de su capacidad de formar jabones al ser tratados con una base. La tendencia actual en las publicaciones es la de referirse a dos grupos de compuestos en función de su presencia en el aceite de oliva: los compuestos mayoritarios y los compuestos minoritarios (Boskou, 1998).

### 2.3.1.1. Compuestos mayoritarios

#### a) Ácidos grasos

Estos compuestos son ácidos orgánicos de cadena larga que poseen desde 4 a 24 átomos de carbono, tienen un grupo carboxílico y una cadena hidrocarbonada, no polar, que le confiere sus propiedades de insolubilidad en agua y consistencia oleosa. Los ácidos no aparecen en forma libre en las células y tejidos, sino que se encuentran unidos de forma covalente en distintos tipos de lípidos de los que pueden liberarse mediante de hidrólisis.

La gran mayoría de los ácidos grasos naturales poseen, generalmente, un número par de átomos de carbono. La cadena hidrocarbonada puede estar completamente saturada, es decir, contienen sólo enlaces simple carbono-carbono o bien puede estar insaturada con uno o varios dobles enlaces. En caso de poseer más de un doble enlace, éstos no se encuentran de forma conjugada, sino separados por un grupo metileno (- CH<sub>2</sub> -). Además los dobles enlaces de casi todos los ácidos grasos insaturados que existen en la naturaleza presentan configuración *cis* lo que provoca una desviación rígida de la cadena alifática.

En muestras de aceites de oliva se pueden encontrar trazas de isómeros geométricos. Los límites actuales para el aceite de oliva son: 0,05% de ácidos grasos totales C18:1 trans, y 0,05% para los ácidos grasos totales C18:2 + C18:3, forma trans (BosKou, 1998).

En la Tabla 2.2 se recogen los ácidos grasos presentes en el aceite de oliva, así como los límites porcentuales establecidos para su clasificación como aceite de oliva por el Codex Alimentarius (FAO) y por el Consejo Oleícola Internacional (COI).

Como queda reflejado en la Tabla 2.2, el ácido graso mayoritario del aceite de oliva virgen es el ácido oleico (monoinsaturado), conteniendo una cantidad moderada de los ácidos palmítico y esteárico (saturados) y una cantidad discreta de ácidos linoleico y linolénico (poliinsaturados). Esto hace que el aceite de oliva virgen posea un elevado interés tanto desde el punto de vista químico como biológico, ya que los ácidos grasos monoinsaturados son muchos más estables a los procesos oxidativos que dan lugar al enranciamiento del aceite (Jiménez *et al.*, 1995). Por otra parte, los porcentajes de oleico y de linoleico, y la relación entre ambos es una medida de la estabilidad del aceite, a mayor valor de la relación, mayor estabilidad y por lo tanto mayor resistencia al enranciamiento (Civantos *et al.*, 1992).

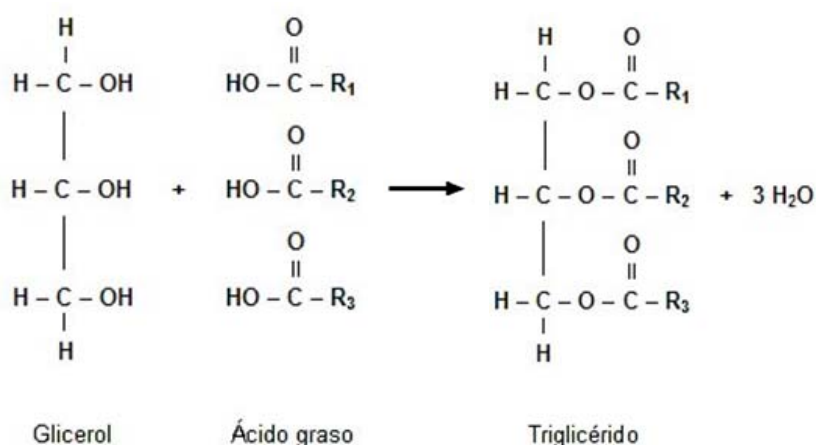
**Tabla 2.2.** Composición en ácidos grasos del aceite de oliva virgen y límites porcentuales establecidos según FAO (1993) y COI (1996)

Ácidos grasos	Nomenclatura	Límites Codex	Límites C.O.I.
Mirístico	C 14:0	0,0-0,1	0,05 max
Palmítico	C 16:0	7,5-20,0	7,5-20,0
Palmitoleico	C 16:1	0,3-3,5	0,3-3,5
Margárico	C 17:0	0,0-0,5	0,3 max
Margaroleico	C 17:1	0,0-0,6	0,3 max
Estearico	C 18:0	0,5-5,0	0,5-5,0
Oleico	C 18:1	55,0-83,0	55,0-83,0
Linoleico	C 18:2	3,5-21,0	3,5-21,0
Linolénico	C 18:3	0,0-1,5	0,9 max
Araquídico	C 20:0	0,0-0,8	0,6 max
Eicosenoico	C 20:1	No establecido	0,4 max
Behénico	C 22:0	0,0-0,2	0,2 max
Lingnopcénico	C 24:0	0,0-1,0	0,2 max

La composición en ácidos grasos difiere de una muestra a otra, dependiendo de la zona de producción del aceite de oliva. Los factores principales que afectan a la composición en ácidos grasos son: latitud, condiciones climáticas, variedad y grado de madurez de las aceitunas recogidas (Boskou, 1998).

b) Triglicéridos

Los triglicéridos son ésteres del propanotriol (glicerina) con tres moléculas de ácido graso (Figura 2.4). Son los componentes principales de las grasas de reserva en animales y plantas.



**Figura 2.4.** Reacción de esterificación

Los triglicéridos que contienen una sola clase de ácidos grasos en las tres posiciones se denominan simples, son un ejemplo la trioleína, tripalmitina y triestearina. Los triglicéridos que contienen dos o más ácidos grasos diferentes se denominan de tipo mixto. La gran mayoría de las grasas naturales tales como el aceite de oliva, la manteca y otras grasas comestibles son mezclas complejas de triglicéridos simples y mixtos, que contienen una gran variedad de ácidos grasos con diferente longitud y grado de saturación (Aguilera, 2006).

En el aceite de oliva se pueden presentar más de 70 triglicéridos, sin embargo, el número de triglicéridos que realmente se encuentran en dicho aceite es mucho menor, ya que algunos no aparecen nunca y otros lo hacen en cantidades despreciables (Boskou, 1998). Los triglicéridos más importantes en el aceite de oliva virgen son los recogidos en la Tabla 2.3 (Fedeli, 1977).

**Tabla 2.3.** Triglicéridos en el AOV

Triglicéridos	%
PPO	18,4
EOO	5,1
POL	5,9
OOO	43,5
OOL	6,8

°P: ác. palmítico; O: ác. oleico; E: ác. esteárico;  
L: ác. linoleico

### 2.3.1.2. Compuestos minoritarios

En el aceite de oliva virgen existe una importante fracción de componentes menores (fracción insaponificable) que se pueden dividir en dos grupos. Un primer grupo formado por derivados de ácidos grasos, tales como mono y diglicéridos, fosfátidos, ceras y ésteres de esteroides. El segundo grupo incluye compuestos no relacionados químicamente con los ácidos grasos, como hidrocarburos, alcoholes alifáticos, esteroides libres, tocoferoles, clorofilas, carotenoides y compuestos fenólicos polares como el tirosol y el hidroxitirosol (Boskou, 1998). Los componentes más destacables de esta fracción se muestran en la Tabla 2.4, donde se recogen también las funciones más importantes.

**Tabla 2.4.** Compuestos minoritarios más importantes del aceite de oliva virgen

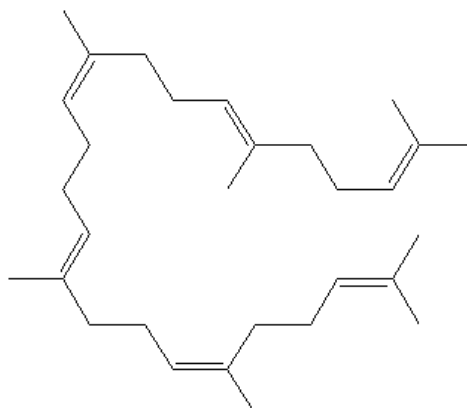
<b>Compuestos</b>	<b>Funciones</b>
<b>Terpenos:</b> Escualeno Carotenos	Provitamina A
<b>Clorofilas</b>	Coloración Autooxidación
<b>Tocoferoles:</b> $\alpha$ - Tocoferol $\beta$ - Tocoferol $\gamma$ - Tocoferol $\delta$ - Tocoferol	Vitamina A  Antioxidantes
<b>Esteroles:</b> Campesterol Estigmasterol $\beta$ -Sitosterol $\Delta$ 5 Avenasterol	Actividad hipocolesteromiente
<b>Compuestos Fenólicos</b>	Antioxidantes Propiedades organolépticas
<b>Alcoholes</b> <b>Cetonas</b> <b>Éteres</b> <b>Ésteres</b> <b>Derivados Fumáricos, etc.</b>	Aroma

Los componentes menores en el aceite de oliva virgen representan una pequeña fracción del total, aproximadamente un 1-1,5 %. No obstante, existen en esta fracción una serie de sustancias que tienen gran importancia culinaria y nutricional, en gran parte debido a su carácter antioxidante (Civantos *et al.*, 1999).

a) Hidrocarburos

En el aceite de oliva virgen se encuentran dos hidrocarburos en cantidades considerables: escualeno (Figura 2.5) y  $\beta$ -caroteno. El escualeno ( $C_{30}H_{50}$ ) es un triterpeno lineal, con seis dobles enlaces, polímero del isopreno. Aunque se descubrió en el hígado de los escualos, donde es muy abundante, también existe en todos los aceites y grasas vegetales, especialmente en el aceite de oliva virgen, donde puede llegar a constituir el 40% del peso total de la fracción insaponificable (Hamann *et al.*, 1988). Este aceite es el que más escualeno contiene de todos los aceites vegetales (Gutfinger *et al.*, 1974).

En el aceite de oliva virgen se han encontrado, además, otros hidrocarburos ramificados y n-parafinas con números pares e impares de carbonos, desde el C11 al C30 (Fedeli, 1977 a). También se han determinado hidrocarburos aromáticos policíclicos como naftaleno, fenantreno, fluorantreno, etc.



**Figura 2.5.** Estructura del escualeno

El escualeno es un precursor bioquímico de la biosíntesis de los esteroides (Kiritsakis, 1992).

#### b) Alcoholes grasos y alcoholes diterpénicos

Los alcoholes grasos son unos constituyentes menores pero importantes, en el aceite de oliva virgen, ya que permiten diferenciar entre diferentes tipos de aceites. Los principales alcoholes lineales presentes en el aceite de oliva son: docosanol, tetracosanol, hexacosanol y octacosanol. Los alcoholes de número impar de carbonos (tricosanol, pentacosanol, heptacosanol) se pueden encontrar en trazas (Boskou *et al.*, 1983).

Sólo dos diterpenoides acíclicos (alcoholes diterpénicos) se han descrito en la fracción de alcoholes aislada en el aceite de oliva: se trata del fitol, probable derivado de la clorofila, y el geranilgeraniol (Camera *et al.*, 1978; Mariani *et al.*, 1992).

#### c) Ceras

Son ésteres de los ácidos grasos y alcoholes grasos. Las principales ceras que se encuentran en el aceite de oliva son los ésteres C36, C38, C40, C42, C44 y C46.

El análisis de ceras es de interés ya que su contenido varía según las categorías del aceite de oliva y la información sobre su presencia puede ser usada como parámetro de calidad y pureza. Según la normativa de la CE (UE 2011) los aceites de oliva vírgenes pueden tener como máximo 250 mg/kg de ceras.

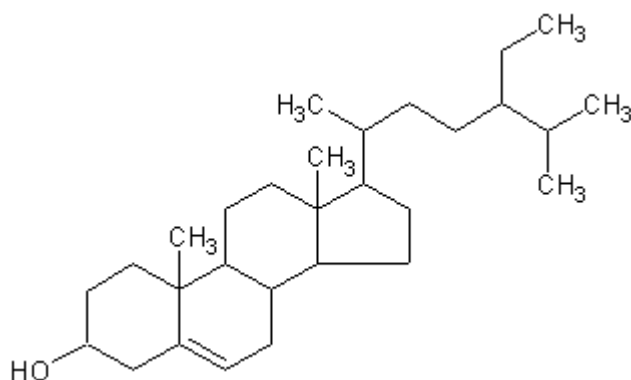
El perfil del cromatograma de ceras permite distinguir los aceites de oliva virgen de los de oliva refinados y orujo de oliva, debido a que los aceites vírgenes presentan mayor contenido de ceras C36 y C38, que de C40, C42, C44 y C46. Esta relación es inversa en los aceites refinados de oliva y orujo de oliva (Aparicio, 2003).

d) Esteroles

Los esteroides comprenden un amplio grupo de compuestos que presentan una estructura molecular análoga. La diferencia entre los diversos esteroides está en el número y posición de los dobles enlaces y en la naturaleza de la cadena lateral. Se trata de moléculas liposolubles, complejas, con cuatro anillos condensados que pueden estar en forma libre o esterificada con un ácido graso. Son una importante fracción de constituyentes de carácter no glicérido. Los esteroides se encuentran en todas las grasas y aceites.

Existen cuatro clases de esteroides: esteroides comunes ( $4\alpha$ -desmetilesterol),  $4\alpha$ -metilesterol,  $4,4$ -dimetilesterol (alcoholes triterpénicos y dialcoholes triterpénicos) y ácidos hidroxiterpénicos.

Los principales esteroides del aceite de oliva pertenecen a la clase de los llamados esteroides comunes y son:  $\beta$ -sitosterol (Figura 2.6),  $\Delta$ -5-avenasterol y campesterol (UE, 1993; Itohet *et al.*, 1981; Fedeli, 1977a). En cantidades menores se encuentran: estigmasterol, colesterol,  $2,4$ -metilen-colesterol,  $\Delta$ -7-campesterol,  $\Delta$ -5,23-estigmastadienol,  $\Delta$ -5,24-estigmastadienol, clerosterol, sitostanol,  $\Delta$ -7-estigmastenol y  $\Delta$ -7-avenasterol (Calapaj *et al.*, 1993).



**Figura 2.6.** Estructura del  $\beta$ -sitosterol

Numerosos estudios de composición en esteroides del aceite de oliva muestran que el  $\beta$ -sitosterol representa el 75-90 % de la fracción total de esteroides (Conte *et al.*, 1993). Éste interfiere competitivamente con la absorción intestinal del colesterol, impidiendo un exceso del mismo en el organismo (Mataix, 1988).

Es importante mencionar dos dialcoholes triterpénicos presentes en el aceite de oliva, el eritrodil y el uvaol, que son considerados componentes propios del epicarpio de la aceituna (Fedeli, 1996). La concentración de eritrodil más uvaol es de 1-20 mg/100 g en aceite de oliva.

#### e) Fosfolípidos

Son compuestos que presentan en su estructura un ácido graso y un grupo fosfato en forma de mono o di-éster. Los principales fosfolípidos del aceite de oliva son: fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol y fosfatidilserina. Su concentración total varía entre 40 y 135 ppm (Alter y Gutfinger, 1982). El ácido oleico es el ácido graso predominante en estos fosfolípidos.

#### f) Compuestos Fenólicos, Tocoferoles y Pigmentos

Los compuestos fenólicos, tocoferoles y pigmentos, presentes en el aceite de oliva, serán tratados en el apartado 2.4 de esta memoria.

### **2.3.1.3. Compuestos volátiles**

El aceite de oliva virgen contiene compuestos volátiles, parte de los cuales son responsables del aroma (flavor) que lo caracteriza. La composición de la fracción volátil del aceite de oliva virgen ha sido estudiada por diferentes autores (Fedeli, 1977; Olias *et al.*, 1980; Gutierrez *et al.*, 1981; Monteodoro *et al.*, 1988; Sánchez *et al.*, 1991; Bocci *et al.*, 1992; Servilli *et al.*, 2003) entre otros.

Se han identificado más de 100 compuestos diferentes entre los que se encuentran: hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, ésteres, fenoles y sus derivados, terpenos oxigenados y derivados del furano.

Los compuestos volátiles responsables del flavor del aceite de oliva virgen son considerados como metabolitos directos producidos en los órganos de las plantas por rutas biosintéticas, siendo los ácidos grasos sus principales precursores.

Los volátiles presentes en el aceite de oliva virgen se clasifican en dos grandes grupos: los que están presentes en el tejido intacto de la aceituna, denominados naturales u originales, y otro grupo formado por productos secundarios que no aparecen, o solo a nivel de trazas, dentro de las células intactas (Morales y Tsimidou, 2003). Estos volátiles se forman rápidamente durante la ruptura de la estructura celular (principalmente en la molienda y durante el proceso de batido de la pasta) como resultado de reacciones enzimáticas en presencia de oxígeno. Este tipo de compuestos volátiles secundarios o tecnológicos, son los responsables principales del aroma “verde” del aceite de oliva virgen.

Los principales precursores en la formación de compuestos volátiles son los ácidos grasos, particularmente linoleico y  $\alpha$ -linolénico y aminoácidos: leucina, isoleucina y valina (Aguilera, 2006).

## 2.4. 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; Shahidi, 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; Capella *et al.*, 1997; Servilli y Montedoro, 2002).

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 (Endo *et al.*, 1984; Fakourelis *et al.*, 1987; Gutiérrez *et al.*, 1992). Los carotenoides también presentan un importante papel como antioxidantes en el aceite de oliva virgen (Fakourelis *et al.*, 1987; Kiritsakis y Osman, 1995).

### 2.4.1. 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 (Garrido *et al.*, 1997). 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 en polifenoles en el aceite de oliva virgen oscila entre 50 y 500 mg/kg de ácido cafeico (Gutiérrez *et al.*, 1977). Si bien se han descrito aceites con un contenido superior a los 1000 mg/kg (Uceda *et al.*, 2004). En la Tabla 2.5 se indican los compuestos fenólicos, más importantes, presentes en el aceite de oliva virgen (Servilli *et al.*, 2009).

**Tabla 2.5.** Compuestos fenólicos presentes en el aceite de oliva virgen

<b>Compuestos fenólicos</b>	
<p><u>Alcoholes fenólicos</u></p> <p>Hidroxitirosol (3,4-dihidroxi-feniletanol) (3,4-DHPEA)</p> <p>Tirosol (p-hidroxi-feniletanol) (p-HPEA)</p> <p>Glucósido del 3,4-dihidroxi-feniletanol</p> <p><u>Sercoiridoides</u></p> <p>Forma dialdehídica del ác. elenólico unido al hidroxitirosol.(3,4-DHPEA-EDA)</p> <p>Forma dialdehídica del ác. elenólico unido al tirosol (p-HPEA-EDA)</p> <p>Oleuropeina aglicona (3,4-DPHEA-EA)</p> <p>Ligustrosido aglicona ( p-HPEA-EA)</p> <p>Oleuropeina</p> <p>p-HPEA derivados</p> <p>Forma dialdehídica de la oleuropeina aglicona</p> <p>Forma dialdehídica del ligustrosido aglicona</p> <p><u>Flavonas</u></p> <p>Apigenina</p> <p>Luteolina</p>	<p><u>Ácidos fenólicos y sus derivados</u></p> <p>Ácido vanílico</p> <p>Ácido siríngico</p> <p>Ácido p-coumarico</p> <p>Ácido o-coumarico</p> <p>Ácido gallico</p> <p>Ácido protocatéquico</p> <p>Ácido p-hidroxibenzoico</p> <p>Ácido ferúlico</p> <p>Ácido cinnamico</p> <p>4-(acetoxi-etil)-1,2-dihidroxibenceno</p> <p>Ácido benzóico</p> <p><u>Lignanos</u></p> <p>(+)-1-Acetoxipinoresinol</p> <p>(+)-Pinoresinol</p> <p>(+)-1-Hidroxipinoresinol</p>

Entre los alcoholes fenólicos destacan, principalmente, el 3,4-DHPEA (hidroxitirosol) (Figura 2.7a) y el p-HPEA (tirosol) (Figura 2.7b). Su concentración es, generalmente, baja en aceites frescos pero aumenta durante el almacenamiento de los mismos (Montedoro *et al.*, 1992a) debido a la hidrólisis de los secoiridoides presentes en el aceite de oliva virgen, tales como el 3,4-DHPEA-EA (oleuropeina aglicona) (Figura 2.7c) que contiene 3,4-DHPEA (hidroxitirosol) en su estructura y p-HPEA-EA (ligustrosido aglicona) (Figura 2.7d) que contienen en su estructura p-HPEA (tirosol). El 3,4-DHPEA-EDA (forma dialdehídica del ácido decarboximetilenoico unido al hidroxitirosol) (Figura 2.7e) y p-HPEA-EDA (forma dialdehídica del ácido decarboximetilenoico unido al tirosol) (Figura 2.7f) (Brenes *et al.*, 2001).

Los ácidos fenólicos, entre los que se encuentran los ácidos cafeico, vanílico (Figura 2.8a), cinnámico (Figura 2.8b), o-coumarico, p-coumarico (Figura 2.8c), hidroxibenzoico, fueron el primer grupo de polifenoles identificados en el aceite de oliva virgen (Montedoro, 1972; Montedoro *et al.*, 1992a; Tsimidou *et al.*, 1996; Servili *et al.*, 2004).

Los flavonoides, como la apigenina (Figura 2.8d) y la luteolina (Figura 2.8e) presentes en el aceite de oliva virgen en muy bajas concentraciones, fueron identificados como compuestos fenólicos por Rovellini *et al.*, en 1997.

Los lignanos presentes en el aceite de oliva virgen incluyen el (+)-1-pinoresinol (Figura 2.8f) y el (+)-1-acetoxipinoresinol (Figura 2.8g) (Owen *et al.*, 2000; Brenes *et al.*, 2000). Estos compuestos se encuentran en la pulpa (mesocarpio) de la aceituna y en la porción lechosa de la semilla. Son liberados en el proceso de extracción del aceite y pasan a él sin modificación bioquímica alguna (Servili *et al.*, 2009).

Los compuestos fenólicos clasificados como secoiridoides se caracterizan por la presencia del ácido elenoico, o sus derivados, en su estructura molecular. Son los principales compuestos fenólicos del aceite de oliva virgen. Están representados por la forma dialdehídica del ácido decarboximetilenoico unido al hidroxitirosol (3,4-DHPEA-EDA) o al tirosol (p-HPEA-EDA), un isómero de la aglicona de la oleuropeína (3,4-DHPEA-EA) y la aglicona del ligustrosido (p-HPEA-EA). Fueron identificados, por primera vez, por Montedoro *et al.* (1992a; 1992b) quien asignó sus estructuras químicas en 1993 (Montedoro *et al.*, 1993) y fueron confirmadas, más tarde, por otros autores (Angerosa *et al.*, 1996; Owen *et al.*, 2000) (Figura 2.7c,d,e,f).

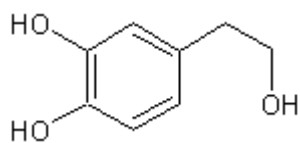
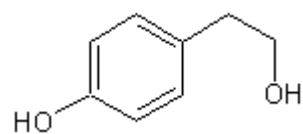
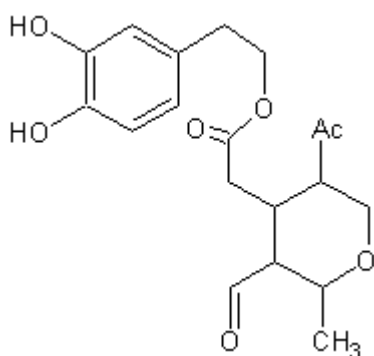
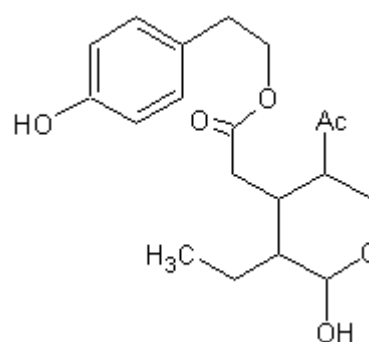
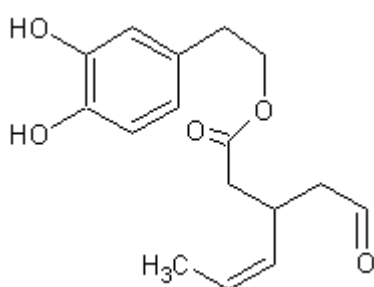
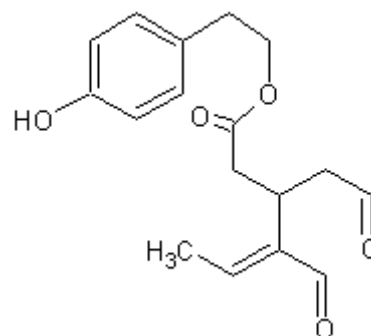
Estos compuestos son agliconas derivadas de los glucósidos secoiridoides contenidos en las aceitunas. Se originan durante los procesos de extracción del aceite de oliva virgen, por hidrólisis de la oleuropeína, dimetiloleuropeína y ligustrosido. Las reacciones están catalizadas por  $\beta$ -glucosidasas endógenas (Montedoro *et al.*, 2002).

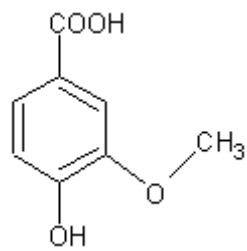
Los compuestos fenólicos le confieren al aceite de oliva virgen determinadas propiedades a nivel químico, organoléptico y de la salud.

A nivel químico, el efecto antioxidante de estos compuestos ha quedado demostrado en muchos trabajos. Tienen especial interés los orto-difenoles, principalmente la oleuropeína y el hidroxitirosol. La actividad antioxidante del hidrotirosol, se debe tanto a un efecto quelante de iones de metales como a un efecto secuestrador de radicales libres, han demostrado tener una capacidad antioxidante igual o superior que otros antioxidantes como la vitamina E y la vitamina C (Visioli y Galli, 1998).

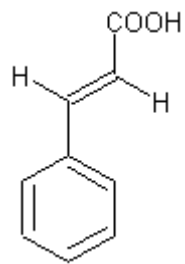
En cuanto a la implicación de los compuestos fenólicos en las propiedades sensoriales del aceite de oliva virgen, en bibliografía se informa de que estos compuestos son responsables de los atributos positivo amargo, picante y astringente (Andrewes *et al.*, 2003).

El amargor, atributo sensorial positivo (COI, 1987), es función del contenido en polifenoles totales (Gutiérrez *et al.*, 1977; Beltrán *et al.*, 1995). El amargor de los aceites puede ser cuantificado químicamente mediante la medida del  $K_{225}$  (Gutiérrez *et al.*, 1992), parámetro relacionado con la evaluación sensorial del amargo (COI, 1987).

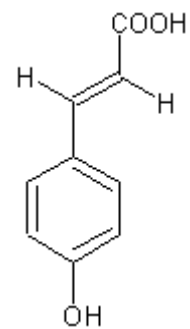
**a) 3,4-DHPEA****b) p-HPEA****c) 3,4-DHPEA-EA****d) p-HPEA-EA****e) 3,4-DHPEA-EDA****f) p-HPEA-EDA****Figura 2.7.** Polifenoles más importantes en el AOV



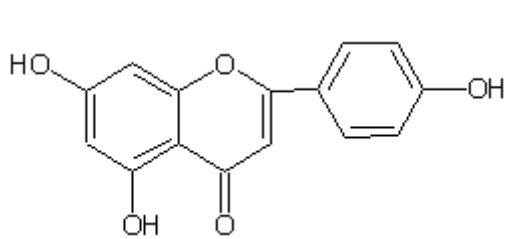
a) **Ácido vanílico**



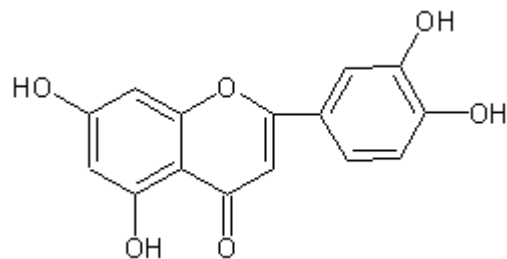
b) **Ácido cinnámico**



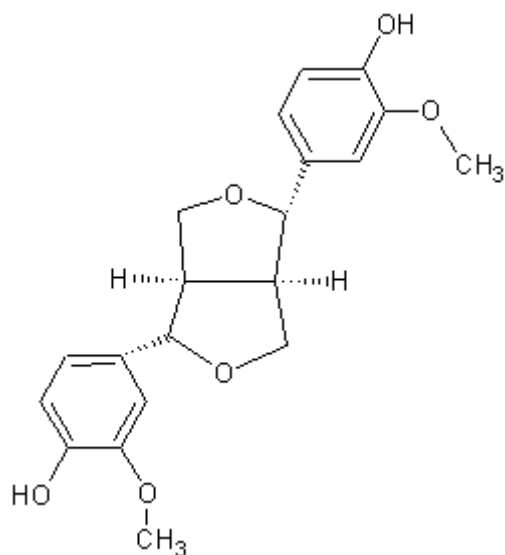
c) **Ácido p-coumárico**



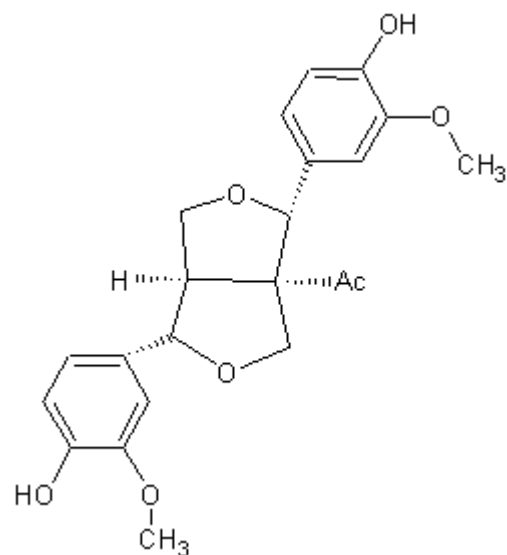
d) **Apigenina**



e) **Luteolina**



f) **Pinoresinol**



g) **Acetoxipinoresinol**

**Figura 2.8.** Polifenoles más importantes en el AOV

Gutiérrez *et al.* (1989), analizando los extractos hidroalcohólicos procedentes de los aceites de oliva por cromatografía líquida, establecen cuatro compuestos fenólicos relacionados con la evaluación sensorial, aunque no establecen la identidad de los mismos.

Beltrán *et al.* (2000) asocian ciertos compuestos a la medida del amargor  $K_{225}$  para aceites de la variedad arbequina. García *et al.* (2001) informan de una fuerte correlación entre la concentración de secoiridoides derivados del hidrotiroxol y el amargor, para las variedades de aceituna manzanilla y verdial.

Tovar *et al.* (2001) informan de una fuerte correlación entre los secoiridoides derivados del tiroxol y los atributos sensoriales amargo y picante en el aceite de oliva virgen de la variedad arbequina.

Andrewes *et al.* (2003) aíslan, separan e identifican los polifenoles del aceite de oliva virgen utilizando HPLC en fase reversa. Evalúan las propiedades sensoriales de las fracciones de polifenoles atribuyéndoles las percepciones de amargo y astringente. La fracción que contenía la aglicona del diacetoxiligstrósido presentaba una fuerte sensación de picor en la garganta. En contraste, la fracción que contenía la aglicona del diacetoxioleuropeína producía una leve sensación ardiente que se percibía más en la lengua. Las otras fracciones de polifenoles no producían la sensación picante tan intensa. Así pues, concluyó que la aglicona del diacetoxiligstrósido es el polifenol responsable del atributo positivo "picante" del aceite de oliva virgen.

Dado que el contenido de polifenoles en el aceite de oliva virgen depende de la variedad del fruto, del estado de maduración del mismo, de la climatología, riego y del proceso de elaboración del aceite; se hace difícil, en principio, correlacionar la existencia de un fenol en particular con un atributo sensorial determinado.

Finalmente, hemos de reseñar el especial interés que suscitan los compuestos fenólicos presentes en el aceite de oliva virgen debido a sus efectos sobre la salud. Así, se ha evidenciado el efecto protector de la oleuropeína y el hidroxitiroxol sobre la oxidación de las LDL (Visioli *et al.*, 1994; Fitó *et al.*, 2000). Igualmente, se ha demostrado la actividad hipocolesterolémica e hipoglucemiante de la oleuropeína (Ficarra *et al.*, 1991; Le Tutor *et al.*, 1992; Driss *et al.*, 1996). Se ha podido probar que el hidroxitiroxol inhibe la agregación plaquetaria inducida (Petroni *et al.*, 1995; Visioli *et al.*, 1994; Kohyama *et al.*, 1997).

Los lignanos (pinosinol y acetoxi-pinosinol) son considerados muy interesantes, desde el punto de vista farmacológico, ya que se le atribuyen propiedades antitumorales (Fini *et al.*, 2008) y antivirales, debido a la inhibición de ciertas enzimas (Nikaido *et al.*, 1981; Brenes *et al.*, 2000)). A los glucósidos del pinosinol se le atribuyen propiedades de hipotensión arterial (Sih *et al.*, 1976; Brenes *et al.*, 2000).

Por otra parte, los compuestos fenólicos previenen la disfunción endotelial (responsable de numerosas enfermedades como la arteriosclerosis, la hipertensión arterial, la sepsis, la trombosis, la vasculitis, hemorragias, etc.) (Carluccio *et al.*, 2003), mejoran la transcripción del ARNm de la enzima antioxidante *glutación peroxidasa* (Marsella *et al.*, 2004) y, además, hay que destacar la potencial actividad quimiopreventiva de estos compuestos y los efectos anti-inflamatorios, similares a los del ibuprofeno, que exhibe uno de ellos: la forma dialdehídica del diacetoxiliguatróxido aglicona (Beauchamp *et al.*, 2005).

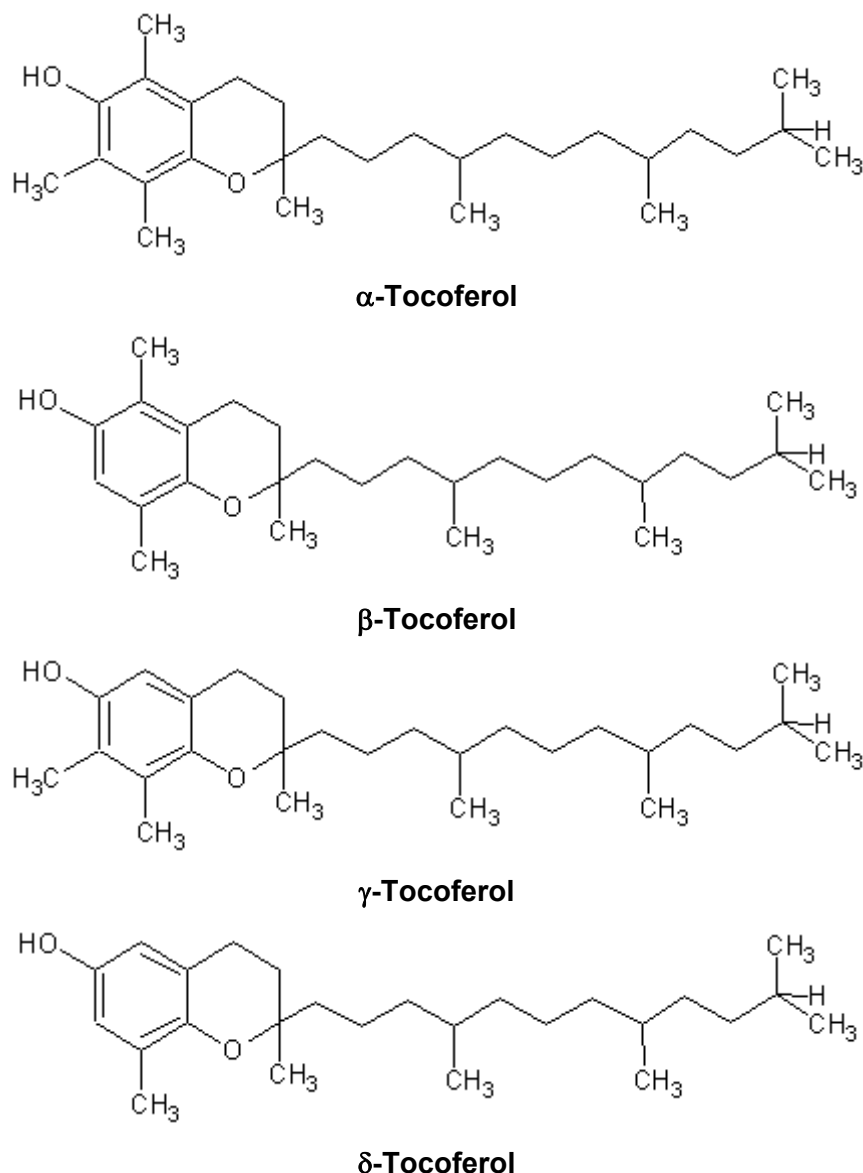
### 2.4.2. TOCOFEROLES

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 ocho especies naturales de tocoferoles ( $\alpha, \beta, \gamma$ , y  $\delta$ ) y tocotrienoles. Junto con las vitaminas A, D y K constituyen el grupo de las vitaminas liposolubles, caracterizadas por ser derivados del núcleo isoprenoide, solubles en lípidos y en disolventes orgánicos. Son compuestos esenciales, puesto que el organismo no puede sintetizarlos, por lo que su aporte se realiza a través de la dieta en pequeñas cantidades, siendo los aceites vegetales una de las principales fuentes de aporte (Sayago *et al.*, 2007).

La vitamina E es sintetizada de forma exclusiva por las plantas. 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  $\alpha$ -tocoferol que las partes amarillas, mientras que el  $\gamma$ -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). Los tocotrienoles no se encuentran en las plantas verdes, pero sí en el salvado y el germen de ciertas semillas y cereales.

En cuanto a su estructura química, los tocoferoles y tocotrienoles constan de un grupo cromano con dos anillos, uno fenólico (sustituido con grupos hidroxilo y metilos) y otro heterocíclico, y una cadena lateral de 16 átomos de carbono, con tres esqueletos de isopreno. Existen cuatro tocoferoles ( $\alpha$ ,  $\beta, \gamma$ , y  $\delta$ ) los cuales se diferencian entre sí sólo en el número de sustituyentes metilo y en el patrón de sustitución en el anillo bencénico (Figura 2.9). Los cuatro tocotrienoles presentan las estructuras del cromano similares a los correspondientes tocoferoles, diferenciándose de estos en la presencia de tres dobles enlaces en los carbonos 3, 7 y 11 de la cadena hidrocarbonada.

Los tocoferoles existen solo en forma de fenoles libres, mientras que los tocotrienoles pueden presentarse en la naturaleza en forma esterificada (Aguilera, 2006).



**Figura 2.9.** Estructuras de los Tocoferoles

En el aceite de oliva virgen se ha descrito la presencia de  $\alpha$ ,  $\beta$ , y  $\gamma$  tocoferol. El  $\alpha$ -tocoferol el mayoritario, alcanzando valores superiores al 95 % del total. Se ha descrito la presencia de tocotrienoles en el aceite de algunas variedades (Agramont *et al.*, 1986); sin embargo este hallazgo no ha sido corroborado en posteriores trabajos. El contenido medio en tocoferoles en el aceite de oliva virgen oscila entre los 50 y 300 mg/kg (Boskou, 1996).

En cuanto a la función de la vitamina E en el organismo, una de las teorías más acertada indica que 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).

El mecanismo de acción antioxidante consiste en la interrupción de las etapas de propagación y descomposición del proceso de autooxidación y en la reacción con el oxígeno singlete en el proceso de fotooxidación. En la autooxidación los tocoferoles interrumpen las reacciones en cadena mediante la donación de un hidrógeno al radical peroxilo originando un radical ariloxilo y un hidroperóxido (Figura 2.10 reacción I) (Burton e Ingold, 1986). Los radicales ariloxilo resultantes se estabilizan por deslocalización electrónica de la estructura fenólica, reaccionando fácilmente con otros radicales peroxilo para formar productos estables (Figura 2.10 reacción II), resultando poco probable que separen átomos de hidrógeno de moléculas lipídicas intactas. Los múltiples productos de oxidación de los tocoferoles, que pueden formarse a partir de los radicales ariloxilo mediante una complicada gama de reacciones, incluyendo reacciones bimoleculares de radicales ariloxilo para formar dímeros (Figura 2.10 reacción III), constituyen un tema de estudio complejo de gran importancia (Kamal-Eldin y Appelqvist, 1996; Frankel, 1996; Sayago *et al.*, 2007).



**Figura 2.10.** Mecanismo genérico de actuación de un antioxidante

La vitamina E tiene muchos más efectos de los que su descubridor hubiera podido imaginar. 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). Aunque su utilidad en la prevención de trombos en las arterias es aún discutible (Stanley, 2005).

La vitamina E, especialmente el succinato de  $\alpha$ -tocoferol, su forma más activa, puede inducir apoptosis directa o indirecta en las células tumorales, dependiendo de la dosis, del periodo de exposición y del tipo de células (Flebes *et al.*, 2002).

En otros estudios se ha observado que la vitamina E puede ayudar a retrasar el inicio de la Diabetes Mellitus tipo 2, e incluso mejorar el control de azúcar en sangre (Packer y Obermüller-Jevic, 2002).

Por último, la resistencia de las LDL a la oxidación, como índice de susceptibilidad a la arterioesclerosis, se asocia al contenido de vitamina E (Codoceo y Muñoz, 1999).

### 2.4.3. 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 autoxidación y fotoxidación.

Los pigmentos presentes en el aceite de oliva se agrupan en dos clases: clorofilas, feofitinas y carotenoides.

#### 2.4.3.1. 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 Mg 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).

En el aceite de oliva coexisten dos tipos de clorofilas: "a" y "b". La diferencia fundamental entre ambas clorofilas es que la "a" tiene un grupo metilo en el C3 mientras que la "b" posee un grupo carbonilo. Su carácter hidrofóbico se debe a la presencia del fitol que se encuentra esterificado.

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

Vázquez *et al.* (1980) observaron 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. Interesse *et al.* (1971) informaron que 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 *et al.*, 1980). Estos pigmentos facilitan la formación de oxígeno singlete, lo que provoca la oxidación del aceite en presencia de la luz (Fakourelis *et al.*, 1987; Lee *et al.*, 1988; Carlsson *et al.*, 1976; Raws *et al.*, 1970). El 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).

### 2.4.3.2. Carotenoides

Los carotenoides son los pigmentos responsables de la coloración amarillenta que presentan los aceites de oliva vírgenes. Estructuralmente hablando, los carotenoides son los únicos tetraterpenos naturales, derivados de la unión de 8 unidades de isopreno que originan un esqueleto de 40 átomos de carbono.

En general, los carotenoides se clasifican en dos grandes grupos: carotenos, que son estrictamente hidrocarburos, y xantofilas, derivados de los anteriores por incorporación de funciones oxigenadas. Los carotenoides pueden presentar una estructura acíclica como el licopeno, o poseer distintas estructuras cíclicas de cinco o seis carbonos en uno o ambos extremos, como el  $\beta$ -caroteno (Figura 2.11). Dado el gran número de dobles enlaces de la cadena polienólica central, los carotenoides pueden existir en diversas conformaciones *cis/trans*, aunque la más estable y, por tanto, presente en la naturaleza es la todo *trans* (Olmedilla *et al.*, 2001).

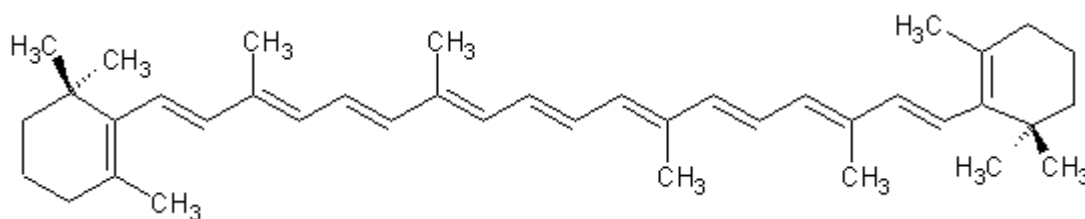


Figura 2.11. Estructura del  $\beta$ -caroteno

El contenido total de carotenoides en el aceite de oliva virgen es de 1-20 mg/kg. Siendo los principales carotenoides: luteolina,  $\beta$ -caroteno, violaxantina, neoxantina, anteraxantina, luteoxantina y en menor proporción, mutatoxantina y  $\beta$ -criptoxantina. El carotenoide mayoritario es la luteolina seguida por el  $\beta$ -caroteno (Aguilera, 2006).

De los carotenoides conocidos, solamente alrededor del 10 % presentan actividad provitamina A. Además del  $\beta$ -caroteno, los más importantes entre ellos son el  $\alpha$ -caroteno y la  $\beta$ -criptoxantina. La condición fundamental para que tengan actividad vitamínica es que tengan cerrado y sin oxidar, al menos, uno de los anillos de los extremos de la estructura (Olmedilla *et al.*, 2001).

Es de destacar, también, la acción antioxidante que presenta el  $\beta$ -caroteno, capaz de inhibir al oxígeno singlete, inhibiendo así la oxidación de los lípidos (Kiritsakis y Dugan, 1985; Fakourelis *et al.*, 1987).

Se ha descrito que los carotenoides ejercen funciones de protección reduciendo el riesgo de padecer cáncer (Salkeld, 1991). La luteolina, carotenoide mayoritario en el aceite de oliva virgen, tiene una función protectora de la vista. La luteolina absorbe los rayos ultravioletas del sol evitando que estos hagan daño a la retina. Así, la luteolina (referida como pigmento macular) puede prevenir el daño oxidativo inducido por la luz en la retina y por tanto proteger frente a la llamada Degeneración Macular Senil (Hammond *et al.*, 1998).

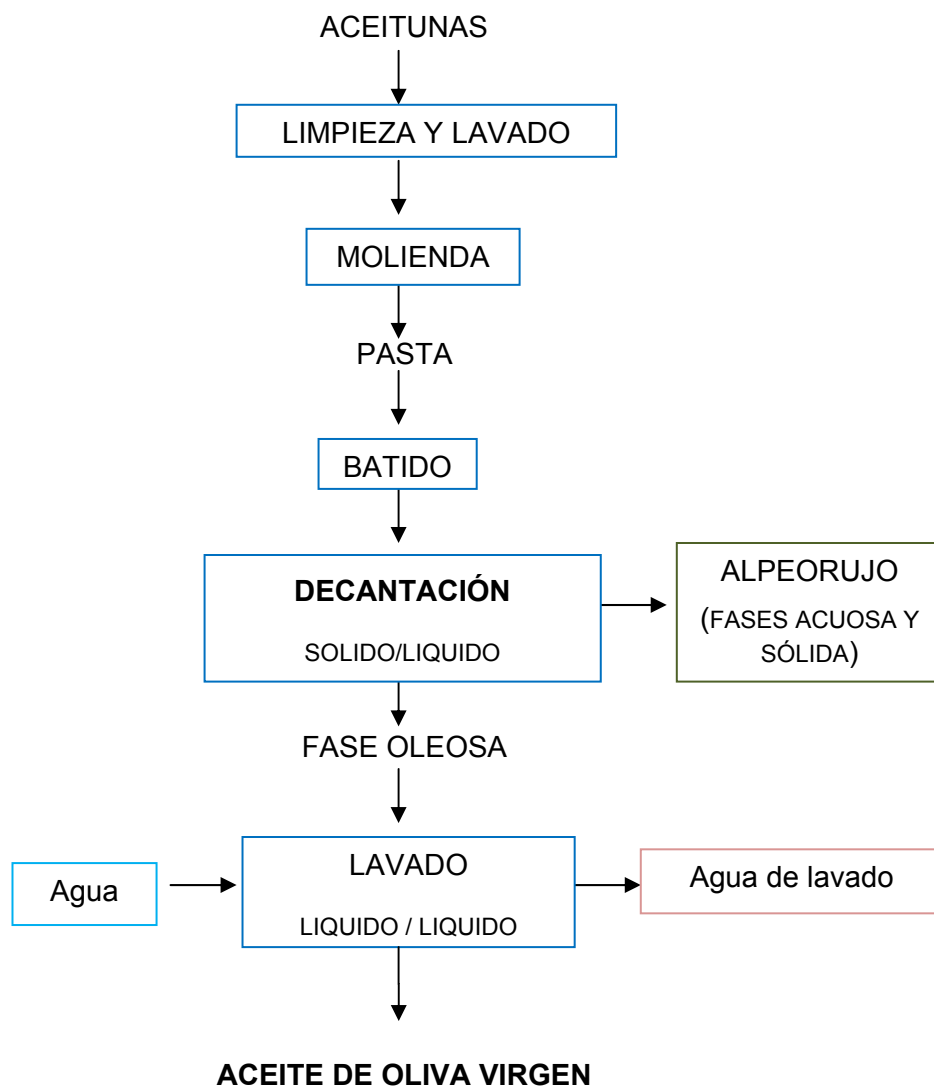
## **2.5. ELABORACIÓN DE ACEITE DE OLIVA VIRGEN**

Con el concepto elaboración se expresa el conjunto ordenado de procesos mecánicos o físicos que se utilizan para conseguir la separación de la fracción oleosa del resto de componentes de la aceituna (Figura 2.12).

La fase oleosa, por su forma de obtención, se considera el “*zum natural de la aceituna*”, denominado “*virgen*” en base a los métodos de elaboración empleados, lo que lo diferencia de otros aceites de diferente procedencia y/o métodos de obtención. Cuando procede de frutos sanos, en su punto óptimo de maduración y se procesa correctamente, el zumo posee los componentes lipídicos e insaponificables considerados necesarios y esenciales para una dieta sana y saludable, destacando sobre todo las sensaciones sensoriales específicas que lo hacen tan singular y apetecible.

### **2.5.1. ALMAZARA**

Almazara es el nombre que recibe la industria cuyo proceso básico es la elaboración de aceites de oliva vírgenes. Generalmente, todas las almazaras poseen un mínimo de tres zonas: El “*patio*” es la zona en la que se recibe la aceituna, se clasifica según variedad, procedencia y estado físico del fruto; se limpia y, a veces, se lava; se pesa y se envía a la tolva de alimentación del proceso, en el trayecto a la tolva se suele tomar muestra para análisis y control de riqueza grasa.



**Figura 2.12.** Sistema continuo de centrifugación en dos fases

Aunque la molienda de la aceituna se suele realizar en el patio, es la primera operación del proceso que tiene lugar en la segunda zona, denominada “*Cuerpo de fábrica*”. En esta zona se inician las operaciones de preparación de la pasta, con la transformación de las aceitunas en pasta integral por medio de la molienda y la coalescencia de las fases líquidas por medio de batido. Cuando se forman pastas difíciles es conveniente añadir al batido algún coadyuvante tecnológico de acción física, que facilite la separación de las fases.

Tras el batido se procede a la separación de la fase oleosa del resto de fases (acuosa y sólida), mediante centrifugación en decánter de dos o tres fases. En el primero las fases acuosa y sólida salen juntas formando el alpeorujo y en la segunda

salen por boquillas separadas de forma que a la fase líquida se denomina alpechín y a la sólida orujo. La fase oleosa que sale del decánter se suele pasar por una criba vibratoria para eliminar los sólidos más gruesos arrastrados.

A continuación, y de forma continua, se procede al lavado del aceite en la centrífuga vertical (de discos), con objeto de eliminar los sólidos finos y el agua (alpechín) que, normalmente, conforman la fase oleosa de la etapa anterior, obteniéndose el aceite prácticamente acabado, pero no final, y el efluente acuoso denominado agua de lavado del aceite. Tras el lavado de los aceites se procede a decantarlos, por gravedad, en la operación denominada “pre-bodega” y a clasificarlos según sus parámetros de calidad.

En la tercera zona, denominada “*Almacén o Bodega*”, se realiza la acumulación de los distintos lotes producidos, clasificados en base a sus parámetros de calidad, en depósitos de materiales inertes, en los que se produce la maduración de los aceites y una ligera decantación, trasvasándose posteriormente a los depósitos definitivos (Alba *et al.*, 2009).

## 2.5.2. RECEPCIÓN, LIMPIEZA Y LAVADO

Al llegar el fruto a la almazara se le somete a una serie de operaciones preliminares, ya comentadas, de gran importancia, desde el punto de vista de la calidad final de los aceites, y que comprenden la recepción, limpieza y lavado de la aceituna.

En la recepción del fruto, a su llegada a la almazara, es necesario clasificarlo según su potencial calidad, para procesarlo por vías diferentes y con tratamientos distintos según el estado de la aceituna (Díaz-Alonso *et al.*, 1993; Uceda *et al.*, 2004).

Lo normal es que los frutos entren a la almazara con un determinado contenido en impurezas, en función del sistema de recolección, constituidas por hojas, tallos, tierra, piedras y algún que otro objeto metálico. Para eliminar estas impurezas se utilizan los equipos denominados limpiadoras o deshojadoras y las despalladoras. Las primeras pueden ser de dos tipos: para caudales de aceituna pequeños se emplean las limpiadoras de aspiración, que se basan en un sistema de aspiración de aire colocado encima de una cinta transportadora por la que circulan las aceitunas, la aspiración absorbe todas las impurezas de peso inferior a las aceitunas. Para caudales superiores a 5 t/h se utilizan ventiladores o turbinas, que proyectan una corriente de aire a través de una criba por la que circulan las aceitunas. Normalmente, ambos, sistemas no eliminan las impurezas de mayor tamaño (tallos, ramas, palos, bolas de barro, piedras, etc.).

Para eliminar las impurezas de mayor tamaño se utilizan las despalladoras, que están constituidas por un conjunto de ejes helicoidales giratorios situados a una distancia tal que permiten sólo el paso de las aceitunas y de las impurezas de tamaños

similares o inferiores a ellas. Por la parte inferior del equipo se recogen las aceitunas y por la parte superior se eliminan las impurezas de mayor tamaño.

Con las aceitunas procedentes del proceso de limpieza se pueden adoptar dos criterios, dependiendo de su procedencia, si son del árbol, sanitariamente su estado es satisfactorio y no vienen acompañadas de tierra, barro o residuos fitosanitarios, se pueden pasar directamente al proceso de molienda. Si existen dudas de los problemas anteriores, o si son aceitunas de suelo, deben pasar por el proceso de lavado, en el que por diferencia de densidad, o disolución en el agua, se eliminan las impurezas más densas que suelen acompañar a los frutos, como piedras, tierra, etc.

### 2.5.3. ALMACENAMIENTO DEL FRUTO

El fruto una vez preparado, limpio o lavado, se almacena en las tolvas pulmón o de espera para ser molturado.

Los frutos deben molturarse dentro de las 24 horas siguientes a su recolección, para evitar alteraciones que modifiquen la calidad (Uceda *et al.*, 2004). El atrojado (almacenamiento prolongado del fruto a granel) es la principal causa de deterioro de la calidad de los aceites, produciendo grave alteración de los caracteres sensoriales, elevación de la acidez, debido esencialmente a la actividad de microorganismos (Rodríguez de la Borbolla *et al.*, 1955) y una disminución de la estabilidad (García *et al.*, 1996).

Los aceites atrojadados presentan cantidades anormalmente altas de ácidos volátiles, como el acético o butírico y de alcoholes grasos (Martel y Alba, 1981), siendo la asociación de estos compuestos la causa esencial del aroma desagradable y peculiar que los caracteriza (Gutiérrez *et al.*, 1981; Olías *et al.*, 1988). Además, puede incluso modificarse la fracción esterólica (Cámara *et al.*, 1978).

El único sistema válido para que no se altere el aceite es la molturación del fruto conforme entra en la almazara, instalando la capacidad de elaboración suficiente para ello (Civantos *et al.*, 1999).

### 2.5.4. PREPARACIÓN DE LA PASTA

En la preparación de la pasta se realiza en dos etapas: en la primera, denominada *molienda*, el objetivo es romper íntegramente la estructura vegetal de las aceitunas con el fin de liberar las gotas de aceite que se encuentran en el interior de las células que constituyen el parénquima oleoso del mesocarpio. La segunda etapa es el *batido* de la pasta, que tiene como misión agrupar la fase oleosa para facilitar su separación posterior del resto de los componentes de la masa de aceituna.

### 2.5.4.1. Molienda

Debido a que los tejidos que constituyen la aceituna (epicarpio, mesocarpio, endocarpio y semilla) poseen diferentes resistencias y constituciones, fundamentalmente en contenido de humedad y de aceite, el equipo que se suele utilizar en la molienda está concebido para romper el tejido de mayor resistencia, el endocarpio, y evitar, en lo posible, la formación de emulsiones.

El equipo más utilizado, sobre todo, en las instalaciones de extracción por centrifugación es el molino metálico de martillos (Figura 2.13). Está construido íntegramente en acero inoxidable, en cuyo interior se localizan las partes activas giratorias constituidas por una cruceta con los martillos y la criba de regulación del grado de molienda (Alba *et al.*, 2009).



**Figura 2.13.** Molino de martillos

La molturación se produce por la acción de los martillos, que giran a un elevado número de revoluciones, al golpear la aceituna introducida por un inyector en la cámara, produciéndose la salida de la pasta a través de las perforaciones de la criba (Hermoso *et al.*, 1991).

Relacionado con el rendimiento industrial está el grado de molienda de la aceituna, reconocible por el tamaño medio de las fracciones de hueso, presencia de hollejos, etc., que es regulable, en los molinos de martillos, por el diámetro de las perforaciones de la criba (Espínola, 1996; Hermoso *et al.*, 1998).

Si el grado de molienda es excesivamente grueso, para el tipo de aceituna que se trata, no se romperán todas las células y, en consecuencia, los orujos tendrán un alto contenido graso. Por otra parte, si el grado de molienda es excesivamente fino, para el tipo de aceituna, se pueden formar sistemas coloidales y emulsiones cuya consecuencia será un menor rendimiento industrial. Como norma, cuando las aceitunas están verdes o comenzando el envero se suele molturar con la criba más

fina ya que, aunque se forman emulsiones, se consigue liberar mayor cantidad de aceite que con cribas gruesas. Conforme avanza la maduración del fruto, unido a la facilidad con que se libera el aceite, se suelen emplear cribas de mayor tamaño de agujero. Para romper las emulsiones o la formación de pastas difíciles se suelen utilizar los coadyuvantes tecnológicos.

#### **2.5.4.2. Batido de la pasta**

La operación de batido tiene la misión de fomentar el movimiento de las pequeñas gotas de aceite y de agua que se encuentran casi liberadas por la trituración y facilitar la coalescencia de las fases.

En general, la pasta molida es un medio en el que, debido a su complejidad constitucional, se producen interacciones físicas y biológicas que pueden modificar la textura de la pasta y su reología, por formación de membranas lipoproteínicas que facilitan la formación de emulsiones y crean dificultades para la separación de las fases sólido-líquido y líquido-líquido.

Para alcanzar el objetivo del batido, que se pretende en la pasta molida, se utilizan básicamente los siguientes efectos: *el movimiento lento de la pasta*, para promover el encuentro de las gotas, *el incremento de temperatura*, para disminuir la viscosidad y que se desplacen con más facilidad las gotas, y *el tiempo*, para que los dos efectos anteriores puedan tener lugar.

Tanto la temperatura de batido como la duración de esta operación tienen influencia sobre el rendimiento del aceite extraído (Di Giovacchino, 1991b; Vati gliano y Radogna, 1972) y sobre la calidad del mismo (Hermoso *et al.*, 1991).

La batidora es un equipo constituido por un recipiente termorregulado por una cámara de calefacción, situada normalmente en la pared exterior del recipiente, por la que se hace circular agua caliente procedente del circuito secundario de la caldera de calefacción general. En el interior del recipiente tiene uno o varios ejes con paletas, que giran con una velocidad fija comprendida entre 20-30 rpm. En función de la situación del eje de paletas, vertical u horizontal, la batidora toma su denominación. Para conseguir un buen batido, en relación a movimiento, temperatura y tiempo, es inviable utilizar batidoras de gran capacidad en un solo recipiente, por lo que las batidoras poseen varios recipientes o cuerpos, haciendo pasar la pasta en serie por todos, con un diseño que puede ser en un mismo plano horizontal o superpuesto (Alba *et al.*, 2009).

#### **2.5.4.3. Coadyuvantes tecnológicos**

Se considera una pasta correctamente batida a aquella que posee un aspecto granuloso, no se adhiere a las paletas y se aprecia una determinada cantidad de

aceite sobrenadante. En este estado las etapas siguientes del proceso de elaboración se realizarán sin problemas notables.

Las pastas que proceden de aceitunas recién recolectadas, con un grado de humedad relativamente alto, superior al 45-50%, suelen formar emulsiones durante la molienda, a causa de la formación de membranas lipoproteicas que envuelven las gotas de aceite e impiden su coalescencia. Este estado se puede detectar, de forma visual, durante el batido, por presentar un aspecto de papilla continua, de color generalmente violáceo, aspecto fluido, donde no se aprecia aceite superficial y las paletas de la batidora, desde el principio del proceso hasta el final, permanecen cubiertas de pasta. Como es de suponer, estas pastas presentan graves problemas en la separación sólido-líquido, produciéndose menor rendimiento industrial y un mayor contenido de aceite en los orujos, en los alpechines y en las aguas de lavado de aceite (Alba *et al.*, 2009).

Para facilitar la elaboración de las pastas “*emulsionadas*”, también denominadas “*pasta difíciles*”, se pueden utilizar coadyuvantes tecnológicos de acción física, como agua y talco. Prohibiéndose la utilización de coadyuvantes tecnológicos de acción química o bioquímica en la elaboración de aceites de oliva vírgenes (Reglamento CE 1513/2001).

La adición continua en la batidora de talco pulverizado con un tamaño de partícula inferior a 40  $\mu\text{m}$  (Cert *et al.*, 1996) se realiza en una dosis que puede oscilar entre 1% y 2% del peso de las aceitunas molturadas y varía en función del grado de dificultad que presente la pasta pudiendo, en algunos casos, llegar a necesitarse más del 3%. El talco, forma natural del silicato de magnesio hidratado,  $\text{Mg}_3(\text{Si}_4\text{O}_{10})(\text{OH})_2$ , tiene una estructura microcristalina laminar eléctricamente neutra, marcado poder lipofílico (elevada capacidad de adsorción de aceite) y su mecanismo de actuación, puramente físico, podría explicarse mediante la acción de fuerzas de Van der Waals: adsorbiendo las microgotas de aceite retenidas en las paredes de las células, dando lugar a la formación de gotas e incrementando de esta forma la cantidad de aceite suelto.

La adición de agua a la pasta como coadyuvante puede ser muy eficaz, especialmente cuando la humedad de las aceitunas es baja, no obstante, se puede añadir en el batido (actuando como coadyuvante) o en el decánter (facilita la separación mecánica) en el caso del sistema de tres fases (Fernández, 2009).

Con respecto a la calidad de los aceites obtenidos, varios autores concluyen que no se aprecian diferencias significativas entre los aceites obtenidos usando agua o talco y los obtenidos sin adicionar estos coadyuvantes tecnológicos (Alba *et al.*, 1982; Hermoso *et al.*, 1998).

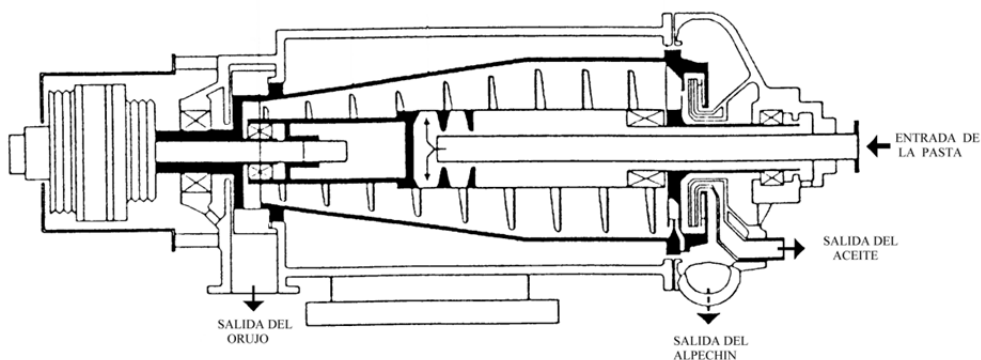
Espínola *et al.* (2009) han observado una mejora en el rendimiento graso, utilizando carbonato cálcico como coadyuvante, habiendo realizado ensayos a nivel industrial (Moya *et al.*, 2010).

### 2.5.5. DECANTACIÓN CENTRÍFUGA

La pasta obtenida después del batido está formada por la “fase sólida”, constituida por trozos de hueso y otros restos de tejidos de la aceituna, y las “fases líquidas”, formadas por el aceite y el agua de vegetación.

En la actualidad, la separación, en almazara, de las fases sólidas y líquidas se realiza mediante el sistema continuo de centrifugación en dos o tres fases. Después de molida y batida la pasta se procede a su centrifugación, con o sin adición de agua. La operación de separación se produce en un decantador centrífugo horizontal o decánter, del que pueden salir dos o tres corrientes en continuo, por lo que el sistema será de dos o tres fases. En el sistema de tres fases se produce la separación del aceite (fase oleosa), del alpechín (fase acuosa) y del orujo (fase sólida) mientras que en el sistema de dos fases se obtiene sólo aceite y orujo muy húmedo, conocido como *alpeorujo* (Espínola, 2000).

El decantador centrífugo que se utiliza en las almazaras (Figura 2.14) consta de un tambor cónico-cilíndrico de eje horizontal que gira a gran velocidad, sometiendo la pasta a centrifugación. Ésta se introduce dentro del tambor mediante un tubo axial. Un tornillo sinfín dispuesto dentro del tambor, con velocidad de rotación un poco distinta a la de éste, produce el lento desplazamiento relativo de los sólidos respecto del tambor, lo que permite extraerlos por una salida situada en el lado de menor diámetro del cono. Un separador dispuesto en el lado opuesto del cono permite obtener las dos fases líquidas. La máquina se completa con un cárter externo de protección contra el riesgo que representan las partes giratorias, el motor eléctrico y los mandos de transmisión.



**Figura 2.14.** Corte de un decantador centrífugo de tres salidas

La pasta de aceituna se inyecta en el interior del tornillo sinfín por medio de un conducto o caña. Por efecto de la fuerza centrífuga aparecen tres capas sucesivas, escalonadas de mayor a menor de densidad: una exterior formada por sólidos húmedos, en el centro una líquida, formada principalmente por agua, y la tercera interior, por ser

más ligera, que contiene la mayor parte de la fracción oleosa. El tornillo sin fin tiene la misión de recuperar la capa sólida que se deposita continuamente en la pared del bol, desplazándola poco a poco hacia el extremo del cono hasta la salida y expulsándola debido a la centrifugación. El punto en el que la caña descarga la pasta de aceituna en el decánter puede ser regulado, obligando a acortar o alargar los recorridos respectivos de las fases líquidas o sólidas.

El separador que está en el extremo opuesto al cono sirve para extraer, en funcionamiento continuo, cada una de las dos fases líquidas que se separan en el bol. Necesita varios ajustes. El primero tiene por objetivo regular la altura de la capa total del líquido en el tambor, lo que produce un efecto secundario, al contribuir en el grado de secado de la fase sólida. El segundo permite controlar los caudales respectivos de cada una de las dos fases líquidas (Fanguin, 1990). Con alimentaciones formadas por suspensiones espesas, la capacidad de la máquina está limitada por el par de fuerzas que puede soportar el transportador helicoidal.

Un decánter de 3 fases tiene tres salidas, dos de líquidos (aceite y alpechín) y una de sólidos (orujo). Un decánter de dos fases tiene dos salidas: una de líquidos (aceite) y otra de sólidos húmedos (alpeorujo), constituido, básicamente por el agua de vegetación de las aceitunas y los sólidos.

La introducción de los sistemas de dos fases en la elaboración del aceite de oliva virgen ha traído como consecuencia la eliminación de los alpechines o las aguas residuales del proceso, al mismo tiempo que se produce un orujo de elevada humedad, que lleva las sustancias que, en los sistemas de tres fases, contenía el alpechín. La elevada humedad y el contenido en azúcares de los orujos dificulta y encarece el proceso de extracción de aceite de orujo con disolventes, sobre todo la etapa de secado previo (Espínola, 2003). Los orujos húmedos del sistema de dos fases se suelen someter a una segunda centrifugación o *repaso*, consistente en seguir procesando el orujo fresco (alpeorujo), sometiéndolo a batido y posterior decantación, en centrífugas horizontales, llegándose a recuperar hasta un 30 % del aceite contenido en los mismos (Alba *et al.*, 1996; Moreno y Espínola, 2005).

Este aceite, así obtenido, podría considerarse, en principio, aceite de oliva virgen ya que no ha sido sometido a ninguna otra operación distinta del batido y de la centrifugación. No obstante, Moreno y Espínola (2005) indican que poseen parámetros analíticos, en especial ceras, muy superiores a los permitidos para los aceites de oliva vírgenes, por lo que son más parecidos a los aceites de orujo.

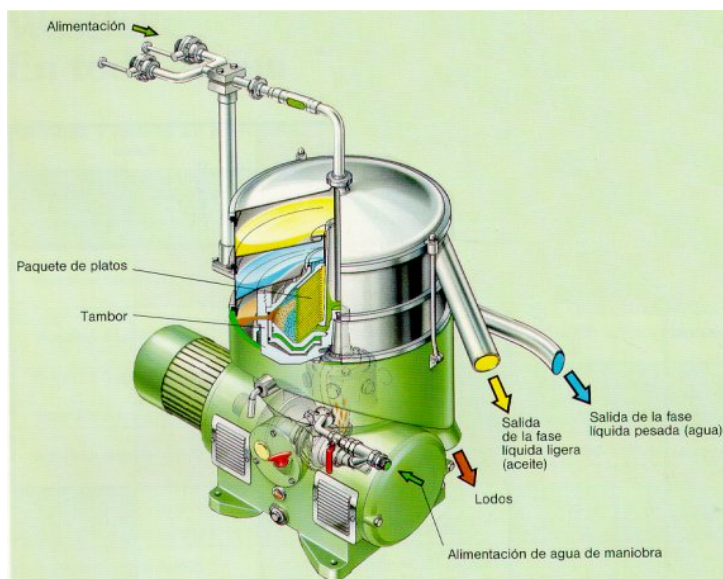
#### 2.5.6. LAVADO DE ACEITES

El efluente oleoso del decánter suele arrastrar pequeñas partículas sólidas y alguna gota del agua de vegetación, por lo que debe ser purificado antes de enviarlo al almacén. Para lavar los aceites, y eliminar los sólidos en suspensión, se suelen emplear centrífugas de discos o verticales, que giran a 7500 rpm. Las centrífugas

verticales constan de un bol formado por un doble tronco de cono y un conjunto de platos troncocónicos en su interior que giran solidariamente con el eje central. En la Figura 2.15 se muestra, en esquema, una sección de las mismas (Hermoso *et al.*, 1991).

Antes de entrar en el cuerpo de la centrífuga, los aceites se mezclan con agua templada y se introducen, por la parte superior, a través del eje hueco hasta llegar a un deflector en el que se reparten. La mezcla aceite-agua va penetrando entre los platos que, actuando como centrífugas elementales, separan las distintas fases:

- Los sólidos son lanzados al radio mayor del bol
- El alpechín también es expulsado fuera de los platos
- El aceite queda en la parte de los platos que pega al eje



**Figura 2.15.**Sección de una centrífuga vertical

En pleno funcionamiento, el interior de la centrífuga está completamente lleno de líquido, lo que obliga a las dos fases líquidas a ocupar sus respectivas coronas circulares. Así, el aceite asciende pegado al eje de rotación, saliendo por los orificios practicados a éste. Por el contrario, las aguas de vegetación son despedidas por los platos, buscando su salida junto a la pared interior del bol. Los sólidos quedan en la unión del doble tronco de cono que forma el bol, que es el lugar más distante del eje de rotación.

Los sólidos se van acumulando en la pared del bol, lo que provoca que, con el paso del tiempo, las aguas de lavado salgan con muchos finos y los aceites sucios. Para remediar esto, las centrífugas verticales modernas de tres fases se construyen

con un dispositivo de limpieza automático que puede funcionar según la cantidad de sólidos acumulados o el tiempo de funcionamiento, lo que permite su funcionamiento casi en continuo (Fernández, 2009). Cuando la limpieza automática se dispara se corta la entrada de aceite, se incrementa la de agua y se pone en funcionamiento un sistema neumático que separa los dos cuerpos del bol de forma que expulsa los sólidos y el agua de limpieza, posteriormente se cierra la salida de sólidos y se restauran las entradas de aceite y agua de lavado.

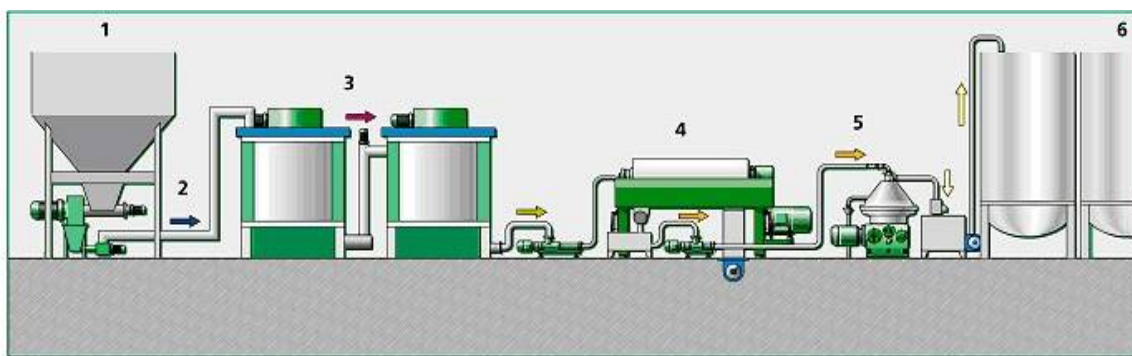
### 2.5.7. ALMACENAMIENTO DE LOS ACEITES

El aceite, aunque lavado, siempre presenta impurezas, generalmente inferiores al 0,05 %, formadas por agua (en estado libre, en suspensión coloidal, en emulsión o microemulsión) y sustancias ajenas al aceite que es necesario eliminar, durante el almacenamiento del aceite, para evitar su deterioro (Ranalli, 1989).

La forma de los depósitos es esencial para realizar una buena operación de eliminación de impurezas decantadas (sangrado), evitando fermentaciones y pérdidas de calidad en los aceites (Hermoso *et al.*, 1991). Los depósitos se han de construir de material inerte a fin de prevenir la incorporación de trazas metálicas a los aceites, que inician oxidaciones, pérdida de color y del atributo frutado del aceite (Angerosa y Di Giacinto, 1993).

Las condiciones de conservación son importantes, debiendo mantenerse el aceite a una temperatura adecuada, alrededor de 15 a 18 °C y sin contacto con el aire para evitar oxidaciones (Aguilera, 2006).

En la figura 2,16 se representa el proceso continuo completo de elaboración de aceite de oliva virgen, con decánter de separación de dos salidas.



**Figura 2.16.** Proceso continuo con decánter de separación de dos salidas.  
1. Silo. 2. Molino metálico. 3. Termobatidora. 4. Decánter. 5. Centrífuga Vertical.  
6. Depósitos de almacenamiento.

## 2.6. FACTORES QUE AFECTAN A LA PRESENCIA DE ANTIOXIDANTES EN EL ACEITE DE OLIVA VIRGEN

Existe una gran cantidad de factores que influyen sobre la presencia de antioxidantes en el aceite de oliva virgen, los agronómicos y los industriales o de transformación.

### 2.6.1 FACTORES AGRONÓMICOS

Los factores agronómicos inciden en la calidad del aceite de oliva ya que afectan directamente a la aceituna, primera fábrica de aceite. 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.

#### 2.6.1.1. Factores agronómicos intrínsecos

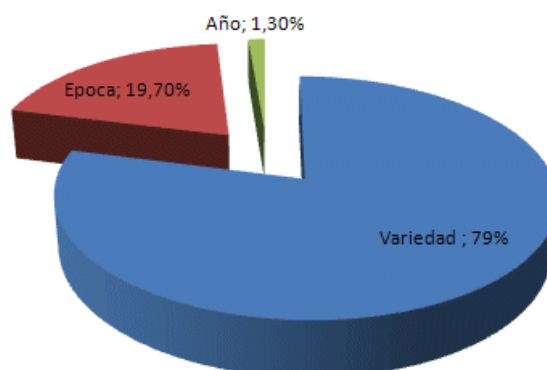
##### Variedad de aceituna

El aceite de oliva, como producto del metabolismo del olivo, está fuertemente influenciado por la variedad. Esta determina, en gran medida, su contenido en pigmentos, tocoferoles y compuestos fenólicos.

Un estudio de la fracción clorofílica y carotenoide de 9 aceites de oliva monovarietales de las principales zonas productoras de España mostró una composición de pigmentos cualitativamente semejante pero cuantitativamente diferente, por lo que se podría afirmar que la riqueza en pigmentos es inherente a la variedad (Gandul y Mínguez, 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).

El contenido en tocoferoles totales, expresados en mg/kg de  $\alpha$ -tocoferol, es de gran importancia desde el punto de vista nutricional, al ser una vitamina liposoluble, vitamina E, y un antioxidante muy potente que previene el envejecimiento celular y las enfermedades coronarias (Grande Covián, 1995; Mataix, 1988).

La variedad de aceituna es la principal fuente de modificación del contenido en tocoferoles totales, como se muestra en la figura 2.17. En esta se observa que el 79% de la variabilidad es debida al cultivar, un 19,7 % depende de la época de recolección y, sólo, el 1,3 % a la campaña oleícola (Uceda, 2009).



**Figura 2.17.** % de la variabilidad del contenido en tocoferoles

Los polifenoles, compuestos minoritarios del aceite de oliva virgen extra, tienen una gran importancia desde el punto de vista nutricional, ya que son importantes antioxidantes “in vivo” (Viola, 1991) y presentan un efecto protector frente a las enfermedades cardiovasculares y a determinados tipos de cáncer a nivel celular (Owen *et al.*; 2000). El contenido en polifenoles totales de los diferentes aceites de oliva vírgenes depende, sobretodo, de la variedad de olivar considerado. Así, la variedad que mayor contenido en polifenoles presenta es la Pajarero, con un contenido alto aunque menor que la anterior se encuentran Picual y Cornicabra y con contenido bajo se consideran variedades como Hojiblanca y Arbequina. La variedad con menor contenido en polifenoles es la Verdial de Vélez Málaga (Uceda, 2009).

Gómez-Rico *et al.*(2008), han investigado la influencia que la variedad puede ejercer sobre el contenido de los principales compuestos fenólicos. Así, estos autores han determinado, por HPLC, la concentración de los principales compuestos fenólicos de los aceites de oliva vírgenes de seis variedades de aceitunas y en dos estados de maduración.

Los compuestos más importantes de la fracción fenólica, en todas las variedades estudiadas, han sido los derivados sercoiridoides del hidroxitiroso y el tiroso pero su distribución varía entre las diferentes variedades. En las variedades Arberquina, Cornicabra, Picolimón y Picual los compuestos fenólicos más importantes son los derivados sercoiridoides del hidroxitiroso, especialmente el 3,4-DHPEA-EDA, en valores que oscilan de 105,0 mg/kg a 1113,2 mg/kg. En las variedades Morisca y Picudo los derivados sercoiridoides del tiroso son los más importantes, especialmente el p-HPEA-EDA, oscilando entre 54,8 mg/kg y 769,6 mg/kg.

### 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). Ranalli *et al.* (1997) han observado que aceites procedentes de la misma variedad y cultivados en distintas áreas geográficas presentan características significativamente diferentes respecto a la composición aromática, concentración de compuestos fenólicos y composición acídica, mostrando que la tipicidad de los aceites está definida también por la zona de producción y consecuentemente por factores climáticos y edafológicos.

#### **2.6.1.2. Factores Agronómicos Extrínsecos**

##### Maduración del fruto

A medida que el fruto madura va experimentando cambios fisiológicos, modificando su textura, color y composición, por lo que las características del aceite van a variar en función del grado de madurez en que se recojan los frutos.

A lo largo del proceso de maduración, una vez acabada la lipogénesis, o proceso de formación del aceite, se producen cambios en la composición acídica. Estos consisten en la disminución del porcentaje de ácido palmítico y el aumento del ácido linoléico. En líneas generales se mantiene el contenido en oleico, disminuyendo en consecuencia la relación monoinsaturados/poliinsaturados (Uceda *et al.*, 1980).

En cuanto al contenido en pigmentos, clorofilas y carotenoides, presentes en el aceite de oliva virgen, la principal fuente de variabilidad es el estado de maduración de los frutos. La tendencia es que se produzca un descenso en el contenido en pigmentos durante el proceso de maduración (Mínguez-Mosquera *et al.*, 1991; Gutiérrez *et al.*, 1999; Salvador *et al.*, 2001; Beltrán *et al.*, 2005).

En relación al contenido en tocoferoles totales, expresados como mg/kg en  $\alpha$ -tocoferol, desciende a lo largo de la maduración de los frutos (Gutiérrez *et al.*, 1999; Beltrán *et al.*, 2005; Gómez-Rico *et al.*, 2007; Sayago *et al.*, 2007).

Los polifenoles son compuestos polares que se disuelven parcialmente en el aceite en función de los coeficientes de reparto entre el aceite y el agua. Durante la

maduración del fruto se produce un descenso en el contenido total, así como en general, de los diferentes compuestos fenólicos individuales (Amiot *et al.*, 1989; Gutiérrez *et al.*, 1999; Brenes *et al.*, 1999; Beltrán *et al.*, 2005). Si bien, en ocasiones, dependiendo de la variedad y del año se aprecian ligeros incrementos en su concentración, como consecuencia de la pérdida de humedad en el fruto provocada por las heladas otoñales y su efecto en los coeficientes de reparto de dichos compuestos. Asimismo, se ha descrito un incremento de los compuestos fenólicos libres o simples en detrimento de los compuestos con estructuras secoiridoides y glucosidades como consecuencia de los cambios químicos y la actividad enzimática durante la maduración del fruto (Beltrán *et al.*, 2004).

Según Civantos (2009), los polifenoles totales y los compuestos volátiles van aumentando a lo largo del ciclo de maduración del fruto, presentando máximos en el momento en que el árbol ofrece la mayor cantidad de aceitunas en enero, para disminuir apreciablemente a continuación.

Brenes *et al.* (1999) identificaron y cuantificaron los polifenoles de aceites de oliva vírgenes de seis variedades (entre ellas, Hojiblanca, Picudo y Picual) cultivadas en España, estudiando su variación a lo largo de la maduración del fruto. En su trabajo encontraron dos tendencias en la variación de los polifenoles individuales con la maduración del fruto. Así, dentro del grupo de los ácidos fenólicos, ácido vanílico, ácido p-coumarico y ácido ferúlico, estos permanecían prácticamente constantes con la maduración, oscilando sus concentraciones entre 2-4 ppm. Por otra parte, los alcoholes fenólicos, tirosol e hidroxitirosol aumentaban con la maduración del fruto, y siempre la concentración del tirosol aumentaba más que la del hidroxitirosol. Estos compuestos no se encuentran libres en los frutos no maduros, ya que son consecuencia de la degradación química y enzimática de los correspondientes glucósidos, y ésta aumenta con la maduración (Amiot *et al.*, 1989).

Los dos compuestos flavonoides estudiados, luteolina y apigenina, presentes en los aceites de oliva vírgenes, mostraron una evolución opuesta. La concentración de luteolina aumentaba con la maduración del fruto, mientras que la apigenina no mostraba una tendencia definida con la maduración. Generalmente los glucósidos de los flavonoides disminuyen con la maduración (Amiot *et al.*, 1986).

Por otra parte las formas dialdehídicas del ácido elenóico unido al tirosol (p-HPEA-EDA) y al hidroxitirosol (3,4-DHPEA-EDA) y las agliconas de la oleuropeina (3,4 DHPEA-EA) y del ligustrósido (p-HPEA-EA), disminuyen sus concentraciones con la maduración del fruto, en los aceites de las variedades estudiadas (Brenes *et al.*, 1999).

Las modificaciones en el contenido de polifenoles totales inciden sobre las características sensoriales de los aceites, que tienen aromas cada vez más apagados, perdiéndose parte de su fragancia al tiempo que decae el flavor amargo, apareciendo

la sensación del flavor dulce, siempre que el fruto procesado esté sano y proceda del árbol (Uceda *et al.*, 2004).

### 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.* (2004) 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).

### 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 (*Bastrocera oleae*) origina aceites con un menor contenido en compuestos fenólicos (Zunin *et al.*, 1995).

El empleo de algunos inductores de autodefensa del olivo (*Brotomax*) parece originar un mayor contenido de compuestos fenólicos en los aceites de diferentes variedades (Boltia *et al.*, 2001).

### 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 (2001), estudió 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.

Sin embargo, Gómez-Rico *et al.* (2007) muestran que el contenido en pigmentos de los aceites, procedentes de frutos de la variedad cornicabra, no se veía influenciado por el riego.

En cuanto al contenido en  $\alpha$ -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.*, 2007; 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 Kalamata en Italia (Patumi *et al.*, 2002), Leccino en Italia (Gucci *et al.*, 2004), Arbequina en Cataluña (Tovar *et al.*, 2002), Arbequina en USA (Bereguer *et al.*, 2006) y también la variedad Picual en la provincia de Jaén (Salas *et al.*, 1997).

La diferencia observada, en la composición fenólica del aceite de oliva virgen, podría ser consecuencia de los diferentes niveles de agua existentes en los árboles bajo condiciones de secano y regadío, los cuales apuntan a cambios en la actividad de la enzima responsable de la biosíntesis de los compuestos fenólicos, tal como la *L-fenilalanina amonio liasa* (PAL), más activa en condiciones de estrés hídrico alto (Gómez-Rico *et al.*, 2006; Patumi *et al.*, 1999; Tovar *et al.*, 2002).

Los distintos grupos de compuestos fenólicos se ven afectados, en general, de forma distinta por el riego. Así las cantidades de los alcoholes fenólicos, hidroxitirosol (3,4-DHPEA) y tirosol (p-HPEA) presentes en el aceite de oliva virgen, no se ven afectadas por el riego de los árboles. Tampoco son afectados por el riego los ácidos fenólicos contenidos en el aceite, como ácido vanílico, vanillina, ácido p-coumarico, ácido ferúlico, entre otros (Tovar *et al.*, 2001; Atarjo *et al.*, 2006; Gómez-Rico *et al.*, 2006).

En contraste, sí hay diferencias considerables en las concentraciones de los fenoles complejos, derivados secoiridoides del hidroxitirosol (3,4-DHPEA-EDA; 3,4-

DHPEA-EA) y del tirosol (p-HPEA-EDA; p-HPEA-EA), presentes en las muestras de aceite de oliva virgen, en el sentido de disminuir cuando aumenta la cantidad de agua aplicada a los árboles (Tovar *et al.*, 2001; Artajo *et al.*, 2007; Gómez-Rico *et al.*, 2006; Servili *et al.*, 2007). Estos fenoles complejos no se ven afectados de la misma manera por el riego, así los derivados del hidroxitirosol disminuyen más, con la cantidad de agua añadida, que los derivados del tirosol (Gómez-Rico *et al.*, 2006). Este dato es muy importante ya que el hidroxitirosol y sus derivados tienen mayor actividad antioxidante que el tirosol y sus derivados (Baldioli *et al.*, 1996; Gennaro *et al.*, 1998).

Las flavonas, apigenina y luteolina, son otro grupo muy importante de compuestos fenólicos, la concentración de ellas es mayor en las muestra de aceite de árboles no regados que en las muestras de aceite de árboles regados (Artajo *et al.*, 2006).

La concentración de los lignanos, 1-acetoxipinoresinol y 1-pinoresinol, no se ve afectada por el riego aplicado a los arboles, no se han encontrado diferencias entre la concentración de lignanos de las muestras de aceite que proceden de árboles regados y las que preceden de árboles no regados (Servili *et al.*, 2007).

### 2.6.2. FACTORES TECNOLÓGICOS

El proceso de extracción del aceite de oliva virgen tiene una gran influencia sobre las características del aceite de oliva. Supuesto que el agricultor lleva a la almazara separados los frutos de diferente calidad, 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).

#### 2.6.2.1 Molienda del fruto

Para llevar a cabo esta etapa, se emplean en la actualidad molinos metálicos de martillos, ya descritos anteriormente. Estos molinos se alimentan por la parte central y realizan la trituración por impacto de las aceitunas sobre la criba, ésta es intercambiable en función del diámetro de los orificios, para poder conseguir diferentes grados de molienda; en la mayor parte de los molinos es móvil y gira en sentido contrario al de los martillos, con objeto de distribuir la zona de impacto, disminuir el desgaste y crear un ligero efecto de cizalla.

La velocidad de giro más usual es de 3.000 rpm, y existen modelos con capacidades de trabajo comprendidas aproximadamente entre 2.500-7.000 kg/h. Esta velocidad y debido a la fricción, suele provocar calentamientos en la pasta que oscilan entre 3-5°C, emulsiones en función del grado de humedad de las aceitunas y un ligero aumento del nivel de amargor. Para paliar en parte estos efectos se han construido molinos de martillo de doble criba y velocidad de giro de 1.500 rpm y otros en los que la criba está constituida por varillas, consiguiendo mejorar la textura, la temperatura final, ligeramente el amargor y el consumo energético.

Existe otro tipo de molino que realiza la trituración por cizalla, es el denominado triturador de discos dentados (Figura 2.18), está constituido por una cámara en cuyo interior existen dos discos verticales, en cuyas superficies enfrentadas se encuentran distribuidos en forma circular una serie de varillas, uno de los discos es fijo y el otro móvil, pudiendo desplazarse uno con respecto al otro con objeto de poder modificar el grado de molienda (Alba *et al.*, 2009).



**Figura 2.18.** Trituradores metálicos de discos dentados

La elección de las condiciones de molienda del fruto ha sido una variable encaminada a la mejora del rendimiento del proceso, pero además puede tener un efecto significativo en las características finales del aceite. La molienda es una etapa crítica en la composición final de los aceites debido a que en la trituración de los tejidos vegetales se activa la maquinaria enzimática del fruto, por lo que el aceite se pone en contacto con diversos compuestos. Así, una importante porción de compuestos fenólicos, presentes en el fruto, en forma compleja e insoluble en aceite, como consecuencia de la molienda y destrucción de las estructuras celulares y la actuación de las enzimas logran solubilizarse parcialmente en el aceite.

El tipo de molienda tiene gran efecto sobre el contenido y los compuestos fenólicos del aceite. El uso de molinos metálicos, caracterizados por una molienda más agresiva, da lugar a aceites con un contenido en fenoles más alto que los, ya en desuso, molinos de empiedros (Angerosa *et al.*, 1995; Allogio *et al.*, 1996; Caponio *et al.*, 1999). Este incremento se podría explicar por una rotura más severa de la pulpa que libera sustancias fenólicas unidas a diferentes tejidos, aumentando el contenido de polifenoles libres en la pasta. En el caso de los molinos de discos no se encuentran diferencias significativas respecto a los de martillos (Caponio y Catalano, 2001; Caponio *et al.*, 2003).

El grado de molienda, en el caso de molinos de martillos, no da lugar a diferencias significativas en los parámetros de calidad reglamentada, aunque sí se aprecia un ligero aumento de éstos en aceites extraídos con tamaño de criba más gruesos (Cert *et al.*, 1999).

Respecto de los compuestos fenólicos, en el caso de molino de martillos, un tamaño de criba menor (molienda más fina) da lugar a aceites con un contenido total de polifenoles más elevado (Solinas *et al.*, 1975) aunque otros autores no han encontrado diferencias (Cert *et al.*, 1999).

Al aumentar la velocidad relativa de giro de los martillos de un molino metálico, se produce un incremento de los compuestos fenólicos, en general, y de los compuestos relacionados con el atributo amargo (Di Giovacchino *et al.*, 2002) independientemente del estado de madurez del frutos utilizado.

### **2.6.2.2 Batido de la pasta de aceituna**

En el fruto, el aceite se encuentra fundamentalmente en la pulpa (90%) y el resto en la semilla. Alrededor del 80% del aceite que se encuentra contenido en las vacuolas de las células de la pulpa de la aceituna puede ser extraído, en función del sistema de elaboración y de las variables de operación empleadas. El resto del aceite (10%) se encuentra disperso en el citoplasma en forma de microgeles y, por tanto, resulta difícil de recuperar. Con objeto de romper las películas interfaciales, la pasta de aceituna se bate lentamente permitiendo la rotura de las emulsiones y la aparición del aceite libre.

La eficacia del batido de la pasta depende fundamentalmente de las características reológicas de la pasta y de las condiciones de batido de la misma: tiempo, temperatura y adición de coadyuvantes tecnológicos (Aguilera *et al.*, 2010).

Se ha evidenciado que, en general, un aumento de la temperatura de batido favorece la disolución de los compuestos fenólicos de la pasta en el aceite, mientras que un aumento en el tiempo de batido, implica una disminución del contenido en polifenoles, independientemente de la temperatura de batido, debido probablemente a

la intervención de la *fenoloxidas* que cataliza la oxidación de los polifenoles a quinonas y después a polímeros (Solinas *et al.*, 1978; Jiménez *et al.*, 1995).

Parece ser que la temperatura y el tiempo de batido afectan de diferente manera a los distintos compuestos fenólicos individuales. Gómez-Rico *et al.* (2009) demuestran, respecto al contenido de compuestos secoiridoides, una disminución de la oleuropeína con el tiempo de batido, debido probablemente a la actividad de la  $\beta$ -*glucosidasa* durante el batido de la pasta. Hecho que también ha sido indicado por Ranalli *et al.*, (2003) y Artajo *et al.* (2006).

El mayor compuesto fenólico encontrado en la pasta de aceituna durante la fase de batido es el 3,4-DHPEA-EDA, forma dialdehídica del ácido elenólico unida al hidroxitirosol, cuyo contenido representa el 60% del total de polifenoles en la pasta de aceituna. La concentración de éste compuesto disminuye con el tiempo de batido, a 28°C de temperatura (Gómez-Rico *et al.*, 2009), debido probablemente al aumento de la actividad oxidativa de las enzimas, tales como *polifenil-oxidasas* (PPO), *peroxidasas* (POD) o *lipoxigenasas* (LOX) (Servili *et al.*, 2000).

En contraste, el resto de los derivados secoiridoides encontrados en la pasta de aceitunas, lo son en menor proporción, el 3,4-DHPEA-EA con el 7,6 % de los polifenoles totales, el p-HPEA-EDA con el 11,6 % de los fenoles totales y el p-HPEA-EA con el 0,8 %; no muestran una clara tendencia con el tiempo de batido, con la excepción del 3,4-DHPEA-EA que disminuye un poco. La concentración del verbascosido y flavonoides, tales como luteolina-7-o-glucósido y apigenina-7-o-glucósido, apenas cambian con el tiempo durante el batido (Gómez-Rico *et al.*, 2009). Artajo *et al.* (2006) coinciden con este resultado.

Gómez-Rico *et al.* (2009) también ha estudiado el efecto de la temperatura de batido sobre la composición de los compuestos fenólicos en las pasta de aceitunas. El contenido en oleuropeína y los derivados secoiridoides del hidroxitirosol (3,4-DHPEA-EDA y 3,4-DHPEA-EA) disminuyen significativamente con la temperatura, sin embargo el p-HPEA-EDA muestra una tendencia opuesta bajo las mismas condiciones de batido. Este hecho confirma la considerable degradación oxidativa por presencia de oxígeno en el batido, tanto química como enzimática, de los compuestos que presentan un grupo orto-difenol en su estructura, debido a la actividad de las *lipoxigenasas* (LOX) (Ranalli *et al.*, 2003) y *polifenil-oxidasas*, que poseen más afinidad por los grupos orto-difenoles que por los monofenoles, (Toscano *et al.*, 2003). La concentración de verbascósido y los flavonoides no se ven afectados por la temperatura durante el batido.

Gómez-Rico *et al.* (2009) han determinado que los derivados secoiridoides del hidroxitirosol y tirosol aumentan significativamente con la temperatura, de 20-40°C, en particular, el 3,4-DHPEA-EDA. Esto puede ser debido a un aumento en el coeficiente de reparto de los compuestos fenólicos entre el aceite y la fase acuosa de la pasta de aceituna (Rodis *et al.*, 2002). Otros investigadores han encontrado una tendencia

similar (Ranalli *et al.*, 2001; Di Giovacchino *et al.*, 1991). En contraste, otros estudios han informado de una disminución del contenido en polifenoles del aceite, cuando aumentaba la temperatura de la pasta de aceitunas (Angerosa *et al.*, 2001; Servili *et al.*, 1994).

Por otra parte, cuando el tiempo de batido aumenta, hay una pequeña disminución de los derivados secoiridoides del hidroxitirosol, alrededor del 5 %, mientras que los derivados del tirosol aumentan entre el 15 al 20% (Di Giovacchino *et al.*, 2002; Angerosa *et al.*, 2001; Lercker *et al.*, 1999).

Parece ser, que el contenido en polifenoles del aceite de oliva virgen, se ve más afectado por la temperatura de batido que por el tiempo (Gómez-Rico *et al.*, 2009).

En cuanto a los pigmentos presentes en el AOV en general, hay un incremento de la concentración de clorofilas al aumentar la temperatura de batido de la pasta (Parenti *et al.*, 2008). Resultado acorde con lo informado por Ranalli *et al.* (2001).

### 2.6.2.3 Separación de las fases sólida-líquida

El método moderno separa las diferentes fases de la pasta en función de sus densidades, aplicando la fuerza centrífuga que se genera en el interior del decánter. Así, se logra la separación de sus tres componentes orujo, alpechín y aceite. Si se añade agua y el decánter tiene tres salidas, una para cada fracción, se denomina centrifugación de tres fases. Si no se añade agua y el decánter dispone sólo de dos salidas es de dos fases. El empleo de uno u otro sistema afecta en gran medida al contenido en compuestos fenólicos del aceite final. El hecho de añadir agua al decánter parece tener una gran influencia sobre la difusión de estas sustancias desde el medio oleoso al acuoso. Así, los primeros estudios sobre el empleo de la centrifugación de dos fases indicaron que los aceites así obtenidos tenían una mayor concentración en polifenoles que los aceites obtenidos por el sistemas de tres fases (Jiménez *et al.*, 1995). Estudios posteriores confirmaron esta afirmación (Piacquadio *et al.*, 1998; Cert *et al.*, 1999; Salvador *et al.*, 2003) entre otros.

El sistema de extracción, dos o tres fases, también afecta a la cantidad de tocoferoles y pigmentos presentes en el aceite de oliva. El sistema de dos fases da lugar a una mayor concentración de estos compuestos en el aceite (Salvador *et al.*, 2003).

En cuanto a cómo afecta a la concentración de polifenoles individuales el sistema de extracción, de dos y tres fases, parece que los estudios son escasos y poco completos, aun así, De Stefano *et al.* (1999) estudiaron esta influencia utilizando dos variedades italianas de aceitunas, coratina y oliarola. La concentración de los distintos compuestos fenólicos se determinó por HPLC, utilizando el método propuesto por Montedoro *et al.* (1992). En ambas variedades, la concentración de los ácidos

fenólicos vanílicos y cafeico eran mayores en las muestras de aceite extraídas por el sistema de dos fases, que las obtenidas por el sistema de tres fases. El mismo comportamiento tenían los alcoholes fenólicos, hidroxitirosol y tirosol y también los derivados secoiridoides del hidroxitirosol y tirosol, 3,4-DHPEA-EDA; p-HPEA-EDA; 3,4-DHPEA-EA, cuya concentración era mayor en los aceites obtenidos por el sistema de dos fases que los obtenidos por el sistema de tres fases.

#### **2.6.2.4 Separación líquido-líquido**

El aceite del decánter va acompañado de sólidos, impurezas y cierta cantidad de agua. Para el lavado del aceite se emplean las centrifugas verticales en las que se alimenta, además del aceite, una cierta cantidad de agua templada (35-40 °C); existen pocos estudios sobre el efecto que esta práctica tiene sobre el contenido fenólico de los aceites, aunque en general se ha observado una reducción de su contenido, debido a la difusión de dichos compuestos desde la fase oleosa a la acuosa (Jiménez *et al.*, 1995). Asimismo, la temperatura del agua también influye ligeramente sobre dicha extracción, un aumento de la temperatura desde 35 a 45°C puede significar una pérdida importante de polifenoles en el aceite (Jiménez *et al.*, 1995; Cert *et al.*, 1999).

#### **2.6.2.5 Almacenamiento**

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 (Spugnoli *et al.*, 1998; 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.*, 2002), o bien aumentan durante cierto tiempo y después disminuyen (Montedoro *et al.*, 1992; Cinquanta *et al.*, 1997; Cinquanta *et al.*, 2001).

En cuanto al contenido en tocoferoles, largos periodos de almacenamiento hacen disminuir la cantidad de  $\alpha$ -tocoferol presente en el aceite de oliva virgen (Psomiadou *et al.*, 2000; Deiana *et al.*, 2002).



### **3. OBJETIVOS**

---



El aceite de oliva virgen es un aceite comestible obtenido exclusivamente mediante el uso de medios físicos, presentando unas características nutricionales y sensoriales que permiten diferenciarlo del resto.

Entre los compuestos con interés nutricional, en los aceites, se encuentran los polifenoles, los tocoferoles y los pigmentos fotosintéticos (clorofilas y carotenoides). Todos ellos tienen una propiedad común, el ser antioxidantes, y por tanto le confieren al aceite de oliva virgen una capacidad antioxidante que lo hace único entre los aceites vegetales.

Los antioxidantes presentes en el aceite de oliva virgen dependen de factores agronómicos y tecnológicos. De entre los factores agronómicos destacan, el tipo de cultivo y el índice de madurez de los frutos. Respecto al tipo de cultivo, el contenido en polifenoles es siempre superior en los aceites procedentes del secano, hecho que se confirma en los distintos estudios realizados en el mundo. Respecto a los cultivos de riego, se ha comprobado que el contenido en polifenoles aumenta significativamente al reducirse la cantidad de agua de riego aportada. Esto tiene una gran importancia porque si se maneja adecuadamente el riego, y el estrés hídrico, se pueden conseguir los atributos deseados para cada una de las diferentes variedades de aceituna.

En cuanto al índice de madurez de las aceitunas se deduce, por los estudios realizados, que los polifenoles aumentan a medida que avanza maduración, hasta un valor máximo, próximo al envero de los frutos, para posteriormente disminuir. Por lo que, para obtener aceites de oliva virgen con alto contenido en polifenoles se debería llevar a cabo una recolección temprana, además de evitar la caída natural del fruto y su efecto negativo sobre la calidad. En el caso de la variedad Picual (variedad estudiada en esta Tesis) una recolección temprana daría lugar a aceites más verdes y amargos.

Dado que en el proceso de elaboración del aceite de oliva virgen la etapa principal y más importante, desde el punto de vista de la calidad del aceite, es el batido de las pastas; las variables de operación, o factores tecnológicos, que influyen en el contenido en antioxidantes del aceite de oliva virgen son, la temperatura y el tiempo de batido y la dosis de coadyuvante empleada (talco), además de la criba del molino que regula la molturación de las aceitunas.

El objetivo principal de la presente Memoria de Tesis es el estudio de la influencia de las variables de operación sobre el rendimiento de extracción de aceites de oliva, en la evolución de la calidad de estos y en el contenido en antioxidantes que los aceites tienen disueltos. Para ello se ha empleado aceituna de la variedad Picual, una de las variedades principales con mayor contenido en antioxidantes, en diferentes estados de maduración, de cultivos de secano y regadío.

Para ello se ha empleado la metodología del diseño estadístico de experimentos aplicada a los tres factores tecnológicos de tipo numérico, temperatura y tiempo de batido de las pastas y dosis de coadyuvante, y al de tipo categórico, criba del molino. Con esta metodología se obtienen modelos matemáticos que predicen la evolución de la respuesta (variable objeto de estudio) con la variación de los factores, por lo que mediante el modelo se pueden predecir diferentes respuestas para distintos valores prefijados de los factores, sin tener que coincidir estos con los experimentales.

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

---



#### 4.1. MATERIAL VEGETAL

Se han utilizado sólo aceitunas de la variedad “*Picual*” recogidas directamente del árbol, en diferentes estados de maduración, a lo largo de 3 campañas oleícolas, comprendidas entre los años 2007 al 2010.

Se seleccionaron árboles de más de 35 años de edad, dispuestos en un marco de plantación de 7x7 m, en número suficiente para obtener la cantidad de aceituna necesaria, en las distintas épocas de maduración, a lo largo de cada campaña. Los árboles son cultivados en la finca experimental de la Estación de Olivicultura y Elaiotecnia C.I.F.A. “Venta del Llano” en Mengíbar (Jaén), sobre un suelo de tipo inceptisol, desarrollado sobre margas, areniscas y calizas del Oligoceno y Mioceno. Su textura es franco-arcillosa y presenta una profundidad media entre 90 y 200 cm. La composición media de este suelo se describe en la tabla 4.1 (Aguilera, 2006).

**Tabla 4.1.** Composición media del suelo de la Finca Experimental de la Estación de Olivicultura y Elaiotecnia

Parámetros	Valor
Arena (USDA) %	26,60
Limo (USDA) %	35,50
Arcilla (USDA) %	38,00
Clase textura	Franco-Arcillosa
pH en agua	8,70
Materia Orgánica (%)	1,38
Carbono orgánico (%)	0,81
Fósforo disponible, método Olsen (ppm)	44,80
Potasio disponible, método del NH <sub>4</sub> Ac (ppm)	594,13
Sodio disponible, método del NH <sub>4</sub> Ac (ppm)	219,60
Magnesio disponible, método del NH <sub>4</sub> Ac (ppm)	320,80
Calcio disponible, método del NH <sub>4</sub> Ac (ppm)	6478,20
Relación C/N	9,37
Nitrógeno total (ppm)	881,01
Nitrógeno orgánico (%)	0,09
Nitrógeno inorgánico (ppm)	25,74
Nitrógeno, en forma de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (ppm)	20,05
Nitrógeno, en forma de NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (ppm)	0,41
Nitrógeno, en forma de NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (ppm)	5,28
Carbonatos (%)	39,68
C.I.C. (meq/100g)	21,20

Se ha estudiado la obtención de aceites, y sus propiedades, tanto para olivar de secano como de regadío. Para ello, se han seleccionado los mismos árboles, de la variedad “*Picual*”, para cada tipo de cultivo, realizado este según los métodos tradicionales en condiciones de secano y de regadío.

La variedad “*Picual*” es la de mayor superficie de cultivo en España, unas 700.000 ha, de las cuales, aproximadamente 530.000 ha, están en la provincia de Jaén. Se trata de una variedad muy vigorosa, precoz en entrada en producción y que no suele presentar vecería importante. Se considera una variedad de maduración media y con buena adaptación a la mecanización por el tamaño que presenta el fruto y su baja resistencia al desprendimiento. El contenido graso del fruto se define como alto, caracterizándose por una extractabilidad elevada. Presenta buena adaptación a diferentes suelos y climas, sin embargo, se considera sensible a la sequía y a los suelos cálidos.

### 4.1.1. TOMA DE MUESTRA

El sistema de recogida de muestras de aceitunas se ha realizado siguiendo el método propuesto por Rodríguez de la Borbolla *et al.* (1955), según el cual los frutos se recolectan a la altura del operador, manualmente, en las cuatro orientaciones del árbol y evitando los frutos del interior del mismo. La cantidad de cada muestra ha oscilado entre 15 y 25 kilogramos, dependiendo del desarrollo experimental previsto.

Las aceitunas recolectadas se han trasladado rápidamente al laboratorio donde se han estudiado y procesado según el plan de trabajo previsto.

### 4.1.2. TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE LAS ACEITUNAS

Las muestras de aceituna se transportan al laboratorio en cajas, de cartón o de plástico, de poca altura, para no dañarlas. Se limpian de hojas y de ramas, se homogenizan y se les determina el índice de madurez. Posteriormente, hasta proceder a ejecutar el diseño experimental, se introducen en un recipiente hermético e impermeable en el frigorífico, para evitar la variación de humedad. En ningún caso las muestras se han lavado ni han permanecido más de 48 horas conservadas en el frigorífico.

### 4.1.3. CARACTERIZACIÓN DE LAS MUESTRAS DE ACEITUNAS

#### 4.1.3.1. Índice de madurez

Se realiza siguiendo el método de Uceda y Frías (1985), basado en el cambio de color, por pigmentación, de la piel y de la pulpa (mesocarpio) durante el proceso de maduración.

De la muestra de campo, limpia y homogeneizada, se toman 100 frutos al azar y se clasifican en cada una de las categorías o clases mostradas en la Tabla 4.2 en función del color de la piel o del mesocarpio. Para determinar el color de la pulpa ha de hacerse un corte limpio, perpendicular al hueso, y retirar la pulpa, observando en ella la profundidad de la pigmentación.

**Tabla 4.2.** Categorías o clases de frutos según su pigmentación

Categoría o clase	Color de la piel / pulpa
0	Piel verde intenso
1	Piel verde amarillento
2	Piel verde con manchas rojizas en menos de la mitad del fruto
3	Piel rojiza o morada en más de la mitad del fruto. Final del envero
4	Piel negra y pulpa blanca
5	Piel negra y pulpa morada sin llegar a la mitad de la pulpa
6	Piel negra y pulpa morada sin llegar al hueso
7	Piel negra y pulpa morada totalmente hasta el hueso

Se define el índice de madurez (IM) como la suma de los productos del número de frutos distribuidos en cada clase por el valor numérico de esa clase o categoría, dividido por el número total de frutos clasificados (Ecuación 4.1).

$$IM = \frac{a \cdot 0 + b \cdot 1 + c \cdot 2 + d \cdot 3 + e \cdot 4 + f \cdot 5 + g \cdot 6 + h \cdot 7}{100} \quad (4.1)$$

Siendo: a, b, c, d, e, f, g, h el número de frutos de la clase o categoría 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 respectivamente.

Según la Ecuación 4.1, el valor del índice de madurez oscilará entre un mínimo de 0 y un máximo de 7.

#### **4.1.3.2. Humedad y materias volátiles de las pastas de aceituna y orujos**

Tanto las muestras de pasta de aceituna como de orujo se han pesado, en granatario, sobre placa de vidrio, con una precisión de 0,01 g, y se han secado a 105 °C en estufa con circulación forzada hasta pesada constante, durante un tiempo mínimo de 24 horas. Esta temperatura permite eliminar humedad y materias volátiles de las muestras, que pueden ser determinadas por diferencia de pesada según la Ecuación 4.2:

$$H = \frac{m_h - m_s}{m_h} \cdot 100 \quad (4.2)$$

Siendo: H, humedad de la pasta (%)

$m_h$ , masa de la muestra húmeda (g)

$m_s$ , masa de la muestra seca (g)

#### **4.1.3.3. Contenido graso de las pastas de aceituna y orujos**

Para la determinación del contenido graso de las pastas de aceituna y de los orujos se ha seguido el método Soxhlet (Reglamento CEE 2568/91, Anexo XV), partiendo de la pasta y del orujo previamente desecados. El fundamento de este procedimiento se basa en poner en contacto el sólido portador con un disolvente del soluto a extraer. Se emplea hexano como disolvente extractor, el cual se retira por evaporación de la miscela oleosa, y se introduce el matraz con el aceite en la estufa de secado, para retirar cualquier resto de disolvente y de humedad que pudiera arrastrar.

El equipo utilizado ha sido una batería extractora de 6 plazas (Selecta 400842 DET GRAS, para la determinación de grasas en alimentos y otras materias).

Para determinar el contenido en aceite, expresado como tanto por ciento en base seca, se ha empleado la Ecuación 4.3.

$$R_s = \frac{m_a}{m_s} 100 \quad (4.3)$$

Siendo:  $R_s$ , contenido graso en base seca (%)

$m_a$ , masa de aceite extraído (g)

$m_s$ , masa de la muestra seca (g)

## 4.2. COADYUVANTES TECNOLÓGICOS

En la presente Tesis se ha utilizado talco, de la marca Talcoliva®, como único coadyuvante tecnológico. En la Figura 4.1 se muestra la ficha técnica con las características físicas y granulométricas, más el análisis químico, de este coadyuvante.



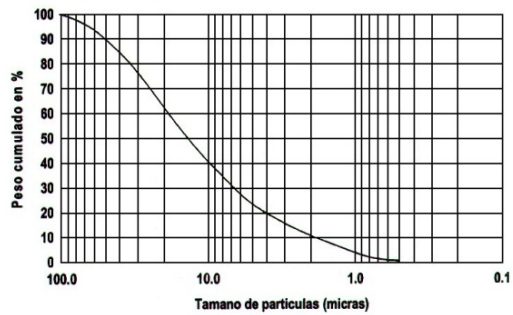
Luzenac Europe - Tel. +33 5 61 50 20 20 - Fax: +33 5 61 40 06 23 - communication@europe.luzenac.com - www.luzenac.com

**FICHA TECNICA**

**TALCOLIVA®**

**GRANULOMETRÍA** Sedigraph 5100  
  
d50 = 12.1 µm

Análisis granulométrico



**ANALISIS QUIMICO** Fluorescencia de rayos X

SiO<sub>2</sub> .....45 %  
MgO .....27 %  
Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> .....8.7 %  
Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> .....7.3 %  
CaO .....1.1 %

**CARACTERISTICAS FISICAS** ISO 787/10  
ISO 787/11  
EN 1097/3  
BET  
ISO 787/2  
ISO 787/9  
ISO 787/5

Densidad .....2.78 g/cm<sup>3</sup>  
Densidad aparente comprimida .....1.10 g/cm<sup>3</sup>  
Densidad aparente no comprimida .....0.60 g/cm<sup>3</sup>  
Superficie especifica .....6 m<sup>2</sup>/g  
Humedad (105° C) .....< 0.5 %  
pH .....9  
Absorción de aceite .....30 ml/100 g

FOOD/LSET/SP/30-09-02

Los datos reflejados en esta ficha técnica representan valores medios estadísticos, y no deben ser considerados como garantía contractual.

A member of the Rio Tinto Group

**Figura 4.1.** Ficha técnica del talco Talcoliva®

### 4.3. EXTRACCIÓN DE LOS ACEITES: ABENCOR

La extracción del aceite para los ensayos de laboratorio se ha realizado mediante el empleo del analizador de rendimientos Abencor (Martínez *et al.*, 1975). El analizador Abencor es una reproducción a escala de laboratorio del sistema de elaboración de aceites por centrifugación, el cual se efectúa con centrifugas verticales de las denominadas de *cesta*. Consta de 3 elementos fundamentales: molino (Figura 4.2), termobatidora (Figura 4,3) y centrifuga vertical (Figura 4.4) para pasta de aceituna, además de una serie de elementos auxiliares.



**Figura 4.2.** Molino

El fruto se tritura mediante un molino de martillos (Figura 4.2) con criba, cuerpo y martillos de acero inoxidable, accionado por un motor de 2 CV a 3000 rpm. De la pasta resultante, una vez homogeneizada, se toman muestras de 500 g que, introducidos en cazos de acero inoxidable, se someten a batido en la termobatidora (Figura 4.3) que emplea agua como líquido calefactor.



**Figura 4.3.** Termobatidora

Transcurrido el tiempo de batido prefijado, la totalidad de la pasta batida se pasa a la centrífuga vertical (Figura 4.4), modelo de cesta de acero inoxidable, y se centrifuga a 3500 rpm durante 180 s. Se recoge el mosto oleoso, por el orificio inferior de salida de líquidos, en una probeta graduada de capacidad adecuada. Se adicionan 100 cm<sup>3</sup> de agua caliente a la centrífuga y se efectúa una segunda centrifugación durante 180 s. El mosto resultante se recoge en la misma probeta. Para finalizar, se toma una muestra del orujo que queda en la centrífuga en una placa de vidrio, se seca y se le determina su contenido graso.



**Figura 4.4.** Centrífuga

La mezcla recogida en la probeta se deja decantar, al menos, 180 minutos, tras los cuales se determina, por lectura directa, la cantidad de aceite obtenido. Según

Martínez *et al.* (1975) el rendimiento de la extracción se podría calcular relacionando el volumen de aceite obtenido con la masa inicial de la pasta de aceituna empleada, de acuerdo con la ecuación:

$$R = \frac{V_a \cdot \rho}{m_p} 100 \quad (4.4)$$

Siendo: R, rendimiento de la extracción de aceite (%)

$V_a$ , volumen de aceite obtenido ( $\text{cm}^3$ )

$\rho$ , densidad del aceite ( $0,915 \text{ g/cm}^3$ )

$m_p$ , masa de pasta de aceituna (g)

Debido a que las medidas gravimétricas son más precisas que las volumétricas y que la densidad del aceite varía con la temperatura y la variedad de aceituna, en esta Tesis no se ha utilizado la Ecuación 4.4 para hallar el rendimiento de extracción, sino que se ha determinado por diferencia entre el contenido graso de las pastas de aceituna ( $R_s$ ) y el de los orujos obtenidos de las mismas, previa transformación de estos últimos para que indiquen el aceite que contiene la misma cantidad de sólidos que la pasta de aceituna inicial.

Los aceites obtenidos se han filtrado con papel jarabe para eliminar los restos sólidos y de humedad que aún le acompañan, se han guardado en frascos de cristal tapado en atmósfera inerte de nitrógeno y se han congelado a  $-18^\circ\text{C}$  hasta la realización de las correspondientes determinaciones analíticas.

## 4.4. ANÁLISIS DE ACEITES

### 4.4.1. ACIDEZ LIBRE

Por acidez libre, también denominada grado de acidez, se consideran los gramos de ácidos grasos libres, expresados como ácido oleico, presentes en 100 gramos de muestra seca, por lo que se expresa como el porcentaje de ácido oleico libre.

La determinación se lleva a cabo según el método oficial de la Unión Europea descrito en el Anexo II del Reglamento CEE 2568/91, en el que se realiza una valoración ácido-base de la muestra de aceite disuelta en una mezcla de disolventes

no acuosos, mediante una disolución etanólica de hidróxido potásico y empleando fenolftaleína como indicador.

Se pesan  $5,00 \pm 0,01$  g de aceite, previamente filtrado, en un matraz erlenmeyer de  $250 \text{ cm}^3$ , se disuelven con  $50 \text{ cm}^3$  de una mezcla de alcohol etílico-éter etílico (1:1 v/v) y se valora con potasa alcohólica 0,1 N hasta viraje del indicador fenolftaleína añadido (5-6 gotas). La acidez de esta disolución oleosa se valora con la misma base (para acideces inferiores a 2), agitando continuamente hasta viraje del indicador hacia una coloración rosa, persistente durante unos segundos. Para calcular el grado de acidez se emplea la ecuación:

$$A = \frac{V \cdot c \cdot M}{10 \cdot m_a} \quad (4.5)$$

Siendo: A, acidez (% de ácido oleico)

V, volumen gastado de la disolución de hidróxido potásico ( $\text{cm}^3$ )

c, concentración exacta de la disolución de hidróxido potásico (mol/L)

M, peso molecular del ácido oleico (282 g/mol)

$m_a$ , masa de la muestra de aceite (g)

### 4.4.2. ÍNDICE DE PERÓXIDOS

El índice de peróxidos valora el estado de oxidación inicial de un aceite y hace referencia a la cantidad (expresada en miliequivalentes de oxígeno activo por kilogramo de grasa) de hidroperóxidos presentes en la muestra analizada. Los hidroperóxidos oxidan el yoduro potásico en las condiciones de trabajo descritas en el Anexo III del Reglamento CEE 2568/91 de la Unión Europea. Su determinación se realiza mediante una iodometría por retroceso, en la que la muestra disuelta en un disolvente orgánico es tratada con yoduro potásico en exceso, valorándose el yodo liberado con tiosulfato sódico en presencia de almidón como indicador.

El procedimiento experimental es el siguiente: se pesan  $1,50 \pm 0,01$ g de aceite filtrado en un erlenmeyer de  $250 \text{ cm}^3$  con tapón esmerilado, se disuelve en  $25 \text{ cm}^3$  de una mezcla de ácido acético-cloroformo (15:10 v/v), se añade  $1 \text{ cm}^3$  de disolución saturada de yoduro potásico, se agita durante un minuto y se deja en reposo y en oscuridad durante 5 minutos. Transcurrido este tiempo se añaden  $75 \text{ cm}^3$  de agua destilada, se agita vigorosamente y se valora con disolución de tiosulfato sódico 0,1 N

en presencia de almidón, como indicador, hasta el cambio de color violáceo a blanco sucio. Debe realizarse una prueba en blanco, sin aceite, siguiendo el mismo procedimiento.

El índice de peróxidos se calcula mediante la ecuación:

$$IP = \frac{(V - V_0) \cdot N \cdot 1000}{m_a} \quad (4.6)$$

Siendo: IP, índice de peróxidos (mEq de oxígeno activo / kg de aceite)

V, volumen de la disolución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  empleado en el ensayo ( $\text{cm}^3$ )

$V_0$ , volumen de la disolución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  empleado en el blanco ( $\text{cm}^3$ )

N, normalidad exacta de la disolución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

$m_a$ , masa de la muestra de aceite (g)

#### 4.4.3. ABSORCIÓN EN EL ULTRAVIOLETA: $K_{270}$ , $K_{232}$ , $\Delta K$

Las determinaciones se han realizado según el método oficial de la Unión Europea, recogido en el Anexo IX del Reglamento CEE 2568/91. Este método se basa en medidas de absorción, en las longitudes de onda indicadas en el mismo, expresadas como extinción específica (extinción en una disolución de materia grasa al 1 % (p/v) en el disolvente determinado y espesor de 1 cm), convencionalmente K, también llamado coeficiente de extinción.

La prueba espectrofotométrica en el ultravioleta puede proporcionar indicaciones sobre la calidad del aceite, su estado de conservación y las modificaciones inducidas por los procesos tecnológicos.

El procedimiento operatorio es el siguiente: se pesa  $0,100 \pm 0,001$  g de aceite filtrado en un matraz de  $10 \text{ cm}^3$ , se enrasa con ciclohexano, se tapa y se agita hasta la total disolución del aceite. Se llenan dos cubetas de 1 cm de paso: una, con el disolvente solo (ciclohexano), cubeta de referencia; otra, con la disolución de muestra y se mide la absorbancia en el espectrofotómetro (Perkin-Elmer, Lambda 5 UV/VIS Spectrophotometer) a las longitudes de onda de 270 y 232 nm.

Las lecturas de absorbancia deben estar comprendidas entre 0,200 y 0,800; en caso de situarse fuera de estos límites, debe repetirse la medida bien diluyendo en la relación conveniente o procediendo a una nueva pesada.

Los valores de absorbancia se expresan como extinción específica, o coeficiente de extinción, a las diversas longitudes de onda de la forma siguiente:

$$K_{\lambda} = \frac{A_{\lambda}}{e \cdot c_a} \quad (4.7)$$

Siendo:  $K_{\lambda}$ , extinción específica a la longitud de onda ( $\lambda = 270 \text{ nm}, 232 \text{ nm}$ )

$A_{\lambda}$ , absorbancia o extinción medida a la longitud de onda (270nm, 232 nm)

$e$ , paso de luz de la cubeta (cm)

$c_a$ , concentración de la disolución de aceite (g / 100 cm<sup>3</sup>)

Según el método oficial, la prueba espectrofotométrica del aceite de oliva requiere la determinación de  $\Delta K$  definido como:

$$\Delta K = K_m - \frac{K_{m-4} + K_{m+4}}{2} \quad (4.8)$$

Siendo:  $K_m$ , extinción específica a la longitud de onda  $m$

$m$ , longitud de onda de máxima absorbancia (270 nm)

#### 4.4.4. PIGMENTOS FOTOSINTÉTICOS

La valoración global del contenido en pigmentos clorofílicos y carotenoides se ha realizado siguiendo el método propuesto por Mínguez *et al.* (1991). Éste consiste en determinar la absorbancia de una disolución de aceite de oliva, en ciclohexano, a la longitud de onda de máxima absorción del componente mayoritario, para la fracción clorofílica (feofitina  $\alpha$ ) y para la carotenoide (luteolina).

Se pesan  $3,000 \pm 0,001$  g de aceite filtrado en un matraz aforado de 10 cm<sup>3</sup>, se enrasa con ciclohexano, se tapa y se agita, con lo que se disuelve el aceite y se

homogeneiza la disolución. Se llenan dos cubetas de 1 cm de paso, una con el disolvente solo y otra con muestra de la disolución. Se mide la absorbancia en el espectrofotómetro (Perkin-Elmer, Lambda 5 UV/VIS Spectrophotometer) a la longitud de onda de 670 nm, para la determinación de los pigmentos clorofílicos, y a 470 nm para los pigmentos carotenoides, utilizando ciclohexano como referencia.

El contenido en pigmentos clorofílicos y carotenoides totales se realiza mediante la ecuación:

$$c_p = \frac{A_\lambda \cdot V_f}{\epsilon_{1\%} \cdot m_a} 10000 \quad (4.9)$$

Siendo:  $c_p$  concentración de pigmento en la muestra (mg de pigmento / kg de aceite)

$A_\lambda$ , absorbancia a 670 nm (clorofilas) y a 470 nm (carotenoides)

$\epsilon_{1\%}$ , absorbancia específica de una disolución al 1 % (p/v) medida en celda de 1 cm de paso

$\epsilon_i$  (feofitina  $\alpha$ ): 613

$\epsilon_i$  (luteolina): 2000

$m_a$ , masa de la muestra de aceite (g)

$V_f$ , volumen final de la disolución de pigmentos (10 cm<sup>3</sup>)

#### 4.4.5. POLIFENOLES TOTALES

Para la determinación del contenido en polifenoles totales en el aceite de oliva se ha empleado el método descrito por Vázquez *et al.* (1973).

Se pesan  $10,00 \pm 0,01$  g de aceite filtrado y se disuelven en 50 cm<sup>3</sup> de hexano. Se realiza una extracción líquido-líquido por contacto repetido, en embudo de decantación, utilizando tres volúmenes de 20 cm<sup>3</sup> de metanol-agua (60:40). Para cada contacto, se agita la mezcla durante 2 minutos en el agitador orbital (Selecta, Rotabit). Los tres extractos se recogen en un matraz aforado de 100 cm<sup>3</sup> y, finalmente, se enrasa con agua bidestilada.

En un matraz aforado de 50 cm<sup>3</sup> se colocan 5 cm<sup>3</sup> del extracto metanólico, 35 cm<sup>3</sup> de agua destilada y 2,5 cm<sup>3</sup> de reactivo de Folin-Ciocalteu (mezcla de ácido

fosfomolibdico y fosfowolfrámico), se agita y se deja en reposo 3 minutos, para que se inicie la reacción en la que los polifenoles reducen al reactivo a óxidos azules de molibdeno y wolframio, se adicionan 5 cm<sup>3</sup> de una disolución saturada de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> para crear medio básico, se enrasa con agua bidestilada y se agita con la finalidad de homogeneizar la mezcla. Se deja reposar durante 60 minutos para que termine la reacción y se mide la absorbancia de la disolución (Perkin-Elmer, Lambda 5 UV/VIS Spectrophotometer) a la longitud de onda de 725 nm en cubetas de 1 cm de paso de luz. Como blanco se emplea una disolución preparada de forma idéntica, pero sin añadir el extracto de polifenoles.

En cuanto a su cuantificación, se realiza una curva patrón, procediendo de igual forma que en el método, pero sustituyendo el extracto de polifenoles por disoluciones de ácido cafeico de concentración conocida. Para la curva patrón se han empleado concentraciones de ácido cafeico comprendidas entre 0,5 y 10 mg por litro de disolución, preparadas en matraces aforados de 50 cm<sup>3</sup>. Los resultados se expresan, por tanto, en mg de ácido cafeico por kg de aceite.

#### 4.4.6. CONTENIDO EN ORTODIFENOLES

Para la determinación del contenido en ortodifenoles se ha empleado el método descrito por Vázquez-Roncero *et al.* (1973).

Del extracto metanólico utilizado para la determinación de polifenoles totales, se toman 5 cm<sup>3</sup> del extracto, a los que se añade 1 cm<sup>3</sup> de molibdato sódico al 5% en etanol al 50 %. Paralelamente se prepara un blanco tomando otros 5 cm<sup>3</sup> del extracto y añadiéndole 1 cm<sup>3</sup> de etanol al 50 % en agua bidestilada. Se agitan muestra y blanco en vortex durante dos minutos y se deja reposar durante 15 minutos. Transcurrido este tiempo se mide la absorbancia a 370 nm, empleando para ello un espectrofotómetro Perkin-Elmer Lambda 5UV/VIS.

La cuantificación se ha llevado a cabo mediante rectas de calibrado y los resultados se expresan en mg/kg de ácido cafeico.

#### 4.4.7. PERFIL CROMATOGRÁFICO DE TOCOFEROLES

Se ha empleado para esta determinación el método nº 2432 de la IUPAC (IUPAC, 1992).

Se pesan  $1,50 \pm 0,01$  g de aceite que se lleva a un volumen de  $10 \text{ cm}^3$  en un matraz aforado con la fase móvil utilizada en el análisis cromatográfico, isopropanol 0,5 % en n-hexano. Las muestras así preparadas se inyectan directamente en el cromatógrafo.

Para tal fin se ha utilizado un cromatógrafo de HPLC Water modular. Provisto de una bomba binaria, modelo 1525, capaz de hacer gradientes a alta presión. Dispone de un inyector automático autorefrigerado, modelo 2707. Detector modelo 2998, con fotodiodoarray. Longitud de onda de medida 296 nm. La columna utilizada, Lichrospher Si 60 de  $5 \mu\text{m}$  de tamaño de partícula.

La separación cromatográfica se llevó a cabo en modo isocrático. La fase móvil fue isopropanol 0,5 % en n-hexano. El flujo de elución fue  $1 \text{ mL/min}$ , la temperatura del horno  $35^\circ\text{C}$  y se inyectó  $20 \mu\text{L}$  de muestra.

La concentración de los tocoferoles se obtienen utilizando rectas de calibrado de las soluciones estándar de los patrones  $\alpha, \beta, \gamma$  tocoferoles.

Los resultados se expresaron en  $\text{mg/kg}$  de aceite.

#### 4.4.8. PERFIL CROMATOGRÁFICO DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS

Para la determinación del perfil cromatográfico de los compuestos fenólicos presentes en las muestras de aceite de oliva se ha utilizado el método descrito por Mateos *et al.* (2001), modificado en el IFAPA Venta del Llano, en Mengíbar (Jaén).

Los compuestos fenólicos se deben extraer de los aceites para poder ser analizados por cromatografía líquida, para ello es necesario realizar dos extracciones líquido-líquido y se opera como se indica a continuación. Para la primera extracción, se pesan 1,50 gramos de aceite. Se adicionan 100 microlitros de disolución patrón de ácido siríngico de 4 ppm en metanol. Se adicionan 1,30 mL de disolución metanol-agua (80:20). Se agita vigorosamente, en vórtex, durante 2 minutos. Posteriormente se centrifuga a 3500-4000 rpm durante 10 minutos. Trascorrido este tiempo, se extrae con micropipeta la fase hidroalcohólica superior.

En la segunda extracción, se adicionan de nuevo 1,30 mL de disolución metanol-agua (50:50). Se agita vigorosamente, en vortex, durante 2 minutos. Se centrifuga a 3500-4000 rpm durante 10 minutos y, finalmente, se recoge con micropipeta la fase

hidroalcohólica inferior. Reunidos los extractos, se pasan por un filtro “*clean up*” para su inyección en el cromatógrafo.

Para analizar los extractos hidroalcohólicos se ha utilizado un equipo de HPCL, Agilent 1100 series, que consta de los siguientes módulos: sistema de bombeo de gradiente cuaternario, desgasificador de vacío, compartimento termostatzado de columna (horno) y detector de diodos y de longitud de onda múltiple. La columna empleada para determinar el perfil de compuestos fenólicos Hypersil BDS-C18, de 5  $\mu\text{m}$  de tamaño de partícula, de 25 cm de longitud y 4,6 mm de diámetro interno.

La separación se ha llevado a cabo con gradiente de elución. Las fases móviles fueron ácido acético-agua al 3% de ácido acético y metanol-acetonitrilo (1:1). El flujo de elución 1mL/min (Tabla 4.3), la temperatura del horno se fijó en 30°C, se inyectó 20  $\mu\text{L}$  de muestra y la longitud de onda de detección 280 nm.

**Tabla 4.3.** Gradiente de elución empleado

Tiempo (min)	Fase móvil A (%)	Fase móvil B (%)
0	95	5
20	70	30
30	65	35
35	60	40
45	30	70
50	0	100
60	95	5

La identificación de los polifenoles se ha realizado utilizando patrones y los espectros de absorción de los distintos compuestos. La cuantificación de los mismos se ha realizado utilizando la técnica de adición de patrón. Los resultados se han expresado en mg/kg de aceite.

#### 4.5. DISEÑO ESTADÍSTICO DE EXPERIMENTOS

Diseñar un experimento significa planificarlo de modo que se obtenga el máximo de información necesaria, sobre el problema objeto de investigación, con el mínimo número de ensayos. El diseño de experimentos consiste en enumerar la secuencia completa de pasos a realizar para asegurarnos que se obtienen los resultados deseados, que permitan realizar un análisis objetivo y conduzcan a deducciones válidas. En este contexto, tanto por la importancia de las decisiones que se extraen de la investigación como por el elevado coste de la experimentación, no resulta adecuado dejar la elección de las condiciones de experimentación, y la evaluación de los resultados, a la intuición del experimentador. Lo razonable, en estos casos, es utilizar una metodología que indique, fehacientemente, como planificar la secuencia de experimentos de una forma óptima, minimizando, en la medida de lo posible, la influencia del error experimental y el coste de experimentación. Para planificar y analizar los experimentos y se ha empleado el Diseño Estadístico de Experimentos (Box *et al.*, 2002).

El Diseño Estadístico de Experimentos (DEE) se puede definir como una metodología de planificación y análisis basada en herramientas estadísticas, (Montgomery, 2004). Planificación, porque el DEE selecciona la estrategia experimental óptima que permita obtener la información buscada con el mínimo coste. Análisis, porque evalúa los resultados experimentales obtenidos garantizando la máxima fiabilidad en las conclusiones obtenidas.

Los requisitos que debe cumplir un DEE son:

- Poder comprobar las hipótesis objeto de estudio, no dejándose confundir por variables inesperadas (ruido), como errores de medida desproporcionados, etc.
- Proporcionar la máxima cantidad de información.
- Ser tan simple como sea posible.
- Poder revelar la existencia de cualquier causa importante de variación, aunque no haya sido adelantada como hipótesis.
- Tener un alto grado de seguridad en las respuestas.
- La investigación debe efectuarse lo más eficientemente posible. Se debe ahorrar tiempo, dinero, personal y material experimental; lo que se ajusta a la premisa "Proporcionar la máxima cantidad de información al mínimo costo".

La información que puede darnos un experimento viene definida por el concepto de variable, que es la característica de un objeto que puede ser observada y medida. Existen dos tipos de variables: las categóricas o cualitativas y las numéricas o continuas. Las primeras solo pueden ser percibidas y comparadas como iguales o

diferentes entre sí, son de carácter nominal. Las segundas pueden ser medidas y cuantificadas.

Las variables a emplear en el DEE también pueden ser de los tipos siguientes:

- Independiente o factor: el factor (causa) que se supone influye sobre la característica a medir (defecto, error, etc.). Para comprobar su influencia, durante el experimento se le asignarán diferentes valores.
- Dependiente o respuesta: aquella variable que se mide durante el experimento, para establecer si la variable independiente influye sobre sus valores.
- Extrañas o inesperadas: aquellas no controlables y, por tanto, no manipulables, pero que influyen en la variable dependiente. Son la causa de que los resultados no siempre sean los esperados. En el Diseño se les suele llamar "ruido" o "error experimental".
- De bloqueo: en caso de variar, influye sobre los valores de la dependiente. Para eliminar su influencia se fija a un valor constante.

Para minimizar y cuantificar los errores en el diseño experimental se suelen repetir ensayos. Para eliminar el ruido producido por las variables inesperadas se realizan de forma aleatoria.

La aleatoriedad consiste en asignar, al azar, diferentes valores a las variables independientes, con la esperanza de que los efectos extraños se contrarresten entre los distintos ensayos y valores de las variables. La aleatoriedad es fundamental en el DEE, ya que:

- Previene la existencia de sesgo.
- Evita la dependencia entre ensayos.
- Confirma la adecuación de los procedimientos estadísticos para el análisis de los resultados experimentales.

#### 4.5.1. EL MÉTODO TRADICIONAL FRENTE AL DISEÑO ESTADÍSTICO DE EXPERIMENTOS

El método tradicional de experimentación consiste en ir variando factores (tiempo, temperatura, concentración, etc.) de uno en uno; es decir, a partir de unas condiciones iniciales, se realizan experimentos, en los cuales todos los factores se mantienen constantes, excepto el que se está estudiando. De este modo, la variación de la respuesta se puede atribuir a la variación de ese factor y, por tanto, revela su efecto. El procedimiento se repite para los demás factores. Esta forma de actuar conlleva un error: si se varían dos o más factores entre dos experimentos consecutivos, no sería posible conocer si el cambio en la respuesta ha sido debido al cambio de un factor, al de otro, o al de todos a la vez (Box *et al.*, 2002). En definitiva, no sería posible apreciar si existe interacción entre los factores estudiados.

Por tanto, esta estrategia experimental presenta una serie de inconvenientes importantes cuando existe interacción entre dos factores. Se dice que existe interacción entre dos factores, A y B, cuando el efecto del A es diferente según qué valor tome el B, y viceversa. La metodología tradicional no informa sobre cómo un factor interactúa con los otros o cómo estas interacciones afectan a la respuesta, por lo que sólo se obtiene una comprensión limitada de los efectos de los factores. En cuanto a la determinación de los valores óptimos de las variables respuesta, en la metodología tradicional el experimentador observa que se ha llegado a este valor porque mediante la variación de un solo factor la respuesta no mejora, sin percibir que se puede encontrar lejos del valor buscado. Aunque se puede reiniciar la experimentación partiendo del óptimo encontrado, esta solución es extremadamente ineficiente cuando se deben estudiar muchos factores con un elevado número de niveles, lo cual requeriría demasiados experimentos y excesivo tiempo (Romero *et al.*, 1995).

Los inconvenientes del método tradicional provienen de variar un factor, manteniendo constantes los demás. Por tanto, la solución radica en variar más de un factor simultáneamente al realizar un nuevo experimento. Ello permite mejorar la eficiencia del esfuerzo del experimentador y obtener información sobre las interacciones. La dificultad estriba en diseñar una experimentación reducida, en la que estos cambios simultáneos se complementen entre sí y permitan obtener la información buscada al combinar los resultados de todos los experimentos. El DEE proporciona el marco matemático adecuado donde los niveles de los factores que afectan al proceso son combinados simultáneamente, con el objetivo de obtener información eficiente con un número reducido de experimentos.

#### 4.5.2. METODOLOGÍA DEL DISEÑO ESTADÍSTICO DE EXPERIMENTOS

A la hora de plantear una investigación mediante el DEE se deben considerar las siguientes etapas (Ludlow *et al.*, 1995):

- a) *Comprender el problema y definir claramente el objetivo*: resulta muy importante identificar, de forma muy específica, la variable dependiente o respuesta. Para ello debe tenerse un conocimiento profundo del problema. El DEE se presenta como una herramienta matemática para encontrar respuestas a problemas perfectamente identificados y especificados. Cuanto más claramente se plantea el problema y se define la hipótesis, mayor puede ser la información obtenida.
- b) *Identificar los factores que potencialmente podrían influir en la función objetivo y los valores que éstos pueden tomar*: éstos representan las características que se supone influyen sobre los valores de la variable dependiente. Su elección requiere un conocimiento previo del sistema, obtenido de referencias bibliográficas, experiencia en el laboratorio, etc. Deben poder modificarse y controlarse con

facilidad. Para cada factor se debe definir el intervalo de valores que puede tomar (niveles).

- c) *Elección del diseño experimental*: dentro de la metodología del DEE resulta frecuente realizar la experimentación en diversas etapas. La selección de una matriz u otra depende del objetivo de cada etapa. En función del objetivo planteado en la investigación se identifican distintos tipos de diseños que se pueden aplicar a cada caso.
- o Cribado: al plantear por primera vez una experimentación, lo más normal es encontrar una larga lista de factores potencialmente influyentes, por lo que es necesario reducir la lista de factores a un número manejable. Para realizar dicho cribado se puede realizar una investigación preliminar mediante un diseño sencillo, que permita determinar lo más rápidamente posible qué factores tienen más influencia en la respuesta y deben ser estudiados en detalle.
  - o Influencia de los factores: una vez identificados los factores más importantes, el siguiente paso consiste en realizar un estudio cuantitativo de sus efectos y las posibles interacciones sobre la variable respuesta. Normalmente, se emplean los diseños factoriales completos a dos niveles,  $2^k$ , y los factoriales fraccionados,  $2^{k-r}$ , entre otros.
  - o Optimización: el último objetivo de la investigación suele ser la optimización de una o varias respuestas de un proceso; es decir, conocer qué niveles de los factores proporcionan un valor máximo o mínimo de una o varias respuestas simultáneamente. Los diseños de optimización más comunes suelen ser: el diseño central compuesto y el diseño de optimización Box-Behnken.
- d) *Experimentación*: el diseño experimental escogido suele estar descrito mediante variables codificadas. Éstas se particularizan para los factores en estudio, se comprueba si los experimentos son posibles y, si es así, se realiza la experimentación en orden aleatorio respecto al orden en el cual están listados.
- e) *Interpretación de los resultados*: una vez que se disponen de los resultados experimentales se pueden calcular los efectos de los factores y sus interacciones. Los test estadísticos permiten comprobar si los efectos calculados son significativos comparándolos con el error experimental. Si se construye un modelo de optimización, se pueden calcular los coeficientes de la función que relaciona factores y variables por el método de los mínimos cuadrados. Así mismo, se puede evaluar el modelo mediante el análisis de varianza (ANOVA) y, si los parámetros de regresión se encuentran dentro del rango adecuado, el modelo matemático se puede utilizar para buscar la zona óptima de la variable o variables respuesta.

Al conjunto de técnicas de diseño experimental y optimización se le conoce con el nombre de Metodología de Superficie de Respuesta (MSR).

#### 4.5.3. OPTIMIZACIÓN DE LA RESPUESTA. METODOLOGÍA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA

Una vez se ha determinado la zona de los factores en donde se encuentra el punto óptimo se aplica la MSR, introducida por Box y Wilson, en 1951. Esta metodología es una colección de técnicas de diseño experimental y optimización de procesos y debe su desarrollo al Área de Ingeniería Química e Industrial, para considerar varias variables que influyen en un proceso. También es importante en el diseño, desarrollo y formulación de nuevos productos así como para mejorar los existentes. El objetivo es encontrar la combinación de los factores y sus valores que optimicen las variables respuesta de interés para el proceso. Cuando un diseño factorial no se ajusta bien a una función lineal se debe usar una cuadrática, pero para ello los factores deben tomar un mínimo de tres valores. La MSR constituye un caso particular de diseño factorial en el que se intentan encontrar los valores de los factores que hacen óptima la respuesta.

En la MSR se va a considerar una variable cuantitativa respuesta,  $y$ , que depende de una serie de factores independientes cuantitativos representados por las variables  $x_1, x_2, \dots, x_k$ . La representación matemática de los modelos de MSR puede ser de diversas maneras:

El modelo lineal de primer orden con interacciones:

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i \cdot x_i + \sum_{j=2}^k \sum_{i=1}^{j-1} \beta_{ij} \cdot x_i x_j + \epsilon \quad (4.10)$$

Y el modelo cuadrático o de segundo orden:

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{j=2}^k \sum_{i=1}^{j-1} \beta_{ij} x_i x_j + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \epsilon \quad (4.11)$$

donde:  $\beta_i$  son los coeficientes de los términos de primer orden,  $\beta_{ii}$  los coeficientes de los términos cuadráticos,  $\beta_{ji}$  los coeficientes de los términos correspondientes a la interacción entre factores y  $\epsilon$  el error observado en la respuesta.

Mediante mínimos cuadrados se determinan los parámetros. Con éstos y las Ecuaciones 4.10 y 4.11, en cada caso, se recalcula la respuesta y se compara con los resultados experimentales; mediante análisis de varianza se determina si el modelo es significativo o no.

Un diseño experimental que ajuste a un modelo cuadrático (segundo orden) debe tener, al menos, tres niveles de cada factor (-1, 0, +1) y, si además se considera un diseño de superficie de respuesta, es deseable que sea rotable. Se dice que un diseño es rotable cuando la varianza de la respuesta predicha en algún punto es función sólo de la distancia del punto al centro y no es una función de la dirección. Dado que la finalidad de la Metodología de Superficie de Respuesta consiste en optimizar, la rotabilidad proporciona estimaciones precisas en todas direcciones.

#### 4.5.4. DISEÑO FACTORIAL

En un diseño factorial se investigan simultáneamente los efectos de cierto número de diferentes factores sobre la respuesta. La necesidad de estudiar conjuntamente varios factores obedece, principalmente, a dos razones:

- a. Encontrar un modelo que describa el comportamiento general del fenómeno en estudio. Restringido al rango de variación de los diferentes factores.
- b. Optimizar la respuesta o variable independiente; es decir, encontrar la combinación de factores que optimizan esa respuesta.

La característica esencial que hace necesario el estudio conjunto de los factores viene dada por la posibilidad de que el efecto de un factor cambie para valores diferentes de otro factor; es decir, que los factores interactúen. Si se estudia un factor de forma separada el resultado puede ser diferente al que daría con su estudio conjunto y es más difícil describir el comportamiento general o encontrar el óptimo. Si el tiempo de obtención de la variable respuesta es corto y barato, se puede aplicar la metodología tradicional de experimentación; en caso contrario sería más conveniente aplicar el diseño factorial.

Algunas de las ventajas del diseño factorial son:

- Al obtener información sobre varios factores, sin aumentar el número de experimentos, hay economía de material y tiempo.
- Se amplía el conocimiento de la respuesta en relación a un factor, ya que se estudia en las diferentes condiciones fijadas para los otros factores.

- Se puede obtener una estimación de la interacción de los efectos; o sea, se determina el grado y la forma en la cual se modifica el efecto de un factor para diferentes valores de los otros factores.
- El número de experimentos del diseño factorial es óptimo para estudiar los efectos principales e interacciones.

Y sus desventajas más importantes son:

- El gran número de combinaciones de experimentos cuando se estudian muchos factores. Esto tiene dos efectos:
  - Si se desea usar bloques completos de experimentos es difícil estudiar todos los efectos. Esto se puede eliminar usando el principio de confusión.
  - Se aumenta el coste experimental al intentar estudiar todas las combinaciones posibles, problema que se minimiza usando diseños factoriales fraccionados, caso en que se prueba sólo una parte de los efectos.
- Difícil interpretación cuando se presentan interacciones de más de tres efectos.

#### 4.5.5. DISEÑO CENTRAL COMPUESTO

Es el diseño más popular y el más utilizado por los investigadores. Consiste en un factorial completo  $2^k$ , siendo  $k$  el número de factores codificados, de tal manera que el centro es todo cero  $(0,0,\dots,0)$ , aumentado por  $2^k$  puntos axiales  $(\pm\alpha, 0, 0,\dots, 0)$ ,  $(0, \pm\alpha, 0,\dots, 0)$ ,  $(0, 0, \pm\alpha,\dots, 0)$ ,  $(0, 0, 0,\dots, \pm\alpha)$ , y  $n$  puntos centrales  $(0,0,\dots,0)$ .

El diseño se convierte en rotatable mediante la elección de  $\alpha$ . El cual depende del número de factores que se consideren en el diseño según la ecuación  $\alpha = (2^k)^{1/4}$ . Así, para un diseño de dos factores,  $\alpha = (2^2)^{1/4} = (2)^{1/2} = 1,414$  y para un diseño de tres factores,  $\alpha = (8)^{1/4} = 1,682$ .

Los diseños centrales compuestos requieren cinco niveles de cada factor, codificados como  $-\alpha, -1, 0, +1, +\alpha$ . En algunos casos, preparar cinco niveles para algunos factores puede ser difícil y costoso. El diseño de cubo con cara centrada es una variación del diseño central compuesto con  $\alpha = 1$  que requiere sólo tres niveles de cada factor. Este diseño no es rotatable, pero se compensa por el menor número de experimentos.

#### 4.6. SOFTWARE UTILIZADO PARA LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Para el diseño de experimentos y el análisis de los resultados experimentales se ha utilizado el software Design-Expert, versión 8.0.7.1, de Stat-Ease Inc., Minneapolis, USA.

#### 4.7. INTERPRETACIÓN DE LOS MODELOS FACTORIALES Y CUADRÁTICOS

El estudio de las diferentes campañas de aceituna se ha realizado mediante diseño de experimentos, en la primera con realización de diseños factoriales, para determinar la influencia de los factores sobre las respuestas y la posible interacción existente entre ellos, y en las siguientes, para optimizar los factores con el objetivo de obtener los aceites más ricos en antioxidantes, se han realizado diseños de superficie de respuesta del tipo central compuesto rotatable.

Aunque los factores reales se han modificado, en todos los casos, entre 20 y 60 °C, para la temperatura, 20 y 60 minutos, de tiempo de batido, y entre 0,5 y 2 %, para el coadyuvante, talco, añadido; siempre se ha empleado, para el estudio, los factores en su forma codificada de tal forma que todos varían entre -1 y +1. De esta forma se pueden interpretar mejor los modelos obtenidos, se determina de forma más exacta la influencia de cada factor sobre la respuesta estudiada y se puede comparar más fácilmente la actividad de los diferentes factores.

Los diseños de tipo factorial se han ajustado con modelos factoriales, Ecuación 4.12, y los de superficie de respuesta con modelos cuadráticos, Ecuación 4.13.

$$Y = a_0 + a_1 \cdot T + a_2 \cdot t + a_3 \cdot C + a_{12} \cdot T \cdot t + a_{13} \cdot T \cdot C + a_{23} \cdot t \cdot C \quad (4.12)$$

$$Y = a_0 + a_1 \cdot T + a_2 \cdot t + a_3 \cdot C + a_{12} \cdot T \cdot t + a_{13} \cdot T \cdot C + a_{23} \cdot t \cdot C + a_{11} \cdot T^2 + a_{22} \cdot t^2 + a_{33} \cdot C^2 \quad (4.13)$$

Donde Y es la respuesta estudiada, T la temperatura de batido, t el tiempo de batido y C la dosis de coadyuvante utilizada.

Para interpretar los modelos, se va a suponer que el término independiente, correspondiente al valor de la respuesta en los puntos centrales de todos los factores codificados ( $T = t = C = 0$ ), tiene el valor 10 ( $a_0 = 10$ ). Para simplificar la interpretación se estudia, para solo uno de los factores, los términos lineal, interacción y cuadrático, por lo que se supone que los coeficientes del resto de términos de los modelos valen

cero. Mediante la Ecuación 4.12 se va a estudiar el factor codificado temperatura y su interacción con el factor, también codificado, tiempo, y con la Ecuación 4.13 se estudiará la influencia del término cuadrático. Por ello, los coeficientes  $a_2$ ,  $a_3$ ,  $a_{13}$ ,  $a_{23}$ ,  $a_{22}$  y  $a_{33}$  son cero, de forma que las Ecuaciones 4.12 y 4.13, simplificadas, quedan en la forma:

$$Y = a_0 + a_1 \cdot T + a_2 \cdot t + a_{12} \cdot T \cdot t \quad (4.14)$$

$$Y = a_0 + a_1 \cdot T + a_{11} \cdot T^2 \quad (4.15)$$

Debido a que los modelos de ajuste de datos deben ser jerárquicos, los términos de nivel superior, como la interacción y el término cuadrático, imponen la presencia de los términos de nivel inferior, principal o lineal (nivel 1) en los modelos. Por ello en la Ecuación 4.14 se ha incluido el término lineal del tiempo de batido, aunque su coeficiente sea cero. En ambos casos se supone valor unidad para el coeficiente del término lineal ( $a_1$ ), nivel 1 en la jerarquía del factor temperatura. En el modelo cuadrático, Ecuación 4.15, se supone que no existe interacción ( $a_{12} = 0$ ) entre los factores, por lo que no aparece el tiempo de batido.

#### 4.7.1. INFLUENCIA DE LA INTERACCIÓN SOBRE LA RESPUESTA

Para explicar la influencia de la interacción sobre la respuesta se va a partir del modelo propuesto en la Ecuación 4.14 y los valores de  $a_0 = 10$  y  $a_1 = 1$ . Para que la influencia de la interacción sea similar a la del término lineal se le va a imponer el valor uno al coeficiente ( $a_{12} = 1$ ), si esta es positiva, y -1 si es negativa ( $a_{12} = -1$ ).

- Interacción positiva

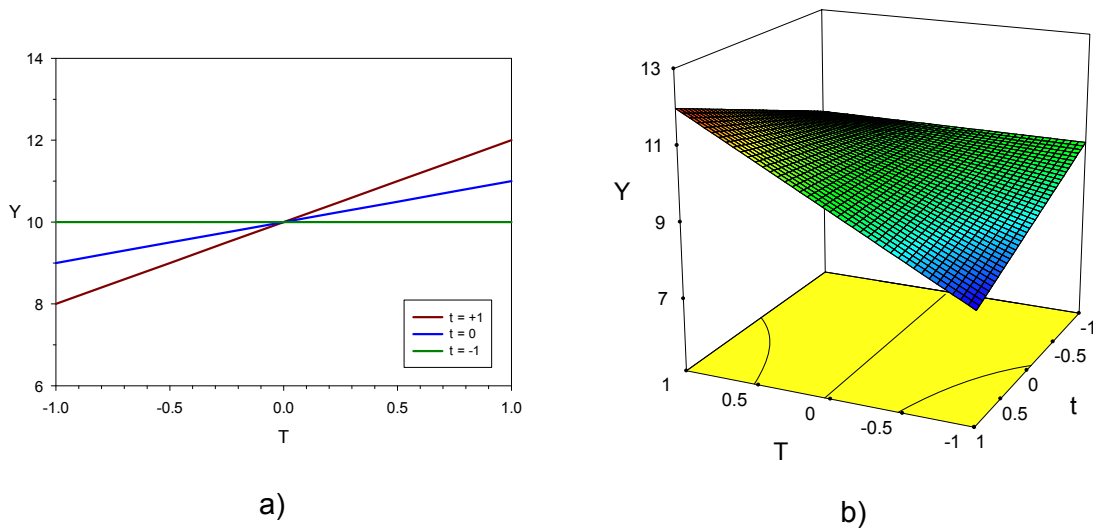
Como el coeficiente se ha fijado en la unidad y en este término aparece el factor codificado tiempo cuyos valores oscilan entre -1 y +1, la Ecuación 4.14 queda en las dos formas límites siguientes:

$$t = -1 \quad Y = a_0 + a_1 \cdot T + a_{12} \cdot T \cdot (-1) = a_0 + (a_1 - a_{12}) \cdot T \quad (4.16)$$

$$t = +1 \quad Y = a_0 + a_1 \cdot T + a_{12} \cdot T \cdot (+1) = a_0 + (a_1 + a_{12}) \cdot T \quad (4.17)$$

En el punto central de tiempo ( $t = 0$ ) la interacción entre factores es nula. Como se deduce de las Ecuaciones 4.16 y 4.17, la Ecuación factorial 4.14 se ha reducido a una de tipo lineal donde la pendiente es la suma y la diferencia entre los coeficientes de los términos lineal y de interacción. Por ello, la interacción entre factores se reduce a modificar la influencia que el factor considerado tiene sobre la respuesta, oscilando entre los límites que toma el otro factor codificado.

Siguiendo con el ejemplo propuesto, en la Figura 4.5 se muestra la variación de la respuesta  $Y$  con la temperatura, para diferentes valores de tiempo de batido y, en tridimensional, el modelo tridimensional. En ella se observa que la pendiente de la temperatura se anula cuando el tiempo es  $-1$  y se duplica cuando es  $+1$ .



**Figura 4.5.** Influencia de la temperatura y su interacción con el tiempo

- Interacción negativa

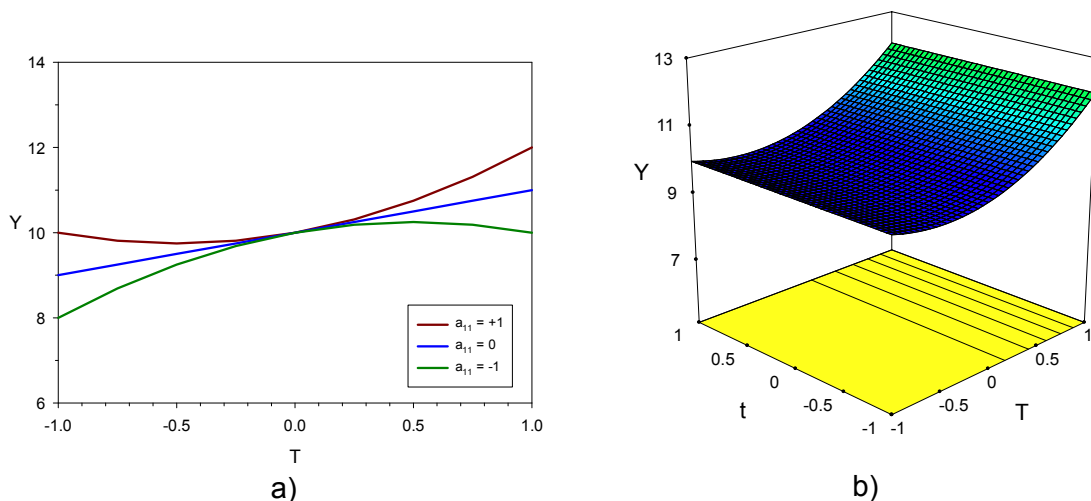
Si la interacción fuese negativa la pendiente se intercambiaría, pero la figura sería similar, como se puede deducir de las Ecuaciones 4.16 y 4.17. Otro caso posible sería que el coeficiente  $a_1$  fuese negativo, aunque, como se deduce, la interacción se limita a modificar la pendiente del factor estudiado.

Por tanto, la interacción solo modifica, en los límites de su coeficiente, la influencia que el nivel principal del factor estudiado tiene sobre la respuesta.

#### 4.7.2. INFLUENCIA DEL TÉRMINO CUADRÁTICO SOBRE LA RESPUESTA

Se va a utilizar la Ecuación 4.15 para explicar la influencia del término cuadrático sobre la acción principal del término lineal en la respuesta. Dado que, al estar el factor elevado al cuadrado, cualquier valor que tome se hace positivo por lo que la acción queda exclusivamente controlada por el coeficiente. Además, al variar el factor entre los límites -1 y +1, y tener el término carácter parabólico, las variaciones más significativas del modelo se producen en los extremos del factor.

En la Figura 4.6.a se muestra la variación de la respuesta según el coeficiente  $a_{11}$  sea positivo o negativo, en ambos casos se le ha asignado el valor absoluto 1. En la Figura 4.6.b se muestra, en tridimensional y para el coeficiente  $a_{11}$  positivo, la influencia del término cuadrático sumada a la del nivel principal.



**Figura 4.6.** Influencia cuadrática de la temperatura

Si el coeficiente del nivel principal del factor fuese negativo la Figura 4.6.a sería similar pero con pendiente negativa.

Por lo expuesto se deduce que los términos de nivel superior, sea interacción o cuadrático, solo modifican al de nivel inferior entre los valores máximos correspondientes a los límites de los factores multiplicados por su coeficiente. Por ello, cuando el coeficiente del nivel inferior de un factor ( $a_1$  para la temperatura) sea significativamente mayor que el del nivel superior, la influencia del factor sobre la respuesta se verá poco modificada; por lo que los términos de nivel superior, básicamente, lo harán es dar la forma definitiva a la superficie representativa.



## **5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

---



## 5.1. RESULTADOS EXPERIMENTALES

### 5.1.1. MATERIA PRIMA: ACEITUNA

Con el objetivo de obtener aceites ricos en antioxidante naturales, durante las campañas 2007 a 2010 se realizaron ensayos de molturación modificando diferentes variables de proceso. Para ello, se emplearon aceitunas de la variedad Picual procedentes de dos tipos de cultivo, regadío y seco, de la finca Venta del Llano que posee el IFAPA en las inmediaciones de Mengíbar (Jaén). Se han estudiado las cribas de 4,5 y 5,5 mm y diferentes temperaturas, tiempos de batido y dosis de coadyuvante.

Según se ha indicado en la Introducción, el aceite de oliva virgen contiene antioxidantes que le confieren determinadas propiedades a nivel químico, organoléptico y para la salud. La cantidad de estos compuestos en el aceite de oliva virgen depende de factores agronómicos y tecnológicos o de elaboración del aceite. De todas las etapas del proceso de elaboración del aceite en la almazara, el batido de la pasta de aceituna es, quizás, la operación más importante por su mayor influencia en el rendimiento del proceso y en la calidad del aceite. La temperatura y el tiempo de batido y la adición, o no, de coadyuvantes tecnológicos son las variables que influyen, decisivamente, en las características y en la cantidad de antioxidantes presentes en el aceite. Dado que el objetivo principal de la Tesis es la obtención de aceites de oliva vírgenes ricos en antioxidantes se han estudiado y optimizado dichas variables de proceso.

En las Tablas 5.1 a 5.3, correspondientes a las campañas entre 2007 y 2010, se presentan las diferentes muestras de aceitunas utilizadas, su caracterización, según sean de regadío o de seco, y el código asignado para su posterior procesamiento. A todas las muestras se les ha determinado índice de madurez (IM), contenido en humedad y materias volátiles y el contenido de aceite en base seca ( $R_s$ ). Mediante balances de materia se ha determinado el contenido en sólidos mostrado en las tablas, en base húmeda.

En la Tabla 5.2, a la muestra con índice de madurez 0,3 se le han asignado los códigos A y B para indicar que la muestra A se ha molturado con la criba de 4,5 mm y la B con la de 5,5 mm. El resto de muestras de aceituna, de esta Tabla, se han molturado con la criba de 5,5 mm, utilizando la de 4,5 mm solo para replicar los puntos centrales. Las muestras de las Tablas 5.1 y 5.3 se han molturado con la criba de 4,5 mm.

**Tabla 5.1.** Caracterización de las muestras de aceituna. Campaña 2007-08

<b>Código</b>	<b>IM</b>	<b>Cultivo</b>	<b>Humedad (%)</b>	<b>Sólidos (%)</b>	<b>Aceite en base seca, R<sub>s</sub> (%)</b>
A	2,1	Riego	50,1	29,0	41,9
E	4,3	Riego	47,9	27,3	47,6
G	5,1	Riego	46,0	26,8	50,3
B	3,1	Secano	38,9	38,4	37,2
D	3,7	Secano	40,6	35,6	39,7
F	5,3	Secano	47,4	28,0	46,7

\*Los datos son medias de tres réplicas con coeficientes de variación inferiores al 0,5%

**Tabla 5.2.** Caracterización de las muestras de aceitunas. Campaña 2008-09

<b>Código</b>	<b>IM</b>	<b>Cultivo</b>	<b>Humedad (%)</b>	<b>Sólidos (%)</b>	<b>Aceite en base seca, R<sub>s</sub> (%)</b>
A, B	0,3	Riego	52,2	35,3	26,1
D	1,8	Riego	45,6	37,1	31,7
F	3,4	Riego	46,7	34,3	35,6
H	4,7	Riego	47,8	30,2	42,2
C	0,5	Secano	45,4	36,7	32,8
E	3,5	Secano	48,2	31,2	39,7
G	4,1	Secano	40,5	34,4	42,3

\*Los datos son medias de tres réplicas con coeficientes de variación inferiores al 5%

**Tabla 5.3.** Caracterización de las muestras de aceitunas. Campaña 2009-10

<b>Código</b>	<b>IM</b>	<b>Cultivo</b>	<b>Humedad (%)</b>	<b>Sólidos (%)</b>	<b>Aceite en base seca, R<sub>s</sub> (%)</b>
A	1,2	Riego	56,3	26,2	40,1
C	2,8	Riego	53,8	25,6	44,7
E	3,8	Riego	50,7	26,0	47,2
G	5,5	Riego	43,8	29,0	48,3
B	1,6	Secano	55,2	27,3	39,0
D	3,1	Secano	49,3	29,2	42,4
F	4,0	Secano	46,1	28,9	46,4
H	5,3	Secano	42,6	31,9	44,5

\* Los datos son medias de tres réplicas con coeficientes de variación inferiores al 5%

Según se observa en la Tabla 5.1, con el incremento del índice de madurez se produce el descenso de humedad para la aceituna de riego, mientras la de secano la incrementa. En la Tabla 5.2, para regadío, la humedad disminuye con el paso de IM de 0,3 a 1,8 y posteriormente se incrementa con dicho índice. En cambio, para la aceituna de secano se produce un incremento de humedad, al principio, y posteriormente disminuye. En la Tabla 5.3 se produce el descenso de humedad, con el índice de madurez, tanto para las aceitunas de riego como las de secano.

En general, durante las campañas de aceituna debería cumplirse que con el aumento del índice de madurez la humedad de las aceitunas decreciera, pero este hecho depende de la climatología, o sea, de que durante la recogida de aceituna llueva o no. Cuando llueva las aceitunas cogen agua e incrementan su peso, manteniendo la misma cantidad de aceite, lo que se traduce en la modificación de su composición en base húmeda, pero no en base seca.

El incremento de humedad de las aceitunas de secano mostradas en la Tabla 5.1 parece indicar una baja pluviometría en los meses previos a la recogida de aceituna para después, durante la campaña, alternar períodos de sol con lluvias. Respecto de las aceitunas de regadío, al regarse periódicamente, no experimentan épocas de sequía por lo que su contenido en humedad es alto y, aunque llueva durante la campaña de aceituna, lo normal es que con el índice de madurez disminuyan su humedad lentamente.

Respecto de las aceitunas de la Tabla 5.2, se observa que, en regadío, la humedad disminuye para posteriormente aumentar lo que da una idea de que en esa campaña llovió bastante. La aceituna de secano presenta baja humedad de principio, lo que indica poca lluvia en verano y otoño, se incrementa con las lluvias de final de otoño y, ya en invierno, con aceituna madura y tras un período seco la humedad vuelve a caer.

A diferencia de las Tablas anteriores, en la Tabla 5.3 se observa claramente que llovió bastante al final del verano y principio de otoño y que la campaña de recogida de aceituna transcurrió sin lluvia.

En las tres Tablas anteriores se puede observar que la aceituna de regadío, a no ser que intervengan otros factores externos, siempre muestra mayor contenido de humedad que la de secano, lo que influye en el contenido de componentes minoritarios en los aceites.

Respecto de la riqueza grasa, en base seca, de las aceitunas, última columna de las Tablas, se observa que, en la mayoría de los casos, se incrementa con el índice de madurez. Estos datos se muestran gráficamente en las Figuras 5.1 y 5.2, para las aceitunas procedentes de olivos de regadío y de secano, respectivamente, y en la 5.3 para las aceitunas de la campaña 2009-10, considerada como óptima para ambos tipos de cultivo.

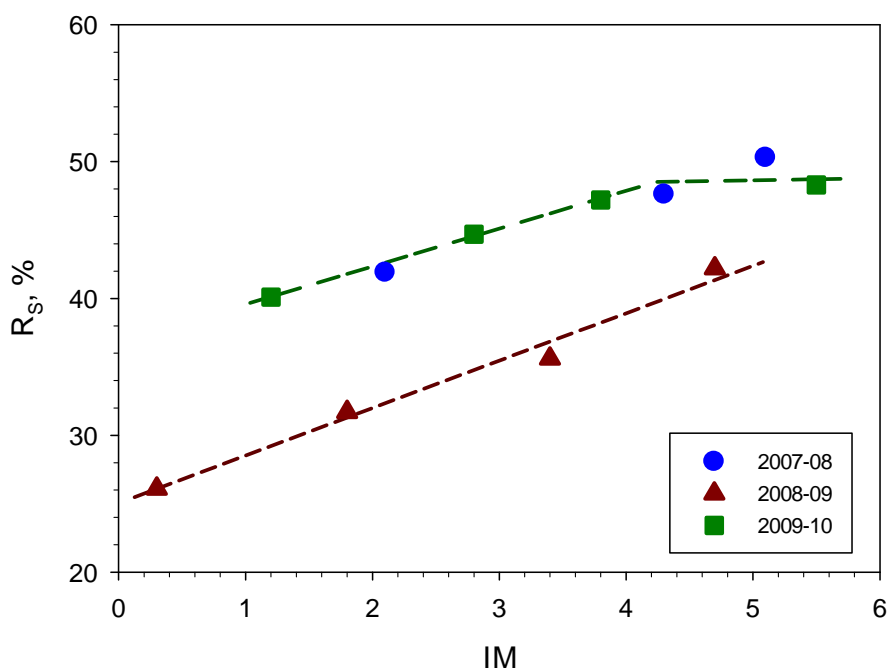


Figura 5.1. Riqueza grasa frente al índice de madurez. Regadío

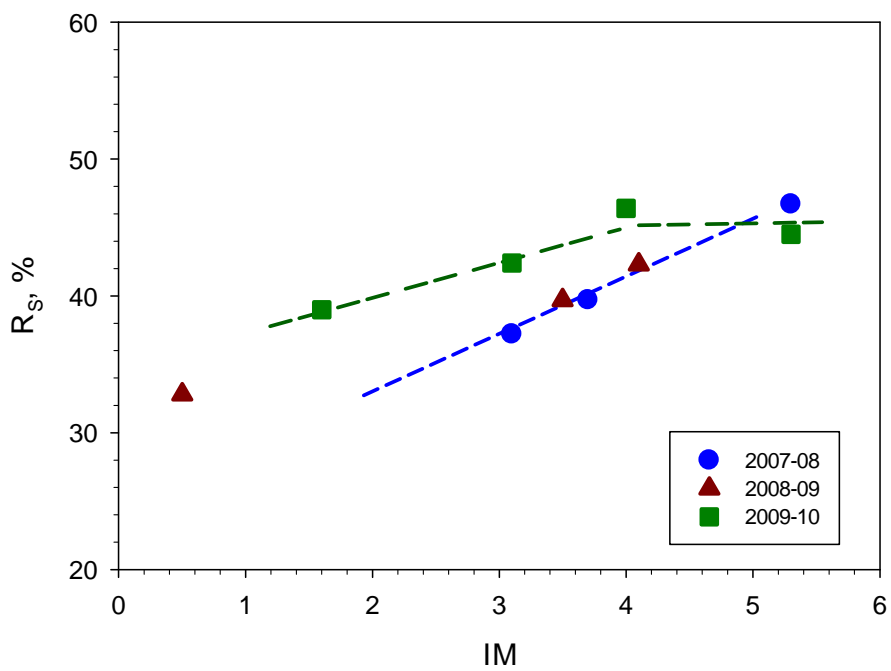
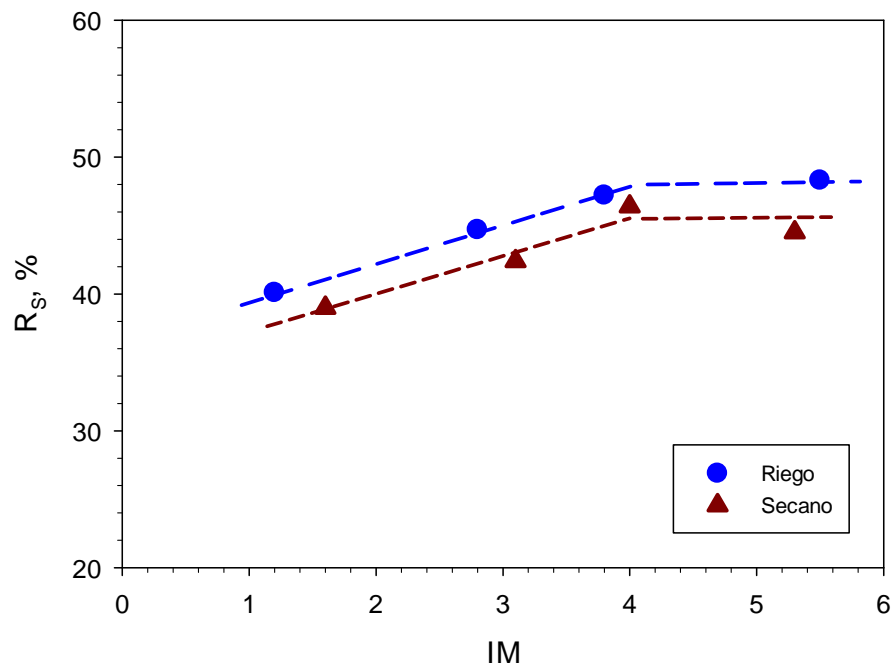


Figura 5.2. Riqueza grasa frente al índice de madurez. Secano



**Figura 5.3.** Riqueza grasa frente al índice de madurez. Campaña 2009-10

Por definición, la riqueza grasa en base seca indica el porcentaje de aceite que tiene la pasta de aceituna molturada y secada en estufa a 105 °C, hasta pesada constante. Por tanto, con este parámetro solo se considera el contenido en aceite y sólidos. Dado que la formación vegetativa del hueso se produce durante el mes de junio y principios de julio y la formación de la pulpa y la génesis del aceite desde finales de agosto hasta el envero o cambio de color de la aceituna, siendo mayoritaria en el mes de septiembre, se pueden precisar, de forma aproximada, diferentes períodos de estrés.

En las Tablas 5.1 a 5.3 y en las Figuras 5.1 y 5.2 se puede observar que el contenido de aceite, en base seca, de las aceitunas es siempre creciente con el índice de madurez, con tendencia a un máximo en la relación aceite/sólidos. Observando las Figuras 5.1 y 5.2 se puede precisar que este máximo parece ser, para la parcela agrícola considerada, el indicado por la última campaña estudiada (2009-10), en la cual la pluviometría fue idónea para el crecimiento del fruto en ambos tipos de cultivo, Figura 5.3. En esta Figura se observa que en todo momento la aceituna de regadío presenta mayor riqueza grasa que la de secano, en condiciones normales, con valores cercanos al 49% de aceite, en base seca. Mientras que para secano se puede aceptar como valor máximo y óptimo el 46% de riqueza grasa.

De la Figura 5.1, para aceituna de regadío, se deduce que los años agrícolas correspondientes a las campañas 2007/08 y 2009/10 han transcurrido con normalidad de forma que los olivos no han sufrido un estrés apreciable, bien porque se hayan regado o porque haya llovido. En cambio, en el año 2008, estos olivos sí han sufrido la falta de agua durante la génesis de aceite y por ello su menor rendimiento. Por otra parte, en la Figura 5.2, para aceituna de secano, se observa que ha existido estrés hídrico durante la génesis de aceite en los años 2007 y 2008 aunque el contenido graso de la aceituna tiende al máximo, de forma tardía, de la campaña 2009-10.

### 5.1.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para estudiar la influencia de las variables de batido sobre los diferentes parámetros que se analizarán, se han realizado diferentes diseños experimentales con el objetivo de obtener el máximo de información con el mínimo de ensayos. En primer lugar, y con el fin de determinar los mejores límites de estudio de las variables (factores), se ha realizado un diseño factorial  $2^3$  modificando la temperatura y el tiempo de batido y la dosis de talco añadida a la pasta de aceituna. Los valores estudiados para la temperatura han sido 20 y 60°C, 20 y 60 minutos para el tiempo y 0 y 2% para el coadyuvante, Tabla 5.4. La criba utilizada para molturar la aceituna ha sido la de 4,5 mm. Con este diseño se procesaron las aceitunas de la Tabla 5.1.

**Tabla 5.4.** Diseño factorial empleado con aceitunas de la campaña 2007-08

Identificación	Factores					
	Temperatura (°C)		Tiempo (min)		Talco (%)	
	Codificado	Real	Codificado	Real	Codificado	Real
1	-1	20	-1	20	-1	0
2	-1	20	-1	20	+1	2
3	-1	20	-1	20	-1	0
4	-1	20	-1	20	-1	0
5	-1	20	+1	60	-1	0
6	-1	20	+1	60	+1	2
7	+1	60	-1	20	-1	0
8	+1	60	-1	20	+1	2
9	+1	60	+1	60	-1	0
10	+1	60	+1	60	+1	2

En la Tabla 5.4 aparecen 10 ensayos por experimento (muestra de aceituna) debido a que al diseño factorial  $2^3$  (8 ensayos) se han sumado dos realizados en el

nivel inferior de los factores, con el objetivo de determinar errores de experimentación mediante la réplica de ensayos.

Los resultados obtenidos en el estudio de la campaña 2007-08 permitieron fijar los límites de los factores a estudiar en las campañas 2008-09 y 2009-10, con el objetivo de optimizar las diferentes respuestas según objetivos. Los factores estudiados en la segunda y tercera campañas han sido la temperatura y tiempo de batido, la dosis de talco y el tamaño de criba. Dado que el tamaño de criba solo puede tomar valores discretos hay que considerarlo como factor categórico, realizando para los otros tres factores (numéricos) un diseño de superficie de respuesta del tipo Central Compuesto Rotable (CCR). Este tipo de diseño permite optimizar una o varias respuestas según el criterio que se haya prefijado. Se trata de la clase más popular de diseños usados para el ajuste de modelos de segundo orden (cuadráticos) y proporciona buenas predicciones en toda la región de interés. La rotabilidad es una base razonable para la selección de este diseño de superficie de respuesta ya que proporciona la misma precisión en todas direcciones.

Para el factor categórico criba se han utilizado los valores de 4,5 y de 5,5 mm, modificando el resto de factores entre 20 y 60°C, para la temperatura de batido, 20 y 60 minutos, para el tiempo, y 0,5 y 2% para la dosis de coadyuvante (talco). Este tipo de diseños se caracteriza porque se estudian cinco niveles de los factores ( $-\alpha$ , -1, 0, +1,  $+\alpha$ ) correspondiendo el factor codificado -1 al límite inferior del factor real y el codificado +1 al límite superior del factor real. Los puntos axiales  $\alpha$  se calculan en función del número de factores a estudiar, de forma que para tres factores adquiere el valor 1,68.

En la Tabla 5.5 se muestra el diseño experimental aplicado a las campañas 2008-09 y 2009-10. El experimento A de la campaña 2008-09 se ha realizado con la criba de 4,5 mm y el B con la de 5,5 mm, el resto de experimentos de esta campaña se ha realizado con la criba de 5,5 mm y, adicionalmente, los puntos centrales se han replicado con la de 4,5 mm. Para la campaña 2009-10 se ha empleado solo la criba de 4,5 mm.

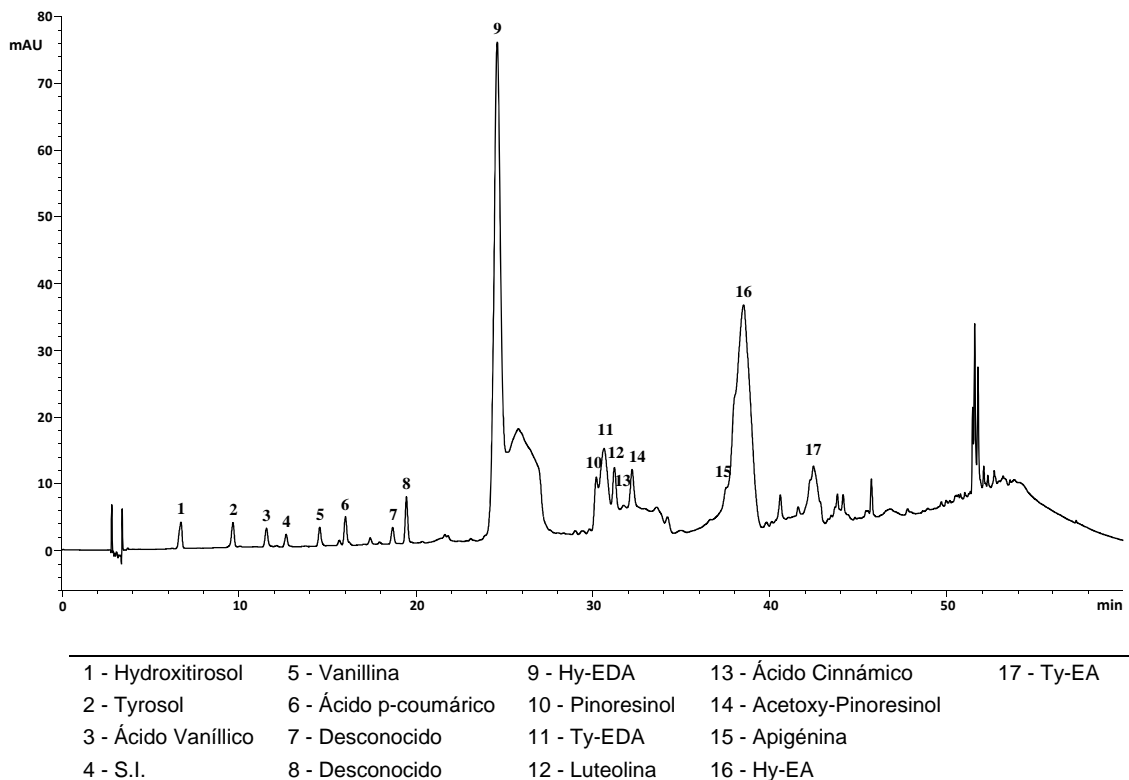
**Tabla 5.5.** Diseño CCR utilizado en las campañas 2008-09 y 2009-10

Identificación	Factores					
	Temperatura (°C)		Tiempo (min)		Talco (%)	
	Codificado	Real	Codificado	Real	Codificado	Real
1	-1,68	6,4	0	40	0	1,25
2	-1	20	-1	20	-1	0,5
3	-1	20	-1	20	+1	2
4	-1	20	+1	60	-1	0,5
5	-1	20	+1	60	+1	2
6	0	40	-1,68	6,4	0	1,25
7	0	40	0	40	-1,68	0
8	0	40	0	40	0	1,25
9	0	40	0	40	0	1,25
10	0	40	0	40	0	1,25
11	0	40	0	40	0	1,25
12	0	40	0	40	+1,68	2,5
13	0	40	+1,68	73,6	0	1,25
14	+1	60	-1	20	-1	0,5
15	+1	60	-1	20	+1	2
16	+1	60	+1	60	-1	0,5
17	+1	60	+1	60	+1	2
18	+1,68	70	0	40	0	1,25

### 5.1.3. RESULTADOS EXPERIMENTALES

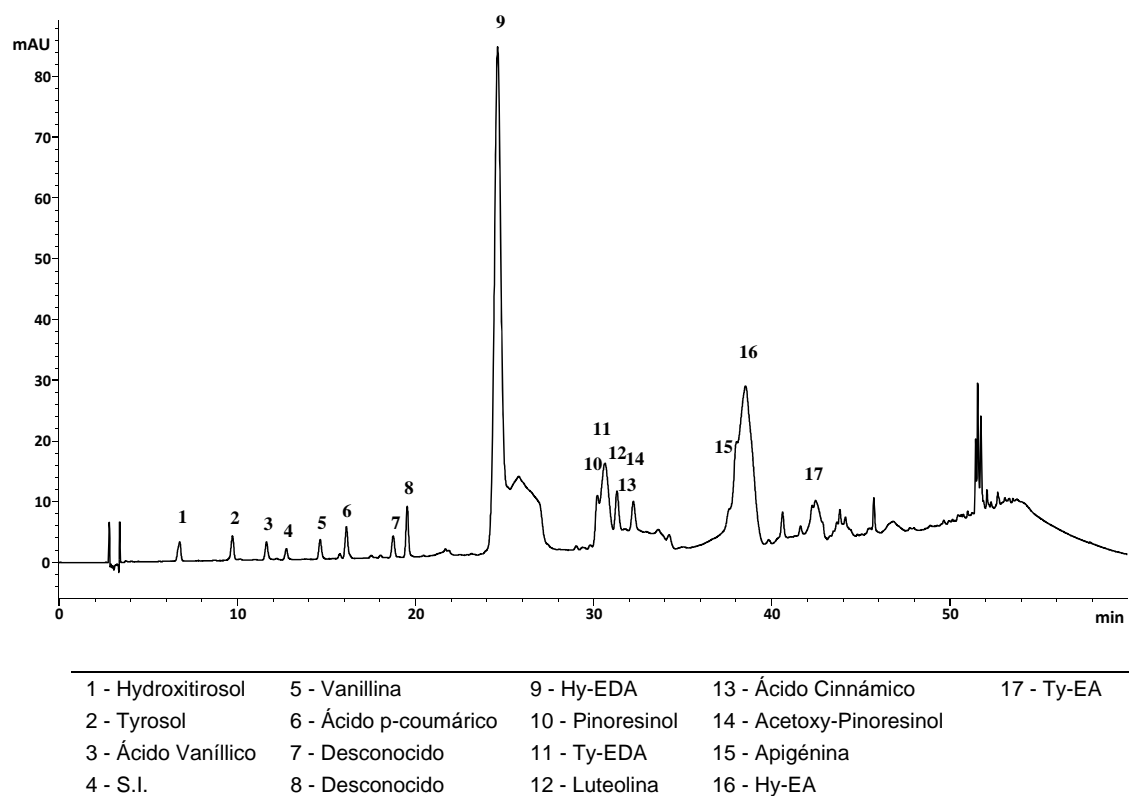
A los diferentes ensayos realizados, en las tres campañas, se les ha determinado el rendimiento de extracción, en base húmeda, (R) como los kg aceite obtenidos por cada 100 kg de aceituna y, a todos los aceites, los parámetros de calidad reglamentada, acidez (IA), índice de peróxidos (IP),  $K_{270}$ ,  $K_{232}$ , contenido en pigmentos fotosintéticos (clorofilas (Clrf) y carotenoides (Crd)), polifenoles totales (PTE) y ortodifenoles (ODF) (determinados espectrofotométricamente) y los antioxidantes por separado: hidroxitirosol (Hy), tirosol (Ty), ácido vanílico (VCO), vanillina (VNA), ácido p-coumarico (pCOU), Hy-EDA, pinosinol (PR), Ty-EDA, luteolina (LTNA), ácido cinnámico (CNCO), acetoxi-pinosinol (APR), apigenina (APG), Hy-EA, Ty-EA, polifenoles totales por cromatografía líquida (PTCL),  $\alpha$ -tocoferol (ATCO),  $\beta$ -tocoferol (BTCO),  $\gamma$ -tocoferol (GTCO) y tocoferoles totales (TCTO), todos ellos determinados mediante cromatografía líquida de alta resolución.

En la Figura 5.4 se muestra el cromatograma correspondiente a la muestra E de aceituna de riego con IM 3,8 de la campaña 2009-10. Para esta muestra los factores reales se han fijado en 60° para la temperatura de batido, 20 minutos de tiempo y 2 % de dosis de talco.



**Figura. 5.4.** Cromatograma. Muestra E. IM = 3,8. Riego. Campaña 2009-10

En la Figura 5.5 se muestra el cromatograma de la muestra F de aceituna de secano, IM 4,0, campaña 2009-10. Las condiciones de batido también fueron 60° de temperatura, 20 minutos de tiempo y 2% de coadyuvante.



**Figura. 5.5.** Cromatograma. Muestra F. IM = 4,1. Secano. Campaña 2009-10

En ambas figuras, a modo de ejemplo, se muestran los antioxidantes identificados en todas las muestras de aceites estudiados. Los picos identificados han sido: (1) hidroxitirosol (Hy); (2) tirosol (Ty); (3) ácido vanílico (VCO); (4) patrón interno (S.I.); (5) vanillina (VNA); (6) ácido p-coumárico (pCOU); (9) Hy-EDA; (10) pinoresinol (PR); (11) Ty-EDA; (12) luteolina (LTNA); (13) ácido cinnámico (CNCO); (14) acetoxipinoresinol (APR); (15) apigenina (APG); (16) Hy-EA; (17) Ty-EA.

En las Tablas 5.6 a 5.49 se recogen todos los datos experimentales obtenidos durante las tres campañas estudiadas. En ellas, en la columna “identificación” el primer número representa la campaña a la que pertenece la muestra estudiada, la letra que le sigue identifica la muestra de aceitunas de las Tablas 5.1 a 5.3, según campaña, y el número indica las condiciones de batido, según el diseño experimental empleado, de las Tablas 5.4 y 5.5. Los encabezados de las columnas de las tablas se describen al principio de este Apartado.

Las Tablas 5.18 y 5.19 se han realizado con la misma aceituna, en la primera se ha usado la criba de 4,5 mm y en la segunda la de 5,5 mm. En las Tablas 5.20 a 5.33 los ensayos 8 a 11 son los puntos centrales del diseño experimental, realizado con la criba de 5,5 mm, y los ensayos 19 a 22 son las réplicas de los puntos centrales realizados con la criba de 4,5 mm.

**Tabla 5.6.** Respuestas experimento A. Campaña 2007-08

Identificación	R (%)	IA (%)	IP (mEqO <sub>2</sub> / kg)	K <sub>270</sub>	K <sub>232</sub>	Clrf (mg/kg)	Crd (mg/kg)
7A1	15,6	0,20	2,45	0,178	1,49	43,3	14,3
7A2	16,6	0,22	3,40	0,179	1,63	47,2	15,0
7A3	15,5	0,21	3,68	0,187	1,53	46,1	15,0
7A4	15,8	0,19	3,36	0,136	1,33	44,4	14,1
7A5	16,9	0,20	3,81	0,174	1,69	46,9	15,1
7A6	17,5	0,18	2,68	0,152	1,52	46,8	14,7
7A7	13,9	0,27	5,56	0,283	2,05	67,1	19,6
7A8	17,2	0,26	5,36	0,287	2,09	76,4	22,4
7A9	12,9	0,22	5,50	0,196	1,48	100,0	29,7
7A10	14,6	0,25	2,73	0,214	1,77	78,1	23,3

Identificación	PTE (mg/kg)	ODF (mg/kg)	Hy (mg/kg)	Ty (mg/kg)	VCO (mg/kg)	VNA (mg/kg)	pCOU (mg/kg)
7A1	232	141,9	3,09	3,02	1,48	0,00	2,10
7A2	305	121,9	2,58	2,90	1,85	0,00	2,37
7A3	325	124,8	3,52	3,65	1,76	0,00	2,23
7A4	476	111,0	3,25	3,83	1,92	0,00	2,30
7A5	463	96,0	2,75	3,72	1,70	0,00	1,96
7A6	512	103,9	2,64	4,08	1,84	0,00	2,12
7A7	812	155,1	4,35	5,22	1,26	0,52	1,97
7A8	898	180,1	4,57	5,85	1,36	0,51	2,16
7A9	724	146,7	4,28	6,17	1,17	0,98	2,57
7A10	785	204,7	4,99	6,44	0,68	0,57	1,14

**Tabla 5.7.** Respuestas experimento A. Campaña 2007-08. Continuación

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EDA (mg/kg)</b>	<b>PR (mg/kg)</b>	<b>Ty-EDA (mg/kg)</b>	<b>LTNA (mg/kg)</b>	<b>CNCO (mg/kg)</b>	<b>APR (mg/kg)</b>	<b>APG (mg/kg)</b>
7A1	499,8	3,05	31,5	31,0	1,18	23,7	7,07
7A2	479,2	2,71	29,8	32,5	1,10	22,6	6,74
7A3	568,1	3,29	37,7	34,0	1,28	26,5	8,34
7A4	458,7	3,39	35,4	33,0	1,05	22,7	7,94
7A5	410,0	3,34	45,9	30,0	1,12	20,2	7,15
7A6	444,1	3,57	55,0	30,2	1,17	21,0	6,70
7A7	965,0	4,29	208,7	23,2	1,04	21,6	9,67
7A8	971,1	4,55	180,7	25,1	1,14	26,5	12,17
7A9	932,3	5,00	322,8	18,1	0,63	12,9	6,79
7A10	884,3	4,78	257,8	16,9	0,87	18,6	8,19

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EA (mg/kg)</b>	<b>Ty-EA (mg/kg)</b>	<b>PTCL (mg/kg)</b>	<b>ATCO (mg/kg)</b>	<b>BTCO (mg/kg)</b>	<b>GTCO (mg/kg)</b>	<b>TCOT (mg/kg)</b>
7A1	62,3	21,0	694	343,9	3,07	8,73	355,7
7A2	51,5	22,7	662	334,4	3,24	8,45	346,1
7A3	73,9	23,9	792	335,5	3,27	9,35	348,1
7A4	65,6	30,6	673	348,1	3,06	10,49	361,7
7A5	64,3	37,6	633	347,6	3,28	10,55	361,4
7A6	59,7	39,3	675	370,9	2,93	11,94	385,8
7A7	601,6	233,9	2086	338,2	3,15	11,23	352,6
7A8	590,3	182,8	2012	344,4	3,47	10,21	358,1
7A9	715,0	269,0	2301	371,3	3,46	12,28	387,1
7A10	1002,9	308,7	2520	351,2	3,12	9,47	363,8

**Tabla 5.8.** Respuestas experimento B. Campaña 2007-08

Identificación	R (%)	IA (%)	IP (mEqO <sub>2</sub> / kg)	K <sub>270</sub>	K <sub>232</sub>	Clrf (mg/kg)	Crd (mg/kg)
7B1	18,2	0,18	2,24	0,139	1,29	45,4	18,0
7B2	19,4	0,19	2,59	0,164	1,31	47,4	18,3
7B3	18,6	0,18	2,79	0,184	1,33	53,4	20,6
7B4	18,1	0,17	3,52	0,197	1,33	49,5	19,7
7B5	19,5	0,13	2,37	0,172	1,20	49,7	19,3
7B6	19,4	0,16	2,67	0,194	1,35	56,8	21,9
7B7	18,0	0,28	4,95	0,203	1,47	87,9	30,3
7B8	19,2	0,24	4,81	0,313	2,06	101,8	35,0
7B9	19,3	0,25	2,90	0,261	1,94	127,1	47,5
7B10	19,8	0,23	3,08	0,238	1,68	124,6	42,6

Identificación	PTE (mg/kg)	ODF (mg/kg)	Hy (mg/kg)	Ty (mg/kg)	VCO (mg/kg)	VNA (mg/kg)	pCOU (mg/kg)
7B1	807	103,1	3,11	3,90	1,02	0,00	1,05
7B2	839	139,3	2,97	3,92	1,01	0,00	1,07
7B3	781	113,7	2,92	3,97	1,12	0,00	1,18
7B4	763	105,8	3,09	4,24	1,09	0,00	1,05
7B5	541	36,3	1,98	3,48	0,89	0,00	0,80
7B6	605	85,0	2,21	3,67	0,90	0,00	0,90
7B7	1267	237,6	6,08	6,27	0,72	0,58	0,80
7B8	1357	369,8	5,15	5,88	0,74	0,64	0,97
7B9	1241	319,2	6,70	7,68	0,74	0,85	0,66
7B10	1237	349,5	6,35	7,76	0,75	1,18	0,86

**Tabla 5.9.** Respuestas experimento B. Campaña 2007-08. Continuación

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EDA (mg/kg)</b>	<b>PR (mg/kg)</b>	<b>Ty-EDA (mg/kg)</b>	<b>LTNA (mg/kg)</b>	<b>CNCO (mg/kg)</b>	<b>APR (mg/kg)</b>	<b>APG (mg/kg)</b>
7B1	747,9	3,01	34,6	37,7	1,44	29,4	4,92
7B2	823,1	3,27	34,1	42,6	1,71	32,7	5,03
7B3	649,8	3,11	47,0	35,5	1,46	26,5	4,27
7B4	729,1	3,51	44,5	39,1	1,83	28,2	5,16
7B5	270,2	2,83	47,9	25,5	1,11	18,4	3,31
7B6	408,9	2,58	51,5	27,0	1,21	22,9	3,25
7B7	1539,4	3,58	298,2	23,0	1,79	25,7	12,34
7B8	1639,2	4,30	275,7	26,3	1,81	29,8	18,38
7B9	1370,6	5,09	394,9	17,3	1,05	14,9	10,46
7B10	1362,9	5,54	368,6	16,0	0,99	15,4	18,24

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EA (mg/kg)</b>	<b>Ty-EA (mg/kg)</b>	<b>PTCL (mg/kg)</b>	<b>ATCO (mg/kg)</b>	<b>BTCO (mg/kg)</b>	<b>GTCO (mg/kg)</b>	<b>TCOT (mg/kg)</b>
7B1	76,7	31,1	79	382,0	3,66	16,6	402,3
7B2	76,9	30,9	1063	385,0	3,77	15,7	404,5
7B3	84,9	38,9	904	371,8	3,29	14,4	398,5
7B4	82,0	40,6	987	383,8	3,56	17,0	404,4
7B5	42,9	44,9	468	380,2	3,66	14,9	398,7
7B6	56,4	43,3	628	381,5	3,99	15,2	400,6
7B7	1032,5	341,1	3295	397,8	3,79	16,8	418,4
7B8	997,9	324,8	3335	399,2	3,62	16,7	419,5
7B9	1548,9	528,5	3912	412,8	3,73	20,7	437,2
7B10	1742,2	584,9	4135	395,7	3,19	18,2	417,2

Tabla 5.10. Respuestas experimento D. Campaña 2007-08

Identificación	R (%)	IA (%)	IP (mEqO <sub>2</sub> / kg)	K <sub>270</sub>	K <sub>232</sub>	Clrf (mg/kg)	Crd (mg/kg)
7D1	19,1	0,18	2,97	0,122	1,19	40,1	16,1
7D2	20,5	0,18	2,40	0,159	1,48	41,9	15,9
7D3	18,8	0,18	2,74	0,185	1,82	49,0	19,3
7D4	19,4	0,19	1,75	0,173	1,42	50,7	20,4
7D5	19,3	0,18	2,30	0,225	1,79	46,8	18,9
7D6	20,6	0,20	1,96	0,242	1,93	50,9	20,1
7D7	19,7	0,20	5,19	0,215	1,49	87,0	32,9
7D8	20,4	0,22	4,25	0,255	1,87	76,8	28,5
7D9	20,7	0,20	7,25	0,377	2,56	79,7	28,9
7D10	20,7	0,33	3,25	0,298	2,15	84,4	30,3

Identificación	PTE (mg/kg)	ODF (mg/kg)	Hy (mg/kg)	Ty (mg/kg)	VCO (mg/kg)	VNA (mg/kg)	pCOU (mg/kg)
7D1	737	141,4	3,36	4,42	1,22	0,00	1,07
7D2	761	113,2	3,01	4,06	1,18	0,00	1,06
7D3	717	100,1	3,42	4,27	1,19	0,00	1,02
7D4	684	112,1	4,46	4,09	1,04	0,00	0,95
7D5	656	99,9	3,26	4,66	1,31	0,00	1,07
7D6	688	87,6	2,74	4,25	1,22	0,00	1,03
7D7	1466	365,8	5,48	5,09	0,74	0,67	0,68
7D8	1392	339,1	5,64	5,61	0,89	0,55	0,81
7D9	1526	409,3	6,70	6,78	0,63	0,92	0,61
7D10	2142	452,2	6,49	6,49	0,77	0,99	0,73

**Tabla 5.11.** Respuestas experimento D. Campaña 2007-08. Continuación

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EDA (mg/kg)</b>	<b>PR (mg/kg)</b>	<b>Ty-EDA (mg/kg)</b>	<b>LTNA (mg/kg)</b>	<b>CNCO (mg/kg)</b>	<b>APR (mg/kg)</b>	<b>APG (mg/kg)</b>
7D1	825,9	3,27	28,1	44,7	1,33	29,7	4,18
7D2	817,9	3,16	27,2	43,8	1,52	26,7	4,58
7D3	815,1	3,30	30,1	44,8	1,34	30,8	4,64
7D4	800,7	3,12	36,2	40,1	1,36	30,9	4,33
7D5	706,8	3,18	39,9	37,2	1,23	28,6	5,01
7D6	668,0	3,10	47,8	34,3	1,29	27,5	4,68
7D7	1571,9	4,00	220,6	24,9	1,74	24,2	23,32
7D8	1533,9	3,47	230,5	28,5	1,49	31,1	26,42
7D9	1352,8	4,12	315,6	14,5	0,97	12,5	23,51
7D10	1290,5	4,48	318,5	16,4	0,79	13,2	21,79

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EA (mg/kg)</b>	<b>Ty-EA (mg/kg)</b>	<b>PTCL (mg/kg)</b>	<b>ATCO (mg/kg)</b>	<b>BTCO (mg/kg)</b>	<b>GTCO (mg/kg)</b>	<b>TCOT (mg/kg)</b>
7D1	62,7	31,4	1045	346,5	2,58	22,0	371,0
7D2	64,3	25,5	1027	344,2	3,04	23,9	371,2
7D3	81,9	36,4	1062	341,9	3,13	21,4	366,4
7D4	91,6	41,2	1063	354,6	3,01	21,9	379,5
7D5	83,3	50,5	969	348,8	3,53	21,6	373,9
7D6	79,8	48,0	927	353,3	3,20	22,2	378,6
7D7	1059,3	292,6	3239	361,3	3,13	22,5	386,9
7D8	910,5	264,2	3047	372,3	2,99	23,8	399,1
7D9	1958,2	502,0	4203	374,5	3,35	23,4	401,3
7D10	1739,1	450,5	3874	392,7	5,77	27,8	426,2

Tabla 5.12. Respuestas experimento E. Campaña 2007-08

Identificación	R (%)	IA (%)	IP (mEqO <sub>2</sub> / kg)	K <sub>270</sub>	K <sub>232</sub>	Clrf (mg/kg)	Crd (mg/kg)
7E1	19,9	0,19	2,09	0,149	1,49	30,0	10,4
7E2	21,0	0,19	2,05	0,094	1,35	32,5	11,1
7E3	19,1	0,16	2,67	0,151	1,69	31,5	10,9
7E4	18,6	0,16	1,99	0,120	1,45	34,1	11,5
7E5	19,8	0,17	2,40	0,105	1,35	31,3	11,3
7E6	22,4	0,19	2,81	0,130	1,35	29,8	10,5
7E7	18,6	0,24	3,04	0,132	1,35	40,4	14,6
7E8	21,3	0,24	3,34	0,181	1,72	41,5	14,6
7E9	20,4	0,24	4,46	0,229	2,04	41,9	14,2
7E10	22,2	0,26	4,44	0,263	2,45	47,3	16,1

Identificación	PTE (mg/kg)	ODF (mg/kg)	Hy (mg/kg)	Ty (mg/kg)	VCO (mg/kg)	VNA (mg/kg)	pCOU (mg/kg)
7E1	574	79,2	2,46	3,36	1,31	0,00	1,12
7E2	575	58,8	4,16	4,45	1,61	0,00	1,44
7E3	503	73,2	2,64	4,02	1,61	0,00	1,28
7E4	515	65,6	2,51	3,86	1,34	0,00	1,22
7E5	498	71,0	2,57	3,97	1,45	0,00	1,28
7E6	487	64,0	3,02	4,85	1,71	0,00	1,42
7E7	1080	205,1	4,22	5,03	1,10	0,59	1,17
7E8	1030	200,9	4,63	6,67	1,32	0,64	1,40
7E9	1068	269,5	4,09	5,61	0,39	0,40	0,50
7E10	1015	213,6	4,98	7,39	0,97	1,09	1,22

**Tabla 5.13.** Respuestas experimento E. Campaña 2007-08. Continuación

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EDA (mg/kg)</b>	<b>PR (mg/kg)</b>	<b>Ty-EDA (mg/kg)</b>	<b>LTNA (mg/kg)</b>	<b>CNCO (mg/kg)</b>	<b>APR (mg/kg)</b>	<b>APG (mg/kg)</b>
7E1	375,5	2,80	14,4	35,9	0,66	18,9	6,31
7E2	498,6	3,16	23,3	39,1	0,74	22,6	6,69
7E3	409,5	3,21	19,8	38,4	0,66	20,5	7,08
7E4	417,0	3,22	21,1	44,2	0,87	24,8	7,57
7E5	450,4	3,05	38,5	34,6	0,61	20,9	5,69
7E6	415,3	3,25	35,5	32,8	0,64	19,8	6,37
7E7	1098,8	4,44	158,9	28,4	0,92	24,2	12,86
7E8	999,9	4,62	141,6	30,4	0,95	27,6	13,25
7E9	761,8	4,00	139,5	17,8	0,66	19,5	13,49
7E10	1025,1	4,83	251,5	21,1	0,64	16,2	10,22

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EA (mg/kg)</b>	<b>Ty-EA (mg/kg)</b>	<b>PTCL (mg/kg)</b>	<b>ATCO (mg/kg)</b>	<b>BTCO (mg/kg)</b>	<b>GTCO (mg/kg)</b>	<b>TCOT (mg/kg)</b>
7E1	40,0	13,4	520	281,6	3,31	18,7	303,6
7E2	52,8	14,3	676	279,8	3,44	18,8	302,1
7E3	47,6	17,5	577	314,3	3,62	19,6	337,5
7E4	52,7	10,2	594	272,7	3,45	18,8	294,9
7E5	69,3	31,2	667	281,9	3,31	18,3	303,5
7E6	58,6	23,4	610	286,7	3,71	18,3	308,7
7E7	609,9	157,2	2111	280,4	3,77	19,1	303,2
7E8	567,2	145,9	1950	288,3	3,19	19,6	311,0
7E9	796,7	165,0	1933	278,4	3,77	19,3	301,4
7E10	1044,0	292,3	2685	286,0	3,65	19,6	309,3

Tabla 5.14. Respuestas experimento F. Campaña 2007-08

Identificación	R (%)	IA (%)	IP (mEqO <sub>2</sub> / kg)	K <sub>270</sub>	K <sub>232</sub>	Clrf (mg/kg)	Crd (mg/kg)
7F1	16,7	0,17	2,25	0,134	1,33	33,8	10,7
7F2	20,2	0,17	1,07	0,116	1,24	29,8	9,3
7F3	16,5	0,16	1,67	0,208	1,51	33,4	10,8
7F4	15,1	0,16	1,50	0,167	1,73	32,4	10,3
7F5	20,3	0,16	1,61	0,164	1,33	31,9	10,0
7F6	22,0	0,16	1,48	0,198	2,14	26,9	8,3
7F7	18,4	0,17	1,53	1,174	1,44	29,3	9,8
7F8	20,7	0,18	1,64	0,381	2,54	28,5	8,8
7F9	19,6	0,17	3,47	0,212	1,93	28,8	9,7
7F10	21,6	0,23	2,93	0,217	1,84	30,2	10,5

Identificación	PTE (mg/kg)	ODF (mg/kg)	Hy (mg/kg)	Ty (mg/kg)	VCO (mg/kg)	VNA (mg/kg)	pCOU (mg/kg)
7F1	597	99,6	2,67	2,45	0,00	0,00	0,46
7F2	639	95,3	3,54	3,23	0,56	0,00	0,62
7F3	622	90,2	1,85	2,11	0,00	0,00	0,49
7F4	641	93,9	1,98	2,06	0,41	0,00	0,48
7F5	626	70,8	2,25	2,47	0,55	0,00	0,62
7F6	653	86,0	2,90	3,79	0,65	0,00	0,71
7F7	965	213,1	2,28	1,66	0,00	0,39	0,38
7F8	1007	209,4	3,26	2,87	0,00	0,51	0,49
7F9	939	208,9	2,86	2,18	0,00	0,81	0,35
7F10	1071	266,0	4,32	3,82	0,44	0,91	0,64

**Tabla 5.15.** Respuestas experimento F. Campaña 2007-08. Continuación

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EDA (mg/kg)</b>	<b>PR (mg/kg)</b>	<b>Ty-EDA (mg/kg)</b>	<b>LTNA (mg/kg)</b>	<b>CNCO (mg/kg)</b>	<b>APR (mg/kg)</b>	<b>APG (mg/kg)</b>
7F1	456,6	2,43	19,2	30,0	1,02	21,2	3,16
7F2	556,0	2,61	22,4	30,5	1,12	20,8	3,77
7F3	478,2	2,56	17,0	31,3	1,09	18,6	3,57
7F4	445,0	2,54	18,4	29,5	1,14	18,3	3,62
7F5	403,0	2,45	27,0	29,0	0,89	15,9	3,81
7F6	468,5	2,55	32,0	30,3	0,92	17,3	3,18
7F7	838,2	2,39	127,9	17,9	1,00	16,4	7,48
7F8	930,2	3,07	143,5	21,0	1,11	18,9	9,86
7F9	819,5	3,13	212,1	11,7	0,66	8,9	9,87
7F10	905,1	3,50	210,2	14,6	0,72	10,0	11,89

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EA (mg/kg)</b>	<b>Ty-EA (mg/kg)</b>	<b>PTCL (mg/kg)</b>	<b>ATCO (mg/kg)</b>	<b>BTCO (mg/kg)</b>	<b>GTCO (mg/kg)</b>	<b>TCOT (mg/kg)</b>
7F1	63,4	27,1	633	288,3	3,22	23,0	314,5
7F2	71,3	23,8	744	306,2	3,27	23,8	333,3
7F3	56,5	25,6	642	298,7	3,13	26,4	328,2
7F4	59,3	29,1	615	295,9	5,03	21,8	322,8
7F5	71,5	27,7	591	308,1	3,55	23,2	334,8
7F6	73,3	25,7	665	312,7	3,70	23,3	339,7
7F7	494,3	103,4	1617	335,5	4,63	25,8	366,0
7F8	599,7	147,3	1885	327,7	3,74	24,6	356,0
7F9	1011,8	240,2	2327	337,8	3,89	24,1	365,8
7F10	1177,7	299,9	2647	334,0	3,78	24,3	362,1

**Tabla 5.16.** Respuestas experimento G. Campaña 2007-08

Identificación	R (%)	IA (%)	IP (mEqO <sub>2</sub> / kg)	K <sub>270</sub>	K <sub>232</sub>	Clrf (mg/kg)	Crd (mg/kg)
7G1	18,0	0,13	3,20	0,169	1,72	24,6	7,1
7G2	23,1	0,13	3,32	0,174	1,61	24,9	7,1
7G3	18,9	0,14	2,91	0,133	1,56	28,8	8,9
7G4	19,2	0,12	3,25	0,133	1,43	31,3	9,7
7G5	20,1	0,13	2,97	0,124	1,35	29,3	9,2
7G6	23,6	0,12	2,87	0,170	1,40	29,1	9,1
7G7	18,5	0,16	2,86	0,199	1,40	33,4	11,0
7G8	22,3	0,14	3,23	0,185	1,37	31,2	10,0
7G9	21,5	0,16	3,32	0,200	1,63	28,6	10,0
7G10	24,1	0,14	3,57	0,194	1,62	30,8	10,5

Identificación	PTE (mg/kg)	ODF (mg/kg)	Hy (mg/kg)	Ty (mg/kg)	VCO (mg/kg)	VNA (mg/kg)	pCOU (mg/kg)
7G1	509	104,7	2,96	3,22	0,46	0,00	0,45
7G2	593	95,4	4,21	4,06	0,73	0,00	0,60
7G3	573	95,2	2,36	2,32	0,40	0,00	0,34
7G4	560	89,7	1,56	2,09	0,00	0,00	0,35
7G5	515	73,1	2,15	3,28	0,69	0,00	0,45
7G6	562	98,8	2,92	3,26	0,65	0,00	0,53
7G7	861	170,6	3,16	4,05	0,00	0,49	0,29
7G8	902	138,2	2,54	0,00	0,00	0,44	0,34
7G9	783	156,8	2,70	2,63	0,00	1,04	0,32
7G10	908	152,8	3,80	3,23	0,00	1,23	0,46

**Tabla 5.17.** Respuestas experimento G. Campaña 2007-08. Continuación

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EDA (mg/kg)</b>	<b>PR (mg/kg)</b>	<b>Ty-EDA (mg/kg)</b>	<b>LTNA (mg/kg)</b>	<b>CNCO (mg/kg)</b>	<b>APR (mg/kg)</b>	<b>APG (mg/kg)</b>
7G1	278,1	2,35	14,0	30,6	0,66	13,45	3,73
7G2	361,1	2,11	13,6	28,7	0,72	14,30	3,62
7G3	332,1	2,16	17,2	25,0	0,75	14,58	2,90
7G4	295,3	2,00	7,6	22,5	0,58	9,63	3,06
7G5	200,1	2,18	15,8	21,9	0,47	10,15	3,21
7G6	312,8	2,29	26,4	22,7	0,61	11,75	3,59
7G7	728,3	2,53	109,5	16,9	0,80	12,04	4,58
7G8	727,2	2,30	96,9	17,1	0,80	12,49	5,06
7G9	715,6	2,81	189,7	10,1	0,44	5,04	6,22
7G10	884,6	3,15	217,9	11,5	0,40	5,85	7,75

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EA (mg/kg)</b>	<b>Ty-EA (mg/kg)</b>	<b>PTCL (mg/kg)</b>	<b>ATCO (mg/kg)</b>	<b>BTCO (mg/kg)</b>	<b>GTCO (mg/kg)</b>	<b>TCOT (mg/kg)</b>
7G1	35,7	16,6	406	281,3	3,42	19,3	304,0
7G2	42,9	14,6	495	301,4	3,56	20,1	325,0
7G3	45,3	18,3	467	277,0	3,49	19,8	300,2
7G4	23,6	9,9	382	297,5	2,88	25,5	325,9
7G5	27,8	15,7	307	292,5	3,29	20,3	316,2
7G6	42,9	16,7	451	291,1	3,34	19,9	314,3
7G7	261,4	54,9	1203	291,3	3,42	19,6	314,4
7G8	254,6	46,7	1170	295,7	3,77	22,7	322,1
7G9	556,3	135,7	1632	299,3	3,82	19,3	322,3
7G10	747,8	185,5	2077	301,1	3,52	19,7	324,3

**Tabla 5.18.** Respuestas experimento A. Campaña 2008-09

Identificación	R (%)	IA (%)	IP (mEqO <sub>2</sub> / kg)	K <sub>270</sub>	K <sub>232</sub>	Clrf (mg/kg)	Crd (mg/kg)
8A1	7,01	0,19	4,38	0,222	1,67	67,4	26,4
8A2	7,39	0,19	4,74	0,209	1,60	67,1	26,7
8A3	8,26	0,21	7,92	0,218	1,77	69,3	27,0
8A4	8,76	0,17	5,46	0,165	1,50	74,2	29,8
8A5	8,60	0,19	4,01	0,175	1,48	79,0	32,3
8A6	6,68	0,22	7,71	0,271	1,88	88,8	33,0
8A7	7,55	0,23	5,57	0,218	1,69	112,9	41,9
8A8	9,23	0,19	5,90	0,246	1,63	135,7	46,8
8A9	8,70	0,22	7,77	0,227	1,74	128,9	48,1
8A10	9,09	0,24	5,37	0,234	1,70	135,1	49,2
8A11	9,26	0,19	5,32	0,239	1,69	126,8	45,6
8A12	9,74	0,16	4,81	0,228	1,63	121,6	46,2
8A13	9,46	0,17	5,47	0,200	1,57	135,8	51,5
8A14	8,06	0,24	5,05	0,267	1,97	146,3	51,5
8A15	8,87	0,24	4,63	0,304	1,96	133,8	49,9
8A16	9,27	0,20	5,02	0,300	1,81	176,2	69,8
8A17	9,23	0,21	5,43	0,274	1,73	175,3	68,6
8A18	9,06	0,20	4,88	0,338	1,88	236,7	77,9

Identificación	PTE (mg/kg)	ODF (mg/kg)	Hy (mg/kg)	Ty (mg/kg)	VCO (mg/kg)	VNA (mg/kg)	pCOU (mg/kg)
8A1	491	51,2	2,86	4,59	1,82	0,25	0,76
8A2	700	62,7	6,18	6,59	2,17	0,41	1,24
8A3	770	77,3	9,04	8,07	1,97	0,32	1,77
8A4	465	9,4	1,07	4,46	1,37	0,35	1,26
8A5	440	11,1	1,34	4,65	1,70	0,39	0,77
8A6	956	122,0	9,18	6,46	0,95	0,38	1,60
8A7	540	49,3	3,22	4,58	0,65	0,52	0,89
8A8	346	49,3	1,32	3,92	0,54	0,57	0,66
8A9	294	36,6	1,34	4,14	0,78	0,59	0,94
8A10	340	39,0	1,55	4,23	0,68	0,58	0,82
8A11	299	43,2	1,56	4,63	1,42	0,58	0,78
8A12	290	29,8	1,37	4,65	1,17	0,54	0,68
8A13	242	28,8	0,37	3,22	0,76	0,67	0,63
8A14	969	152,0	7,56	7,64	1,93	0,78	2,15
8A15	1052	165,0	7,72	7,75	1,78	0,77	1,84
8A16	568	47,4	3,79	6,55	1,65	1,78	1,50
8A17	573	57,8	3,83	6,70	1,47	1,12	1,47
8A18	692	84,1	3,93	6,95	1,93	2,31	1,93

**Tabla 5.19.** Respuestas experimento A. Campaña 2008-09. Continuación

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EDA (mg/kg)</b>	<b>PR (mg/kg)</b>	<b>Ty-EDA (mg/kg)</b>	<b>LTNA (mg/kg)</b>	<b>CNCO (mg/kg)</b>	<b>APR (mg/kg)</b>	<b>APG (mg/kg)</b>
8A1	72,5	1,98	9,9	25,1	0,97	12,20	3,92
8A2	208,9	2,90	27,9	30,2	1,22	24,00	4,60
8A3	272,9	3,11	30,7	33,5	1,77	24,40	5,73
8A4	9,8	2,77	35,9	22,4	1,07	8,28	2,36
8A5	5,1	2,76	28,1	25,7	0,89	9,14	2,94
8A6	499,6	3,00	87,9	34,6	2,23	20,80	5,71
8A7	146,8	2,99	194,2	23,5	1,28	9,59	2,28
8A8	35,7	2,68	187,9	17,0	0,83	7,51	1,51
8A9	28,9	2,73	188,4	19,1	0,94	7,22	2,01
8A10	40,6	2,68	215,0	21,8	1,02	8,26	2,67
8A11	34,5	3,49	137,5	21,0	0,99	7,76	2,84
8A12	25,2	3,59	137,1	23,8	0,94	9,11	2,43
8A13	14,9	3,32	204,3	14,0	0,75	6,55	1,20
8A14	754,0	4,26	370,2	28,4	1,55	16,80	6,00
8A15	828,6	4,72	356,7	32,8	1,57	14,40	6,51
8A16	367,5	4,86	398,5	20,7	0,85	4,56	2,68
8A17	378,4	5,26	428,1	22,9	1,08	5,08	2,51
8A18	715,0	5,54	489,5	25,8	1,04	6,38	2,72

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EA (mg/kg)</b>	<b>Ty-EA (mg/kg)</b>	<b>PTCL (mg/kg)</b>	<b>ATCO (mg/kg)</b>	<b>BTCO (mg/kg)</b>	<b>GTCO (mg/kg)</b>	<b>TCOT (mg/kg)</b>
8A1	34,7	57,1	232	504,8	4,60	6,66	516,0
8A2	81,4	116,6	518	515,9	4,90	6,02	526,1
8A3	91,0	108,9	597	528,2	1,93	4,13	534,2
8A4	11,4	96,9	203	521,8	5,93	5,93	533,6
8A5	13,2	100,9	201	558,8	0,00	0,00	558,8
8A6	197,8	114,3	945	507,1	5,28	7,22	519,6
8A7	69,4	107,4	571	511,3	5,88	7,75	524,9
8A8	26,1	153,3	443	529,5	5,13	5,66	540,2
8A9	24,8	150,2	436	526,5	5,77	7,36	539,8
8A10	35,1	172,4	511	527,9	7,37	0,00	535,3
8A11	30,4	164,4	415	552,5	5,41	6,84	564,8
8A12	22,8	158,8	396	563,9	4,55	0,00	568,4
8A13	4,0	142,6	401	520,6	5,91	6,84	533,3
8A14	322,8	254,2	1782	537,0	0,00	0,00	537,0
8A15	364,0	265,8	1898	513,9	4,92	7,91	526,7
8A16	197,6	277,7	1294	516,1	0,00	0,00	516,1
8A17	202,4	294,7	1359	555,4	5,75	6,74	567,9
8A18	231,5	213,0	1712	547,0	4,71	7,97	559,7

Tabla 5.20. Respuestas experimento B. Campaña 2008-09

Identificación	R (%)	IA (%)	IP (mEqO <sub>2</sub> / kg)	K <sub>270</sub>	K <sub>232</sub>	Clrf (mg/kg)	Crd (mg/kg)
8B1	6,43	0,15	3,76	0,171	1,56	49,8	18,3
8B2	6,69	0,19	3,99	0,194	1,65	48,5	18,3
8B3	7,09	0,17	4,23	0,178	1,65	48,2	18,3
8B4	7,39	0,14	5,02	0,167	1,55	55,2	22,0
8B5	7,43	0,16	4,81	0,162	1,55	56,4	22,0
8B6	6,10	0,20	3,96	0,258	1,88	63,5	22,9
8B7	7,48	0,15	5,22	0,224	1,75	84,7	30,7
8B8	7,78	0,17	5,25	0,213	1,66	83,4	34,2
8B9	8,15	0,17	5,05	0,200	1,66	78,5	28,9
8B10	7,81	0,17	5,18	0,209	1,68	80,4	29,4
8B11	8,02	0,17	5,08	0,197	1,65	83,1	30,1
8B12	7,67	0,16	4,50	0,204	1,63	93,2	36,1
8B13	7,99	0,15	5,36	0,231	1,63	107,7	40,1
8B14	5,87	0,21	5,09	0,272	1,91	128,7	46,6
8B15	6,88	0,23	5,23	0,194	1,87	124,5	45,0
8B16	7,29	0,21	5,36	0,282	1,72	178,0	69,3
8B17	7,34	0,22	5,45	0,313	1,78	175,5	68,2
8B18	7,07	0,22	4,88	0,348	1,89	180,0	71,5

Identificación	PTE (mg/kg)	ODF (mg/kg)	Hy (mg/kg)	Ty (mg/kg)	VCO (mg/kg)	VNA (mg/kg)	pCOU (mg/kg)
8B1	565	66,2	6,19	7,40	2,39	0,25	2,62
8B2	666	72,9	6,93	8,02	3,28	0,26	1,88
8B3	676	72,9	7,68	8,27	2,92	0,25	1,66
8B4	434	20,4	1,25	6,58	2,52	0,27	1,09
8B5	441	13,7	1,74	6,83	1,96	0,24	1,11
8B6	1089	167,5	16,99	12,00	2,51	0,31	2,41
8B7	558	60,2	3,87	6,83	1,67	0,36	1,45
8B8	551	78,0	2,65	5,07	1,27	0,34	1,19
8B9	556	70,9	3,78	5,69	1,36	0,42	1,50
8B10	606	80,3	4,22	6,39	1,60	0,45	1,72
8B11	606	74,8	3,87	6,22	1,55	0,44	1,69
8B12	498	55,3	2,11	5,55	1,47	0,49	1,34
8B13	299	23,0	0,63	3,95	1,07	0,35	0,73
8B14	885	128,3	8,44	7,73	1,62	0,55	1,30
8B15	878	134,2	7,84	7,69	1,95	0,63	1,40
8B16	516	22,2	3,03	6,12	1,20	0,85	1,33
8B17	586	40,0	3,98	6,61	1,58	1,09	1,13
8B18	771	91,6	4,74	9,08	2,86	1,59	2,82

**Tabla 5.21.** Respuestas experimento B Campaña 2008-09. Continuación

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EDA (mg/kg)</b>	<b>PR (mg/kg)</b>	<b>Ty-EDA (mg/kg)</b>	<b>LTNA (mg/kg)</b>	<b>CNCO (mg/kg)</b>	<b>APR (mg/kg)</b>	<b>APG (mg/kg)</b>
8B1	154,3	3,00	23,3	27,6	1,56	18,51	6,36
8B2	216,5	3,30	27,5	34,3	1,38	19,37	6,22
8B3	216,2	3,21	28,1	31,7	1,39	23,45	5,22
8B4	17,9	3,16	33,2	28,6	0,96	9,52	3,87
8B5	22,2	3,34	36,6	30,5	1,29	13,94	3,79
8B6	737,1	4,18	76,0	41,7	2,85	38,18	8,60
8B7	177,2	3,73	209,4	28,2	1,53	12,10	3,87
8B8	104,7	3,08	177,0	18,9	1,11	9,80	3,84
8B9	125,2	3,59	142,5	27,4	1,03	9,77	4,54
8B10	186,3	4,02	211,9	26,5	1,31	11,31	4,79
8B11	199,8	4,02	231,7	29,0	1,47	9,58	5,15
8B12	61,8	3,76	167,2	31,5	1,11	5,97	2,93
8B13	9,9	3,44	114,8	21,6	0,63	1,83	2,35
8B14	632,6	4,24	289,2	25,9	1,20	13,39	6,02
8B15	635,1	4,37	274,3	35,7	1,27	13,97	5,14
8B16	260,6	4,33	397,6	17,2	0,72	1,89	2,13
8B17	300,0	4,28	344,1	13,4	0,52	2,63	2,66
8B18	684,9	5,98	489,2	17,2	1,03	5,38	2,73

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EA (mg/kg)</b>	<b>Ty-EA (mg/kg)</b>	<b>PTCL (mg/kg)</b>	<b>ATCO (mg/kg)</b>	<b>BTCO (mg/kg)</b>	<b>GTCO (mg/kg)</b>	<b>TCOT (mg/kg)</b>
8B1	69,3	84,8	411	485,3	5,20	6,98	497,5
8B2	70,1	85,3	488	461,8	3,78	0,00	466,7
8B3	88,0	88,6	510	465,7	4,88	6,60	477,1
8B4	15,4	102,1	230	465,5	3,05	0,00	468,6
8B5	16,9	120,3	264	471,0	5,24	6,03	482,3
8B6	189,2	142,4	1278	470,2	3,93	5,33	479,4
8B7	101,3	199,5	754	472,1	4,77	6,42	483,3
8B8	63,3	159,2	555	495,2	5,21	6,41	506,8
8B9	69,8	150,7	551	475,1	5,04	7,82	488,0
8B10	88,1	173,0	725	484,7	5,19	6,59	496,5
8B11	96,4	187,3	782	492,1	8,25	6,55	507,1
8B12	41,0	156,3	486	509,8	5,76	6,75	522,3
8B13	15,5	151,8	333	490,1	0,00	0,00	490,1
8B14	324,0	260,4	1580	522,0	4,80	6,46	533,2
8B15	317,2	198,3	1508	534,8	5,61	9,96	550,4
8B16	137,4	261,4	1099	535,8	6,15	8,35	550,3
8B17	198,9	274,4	1159	531,5	5,42	9,98	546,9
8B18	224,5	202,9	1658	538,5	5,32	0,00	543,9

**Tabla 5.22.** Respuestas experimento C. Campaña 2008-09

Identificación	R (%)	IA (%)	IP (mEq O <sub>2</sub> / kg)	K <sub>270</sub>	K <sub>232</sub>	Clrf (mg/kg)	Crd (mg/kg)
8C1	12,8	0,16	3,32	0,131	1,37	47,5	16,0
8C2	12,3	0,18	3,77	0,213	1,58	69,0	25,3
8C3	13,4	0,21	3,54	0,192	0,81	63,1	22,8
8C4	14,4	0,16	4,45	0,162	1,49	69,8	26,2
8C5	13,8	0,17	4,43	0,181	1,45	74,3	27,4
8C6	12,3	0,23	4,82	0,233	1,74	73,3	25,9
8C7	13,4	0,20	4,76	0,212	1,67	100,5	35,2
8C8	13,4	0,19	4,65	0,217	1,67	86,4	34,3
8C9	13,7	0,20	4,75	0,196	1,61	86,7	29,8
8C10	14,2	0,20	4,65	0,205	1,63	85,9	29,9
8C11	14,2	0,18	4,57	0,208	1,59	89,5	30,4
8C12	13,9	0,22	4,30	0,210	1,72	87,8	29,1
8C13	13,9	0,20	5,02	0,201	1,54	108,0	37,8
8C14	13,4	0,85	3,58	0,294	1,85	130,0	36,4
8C15	13,6	1,04	3,73	0,300	1,87	136,2	38,5
8C16	13,6	0,86	5,18	0,296	1,87	157,5	47,9
8C17	14,5	0,76	4,89	0,279	1,83	159,6	53,3
8C18	13,7	0,28	4,20	0,296	1,99	171,3	61,9
8C19	14,5	0,22	4,29	0,226	1,72	97,7	32,6
8C20	14,5	0,20	4,50	0,202	1,70	94,8	29,2
8C21	14,4	0,21	4,32	0,211	1,70	94,3	31,4
8C22	14,4	0,22	4,45	0,222	1,68	99,2	33,3

Identificación	PTE (mg/kg)	ODF (mg/kg)	Hy (mg/kg)	Ty (mg/kg)	VCO (mg/kg)	VNA (mg/kg)	pCOU (mg/kg)
8C1	576	56,3	4,55	7,35	2,21	0,18	1,32
8C2	749	83,1	6,26	6,34	1,68	0,18	1,16
8C3	788	90,1	8,60	7,96	1,88	0,19	1,42
8C4	439	26,4	1,58	5,33	1,34	0,21	0,73
8C5	446	14,5	1,78	5,40	1,31	0,23	0,75
8C6	1044	157,1	10,72	7,12	1,65	0,25	1,42
8C7	590	55,1	4,05	5,55	1,24	0,35	0,88
8C8	529	60,4	4,27	6,25	1,32	0,32	0,90
8C9	589	61,8	4,71	6,35	1,69	0,31	1,13
8C10	586	59,1	4,45	6,66	1,35	0,32	0,90
8C11	574	52,5	5,70	7,25	1,28	0,35	1,01
8C12	526	79,9	5,55	6,78	1,13	0,32	1,03
8C13	241	35,7	0,73	4,90	1,12	0,35	0,61
8C14	996	263,2	122,94	77,65	1,38	0,52	1,00
8C15	1123	306,5	144,07	89,01	1,46	0,58	1,13
8C16	1070	181,0	75,63	62,89	1,24	0,93	0,86
8C17	1061	173,5	61,96	53,02	1,16	1,02	0,85
8C18	1078	165,5	4,03	7,44	1,10	1,06	1,05
8C19	741	84,8	7,38	7,53	0,97	0,44	1,00
8C20	769	83,3	7,09	7,18	0,91	0,37	1,02
8C21	759	78,0	6,40	6,86	0,88	0,44	1,06
8C22	736	81,4	5,64	6,23	0,77	0,41	0,90

**Tabla 5.23.** Respuestas. Campaña 08-09. Continuación

Identificación	Hy-EDA (mg/kg)	PR (mg/kg)	Ty-EDA (mg/kg)	LTNA (mg/kg)	CNCO (mg/kg)	APR (mg/kg)	APG (mg/kg)
8C1	100,9	2,44	3,9	30,1	0,46	13,32	4,29
8C2	247,9	2,90	24,2	29,6	0,77	16,16	5,78
8C3	323,8	3,23	27,3	34,3	0,98	19,09	6,93
8C4	23,0	2,92	29,0	23,6	0,48	10,00	3,03
8C5	31,2	2,88	33,5	24,3	0,93	9,39	3,44
8C6	566,6	3,56	58,2	32,9	2,15	22,05	8,11
8C7	165,2	3,44	140,0	17,6	0,96	13,74	4,66
8C8	144,7	3,40	122,9	28,2	1,24	9,87	4,23
8C9	199,7	3,10	107,8	29,0	1,17	11,17	5,16
8C10	168,0	3,53	136,9	25,9	1,26	10,28	6,45
8C11	172,2	3,57	133,1	34,9	1,53	12,53	5,17
8C12	262,9	3,17	147,7	30,5	1,63	13,32	6,14
8C13	6,1	3,32	122,0	20,5	0,60	3,97	2,26
8C14	816,1	7,72	367,7	23,5	1,87	22,74	6,28
8C15	898,8	5,24	381,1	23,1	2,06	19,32	6,73
8C16	588,5	5,44	514,4	25,1	1,00	12,67	5,70
8C17	535,5	4,40	469,5	22,1	0,60	5,72	5,46
8C18	699,5	3,86	357,1	17,7	0,51	6,71	2,06
8C19	320,4	3,13	151,9	27,1	1,64	13,89	6,74
8C20	299,0	3,15	155,7	30,6	1,83	14,85	6,78
8C21	298,2	3,11	167,1	29,8	1,70	12,72	6,08
8C22	222,4	3,00	160,5	30,8	1,50	12,44	5,38

Identificación	Hy-EA (mg/kg)	Ty-EA (mg/kg)	PTCL (mg/kg)	ATCO (mg/Kg)	BTCO (mg/Kg)	GTCO (mg/Kg)	TCOT (mg/Kg)
8C1	43,2	72,3	290	393,6	3,75	7,44	404,8
8C2	75,1	91,5	513	425,2	7,02	8,41	440,6
8C3	90,9	92,7	623	426,0	4,41	7,69	438,1
8C4	20,7	111,0	236	425,9	4,15	10,91	440,9
8C5	22,2	115,9	257	434,5	4,62	7,79	446,9
8C6	147,9	99,4	965	426,9	3,31	11,32	441,5
8C7	87,6	148,5	597	420,2	3,38	8,07	431,6
8C8	63,7	150,5	545	423,7	3,82	8,55	436,0
8C9	98,3	147,6	621	422,9	4,24	8,41	435,5
8C10	98,7	166,1	634	426,7	3,83	8,53	439,1
8C11	101,4	187,6	671	426,2	3,97	8,33	438,5
8C12	133,0	183,4	800	424,8	3,71	7,82	436,3
8C13	21,1	179,0	370	434,1	4,76	7,80	446,7
8C14	461,2	332,4	2245	421,0	3,34	7,16	431,5
8C15	554,1	375,7	2504	413,5	3,32	6,98	423,8
8C16	454,1	488,5	2241	416,0	3,72	6,85	426,6
8C17	443,6	505,8	2114	447,7	3,89	6,60	458,2
8C18	747,7	402,8	2256	432,3	3,47	6,94	442,7
8C19	161,4	193,2	900	419,5	3,83	7,26	430,6
8C20	154,5	206,3	893	420,8	3,55	8,97	433,3
8C21	153,3	191,3	882	429,5	3,53	7,19	440,2
8C22	127,4	201,4	782	437,6	5,01	7,02	449,7

**Tabla 5.24.** Respuestas experimento D. Campaña 2008-09

Identificación	R (%)	IA (%)	IP (mEq O <sub>2</sub> / kg)	K <sub>270</sub>	K <sub>232</sub>	Clrf (mg/kg)	Crd (mg/kg)
8D1	12,5	0,18	3,96	0,131	1,37	41,9	14,4
8D2	12,7	0,22	2,94	0,213	1,58	48,1	16,4
8D3	12,4	0,21	3,37	0,192	0,81	50,0	16,8
8D4	13,0	0,18	3,65	0,162	1,49	51,6	17,7
8D5	13,5	0,19	4,43	0,181	1,45	51,8	17,9
8D6	11,4	0,18	3,65	0,233	1,74	55,6	19,8
8D7	12,5	0,23	5,11	0,212	1,67	83,4	29,2
8D8	13,8	0,22	4,46	0,217	1,67	72,0	24,7
8D9	13,7	0,23	4,76	0,196	1,61	73,6	25,2
8D10	13,3	0,24	4,64	0,205	1,63	72,5	24,9
8D11	13,6	0,24	4,75	0,208	1,59	74,7	25,4
8D12	13,9	0,20	4,75	0,210	1,72	78,2	26,4
8D13	14,0	0,26	4,30	0,210	1,54	86,5	29,6
8D14	12,4	0,33	5,34	0,294	1,85	110,0	34,7
8D15	13,3	0,35	4,09	0,300	1,87	127,2	44,2
8D16	12,3	0,26	5,60	0,296	1,87	150,7	53,8
8D17	13,7	0,23	6,05	0,279	1,83	155,3	54,3
8D18	13,3	0,31	4,27	0,296	1,99	164,4	60,6
8D19	14,0	0,22	4,85	0,226	1,72	79,3	27,1
8D20	14,0	0,22	4,79	0,202	1,70	87,1	29,3
8D21	13,9	0,23	4,53	0,211	1,70	85,0	30,8
8D22	14,1	0,21	4,57	0,222	1,68	85,2	28,9

Identificación	PTE (mg/kg)	ODF (mg/kg)	Hy (mg/kg)	Ty (mg/kg)	VCO (mg/kg)	VNA (mg/kg)	pCOU (mg/kg)
8D1	553	52,0	4,74	6,28	2,64	0,16	1,57
8D2	741	77,0	7,97	7,11	2,99	0,24	2,17
8D3	726	85,3	8,12	7,19	2,77	0,23	2,38
8D4	450	34,7	2,12	5,35	2,33	0,22	1,63
8D5	452	20,5	1,79	5,42	2,37	0,23	1,53
8D6	1300	167,6	12,71	7,51	1,82	0,24	2,18
8D7	800	86,0	6,36	5,62	1,37	0,29	1,24
8D8	750	85,6	5,30	5,75	1,56	0,28	1,41
8D9	735	80,7	6,58	6,47	1,63	0,31	1,53
8D10	764	90,1	6,77	6,23	1,58	0,31	1,76
8D11	782	94,1	6,87	5,94	1,46	0,31	1,76
8D12	792	94,4	5,94	5,50	1,39	0,28	1,34
8D13	567	53,4	3,06	5,10	1,28	0,33	0,98
8D14	1009	164,4	8,95	6,53	1,71	0,39	1,66
8D15	1152	203,4	10,06	7,34	1,45	0,46	1,55
8D16	1011	127,4	6,99	7,31	1,33	0,82	1,18
8D17	915	126,6	6,55	7,28	1,54	0,76	1,27
8D18	1129	194,5	9,11	9,32	2,11	1,22	1,83
8D19	881	102,6	8,92	6,53	1,32	0,41	1,49
8D20	830	106,0	7,72	5,44	1,11	0,44	1,38
8D21	858	107,0	6,72	5,23	0,96	0,53	1,36
8D22	809	95,8	6,54	5,14	1,06	0,43	1,54

**Tabla 5.25.** Respuestas experimento D. Campaña 08-09. Continuación

Identificación	Hy-EDA (mg/kg)	PR (mg/kg)	Ty-EDA (mg/kg)	LTNA (mg/kg)	CNCO (mg/kg)	APR (mg/kg)	APG (mg/kg)
8D1	119,9	2,33	6,6	28,6	0,86	14,60	6,42
8D2	278,4	2,91	17,3	32,6	1,35	16,75	9,46
8D3	318,3	3,02	19,5	35,3	1,41	23,62	9,47
8D4	39,8	2,88	25,9	28,1	0,84	8,26	5,84
8D5	33,3	2,86	25,7	29,6	0,87	9,21	5,77
8D6	842,1	3,21	41,7	33,7	2,62	31,64	10,22
8D7	333,0	2,98	115,7	22,6	1,24	13,98	7,72
8D8	342,6	3,13	138,3	26,4	1,30	13,79	7,63
8D9	307,1	3,08	139,4	23,1	1,38	12,06	6,60
8D10	377,3	3,17	159,0	26,2	1,39	13,05	6,62
8D11	396,6	3,06	146,0	24,8	1,32	13,47	7,08
8D12	394,0	3,09	144,7	24,3	1,41	15,46	7,49
8D13	136,3	2,74	173,2	23,9	1,01	8,17	5,17
8D14	312,7	3,14	200,9	26,0	1,24	13,89	6,99
8D15	946,7	3,37	262,3	29,4	1,52	16,71	5,95
8D16	631,9	3,39	368,8	13,8	0,85	3,39	3,55
8D17	600,2	4,51	354,4	16,9	0,74	6,47	4,05
8D18	787,4	4,38	342,5	28,0	0,62	8,85	8,77
8D19	510,6	3,12	144,0	25,8	1,54	19,98	8,30
8D20	515,8	2,72	156,1	24,3	1,52	16,25	7,32
8D21	373,7	2,82	148,0	23,3	1,37	13,45	6,48
8D22	392,7	2,75	157,0	24,0	1,27	12,82	6,06

Identificación	Hy-EA (mg/kg)	Ty-EA (mg/kg)	PTCL (mg/kg)	ATCO (mg/Kg)	BTCO (mg/Kg)	GTCO (mg/Kg)	TCOT (mg/Kg)
8D1	35,3	60,8	294	390,6	4,47	8,34	403,4
8D2	76,3	76,2	535	393,7	4,26	7,72	405,7
8D3	69,8	73,2	578	382,7	3,80	8,21	394,7
8D4	23,3	77,9	228	394,9	3,52	7,57	406,0
8D5	20,9	94,9	238	384,6	4,18	8,10	396,9
8D6	153,0	51,3	1197	353,7	3,58	9,15	366,4
8D7	126,5	141,9	784	367,8	3,84	9,47	381,1
8D8	131,0	158,8	841	372,2	3,60	10,00	385,8
8D9	114,0	150,0	777	378,8	4,04	10,20	393,0
8D10	127,7	153,7	888	382,3	4,02	10,09	396,4
8D11	130,7	156,0	899	380,3	5,85	10,57	396,7
8D12	136,2	152,5	897	385,2	3,92	9,97	399,0
8D13	87,8	200,2	653	375,7	3,93	9,86	389,5
8D14	277,3	174,1	1039	411,9	3,59	10,23	425,7
8D15	422,8	250,9	1964	420,0	2,89	9,44	432,3
8D16	355,9	275,3	1678	408,9	3,71	10,33	422,9
8D17	332,3	263,2	1604	416,7	3,54	10,35	430,5
8D18	644,2	399,4	2251	430,2	4,15	11,41	445,8
8D19	156,7	89,1	981	389,8	3,90	10,12	403,9
8D20	160,7	88,1	992	399,6	7,65	11,38	418,7
8D21	123,9	99,1	810	400,3	3,76	10,09	414,2
8D22	123,3	83,0	821	405,2	4,32	10,43	420,0

**Tabla 5.26.** Respuestas experimento E. Campaña 2008-09

Identificación	R (%)	IA (%)	IP (mEq O <sub>2</sub> / kg)	K <sub>270</sub>	K <sub>232</sub>	Clrf (mg/kg)	Crd (mg/kg)
8E1	15,7	0,20	3,24	0,132	1,44	36,3	12,5
8E2	16,5	0,20	3,07	0,171	1,59	35,6	12,4
8E3	16,4	0,21	2,65	0,165	1,61	37,9	12,6
8E4	17,3	0,21	3,65	0,159	1,54	39,5	14,3
8E5	17,2	0,20	4,67	0,162	1,54	42,3	16,0
8E6	16,4	0,21	2,74	0,192	1,66	43,1	16,7
8E7	15,8	0,21	4,69	0,194	1,62	68,9	25,1
8E8	17,4	0,21	4,14	0,186	1,60	63,4	22,2
8E9	17,4	0,23	4,27	0,195	1,65	65,7	23,4
8E10	17,5	0,23	4,18	0,255	1,74	64,2	22,9
8E11	17,2	0,23	4,12	0,256	1,78	69,8	24,2
8E12	17,9	0,24	3,81	0,203	1,45	73,1	25,6
8E13	18,2	0,18	3,88	0,182	1,50	85,3	30,1
8E14	15,5	0,25	5,08	0,270	1,93	80,8	27,6
8E15	16,1	0,24	4,64	0,250	1,83	75,8	25,3
8E16	15,5	0,28	5,08	0,254	2,01	109,9	35,7
8E17	17,1	0,25	4,25	0,242	1,98	107,9	34,7
8E18	17,3	0,25	6,39	0,285	2,00	128,0	42,9
8E19	16,9	0,23	3,91	0,220	1,79	62,0	22,4
8E20	17,3	0,21	4,01	0,219	1,73	66,2	23,1
8E21	17,3	0,23	3,89	0,228	1,83	68,0	25,5
8E22	17,0	0,24	3,94	0,204	1,73	62,5	24,9

Identificación	PTE (mg/kg)	ODF (mg/kg)	Hy (mg/kg)	Ty (mg/kg)	VCO (mg/kg)	VNA (mg/kg)	pCOU (mg/kg)
8E1	661	145,3	19,29	12,59	2,26	0,11	1,71
8E2	896	81,4	22,21	12,98	1,98	0,15	1,71
8E3	992	127,2	19,31	11,06	1,54	0,12	1,66
8E4	802	125,2	12,46	9,28	2,04	0,18	1,74
8E5	801	115,3	11,46	8,67	1,56	0,15	1,44
8E6	1081	154,6	24,69	12,0	2,05	0,26	1,57
8E7	1000	157,1	9,71	5,76	1,80	0,33	1,26
8E8	1003	171,6	13,92	7,20	1,44	0,28	1,28
8E9	972	186,0	16,90	8,23	1,47	0,32	1,19
8E10	1024	172,9	13,41	8,11	1,17	0,28	1,05
8E11	1029	199,2	24,64	10,75	1,01	0,29	1,04
8E12	1184	168,2	12,42	7,80	0,92	0,29	0,95
8E13	820	161,6	9,52	7,48	1,54	0,35	0,98
8E14	1421	255,0	17,63	8,48	1,06	0,42	1,08
8E15	1384	302,2	15,89	8,12	0,92	0,47	1,06
8E16	1413	283,6	12,13	9,16	1,03	0,85	1,15
8E17	1515	181,1	10,82	8,48	0,94	1,03	1,17
8E18	1319	348,3	16,95	9,86	1,13	1,24	1,12
8E19	1217	177,1	12,25	6,72	0,94	0,39	1,15
8E20	1206	169,5	12,99	6,85	1,06	0,35	1,31
8E21	1066	185,2	10,44	5,88	0,99	0,35	1,27
8E22	1055	173,7	12,38	6,50	1,10	0,33	1,33

**Tabla 5.27.** Respuestas experimento E. Campaña 07-08. Continuación

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EDA (mg/kg)</b>	<b>PR (mg/kg)</b>	<b>Ty-EDA (mg/kg)</b>	<b>LTNA (mg/kg)</b>	<b>CNCO (mg/kg)</b>	<b>APR (mg/kg)</b>	<b>APG (mg/kg)</b>
8E1	381,7	2,53	13,8	34,0	1,28	21,17	6,54
8E2	515,0	3,13	22,6	39,1	1,48	24,27	8,68
8E3	547,1	2,92	21,8	40,3	1,64	24,80	10,30
8E4	397,4	3,23	31,3	40,1	1,28	20,20	10,68
8E5	381,0	2,91	38,5	36,1	1,26	18,70	7,75
8E6	696,5	3,91	46,1	34,8	1,95	25,86	10,43
8E7	612,3	3,97	161,0	25,2	1,13	16,91	9,45
8E8	538,3	3,54	146,9	21,8	1,08	14,42	10,53
8E9	551,5	3,63	134,8	22,6	1,16	15,36	8,40
8E10	606,5	3,44	132,6	25,4	1,27	17,24	8,99
8E11	744,2	3,21	151,5	24,9	1,49	19,86	14,30
8E12	704,5	3,08	151,0	24,5	1,51	15,22	11,51
8E13	219,8	3,57	161,5	18,3	0,68	6,21	4,68
8E14	791,7	3,48	141,9	25,0	1,65	17,02	8,04
8E15	940,7	3,56	171,0	26,9	1,82	19,13	7,43
8E16	1015,6	4,46	314,5	33,4	0,81	11,05	3,97
8E17	1018,6	4,60	326,0	26,3	0,82	10,88	5,10
8E18	827,0	4,33	261,5	24,1	0,65	11,01	4,22
8E19	805,6	3,38	134,7	29,7	1,68	21,36	7,65
8E20	800,5	3,30	157,4	29,4	1,57	20,51	7,19
8E21	777,8	3,33	152,2	26,5	1,65	20,11	6,65
8E22	769,7	3,26	119,0	26,8	1,72	22,29	7,71

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EA (mg/kg)</b>	<b>Ty-EA (mg/kg)</b>	<b>PTCL (mg/kg)</b>	<b>ATCO (mg/Kg)</b>	<b>BTCO (mg/Kg)</b>	<b>GTCO (mg/Kg)</b>	<b>TCOT (mg/Kg)</b>
8E1	62,0	29,8	580	322,2	3,25	16,3	341,7
8E2	122,7	79,8	844	338,6	3,13	16,1	357,8
8E3	127,2	79,1	883	359,7	3,39	16,8	380,0
8E4	103,5	85,5	718	351,7	3,51	17,5	372,7
8E5	86,7	39,8	634	377,7	3,56	17,4	498,6
8E6	142,0	91,2	1082	362,1	4,24	18,6	384,9
8E7	213,7	128,1	1192	373,8	7,56	21,1	402,5
8E8	199,4	125,4	1080	358,9	4,57	18,2	381,7
8E9	177,7	78,3	1015	356,6	3,51	18,3	378,4
8E10	192,7	83,4	1093	366,2	3,64	18,1	388,0
8E11	258,2	132,4	1369	371,6	3,64	17,0	392,3
8E12	238,6	95,8	1264	375,2	3,31	18,1	396,7
8E13	101,0	104,6	635	373,8	4,72	19,9	397,9
8E14	355,5	160,8	1527	356,4	3,86	16,8	377,0
8E15	406,8	176,6	1776	353,8	3,73	17,4	375,0
8E16	876,5	387,2	2672	372,4	4,20	21,9	398,4
8E17	876,2	331,7	2624	345,5	3,73	18,3	367,5
8E18	258,6	137,4	1421	354,4	3,83	17,3	375,5
8E19	263,6	142,2	1446	342,3	3,43	17,0	362,7
8E20	284,3	142,9	1439	338,8	3,38	16,7	358,9
8E21	251,8	135,9	1367	341,8	3,31	15,4	360,5
8E22							

Tabla 5.28. Respuestas. Experimento F. Campaña 2008-09

Identificación	R (%)	IA (%)	IP (mEq O <sub>2</sub> / kg)	K <sub>270</sub>	K <sub>232</sub>	Clrf (mg/kg)	Crd (mg/kg)
8F1	13,2	0,20	2,23	0,14	1,40	38,7	13,2
8F2	13,7	0,22	2,59	0,182	1,53	45,8	15,8
8F3	13,9	0,22	2,57	0,212	1,58	46,4	16,3
8F4	15,0	0,22	2,57	0,186	1,53	44,6	15,4
8F5	15,4	0,20	4,04	0,177	1,55	42,0	14,2
8F6	13,2	0,24	1,71	0,239	1,69	45,4	15,8
8F7	13,4	0,21	4,63	0,217	1,68	56,6	20,1
8F8	14,4	0,23	4,40	0,229	1,73	55,7	19,6
8F9	14,5	0,24	4,40	0,241	1,78	55,4	19,6
8F10	14,4	0,25	4,12	0,235	1,78	55,7	19,3
8F11	14,9	0,23	4,27	0,237	1,73	56,9	20,1
8F12	15,8	0,28	3,76	0,216	1,78	60,8	20,7
8F13	15,5	0,25	5,92	0,193	1,63	66,4	22,6
8F14	12,7	0,26	3,32	0,284	1,94	71,5	24,6
8F15	13,8	0,27	2,85	0,303	1,97	84,1	28,5
8F16	13,9	0,31	3,73	0,230	1,87	106,3	33,8
8F17	15,6	0,28	4,25	0,271	1,92	114,0	36,0
8F18	14,7	0,30	3,50	0,305	1,96	127,5	42,3
8F19	13,5	0,26	3,35	0,188	1,67	53,9	17,9
8F20	14,4	0,27	3,47	0,196	1,67	54,1	18,9
8F21	14,2	0,27	3,66	0,241	1,79	55,0	18,4
8F22	15,7	0,26	3,58	0,210	1,62	55,7	19,0

Identificación	PTE (mg/kg)	ODF (mg/kg)	Hy (mg/kg)	Ty (mg/kg)	VCO (mg/kg)	VNA (mg/kg)	pCOU (mg/kg)
8F1	665	119,8	13,66	8,78	1,73	0,10	1,47
8F2	790	155,1	12,06	7,39	1,81	0,16	1,98
8F3	580	133,4	14,99	8,96	2,31	0,14	2,17
8F4	444	105,8	11,95	8,54	2,08	0,20	2,03
8F5	796	98,6	8,65	6,90	2,13	0,20	1,86
8F6	1059	162,7	15,02	7,22	1,84	0,18	1,88
8F7	994	125,5	8,79	5,89	1,64	0,25	1,60
8F8	1010	141,0	10,49	6,12	1,21	0,29	1,43
8F9	887	164,4	9,50	5,57	1,13	0,32	1,36
8F10	916	165,8	9,58	5,46	1,05	0,29	1,11
8F11	898	164,4	10,39	5,85	1,10	0,31	1,26
8F12	914	160,5	9,89	6,02	1,22	0,34	1,54
8F13	903	122,3	6,82	5,56	1,47	0,32	1,45
8F14	1167	239,0	12,14	7,25	1,43	0,40	1,51
8F15	1322	238,6	10,72	5,93	1,08	0,37	1,50
8F16	1143	236,9	8,32	7,24	1,42	0,82	1,46
9F17	1326	243,3	8,18	6,74	1,18	0,85	1,39
8F18	1362	239,3	9,05	6,73	1,22	0,82	1,26
8F19	1033	153,7	19,78	9,22	1,37	0,16	1,62
8F20	933	150,6	10,01	5,78	1,10	0,23	1,29
8F21	1054	152,5	10,33	5,62	1,28	0,15	1,58
8F22	958	136,5	5,78	4,61	0,98	0,40	1,12

**Tabla 5.29.** Respuestas experimento F. Campaña 08-09. Continuación

Identificación	Hy-EDA (mg/kg)	PR (mg/kg)	Ty-EDA (mg/kg)	LTNA (mg/kg)	CNCO (mg/kg)	APR (mg/kg)	APG (mg/kg)
8F1	374,0	2,17	12,7	35,9	1,09	18,5	5,91
8F2	582,1	2,81	20,0	42,6	1,49	25,8	9,31
8F3	517,8	2,77	19,3	41,5	1,40	21,6	9,64
8F4	448,5	3,01	37,9	42,5	1,35	20,2	10,84
8F5	421,3	3,16	39,2	42,0	1,20	19,9	7,86
8F6	697,3	3,26	30,4	41,6	1,78	26,6	7,77
8F7	614,5	3,15	128,8	26,1	1,11	17,5	5,88
8F8	628,9	3,01	129,0	23,8	1,23	16,6	6,61
8F9	699,3	3,07	141,6	26,7	1,26	16,9	5,63
8F10	662,7	3,06	134,7	23,9	1,12	17,0	5,17
8F11	603,4	3,13	118,6	22,0	1,16	14,7	4,43
8F12	672,6	3,22	151,8	24,6	1,37	17,3	5,63
8F13	574,3	3,24	204,4	24,9	0,90	13,0	4,80
8F14	1040,5	3,99	179,7	31,1	1,59	24,3	6,08
8F15	965,3	3,46	171,2	28,5	1,52	18,2	5,59
8F16	979,4	4,35	324,6	24,1	0,71	10,4	4,88
8F17	970,3	4,39	329,5	23,5	0,63	11,1	4,59
8F18	1053,2	4,94	313,5	25,9	0,86	12,2	4,83
8F19	755,9	3,28	55,3	32,3	1,96	27,3	6,36
8F20	645,9	2,88	148,6	21,8	0,95	14,7	3,63
8F21	578,3	2,90	88,2	24,8	1,12	17,2	4,64
8F22	560,4	3,70	206,1	17,6	0,67	11,1	3,89

Identificación	Hy-EA (mg/kg)	Ty-EA (mg/kg)	PTCL (mg/kg)	ATCO (mg/Kg)	BTCO (mg/Kg)	GTCO (mg/Kg)	TCOT (mg/Kg)
8F1	68,5	30,7	579	320,9	3,00	19,8	343,7
8F2	124,0	91,0	926	309,1	2,99	17,9	330,0
8F3	114,6	76,1	837	310,6	0,00	18,1	328,7
8F4	123,0	90,9	806	320,0	3,20	18,6	341,8
8F5	92,3	42,5	693	326,0	6,15	19,2	351,3
8F6	138,7	80,0	1057	334,9	3,44	15,4	353,7
8F7	171,8	105,3	1096	346,5	3,15	16,4	366,1
8F8	205,2	118,8	1156	344,8	2,98	18,1	366,0
8F9	224,3	133,0	1273	362,6	3,16	18,7	384,5
8F10	197,7	71,3	1138	338,5	3,24	19,1	360,8
8F11	171,5	63,5	1025	348,1	3,09	18,7	369,9
8F12	250,6	94,2	1244	354,8	0,00	18,1	372,9
8F13	219,9	110,6	1175	356,4	3,78	16,7	376,9
8F14	393,9	191,9	1899	332,0	6,88	19,7	358,6
8F15	383,8	162,7	1763	359,5	3,39	18,0	380,9
8F16	587,5	290,6	2249	345,3	3,11	18,3	366,7
8F17	677,3	332,9	2376	347,4	3,39	18,0	368,8
8F18	684,4	312,6	2435	421,4	0,00	18,7	440,0
8F19	167,5	53,3	1139	336,9	2,90	17,9	357,7
8F20	195,4	72,4	1128	340,1	3,14	19,3	362,5
8F21	151,3	50,3	941	341,5	3,24	17,0	361,8
8F22	223,6	151,1	1194	362,8	3,18	20,1	386,0

Tabla 5.30. Respuestas experimento G. Campaña 2008-09

Identificación	R (%)	IA (%)	IP (mEq O <sub>2</sub> / kg)	K <sub>270</sub>	K <sub>232</sub>	Clrf (mg/kg)	Crd (mg/kg)
8G1	21,2	0,28	2,56	0,140	1,40	41,3	14,0
8G2	20,3	0,19	2,30	0,182	1,54	47,5	16,7
8G3	21,5	0,19	2,43	0,209	1,57	51,8	18,9
8G4	21,6	0,21	3,16	0,236	1,60	45,8	17,1
8G5	22,2	0,18	3,81	0,178	1,56	40,2	13,9
8G6	20,8	0,21	3,14	0,225	1,61	46,3	16,0
8G7	16,5	0,20	4,89	0,183	1,66	40,2	14,2
8G8	20,9	0,22	3,91	0,300	1,74	49,7	17,9
8G9	20,0	0,22	4,01	0,346	2,07	46,3	18,5
8G10	20,8	0,21	4,19	0,187	1,69	45,7	18,0
8G11	20,7	0,21	4,01	0,233	1,78	47,9	17,7
8G12	22,2	0,21	3,47	0,315	1,85	61,6	22,7
8G13	21,7	0,17	4,57	0,199	1,78	47,1	16,6
8G14	15,7	0,21	4,50	0,220	1,88	55,5	19,1
8G15	19,3	0,24	3,99	0,409	2,08	75,1	27,3
8G16	17,4	0,25	4,45	0,378	2,06	72,1	25,0
8G17	21,4	0,19	4,12	0,244	2,11	71,7	24,6
8G18	22,2	0,19	4,50	0,313	2,16	87,4	31,6
8G19	21,8	0,20	4,89	0,205	1,70	54,8	20,6
8G20	22,0	0,20	4,47	0,208	1,71	54,3	20,1
8G21	22,1	0,22	4,50	0,346	1,97	57,7	20,6
8G22	22,4	0,21	4,66	0,212	1,73	56,7	21,1

Identificación	PTE (mg/kg)	ODF (mg/kg)	Hy (mg/kg)	Ty (mg/kg)	VCO (mg/kg)	VNA (mg/kg)	pCOU (mg/kg)
8G1	830	107,7	11,12	8,79	1,41	0,09	1,62
8G2	1000	130,6	12,07	8,00	1,54	0,16	1,30
8G3	981	140,4	13,08	8,13	1,19	0,17	1,33
8G4	892	100,1	9,53	7,56	1,58	0,18	1,49
8G5	903	96,5	8,19	6,68	1,58	0,21	1,35
8G6	1021	151,2	13,94	8,23	1,20	0,21	1,41
8G7	977	139,1	7,44	6,27	0,86	0,21	1,04
8G8	1049	127,2	6,88	5,36	0,87	0,26	1,04
8G9	1030	127,4	9,04	6,11	0,87	0,31	0,96
8G10	946	126,7	9,12	6,16	1,06	0,36	1,07
8G11	1116	119,6	8,13	5,54	0,81	0,29	0,92
8G12	954	178,0	7,67	5,23	1,03	0,36	1,08
8G13	1004	82,2	3,27	4,82	1,22	0,36	1,44
8G14	1268	268,1	9,71	6,22	0,82	0,53	0,94
8G15	1469	267,3	10,24	6,29	0,74	0,55	0,86
8G16	1310	351,6	10,22	8,14	0,87	0,94	0,97
8G17	1342	319,7	9,38	7,29	0,84	1,04	1,01
8G18	1847	282,2	10,57	8,48	0,79	1,33	0,90
8G19	1014	187,7	9,46	6,05	0,99	0,49	1,05
8G20	997	191,5	8,39	6,08	1,02	0,51	1,06
8G21	1074	190,7	10,98	7,76	0,96	0,51	1,03
8G22	1105	184,8	14,57	7,93	0,94	0,52	1,03

**Tabla 5.31.** Respuestas experimento G. Campaña 08-09. Continuación

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EDA (mg/kg)</b>	<b>PR (mg/kg)</b>	<b>Ty-EDA (mg/kg)</b>	<b>LTNA (mg/kg)</b>	<b>CNCO (mg/kg)</b>	<b>APR (mg/kg)</b>	<b>APG (mg/kg)</b>
8G1	362,8	1,92	13,7	36,6	0,96	15,85	4,65
8G2	629,2	2,93	26,2	42,8	1,44	24,14	9,27
8G3	651,8	2,59	26,3	39,9	1,46	25,48	7,15
8G4	512,7	3,02	40,0	43,3	1,08	20,30	7,55
8G5	545,3	2,95	41,2	40,9	1,21	21,82	8,77
8G6	765,5	2,75	23,4	35,0	1,07	20,68	14,09
8G7	514,9	2,74	92,2	21,5	0,82	12,43	5,18
8G8	666,7	2,89	100,9	25,0	0,88	15,62	5,26
8G9	781,8	3,31	118,2	27,6	1,08	18,77	6,15
8G10	836,0	3,85	150,3	28,7	1,22	18,71	7,40
8G11	849,1	3,13	107,8	28,3	1,46	20,93	6,48
8G12	865,6	3,46	177,9	28,3	1,32	17,90	6,08
8G13	732,9	3,10	185,3	25,4	0,84	12,50	8,45
8G14	1090,2	3,92	192,8	25,7	1,32	17,25	4,69
8G15	1354,8	3,68	219,8	26,3	1,40	21,60	5,64
8G16	1176,7	5,06	342,0	16,3	0,49	9,96	3,78
8G17	1064,3	4,63	300,8	13,7	0,28	6,78	2,12
8G18	1348,2	4,75	285,5	17,6	0,61	14,52	10,13
8G19	833,7	3,55	162,1	28,4	1,03	18,09	2,48
8G20	818,6	3,72	148,8	31,6	1,01	18,40	2,13
8G21	824,5	3,12	162,9	27,1	0,89	16,08	2,43
8G22	819,9	3,04	158,0	27,6	0,96	15,55	2,28

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EA (mg/kg)</b>	<b>Ty-EA (mg/kg)</b>	<b>PTCL (mg/kg)</b>	<b>ATCO (mg/Kg)</b>	<b>BTCO (mg/Kg)</b>	<b>GTCO (mg/Kg)</b>	<b>TCOT (mg/Kg)</b>
8G1	74,7	30,7	580	300,4	3,58	19,3	323,3
8G2	130,0	50,7	958	287,2	3,49	18,2	308,9
8G3	125,7	47,3	964	310,4	3,83	19,4	333,6
8G4	111,7	46,6	815	317,6	6,87	22,4	346,9
8G5	123,1	48,7	861	329,7	4,11	20,4	354,2
8G6	229,1	58,9	1193	280,9	3,60	20,0	304,6
8G7	162,7	53,2	887	290,5	3,72	22,1	316,4
8G8	215,6	99,9	1160	291,2	4,02	21,8	317,0
8G9	234,0	114,6	1336	293,5	3,73	22,4	319,5
8G10	260,1	126,6	1460	309,9	3,92	23,5	337,3
8G11	272,3	136,2	1467	322,4	4,08	21,5	348,0
8G12	277,4	142,0	1546	331,5	4,22	24,4	360,1
8G13	268,1	130,7	1391	298,2	6,03	27,1	331,2
8G14	463,6	170,5	2002	306,7	3,99	23,4	334,1
8G15	653,5	258,0	2574	321,7	0,00	23,7	345,4
8G16	714,9	294,5	2591	307,1	0,00	23,2	330,3
8G17	723,1	287,9	2429	314,9	0,00	23,8	338,7
8G18	1673,6	488,5	3877	327,7	3,55	21,1	352,3
8G19	230,8	118,1	1423	353,7	3,92	25,1	382,7
8G20	222,0	57,1	1329	341,4	3,65	24,9	369,9
8G21	212,3	72,9	1344	350,1	4,21	25,4	379,7
8G22	218,5	127,9	1399	346,1	3,20	28,1	377,4

Tabla 5.32. Respuestas experimento H. Campaña 2008-09

Identificación	R (%)	IA (%)	IP (mEq O <sub>2</sub> / kg)	K <sub>270</sub>	K <sub>232</sub>	Clrf (mg/kg)	Crd (mg/kg)
8H1	18,4	0,18	3,74	0,155	1,60	28,9	7,7
8H2	16,8	0,17	3,74	0,123	1,55	29,1	9,2
8H3	17,4	0,21	3,78	0,211	1,53	42,9	14,3
8H4	18,4	0,18	3,58	0,168	1,53	37,4	12,4
8H5	18,9	0,16	3,65	0,174	1,55	36,0	11,9
8H6	15,1	0,20	3,58	0,191	1,72	38,4	11,6
8H7	10,2	0,18	4,89	0,195	1,64	40,3	13,6
8H8	16,4	0,23	4,22	0,214	1,74	47,5	15,7
8H9	18,0	0,23	4,29	0,232	1,74	46,7	16,5
8H10	17,2	0,24	4,14	0,205	1,70	46,1	16,4
8H11	16,7	0,22	4,37	0,214	1,68	46,7	16,5
8H12	18,4	0,22	4,43	0,266	1,98	42,4	15,2
8H13	17,8	0,22	3,72	0,228	1,69	45,6	15,7
8H14	16,9	0,24	4,95	0,251	1,85	57,0	19,9
8H15	17,4	0,22	4,07	0,242	1,85	47,1	16,2
8H16	15,7	0,21	4,73	0,241	1,90	63,2	22,0
8H17	19,5	0,19	4,73	0,259	1,88	70,1	24,0
8H18	18,1	0,22	4,57	0,255	2,14	69,2	24,8
8H19	17,3	0,20	4,32	0,243	1,73	50,2	18,0
8H20	17,2	0,19	4,04	0,222	1,75	48,0	18,3
8H21	17,9	0,21	4,12	0,204	1,79	49,3	17,8
8H22	16,6	0,21	4,09	0,244	1,75	48,4	17,0

Identificación	PTE (mg/kg)	ODF (mg/kg)	Hy (mg/kg)	Ty (mg/kg)	VCO (mg/kg)	VNA (mg/kg)	pCOU (mg/kg)
8H1	715	126,6	15,77	8,21	1,40	0,21	1,39
8H2	770	82,1	12,04	6,77	1,32	0,16	1,15
8H3	860	91,8	31,91	14,44	1,24	0,14	1,02
8H4	781	53,6	17,52	9,83	1,47	0,17	1,18
8H5	790	55,3	12,72	7,94	1,60	0,20	1,30
8H6	957	62,9	35,57	16,12	1,01	0,16	1,25
8H7	907	95,4	8,08	4,62	0,69	0,28	0,85
8H8	985	113,0	10,32	5,52	0,74	0,34	0,80
8H9	985	109,6	8,43	5,36	0,78	0,39	0,85
8H10	1017	111,9	9,01	4,92	0,72	0,34	0,88
8H11	1107	122,3	0,45	5,32	0,74	0,33	0,32
8H12	1042	134,2	9,61	5,28	0,73	0,36	0,82
8H13	1087	125,7	10,33	6,35	0,76	0,37	0,88
8H14	1333	178,0	10,66	5,40	0,80	0,50	0,74
8H15	1243	187,3	10,44	4,69	0,52	0,47	0,62
8H16	1245	141,9	7,03	3,86	0,53	0,77	0,59
8H17	1265	124,0	8,38	6,24	0,76	0,94	0,77
8H18	1294	178,4	9,72	5,37	0,58	1,18	0,74
8H19	1090	161,4	10,75	5,51	0,79	0,45	0,83
8H20	1122	159,1	15,59	6,71	0,69	0,45	0,91
8H21	1105	116,2	20,37	8,06	0,68	0,41	0,82
8H22	1100	120,2	17,32	7,12	0,64	0,39	0,67

**Tabla 5.33.** Respuestas experimento H. Campaña 08-09. Continuación

Identificación	Hy-EDA (mg/kg)	PR (mg/kg)	Ty-EDA (mg/kg)	LTNA (mg/Lkg)	CNCO (mg/kg)	APR (mg/kg)	APG (mg/kg)
8H1	404,4	2,19	13,0	46,5	0,78	17,88	7,72
8H2	514,8	2,71	22,7	46,6	0,91	21,34	8,65
8H3	477,4	2,67	22,5	41,3	0,88	18,67	8,57
8H4	464,8	2,93	43,0	43,7	0,81	18,11	8,22
8H5	502,2	3,00	39,4	45,5	1,01	20,58	10,93
8H6	643,7	3,09	24,7	45,0	1,23	21,01	7,95
8H7	639,4	3,12	120,1	27,8	0,69	15,77	8,65
8H8	823,4	3,14	149,2	28,3	0,83	18,16	8,84
8H9	599,7	3,32	140,7	29,8	1,03	17,66	7,91
8H10	812,5	3,07	141,6	27,5	0,93	17,42	8,34
8H11	848,5	3,26	140,4	26,6	1,07	18,05	10,72
8H12	655,5	3,14	143,6	29,2	0,81	17,55	9,25
8H13	797,1	3,31	188,5	21,9	0,74	12,95	7,97
8H14	1058,8	3,62	174,6	24,5	0,93	17,25	9,74
8H15	1025,7	3,01	180,1	25,1	0,88	15,11	9,37
8H16	948,0	3,38	239,7	15,5	0,45	6,51	6,38
8H17	1059,8	4,96	300,3	18,0	0,46	9,06	8,42
8H18	1107,9	4,84	282,0	17,7	0,60	8,81	6,39
8H19	779,0	3,23	129,6	26,8	0,84	15,91	4,92
9H20	606,7	3,31	127,5	30,2	0,92	17,19	5,50
8H21	535,5	3,06	99,8	29,0	0,98	16,75	5,17
8H22	560,0	3,10	119,2	30,0	0,98	18,62	6,34

Identificación	Hy-EA (mg/kg)	Ty-EA (mg/kg)	PTCL (mg/kg)	ATCO (mg/Kg)	BTCO (mg/Kg)	GTCO (mg/Kg)	TCOT (mg/Kg)
8H1	87,9	52,0	663	284,6	3,18	19,9	307,7
8H2	111,6	33,8	788	325,5	6,01	23,6	355,1
8H3	125,6	90,0	840	292,0	3,44	21,2	316,6
8H4	123,7	29,7	769	299,3	3,50	21,3	324,1
8H5	133,1	87,9	871	307,6	3,66	21,6	332,9
8H6	157,5	92,1	1056	263,3	3,21	19,9	286,5
8H7	226,9	105,6	1166	271,1	3,54	21,2	295,8
8H8	271,5	118,7	1443	288,2	3,72	22,6	314,5
8H9	269,0	120,2	1209	291,2	3,63	23,3	318,2
8H10	260,0	116,5	1407	298,9	3,59	23,8	326,3
8H11	281,4	125,4	1475	292,0	3,82	22,1	317,9
8H12	269,6	117,0	1266	299,1	3,64	22,3	325,0
8H13	356,4	146,7	1558	273,6	3,55	21,6	298,8
8H14	421,8	162,6	1895	301,8	3,73	22,7	328,2
8H15	433,8	162,7	1876	304,0	0,00	21,6	325,6
8H16	568,2	202,0	2006	314,6	3,78	22,5	340,9
8H17	677,6	256,4	2355	317,4	3,87	23,7	344,9
8H18	769,4	259,1	2478	323,9	3,92	22,0	349,0
8H19	233,4	58,1	1274	323,7	4,07	24,6	352,4
8H20	273,8	121,4	1214	302,9	3,64	23,9	330,4
8H21	263,9	113,7	1102	300,6	3,61	20,8	324,9
8H22	302,9	123,4	1194	301,1	3,65	21,0	325,8

Tabla 5.34. Respuestas experimento A. Campaña 2009-10

Identificación	R (%)	IA (%)	IP (mEq O <sub>2</sub> / kg)	K <sub>270</sub>	K <sub>232</sub>	Clrf (mg/kg)	Crd (mg/kg)
9A1	10,5	0,13	5,18	0,085	1,29	33,5	9,7
9A2	9,99	0,14	4,78	0,165	1,53	28,9	7,9
9A3	11,0	0,14	5,98	0,150	1,49	34,7	10,3
9A4	11,9	0,14	6,09	0,135	1,46	33,9	9,9
9A5	11,3	0,13	6,24	0,131	1,44	34,2	10,1
9A6	11,6	0,05	7,59	0,191	1,68	40,6	13,1
9A7	11,6	0,16	7,98	0,175	1,59	49,4	15,5
9A8	13,2	0,17	10,7	0,223	1,88	60,4	18,5
9A9	13,4	0,16	10,9	0,183	1,69	59,0	17,9
9A10	13,7	0,19	10,4	0,191	1,67	59,0	18,0
9A11	13,5	0,18	9,00	0,225	1,73	56,6	18,2
9A12	13,7	0,18	8,75	0,168	1,70	52,0	16,7
9A13	13,5	0,16	9,00	0,142	1,53	57,7	17,9
9A14	11,1	0,19	8,98	0,183	1,74	61,6	19,7
9A15	12,9	0,22	9,86	0,183	1,75	68,5	21,6
9A16	13,3	0,23	12,2	0,206	1,92	110,4	33,8
9A17	14,1	0,25	12,9	0,218	1,88	113,5	36,3
9A18	12,7	0,16	12,4	0,217	1,86	99,8	31,5

Identificación	PTE (mg/kg)	ODF (mg/kg)	Hy (mg/kg)	Ty (mg/kg)	VCO (mg/kg)	VNA (mg/kg)	pCOU (mg/kg)
9A1	66	66,4	2,41	4,60	2,72	0,17	1,28
9A2	495	64,4	2,93	5,52	3,24	0,20	1,57
9A3	492	48,3	2,63	4,59	2,62	0,18	1,39
9A4	406	38,0	2,49	5,72	3,06	0,25	1,49
9A5	447	37,3	2,02	5,43	3,05	0,22	1,42
9A6	543	45,0	5,46	5,50	2,90	0,33	1,38
9A7	612	53,0	4,26	5,21	2,39	0,39	1,08
9A8	600	61,0	4,23	5,84	2,64	0,39	1,13
9A9	611	58,4	4,34	5,86	2,79	0,45	1,24
9A10	606	60,4	4,20	5,35	2,50	0,45	1,09
9A11	588	56,0	3,79	4,83	2,44	0,52	1,04
9A12	597	53,8	3,87	4,72	2,18	0,52	1,00
9A13	469	21,3	3,17	4,91	2,05	0,51	0,96
9A14	704	87,0	4,65	5,20	2,10	0,59	1,12
9A15	670	86,5	4,37	4,73	1,87	0,54	1,07
9A16	645	73,7	5,24	7,62	1,87	1,32	1,03
9A17	634	73,3	5,17	7,23	1,92	1,38	1,14
9A18	768	113,8	6,13	7,01	1,51	1,62	1,26

**Tabla 5.35.** Respuestas experimento A. Campaña 2009-10. Continuación

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EDA (mg/kg)</b>	<b>PR (mg/kg)</b>	<b>Ty-EDA (mg/kg)</b>	<b>LTNA (mg/kg)</b>	<b>CNCO (mg/kg)</b>	<b>APR (mg/kg)</b>	<b>APG (mg/kg)</b>
9A1	189,2	3,03	17,2	24,1	0,67	13,25	4,93
9A2	291,8	3,52	23,6	27,1	0,84	17,28	5,39
9A3	260,8	3,57	22,7	26,7	0,75	16,86	4,90
9A4	184,2	3,67	31,7	25,3	0,60	13,47	5,19
9A5	166,3	3,53	27,9	21,6	0,60	11,76	5,02
9A6	522,2	4,41	43,6	32,9	0,97	24,69	6,29
9A7	440,0	5,12	104,1	20,9	0,67	15,75	7,37
9A8	470,9	4,21	101,0	22,2	0,79	17,87	6,00
9A9	470,3	4,24	111,3	23,6	0,72	16,76	6,58
9A10	446,5	4,02	91,9	22,9	0,71	17,50	6,37
9A11	415,9	3,97	94,6	22,0	0,68	15,05	6,72
9A12	486,5	4,01	112,2	22,1	0,71	16,32	6,74
9A13	368,3	3,69	142,4	16,1	0,53	11,02	6,16
9A14	578,0	4,13	112,8	22,4	0,73	18,08	5,01
9A15	572,1	3,86	129,4	18,5	0,67	15,46	4,69
9A16	646,0	4,87	269,6	14,6	0,46	10,77	4,64
9A17	619,0	4,38	252,9	12,9	0,42	9,52	4,34
9A18	693,7	5,22	211,5	13,5	0,52	13,47	6,03

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EA (mg/kg)</b>	<b>Ty-EA (mg/kg)</b>	<b>PTCL (mg/kg)</b>	<b>ATCO (mg/kg)</b>	<b>BTCO (mg/kg)</b>	<b>GTCO (mg/kg)</b>	<b>TCOT (mg/kg)</b>
9A1	24,2	21,8	313	308,4	3,80	12,7	324,9
9A2	31,7	18,4	436	311,1	0,00	10,5	321,6
9A3	29,7	11,0	392	310,9	4,35	14,2	329,5
9A4	28,5	27,2	336	326,1	4,06	15,8	346,0
9A5	25,5	20,6	298	321,5	4,03	15,8	341,4
9A6	54,6	31,9	741	324,3	3,59	11,2	339,0
9A7	141,5	106,6	859	323,3	0,00	11,6	334,9
9A8	133,4	101,1	875	333,7	3,78	11,8	349,2
9A9	146,6	98,9	897	325,5	6,14	11,9	343,6
9A10	130,2	61,3	798	330,4	3,77	11,4	345,5
9A11	128,0	103,6	807	330,8	4,10	11,4	346,4
9A12	150,9	111,9	927	331,5	3,88	11,1	346,4
9A13	161,4	141,0	866	336,5	5,32	11,7	353,5
9A14	239,9	126,2	1124	313,8	3,67	11,7	329,2
9A15	242,8	87,8	1091	329,9	4,01	12,0	346,0
9A16	529,3	275,0	1776	334,3	4,09	15,9	354,3
9A17	468,6	199,9	1592	331,3	4,22	15,0	350,5
9A18	731,3	304,0	2000	345,5	8,75	13,0	367,3

Tabla 5.36. Respuestas experimento B. Campaña 2009-10

Identificación	R (%)	IA (%)	IP (mEqO <sub>2</sub> / kg)	K <sub>270</sub>	K <sub>232</sub>	Clrf (mg/kg)	Crd (mg/kg)
9B1	12,7	0,14	6,36	0,167	1,53	38,8	12,9
9B2	11,2	0,19	6,19	0,159	1,54	39,8	12,8
9B3	11,3	0,12	5,01	0,165	1,52	37,9	12,0
9B4	12,9	0,12	5,49	0,174	1,53	39,2	12,5
9B5	13,5	0,16	5,49	0,190	1,56	38,3	12,6
9B6	10,9	0,09	6,84	0,179	1,71	37,4	11,9
9B7	10,8	0,16	6,88	0,177	1,65	44,4	15,2
9B8	13,7	0,07	4,54	0,181	1,68	48,5	15,8
9B9	13,7	0,08	5,37	0,187	1,65	48,4	16,6
9B10	13,4	0,07	5,05	0,173	1,59	47,0	16,2
9B11	13,0	0,08	5,89	0,211	1,59	48,1	16,4
9B12	12,4	0,07	5,89	0,213	1,78	52,6	16,9
9B13	13,7	0,07	6,79	0,201	1,59	56,2	19,2
9B14	11,9	0,09	7,33	0,202	1,73	54,7	17,9
9B15	12,5	0,09	7,75	0,211	1,75	58,9	19,3
9B16	13,6	0,13	4,73	0,240	1,75	109,7	34,5
9B17	14,4	0,16	5,75	0,229	1,75	117,0	36,5
9B18	13,6	0,14	5,54	0,263	1,90	116,8	36,3

Identificación	PTE (mg/kg)	ODF (mg/kg)	Hy (mg/kg)	Ty (mg/kg)	VCO (mg/kg)	VNA (mg/kg)	pCOU (mg/kg)
9B1	477	62,3	2,50	3,60	1,88	0,00	1,42
9B2	591	57,8	3,30	4,01	2,04	0,00	1,64
9B3	616	62,9	3,28	4,51	1,98	0,14	1,54
9B4	532	33,3	2,85	4,64	2,18	0,16	1,61
9B5	498	27,9	2,70	4,62	2,19	0,20	1,62
9B6	578	69,1	2,15	3,86	2,12	0,18	1,72
9B7	392	60,9	1,84	3,60	1,68	0,28	1,59
9B8	400	65,3	2,06	4,06	1,82	0,32	1,55
9B9	383	63,6	2,29	4,36	1,90	0,32	1,63
9B10	380	62,9	1,86	4,29	1,60	0,29	1,35
9B11	392	60,1	2,20	3,94	1,54	0,34	1,41
9B12	421	59,5	2,28	4,52	1,80	0,38	1,56
9B13	611	45,9	1,98	4,18	1,64	0,33	1,26
9B14	732	98,8	3,12	5,19	1,61	0,46	1,39
9B15	766	102,8	3,12	4,70	1,32	0,38	1,18
9B16	663	124,4	4,49	7,63	1,59	0,91	1,28
9B17	681	118,0	3,91	6,10	1,48	0,70	1,12
9B18	878	160,2	5,50	7,52	1,49	0,87	1,34

**Tabla 5.37.** Respuestas experimento B. Campaña 2009-10. Continuación

Identificación	Respuestas						
	Hy-EDA (mg/kg)	PR (mg/kg)	Ty-EDA (mg/kg)	LTNA (mg/kg)	CNCO (mg/kg)	APR (mg/kg)	APG (mg/kg)
9B1	272,8	3,47	19,5	35,0	0,94	17,14	6,96
9B2	427,9	3,89	29,2	40,5	1,12	21,74	7,50
9B3	472,5	3,83	26,9	42,0	1,44	23,40	7,99
9B4	326,9	4,04	45,5	35,6	1,00	17,83	6,99
9B5	295,5	4,08	41,9	37,4	1,16	16,97	7,84
9B6	535,9	4,17	38,3	34,1	1,23	24,02	7,55
9B7	442,8	4,07	103,0	27,6	0,65	14,92	12,93
9B8	451,8	4,18	99,2	22,8	0,86	14,43	7,94
9B9	453,5	4,11	111,6	24,6	0,81	15,29	10,65
9B10	438,2	4,29	110,5	22,4	0,88	14,64	13,95
9B11	510,8	4,36	121,2	26,7	0,97	15,83	10,93
9B12	532,2	4,48	121,5	26,8	0,94	17,17	12,00
9B13	349,0	3,53	143,6	16,6	0,58	9,26	8,79
9B14	710,1	4,87	162,1	24,2	0,76	17,58	6,68
9B15	726,7	4,73	165,6	23,6	0,95	19,28	6,78
9B16	700,6	4,46	291,9	14,4	0,46	10,53	4,47
9B17	564,5	4,14	244,3	11,4	0,30	6,86	3,29
9B18	734,6	4,99	271,6	13,9	0,63	11,89	6,66

Identificación	Hy-EA (mg/kg)	Ty-EA (mg/kg)	PTCL (mg/kg)	ATCO (mg/kg)	BTCO (mg/kg)	GTCO (mg/kg)	TCOT (mg/kg)
9B1	27,3	10,0	406	354,6	3,72	12,3	370,6
9B2	39,4	7,1	593	348,8	3,74	12,0	364,6
9B3	39,8	24,5	657	347,0	3,73	12,5	363,2
9B4	40,8	31,1	525	357,5	3,94	12,3	373,7
9B5	38,2	79,2	537	362,5	3,73	12,4	378,7
9B6	54,3	34,4	748	336,6	3,44	11,5	351,5
9B7	154,8	104,8	878	359,1	3,91	12,5	375,5
9B8	130,9	53,7	799	365,4	3,94	12,7	382,1
9B9	154,5	106,3	895	372,5	3,80	11,9	388,2
9B10	144,5	104,1	866	366,1	3,94	12,3	382,4
9B11	175,0	117,9	997	359,1	4,59	12,6	376,3
9B12	161,6	71,4	962	365,4	3,17	12,5	381,1
9B13	165,6	89,6	799	353,6	3,72	12,1	369,4
9B14	333,3	157,1	1432	336,5	3,56	12,5	352,5
9B15	321,0	176,6	1459	350,2	3,10	11,6	364,8
9B16	584,6	282,9	1914	354,6	2,92	12,7	370,2
9B17	467,1	253,3	1572	359,3	3,59	12,9	375,8
9B18	770,8	368,2	2204	348,5	3,41	11,3	363,2

Tabla 5.38. Respuestas experimento C. Campaña 2009-10

Identificación	R (%)	IA (%)	IP (mEqO <sub>2</sub> / kg)	K <sub>270</sub>	K <sub>232</sub>	Clrf (mg/kg)	Crd (mg/kg)
9C1	16,3	0,09	2,39	0,155	1,42	32,3	9,90
9C2	13,6	0,09	1,63	0,164	1,51	36,5	11,2
9C3	15,0	0,08	2,44	0,163	1,49	36,1	11,1
9C4	15,9	0,09	2,61	0,106	1,45	32,7	10,0
9C5	17,2	0,07	3,05	0,214	1,73	34,5	10,6
9C6	13,6	0,07	2,56	0,160	1,61	33,1	10,2
9C7	14,2	0,08	3,94	0,186	1,65	34,9	10,7
9C8	16,2	0,07	5,58	0,171	1,65	37,2	11,4
9C9	16,4	0,07	5,01	0,159	1,60	37,6	11,5
9C10	16,3	0,07	5,56	0,200	1,62	39,2	12,0
9C11	16,5	0,07	5,69	0,161	1,57	37,6	11,5
9C12	16,8	0,08	4,20	0,169	1,63	37,1	12,6
9C13	16,6	0,07	5,28	0,190	1,63	40,9	13,9
9C14	14,3	0,08	5,01	0,187	1,77	48,1	16,4
9C15	15,6	0,08	4,88	0,187	1,68	39,9	12,8
9C16	15,8	0,08	6,58	0,216	1,83	82,4	26,5
9C17	16,9	0,09	6,99	0,189	1,76	69,8	22,1
9C18	16,4	0,10	8,42	0,203	1,80	77,4	24,3

Identificación	PTE (mg/kg)	ODF (mg/kg)	Hy (mg/kg)	Ty (mg/kg)	VCO (mg/kg)	VNA (mg/kg)	pCOU (mg/kg)
9C1	469	80,2	3,79	6,68	2,37	0,20	1,60
9C2			3,67	6,42	2,16	0,21	1,45
9C3	619	92,4	4,18	6,32	2,21	0,20	1,61
9C4	512	59,3	4,87	8,34	2,85	0,26	1,90
9C5	350	60,1	3,74	7,34	2,71	0,28	1,64
9C6	457	97,4	3,80	6,03	1,83	0,23	1,51
9C7	358	75,6	2,47	4,70	1,59	0,33	1,49
9C8	545	72,2	0,78	4,43	1,58	0,45	1,49
9C9	548	72,1	3,58	6,41	1,60	0,42	1,44
9C10	518	74,5	3,23	6,05	1,63	0,44	1,46
9C11	519	77,8	2,85	5,58	1,50	0,39	1,18
9C12	612	56,8	2,77	5,37	1,86	0,34	1,48
9C13	682	41,5	3,64	7,51	1,73	0,57	1,43
9C14	798	31,5	4,30	6,87	1,76	0,56	1,54
9C15	688	127,0	3,64	5,37	1,35	0,54	1,09
9C16	766	130,0	4,93	8,39	1,38	1,07	0,99
9C17	726	113,0	5,20	8,23	1,41	1,09	1,12
9C18	722	129,0	7,47	8,23	1,17	1,18	1,00

**Tabla 5.39.** Respuestas experimento C. Campaña 2009-10. Continuación

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EDA (mg/kg)</b>	<b>PR (mg/kg)</b>	<b>Ty-EDA (mg/kg)</b>	<b>LTNA (mg/kg)</b>	<b>CNCO (mg/kg)</b>	<b>APR (mg/kg)</b>	<b>APG (mg/kg)</b>
9C1	286,8	2,92	17,4	32,4	0,97	16,32	6,94
9C2	406,8	3,33	19,8	30,1	1,06	21,94	6,58
9C3	467,9	3,87	26,8	35,8	1,16	22,70	7,54
9C4	416,9	3,69	39,9	30,9	0,93	20,62	7,18
9C5	365,8	3,48	39,0	27,2	0,92	17,31	6,38
9C6	515,2	4,15	30,6	36,1	1,27	21,01	7,22
9C7	459,8	3,29	88,3	22,7	0,78	14,86	15,22
9C8	547,3	3,88	91,4	22,9	0,93	17,52	15,17
9C9	531,3	3,86	87,8	21,6	0,89	18,26	14,47
9C10	513,4	3,85	101,9	19,7	0,85	16,04	15,37
9C11	553,5	3,69	98,4	17,8	0,81	13,91	12,13
9C12	434,5	3,54	81,1	19,2	0,76	13,69	9,36
9C13	494,5	4,17	133,7	18,0	0,68	13,62	15,95
9C14	703,2	4,86	142,1	22,5	1,04	19,56	6,57
9C15	541,9	4,16	109,6	19,4	0,79	15,30	5,85
9C16	692,2	4,33	233,9	10,2	0,40	9,14	4,72
9C17	614,7	4,59	205,1	10,5	0,39	9,14	4,00
9C18	658,8	4,28	189,0	8,9	0,35	9,13	6,34

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EA (mg/kg)</b>	<b>Ty-EA (mg/kg)</b>	<b>PTCL (mg/kg)</b>	<b>ATCO (mg/kg)</b>	<b>BTCO (mg/kg)</b>	<b>GTCO (mg/kg)</b>	<b>TCOT (mg/kg)</b>
9C1	32,5	22,6	437	326,0	3,38	18,9	348,20
9C2	42,1	27,1	576	321,1	3,02	20,3	344,39
9C3	45,9	30,9	661	328,4	3,07	18,8	350,27
9C4	56,2	29,3	627	328,9	3,07	18,9	350,94
9C5	44,8	27,9	552	330,4	3,34	18,7	352,51
9C6	50,5	47,8	729	311,1	4,08	18,9	334,13
9C7	148,3	84,7	852	326,9	6,50	18,5	351,89
9C8	170,2	57,6	936	336,5	4,14	19,8	360,40
9C9	155,0	49,4	899	337,0	3,70	20,1	360,82
9C10	180,6	57,9	926	331,6	4,15	19,6	355,31
9C11	154,6	52,5	922	340,0	3,87	20,6	364,46
9C12	118,7	44,7	741	330,7	3,99	19,1	353,78
9C13	206,3	113,5	1019	341,5	7,61	21,0	370,08
9C14	339,9	164,5	1423	324,4	7,50	19,6	351,42
9C15	260,3	74,6	1047	324,2	4,61	19,6	348,43
9C16	530,1	237,5	1743	328,0	8,94	18,9	355,83
9C17	497,6	218,0	1585	352,9	9,71	19,7	382,31
9C18	806,4	305,9	2012	322,9	9,82	20,1	352,81

Tabla 5.40. Respuestas experimento D. Campaña 2009-10

Identificación	R (%)	IA (%)	IP (mEqO <sub>2</sub> / kg)	K <sub>270</sub>	K <sub>232</sub>	Clrf (mg/kg)	Crd (mg/kg)
9D1	17,1	0,07	3,42	0,142	1,43	40,4	13,8
9D2	15,6	0,08	2,83	0,194	1,55	39,3	13,2
9D3	17,7	0,08	3,05	0,192	1,55	43,0	14,5
9D4	18,3	0,08	3,61	0,161	1,49	39,9	13,8
9D5	18,2	0,09	3,34	0,139	1,46	39,2	13,5
9D6	15,3	0,08	2,45	0,186	1,57	42,3	13,9
9D7	16,1	0,09	3,57	0,149	1,53	37,1	13,0
9D8	17,1	0,10	4,33	0,153	1,56	40,0	13,8
9D9	17,5	0,10	4,04	0,195	1,61	44,9	16,0
9D10	17,5	0,11	4,24	0,163	1,57	42,8	15,4
9D11	17,5	0,10	4,01	0,178	1,61	43,7	15,4
9D12	17,9	0,06	3,88	0,181	1,58	40,9	14,1
9D13	17,1	0,08	4,25	0,185	1,73	45,2	15,7
9D14	16,1	0,10	5,61	0,224	1,76	56,7	19,7
9D15	16,1	0,09	4,04	0,230	1,77	54,4	18,5
9D16	17,7	0,10	4,82	0,250	1,84	85,8	28,5
9D17	18,1	0,11	5,09	0,245	1,86	86,9	27,9
9D18	17,6	0,12	5,58	0,289	2,12	80,1	26,3

Identificación	PTE (mg/kg)	ODF (mg/kg)	Hy (mg/kg)	Ty (mg/kg)	VCO (mg/kg)	VNA (mg/kg)	pCOU (mg/kg)
9D1	519	39,9	1,64	3,46	1,47	0,14	1,18
9D2	572	166,5	4,30	5,11	1,94	0,14	1,77
9D3	537	77,4	3,26	4,73	1,82	0,17	1,48
9D4	465	67,0	3,38	5,64	1,98	0,16	1,59
9D5	468	45,9	3,09	5,53	1,98	0,18	1,58
9D6	632	111,7	4,20	4,91	1,57	0,16	1,51
9D7	562	75,6	2,95	5,01	1,46	0,25	1,14
9D8	587	80,4	4,60	5,84	1,54	0,31	1,29
9D9	564	76,3	3,73	5,23	1,45	0,34	1,29
9D10	571	72,5	4,22	5,89	1,70	0,37	1,45
9D11	574	78,7	3,84	4,87	1,52	0,29	1,51
9D12	553	68,6	3,85	5,50	1,60	0,36	1,48
9D13	542	80,4	4,54	6,61	1,33	0,41	1,11
9D14	736	140,8	4,48	6,09	1,42	0,42	1,26
9D15	738	123,6	4,88	5,57	1,07	0,37	1,16
9D16	705	120,2	5,01	8,89	1,43	1,06	1,20
9D17	774	165,3	5,28	8,58	1,19	0,95	1,25
9D18	900	199,0	5,35	7,28	1,08	0,80	1,32

**Tabla 5.41.** Respuestas experimento D. Campaña 2009-10. Continuación

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EDA (mg/kg)</b>	<b>PR (mg/kg)</b>	<b>Ty-EDA (mg/kg)</b>	<b>LTNA (mg/kg)</b>	<b>CNCO (mg/kg)</b>	<b>APR (mg/kg)</b>	<b>APG (mg/kg)</b>
9D1	150,8	2,38	18,0	23,8	0,63	9,87	4,80
9D2	430,7	3,52	27,7	35,9	0,89	18,52	6,78
9D3	412,0	3,50	26,8	30,9	0,86	17,99	7,27
9D4	329,5	3,68	43,4	29,7	0,69	15,47	6,89
9D5	351,4	3,75	45,8	31,5	0,93	15,36	6,76
9D6	500,8	3,87	32,4	36,7	1,01	20,25	7,22
9D7	383,4	3,69	84,3	22,4	0,63	13,53	6,35
9D8	519,7	3,91	98,1	23,1	0,80	15,31	12,24
9D9	535,9	3,94	106,4	24,8	0,85	15,51	7,39
9D10	531,7	4,02	107,4	25,8	0,86	15,43	7,63
9D11	493,5	3,49	85,1	23,8	0,77	14,31	13,08
9D12	524,7	4,10	107,7	25,3	0,81	15,39	13,29
9D13	457,6	3,93	158,5	16,2	0,58	10,37	3,94
9D14	89,5	4,54	148,8	21,8	0,84	15,58	6,25
9D15	737,3	4,14	141,8	21,3	0,96	17,08	7,47
9D16	811,8	4,81	278,0	15,0	0,41	9,40	6,38
9D17	776,6	4,53	4,5	11,3	0,35	7,48	4,34
9D18	754,0	4,12	4,1	13,5	0,50	8,89	6,74

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EA (mg/kg)</b>	<b>Ty-EA (mg/kg)</b>	<b>PTCL (mg/kg)</b>	<b>ATCO (mg/kg)</b>	<b>BTCO (mg/kg)</b>	<b>GTCO (mg/kg)</b>	<b>TCOT (mg/kg)</b>
9D1	21,7	27,8	271	347,1	3,82	17,7	368,6
9D2	43,8	25,2	610	337,4	3,64	18,9	360,0
9D3	44,3	48,4	607	347,5	3,86	17,8	369,2
9D4	49,4	36,9	532	342,7	4,07	18,6	365,4
9D5	49,5	55,6	576	345,9	3,92	18,0	367,9
9D6	53,8	29,8	702	331,8	3,86	16,8	352,5
9D7	99,2	81,6	709	342,6	3,67	18,1	364,4
9D8	156,7	87,2	934	354,5	3,66	17,9	376,1
9D9	144,4	58,0	913	350,2	3,78	17,7	371,7
9D10	148,5	81,1	936	354,9	4,17	18,0	377,1
9D11	142,6	85,8	878	352,8	3,88	16,2	373,0
9D12	157,6	97,0	962	344,4	3,67	17,8	365,9
9D13	189,3	84,5	942	357,7	7,90	21,3	386,9
9D14	328,2	151,3	784	342,8	4,06	18,3	365,1
9D15	329,4	158,4	1434	337,2	3,71	17,5	358,5
9D16	540,0	254,0	1941	355,1	4,25	18,7	378,0
9D17	602,9	273,0	1971	364,7	4,04	17,7	386,4
9D18	702,1	283,9	2028	344,6	4,06	18,4	367,1

Tabla 5.42. Respuestas experimento E. Campaña 2009-10

Identificación	R (%)	IA (%)	IP (mEqO <sub>2</sub> / kg)	K <sub>270</sub>	K <sub>232</sub>	Clrf (mg/kg)	Crd (mg/kg)
9E1	19,5	0,09	3,21	0,180	1,47	32,1	10,1
9E2	17,8	0,07	2,65	0,170	1,55	35,7	11,2
9E3	18,2	0,08	2,46	0,169	1,55	34,3	11,4
9E4	19,7	0,09	3,82	0,088	1,49	33,9	11,1
9E5	19,9	0,07	2,82	0,163	1,53	35,5	11,6
9E6	18,1	0,09	5,13	0,181	1,56	35,5	11,7
9E7	17,9	0,06	5,48	0,165	1,56	36,2	12,3
9E8	19,1	0,08	4,91	0,171	1,60	41,7	14,3
9E9	19,5	0,07	4,85	0,174	1,63	42,2	14,8
9E10	19,7	0,08	4,76	0,184	1,56	41,5	13,9
9E11	19,7	0,07	4,69	0,173	1,65	39,7	13,5
9E12	19,2	0,08	3,80	0,158	1,60	40,4	13,6
9E13	20,1	0,05	4,85	0,140	1,53	39,3	13,1
9E14	18,8	0,08	5,28	0,224	1,79	48,6	16,6
9E15	19,3	0,06	5,63	0,233	1,83	57,4	19,4
9E16	19,5	0,08	5,73	0,230	1,91	59,4	21,3
9E17	20,4	0,07	7,54	0,217	1,86	70,2	23,0
9E18	20,0	0,07	7,23	0,211	1,89	66,1	21,3

Identificación	PTE (mg/kg)	ODF (mg/kg)	Hy (mg/kg)	Ty (mg/kg)	VCO (mg/kg)	VNA (mg/kg)	pCOU (mg/kg)
9E1	394	84,6	2,76	4,99	1,54	0,24	1,11
9E2	603	94,1	4,14	5,92	1,84	0,18	1,38
9E3	572	86,3	4,86	6,55	1,80	0,19	1,40
9E4	417	60,2	5,49	7,63	2,20	0,22	1,53
9E5	420	61,8	7,78	8,98	2,20	0,24	1,64
9E6	588	86,5	4,22	6,21	1,85	0,32	1,32
9E7	575	86,5	3,97	5,27	1,35	0,33	1,01
9E8	571	91,6	4,58	8,06	2,39	0,43	1,31
9E9	586	94,1	3,89	6,07	1,74	0,64	1,07
9E10	565	91,4	4,82	6,60	1,60	0,35	1,04
9E11	571	94,1	4,90	6,50	1,55	0,36	1,02
9E12	562	79,0	5,17	7,31	1,73	0,45	1,12
9E13	524	62,9	3,75	7,27	1,59	0,51	0,99
9E14	658	118,5	5,57	6,39	1,26	0,52	1,03
9E15	686	149,2	5,20	5,64	1,08	0,64	0,87
9E16	734	139,6	6,94	8,99	1,20	1,25	1,06
9E17	749	145,2	7,80	8,52	1,09	1,38	1,15
9E18	800	197,5	8,30	8,31	1,04	1,32	1,21

**Tabla 5.43.** Respuestas experimento E. Campaña 2009-10. Continuación

Identificación	Hy-EDA (mg/kg)	PR (mg/kg)	Ty-EDA (mg/kg)	LTNA (mg/kg)	CNCO (mg/kg)	APR (mg/kg)	APG (mg/kg)
9E1	221,4	2,53	17,5	30,9	0,69	13,2	6,93
9E2	422,8	3,31	20,3	34,7	0,99	19,7	7,98
9E3	392,9	3,12	19,5	39,7	0,97	17,9	8,14
9E4	351,3	3,79	36,0	32,5	0,89	17,1	8,33
9E5	378,1	3,83	33,1	36,7	0,95	17,5	8,47
9E6	525,8	3,67	52,6	30,4	0,85	19,4	13,89
9E7	525,7	3,58	94,6	22,4	0,74	15,9	16,18
9E8	547,4	4,13	94,5	23,7	0,67	17,2	12,99
9E9	598,0	4,01	99,5	24,3	0,84	16,9	18,58
9E10	586,9	3,78	72,8	30,1	0,84	19,4	16,71
9E11	625,2	3,88	95,6	26,2	0,86	18,9	18,62
9E12	658,7	4,04	105,6	25,8	0,86	18,9	22,99
9E13	509,3	3,67	134,9	16,3	0,54	12,2	12,60
9E14	798,9	4,68	122,5	30,9	1,03	19,2	7,45
9E15	849,7	4,12	126,5	27,9	0,97	20,8	7,41
9E16	875,6	4,37	240,8	22,7	0,54	14,9	6,16
9E17	860,6	4,16	248,9	19,1	0,52	13,8	8,02
9E18	843,9	4,52	220,1	16,5	0,65	14,4	9,02

Identificación	Hy-EA (mg/kg)	Ty-EA (mg/kg)	PTCL (mg/kg)	ATCO (mg/kg)	BTCO (mg/kg)	GTCO (mg/kg)	TCOT (mg/kg)
9E1	29,5	24,4	361	319,1	3,32	18,6	340,96
9E2	43,3	24,4	594	323,8	2,05	18,3	344,21
9E3	42,5	44,8	588	317,0	3,71	19,5	340,24
9E4	55,9	35,7	562	323,1	3,15	21,6	347,84
9E5	59,0	33,5	595	328,2	2,84	19,8	350,84
9E6	82,9	59,0	806	317,1	3,57	19,0	339,64
9E7	179,2	81,4	955	315,5	4,14	19,3	338,91
9E8	172,6	72,0	965	330,7	3,79	20,1	354,61
9E9	179,2	80,5	1057	321,4	3,77	18,5	343,63
9E10	169,0	70,5	988	312,6	3,43	19,1	335,13
9E11	213,5	90,0	1111	310,4	3,87	18,8	332,98
9E12	251,4	97,5	1205	315,2	3,92	18,9	338,05
9E13	226,8	117,3	1051	325,9	5,60	22,9	354,48
9E14	388,5	169,3	1561	311,5	5,20	18,8	335,44
9E15	427,2	174,1	1656	333,6	5,40	19,2	358,28
9E16	929,2	306,8	2424	314,3	6,12	18,9	339,30
9E17	921,5	315,0	2415	324,4	6,51	18,5	349,42
9E18	1133,9	344,2	2611	318,0	6,45	18,8	343,20

Tabla 5.44. Respuestas experimento F. Campaña 2009-10

Identificación	R (%)	IA (%)	IP (mEqO <sub>2</sub> / kg)	K <sub>270</sub>	K <sub>232</sub>	Clrf (mg/kg)	Crd (mg/kg)
9F1	20,4	0,10	3,50	0,125	1,43	30,7	10,3
9F2	18,8	0,09	2,84	0,175	1,58	34,3	11,1
9F3	20,0	0,10	3,34	0,161	1,57	33,0	10,3
9F4	20,3	0,09	2,44	0,171	1,61	34,6	11,3
9F5	20,3	0,10	5,54	0,191	1,72	34,0	11,0
9F6	20,4	0,10	3,21	0,191	1,68	43,4	15,7
9F7	19,4	0,10	5,58	0,207	1,72	48,7	18,5
9F8	21,8	0,08	4,30	0,191	1,69	51,1	18,8
9F9	21,9	0,06	4,72	0,191	1,64	44,8	16,9
9F10	21,3	0,05	4,11	0,168	1,58	46,5	17,7
9F11	21,5	0,06	4,47	0,190	1,61	45,3	17,2
9F12	19,5	0,07	6,13	0,165	1,66	44,9	16,2
9F13	21,6	0,08	5,75	0,208	1,72	55,2	20,3
9F14	20,5	0,07	5,38	0,204	1,78	54,9	19,7
9F15	21,1	0,08	5,34	0,229	1,87	54,5	19,1
9F16	21,4	0,07	8,21	0,215	1,86	68,1	23,1
9F17	21,9	0,11	5,72	0,232	1,97	74,1	25,4
9F18	21,5	0,10	5,21	0,177	1,71	68,3	23,1

Identificación	PTE (mg/kg)	ODF (mg/kg)	Hy (mg/kg)	Ty (mg/kg)	VCO (mg/kg)	VNA (mg/kg)	pCOU (mg/kg)
9F1	393	69,5	3,86	6,01	1,15	0,18	1,18
9F2	524	78,9	5,77	7,21	1,48	0,16	1,13
9F3	575	85,5	5,85	7,62	1,83	0,17	1,52
9F4	459	56,6	4,16	7,51	1,87	0,19	1,32
9F5	471	68,7	3,70	7,80	2,01	0,22	1,38
9F6	676	105,3	4,40	4,90	1,26	0,22	1,15
9F7	506	94,8	5,41	5,09	0,92	0,42	0,91
9F8	551	93,3	4,37	6,50	1,45	0,49	1,23
9F9	548	88,2	3,53	5,86	1,30	0,50	1,09
9F10	541	88,8	3,80	6,53	1,55	0,49	1,18
9F11	524	81,2	3,59	6,87	1,62	0,46	1,22
9F12	509	91,3	3,88	6,75	1,43	0,48	1,16
9F13	551	83,1	2,80	4,92	1,03	0,50	0,91
9F14	684	133,4	4,12	5,99	1,16	0,76	1,04
9F15	734	128,0	4,25	6,28	1,20	0,76	1,11
9F16	651	146,4	5,51	8,76	1,16	1,33	1,05
9F17	624	154,5	6,17	9,37	1,34	1,63	1,17
9F18	696	183,9	6,84	7,79	1,04	1,71	1,16

**Tabla 5.45.** Respuestas experimento F. Campaña 2009-10. Continuación

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EDA (mg/kg)</b>	<b>PR (mg/kg)</b>	<b>Ty-EDA (mg/kg)</b>	<b>LTNA (mg/kg)</b>	<b>CNCO (mg/kg)</b>	<b>APR (mg/kg)</b>	<b>APG (mg/kg)</b>
9F1	231,5	2,70	13,5	35,9	0,56	15,44	7,02
9F2	438,4	3,32	17,7	40,5	0,75	23,87	8,30
9F3	454,6	3,30	18,8	41,3	0,82	21,92	8,47
9F4	406,4	3,53	37,1	36,4	0,69	20,54	0,04
9F5	440,8	3,58	40,0	36,3	0,75	20,57	7,61
9F6	764,9	3,16	35,9	42,9	1,11	26,33	6,39
9F7	711,3	3,12	144,9	26,8	0,89	15,47	8,72
9F8	634,9	3,63	115,6	26,6	0,71	15,82	8,51
9F9	598,9	3,56	105,6	23,2	0,72	14,59	15,14
9F10	591,9	3,67	103,0	27,1	0,69	15,47	13,92
9F11	532,3	3,70	92,2	25,2	0,66	15,21	13,08
9F12	534,5	3,85	103,0	24,5	0,70	15,43	8,22
9F13	574,5	2,72	170,4	17,5	0,56	8,96	4,71
9F14	756,3	4,14	133,2	25,5	0,66	15,07	8,08
9F15	831,5	4,31	148,0	25,6	0,87	16,67	7,70
9F16	788,0	4,01	236,0	15,5	0,39	9,63	6,70
9F17	781,4	4,62	262,2	21,9	0,36	11,07	7,09
9F18	848,1	4,22	211,1	17,7	0,42	11,31	7,62

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EA (mg/kg)</b>	<b>Ty-EA (mg/kg)</b>	<b>PTCL (mg/kg)</b>	<b>ATCO (mg/kg)</b>	<b>BTCO (mg/kg)</b>	<b>GTCO (mg/kg)</b>	<b>TCOT (mg/kg)</b>
9F1	26,2	13,9	363	326,6	4,10	20,2	350,9
9F2	46,5	22,0	620	287,8	5,21	19,6	312,7
9F3	43,9	22,9	636	319,1	3,76	19,8	342,6
9F4	56,8	31,9	620	323,7	3,53	19,9	347,1
9F5	59,5	28,0	656	322,1	3,90	20,3	346,3
9F6	65,0	30,1	991	362,8	3,46	18,4	384,6
9F7	191,0	61,7	1180	360,1	4,27	18,5	382,9
9F8	141,4	47,5	1012	353,6	3,92	18,1	375,6
9F9	147,7	68,3	993	345,8	3,86	18,9	368,6
9F10	139,0	43,1	955	335,8	3,86	18,9	358,5
9F11	120,9	40,2	870	341,9	3,46	19,9	365,3
9F12	132,7	48,0	888	340,2	3,91	19,9	364,0
9F13	176,8	73,3	1043	369,1	5,15	19,8	394,0
9F14	333,6	122,5	1416	338,7	3,87	20,5	363,1
9F15	366,1	131,3	1549	344,9	4,08	20,4	369,3
9F16	533,8	219,2	1835	340,5	3,83	20,5	364,8
9F17	572,0	198,3	1882	354,1	3,82	22,2	380,1
9F18	790,7	269,5	2183	344,0	3,87	21,4	369,3

Tabla 5.46. Respuestas experimento G. Campaña 2009-10

Identificación	R (%)	IA (%)	IP (mEqO <sub>2</sub> / kg)	K <sub>270</sub>	K <sub>232</sub>	Clrf (mg/kg)	Crd (mg/kg)
9G1	20,9	0,07	3,75	0,105	1,38	26,8	8,6
9G2	20,0	0,05	3,81	0,122	1,46	30,6	10,1
9G3	21,4	0,05	3,78	0,113	1,43	30,5	10,0
9G4	22,3	0,08	3,64	0,150	1,46	33,1	10,9
9G5	23,0	0,07	3,79	0,158	1,45	33,7	11,3
9G6	20,5	0,08	2,68	0,144	1,55	36,5	11,7
9G7	20,8	0,05	4,47	0,147	1,55	34,7	11,5
9G8	21,4	0,06	4,04	0,156	1,62	30,9	10,6
9G9	21,9	0,05	3,82	0,160	1,63	31,4	10,6
9G10	21,9	0,05	4,34	0,160	1,59	32,8	11,5
9G11	22,0	0,06	3,91	0,153	1,65	30,9	10,9
9G12	23,3	0,03	4,47	0,162	1,63	32,5	11,7
9G13	22,5	0,03	5,80	0,138	1,58	31,8	11,1
9G14	22,9	0,03	4,65	0,142	1,61	33,2	11,9
9G15	22,6	0,03	4,30	0,138	1,58	38,2	11,6
9G16	22,8	0,04	6,68	0,142	1,56	37,2	13,7
9G17	23,9	0,04	8,25	0,176	1,60	38,4	13,7
9G18	23,5	0,04	7,35	0,173	1,67	37,2	13,7

Identificación	PTE (mg/kg)	ODF (mg/kg)	Hy (mg/kg)	Ty (mg/kg)	VCO (mg/kg)	VNA (mg/kg)	pCOU (mg/kg)
9G1	303	39,4	1,72	4,26	1,14	0,13	0,88
9G2	407	65,3	3,57	5,66	1,29	0,18	0,90
9G3	402	61,9	6,20	7,74	1,30	0,18	0,95
9G4	318	40,8	5,49	8,60	1,87	0,23	1,17
9G5	346	47,5	3,11	6,89	1,62	0,21	1,08
9G6	479	85,6	3,86	5,12	0,81	0,17	0,68
9G7	481	90,9	3,80	4,25	0,69	0,30	0,57
9G8	503	88,2	3,33	4,13	0,83	0,33	0,71
9G9	526	98,2	6,00	5,39	0,72	0,29	0,56
9G10	504	99,9	4,18	4,82	0,72	0,33	0,57
9G11	502	95,0	6,99	6,16	0,79	0,32	0,60
9G12	482	95,8	7,83	6,71	0,81	0,36	0,63
9G13	418	66,9	3,70	5,43	0,71	0,43	0,56
9G14	481	84,8	5,40	7,05	0,92	0,78	0,77
9G15	492	102,6	4,55	7,33	0,92	0,74	0,69
9G16	409	99,2	4,33	7,26	0,74	1,21	0,67
9G17	432	88,4	5,74	7,73	0,86	1,10	0,75
9G18	438	113,0	5,41	6,24	0,70	1,46	0,71

**Tabla 5.47.** Respuestas experimento G. Campaña 2009-10. Continuación

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EDA (mg/kg)</b>	<b>PR (mg/kg)</b>	<b>Ty-EDA (mg/kg)</b>	<b>LTNA (mg/kg)</b>	<b>CNCO (mg/kg)</b>	<b>APR (mg/kg)</b>	<b>APG (mg/kg)</b>
9G1	187,9	1,93	9,9	23,2	0,71	10,40	4,74
9G2	231,2	2,38	14,1	25,3	0,72	12,35	5,11
9G3	281,9	2,61	14,7	27,9	0,91	14,39	5,28
9G4	191,6	3,04	25,9	30,1	0,74	12,21	5,94
9G5	214,3	2,67	21,6	25,5	0,67	11,77	5,59
9G6	445,4	2,63	19,3	34,6	1,03	18,71	5,11
9G7	508,0	2,79	86,1	22,1	0,78	14,59	4,58
9G8	464,2	2,75	82,9	23,2	0,73	13,36	4,26
9G9	490,1	2,55	78,1	18,8	0,76	14,18	3,97
9G10	508,8	2,77	94,3	21,0	0,82	15,71	3,86
9G11	482,2	2,62	80,5	20,4	0,73	14,66	3,40
9G12	528,5	2,82	87,6	21,6	0,77	15,70	3,83
9G13	414,4	2,64	110,4	15,6	0,51	10,11	4,25
9G14	490,3	3,55	112,3	15,2	0,71	10,60	4,42
9G15	453,5	3,76	94,7	16,3	0,83	9,91	4,05
9G16	531,8	3,64	171,0	10,6	0,50	4,96	2,87
9G17	391,1	3,37	128,6	10,8	0,47	4,33	2,40
9G18	445,6	3,34	118,4	9,4	0,47	4,96	3,87

<b>Identificación</b>	<b>Hy-EA (mg/kg)</b>	<b>Ty-EA (mg/kg)</b>	<b>PTCL (mg/kg)</b>	<b>ATCO (mg/kg)</b>	<b>BTCO (mg/kg)</b>	<b>GTCO (mg/kg)</b>	<b>TCOT (mg/kg)</b>
9G1	29,0	16,4	296	336,7	3,34	22,6	362,6
9G2	41,2	21,3	369	330,8	3,82	20,3	355,0
9G3	48,2	24,1	440	335,4	4,32	20,5	360,3
9G4	45,3	28,9	365	335,0	4,28	20,5	359,7
9G5	49,8	24,8	373	334,9	3,05	19,9	357,9
9G6	72,0	27,0	640	306,4	3,39	20,7	330,5
9G7	152,2	49,6	854	313,6	3,05	20,2	336,9
9G8	131,0	41,9	777	321,7	3,78	20,9	346,4
9G9	149,0	53,4	827	315,3	3,69	20,4	339,3
9G10	175,4	57,7	894	321,9	3,58	21,2	346,6
9G11	164,7	50,7	838	320,3	4,49	20,5	345,3
9G12	162,8	52,9	896	324,9	4,69	20,0	349,6
9G13	188,6	63,9	825	321,5	3,49	21,1	346,1
9G14	268,7	121,8	1046	334,9	3,82	21,3	360,0
9G15	218,7	107,9	927	325,4	3,86	21,6	350,8
9G16	259,9	139,7	1143	346,1	3,49	21,4	370,9
9G17	223,8	120,0	904	332,1	4,89	22,2	359,2
9G18	356,4	164,1	1125	319,3	4,66	21,4	345,4

Tabla 5.48. Respuestas experimento H. Campaña 2009-10

Identificación	R (%)	IA (%)	IP (mEqO <sub>2</sub> / kg)	K <sub>270</sub>	K <sub>232</sub>	Clrf (mg/kg)	Crd (mg/kg)
9H1	19,8	0,07	3,29	0,136	1,43	29,6	10,1
9H2	19,8	0,07	3,39	0,141	1,48	32,2	11,2
9H3	19,0	0,03	4,31	0,128	1,42	29,1	11,3
9H4	21,1	0,03	4,71	0,141	1,45	28,5	10,6
9H5	21,3	0,02	3,82	0,118	1,43	29,9	10,4
9H6	20,0	0,02	3,84	0,165	1,58	39,7	13,9
9H7	20,9	0,05	5,80	0,181	1,66	36,8	13,9
9H8	20,9	0,05	4,40	0,149	1,56	35,7	12,9
9H9	20,8	0,04	4,93	0,147	1,61	36,6	13,4
9H10	21,5	0,03	4,85	0,163	1,59	33,1	12,4
9H11	21,3	0,04	4,47	0,166	1,62	33,0	12,2
9H12	21,2	0,09	4,97	0,160	1,61	32,9	12,0
9H13	22,1	0,06	6,36	0,174	1,62	35,2	13,3
9H14	22,2	0,05	4,77	0,189	1,76	39,1	14,3
9H15	20,8	0,03	7,23	0,193	1,74	41,4	15,4
9H16	21,8	0,02	6,62	0,190	1,72	48,2	17,8
9H17	22,6	0,08	7,52	0,189	1,71	46,3	17,5
9H18	22,5	0,050	6,89	0,226	1,87	48,8	18,4

Identificación	PTE (mg/kg)	ODF (mg/kg)	Hy (mg/kg)	Ty (mg/kg)	VCO (mg/kg)	VNA (mg/kg)	pCOU (mg/kg)
9H1	335	79,1	1,38	2,32	0,51	0,08	0,38
9H2	458	76,7	3,82	4,67	0,91	0,21	0,77
9H3	386	65,7	2,94	4,36	0,90	0,17	0,72
9H4	326	56,9	2,77	4,14	0,87	0,19	0,67
9H5	335	52,5	3,37	4,08	0,71	0,16	0,60
9H6	489	95,6	4,01	3,51	0,53	0,14	0,47
9H7	431	78,9	3,15	2,95	0,43	0,29	0,36
9H8	425	84,6	2,95	2,74	0,40	0,31	0,34
9H9	459	90,5	3,64	3,27	0,46	0,36	0,42
9H10	460	96,5	3,05	3,30	0,50	0,31	0,42
9H11	431	94,1	3,15	3,39	0,57	0,32	0,48
9H12	459	89,8	4,89	4,85	0,65	0,38	0,51
9H13	460	75,3	2,74	3,75	0,54	0,37	0,48
9H14	651	126,9	3,93	3,55	0,46	0,47	0,46
9H15	647	121,5	4,57	4,01	0,51	0,66	0,44
9H16	636	132,8	5,19	5,14	0,50	1,30	0,54
9H17	607	127,2	4,55	4,78	0,47	1,27	0,47
9H18	795	167,2	5,99	4,97	0,54	1,29	0,54

**Tabla 5.49.** Respuestas experimento H. Campaña 2009-10. Continuación

Identificación	Respuestas						
	Hy-EDA (mg/kg)	PR (mg/kg)	Ty-EDA (mg/kg)	LTNA (mg/kg)	CNCO (mg/kg)	APR (mg/kg)	APG (mg/kg)
9H1	106,9	1,34	6,3	14,1	0,41	5,96	2,06
9H2	306,4	2,48	17,1	27,1	0,74	13,00	4,54
9H3	180,0	2,13	21,0	18,8	0,59	8,10	2,96
9H4	189,5	2,27	21,3	20,9	0,54	9,39	3,92
9H5	281,2	2,32	15,7	24,1	0,78	12,14	3,75
9H6	452,1	3,12	27,2	25,6	0,85	14,90	3,43
9H7	366,5	2,29	70,8	13,8	0,48	7,93	2,36
9H8	449,3	2,32	68,9	14,7	0,55	8,59	2,10
9H9	478,9	2,71	82,2	16,6	0,70	10,08	2,85
9H10	511,1	2,86	91,3	16,1	0,79	10,76	2,71
9H11	440,6	2,56	75,5	15,9	0,74	9,52	2,21
9H12	432,5	3,08	71,8	17,1	0,73	10,39	2,36
9H13	421,7	2,78	120,8	13,2	0,42	7,05	2,24
9H14	616,7	2,82	101,6	16,0	0,70	10,01	2,27
9H15	658,9	3,22	113,9	16,0	0,68	10,80	2,51
9H16	693,2	3,03	187,3	10,4	0,31	4,61	1,75
9H17	605,3	3,24	174,5	8,7	0,23	3,25	1,88
9H18	689,8	2,75	168,5	8,7	0,34	4,21	3,47

Identificación	Hy-EA (mg/kg)	Ty-EA (mg/kg)	PTCL (mg/kg)	ATCO (mg/kg)	BTCO (mg/kg)	GTCO (mg/kg)	TCOT (mg/kg)
9H1	12,9	12,5	171	342,9	3,53	21,9	368,4
9H2	40,1	18,3	444	328,0	3,51	21,4	352,9
9H3	25,4	21,7	293	347,0	3,59	22,6	373,3
9H4	32,0	14,4	306	336,7	3,71	21,4	361,9
9H5	32,3	11,9	397	338,2	3,38	21,9	363,5
9H6	47,3	24,5	611	362,5	5,45	23,9	391,9
9H7	107,9	29,2	612	372,4	3,81	22,2	398,4
9H8	109,2	39,0	705	372,1	3,57	22,0	397,7
9H9	139,1	49,7	794	365,2	4,16	21,9	391,3
9H10	146,4	51,7	845	380,4	3,07	22,5	405,9
9H11	123,9	41,7	724	367,7	3,79	22,4	393,9
9H12	120,7	50,7	724	352,5	3,82	22,5	378,7
9H13	161,5	74,0	815	385,9	3,84	22,6	412,4
9H14	255,3	100,8	1119	353,6	3,73	23,0	380,4
9H15	290,7	117,7	1228	355,2	2,77	24,1	382,1
9H16	435,1	200,9	1553	363,0	3,86	23,3	390,1
9H17	396,6	192,5	1401	372,2	3,61	22,2	398,0
9H18	550,4	228,7	1674	371,9	3,05	22,54	397,5

## 5.2. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 5.2.1. DISEÑO FACTORIAL. CAMPAÑA 2007-08

Como se ha indicado en el Apartado 5.1.2, los experimentos realizados durante la campaña de aceituna 2007-08 lo han sido mediante diseño de experimentos con metodología factorial del tipo  $2^3$  (tres factores con dos niveles de estudio cada uno). Para ajustar los datos de un diseño factorial se emplea un modelo lineal que incorpore la posible interacción que pueda existir entre los factores, Ecuación 5.1.

$$Y = a_0 + a_1 \cdot T + a_2 \cdot t + a_3 \cdot C + a_{12} \cdot T \cdot t + a_{13} \cdot T \cdot C + a_{23} \cdot t \cdot C \quad (5.1)$$

Siendo: Y = respuesta a estudiar

T = Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )

t = tiempo (min)

C = dosis de coadyuvante (talco) empleada (%)

El modelo de la Ecuación 5.1 se ha aplicado mediante el Desing Expert 8.0.7.1, software específico para diseño de experimentos, a todas las respuestas incluidas en las Tablas 5.6. Los coeficientes de los modelos para los factores codificados, y el coeficiente de determinación, se muestran en las Tablas siguientes, organizadas por respuestas y tipo de cultivo, frente al índice de madurez. Como información suministrada por el software se puede afirmar que todos los modelos son significativos, o sirven para ajustar los datos a los que se aplican, y en todos los casos la falta de ajuste no es significativa, por lo que la dispersión, aunque pueda ser grande, no distorsiona los resultados finales y el modelo obtenido.

Antes de comenzar a discutir los modelos de ajuste, obtenidos para todos los experimentos realizados en la campaña 2007-08, es necesario indicar que al utilizar factores codificados, para determinar los modelos, se impone que todos ellos varíen entre el valor mínimo de -1 y el máximo de +1, independientemente de cuales sean sus valores reales. Esta forma de presentar los modelos tiene varias ventajas; en primer lugar, los puntos centrales se corresponden con valores 0 de los factores por lo que el término independiente de la Ecuación 5.1 muestra el valor real de la respuesta en estos puntos y a partir de ella se determinan, en función de sus coeficientes, los valores para los extremos. Como los extremos de los factores son la unidad, es muy fácil determinar la influencia que sobre las respuestas tiene cada factor, así como la interacción existente entre ellos.

Según el diseño experimental, el valor de los factores reales para el punto central, factores codificados 0, es de 40 °C para la temperatura, 40 minutos de batido y 1 % de coadyuvante.

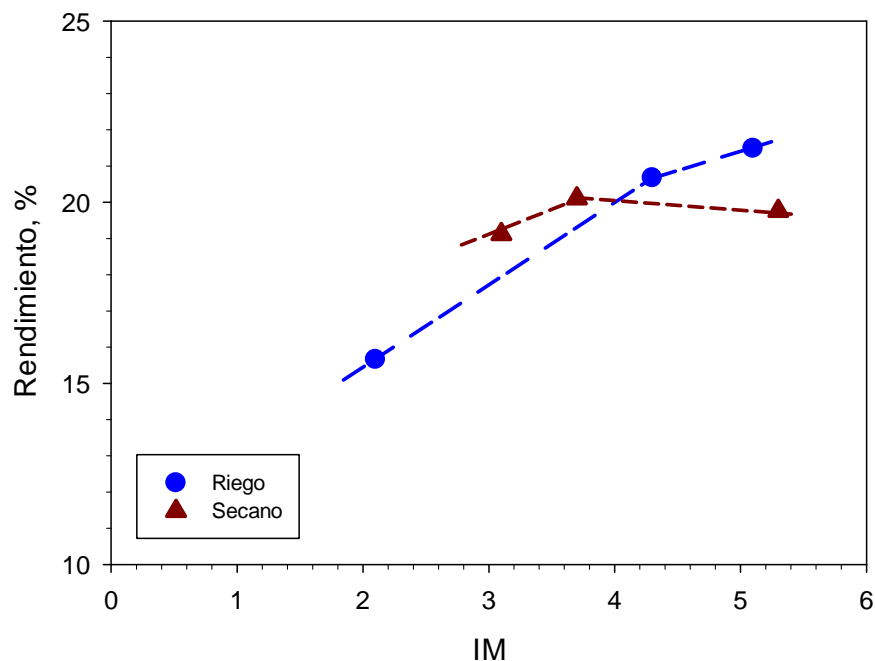
### 5.2.1.1. Rendimiento en Aceite

Por definición, el coeficiente de determinación muestra el porcentaje de reproducibilidad que los modelos hacen de los datos ajustados. Como se observa en la Tabla 5.50, de rendimiento de extracción, todos los modelos obtenidos reproducen más del 90% de las respuestas por lo que pueden considerarse válidos para discusión.

**Tabla 5.50.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Rendimiento Campaña 2007-08

IM	a <sub>0</sub>	a <sub>1</sub>	a <sub>2</sub>	a <sub>3</sub>	a <sub>12</sub>	a <sub>13</sub>	a <sub>23</sub>	R <sup>2</sup>
<b>Riego</b>								
A(2,1)	15,65	-1,04	-0,20	0,80	-0,70	0,45	-0,24	0,987
E(4,3)	20,59		0,56	1,08				0,921
G(5,1)	21,53	0,12	0,87	1,81	0,35		-0,27	0,978
<b>Secano</b>								
B(3,1)	19,09		0,35	0,32			-0,25	0,912
D(3,7)	20,11	0,26	0,21	0,45		-0,26		0,942
F(5,3)	20,59	0,30	1,09	1,35	-0,58			0,925

Considerando el término independiente de todos los modelos (a<sub>0</sub>) y representándolo frente al índice de madurez (Figura 5.6) se puede indicar que, para la aceituna de riego, se produce el incremento, con la maduración, del rendimiento de extracción en base húmeda, como indicativo de que la aceituna va perdiendo humedad con el transcurso de la maduración; en cambio para la aceituna de secano este parámetro se mantiene casi constante, lo que puede deberse a que la aceituna en lugar de perder humedad, con la maduración, la incrementa. Ambos hechos son coincidentes con el contenido de humedad que tienen las muestras de aceitunas empleadas, Tabla 5.1. Debe indicarse que, cuanto más maduras están las aceitunas con más facilidad se extraen los aceites por lo que los rendimientos, si no variase la humedad, también deberían incrementarse con la maduración.



**Figura 5.6.** Variación del rendimiento en base húmeda. Campaña 2007-08

Fijado el rendimiento de extracción, para los puntos centrales del diseño, se debe considerar la influencia que sobre este parámetro tienen los factores estudiados. Así, se puede indicar que la temperatura, en términos generales, presenta una influencia creciente con el índice de madurez, para ambos tipos de cultivo, aunque en todo caso esta no es muy acusada, para el rango de factor real estudiado. Respecto del tiempo de batido y la dosis de coadyuvante se aprecia que, conforme madura la aceituna, se incrementa la influencia positiva del factor de forma que es siempre mejor trabajar con los valores reales más altos de ambos. El coadyuvante siempre presenta más actividad que las variables de batido, sobre todo con las aceitunas de regadío. Considerando las interacciones entre factores indicar que cuando los coeficientes son positivos quiere decir que para mejorar la respuesta ambos factores codificados deben ser del mismo signo, en cambio para coeficientes negativos los factores deben ser de signos opuestos. Las interacciones que indican los modelos de la Tabla 5.50 son de ambos signos y con influencias pequeñas si se considera que intervienen dos factores. Aunque es de destacar la influencia negativa que presenta la interacción entre el tiempo de batido y la dosis de talco utilizada, de forma que solo se obtendrán buenos rendimientos cuando uno de los dos factores se fije a valores reales bajos.

Similares resultados encuentran otros autores, Uceda *et al.* (2006), utilizando tres tiempos de batido, 50, 75 y 105 min. Observan que el aumento del rendimiento es significativo entre 50 y 75 min de batido y que, dicho aumento no es significativo entre

75 y 105 min. Además informan que entre 30 y 40 °C de temperatura el aumento en el rendimiento no es significativo para tiempos de batidos largos.

Kalua *et al.* (2006), mediante un diseño factorial completo 4<sup>2</sup>, trabajando a 15, 45 y 60°C y 30, 60, 90 y 120 min, observan un fuerte efecto significativo del tiempo de batido sobre el rendimiento.

Amirante *et al.* (2002), observan que elevando la temperatura de la pasta de aceituna reducen la viscosidad, facilitan la separación y aumenta el rendimiento.

Di Giovacchino *et al.* (2002<sup>a</sup>) observan un aumento del rendimiento importante con el tiempo y con la temperatura de batido, no obstante, se debe indicar que el intervalo de temperaturas estudiado por estos autores es bajo, de 18 a 32 °C.

### 5.2.1.2. Índice de Acidez

Según se deduce de la Tabla 5.51, de coeficientes de los modelos para el índice de acidez, los valores de este parámetro para los puntos centrales, factores codificados 0, parecen disminuir muy ligeramente con el incremento de la maduración. En este caso, la temperatura sí muestra una influencia importante sobre el incremento de la acidez, en cambio, los otros dos factores parecen no afectar.

Similares resultados encuentran otros autores, Olias *et al.* (1993) indican que, aunque con una acción poco importante, el incremento de la acidez con la temperatura es debido a la acción hidrolítica de las enzimas presentes en el fruto. Kalua *et al.* (2006) informan también de un ligero aumento de la acidez con la temperatura de batido.

**Tabla 5.51.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Índice de Acidez Campaña 2007-08

IM	a <sub>0</sub>	a <sub>1</sub>	a <sub>2</sub>	a <sub>3</sub>	a <sub>12</sub>	a <sub>13</sub>	a <sub>23</sub>	R <sup>2</sup>
<b>Riego</b>								
A(2,1)	0,22	0,027	-0,011	0,008				0,842
E(4,3)	0,21	0,033		-0,006				0,932
G(5,1)	0,14	0,011				-0,004		0,862
<b>Secano</b>								
B(3,1)	0,21	0,043	-0,015	-0,002	0,005	-0,013	0,005	0,997
D(3,7)	0,20	0,014	0,005	0,010		0,006	0,006	0,955
F(5,3)	0,18	0,018		0,016		0,014		0,968

### 5.2.1.3. Índice de Peróxidos

Según la Tabla 5.52, el contenido de peróxidos de los aceites parece disminuir ligeramente con la maduración, aunque en todos los casos está muy lejos del límite máximo permitido de 20. Dado que la mayoría de modelos presentan coeficientes de determinación inferiores a 0,9, la dispersión de los datos de ajuste es alta y, aunque el modelo sea significativo, la reproducibilidad de la respuesta no es buena por lo que la información que facilita solo puede considerarse como orientativa. Como se observa en la Tabla 5.52, la temperatura de batido es el factor más influyente, positivamente, sobre este parámetro; el tiempo muestra una influencia variable, aunque su interacción con la temperatura es positiva, y el coadyuvante parece no influir. Considerando la influencia que sobre las reacciones de oxidación tienen los diferentes factores que intervienen, es lógico que la temperatura sea muy importante dada su capacidad de aceleración de las reacciones. Respecto del tiempo de batido se puede indicar que todo lo que sea incrementar el contacto del aceite con el aire facilita la oxidación.

**Tabla 5.52.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Índice de Peróxidos. Campaña 2007-08

IM	a <sub>0</sub>	a <sub>1</sub>	a <sub>2</sub>	a <sub>3</sub>	a <sub>12</sub>	a <sub>13</sub>	a <sub>23</sub>	R <sup>2</sup>
<b>Riego</b>								
<b>A(2,1)</b>	4,05	0,74	-0,37	-0,50	0,21		-0,47	0,869
<b>E(4,3)</b>	3,11	0,71	0,42		0,19			0,943
<b>G(5,1)</b>	3,17	0,08	0,01	0,08		0,08	-0,04	0,996
<b>Secano</b>								
<b>B(3,1)</b>	3,23	0,70	-0,48		-0,47			0,972
<b>D(3,7)</b>	3,65	1,34		-0,68		-0,55		0,864
<b>F(5,3)</b>	1,99	0,40	0,38		0,42			0,825

Hermoso *et al.* (1998), Cert *et al.* (1999), Vekiari y Koutsaftakis (2002), Alba *et al.* (2004), Aguilera (2006) y Parenti *et al.* (2008), coinciden con estos resultados, indicando que al aumentar la temperatura aumenta ligeramente el índice de peróxidos, lo que confirma el efecto de la temperatura sobre el proceso de autooxidación de los aceites. Por otra parte, según Di Giovacchino *et al.* (2002a) y Di Giovacchino *et al.* (200b) el tiempo de batido no influye en el índice de peróxidos.

#### 5.2.1.4. $K_{232}$

El  $K_{232}$  es un parámetro que muestra el nivel inicial de deterioro de los aceites, por descomposición de los peróxidos formados tras la oxidación de los dobles enlaces de los ácidos grasos. El límite legal de 2,5 para los aceites de oliva vírgenes está lo suficientemente lejos de los valores correspondientes a los puntos centrales de la Tabla 5.53 que, aunque estos sean altos, no parece que las condiciones de operación los modifiquen tanto como para bajar de calidad los aceites.

**Tabla 5.53.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta:  $K_{232}$   
Campaña 2007-08

IM	$a_0$	$a_1$	$a_2$	$a_3$	$a_{12}$	$a_{13}$	$a_{23}$	$R^2$
<b>Riego</b>								
<b>A(2,1)</b>	1,71	0,14	-0,10		-0,13			0,845
<b>E(4,3)</b>	1,65	0,24	0,15	0,07	0,21	0,13		0,963
<b>G(5,1)</b>	1,50	0,00	0,00		0,12			0,900
<b>Secano</b>								
<b>B(3,1)</b>	1,67	0,37	-0,12	-0,07	-0,11	-0,10	0,04	0,999
<b>D(3,7)</b>	1,82	0,20	0,29					0,839
<b>F(5,3)</b>	1,96	0,37	0,24	0,37		0,28	0,21	0,857

Dado que los coeficientes de determinación, en algunos casos, no son suficientemente buenos no se puede precisar la influencia que la maduración de la aceituna tiene sobre este parámetro. Según se observa en la Tabla 5.53, el talco no parece tener influencia, el tiempo de batido muestra una influencia variable aunque con tendencia a ser positiva, en cambio, aunque los modelos no sean buenos, sí se aprecia que la temperatura tiene una gran influencia positiva sobre el  $K_{232}$ .

#### 5.2.1.5. $K_{270}$

Para las condiciones del punto central, los valores de  $K_{270}$  que se muestran en la Tabla 5.54 parecen indicar que los aceites se deterioran tanto en el proceso que casi dejan de cumplir el máximo impuesto a aceites de oliva vírgenes extra ( $\leq 0,22$ ). Por ello, y de cara a obtener aceites de calidad, sería conveniente disminuir este parámetro, sobre el que parece ser que el índice de madurez no influye mucho.

**Tabla 5.54.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta:  $K_{270}$   
Campaña 2007-08

IM	$a_0$	$a_1$	$a_2$	$a_3$	$a_{12}$	$a_{13}$	$a_{23}$	$R^2$
<b>Riego</b>								
<b>A(2,1)</b>	0,21	0,039	-0,022		-0,018			0,912
<b>E(4,3)</b>	0,16	0,040	0,021	0,006	0,024	0,015		0,918
<b>G(5,1)</b>	0,17	0,022	-0,001	0,008		-0,013		0,987
<b>Secano</b>								
<b>B(3,1)</b>	0,21	0,039						0,630
<b>D(3,7)</b>	0,24	0,044	0,043					0,862
<b>F(5,3)</b>	0,23	0,065	-0,035	-0,048				0,883

Según se observa en la Tabla 5.54, la temperatura muestra una gran influencia positiva sobre el  $K_{270}$ , de forma que ella solo puede hacer que un aceite deje de ser virgen extra. Por ello, se debe trabajar a las menores temperaturas posibles si este parámetro es un requisito importante. De otra parte, el tiempo de batido muestra tendencias variables y el talco parece no tener una influencia significativa. De todas formas, los coeficientes de determinación inferiores a 0,9 indican una gran dispersión, por lo que el error analítico también es importante y los modelos obtenidos no son concluyentes.

#### 5.2.1.6. Contenido en Pigmentos

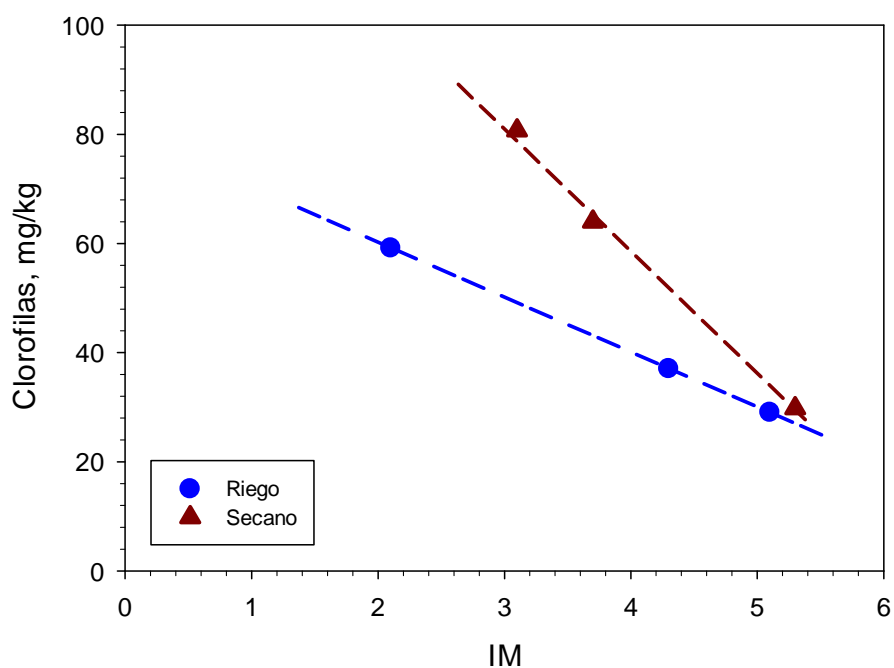
- Clorofilas

En la Tabla 5.55 se observa que el contenido en clorofilas desciende con la maduración, como además es lógico con solo considerar la evolución del color de la aceituna. En la Figura 5.7 se han representado los términos independientes de los modelos de la Tabla 5.55 frente al índice de madurez, en ella puede observarse que el contenido en clorofilas de los aceites desciende linealmente con el índice de madurez y que, excepto para índices mayores de 6, los aceites de secano presentan una mayor concentración, o sea, son más verdes.

Respecto de la influencia que sobre el contenido en clorofilas presentan los diferentes factores estudiados indicar que el talco no muestra actividad significativa, el tiempo de batido presenta muy poca influencia la cual desciende según se incrementa el índice de madurez y, respecto de la temperatura, su influencia sí es muy importante sobre el contenido en clorofilas de los aceites, descendiendo su acción con el transcurso de la maduración.

**Tabla 5.55.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Clorofilas  
Campaña 2007-08

IM	$a_0$	$a_1$	$a_2$	$a_3$	$a_{12}$	$a_{13}$	$a_{23}$	$R^2$
<b>Riego</b>								
A(2,1)	59,13	13,04		2,99		2,08		0,994
E(4,3)	37,03	5,74	0,54		1,28			0,927
G(5,1)	28,99	2,01	0,46		-1,76			0,923
<b>Secano</b>								
B(3,1)	80,72	29,63	8,83		6,67			0,984
D(3,7)	63,99	17,99	1,46	-0,49			2,69	0,972
F(5,3)	29,79	-0,58	-0,34	-0,93	0,63	1,08		0,935



**Figura 5.7.** Evolución del contenido en clorofilas de las aceitunas de la campaña 2007-08

Los resultados obtenidos coinciden con los de varios autores, así Amirante *et al.* (2001) y Uceda *et al.* (2006) informan de una subida del contenido en clorofilas de los aceites con la temperatura y el tiempo de batido. Parenti *et al.* (2008), informan de un aumento del contenido en clorofilas con la temperatura de batido hasta el máximo

de la temperatura investigada, 36°C. Otros autores indican que el contenido en clorofilas aumenta con el tiempo de batido (Ranalli *et al.* 2003b) e incluso para otros existe subida y bajada de este pigmento con el tiempo (Di Giovacchino *et al.*, 2002a).

- Carotenoides

El contenido en carotenoides, al igual que el de clorofilas, disminuye con la maduración, como puede observarse en la Tabla 5.56 y en la Figura 5.8, para los términos independientes de los modelos. Igualmente que para las clorofilas, los aceites de aceitunas de secano siempre tienen mayor contenido en carotenoides que los de regadío.

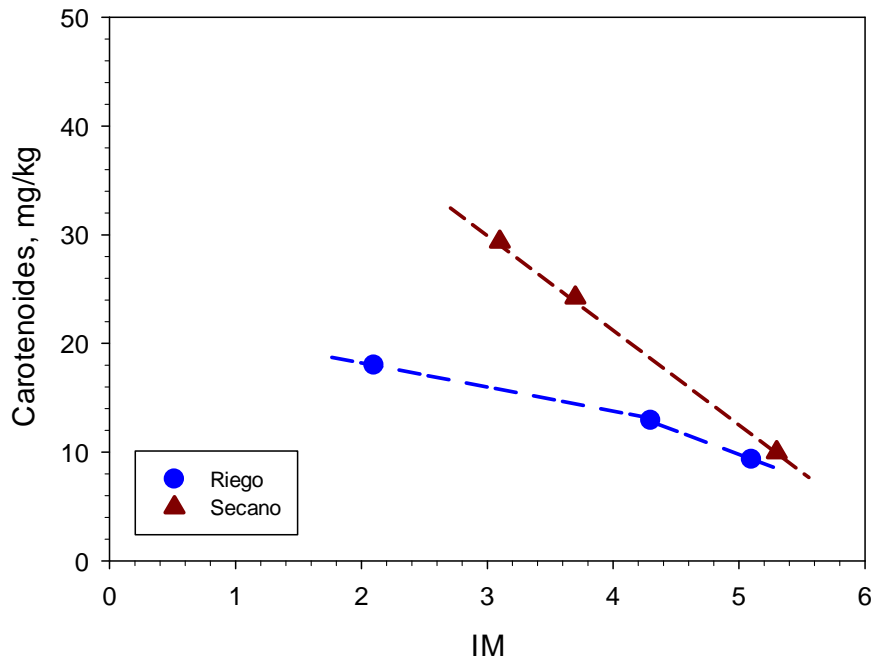
Comparando las escalas de las Figuras 5.7 y 5.8 se deduce que el contenido de carotenoides desciende más lentamente que el de clorofilas, lo que justifica el cambio de color que experimentan los aceites conforme avanza la campaña de aceituna, variando de colores verdes intensos de principio de campaña a colores amarillos al final, pasando por verdes apagados o amarilleando a mitad de la campaña de recogida.

**Tabla 5.56.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Carotenos  
Campaña 2007-08

IM	a <sub>0</sub>	a <sub>1</sub>	a <sub>2</sub>	a <sub>3</sub>	a <sub>12</sub>	a <sub>13</sub>	a <sub>23</sub>	R <sup>2</sup>
<b>Riego</b>								
<b>A(2,1)</b>	17,98	3,24		0,87		0,76		0,989
<b>E(4,3)</b>	12,91	1,96						0,924
<b>G(5,1)</b>	9,32	0,67	0,38	-0,53			0,63	0,944
<b>Secano</b>								
<b>B(3,1)</b>	29,36	9,49	3,46		2,74			0,971
<b>D(3,7)</b>	24,22	5,93	0,33	-0,52	-0,88		1,17	0,970
<b>F(5,3)</b>	9,99	-0,29	0,33	-0,07			0,54	0,938

Considerando la influencia de las variables de operación, factores estudiados, se puede destacar la influencia, decreciente con la maduración, que presenta la temperatura y la menor, y poco importante, del tiempo de batido. En cambio, el talco no parece influir sobre el contenido en carotenoides y si lo hace lo es negativamente, aunque sí es necesario mencionar la influencia positiva que presenta su interacción con el tiempo, de forma que a valores reales bajos, o altos, de ambos factores es cuando el contenido en carotenoides de los aceites es mayor. La interacción siempre

va superpuesta a la acción del factor individual, aunque su acción es menos importante al intervenir un segundo factor.



**Figura 5.8.** Contenido en carotenoides de los aceites de la campaña 2007-08

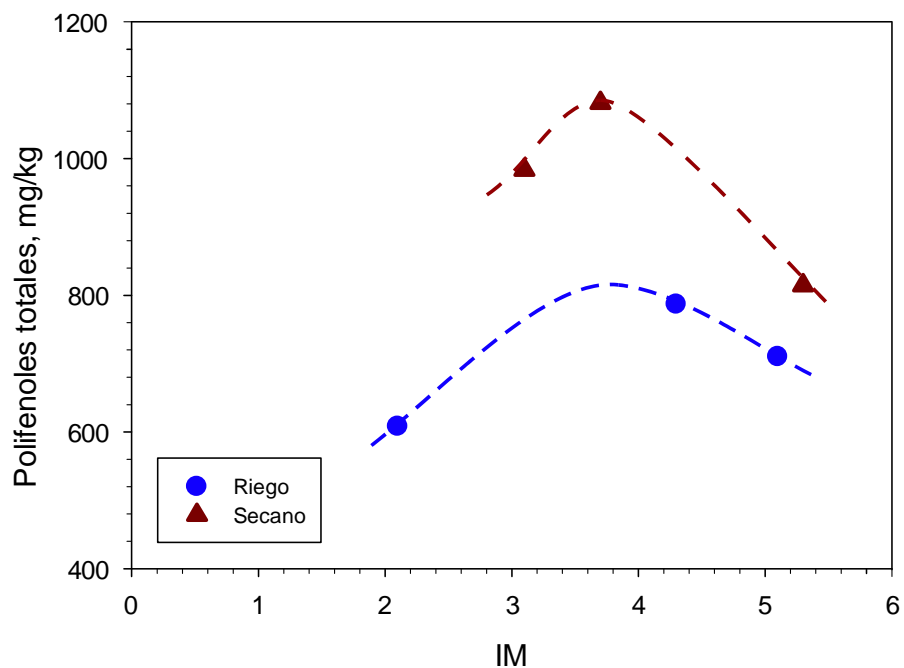
### 5.2.1.7. Contenido en Polifenoles Totales

Como se observa en la Tabla 5.57, los modelos obtenidos, de variación del contenido en polifenoles de los aceites, reproducen bastante bien los datos experimentales, de forma que la información que suministran es importante. En primer lugar indicar que se observa que, como se deduce de la Tabla 5.57 y se observa en la Figura 5.9, los aceites obtenidos de aceitunas procedentes de cultivos de secano muestran un contenido mayor en polifenoles, por lo que son más amargos y picantes y tienen una mayor estabilidad a la oxidación.

Fijándonos en el término independiente del modelo se deduce que, para los puntos centrales, el contenido en polifenoles se incrementa con el índice de madurez hasta un valor máximo para después descender conforme avanza la maduración. Este hecho coincide con lo afirmado por Civantos (2009) de que en el envero las aceitunas presentan máximos de polifenoles, por lo que se han trazado, de forma aproximada, las curvas de la Figura 5.9 como indicando la posible evolución del contenido en polifenoles de los aceites con el índice de madurez.

**Tabla 5.57.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Polifenoles Totales  
Campaña 2007-08

IM	$a_0$	$a_1$	$a_2$	$a_3$	$a_{12}$	$a_{13}$	$a_{23}$	$R^2$
<b>Riego</b>								
A(2,1)	607,9	196,9	13,1		-63,4			0,924
E(4,3)	786,8	261,5						0,984
G(5,1)	710,0	153,5	-18,0	31,3				0,981
<b>Secano</b>								
B(3,1)	983,6	291,9	-77,6	25,9	41,1			0,996
D(3,7)	1081,3	377,7	-0,8	-8,1	30,8	-29,0		0,999
F(5,3)	814,6	180,9		27,9		15,6		0,990

**Figura 5.9.** Contenido en polifenoles totales de los aceites de la campaña 2007-08

Considerando la influencia de los factores sobre el contenido en polifenoles de los aceites, se aprecia claramente que la temperatura ejerce una influencia muy positiva sobre este parámetro, coincidiendo, además, la máxima acción con el máximo de polifenoles. Respecto del resto de factores indicar que los polifenoles son hidrosolubles por lo que el tiempo de batido ejerce una influencia negativa pero no es muy significativa, el talco sí parece influir ligeramente y de forma positiva.

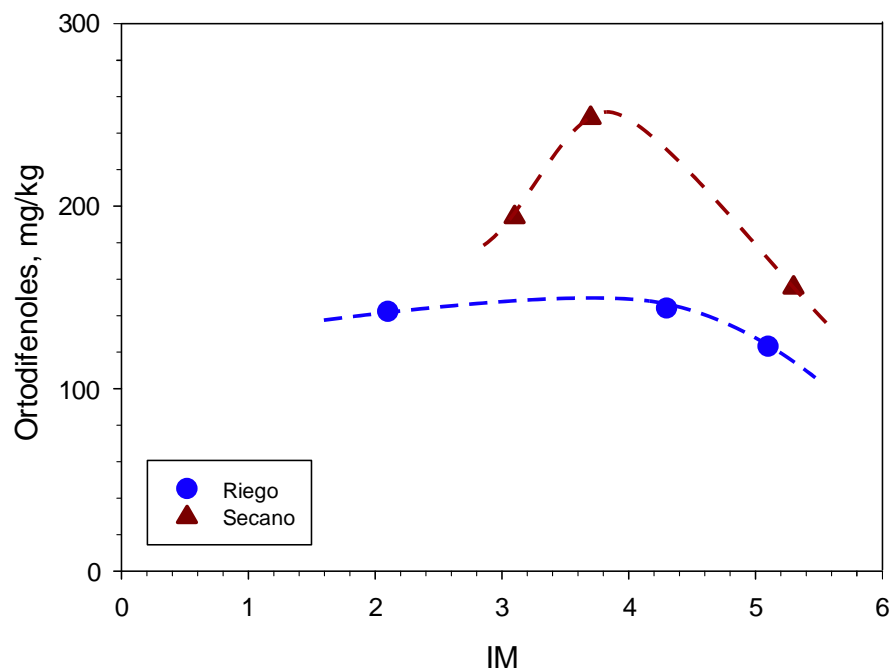
Diversos autores indican que la temperatura incrementa de forma importante el contenido en estos compuestos, Uceda *et al.* (2004), Tous *et al.* (2005), Jiménez *et al.* (1995a), Hermoso *et al.* (1998), Parenti y Spugnoli (2002), Di Giovacchino *et al.* (1991a), Vekiari y Koutsaftakis (2002), Ranalli *et al.* (2003b) y Aguilera (2006). Según Fernández (2009), la temperatura ejerce una gran influencia positiva sobre el contenido total de polifenoles en los aceites, a tiempos de batidos bajos, y disminuye al incrementarse el tiempo de batido. En cambio, el tiempo ejerce una mayor influencia negativa a temperaturas altas que a bajas.

### 5.2.1.8. Contenido en Ortodifenoles

Al igual que para los polifenoles totales, los modelos obtenidos (Tabla 5.58) para el contenido en ortodifenoles en los aceites muestran coeficientes de determinación bastante aceptables, lo que indica que los modelos reproducen bien los resultados experimentales. En la Figura 5.10 se ha representado el término independiente de los modelos, correspondiente a los puntos centrales, y en ella se puede observar que los aceites procedentes de aceitunas de cultivos de secano muestran un mayor contenido en ortodifenoles, análogamente a lo observado para el contenido en polifenoles totales. En esta Figura también se observa que para los aceites de secano el contenido en ortodifenoles tiene un máximo a índices de madurez próximos al envero. Para regadío también se observa un máximo aunque es poco acentuado.

**Tabla 5.58.** Coeficientes de los factores codificados. Rendimiento: Ortodifenoles Campaña 2007-08

IM	a <sub>0</sub>	a <sub>1</sub>	a <sub>2</sub>	a <sub>3</sub>	a <sub>12</sub>	a <sub>13</sub>	a <sub>23</sub>	R <sup>2</sup>
<b>Riego</b>								
A(2,1)	142,2	29,6	-4,2	10,6	8,4	10,2		0,926
E(4,3)	144,1	78,2	10,4	-9,8	8,8			0,984
G(5,1)	123,0	31,6	-2,6	-1,7		-7,4	7,1	0,983
<b>Secano</b>								
B(3,1)	194,0	101,4	3,6	18,1	35,6			0,998
D(3,7)	248,4	143,2	13,8	25,3				0,989
F(5,3)	155,4	69,0	2,5	8,8	10,6		9,3	0,990



**Figura 5.10.** Contenido en ortodifenoles de los aceites de la campaña 2007-08

Considerando la influencia de los factores sobre el contenido en ortodifenoles en los aceites estudiados, se aprecia claramente, al igual que para polifenoles totales, que la temperatura ejerce una influencia muy positiva sobre la respuesta, sobretodo en los aceites de secano, seguramente debido al menor contenido en humedad de las pastas. El tiempo de batido mayoritariamente muestra influencia positiva aunque de escasa importancia, en cambio el talco ejerce una influencia positiva mayor que el factor anterior.

Al igual que los polifenoles, los ortodifenoles son solubles en agua y en aceite, por lo que se establece un equilibrio de disolución entre las fases acuosa y oleosa que solo puede ser modificado por la temperatura; así, por lo que parece, el incremento de temperatura también aumenta la solubilidad de los ortodifenoles en la fase oleosa por lo que este factor muestra una gran influencia sobre la respuesta estudiada. Al incrementarse la temperatura se modifica el equilibrio entre fases y se inicia un proceso cinético de transferencia de ortodifenoles hacia la fase oleosa que terminará cuando se alcance de nuevo el equilibrio, por ello, el tiempo de batido muestra actividad positiva ya que a mayor tiempo de contacto entre fases más se acerca al equilibrio, aunque la acción del tiempo es insignificante comparada con la temperatura y de ahí que algunos modelos indiquen influencia negativa.

El tiempo solo tendrá influencia negativa cuando se modifique el equilibrio entre fases de forma que favorezca a la fase acuosa, así, si se añade agua a las pastas o a los aceites se modifica el equilibrio pero en este caso la transferencia sería hacia la fase acuosa por lo que el contenido en ortodifenoles de los aceites disminuiría.

Por otra parte, si se supone que los ortodifenoles del fruto no están solubilizados ni en el aceite ni en el agua de vegetación, cuando se produce la molturación de la aceituna se liberan y quedan disponibles para que cada una de las fases durante el batido los absorba. En este caso la fase que sea más rápida en la disolución del soluto se enriquecerá antes aunque ello no indica que se alcance el equilibrio ya que en ese momento se iniciará el transporte entre fases de cara a que entre ellas se alcance el equilibrio de disolución. Por ello, si el agua es más rápida en coger ortodifenoles después estos deben pasar a los aceites y en este caso el tiempo siempre ejerce una actividad positiva para el enriquecimiento de la fase oleosa. Si es al contrario, que el aceite absorbe más rápidamente los ortodifenoles, el tiempo ejercerá una influencia negativa ya que con él se empobrecen los aceites.

Jiménez *et al.* (1995) y Ranalli *et al.* (2003) indican que el incremento del tiempo de batido favorece la disminución del contenido en ortodifenoles en los aceites.

#### **5.2.1.9. Contenido en Hidroxitirosol**

El hidroxitirosol es uno de los alcoholes fenólicos más importantes, presentes en el aceite de oliva virgen (García *et al.*, 2001). En la Tabla 5.59 se muestran los modelos de ajuste del contenido en hidroxitirosol, de ella se deduce que la temperatura es el factor que más influye en la respuesta y que es mayor para muestras de aceite procedentes de cultivos de secano. A valores elevados de IM la influencia de la temperatura es menos importante. El tiempo de batido no ejerce una influencia significativa, en cambio, el talco sí influye positivamente y su actividad se acentúa con la maduración de las aceitunas.

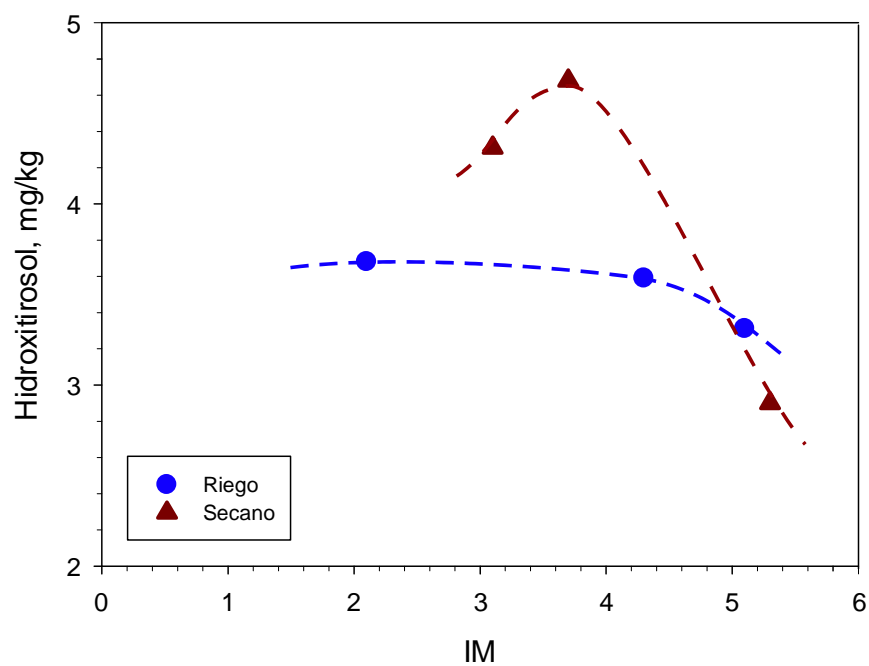
Ranalli *et al.* (2003) y Artajo *et al.* (2007), entre otros, informan de la disminución del contenido en hidroxitirosol en los aceites con el aumento del tiempo de batido de la pasta de aceituna.

En la Figura 5.11 se han representado los términos independientes de los modelos ( $a_0$ ) frente al IM, en ella se observa que el contenido en hidroxitirosol en los aceites disminuye ligeramente con la maduración de las aceitunas de riego, en cambio, muestra un máximo alrededor del envero para aceitunas de secano.

Los aceites de obtenidos de aceitunas de secano son más ricos en hidroxitirosol que los de aceitunas de riego.

**Tabla 5.59.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Hidroxitirosol  
Campaña 2007-08

IM	$a_0$	$a_1$	$a_2$	$a_3$	$a_{12}$	$a_{13}$	$a_{23}$	$R^2$
<b>Riego</b>								
A(2,1)	3,68	0,87	-0,02	0,01	0,10	0,22	0,14	0,986
E(4,3)	3,59	0,89	0,08	0,24		0,09	0,10	0,997
G(5,1)	3,31	0,31	-0,42	0,63			-0,16	0,933
<b>Secano</b>								
B(3,1)	4,31	1,76	0,00	-0,14	0,45	-0,18	0,11	0,999
D(3,7)	4,68	1,40	0,12		0,40			0,934
F(5,3)	2,90	0,28	0,18	0,61	0,23			0,935

**Figura 5.11.** Contenido en Hidroxitirosol de los aceites de la campaña 2007-08

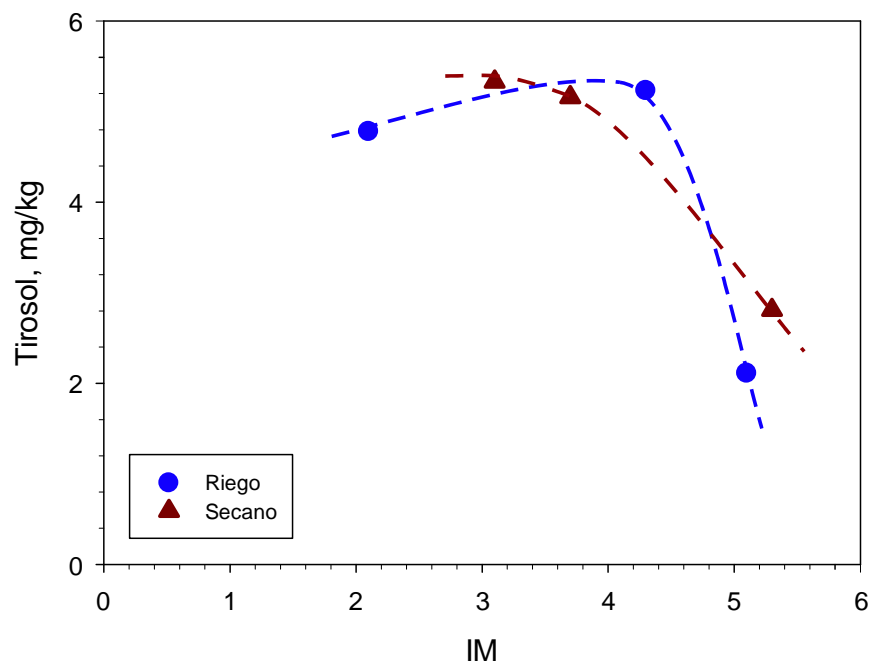
### 5.2.1.10. Contenido en Tirosol

El tirosol es el segundo alcohol fenólico, en importancia, presente en el aceite de oliva virgen. No es un ortodifenol, de ahí que su actividad antioxidante sea menor que la del hidroxitirosol (Cai *et al.*, 2006). Al revisar los modelos de ajuste del contenido en tirosol en los aceites, Tabla 5.60, se aprecia que, como en todas las respuestas, sobre polifenoles estudiadas hasta ahora, la temperatura de batido es el factor con mayor influencia sobre la respuesta. Ésta es positiva y va disminuyendo conforme avanza la maduración de la aceituna, hasta hacerse negativa para valores de IM superiores a 5. Aunque la fuerte interacción negativa que existe con el talco modifica la influencia de tal forma que para el límite inferior de cada factor la influencia del otro factor se hace positiva mientras para el límite superior la influencia se hace mucho más negativa. Kalua *et al.* (2006) obtienen resultados similares. Por otra parte, el tiempo de batido y el talco muestran influencias positivas similares, aunque menores que la de la temperatura.

**Tabla 5.60.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Tirosol Campaña 2007-08

IM	a <sub>0</sub>	a <sub>1</sub>	a <sub>2</sub>	a <sub>3</sub>	a <sub>12</sub>	a <sub>13</sub>	a <sub>23</sub>	R <sup>2</sup>
<b>Riego</b>								
A(2,1)	4,78	1,14	0,32					0,939
E(4,3)	5,23	0,95	0,23	0,61		0,24		0,979
G(5,1)	2,11	-0,72	-0,56	-0,56		-1,39		0,933
<b>Secano</b>								
B(3,1)	5,33	1,57	0,32	-0,02	0,51		0,09	0,996
D(3,7)	5,16	0,83	0,38	0,26				0,962
F(5,3)	2,81	-0,17	0,26	0,62				0,942

En la Figura 5.12, se han representado los valores de la respuesta frente al IM para el valor 0 de los factores codificados (puntos centrales). En ambos cultivos, riego y secano, la respuesta presenta un máximo entre valores de IM de 3 a 4,5, cerca del envero.



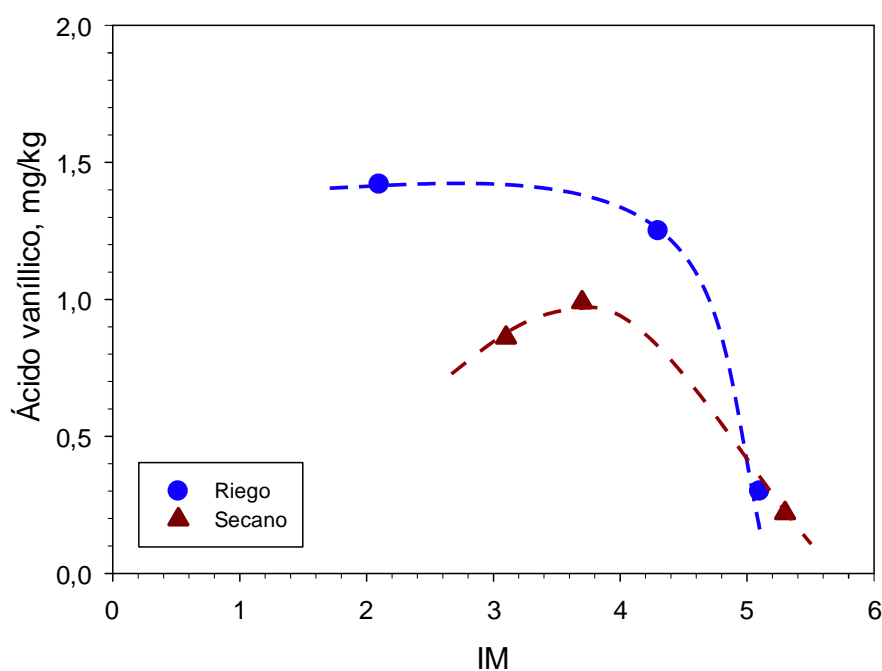
**Figura 5.12.** Contenido en Tirosol de los aceites de la campaña 2007-08

#### 5.2.1.11. Contenido en Ácido Vanílico

El ácido vanílico es un ácido fenólico presente en el aceite de oliva virgen. En la Tabla 5.61 se recogen los coeficientes de los modelos obtenidos por ajuste del contenido en ácido vanílico de los aceites. En la Tabla 5.61 se observa que la temperatura ejerce una influencia negativa sobre la respuesta, el tiempo de batido no parece ejercer acción significativa alguna y el talco sí muestra una influencia ligeramente positiva. Según Artajo *et al.* (2007), los aceites disminuyen su contenido en ácido vanílico con el incremento del tiempo de batido.

**Tabla 5.61.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Ácido Vanílico  
Campaña 2007-08

IM	$a_0$	$a_1$	$a_2$	$a_3$	$a_{12}$	$a_{13}$	$a_{23}$	$R^2$
<b>Riego</b>								
A(2,1)	1,42	-0,30						0,693
E(4,3)	1,25	-0,31	-0,12	0,15	-0,14			0,921
G(5,1)	0,30	-0,30	0,03	0,04			-0,05	0,959
<b>Secano</b>								
B(3,1)	0,86	-0,12	-0,04	0,05				0,959
D(3,7)	0,99	-0,23	-0,01	0,02	-0,05	0,05		0,997
F(5,3)	0,22	-0,22	0,19	0,19			-0,06	0,937



**Figura 5.13.** Contenido en Ácido Vanílico de los aceites de la campaña 2007-08

En la Figura 5.13 se han representado los términos independientes de los modelos, coeficientes  $a_0$  de la Tabla 5.61, frente al IM, para los aceites obtenidos de aceitunas de riego y de secano. En ella se observa que los aceites procedentes de regadío contienen más ácido vanílico que los de secano. En ambos casos los aceites

muestran en máximo para valores del índice de madurez alrededor de 3,5-4, aunque los de secano lo muestran de forma más acentuada que los de regadío.

### 5.2.1.12. Contenido en Vanillina

En la Tabla 5.62 se han tabulado los modelos de ajuste para el contenido en vanillina. En ella se puede apreciar que la temperatura de batido es el factor con la mayor influencia positiva sobre la respuesta, el tiempo y el talco también ejercen una influencia positiva importante pero menor que la temperatura. La influencia del factor temperatura es tan grande que los modelos predicen que en el intervalo inferior el valor de la respuesta es cero.

**Tabla 5.62.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Vanillina  
Campaña 2007-08

IM	$a_0$	$a_1$	$a_2$	$a_3$	$a_{12}$	$a_{13}$	$a_{23}$	$R^2$
<b>Riego</b>								
<b>A(2,1)</b>	0,320	0,320	0,065	0,065				0,927
<b>E(4,3)</b>	0,340	0,340	0,037	0,097		0,088	0,075	0,955
<b>G(5,1)</b>	0,400	0,400	0,170	0,170				0,990
<b>Secano</b>								
<b>B(3,1)</b>	0,410	0,410	0,100	0,049	0,100	0,049		0,990
<b>D(3,7)</b>	0,390	0,390	0,089	-0,003	0,083		0,021	0,997
<b>F(5,3)</b>	0,330	0,330	0,100	0,100				0,990

Del término independiente de los modelos de la Tabla 5.62 se deduce que el contenido en vanillina en las muestras de aceite se mantiene, prácticamente, constante con el IM, si se considera el intervalo de variación de la respuesta dentro del rango de los factores estudiados.

### 5.2.1.13. Contenido en Ácido p-Coumárico

De los modelos de ajuste para el contenido en ácido p-coumárico recogidos en la Tabla 5.63 se deduce que la influencia de la temperatura es negativa, la del tiempo de batido también es negativa aunque menos significativa que la del factor anterior, y el talco presenta acción ligeramente positiva sobre la respuesta.

Observando los coeficientes  $a_0$  de la Tabla 5.63 se deduce que el contenido en ácido p-coumárico de los aceites disminuye con la maduración de la aceituna.

**Tabla 5.63.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Ácido p-Coumárico  
Campaña 2007-08

IM	a <sub>0</sub>	a <sub>1</sub>	a <sub>2</sub>	a <sub>3</sub>	a <sub>12</sub>	a <sub>13</sub>	a <sub>23</sub>	R <sup>2</sup>
<b>Riego</b>								
A(2,1)	2,090							0,000
E(4,3)	1,140	-0,190	-0,160	0,100	-0,180			0,976
G(5,1)	0,440	-0,048	-0,001	0,082			-0,027	0,903
<b>Secano</b>								
B(3,1)	0,900	-0,078	-0,096	0,049		0,043		0,894
D(3,7)	0,880	-0,170		0,032				0,922
F(5,3)	0,550	-0,050	0,065	0,060				0,983

#### 5.2.1.14. Contenido en Hy-EDA

El Hy-EDA es uno de los derivados secoiridoides más importantes presentes en el aceite de oliva virgen. Se origina durante la molturación, de las aceitunas, por hidrólisis de compuestos como la oleuropeina y la dimetiloleuropeina, la reacción está catalizada por la  $\beta$ -glucosidasa (Servili *et al.*, 2004). Es uno de los antioxidantes más potentes del aceite de oliva virgen (Servili y Montedoro, 2002).

**Tabla 5.64.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Hy-EDA  
Campaña 2007-08

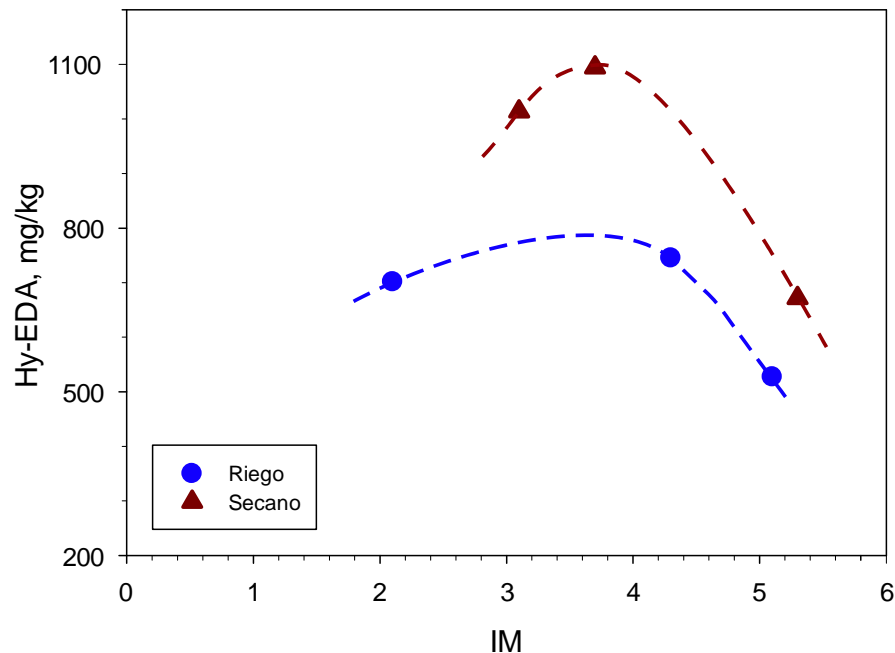
IM	a <sub>0</sub>	a <sub>1</sub>	a <sub>2</sub>	a <sub>3</sub>	a <sub>12</sub>	a <sub>13</sub>	a <sub>23</sub>	R <sup>2</sup>
<b>Riego</b>								
A(2,1)	701,7	236,5	-34,1					0,984
E(4,3)	745,3	310,3	-10,6		-32,5			0,991
G(5,1)	527,4	236,5	0,9	44,0	35,3		26,4	0,994
<b>Secano</b>								
B(3,1)	1013,8	464,2	-160,7	44,7	49,4			0,994
D(3,7)	1094,2	343,0	-89,7	-16,7	-25,9	-8,4	-8,6	1,000
F(5,3)	671,9	201,3	-22,9	43,0	12,0			0,998

En la Tabla 5.64 se recogen los coeficientes de los modelos obtenidos para el contenido en Hy-EDA de las muestras de aceites estudiados. Hay que resaltar la fuerte influencia positiva que tiene la temperatura de batido. Dado el rango de

variación de los índices de madurez para las aceitunas de riego y de secano, en la Tabla 5.64 se observa que la temperatura ejerce una influencia máxima alrededor de IM 4, para las aceitunas de riego, y no parece que exista un máximo para la de secano, disminuyendo la influencia conforme avanza la maduración del fruto. Kalua *et al.* (2006), Gómez-Rico *et al.* (2009) y Taticchi *et al.* (2012) obtienen resultados similares respecto de la influencia de la temperatura de batido sobre la concentración de Hy-EDA presente en el aceite.

Hay que resaltar la influencia negativa del tiempo de batido, mucho más significativa para aceites que proceden de cultivos de secano que de regadío. En ambos cultivos, la influencia del tiempo disminuye con el IM de los frutos. En cuanto a la dosis de talco, empleada en el batido de las pastas, parece tener cierta influencia positiva, aunque por las oscilaciones del coeficiente esta no es significativa.

Angerosa *et al.* (2001) indican que la fracción de secoiridoides, entre ellos el Hy-EDA, presentes en el aceite de oliva se ve afectada negativamente por el tiempo de batido. Similares resultados obtuvo Servili *et al.* (1998) quien atribuyó la reducción de la concentración de fenoles a la activación de las enzimas endógenas oxidoreductasas. Ranalli *et al.* (2003) y Artajo *et al.* (2007), obtienen resultados similares.



**Figura 5.14.** Contenido en Hy-EDA de los aceites de la campaña 2007-08

En la Figura 5.14 se han representado los términos independientes ( $a_0$ ) de los modelos frente al índice de madurez. En la figura se observa que los aceites procedentes de aceitunas de secano presentan mayor contenido en Hy-EDA que los procedentes de regadío. Para ambos aceites se define un máximo de la respuesta entre 3,5 y 4 de índice de madurez.

### 5.2.1.15. Contenido en Pinoresinol

El pinoresinol junto con el 1-acetoxipinoresinol y el hidroxipinoresinol son antioxidantes de la familia de los lignanos. En la Tabla 5.65 se muestran los coeficientes de los modelos obtenidos, en ella se observa que la temperatura es el factor que más influye, positivamente, en la respuesta y que esta influencia disminuye con la maduración del fruto. El tiempo de batido también influye positivamente, pero menos que la temperatura, y el talco no tienen una influencia significativa.

**Tabla 5.65.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Pinoresinol  
Campaña 2007-08

IM	$a_0$	$a_1$	$a_2$	$a_3$	$a_{12}$	$a_{13}$	$a_{23}$	$R^2$
<b>Riego</b>								
A(2,1)	3,97	0,68	0,20					0,935
E(4,3)	3,82	0,65		0,15				0,936
G(5,1)	2,44	0,26	0,17	0,02	0,11		0,09	0,926
<b>Secano</b>								
B(3,1)	3,79	0,84	0,22	0,13	0,47	0,16		0,979
D(3,7)	3,58	0,44	0,14	-0,03	0,14		0,10	0,941
F(5,3)	2,78	0,25	0,13	0,16	0,16	0,11		0,973

De los términos independientes de los modelos se deduce que el contenido en pinoresinol en los aceites disminuye conforme aumenta el IM de las aceitunas.

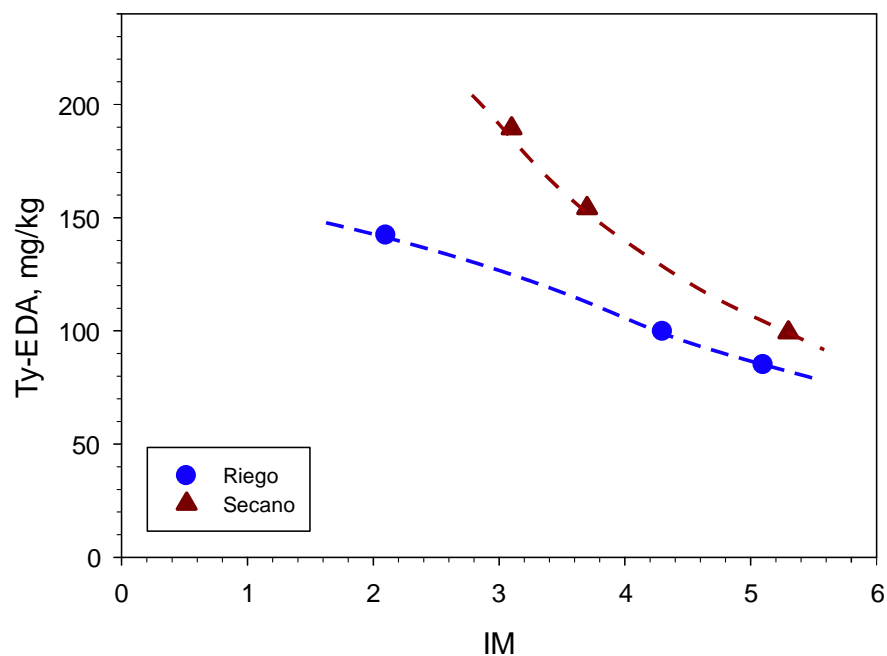
### 5.2.1.16. Contenido en Ty-EDA

Este compuesto es la forma dialdehídica del ácido dicarboximetil elenóico unido al tirosol. Pertenece al grupo de los llamados derivados secoiridoides y, como en el caso del Hy-EDA, se origina durante la trituración del fruto por hidrólisis del ligtróxido. Su actividad antioxidante es parecida al  $\alpha$ -tocoferol, aunque menor que el Hy-EDA (Servili y Montedoro, 2002).

En la Tabla 5.66 se han tabulado los coeficientes de los modelos obtenidos para el contenido en Ty-EDA. En ella se observa que la temperatura es el factor más influyente y que la acción disminuye con la maduración del fruto. El tiempo de batido también tiene influencia positiva pero menor que la temperatura, respecto del talco se observa que hay influencia mayoritaria positiva aunque poco significativa.

**Tabla 5.66.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Ty-EDA  
Campaña 2007-08

IM	$a_0$	$a_1$	$a_2$	$a_3$	$a_{12}$	$a_{13}$	$a_{23}$	$R^2$
<b>Riego</b>								
A(2,1)	142,3	100,2	28,1	-11,5	19,7	-11,8		0,996
E(4,3)	100,0	72,9	16,2	13,0	6,4	10,8	14,3	0,956
G(5,1)	85,0	68,5	27,4	3,7	22,9		6,0	0,997
<b>Secano</b>								
B(3,1)	189,4	144,9	26,3	-6,9	21,1	-5,3		0,999
D(3,7)	154,2	117,1	26,2	19,5				0,999
F(5,3)	99,3	74,2	21,1	2,8	16,6			0,999



**Figura 5.15.** Contenido en Ty-EDA de los aceites de la campaña 2007-08

En la Figura 5.15 se han representado los términos independientes de los modelos (Tabla 5.66), en ella se observa que los aceites de secano, en todo momento, contienen más Ty-EDA que los de aceitunas de riego. En ambos casos el contenido en Ty-EDA disminuye conforme aumenta la maduración del fruto, para el rango de IM estudiado.

### 5.2.1.17. Contenido en Luteolina

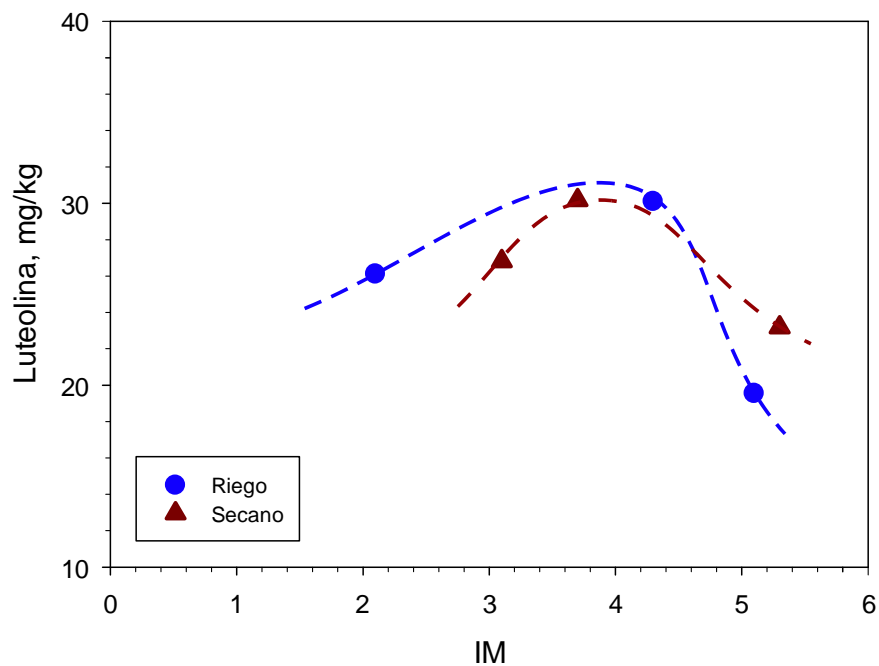
La luteolina es un carotenoide, pigmento anaranjado, de la familia de las flavonas, presente en el aceite de oliva virgen en bajas concentraciones, comparadas con la de otros antioxidantes. Aún en pequeña cantidad, su presencia en el aceite es importantísima, gracias a sus cualidades beneficiosas para la salud ocular.

En la Tabla 5.67 se muestran los coeficientes de los modelos obtenidos y en la Figura 5.16 se ha representado la composición en Luteolina de los aceites que predicen los modelos en el punto central de los factores. Tanto en la tabla como en la figura se observan valores muy similares para el contenido en Luteolina de los aceites de regadío y de secano, también se observa que para ambos aceites existe un máximo alrededor del índice de madurez 4.

**Tabla 5.67.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Luteolina  
Campaña 2007-08

IM	a <sub>0</sub>	a <sub>1</sub>	a <sub>2</sub>	a <sub>3</sub>	a <sub>12</sub>	a <sub>13</sub>	a <sub>23</sub>	R <sup>2</sup>
<b>Riego</b>								
<b>A(2,1)</b>	26,11	-5,27	-2,30	-1,03				0,979
<b>E(4,3)</b>	30,09	-5,65	-3,53	-1,46				0,966
<b>G(5,1)</b>	19,54	-5,63	-3,00					0,957
<b>Secano</b>								
<b>B(3,1)</b>	26,82	-6,19	-5,40	1,12	1,39		-1,07	0,987
<b>D(3,7)</b>	30,17	-9,10	-4,57					0,970
<b>F(5,3)</b>	23,17	-6,90	-1,78	0,92	-1,37	0,59		0,996

Respecto de la influencia de los factores sobre la respuesta, en la Tabla 5.67 se aprecia claramente que la temperatura y el tiempo de batido ejercen una influencia negativa, siendo bastante superior la del primer factor. La dosis de talco muestra una influencia pequeña y diferente según se consideren los aceites procedentes de regadío o de secano.



**Figura 5.16.** Contenido en Luteolina de los aceites de la campaña 2007-08

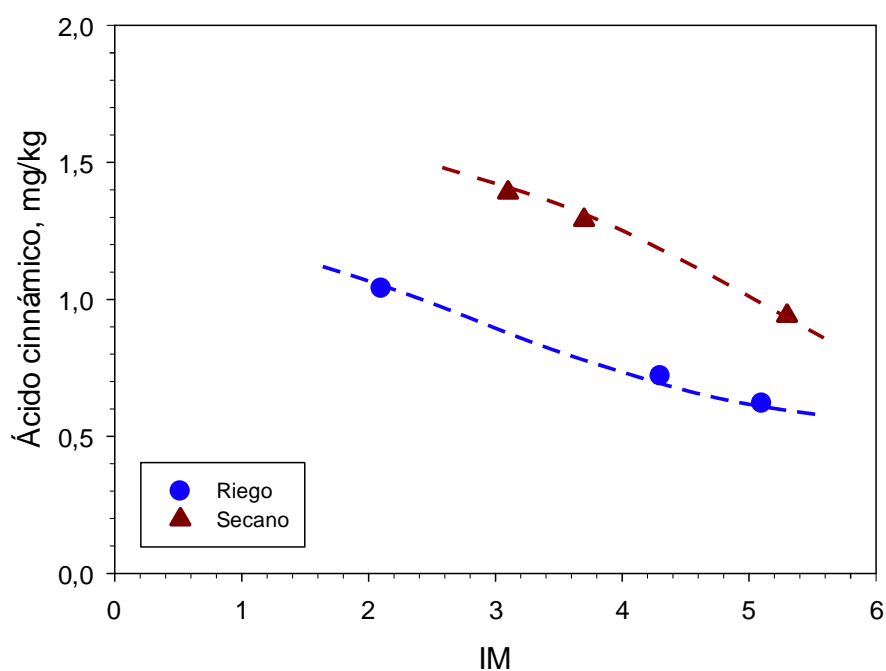
#### 5.2.1.18. Contenido en Ácido Cinnámico

El ácido cinnámico es uno de los ácidos fenólicos presentes en el aceite de oliva virgen. En la Tabla 5.68 se muestran los modelos obtenidos para esta respuesta. En ella se aprecia que tanto temperatura como tiempo de batido ejercen influencia negativa y su interacción, similar a los niveles principales, también es negativa. La influencia que ejerce el talco no es significativa.

En la Figura 5.17, de los términos independientes de los modelos, se observa como los aceites procedentes de cultivos de secano tienen un contenido mayor en ácido cinnámico. En la figura también se observa que el contenido en este ácido disminuye con la maduración de los frutos.

**Tabla 5.68.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Ácido Cinnámico  
Campaña 2007-08

IM	$a_0$	$a_1$	$a_2$	$a_3$	$a_{12}$	$a_{13}$	$a_{23}$	$R^2$
<b>Riego</b>								
A(2,1)	1,04	-0,12	-0,09	0,03	-0,08	0,06		0,938
E(4,3)	0,72	0,07	-0,09		-0,06			0,958
G(5,1)	0,62	-0,01	-0,14		-0,05			0,924
<b>Secano</b>								
B(3,1)	1,39	0,02	-0,30	0,04	-0,09	-0,05	-0,03	0,989
D(3,7)	1,29	-0,05	-0,22	-0,02	-0,14	-0,09		0,991
F(5,3)	0,94	-0,07	-0,14	0,03	-0,04			0,953



**Figura 5.17.** Contenido en Ácido Cinnámico de los aceites de la campaña 2007-08

### 5.2.1.19. Contenido en Acetoxi-pinoresinol

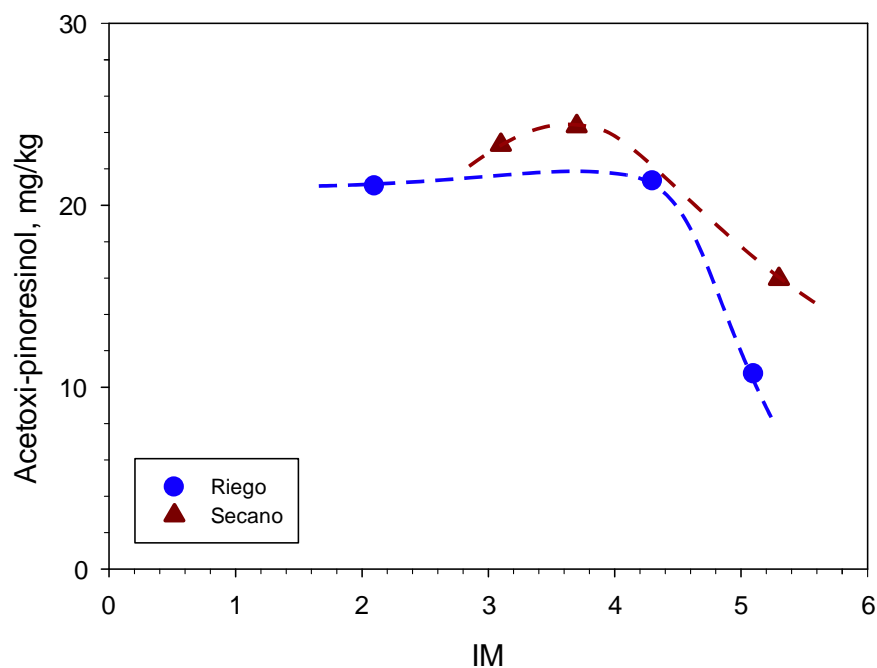
En la Tabla 5.69, de los modelos de ajuste, se puede apreciar que la temperatura y el tiempo de batido tienen una influencia negativa sobre la respuesta, aunque es más importante la del tiempo que la de la temperatura. De especial importancia es la interacción negativa entre tiempo y temperatura de batido, de tal forma que a tiempos bajos la acción de la temperatura se neutraliza y a tiempos altos se duplica. El talco ejerce una pequeña influencia positiva sobre la respuesta.

**Tabla 5.69.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Acetoxi-pinoresinol Campaña 2007-08

IM	$a_0$	$a_1$	$a_2$	$a_3$	$a_{12}$	$a_{13}$	$a_{23}$	$R^2$
<b>Riego</b>								
<b>A(2,1)</b>	21,05	-1,13	-2,83	1,16	-1,29	1,50		0,929
<b>E(4,3)</b>	21,34	0,55	-2,22	0,23	-1,80		-1,32	0,971
<b>G(5,1)</b>	10,72	-1,87	-2,53	0,37	-0,88			0,988
<b>Secano</b>								
<b>B(3,1)</b>	23,32	-1,87	-5,41	1,89				0,954
<b>D(3,7)</b>	24,35	-4,09	-3,90	0,28	-3,49	1,63		0,991
<b>F(5,3)</b>	15,95	-2,41	-2,94	0,80	-1,17			0,964

Tras representar los términos independientes ( $a_0$ ) de los modelos frente al IM, Figura 5.18, se observa que la respuesta presenta un máximo alrededor del envero, con una zona de poca variación antes de este y con una caída pronunciada tras el máximo.

En todo momento los aceites de secano contienen más acetoxi-pinoresinol que los de regadío.



**Figura 5.18.** Contenido en Acetoxi-Pinoresinol de los aceites de la campaña 2007-08

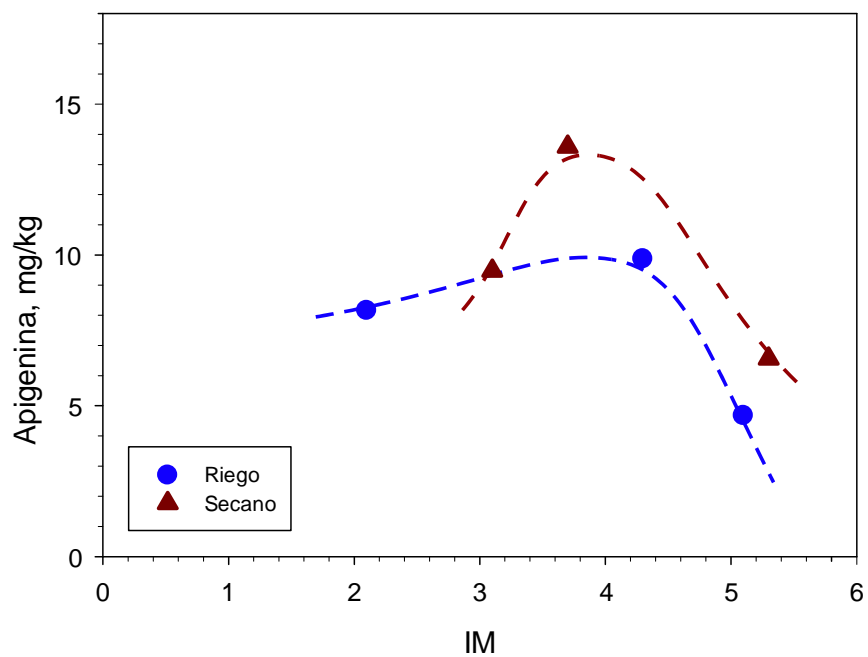
#### 5.2.1.20. Contenido en Apigenina

Los modelos de ajuste de la respuesta apigenina se muestran en la Tabla 5.70. En la Tabla se observa que la temperatura es un factor muy importante y con influencia positiva, mientras el tiempo presenta una acción dispar o ligeramente negativa, pero poco significativa, por el contrario el talco es ligeramente positivo e igualmente poco significativo. Respecto de la influencia de la temperatura indicar que es máxima alrededor del envero.

En la Figura 5.19 se han representado los términos independientes de los modelos, en ella se observa que el contenido en Apigenina es máximo alrededor del índice de madurez 4 y que los aceites de secano presentan un contenido mayor que los de riego.

**Tabla 5.70.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Apigenina  
Campaña 2007-08

IM	$a_0$	$a_1$	$a_2$	$a_3$	$a_{12}$	$a_{13}$	$a_{23}$	$R^2$
<b>Riego</b>								
A(2,1)	8,16	1,40	-0,96	0,29	-0,76	0,69		0,953
E(4,3)	9,87	3,40	-0,11		0,33			0,987
G(5,1)	4,67	1,23	0,52	0,33	0,56			0,960
<b>Secano</b>								
B(3,1)	9,48	5,37	-0,67	1,74		1,71		0,996
D(3,7)	13,59	9,01		-0,38		-0,43		0,999
F(5,3)	6,56	3,22	0,43	0,62	0,68			0,998

**Figura 5.19.** Contenido en Apigenina de los aceites de la campaña 2007-08

### 5.2.1.21. Contenido en Hy-EA

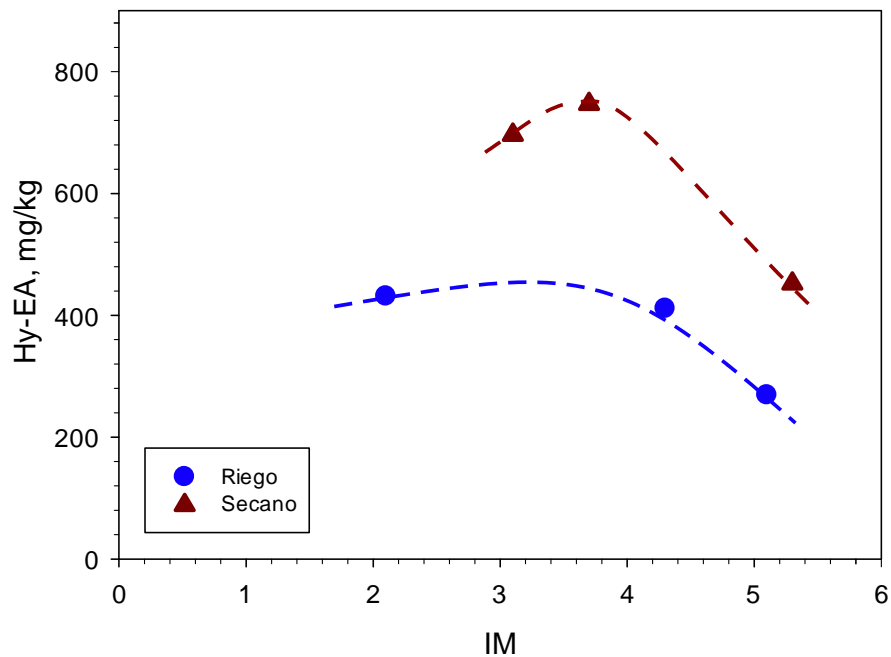
El Hy-EA es la aglicona de la oleuropeina y pertenece a la familia de los secoiridoides. Se genera en el proceso de elaboración del aceite, a partir de la oleuropeina presente en los frutos.

En la Tabla 5.71 se recogen los coeficientes, para factores codificados, de los modelos de ajuste obtenidos para esta respuesta. En ella se aprecia como la temperatura presenta una fuerte influencia positiva sobre este parámetro, similar a Taticchi *et al.* (2012). El tiempo de batido también tiene una gran influencia positiva, pero menor que la temperatura. Entre estos factores también existe una fuerte influencia positiva, por lo que a valores bajos de uno de los factores se reduce la acción del nivel principal del otro factor, pero a valores altos se incrementa la acción del nivel principal. Tanto la temperatura como el tiempo muestran un máximo de influencia sobre la respuesta que viene a coincidir con el envero. Respecto del talco no se observa acción significativa.

**Tabla 5.71.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Hy-EA  
Campaña 2007-08

IM	a <sub>0</sub>	a <sub>1</sub>	a <sub>2</sub>	a <sub>3</sub>	a <sub>12</sub>	a <sub>13</sub>	a <sub>23</sub>	R <sup>2</sup>
<b>Riego</b>								
<b>A(2,1)</b>	431,8	370,6	103,6	-5,7	102,8			0,999
<b>E(4,3)</b>	411,47	385,4	123,2	-10,8	115,2			0,999
<b>G(5,1)</b>	269,5	233,4	122,1		122,8			0,999
<b>Secano</b>								
<b>B(3,1)</b>	697,6	632,7	150,0		165,2			0,995
<b>D(3,7)</b>	746,9	669,8	218,2	-48,5	213,7	-43,46		0,999
<b>F(5,3)</b>	452,2	383,8	146,5	28,41	142,5	24,6		1,000

En la Figura 5.20 se representan los términos independientes de los modelos frente al IM, en ella se ve claramente que los aceites procedentes de aceitunas de secano tienen un contenido mayor en Hy-EA que los correspondientes a las de riego. También se observan máximos de este compuesto para ambos aceites, localizados alrededor del envero. Estos máximos también coinciden con el máximo de influencia de los factores sobre la respuesta.



**Figura 5.20.** Contenido en Hy-EA de los aceites de la campaña 2007-08

#### 5.2.1.22. Contenido en Ty-EA

El Ty-EA es la aglicona del ligstrosido y pertenece, al igual que el Hy-EA, al grupo de los secoiridoides. Se forma a partir del ligstrosido presente en los frutos, por reacciones de hidrólisis, durante la elaboración de los aceites.

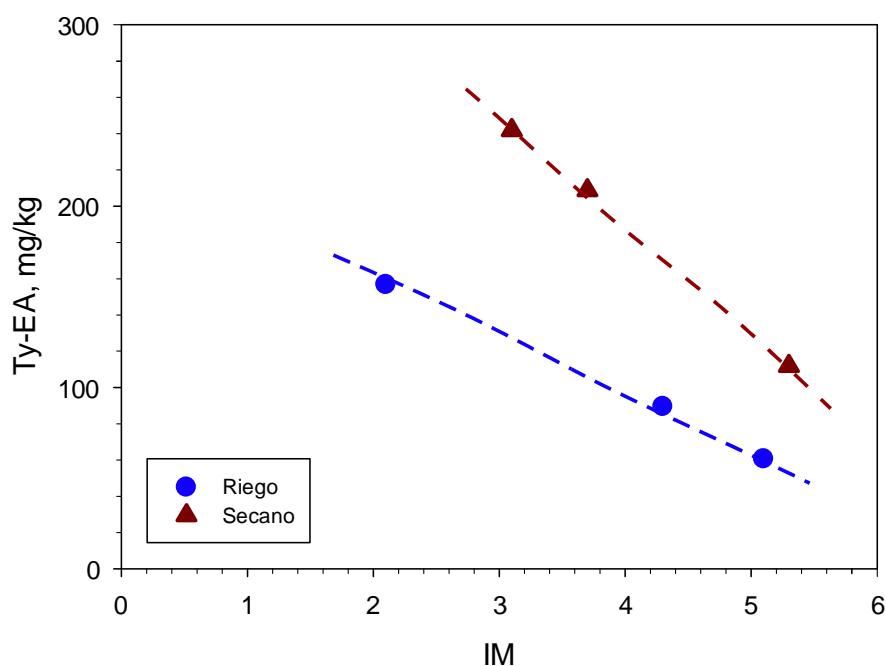
En la Tabla 5.72 se muestran los coeficientes de los modelos obtenidos por ajuste de los resultados experimentales de la respuesta con los factores codificados. Como se observa en la tabla, la temperatura es, con mucho, el factor que más influye sobre la respuesta, incrementándola con el aumento del factor. El tiempo de batido también es importante, sobre todo en los aceites de secano, aunque no como la temperatura. Es conveniente indicar la importante interacción existente entre estos dos factores, de tal forma que la acción del tiempo de batido queda neutralizada a valores bajos de la temperatura. Parece ser que el talco no ejerce una influencia significativa sobre la respuesta.

En la Figura 5.21 se ha representado el término independiente de los modelos de la Tabla 5.72, en ella se observa que el contenido en Ty-EA de los aceites

disminuye con la maduración de las aceitunas, al igual que la influencia que ejerce la temperatura en el modelo. Por otra parte, como para compuestos anteriores, el contenido en Ty-EA de los aceites de secano es superior al de los de regadío.

**Tabla 5.72.** Coeficientes de los actores codificados. Respuesta: Ty-EA  
Campaña 2007-08

IM	$a_0$	$a_1$	$a_2$	$a_3$	$a_{12}$	$a_{13}$	$a_{23}$	$R^2$
<b>Riego</b>								
A(2,1)	156,7	125,3	7,0	9,8	10,2			0,999
E(4,3)	89,4	68,8	6,7					0,997
G(5,1)	60,6	45,0	27,7		27,1			0,960
<b>Secano</b>								
B(3,1)	241,9	203,2	58,8	4,3	53,1		9,4	0,998
D(3,7)	208,8	168,4	53,8	-11,9	45,1	-8,1		0,999
F(5,3)	111,8	85,7	36,4	12,4	36,1	13,6		0,999



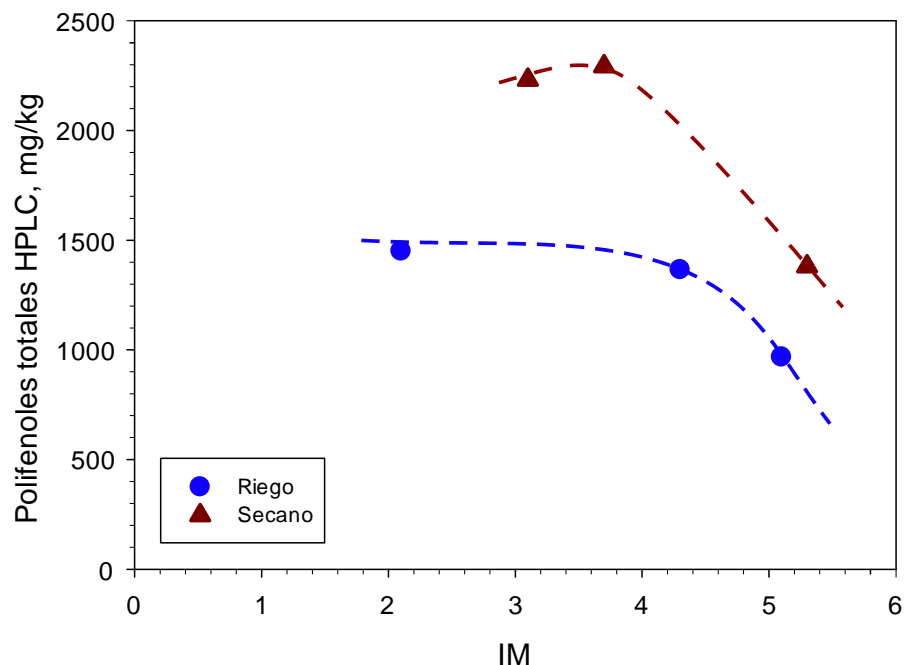
**Figura 5.21.** Contenido en Ty-EA de los aceites de la campaña 2007-08

### 5.2.1.23. Contenido en Polifenoles Totales HPLC

En la Tabla 5.73 se han tabulado los coeficientes de los modelos obtenidos y en la Figura 5.22 se han representado los términos independientes de los modelos.

**Tabla 5.73.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: P.T. HPLC  
Campaña 2007-08

IM	$a_0$	$a_1$	$a_2$	$a_3$	$a_{12}$	$a_{13}$	$a_{23}$	$R^2$
<b>Riego</b>								
A(2,1)	1450,6	779,1	81,6	16,6	99,2		48,7	0,997
E(4,3)	1387,1	782,5	86,6	93,1	52,7	54,5	80,7	0,974
G(5,1)	966,3	554,1	150,4	81,7	183,7		65,3	0,991
<b>Secano</b>								
B(3,1)	2223,3	1446,0	62,3	66,9	291,8			0,999
D(3,7)	2292,7	1298,2	200,9	-73,7	247,1	-56,4		0,999
F(5,3)	1381,2	737,9	176,4		191,6			0,974



**Figura 5.22.** Contenido en polifenoles totales HPLC de los aceites de la campaña 2007-08

De la Tabla 5.73 y con la Figura 5.22 se deduce que los aceites obtenidos de aceitunas, procedentes de cultivos, de secano tienen un contenido mayor en polifenoles que los de regadío, así como que pasado el envero su contenido desciende.

En la Tabla 5.73, de los coeficientes de los modelos, se observa que la temperatura es el factor que más influye sobre la respuesta, seguido del tiempo de batido cuya acción es bastante menos significativa y del talco, sobre todo para la aceituna de riego. Es significativa la gran interacción positiva existente entre los dos primeros factores, así como que para los aceites de secano los modelos obtenidos predicen mayor influencia de los factores que para los de regadío.

#### 5.2.1.24. Contenido en $\alpha$ -Tocoferol

El interés por la vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol) ha aumentado en los últimos años debido a su potente poder antioxidante (Quiles *et al.*, 1999) y a su papel frente a enfermedades relacionadas con la edad, trastornos cardiovasculares o Alzheimer. El  $\alpha$ -tocoferol preserva de la oxidación al aceite de oliva virgen (Deiana *et al.*, 2002), alimento que supone una fuente adecuada de vitamina E (Mataix, 2001).

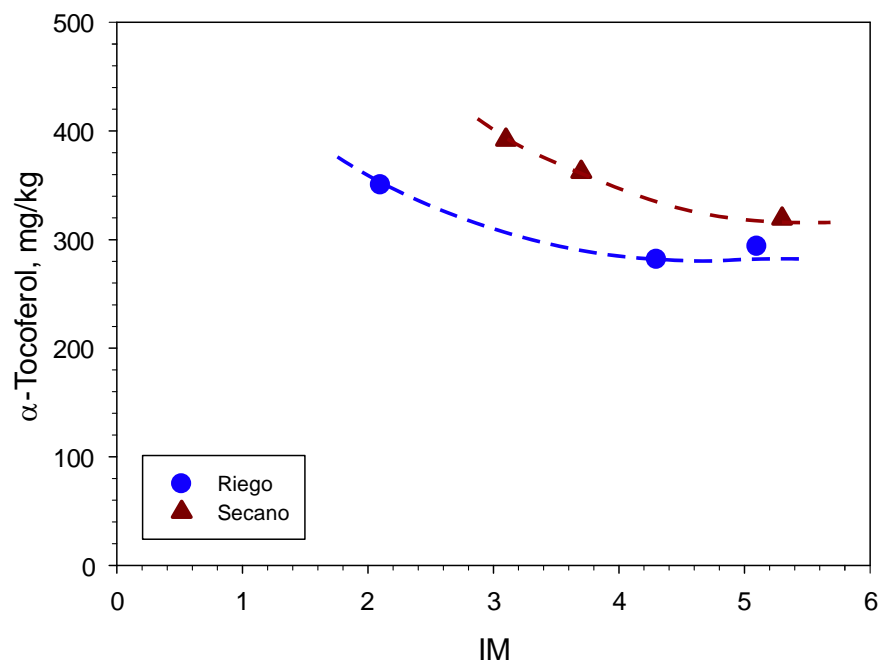
En la Tabla 5.74 se han tabulado los coeficientes de los modelos obtenidos, por ajuste de los datos experimentales con los factores codificados. Debe indicarse, en primer lugar, que los coeficientes de determinación no son muy buenos debido a la gran dispersión que tienen los datos, por lo que el efecto de los factores puede estar algo distorsionado.

**Tabla 5.74.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta:  $\alpha$ -Tocoferol  
Campaña 2007-08

IM	$a_0$	$a_1$	$a_2$	$a_3$	$a_{12}$	$a_{13}$	$a_{23}$	$R^2$
<b>Riego</b>								
<b>A(2,1)</b>	344,9	6,1	4,6	-5,65	5,4		-4,35	0.849
<b>E(4,3)</b>	281,8	1,49	1,48	3,44	-2,55			0,984
<b>G(5,1)</b>	293,8	3,09	2,24	3,55	1,11	-2,00	-3,45	0,880
<b>Secano</b>								
<b>B(3,1)</b>	392,0	9,34	0,51	-1,68	2,39	-2,24	-2,26	0.956
<b>D(3,7)</b>	362,0	13,16	5,26	3,58	3,12	3,72		0.952
<b>F(5,3)</b>	319,3	14,71	3,96	0,96		-3,96		0,958

En la Tabla 5.74 se observa que la temperatura es el factor que mayor influencia tiene sobre la respuesta, el tiempo de batido presenta una menor influencia positiva y para el talco es variable. En estos modelos son importantes las interacciones dado que algunos casos pueden modificar el sentido del nivel principal y en otro lo incrementan. Por ejemplo, el experimento E, para aceituna de riego, presenta los niveles principales de temperatura y tiempo positivos y la interacción negativa, por lo que a valores bajos de uno de los factores la acción del otro se incrementa y, en cambio, a valores altos la influencia del otro factor se hace negativa. Para el experimento B, de aceituna de secano, cuando el factor codificado de temperatura es -1 la influencia del tiempo es negativa y si el valor es +1 el nivel principal de l tiempo se incrementa hasta 2,90. Por ello las interacciones pueden cambiar el sentido de influencia de algunos factores si sus coeficientes son iguales o superiores, en valor absoluto, a los de los niveles principales.

En la Figura 5.23 se han representado los términos independientes de los modelos de la Tabla 5.74. En ella se observa que, por lo general, el contenido en  $\alpha$ -tocoferol en los aceites disminuye con la maduración de la aceituna y que en todo momento el contenido es mayor en los aceites procedentes de secano.



**Figura 5.23.** Contenido en  $\alpha$ -Tocoferol de los aceites de la campaña 2007-08

### 5.2.1.25. Contenido en $\beta$ -Tocoferol

La concentración de  $\beta$ -tocoferol que contienen los aceites de la variedad Picual es pequeña, en comparación con la de  $\alpha$ -tocoferol. En la Tabla 5.75 se recogen los modelos de ajuste para esta respuesta. En ella se aprecia que la influencia de los factores no es muy significativa y que la maduración del fruto tampoco influye mucho sobre el contenido de  $\beta$ -tocoferol en los aceites.

**Tabla 5.75.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta:  $\beta$ -Tocoferol  
Campaña 2007-08

IM	$a_0$	$a_1$	$a_2$	$a_3$	$a_{12}$	$a_{13}$	$a_{23}$	$R^2$
<b>Riego</b>								
<b>A(2,1)</b>	2,97	0,33	-0,53	-0,29		0,29	- 0,64	0,988
<b>E(4,3)</b>	3,53	0,07	0,08	-0,03		-0,14	0,10	0,948
<b>G(5,1)</b>	3,45	0,19	-0,10	-0,05	0,14	0,06	-0,16	0,989
<b>Secano</b>								
<b>B(3,1)</b>	3,74	-0,02	0,04	0,04	-0,03	-0,08	0,04	0,959
<b>D(3,7)</b>	3,15	-0,06	0,10	-0,12	-0,06	-0,03	-0,08	0,970
<b>F(5,3)</b>	3,71	0,30	0,02	-0,09	-0,19	-0,16	0,10	0,955

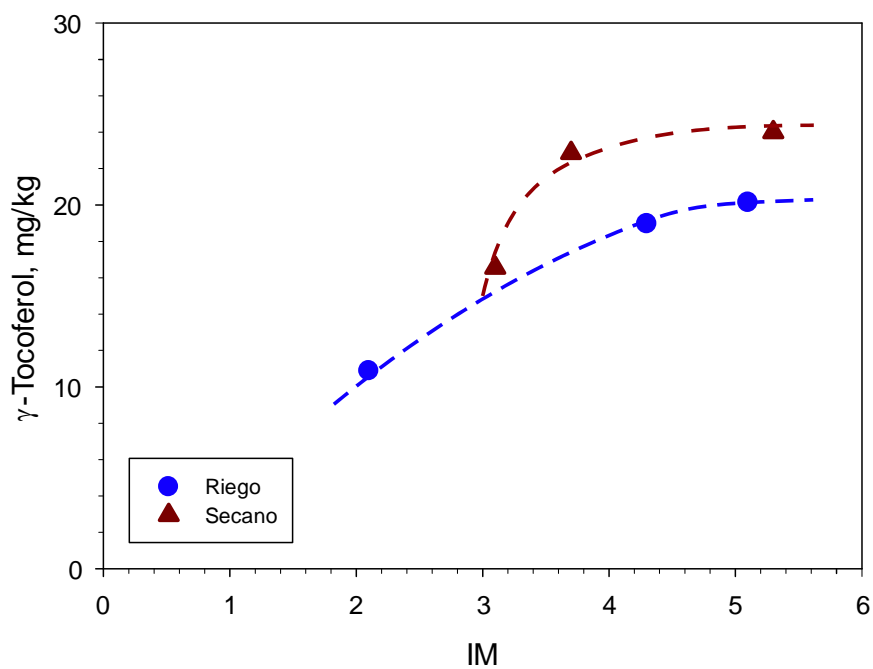
### 5.2.1.26. Contenido en $\gamma$ -Tocoferol

En la Tabla 5.76 se muestran los modelos de ajuste para esta respuesta y en la Figura 5.24 se han representado los términos independientes de los modelos. En la figura y en la tabla se observa que el contenido en  $\gamma$ -tocoferol se incrementa con la maduración de los frutos y, como para otros compuestos, es mayor en los aceites obtenidos de aceitunas de secano.

Al igual que en casos anteriores, la temperatura es el factor que más influye en la respuesta y no de forma muy significativa. También deben considerarse las interacciones que pueden modificar la acción del nivel principal. Aunque parece ser que los factores no influyen de forma significativa en el contenido de  $\gamma$ -tocoferol en los aceites.

**Tabla 5.76.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta:  $\gamma$ -Tocoferol  
Campaña 2007-08

IM	$a_0$	$a_1$	$a_2$	$a_3$	$a_{12}$	$a_{13}$	$a_{23}$	$R^2$
<b>Riego</b>								
<b>A(2,1)</b>	10,87	0,87	0,19	-0,85	-1,06	-1,05	0,50	0,986
<b>E(4,3)</b>	18,96	0,43	-0,09	0,12	0,14	0,09		0,991
<b>G(5,1)</b>	20,14	0,16	-0,35	0,43	-0,49	0,43	-0,43	0,941
<b>Secano</b>								
<b>B(3,1)</b>	16,55	1,56	0,00	-0,79	1,35		-0,45	0,984
<b>D(3,7)</b>	22,86	1,50	-0,07	1,53	1,31		0,64	0,987
<b>F(5,3)</b>	24,00	0,70	-0,30	-0,03	-0,20	-0,23	0,08	0,900

**Figura 5.24.** Contenido en  $\gamma$ -Tocoferol de los aceites de la campaña 2007-08

### 5.2.1.27. Contenido en Tocoferoles Totales

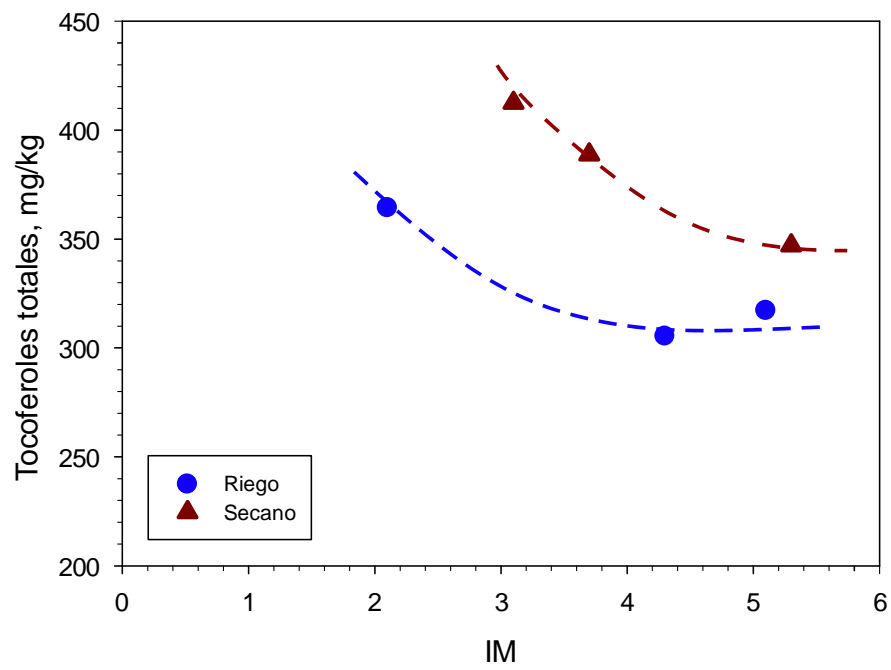
En la Tabla 5.77 se muestran los modelos determinados para tocoferoles totales. En ella se observa que la temperatura es el principal factor con influencia sobre el total de tocoferoles y que el tiempo y el talco tienen poca influencia.

**Tabla 5.77.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Tocoferoles Totales Campaña 2007-08

IM	$a_0$	$a_1$	$a_2$	$a_3$	$a_{12}$	$a_{13}$	$a_{23}$	$R^2$
<b>Riego</b>								
<b>A(2,1)</b>	372,5	9,3	18,5	7,3	7,8	4,5	9,3	0,989
<b>E(4,3)</b>	304,3	2,0	1,5	3,5	-2,4	0,4	-0,2	0,997
<b>G(5,1)</b>	317,3	3,2	1,7	4,0		-1,5	-4,0	0,903
<b>Secano</b>								
<b>B(3,1)</b>	412,5	10,3	1,0	-2,3	3,3	-2,5	-2,3	0,945
<b>D(3,7)</b>	388,8	14,4	6,2	4,9	4,1	4,3		0,949
<b>F(5,3)</b>	347,1	15,4	3,6	0,6		-4,1		0,956

En la Figura 5.25 se han representado los términos independientes de los modelos de la Tabla 5.77. En la figura y en la tabla se observa que el estado de maduración de la aceituna influye decisivamente en el contenido de tocoferoles de los aceites, teniendo aquellos procedentes de aceitunas verdes mayor concentración que los de aceitunas maduras, similar a lo obtenido por Beltrán (2005) y Sayago (2007).

En la Figura 5.25, se puede observar que las muestras de aceite que proceden de frutos de secano tienen un mayor contenido en tocoferoles que las de riego, aunque esta diferencia no es muy amplia debido al carácter liposoluble de los tocoferoles.



**Figura 5.25.** Contenido en Tocoferoles totales de los aceites de la campaña 2007-08

### 5.2.2. DISEÑO CENTRAL COMPUESTO ROTABLE. CAMPAÑAS 2008-09 y 2009-10

En las campañas de aceituna de 2008-09 y 2009-10 también se ha aplicado el diseño estadístico de experimentos para estudiar la influencia que, sobre las respuestas, tienen los distintos factores estudiados, tres de tipo numérico y uno categórico. En la campaña anterior se ha aplicado un diseño factorial porque el objetivo básico era determinar solo las influencias de los factores sobre las respuestas y las posibles interacciones ente ellos. Con la información que se ha obtenido de la primera campaña se ha realizado un nuevo diseño para las dos campañas siguientes, en este nuevo caso se ha aplicado la metodología de superficie de respuesta, del tipo central compuesto rotatable, con el objetivo de determinar las mejores condiciones de operación que permitan obtener aceites con elevado contenido en antioxidantes, aunque sin olvidar la calidad y el rendimiento de proceso.

Para la determinación del modelo que ajuste los resultados experimentales con los factores numéricos, obtenidos para las diferentes respuestas en los distintos ensayos de cada diseño experimental, se utilizan ecuaciones cuadráticas que se ajustan por mínimos cuadrados. La ecuación utilizada en estas dos nuevas campañas, de forma similar a la empleada en el modelo factorial de la campaña 2007-08 (Ecuación 5.1), presenta el término independiente, las dependencias lineales de cada factor y las interacciones más, adicionalmente en los modelos utilizados para superficies de respuesta, los términos cuadráticos, Ecuación 5.2.

$$Y = a_0 + a_1 \cdot T + a_2 \cdot t + a_3 \cdot C + a_{12} \cdot T \cdot t + a_{13} \cdot T \cdot C + a_{23} \cdot t \cdot C + a_{11} \cdot T^2 + a_{22} \cdot t^2 + a_{33} \cdot C^2 \quad (5.2)$$

Donde, al igual que para la Ecuación 5.1, los símbolos T, t, C representan la temperatura y tiempo de batido y la dosis de coadyuvante (talco), respectivamente, usados en los diferentes ensayos. Además de los factores numéricos de la Ecuación 5.1, en las dos últimas campañas se ha estudiado un factor de tipo categórico, tamaño de la criba del molino, al que se le han aplicado dos niveles de estudio, de 4,5 y 5,5 mm.

Mientras los factores numéricos, de tipo continuo, se usan para determinar el modelo de ajuste para cada respuesta, los factores categóricos solo pueden tomar valores discretos y por ello solo contribuyen a incrementar el número de modelos a determinar, uno por cada valor. En el presente caso, se debe hacer un diseño experimental para cada valor de la criba y, por tanto, se obtendrá un modelo para cada una.

Dado que además de los tres factores numéricos se estudia uno de tipo categórico y que estos diseños se aplican a dos tipos de aceituna, regadío y seco, con diferentes grados de maduración, el número de ensayos a realizar se incrementa tanto que llevarlo a la práctica es imposible, por la tarea a realizar en la extracción de los aceites, por el número de muestras de estos que salen y por los análisis que a cada uno de ellos se le hacen.

Según la Tabla 5.5, para cada diseño experimental se deben hacer 18 extracciones y se obtendrán sus correspondientes aceites y orujos. Este diseño se debe aplicar a cada criba del molino que se emplee y a cada muestra de aceituna de la que se disponga. En la campaña 2008-09, Tabla 5.2, se ha trabajado con 7 muestras diferentes de aceitunas que, para una sola criba, suponen 7 diseños experimentales con 18 ensayos por cada uno y un total de 126 muestras de aceites, los mismos de orujos y 28 de masa de aceituna para análisis. Dado el volumen tan ingente de trabajo se ha pensado en optimizarlo, dentro de límites plausibles, por lo que en la campaña 2008-09 solo se ha aplicado la doble criba a la primera muestra de aceituna, generándose los diseños A y B, para después fijar la criba en el valor 5,5 mm y solo replicar con la criba de 4,5 mm los puntos centrales. En la campaña 2009-10 se ha empleado la criba de 4,5 mm, para poder compararla con la de 5,5 mm de la campaña anterior, y en ella se han realizado en total 8 diseños experimentales, uno para cada muestra de la Tabla 5.3.

Realizados los diferentes ensayos para todos los diseños y ambas campañas y obtenidos los correspondientes aceites y orujos se procedió a su análisis y determinación de las diferentes respuestas, incluidas en las Tablas 5.18 a 5.49 para las campañas 2008-09 y 2009-10. Dado que para estas dos campañas de aceituna se han realizado diseños de experimentos del tipo de superficie de respuesta se deberán discutir mediante modelos cuadráticos que permitan optimizar los factores para obtener el mejor valor de la respuesta estudiada.

### 5.2.2.1. Rendimiento en aceite

Dado que trabajar con rendimientos en base húmeda distorsiona los resultados cuando se trabaja con muestras de diferente humedad, los resultados de las Tablas 5.18 a 5.49, en base húmeda, se han recalculado en base seca mediante la Ecuación 5.3.

$$R_{Si} = \frac{R_{Hi}}{100 - H_i} \cdot 100 \quad (5.3)$$

Donde  $H_i$  es la humedad de la muestra de aceituna  $i$ , Tablas 5.2 y 5.3.

Con los rendimientos de todos los ensayos de todos los experimentos, en base seca, se han calculado los modelos de ajuste cuyos coeficientes se han tabulado en las Tablas 5.78 y 5.79. En ellas se observa que estos están tabulados junto con el índice de madurez de la aceituna y, considerando el tamaño de la criba permiten distinguir posibles diferencias debido a estos parámetros, no incluidos en el diseño experimental.

**Tabla 5.78.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Rendimiento en base seca. Campaña 2008-09

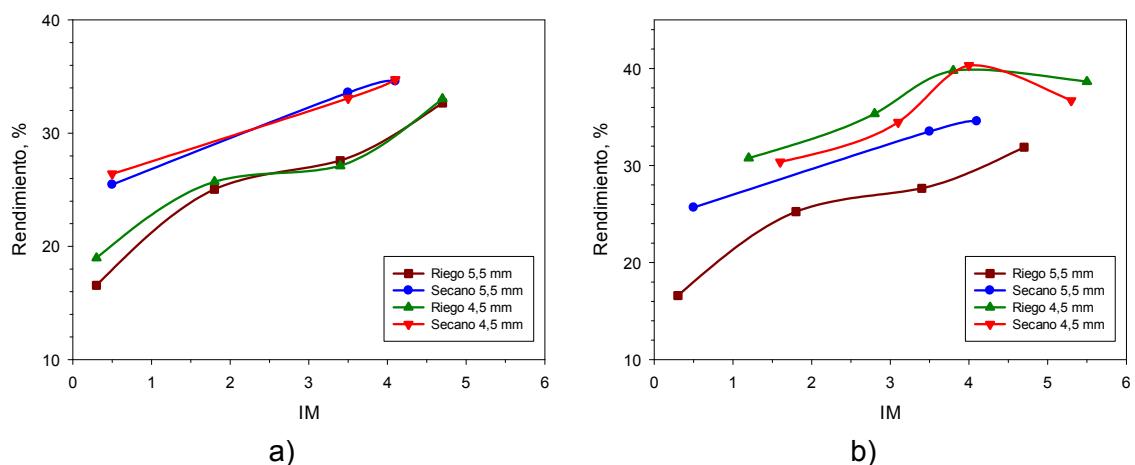
IM	Riego					Secano		
	A (0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E (3,5)	G (4,1)
<b>a<sub>0</sub></b>	19,21	16,60	25,24	27,66	31,88	25,68	33,52	34,58
<b>a<sub>1</sub></b>	0,59	0,09	0,30	-0,37	0,14	0,56	-0,99	-2,11
<b>a<sub>2</sub></b>	0,82	1,12	0,62	1,37	1,58	0,72	0,97	0,73
<b>a<sub>3</sub></b>	0,53	0,68	0,80	0,72	0,48	0,63	0,96	2,49
<b>a<sub>12</sub></b>		0,53						
<b>a<sub>13</sub></b>		0,48	0,71	0,51			0,85	1,52
<b>a<sub>23</sub></b>	-0,49		0,54					
<b>a<sub>11</sub></b>	-0,40	-1,01	-0,60		1,33	-0,51	-1,72	-0,74
<b>a<sub>22</sub></b>	-0,22	-0,68	-0,26	-0,29		-0,62		0,47
<b>a<sub>33</sub></b>	-0,75		-0,37	-0,56	1,04		-0,31	-0,68
<b>R<sup>2</sup></b>	0,973	0,972	0,984	0,964	0,957	0,915	0,970	0,970

Realizado el experimento A con la criba de 4,5 mm y el B con la de 5,5 mm y con la intención de comprobar la influencia del tamaño de criba (factor categórico de dos niveles) pero sin tener que duplicar el trabajo, el resto de experimentos de la campaña 2008-09 se han realizado con la criba de 5,5 mm y solo se han replicado los puntos centrales con la de 4,5 mm. En la Figura 5.26.a se han representado los valores medios de los ensayos realizados con ambas cribas, en las condiciones de operación de los puntos centrales de los factores, para la aceituna de riego y de secano de la campaña 2008-09. En ella se observa que solo con aceituna muy temprana podría justificarse el usar la criba pequeña, ya que mejora ligeramente, para los dos tipos de aceituna, el rendimiento de extracción. En el resto de ensayos, con índice de madurez mayor, no se observa variación de rendimiento por usar una criba o la otra, aunque hay que considerar que por usar la de menor tamaño (mayor molturación) el consumo eléctrico del molino será mayor y se incrementará la temperatura de las pastas, además de que, para mantener la capacidad de

molturación, el molino deberá ser de mayor tamaño; lo que justificaría el usar solo la de 5,5 mm.

**Tabla 5.79.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Rendimiento en base seca. Campaña 2009-10

IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
$a_0$	30,77	35,34	39,78	38,65	30,38	34,46	40,32	36,70
$a_1$	2,04	0,18	0,43	1,47	1,02	0,26	0,64	1,42
$a_2$	1,50	1,98	1,38	0,99	2,01	1,03	0,61	1,03
$a_3$	1,11	1,52	0,73	1,26	0,56	1,18	0,00	0,14
$a_{12}$	0,34	-0,44	-0,32			0,76	-0,65	-0,50
$a_{13}$	0,64		0,34	-0,47	0,23	-1,07	-0,26	0,33
$a_{23}$	-0,73			0,39	0,20	0,23	-0,85	0,37
$a_{11}$	-2,13		0,17	0,42			-0,51	
$a_{22}$	-0,71	-0,98	-0,38		-0,97	-0,84	-0,48	
$a_{33}$	-0,65	-0,70	-0,76	0,21	-1,17	-0,32	-1,49	
$R^2$	0,980	0,991	0,985	0,982	0,990	0,992	0,992	0,985



**Figura 5.26.** Rendimiento vs índice de madurez para los puntos centrales de la campaña 2008-09 (a) y para los puntos centrales de los modelos en las campañas 2008-09 y 2009-10 (b)

Aunque, a posteriori, se ha determinado que no es conveniente usar la criba pequeña en aquel momento no se sabía por lo que la aceituna de la campaña 2009-10 se molturó con la criba de 4,5 mm. Como ya se ha comentado en el Apartado 5.1.1, el año 2008 fue bastante seco mientras en el 2009 llovió de forma regular, por este motivo la aceituna de la primera campaña sufrió estrés hídrico mientras que la de la segunda se desarrolló normalmente. Para estudiar la influencia del año hidrológico se han representado los coeficientes independientes de los modelos (puntos centrales) de las Tablas 5.78 y 5.79 en la Figura 5.26.b para las campañas de aceituna 2008-09 y 2009-10 y los dos tipos de cultivos, regadío y secano.

En esta figura se observa que los rendimientos de la segunda campaña son mayores, en los dos tipos de cultivo, a los de la primera campaña, lo que pone de manifiesto que la pluviometría y el desarrollo normal del fruto son muy importantes para el rendimiento y el total de aceite obtenido.

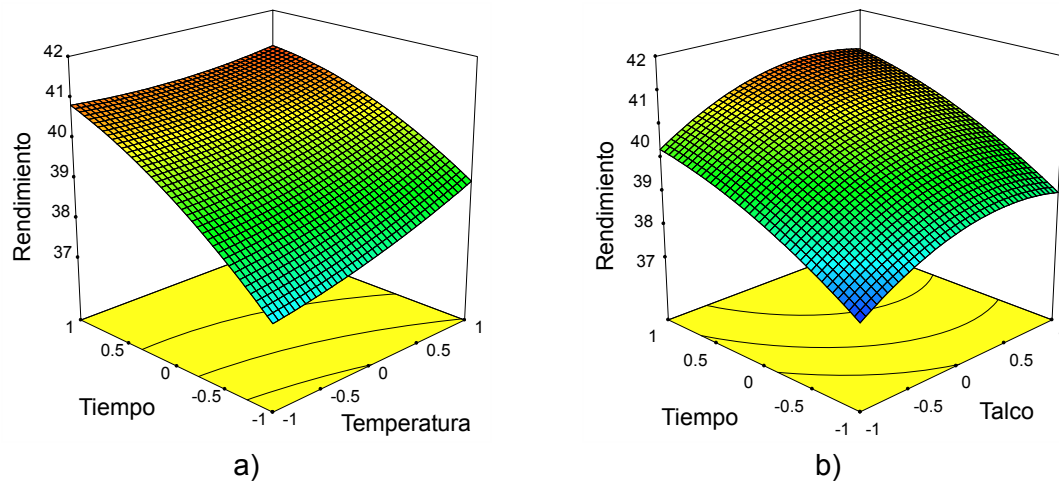
En la Figura 5.26.a se observa que el rendimiento es mayor, en todos los casos, para la aceituna de secano que para la de regadío; lo que, en principio, es contradictorio ya que ese año no llovió por lo que el olivar sufrió sequía, pero parece ser que el regadío la sufrió con más intensidad. Según la Figura 5.26.b, para la segunda campaña, el rendimiento es mayor para la aceituna de regadío que para la de secano aunque el máximo de rendimiento es el mismo para ambas.

Tanto en las tablas como en las figuras anteriores se observa que el rendimiento de extracción se incrementa con la maduración de la aceituna, hasta un valor máximo que debe coincidir con la finalización de la lipogénesis. Alcanzado este punto, toda la aceituna que posteriormente se recoja deberá dar el mismo rendimiento ya que con la maduración solo disminuye el contenido en humedad. Este hecho se observa en la Tabla 5.79 y en la Figura 5.26.b para la última campaña, donde, incluso, para la aceituna de secano se observa un ligero descenso.

Considerando los modelos de las Tablas 5.78 y 5.79, para las dos campañas, se observa que, por el nivel principal de los factores, el tiempo de batido es la variable de operación más importante, de cara a obtener mayores rendimientos; la dosis de coadyuvante también es importante y en menor cuantía la temperatura de batido. Como se observa en las tablas, existe cierta interacción mayoritariamente positiva entre factores aunque esta no es muy importante y, en la mayoría de los modelos, los términos cuadráticos son significativos y con influencia negativa, por lo que existe cierta curvatura negativa en los extremos de los factores. Por tanto, existe un valor máximo de rendimiento que no tiene porqué coincidir con los valores máximos de las variables de operación.

En la Figura 5.27 se muestra, a modo de ejemplo, la superficie de respuesta obtenida para el rendimiento en el diseño E de la campaña 2009-10. En la primera imagen (a) se ha representado la respuesta frente a los factores codificados tiempo y temperatura de batido de la pasta de aceituna, para el valor 0 del otro factor, y en la

segunda (b), para el punto central de temperatura codificada, se representa el rendimiento frente a tiempo y dosis de coadyuvante.



**Figura 5.27.** Superficie de respuesta del rendimiento.  
Campaña 2009-10, muestra E

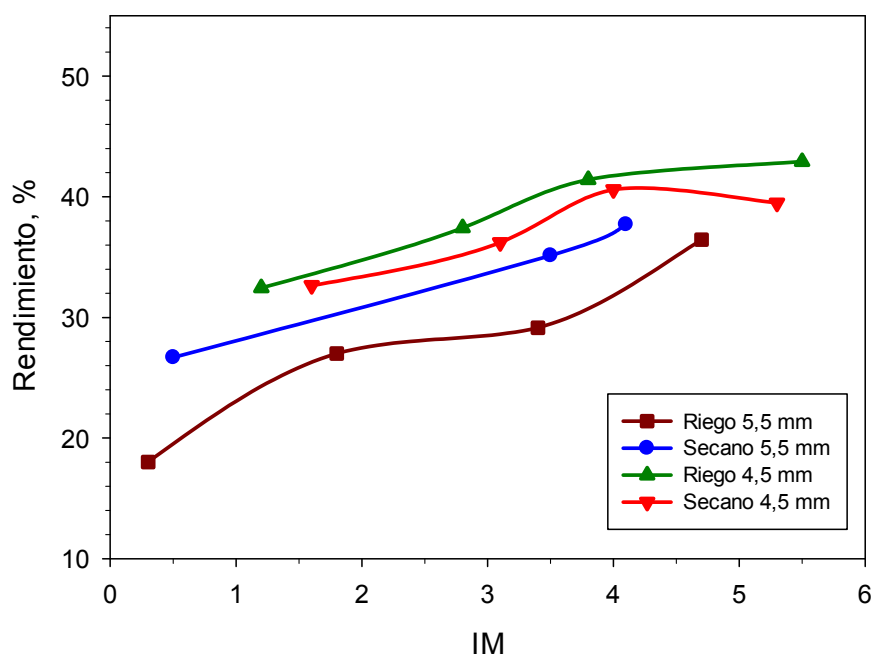
En estas figuras se observa que el rendimiento se incrementa linealmente con los factores (influencia positiva de los niveles principales), aunque las tendencias son diferentes según el coeficiente de cada factor. En la Figura 5.27.a se aprecia la interacción negativa entre la temperatura y el tiempo, por lo que a tiempos bajos el rendimiento se incrementa con la temperatura y a tiempos altos disminuye. Respecto de los términos cuadráticos, se observa como la superficie se curva hacia arriba con la temperatura, aunque muy ligeramente, y, en cambio, esta curvatura es negativa para los otros dos factores, aunque la curvatura es más apreciable cuanto más cercanos sean los valores absolutos de los coeficientes entre el nivel secundario (cuadrático) y el primario o principal.

Para los factores estudiados, la temperatura de batido es el factor menos influyente, de forma que podría trabajarse a temperaturas bajas sin que por ello se resintiera de forma considerable el rendimiento. El tiempo de batido es el factor más importante y, por comparación de los coeficientes del término cuadrático respecto del término lineal, se podría decir que el óptimo no se encuentra dentro del rango de valores estudiado. La dosis de talco es el siguiente factor con influencia sobre el rendimiento, con el óptimo cercano al máximo utilizado.

Con los modelos de rendimiento, Tablas 5.78 y 5.79, se ha determinado el óptimo para todos los casos y, con ligeras diferencias, los mejores valores de los factores son, mayoritariamente, próximos a los límites superiores de estos, oscilando entre 50 y 60 minutos de tiempo de batido, 1,5 y 2 % para la dosis del coadyuvante y

40 y 60 °C de temperatura, para este factor el rango es más abierto porque su influencia es menor.

En la Figura 5.28 se muestran los óptimos de los modelos obtenidos para los resultados de las dos campañas estudiadas. En ella se observa que los rendimientos se incrementan con el índice de madurez, independientemente de la criba utilizada y de que la aceituna sea de riego o de secano, hasta un máximo claramente identificable en las aceitunas de la última campaña y que está comprendido entre 3,5 y 4 de índice de madurez. Por otra parte, se observa que las curvas de rendimientos están claramente diferenciadas y que, al igual que en la Figura 5.26.b el regadío proporciona mayor rendimiento que el secano, aunque en la campaña 2008-09 esto ha sido al contrario, seguramente debido a que el olivar de riego haya sufrido más la sequía.



**Figura 5.28.** Variación de los rendimientos óptimos, con el índice de madurez, para las campañas 2008-09 (●■) y 2009-10 (▲▼)

En definitiva, el porcentaje de aceite que se extrae de las aceitunas es función casi lineal del grado de maduración e independiente de la criba usada. El tiempo de batido, la dosis de talco y la temperatura de batido son, por este orden, los factores que se deben incrementar para mejorar los rendimientos. Por otra parte, la climatología tiene una gran influencia sobre el contenido graso del fruto y sobre el rendimiento, en los años secos disminuye la riqueza de las aceitunas, las cuales recogen agua en época de lluvia, por lo que pesan más pero no tienen aceite, y son de extracción más compleja.

### 5.2.2.2. Índice de acidez

Con el índice de acidez se mide la cantidad de ácidos grasos libres que los aceites contienen disueltos, como los gramos de ácido oleico que contienen 100 gramos de aceite. La acidez de los aceites se incrementa por reacción de los triglicéridos con el agua (hidrólisis). La hidrólisis es acelerada por altas temperaturas y presiones y por una excesiva cantidad de agua. Un alto contenido de ácidos grasos libres se considera un defecto por lo que su concentración debe ser mínima, aunque legalmente un aceite puede ser extra siempre que su contenido sea inferior a 0,8 g ácido oleico / 100 g aceite (Reglamento (UE) N° 61/2011).

En las Tablas 5.80, para la campaña 2008-09, y 5.81, para la Campaña 2009-10, se muestran los coeficientes de los modelos obtenidos para la respuesta acidez de los aceites. Aunque los modelos obtenidos son significativos y los coeficientes de determinación presentan valores bastante buenos, el rango de variación de los resultados experimentales no es muy grande y en todos los casos está muy alejado del máximo permitido para los aceites de oliva vírgenes extra.

**Tabla 5.80.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Índice de Acidez. Campaña 2008-09

IM	Riego					Secano		
	A ( 0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E ( 3,5)	G (4,1)
<b>a<sub>0</sub></b>	0,19	0,17	0,23	0,24	0,23	0,20	0,23	0,21
<b>a<sub>1</sub></b>	0,016	0,021	0,040	0,032	0,011	0,350	0,019	0,005
<b>a<sub>2</sub></b>	-0,014	-0,015	-0,023	0,004	0,005	-0,028	-0,009	-0,011
<b>a<sub>3</sub></b>	0,007	0,011	-0,009	-0,005	0,013	0,012	0,009	0,002
<b>a<sub>12</sub></b>	-0,004		-0,024	0,010	-0,019	-0,026		-0,018
<b>a<sub>13</sub></b>	-0,004	0,011	0,007		-0,024			0,016
<b>a<sub>23</sub></b>		0,011	-0,012	-0,008		-0,039	0,009	
<b>a<sub>11</sub></b>	-0,005	0,008	0,006	0,005	-0,009	0,330		-0,013
<b>a<sub>22</sub></b>	0,002	0,003	0,023		-0,005		-0,012	-0,008
<b>a<sub>33</sub></b>	0,019		-0,007		-0,009			-0,003
<b>R<sup>2</sup></b>	0,994	0,984	0,991	0,972	0,976	0,990	0,962	0,957

**Tabla 5.81.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Índice de Acidez. Campaña 2009-10

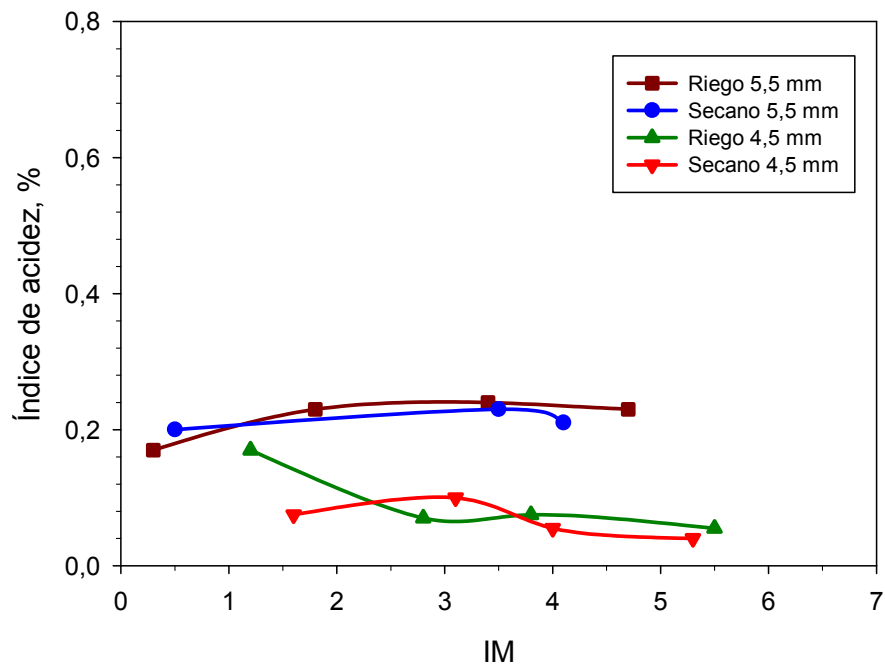
IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
<b>a<sub>0</sub></b>	0,17	0,07	0,08	0,06	0,08	0,10	0,06	0,04
<b>a<sub>1</sub></b>	0,043	0,002	0,002	-0,012	0,002	0,011	0,000	-0,005
<b>a<sub>2</sub></b>	0,007	-0,001	-0,011	0,009	-0,006	0,001	-0,003	0,005
<b>a<sub>3</sub></b>	0,005	0,000	0,007	-0,002	-0,016	0,004	0,012	0,010
<b>a<sub>12</sub></b>	0,010	0,007	0,013	-0,004	0,033		0,009	
<b>a<sub>13</sub></b>	0,008		-0,015		0,022			
<b>a<sub>23</sub></b>		-0,002	0,003				0,009	0,023
<b>a<sub>11</sub></b>	0,012	0,011	-0,003		0,023		0,017	0,007
<b>a<sub>22</sub></b>	-0,007		-0,001			-0,008	0,012	-0,005
<b>a<sub>33</sub></b>	0,17	0,004	-0,001	-0,007	0,019		0,06	0,010
<b>R<sup>2</sup></b>	0,966	0,986	0,909	0,938	0,986	0,934	0,942	0,941

Aunque el estudio de la influencia, de los diferentes factores, sobre la acidez libre de los aceites no es muy significativo debido a la baja variabilidad que experimenta la respuesta y a que el objetivo es que sea mínima, se puede deducir, a partir de las Tablas anteriores, que la temperatura de batido es el factor de mayor influencia positiva (incrementa la acidez libre), siendo insignificante, por coeficiente y signo, la del resto de factores. Observando los resultados, Tablas 5.18 a 5.33, obtenidos con las cribas de 4,5 y de 5,5 mm, correspondientes a los puntos centrales de la campaña 2008-09 (ensayos 19 a 22 para la criba de 4,5 mm y 8 a 11 para la de 5,5 mm), se deduce que la criba del molino, y el grado de maduración de la aceituna, no influyen de forma apreciable sobre el grado de acidez de los aceites, siempre y cuando aquella sea de árbol.

Optimizados todos los modelos con el objetivo de obtener aceites con el mínimo de acidez se ha determinado que, en la mayoría de los casos, la temperatura debe ser la mínima posible, 20 °C para nuestra experimentación; mientras que los valores óptimos del tiempo de batido y el talco son muy variables entre los límites estudiados, por lo que no son determinantes para la acidez libre de los aceites. Si se considera la reacción de hidrólisis, por la cual se liberan los ácidos grasos de los triglicéridos, de los diferentes factores estudiados la temperatura es la única variable que acelera la reacción y contribuye a incrementar la acidez de los aceites.

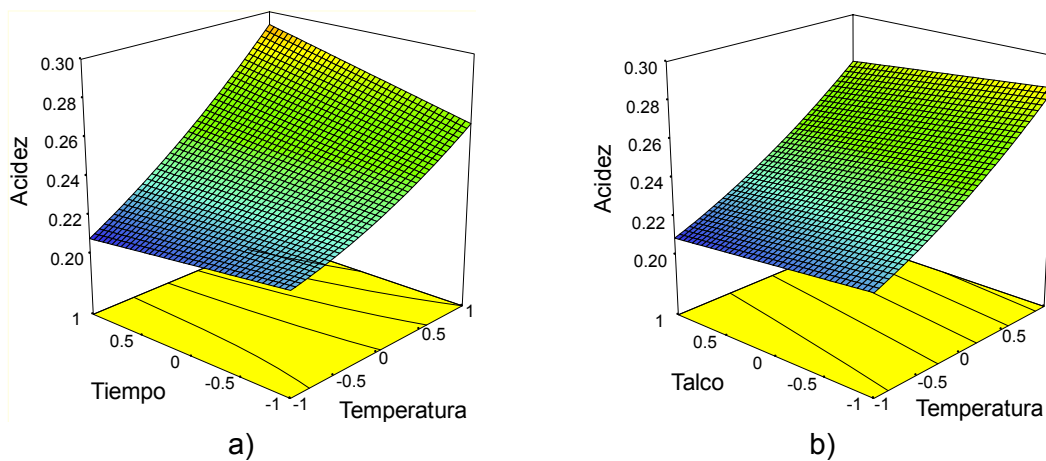
En la Figura 5.29 se han representado los puntos centrales de los modelos para los dos tipos de aceituna y las dos campañas estudiadas. En esta figura se ha fijado la escala de acidez en 0,8, valor máximo para que un aceite deje de ser virgen

extra. En ella se observa que la procedencia de la aceituna, riego o secano, no parece afectar de forma apreciable a la acidez, que la maduración tampoco parece tener influencia y que cualquier posible variación, dado que la criba no es determinante, es debida a la campaña y por ello a factores agronómicos no considerados, aunque la acidez de los aceites no es muy elevada y solo algo superior en la campaña 2008-09.



**Figura 5.29.** Variación del índice de acidez, con el índice de madurez, para las campañas 2008-09 (●■) y 2009-10 (▲▼)

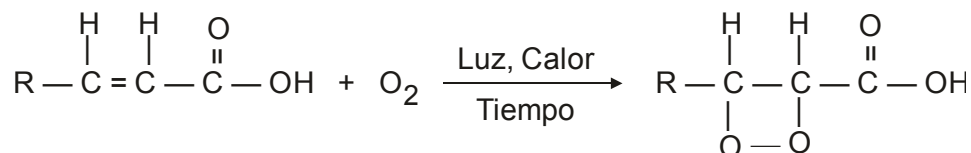
En la Figura 5.30 se representa, a modo de ejemplo, el modelo obtenido para las muestras de aceites correspondientes al experimento F de la campaña 2008-09. La Figura 5.30.a se corresponde a la representación del índice de acidez frente a temperatura y tiempo de batido, para el valor central de la dosis de talco y, en la Figura 5.30.b se ha representado frente a temperatura de batido y dosis de coadyuvante, para el valor central de tiempo de batido. En ellas se puede observar que la temperatura es el factor que más influye sobre la acidez de los aceites y como los otros dos factores no tienen una influencia apreciable.



**Figura 5.30.** Superficie de respuesta del índice de acidez.  
Campaña 2008-09, muestra F

### 5.2.2.3. Índice de peróxidos

Mediante este índice se determina el estado de oxidación primaria de los aceites. La oxidación de los aceites se inicia cuando el oxígeno reacciona con los dobles enlaces, insaturaciones, que hay en las cadenas de ácidos grasos, formando hidroperóxidos (Figura 5.31). El valor máximo de índice de peróxidos permitido para los aceites de oliva vírgenes es de 20 (Reglamento (UE) N° 61/2011).



**Figura 5.31.** Reacción de oxidación

Según se observa en la figura, la reacción de oxidación se ve favorecida por la temperatura, luminosidad, tiempo y presencia de oxígeno; por ello, cualquier modificación técnica que limite estos factores mejorará el nivel de oxidación de los aceites y consecuentemente disminuirá su índice de peróxidos. Considerando el batido de las pastas de aceituna y los factores estudiados en esta investigación se puede deducir que tanto el tiempo como la temperatura de batido deberán ser mínimas, si el objetivo es limitar la oxidación de los aceites.

En las Tablas 5.82 y 5.83 se muestran los coeficientes de los modelos determinados para el índice de peróxidos en las campañas 2008-09 y 2009-10.

**Tabla 5.82.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Índice de Peróxidos. Campaña 2008-09

IM	Riego					Secano		
	A (0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E (3,5)	G (4,1)
<b>a<sub>0</sub></b>	5,63	5,18	4,65	4,30	4,23	4,63	4,21	4,03
<b>a<sub>1</sub></b>	-0,70	0,35	0,62	0,30	0,32	0,21	0,94	0,59
<b>a<sub>2</sub></b>	-0,75	0,26	0,24	0,40	0,09	0,47	0,01	0,39
<b>a<sub>3</sub></b>	-0,27	0,02	-0,14	0,18	0,00	-0,11	-0,31	-0,09
<b>a<sub>12</sub></b>	1,01	-0,14	-0,16			0,10	-0,63	-0,35
<b>a<sub>13</sub></b>	0,29		-0,47	-0,18	-0,23		-0,49	-0,12
<b>a<sub>23</sub></b>		-0,06		0,31	0,22		0,39	
<b>a<sub>11</sub></b>		-0,31	-0,30	-0,56		-0,31	0,27	-0,17
<b>a<sub>22</sub></b>	0,34		-0,24	-0,69	-0,21	-0,11	-0,11	-0,06
<b>a<sub>33</sub></b>	-0,16		0,10	0,21	0,24			-0,14
<b>R<sup>2</sup></b>	0,955	0,973	0,984	0,991	0,973	0,978	0,989	0,992

**Tabla 5.83.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Índice de Peróxidos. Campaña 2009-10

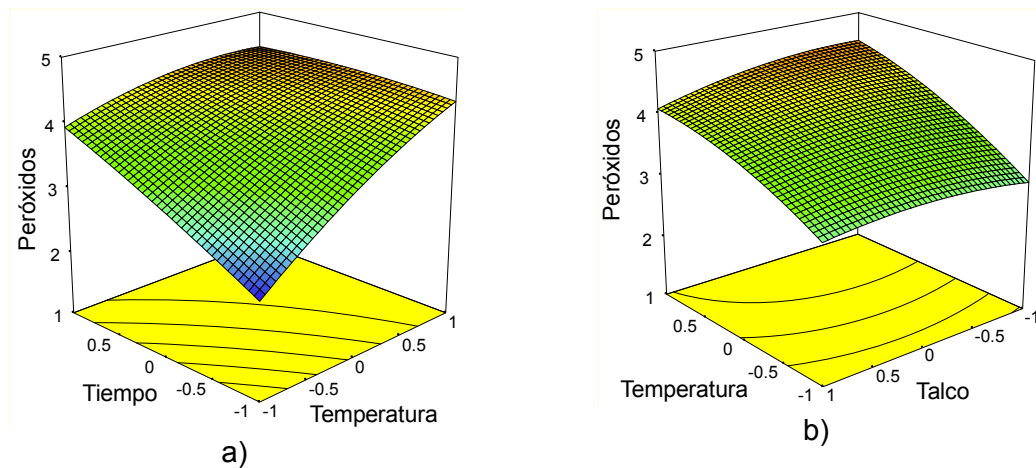
IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
<b>a<sub>0</sub></b>	10,65	5,45	4,80	4,02	4,98	4,16	4,41	4,72
<b>a<sub>1</sub></b>	2,43	1,78	1,29	1,28	-0,19	0,67	0,58	1,22
<b>a<sub>2</sub></b>	0,75	0,72	-0,09	0,92	-0,06	0,43	0,71	0,53
<b>a<sub>3</sub></b>	0,31	0,14	-0,47	-0,02	-0,26	0,05	0,12	0,42
<b>a<sub>12</sub></b>	0,58	0,26	0,38	0,88	-1,07		-0,53	
<b>a<sub>13</sub></b>			0,69		0,59			0,42
<b>a<sub>23</sub></b>			0,66	0,15				-0,42
<b>a<sub>11</sub></b>	-0,63		0,22	0,67	0,39	0,15		0,27
<b>a<sub>22</sub></b>	-0,83	-0,61	0,08	0,09	0,66	-0,29		0,19
<b>a<sub>33</sub></b>	-0,82	-0,56	-0,05	0,17	0,52	-0,16	0,51	4,72
<b>R<sup>2</sup></b>	0,979	0,982	0,999	0,994	0,963	0,965	0,978	0,959

A partir de los datos experimentales de puntos centrales de todos los experimentos de la campaña 2008-09, haciendo las medias y calculando las desviaciones estándar, se determina que la criba del molino no parece afectar al contenido de peróxidos en los aceites. Examinado el término independiente de todos los modelos de ambas campañas se observa una cierta dependencia del contenido en peróxidos con la maduración de los aceites, de forma que parece descender conforme se incrementa el índice de madurez, aunque las variaciones son tan pequeñas y las oscilaciones tan grandes que no se puede afirmar que el índice de peróxidos varíe con la maduración de los aceites. Igualmente, se observa que la procedencia de la aceituna, riego o secano, no modifica el contenido de peróxidos, así como que se consideren campañas diferentes.

En cambio, sí se observa en las Tablas 5.82 y 5.83 que la temperatura y el tiempo de batido ejercen una influencia positiva sobre el índice de peróxidos, en concordancia con lo indicado anteriormente, ambos factores incrementan esta respuesta. En todos los casos, la temperatura es el factor más importante y el que más incrementa la respuesta. En algunos casos parece ser que estos factores tienen una influencia muy pequeña o incluso negativa, pero si se observa el término cuadrático este es tan grande que se superpone al nivel principal del factor. Por el contrario, no se observa una influencia definida y significativa para el tercer factor, dosis de coadyuvante.

Se observa en los modelos que, aunque el índice de peróxidos debe ser mínimo, los términos cuadráticos son negativos por lo que, al ser positivos los niveles principales, existe curvatura con valores máximos de la respuesta en el rango de experimentación. Esto se justifica debido a que los peróxidos se forman por la reacción de oxidación pero son tan reactivos que, alcanzada cierta cantidad mínima, empiezan a descomponerse, y desaparecer como tales del medio, formándose otros productos y pasando los aceites a otro nivel de oxidación que es necesario cuantificar con el  $K_{232}$  y el  $K_{270}$ .

A modo de ejemplo, en la Figura 5.32 se representa el modelo cuadrático obtenido para la muestra G de la campaña 2008-09, en ella se observa como el índice de peróxidos se incrementa con la temperatura y tiempo de batido y, en cambio, el talco no muestra una influencia significativa. En las dos figuras se observa la curvatura con nivel máximo de la respuesta, pero este máximo no es importante dado que los peróxidos deben ser mínimos de cara a tener aceites de elevada calidad.



**Figura 5.32.** Superficie de respuesta del índice de peróxidos.  
Campaña 2008-09, muestra G

#### 5.2.2.4. $K_{232}$ y $K_{270}$

La absorbancia en el ultravioleta a la longitud de onda de 232 nm ( $K_{232}$ ) indica, al igual que el índice de peróxidos, la oxidación inicial de un aceite, por cuantificación de la absorbancia a dicha longitud de onda. El límite máximo para el aceite virgen extra es de 2,5 y 2,6 para el virgen.

La absorbancia a 270 nm ( $K_{270}$ ) determina un estado oxidativo más avanzado que el  $K_{232}$ . Conforme la oxidación avanza los peróxidos se van descomponiendo y originando otros compuestos, básicamente aldehídos y cetonas, responsables del olor y sabor característico de los aceites rancios. El valor máximo permitido para los aceites vírgenes extra es de 0,22 y 0,25 para los vírgenes.

En las Tablas 5.84 y 5.85 se han tabulado los coeficientes de los modelos ajustados para el  $K_{232}$  y el  $K_{270}$  de los aceites obtenidos en la campaña 2008-09, respectivamente. Y, en las Tablas 5.86 y 5.87 se han tabulado los coeficientes para los modelos ajustados de  $K_{232}$  y  $K_{270}$  de los aceites de la campaña 2009-10, respectivamente.

**Tabla 5.84.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta:  $K_{232}$ .  
Campaña 2008-09

IM	Riego					Secano		
	A (0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E (3,5)	G (4,1)
$a_0$	1,70	1,66	1,63	1,75	1,71	1,63	1,73	1,72
$a_1$	0,14	0,11	0,16	0,18	0,17	0,16	0,18	0,25
$a_2$	-0,10	-0,07	-0,05	-0,01		-0,05	0,01	0,05
$a_3$	0,01	0,00	0,01	0,03	0,00	0,01	-0,03	0,05
$a_{12}$		-0,01	0,04	0,03		0,04	0,04	
$a_{13}$	-0,03		-0,02	0,04				
$a_{23}$	-0,03	0,01		-0,04		-0,02		-0,05
$a_{11}$		0,03	0,05	-0,02	0,07	0,05		0,04
$a_{22}$	0,02	0,03		-0,03			0,10	
$a_{33}$		-0,01	0,02		-0,08	0,02	-0,07	0,02
$R^2$	0,967	0,989	0,981	0,991	0,985	0,981	0,967	0,988

**Tabla 5.85.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta:  $K_{270}$ .  
Campaña 2008-09

IM	Riego					Secano		
	A (0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E (3,5)	G (4,1)
$a_0$	0,24	0,21	0,21	0,23	0,21	0,20	0,25	0,32
$a_1$	0,040	0,059	0,055	0,050	0,030	0,053	0,045	0,037
$a_2$	-0,019	-0,005	-0,006	-0,010	0,012	-0,010	-0,004	-0,017
$a_3$	0,008	0,001	0,001	0,001	0,022	-0,001	-0,006	0,033
$a_{12}$	0,019	0,007	-0,017	-0,015	-0,011			-0,029
$a_{13}$	-0,009	0,011	-0,024	0,013	-0,021			0,036
$a_{23}$	-0,015		-0,020	0,006	0,004			-0,026
$a_{11}$	0,018	0,020	0,004			0,011	-0,014	-0,035
$a_{22}$		0,011	0,005	-0,006		0,009	-0,022	-0,037
$a_{33}$	-0,005			-0,005	0,008	0,007	-0,011	-0,024
$R^2$	0,985	0,975	0,988	0,988	0,992	0,938	0,987	0,951

**Tabla 5.86.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta:  $K_{232}$ .  
Campaña 2009-10

IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
$a_0$	1,70	1,62	1,60	1,62	1,63	1,59	1,60	1,59
$a_1$	0,17	0,13	0,14	0,08	0,11	0,15	0,10	0,14
$a_2$	0,02	0,01	-0,01	0,01	0,01	0,00	0,02	-0,01
$a_3$	0,01	-0,01	0,02	-0,01		0,01	0,06	-0,01
$a_{12}$	0,05	0,03	-0,04			0,04	-0,02	
$a_{13}$		-0,02	0,07				0,04	
$a_{23}$			0,07				0,04	
$a_{11}$	-0,04		0,04	-0,04	0,04	0,03		0,03
$a_{22}$			-0,02	-0,02	-0,02	0,05	0,04	-0,05
$a_{33}$	-0,02		1,60	-0,04	1,63	-0,01	0,08	0,01
$R^2$	0,978	0,969	0,978	0,980	0,949	0,987	0,980	0,989

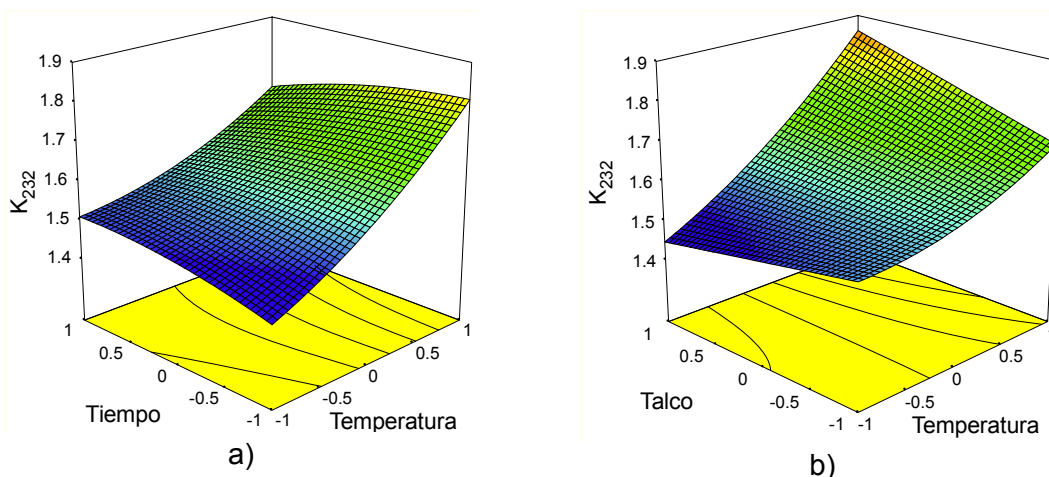
**Tabla 5.87.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta:  $K_{270}$ .  
Campaña 2009-10

Coeficientes de los factores codificados								
IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
$a_0$	0,22	0,16	0,18	0,16	0,18	0,18	0,19	0,16
$a_1$	0,030	0,015	0,040	0,021	0,027	0,033	0,016	0,030
$a_2$	0,002	0,007	-0,013	-0,001	0,010	-0,003	0,008	-0,002
$a_3$	-0,001	-0,006	-0,003	0,005			0,002	-0,005
$a_{12}$	0,013	0,007	0,009	-0,007		0,016	0,003	
$a_{13}$		-0,033	-0,022	0,018				0,005
$a_{23}$		0,027	0,019	-0,008			0,008	
$a_{11}$	-0,027	0,006	0,024	-0,006	0,013	0,027	-0,013	0,011
$a_{22}$	-0,009	0,003	-0,006	-0,005			0,004	-0,011
$a_{33}$	-0,018	0,004	-0,006				0,009	0,005
$R^2$	0,973	0,983	0,991	0,990	0,934	0,932	0,973	0,974

Dado que el  $K_{232}$  muestra un estado de oxidación temprana, su evolución lógica es incrementarse con la evolución de la oxidación, y disminución del índice de peróxidos, para a continuación disminuir debido a la formación de los productos de reacción; por lo que los modelos deberían mostrar máximos deslocalizados en función de los factores de operación. En el presente estudio este hecho no se observa dado que los valores de la respuesta no son muy elevados, seguramente debido a los amplios rangos de utilización de los factores y no poder observar la zona del máximo.

Observando las Tablas 5.84 y 5.86, de los modelos de  $K_{232}$  para la primera campaña, y los resultados experimentales, Tablas 5.18 a 5.49, para los puntos centrales; se deduce que el tamaño de criba parece influir algo sobre este parámetro, al igual que la maduración, aunque en ninguno de los casos de forma significativa; por el contrario, en la 2ª campaña parece ser que la maduración no ejerce ninguna influencia sobre el  $K_{232}$ . Por lo que, en general, no se puede atribuir variación del coeficiente debido a la molturación de la aceituna o a su grado de madurez.

Observando los modelos se deduce que la temperatura de batido de las pastas siempre es significativa y de influencia positiva, mientras que el tiempo o el talco parecen mostrar acciones variables, pero de escasa importancia, entre los diferentes modelos. Dado que los términos de interacción y los cuadráticos son muy pequeños en comparación con los niveles principales parece ser que la respuesta  $K_{232}$  se incrementa constantemente con la temperatura y es casi constante con los otros dos factores, presentando escasa curvatura para todos ellos. Como ejemplo, en la Figura 5.33 se presenta la superficie de respuesta del modelo obtenido para la muestra E de la campaña de aceituna 2009-10.



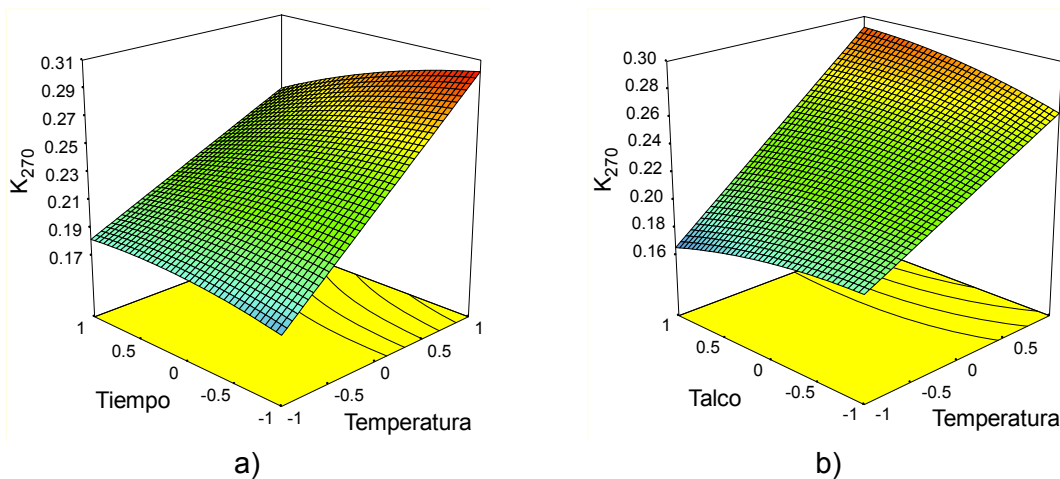
**Figura 5.33.** Superficie de respuesta del  $K_{232}$ .  
Campaña 2009-10, muestra E

En la Figura 5.33 se observa como la temperatura siempre incrementa la respuesta, igualmente, y suplementado a los niveles principales, se distingue la interacción ligeramente negativa con el tiempo (a valores negativos del factor codificado tiempo la temperatura influye más que para valores positivos de tiempo), la interacción positiva con el talco, el término cuadrático positivo para temperatura (ligera curvatura hacia arriba) y el negativo para el tiempo de batido.

La absorción a 270 nm ( $K_{270}$ ) determina un estado de oxidación avanzado y por ello la descomposición de los hidroperóxidos formados al inicio de la oxidación, generando los productos finales de la reacción. Este coeficiente, por tanto, se incrementará con el avance de la reacción y no debería presentar un máximo en el intervalo de los factores estudiado, cualquiera que presente será muy ligero y debido al ajuste de los modelos.

Observando los valores experimentales de la respuesta obtenidos para los puntos centrales, Tablas 5.18 a 5.49, se deduce que la criba, aunque poca, parece ejercer cierta influencia, de forma que la de 4,5 mm es peor criba que la superior de cara a la oxidación de los aceites, por el contrario la maduración del fruto no parece influir sobre el parámetro estudiado. En cambio sí se detecta una clara influencia de la campaña de aceituna de forma que la segunda campaña, con un desarrollo más normal del fruto y del aceite y poca lluvia durante la recogida, parece presentar mejores resultados que la primera (2008-09) donde la lluvia no fue tan continua, el fruto sufrió estrés hídrico y llovió durante la recogida de aceituna.

Observando únicamente los parámetros independientes de los modelos de las Tablas 5.85 y 5.87 se deduce que los aceites de la primera campaña son de peor calidad que los de la segunda, dejando casi todos de ser virgen extra según la clasificación de la Comisión Europea (Reglamento (UE) N° 61/2011). En las mismas tablas se observa que la temperatura de batido es el factor que más influye sobre la respuesta, seguido por el tiempo y sin mostrar actividad alguna el talco. La temperatura siempre incrementa la respuesta mientras el tiempo parece ser que, de forma mayoritaria, la disminuye aunque muy ligeramente, seguramente debido a que los productos de oxidación son más solubles en agua o que este parámetro no determina el total de los productos finales de la reacción de oxidación. En la Figura 5.34 se ha representado el modelo determinado para el parámetro  $K_{270}$  de los aceites obtenidos para la muestra de aceituna F de la campaña 2008-09.



**Figura 5.34.** Superficie de respuesta del  $K_{270}$ .  
Campaña 2008-09, muestra F

En la Figura 5.34 se observa como la temperatura incrementa de forma constante la respuesta, mientras el tiempo y el talco pueden incrementarla o disminuirla según su interacción con la temperatura, así, el tiempo tiene interacción negativa con la temperatura porque conforme se incrementa el primero la influencia del segundo es menor. En cambio, el talco muestra una interacción positiva con la temperatura dado que al incrementarse el primero la influencia del segundo es mayor. Por otra parte, se observa la ligera curvatura negativa que presenta la respuesta frente al tiempo y el talco, mientras es recta para la temperatura.

Desde el punto de vista de este parámetro, se deduce que la temperatura es el factor determinante por lo que si el objetivo es obtener aceites de calidad esta debe ser la mínima posible, por el contrario, el tiempo y el talco no son importantes por lo que se pueden elegir al azar, o según otros parámetros donde su influencia sea mayor.

### 5.2.2.5. Contenido en pigmentos fotosintéticos: clorofilas y carotenoides

Los pigmentos fotosintéticos (clorofilas y carotenoides) son fundamentales para transformar la energía del sol en energía química, por medio de la fotosíntesis. El contenido de estos compuestos en el fruto varía con la maduración, siendo superior con el fruto verde e inferior cuando está maduro. Son solubles en el aceite, de tal forma que el contenido de estos en los aceites dependerá del estado de maduración de la aceituna.

Las clorofilas y los carotenos son compuestos de color característico, verdes las clorofilas y entre amarillo y rojizo, pasando por anaranjado, los carotenoides. Por ello el color de los aceites variará en función del contenido de cada uno de estos

pigmentos, al principio de campaña la concentración de clorofilas es mayor que de carotenos por lo que los aceites son verdes, conforme avanza la campaña y la maduración de la aceituna el contenido de clorofilas disminuye más rápidamente que el de carotenos por lo que la coloración se va modificando hacia el amarillo-anaranjado.

El color no es una característica que permita diferenciar la calidad de los aceites, los pigmentos no influyen sobre la calidad, aunque sí es orientativo de la época de obtención de los aceites y del estado de maduración de la aceituna. Con la maduración disminuye el contenido de diferentes compuestos minoritarios que sí intervienen en la calidad de los aceites, por ello si se relaciona la coloración con el contenido de compuestos minoritarios se deduce que los aceites de principio de campaña (verdes) son más intensos que los de final (amarillos) que son más suaves.

Tanto las clorofilas como los carotenoides presentan actividad catalítica en la oxidación de los aceites, las clorofilas son prooxidantes en presencia de luz y actúan como antioxidantes en la oscuridad, por el contrario, los carotenos son antioxidantes en aceites expuestos a la luz y no presentan actividad en la oscuridad (Morales y Przybylski, 2003).

El contenido en pigmentos fotosintéticos de los aceites depende de una serie de variables difícilmente controlables como variedad, zona geográfica, condiciones del terreno y climatología; aparte de factores tecnológicos, variables de operación, fácilmente controlables que se estudiarán en esta investigación.

En las Tablas 5.88 y 5.89 se muestran los coeficientes de los modelos determinados por ajuste de los datos experimentales de contenido en clorofilas y en carotenoides en los aceites de la campaña 2008-09 y en las Tablas 5.90 y 5.91 los coeficientes de los modelos obtenidos para la campaña 2009-10.

**Tabla 5.88.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Contenido en Clorofilas. Campaña 2008-09

IM	Riego					Secano		
	A ( 0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E ( 3,5)	G (4,1)
<b>a<sub>0</sub></b>	132,38	81,76	72,55	57,21	46,87	87,03	65,93	47,28
<b>a<sub>1</sub></b>	49,98	49,89	41,20	26,71	13,38	39,37	28,45	15,29
<b>a<sub>2</sub></b>	5,83	13,88	10,05	6,92	5,77	8,88	8,69	0,76
<b>a<sub>3</sub></b>	3,14	-0,99	1,75	1,87	-0,35	1,48	0,38	6,20
<b>a<sub>12</sub></b>		10,68	9,32	8,79	1,28	4,86	6,61	
<b>a<sub>13</sub></b>			1,08	2,79				1,43
<b>a<sub>23</sub></b>					2,40			-7,55
<b>a<sub>11</sub></b>	8,27	18,53	13,69	11,39	1,19	10,75	7,29	7,38
<b>a<sub>22</sub></b>	-13,47	1,44				1,80	-8,83	
<b>a<sub>33</sub></b>	-6,22		5,21		-2,13	6,81	1,83	1,43
<b>R<sup>2</sup></b>	0,985	0,999	0,999	0,989	0,983	0,995	0,994	0,993

**Tabla 5.89.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Contenido en Carotenoides. Campaña 2008-09

IM	Riego					Secano		
	A ( 0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E ( 3,5)	G (4,1)
<b>a<sub>0</sub></b>	47,58	30,86	25,39	19,97	16,34	31,78	23,25	18,02
<b>a<sub>1</sub></b>	15,90	18,28	14,51	8,80	5,29	9,32	9,05	5,75
<b>a<sub>2</sub></b>	5,61	6,02	4,05	2,11	1,85	3,80	2,85	0,23
<b>a<sub>3</sub></b>	-0,26	-0,25		0,16	-0,62	1,09	-0,04	2,71
<b>a<sub>12</sub></b>	3,57	4,81	4,25	2,93		2,60	1,53	-0,99
<b>a<sub>13</sub></b>						1,10	-0,65	0,65
<b>a<sub>23</sub></b>				-0,96	0,97			-3,72
<b>a<sub>11</sub></b>	2,05	6,12	5,40	3,44			2,01	2,13
<b>a<sub>22</sub></b>	-2,10				-0,99		-3,70	-0,57
<b>a<sub>33</sub></b>	-2,65	1,88				2,43	0,75	0,20
<b>R<sup>2</sup></b>	0,995	0,994	0,992	0,986	0,981	0,979	0,992	0,997

**Tabla 5.90.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Contenido en Clorofilas. Campaña 2009-10

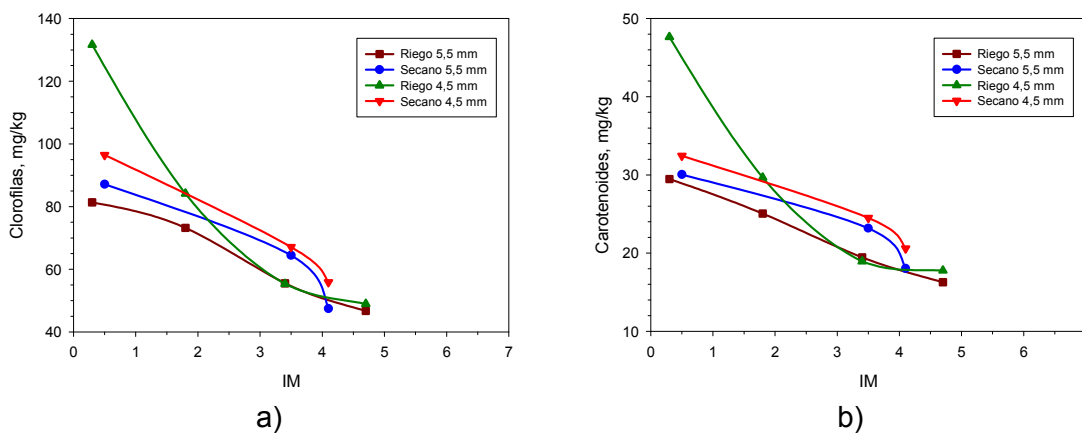
IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
<b>a<sub>0</sub></b>	58,95	37,38	40,50	31,74	47,94	42,57	47,66	34,73
<b>a<sub>1</sub></b>	25,42	15,01	11,88	3,10	24,47	14,77	12,93	6,97
<b>a<sub>2</sub></b>	11,93	9,62	2,15	-0,36	13,48	7,55	3,36	0,81
<b>a<sub>3</sub></b>	1,51	0,09	1,98	-0,70	1,65		-0,79	-0,80
<b>a<sub>12</sub></b>	11,16	10,82	3,03	1,38	14,16	8,10	4,95	1,73
<b>a<sub>13</sub></b>		1,84	2,43	2,28	1,79		1,95	
<b>a<sub>23</sub></b>				-1,00			1,90	
<b>a<sub>11</sub></b>	4,36	7,54	4,81		11,83	7,82	1,46	2,22
<b>a<sub>22</sub></b>		4,45		1,42	3,23	4,83		
<b>a<sub>33</sub></b>	-2,84			0,64				
<b>R<sup>2</sup></b>	0,987	0,991	0,962	0,977	0,994	0,992	0,983	0,968

**Tabla 5.91.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Contenido en Carotenoides. Campaña 2009-10

IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
<b>a<sub>0</sub></b>	18,21	11,70	14,09	10,90	16,10	15,02	17,65	12,88
<b>a<sub>1</sub></b>	7,18	4,59	4,10	1,07	7,54	4,52	5,46	2,82
<b>a<sub>2</sub></b>	1,74	1,03	1,05	0,74	4,07	1,53	1,34	0,32
<b>a<sub>3</sub></b>	0,47	0,40	0,54	0,03	0,41			-0,28
<b>a<sub>12</sub></b>	1,51	2,66	1,02	0,22	4,19	2,32	1,10	0,72
<b>a<sub>13</sub></b>		-1,08	0,47		0,51			
<b>a<sub>23</sub></b>	-0,53	1,21						
<b>a<sub>11</sub></b>	1,01	2,23	0,81	-0,19	3,39	3,03	-1,25	0,73
<b>a<sub>22</sub></b>	-1,12		1,21	0,71	0,60			
<b>a<sub>33</sub></b>	-0,93		-0,41	0,24				
<b>R<sup>2</sup></b>	0,993	0,992	0,998	0,971	0,996	0,934	0,974	0,981

En la Figura 5.35 se ha representado el contenido en clorofilas y en carotenoides, frente al índice de madurez, para los aceites obtenidos en las condiciones de operación correspondientes a los puntos centrales, en la campaña

2008-09 (Tablas 5.18 a 5.33). En ellas se observa que la variación de ambos pigmentos con el índice de madurez se ajusta a curvas similares, salvando la diferencia de escalas empleada en cada una. Así se deduce que el descenso de las clorofilas es mucho más pronunciado que el de carotenoides, por lo que la relación entre ellos (clorofilas/carotenoides) disminuirá con la maduración y consecuentemente la coloración de los aceites.



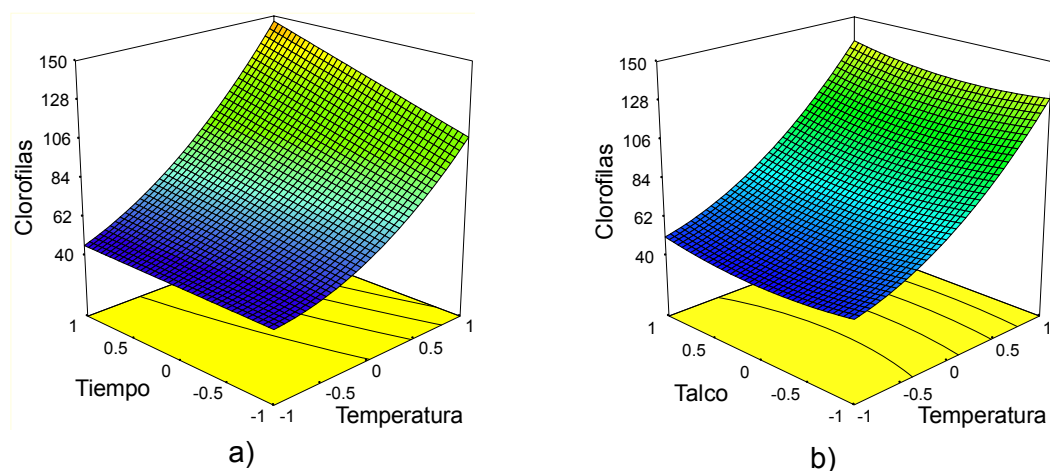
**Figura 5.35.** Contenido en clorofilas y en carotenoides, para los puntos centrales del diseño experimental. Campaña 2008-09

En la Figura 5.35 se distingue que los aceites de secano siempre muestran mayor contenido en pigmentos que los de regadío, seguramente debido al mayor contenido en humedad de estas últimas aceitunas. Por otra parte, en las figuras se observa que, en todos los casos, la disminución del tamaño de criba permite obtener aceites más coloreados, sobre todo con aceitunas más tempranas, aunque las diferencias debidas a la criba nunca son tan importantes como para poder igualar, en color, un aceite de regadío con uno de secano. La disminución del tamaño de la criba solo incrementa ligeramente el contenido en clorofilas y en carotenoides de los aceites, mientras los de secano siempre son bastante más coloreados que los de regadío.

Considerando la baja influencia mostrada por el tamaño de la criba utilizada, para la molturación de las aceitunas, y observando los coeficientes independientes de los modelos de las Tablas 5.88 a 5.91 se deduce que los aceites de la campaña 2008-09 contienen más pigmentos que los de la campaña 2009-10, por lo que las diferentes condiciones medioambientales habidas en los dos años son determinantes para el contenido en pigmentos de los aceites. Si se considera que, desde el punto de vista hidrológico, la 2ª campaña fue mejor que la primera ya que llovió lo necesario en los momentos oportunos, de forma que el olivo no sufrió estrés hídrico mientras en la

primera sí lo sufrió, se puede afirmar que las temporadas donde la aceituna se desarrolla de forma normal y la lipogénesis es adecuada se obtienen aceites con menor contenido en pigmentos fotosintéticos. También puede ser debido, en relación con lo comentado anteriormente, a que en la campaña 2008-09 la cosecha de aceituna fue menor y, sobre todo, que la riqueza grasa de las aceitunas era inferior.

En las Tablas 5.88 a 5.91 para los niveles principales de los modelos se deduce que, tanto para el contenido en clorofilas como en carotenoides, todos los factores estudiados ejercen una influencia positiva sobre la respuesta, aunque la temperatura de batido de las pastas es el factor más importante seguido del tiempo y, sin casi influencia, la dosis de talco utilizada. En casi todos los casos las interacciones entre factores son positivas, pero con valores muy bajos comparados con los niveles principales por lo que la modificación que ejercen sobre la respuesta no es muy alta aunque sí torsionan ligeramente la superficie. Respecto de los términos cuadráticos, mayoritariamente son positivos, aunque no muy altos comparados con los niveles inferiores, por lo que incrementarán ligeramente la respuesta en los extremos de los factores estudiados. A modo de ejemplo se muestra la superficie de respuesta del modelo de clorofilas obtenido para los aceites de la muestra de aceituna D de la campaña 2008-09, Figura 5.36.



**Figura 5.36.** Superficie de respuesta del contenido en clorofilas.  
Campaña 2008-09, muestra D

En la Figura 5.36 se aprecia la gran influencia que tiene la temperatura sobre el contenido en clorofilas y las casi nulas del tiempo de batido y del talco. En el caso del tiempo, aunque el coeficiente del nivel principal es positivo su interacción con la temperatura es tan fuerte que a valores bajos de temperatura parece no influir mientras que a valores altos parece tener una gran influencia. Por otra parte, para el talco el nivel principal y el de interacción con la temperatura son muy similares y

pequeños por lo que apenas se aprecia la acción de alguno de ellos, en cambio, el coeficiente del término cuadrático tiene un valor superior al de ambos por lo que sí se puede apreciar la curvatura en los extremos del factor y un mínimo cerca del centro.

### 5.2.2.6. Contenido en Polifenoles Totales

Los polifenoles, junto con los tocoferoles, son los antioxidantes típicos en los aceites, por lo que los aceites con alto contenido en polifenoles son más estables. Están relacionados con los atributos positivos amargo y picante. Son muy solubles en agua. El contenido en polifenoles se incrementa en los aceites con la maduración, hasta un máximo que suele estar cerca del envero, o cambio de color, para después disminuir. Dependiendo de la variedad de aceituna, y de factores agronómicos y de producción, el cambio de coloración puede producirse en fechas diferentes y en estados de maduración diferentes por lo que algunos autores indican que el máximo de polifenoles se corresponde con el contenido máximo de aceite en el fruto (Jiménez y Carpio, 2008).

En las Tablas 5.92 y 5.93 se han incluido los coeficientes de los modelos cuadráticos obtenidos por ajuste del contenido en polifenoles totales de los aceites elaborados en las campañas 2008-09 y 2009-10.

**Tabla 5.92.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Contenido en Polifenoles Totales. Campaña 2008-09

IM	Riego					Secano		
	A (0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E (3,5)	G (4,1)
<b>a<sub>0</sub></b>	318,9	579,3	759,5	933,3	1012,6	566,4	1011,6	1003,3
<b>a<sub>1</sub></b>	92,5	78,1	195,6	221,7	194,5	229,6	219,4	190,8
<b>a<sub>2</sub></b>	-193,9	-147,7	-114,9	48,8	26,2	-78,9	-75,0	-7,2
<b>a<sub>3</sub></b>	16,5		10,4	-17,8	38,2	4,2	-38,8	-1,1
<b>a<sub>12</sub></b>	-39,2	-24,2	56,3	-59,8	32,2	83,0		
<b>a<sub>13</sub></b>				98,1			-56,7	55,2
<b>a<sub>23</sub></b>	-21,5		-42,8		-29,4	-21,0	-47,7	-42,5
<b>a<sub>11</sub></b>	111,4	45,0	42,4	32,9		141,8		213,8
<b>a<sub>22</sub></b>	99,2			63,4		124,0	-16,8	
<b>a<sub>33</sub></b>	162,6		15,5		-12,4		95,4	-24,8
<b>R<sup>2</sup></b>	0,994	0,975	0,991	0,983	0,988	0,989	0,988	0,978

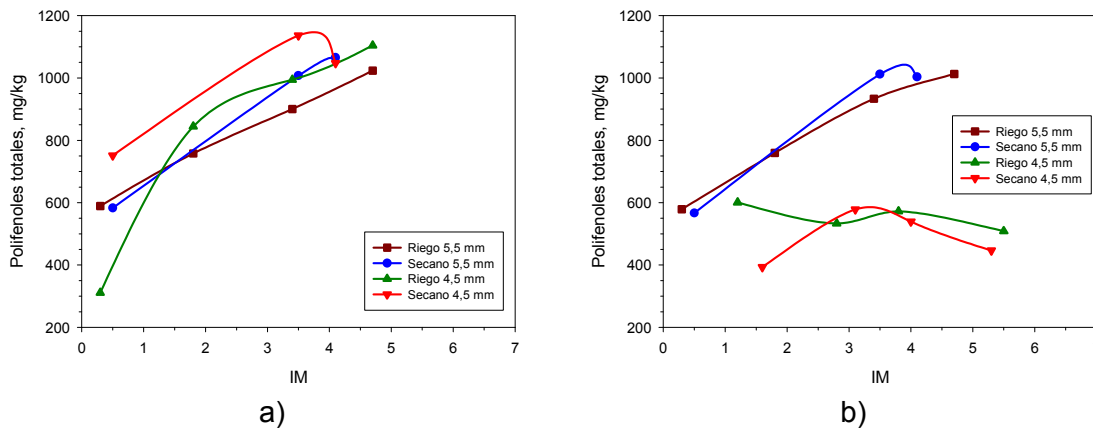
**Tabla 5.93.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Contenido en Polifenoles Totales. Campaña 2009-10

IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
<b>a<sub>0</sub></b>	601,0	533,3	572,1	508,6	393,1	578,6	539,3	446,6
<b>a<sub>1</sub></b>	103,8	82,5	100,9	36,1	79,5	119,9	79,4	148,8
<b>a<sub>2</sub></b>	-25,9	51,6	-22,5	-30,6	-38,0	-23,6	-38,3	-12,0
<b>a<sub>3</sub></b>	-2,4	67,3	-0,5	1,7		1,8	6,7	5,4
<b>a<sub>12</sub></b>		75,9	59,6			22,6		31,4
<b>a<sub>13</sub></b>	-10,4	29,7	8,9	5,8		12,9		19,1
<b>a<sub>23</sub></b>	8,4	-111,6				13,1	-14,5	22,4
<b>a<sub>11</sub></b>		24,9	36,3	-53,3	153,5	54,6	25,2	55,4
<b>a<sub>22</sub></b>	-35,6		-5,0	-29,3	94,0		29,0	13,0
<b>a<sub>33</sub></b>		-19,5		-10,1		-8,1	-8,7	
<b>R<sup>2</sup></b>	0,993	0,991	0,995	0,990	0,990	0,993	0,981	0,992

En la Figura 5.37.a se representa el contenido en polifenoles totales determinado para los puntos centrales (Tablas 5.18 a 5.33) de los experimentos realizados durante la campaña 2008-09. Como se ha indicado anteriormente, en esta campaña los puntos centrales se replicaron con las cribas de 4,5 y de 5,5 mm para las aceitunas de regadío y de secano. En ella se observa cómo, tanto para las aceitunas de riego como de secano, el contenido en polifenoles de los aceites es siempre superior si se emplea la criba pequeña (4,5 mm). Igualmente se aprecia que, para la aceituna de regadío, no se alcanza el máximo de polifenoles, aunque seguramente esté muy próximo a los valores de los últimos puntos, para ambas cribas; en cambio, la aceituna de secano sí parece mostrar un máximo entre 3,5 y 4 de índice de madurez.

Dado que se ha trabajado con aceituna con índices de madurez no muy elevados, difícilmente se puede apreciar el óptimo o máximo de contenido en polifenoles. En el presente caso se observa que el contenido en polifenoles de los aceites se incrementa con la maduración de la aceituna, pero es sabido (Civantos, 2009) que tras el envero, y progreso de la maduración, se produce el descenso progresivo de todos los componentes minoritarios del fruto y, consecuentemente, en los aceites obtenidos. Por ello, y de acuerdo con Jiménez y Carpio (2008), se puede asegurar que el contenido en polifenoles se incrementa con la maduración, para aceitunas verdes, y disminuye cuando las aceitunas han pasado el envero y están

completamente negras. Según la Figura 5.37.a, el máximo de polifenoles en los aceites oscila en el rango de 3,5 a 4,5.



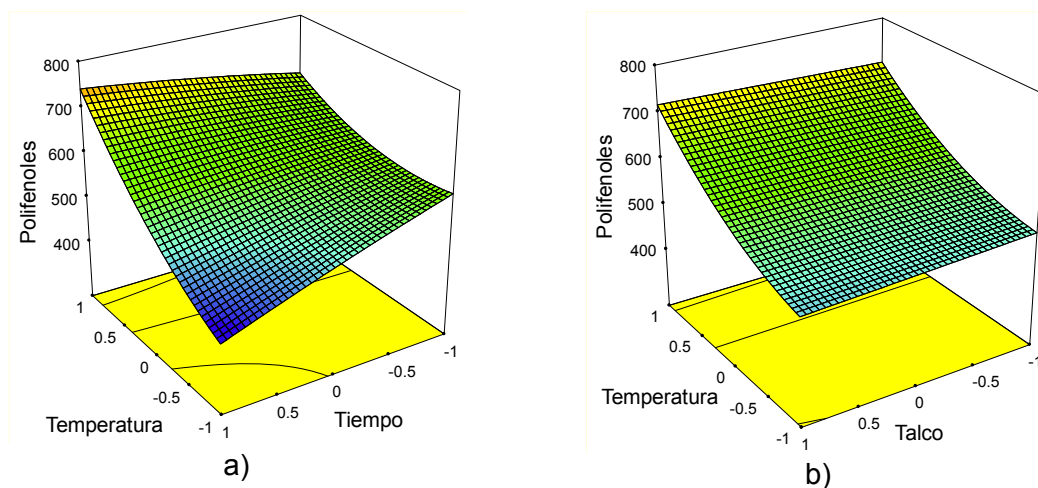
**Figura 5.37.** Contenido en polifenoles totales, para los puntos centrales de la campaña 2008-09 (a) y los coeficientes independientes de los modelos de ambas campañas (b)

De los términos independientes de los modelos tabulados en las Tablas 5.92 y 5.93, Figura 5.37.b, se deduce que los aceites de la campaña 2008-09 tienen un contenido en polifenoles mayor que los de la campaña 2009-10. Esto seguramente es debido a la menor lluvia habida durante el desarrollo del fruto de la primera campaña con la consiguiente menor cantidad de agua de vegetación, por lo que el equilibrio de concentración en polifenoles entre las fases oleosa y acuosa se encuentra desplazado hacia la primera. Se vuelve a poner de manifiesto la gran influencia que el año agronómico tiene sobre la composición de los aceites y sus características.

Por otra parte, en la Figura 5.37.b, si se considera aceituna de riego, el contenido en polifenoles de los aceites de la primera campaña se incrementa constantemente, mientras que los de la segunda parecen mantener un valor constante o ligeramente descendente, aunque si se elimina el experimento A de esta campaña se observa un máximo, para aceites cercanos al experimento E, con índice de madurez de 3,8 (curva verde). En cambio, para los aceites de secano, en ambas campañas de aceituna se obtienen máximos de contenido en polifenoles totales; así, para la primera campaña (curva azul) se correspondería con los alrededores del experimento E, e índice de madurez de aproximadamente 4,0. Para los aceites de la segunda campaña (curva roja) este máximo estaría cerca del experimento D, con índice de madurez sobre 3,3.

Respecto de la influencia de los factores de los modelos sobre la respuesta contenido en polifenoles totales en los aceites de ambas campañas estudiadas indicar que, como se observa en las Tablas 5.92 y 5.93, la temperatura es el factor que más influye positivamente sobre la respuesta, el tiempo también muestra una influencia

importante pero mayoritariamente negativa aunque en algunos casos la interacción modifica de forma importante al nivel principal del factor. Respecto de la dosis de coadyuvante, por los diferentes coeficientes tabulados y, básicamente por el del nivel principal, se deduce que la influencia es muy baja y alternando entre positiva y negativa por lo que podría decirse que la influencia es casi nula. Respecto de los términos cuadráticos, mayoritariamente son positivos para la temperatura y alternantes para el resto de factores. Por lo indicado, si se desea que el contenido en polifenoles totales de los aceites sea máximo se deberá trabajar a la temperatura más alta, tiempos bajos y el talco es indiferente, aunque, como en el ejemplo siguiente, debido a la interacción entre tiempo y temperatura a valores elevados de esta el tiempo actúa positivamente. A título de ejemplo se muestra, gráficamente, el modelo determinado para el experimento E de la campaña 2009-10, Figura 5.38.

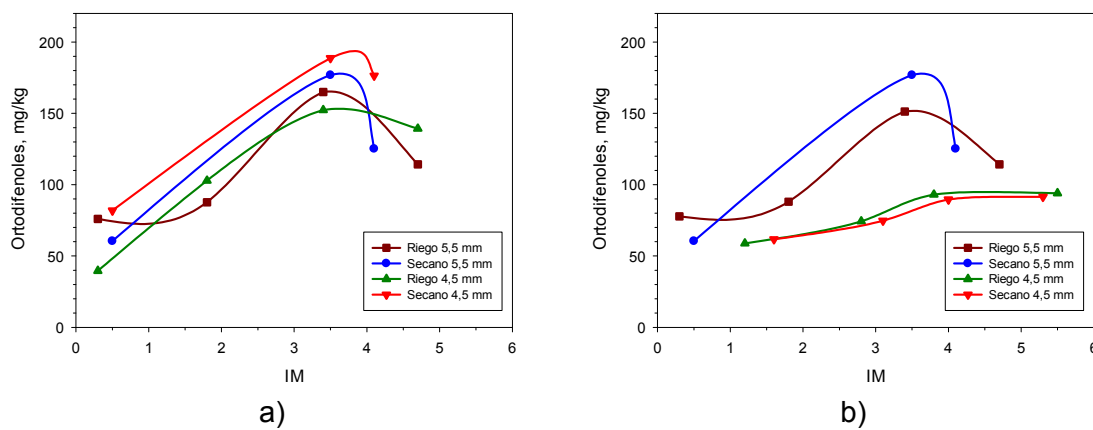


**Figura 5.38.** Superficie de respuesta del contenido en polifenoles totales. Campaña 2009-10, muestra E

Tal como se observa en la Figura 5.38, la temperatura de batido de las pastas es el factor que más incrementa la respuesta, el tiempo influye negativamente aunque presenta interacción positiva con la temperatura con coeficiente superior, en valor absoluto, al del nivel principal por lo que su influencia se hace positiva a temperaturas muy elevadas. Se observa la curvatura positiva con la temperatura, debido al término cuadrático, y la casi nula actividad del talco aunque muestra una muy pequeña interacción con la temperatura. En conclusión, los polifenoles totales se incrementan con la temperatura, disminuyen con el tiempo, aunque a veces la temperatura interactúa positivamente, y son indiferentes con la dosis de talco.

**5.2.2.7. Contenido en ortodifenoles**

En la figura 5.39.a se representa el contenido en ortodifenoles, determinado para los puntos centrales (Tablas 5.18 a 5.33) de los experimentos realizados durante la campaña 2008-09, que se repitieron para las cribas 5,5 y 4,5 mm, frente al índice de madurez. En ella se observa como el contenido en ortodifenoles es mayor para aceites obtenidos de aceitunas de secano y para la criba de 4,5 mm, existiendo un máximo alrededor del envero, índice de madurez de 3,5 a 4. Aunque la criba más pequeña mejora el contenido en ortodifenoles la diferencia existente entre regadío y secano es tan grande que las aceitunas de secano molturadas con la criba de 5,5 mm aún contienen más ortodifenoles que las de regadío molturadas con la de 4,5 mm.



**Figura 5.39.** Contenido en ortodifenoles, para los puntos centrales de la campaña 2008-09 (a) y los coeficientes independientes de los modelos de ambas campañas (b)

En las Tablas 5.94 y 5.95 se recogen los coeficientes de los modelos cuadráticos obtenidos por ajuste del contenido en ortodifenoles para las muestras de aceites elaborados en las campañas 2008-09 y 2009-10, respectivamente. Al representar los términos independientes de los modelos, frente al índice de madurez para las dos campañas, se obtiene la Figura 5.39.b, de la que se deduce que los aceites de la campaña 2008-09 tienen un contenido en ortodifenoles mayor que los de la campaña 2009-10. Esta afirmación ya se cumplía para la respuesta polifenoles totales. De nuevo se pone de manifiesto la importancia de los factores agronómicos sobre la composición del aceite de oliva y la influencia de la campaña.

En la Figura 5.39.b también se aprecia que los aceites de la campaña 2008-09 presentan un máximo alrededor del envero, mientras en los de la campaña 2009-10 el contenido en ortodifenoles es ascendente hasta el envero y pasado este su concentración se mantiene constante. En esta última campaña no se observan diferencias, en el contenido en ortodifenoles, entre los aceites de secano y de regadío.

**Tabla 5.94.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Ortodifenoles  
Campaña 2008-09

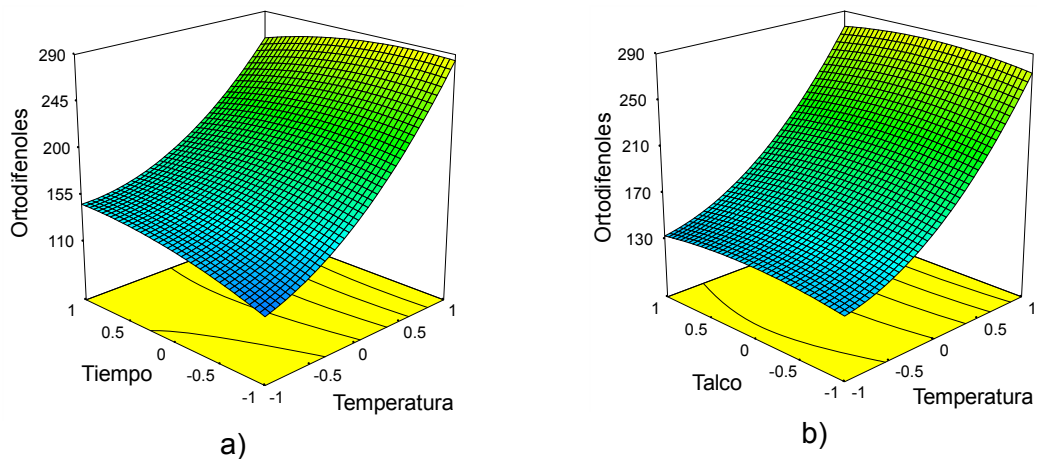
IM	Riego					Secano		
	A (0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E (3,5)	G (4,1)
<b>a<sub>0</sub></b>	41,8	77,8	88,0	151,2	114,3	58,2	182,2	122,9
<b>a<sub>1</sub></b>	14,7	18,4	49,4	41,0	47,6	95,6	71,6	60,6
<b>a<sub>2</sub></b>	-25,9	-37,3	-27,0	-10,7	-16,5	-37,0	3,0	-22,6
<b>a<sub>3</sub></b>	-1,7	0,6	3,4	12,3	7,4	8,7	0,9	-0,3
<b>a<sub>12</sub></b>	-7,8	-11,1		11,2		-16,2	-13,9	-5,5
<b>a<sub>13</sub></b>	-15,9	3,8	5,5	20,8				
<b>a<sub>23</sub></b>	14,8		-7,8			-14,5	-24,0	
<b>a<sub>11</sub></b>	12,2	-6,8	15,2	13,1	32,5	57,9	28,3	31,5
<b>a<sub>22</sub></b>	13,0		2,8		-28,3	14,4	-8,5	
<b>a<sub>33</sub></b>		-7,4				4,2	-7,0	21,6
<b>R<sup>2</sup></b>	0,968	0,987	0,995	0,966	0,986	0,998	0,992	0,995

**Tabla 5.95.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Ortodifenoles  
Campaña 2009-10

IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
<b>a<sub>0</sub></b>	58,81	74,32	93,04	94,00	61,70	74,73	89,57	91,44
<b>a<sub>1</sub></b>	17,94	26,48	37,14	23,11	33,35	25,67	35,95	30,60
<b>a<sub>2</sub></b>	-6,56	-15,62	-8,66	-5,64	-4,23	-11,91	-0,97	-4,76
<b>a<sub>3</sub></b>	-0,16	-6,68	-1,45		-0,37	-6,93		-2,29
<b>a<sub>12</sub></b>		36,15	14,09	4,04	12,54	19,01	9,83	6,75
<b>a<sub>13</sub></b>		27,10	9,97			17,26		
<b>a<sub>23</sub></b>		-27,82	-6,62		-2,61	16,29		
<b>a<sub>11</sub></b>	13,25	5,75	19,94	-7,21	19,88	34,49	16,17	13,45
<b>a<sub>22</sub></b>	-8,90	-2,00	-6,64	-7,18	-2,11	6,40		-2,26
<b>a<sub>33</sub></b>	-1,75	-3,20	-3,85					-6,17
<b>R<sup>2</sup></b>	0,996	0,996	0,996	0,977	0,993	0,983	0,981	0,993

A partir de la Tablas 5.94 y 5.95, se deduce que es de nuevo la temperatura, el factor que más positivamente influye sobre la respuesta. El tiempo también muestra una influencia importante, aunque negativa, prácticamente en todas las muestras. En cuanto a la dosis de coadyuvante se puede afirmar que su influencia es muy baja, casi insignificante, mayoritariamente positiva en la campaña 2008-09 y negativa en la 2009-10. Hay que reseñar la interacción entre factores que en algunos casos es tan alta que puede llegar a cambiar el sentido del nivel principal. Respecto a los términos cuadráticos, mayoritariamente son positivos para la temperatura y alternantes, pero poco significativos, para el resto de factores.

Aunque los modelos, considerando individualmente cada término, parecen diferentes al representar las superficies se observa que, con ligeras diferencias, son todos similares. Por lo que, a modo de ejemplo, en la Figura 5.40 se muestra el modelo obtenido para el experimento E de la campaña 2008-09. En la Figura 5.40.a se observa que la temperatura de batido de las pastas es el factor más influyente sobre la respuesta, el nivel principal del tiempo presenta una muy baja influencia positiva que es modificada por la interacción negativa que tiene con la temperatura, de tal forma que a temperaturas bajas su influencia se incrementa y a las altas disminuye, aunque es poco significativo. En cuanto al término cuadrático, se observa una ligera curvatura positiva para la temperatura y negativa con el tiempo de batido. Por otra parte, en la Figura 5.40.b se observa la interacción negativa con la temperatura que hace que el talco presente influencia positiva a temperaturas bajas y negativa a las altas, pero poco significativa.

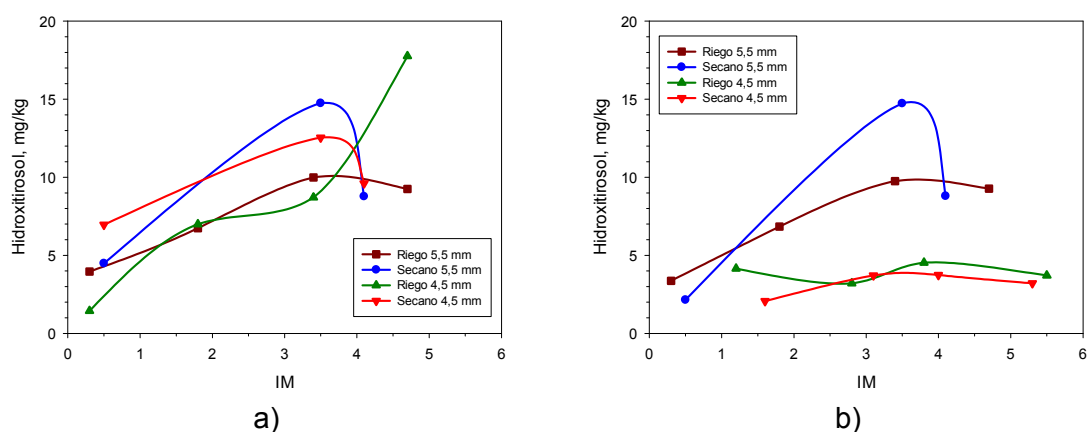


**Figura 5.40.** Superficie de respuesta del contenido en ortodifenoles.  
Campaña 2008-09, muestra E

### 5.2.2.8. Contenido en Hidroxitirosol

El hidroxitirosol es conocido por su elevada capacidad antioxidante y por neutralizar los radicales libres. Presenta actividad bactericida y como anticoagulante, por lo que impide la formación de trombos sanguíneos, es antioxidante del colesterol bueno (lipoproteína LDL), inhibidor de las lipooxigenasas (implicadas en el proceso inflamatorio) y es capaz de inducir apoptosis en células cancerígenas (González, 2005).

Al representar las medias de los puntos centrales de todos los experimentos de la campaña 2008-09 obtenidos con las cribas de 5,5 y 4,5 mm, Tablas 5.18 a 5.33, frente al índice de madurez se ha obtenido la Figura 5.41.a. En ella se puede apreciar que, salvo la aceituna de riego molturada con la criba de 4,5 mm que muestra resultados anómalos, el resto de muestras presentan un máximo de Hidroxitirosol alrededor del envero, las aceitunas de secano presentan mayor contenido en este compuesto y parece ser que la criba no influye de forma apreciable.



**Figura 5.41.** Contenido en Hidroxitirosol, para los puntos centrales de la campaña 2008-09 (a) y los coeficientes independientes de los modelos de ambas campañas (b)

En las Tablas 5.96 y 5.97 se recogen los coeficientes de los modelos, para factores codificados, obtenidos para las campañas 2008-09 y 2009-10. La Figura 5.41.b representa los valores de los términos independientes de los modelos frente al índice de madurez, para las campañas 2008-09 y 2009-10. De ella se deduce, como en las respuestas anteriores, que los aceites de la campaña 2008-09 tienen un contenido en Hidroxitirosol mayor que los de la campaña 2009-10. En ambas campañas los aceites parecen pasar por un máximo, aunque en la primera campaña está más acentuado que en la segunda, alrededor del envero. En la campaña 2009-10 el contenido en Hidroxitirosol varía poco con la maduración y no se observa variación entre riego y secano.

**Tabla 5.96.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Hidroxitirosol  
Campaña 2008-09

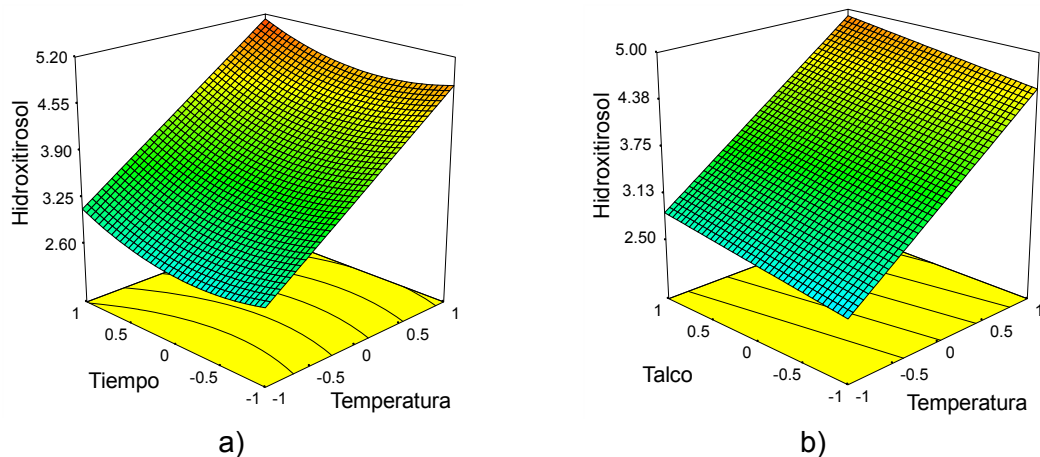
IM	Riego					Secano		
	A (0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E (3,5)	G (4,1)
<b>a<sub>0</sub></b>	1,43	3,37	6,84	9,73	9,28	2,15	14,73	8,80
<b>a<sub>1</sub></b>	0,41	0,11	1,59	-0,33	-1,28	3,95	-0,87	-0,27
<b>a<sub>2</sub></b>	-2,41	-2,90	-2,22	-2,38	-6,70	-0,98	-3,93	-0,98
<b>a<sub>3</sub></b>	0,77	-2,29	-0,02	0,43	5,56	0,09	-0,75	-0,02
<b>a<sub>12</sub></b>	0,95		0,84	0,75	-2,69	-0,46	0,88	0,89
<b>a<sub>13</sub></b>		-0,44		-0,89	1,95			
<b>a<sub>23</sub></b>	-0,64		-0,25		-6,58	-0,26		-0,46
<b>a<sub>11</sub></b>	0,83	0,81			1,18	3,81	1,40	0,77
<b>a<sub>22</sub></b>	1,23	0,68		0,41	4,71		0,94	1,22
<b>a<sub>33</sub></b>	1,19		-0,26		2,63		-2,04	-0,46
<b>R<sup>2</sup></b>	0,994	0,952	0,993	0,975	0,988	0,995	0,954	0,976

**Tabla 5.97.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Hidroxitirosol  
Campaña 2009-10

IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
<b>a<sub>0</sub></b>	4,15	3,21	4,53	3,71	2,07	3,71	3,73	3,21
<b>a<sub>1</sub></b>	1,17	0,61	0,48	1,17	0,36	1,01	-0,45	1,24
<b>a<sub>2</sub></b>	0,07	-0,02	0,97	-1,10	0,04	0,15	-0,30	0,45
<b>a<sub>3</sub></b>	-0,13	0,18	0,41	1,12		0,19	-0,49	0,44
<b>a<sub>12</sub></b>	0,30	0,55		1,12	0,43		1,01	
<b>a<sub>13</sub></b>		-0,35	-0,32	-0,92			0,72	-0,38
<b>a<sub>23</sub></b>		0,29	0,35	0,62				-0,39
<b>a<sub>11</sub></b>		0,64	1,19		1,26		1,57	0,25
<b>a<sub>22</sub></b>	-0,43	0,21	0,36	-0,61		0,25		-0,37
<b>a<sub>33</sub></b>		-0,18		0,75			0,29	0,33
<b>R<sup>2</sup></b>	0,982	0,937	0,965	0,985	0,971	0,927	0,941	0,935

De las Tablas 5.96 y 5.97 se deduce que la temperatura es un factor con influencia dispar y poco significativa en los aceites de la primera campaña y ejerce una influencia positiva importante en los de la segunda. Mientras, el tiempo de batido no tiene una influencia significativa en estos últimos aceites y sí ejerce influencia negativa importante en los aceites de la campaña 2008-09. Por otra parte, el talco no parece presentar una influencia, en ninguno de los sentidos, significativa. Estas diferencias de actuación de los factores seguramente sean debidas a las distintas condiciones hidrológicas habidas en cada campaña. A pesar de las diferencias, la variación de la respuesta, que introducen los modelos, no es significativa y, con ligeras diferencias, todos son muy similares.

En la Figura 5.42 se ha representado, a modo de ejemplo, el modelo obtenido para las muestras de aceites correspondientes al experimento D de la campaña 2009-10. La Figura 5.42.a se corresponde a la representación del Hidroxitirosol frente a la temperatura y tiempo de batido, para el valor central de la dosis de talco y, en la Figura 5.42.b se ha representado frente a la temperatura de batido y dosis de coadyuvante, para el valor central de tiempo de batido. En ellas se puede observar que la temperatura es el factor que más influye sobre el contenido de Hidroxitirosol en los aceites y como los otros dos factores no tienen una influencia apreciable. Destacando la ligera curvatura positiva para el tiempo, debido al valor pequeño del término cuadrático.



**Figura 5.42.** Superficie de respuesta del contenido en Hidroxitirosol.  
Campaña 2009-10, muestra D

### 5.2.2.9. Contenido en Tirosol

El Tirosol es uno de los principales fenoles presentes en el aceite de oliva virgen extra. Entre sus propiedades más importantes incrementa la longevidad de los seres vivos y aumenta la resistencia al estrés térmico (Cañuelo *et al.*, 2011).

En las Tablas 5.98 y 5.99 se han tabulado los coeficientes de los modelos obtenidos tras ajustar los resultados experimentales de Tirosol (respuesta) frente a los factores codificados.

**Tabla 5.98.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Tirosol  
Campaña 2008-09

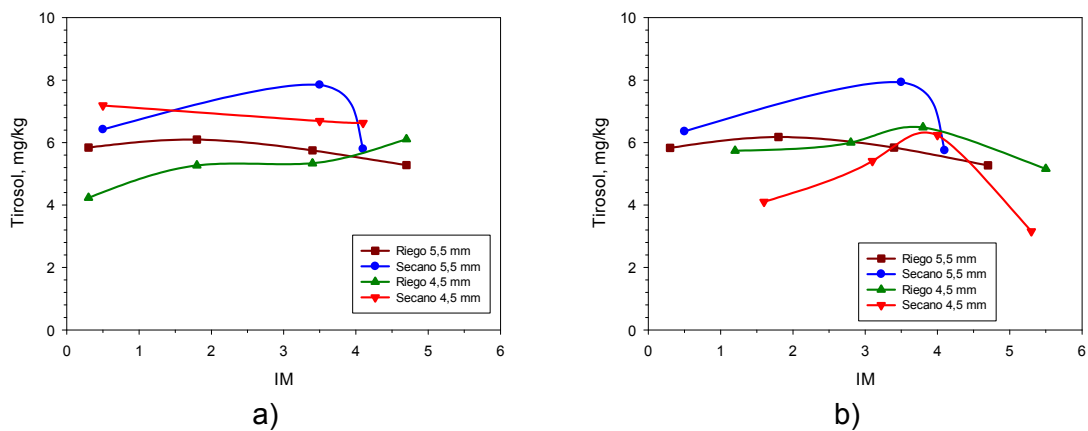
IM	Riego					Secano		
	A (0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E (3,5)	G (4,1)
<b>a<sub>0</sub></b>	4,48	5,83	6,18	5,84	5,27	6,36	7,93	5,75
<b>a<sub>1</sub></b>	0,61	-0,16	0,66	-0,31	-0,78	32,19	-0,85	-0,35
<b>a<sub>2</sub></b>	-0,96	1,46	-0,62	-0,44	-2,89	-4,25	-0,93	0,08
<b>a<sub>3</sub></b>			-0,07	0,10	3,40	0,39	-0,35	-0,24
<b>a<sub>12</sub></b>	0,43		0,74	0,60	-1,14	-5,90	0,89	0,60
<b>a<sub>13</sub></b>			0,29	-0,60	1,06			
<b>a<sub>23</sub></b>			-0,31		-3,26	-2,85		-0,24
<b>a<sub>11</sub></b>	2,07		0,46	0,81	0,59	32,09	1,17	0,78
<b>a<sub>22</sub></b>				0,24	2,13		0,57	0,84
<b>a<sub>33</sub></b>			-0,20		1,83			
<b>R<sup>2</sup></b>	0,946	0,890	0,941	0,943	0,998	0,987	0,920	0,962

Mediante el estudio de los valores experimentales del contenido en Tirosol correspondientes a los puntos centrales, campaña 2008-09, obtenidos con las cribas de 4,5 y de 5,5 mm, Tablas 5.18 a 5.33, y presentados en la Figura 5.43 se deduce que los aceites de secano presentan mayor contenido en Tirosol que los de regadío y que el uso de la criba pequeña incrementa el contenido de este compuesto en los aceites.

En la Figura 5.43.b, de los términos independientes de los modelos para las campañas 2008-09 y 2009-10, se observa que todos los aceites presentan un máximo de Tirosol para índices de madurez de 3,5 a 4. En esta figura, para los aceites de la segunda campaña, se observa que los de secano contienen menos Tirosol que los de regadío, al contrario que en la campaña 2008-09.

**Tabla 5.99.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Tirosol  
Campaña 2009-10

IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
$a_0$	5,74	6,00	6,49	5,16	4,10	5,41	6,24	3,16
$a_1$	0,56	0,54	0,48	0,57	0,92	1,09	0,06	-0,57
$a_2$	0,73	0,46	0,32	-0,05	0,27	0,89	0,79	0,07
$a_3$	-0,21	0,14	0,31	0,67	0,11		0,32	0,55
$a_{12}$	0,48	0,63	1,05	1,94	0,57	0,56	0,67	0,53
$a_{13}$		-0,52	-0,41	-2,07	-0,50			-0,51
$a_{23}$		0,50		1,67				-0,20
$a_{11}$		0,64			0,90			1,24
$a_{22}$	0,33	0,31				0,86	1,32	0,18
$a_{33}$	-0,29	-0,31						0,29
$R^2$	0,946	0,959	0,918	0,922	0,947	0,955	0,931	0,964

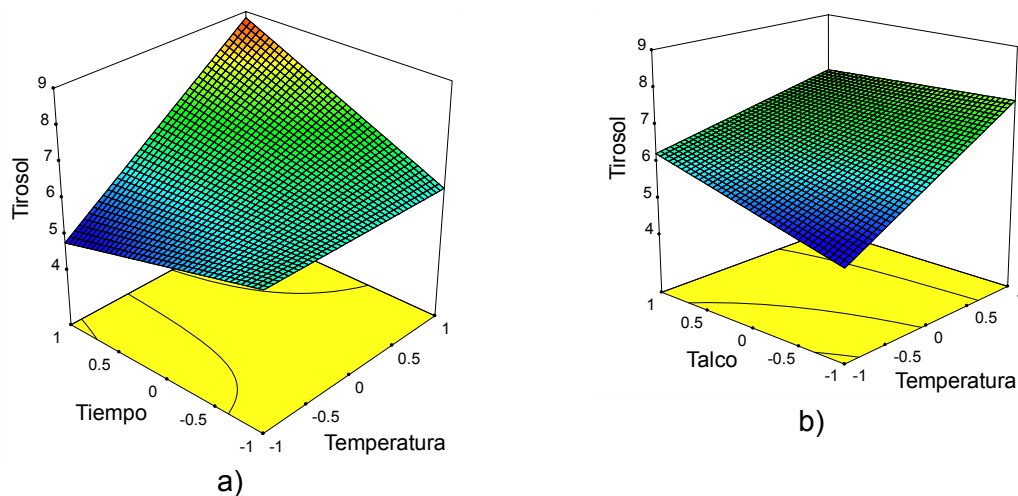
**Figura 5.43.** Contenido en Tirosol, para los puntos centrales de la campaña 2008-09 (a) y los coeficientes independientes de los modelos de ambas campañas (b)

De las Tablas 5.98 y 5.99 se deduce que la temperatura y el tiempo de batido influyen positivamente en los modelos de la segunda campaña y negativamente en los de la primera. La variación de actuación de los factores temperatura y tiempo entre las dos campañas seguramente sea debido a la diferente climatología que han sufrido las aceitunas, de tal forma que con sequía el contenido en tirosol de los aceites es mayor y disminuye con los factores, en cambio, en años normales no hay tanta variación con

la maduración y con la procedencia y los factores actúan positivamente, aunque la influencia que muestran no es muy significativa. El talco no parece influir significativamente en ninguna de las campañas.

En algunos modelos con interacciones entre los factores y términos cuadráticos, los coeficientes son mayores que los de los niveles inferiores por lo que pueden cambiar la forma de la superficie e invertir la acción de los niveles principales de los factores.

En la Figura 5.44 se muestra, a modo de ejemplo, las superficies de respuesta correspondientes a la muestra E de la campaña 2009-10. En la Figura 5.44.a, de representación del contenido en tirosol frente a la temperatura y tiempo de batido, para el valor central de la dosis de talco, se observa que a bajas temperaturas el tiempo influye negativamente sobre la respuesta y a altas muy positivamente, igual pasa para tiempos bajos y altos con la temperatura, esto es debido al bajo coeficiente de los niveles principales y el valor tan alto y positivo de la interacción. En la Figura 5.44.b, de representación frente al talco y la temperatura, se observa algo similar al caso anterior pero con las influencias contrarias, lo cual es debido al valor negativo de la interacción entre factores.



**Figura 5.44.** Superficie de respuesta del contenido en Tirosol.  
Campaña 2009-10, muestra E

### 5.2.2.10. Contenido en ácido Vanílico

En las Tablas 5.100 y 5.101, se muestran los coeficientes de los modelos determinados para el ácido vanílico en las campañas 2008-09 y 2009-10.

**Tabla 5.100.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Ácido Vanílico  
Campaña 2008-09

IM	Riego					Secano		
	A (0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E (3,5)	G (4,1)
<b>a<sub>0</sub></b>	0,63	1,49	1,55	1,13	0,73	1,33	1,28	0,91
<b>a<sub>1</sub></b>	0,10	-0,54	-0,55	-0,39	-0,24	-0,14	-0,33	-0,37
<b>a<sub>2</sub></b>	-0,07	-0,36	-0,17	-0,03	-0,08	-0,16	0,08	0,01
<b>a<sub>3</sub></b>	0,12	-0,04	-0,02	-0,06	0,02	0,001	-0,23	
<b>a<sub>12</sub></b>		0,12	0,09		0,07	0,06	0,05	
<b>a<sub>13</sub></b>	-0,18	0,20		-0,14	-0,04		0,02	
<b>a<sub>23</sub></b>			0,09		0,12	-0,05	-0,06	
<b>a<sub>11</sub></b>	0,57	0,53	0,59	0,28	0,09	0,20	0,14	0,18
<b>a<sub>22</sub></b>	0,14	0,11		0,18	0,06		0,03	0,11
<b>a<sub>33</sub></b>	0,16		-0,07	0,10		-0,07	0,02	
<b>R<sup>2</sup></b>	0,888	0,975	0,993	0,932	0,995	0,967	0,932	0,941

**Tabla 5.101.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Ácido Vanílico  
Campaña 2009-10

IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
<b>a<sub>0</sub></b>	2,60	1,57	1,69	0,76	1,69	1,52	1,53	0,52
<b>a<sub>1</sub></b>	-0,44	-0,37	-0,21	-0,33	-0,11	-0,32	-0,34	-0,22
<b>a<sub>2</sub></b>	0,07	-0,02	-0,10	0,04	-0,14		0,15	
<b>a<sub>3</sub></b>	-0,05	0,07	0,00		0,002	0,09	0,15	0,03
<b>a<sub>12</sub></b>	-0,12	-0,06	-0,07	-0,14				
<b>a<sub>13</sub></b>		-0,16	-0,23		-0,23	-0,06		
<b>a<sub>23</sub></b>		0,16	0,22		0,22		-0,06	
<b>a<sub>11</sub></b>	-0,21	0,08	-0,16	0,43				0,17
<b>a<sub>22</sub></b>	0,14	0,09			0,07			
<b>a<sub>33</sub></b>	-0,12	0,07				0,08	-0,11	
<b>R<sup>2</sup></b>	0,967	0,980	0,966	0,949	0,925	0,923	0,935	0,911

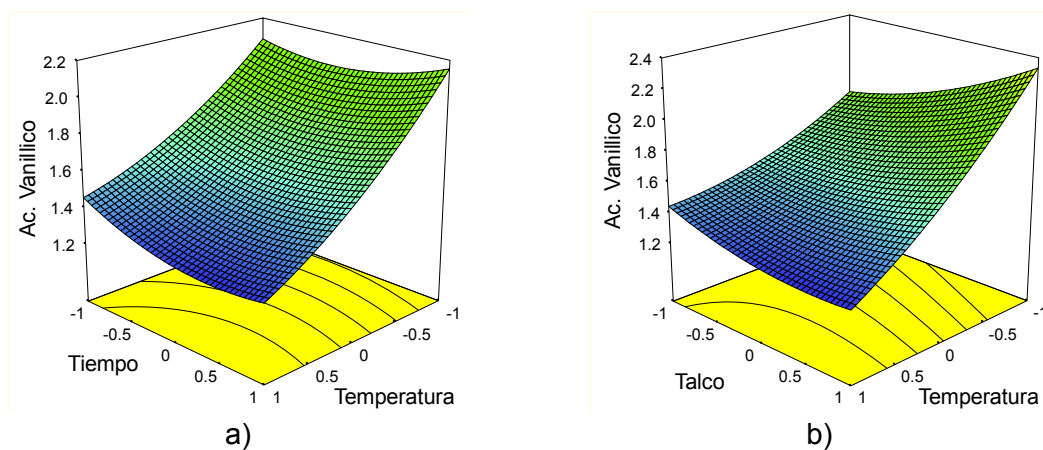
Al representar las medias de los puntos centrales, para las muestras de la campaña 2008-09, utilizando las cribas de 5,5 y 4,5 mm, frente al índice de madurez,

se determina que las muestras de aceite obtenidas con la criba de 5,5 mm presentan un mayor contenido en ácido vanílico, hasta un índice de madurez de 3, aproximadamente, que disminuyen de forma conjunta. Todas las curvas presentan un tramo horizontal hasta alrededor de IM 3,5, envero de los frutos, pasado el cual se produce el descenso rápido para todas las muestras de aceites estudiadas.

Examinando el término independiente de todos los modelos de ambas campañas se observa que salvo en las muestras de riego de la campaña 2009-10, en la que se ha utilizado para triturar los frutos una criba de 4,5 mm, el comportamiento del resto de las muestras para ambas campañas es similar, produciéndose una disminución del contenido en ácido vanílico con la maduración del fruto. Por otra parte el mayor contenido en ácido vanílico, es para las muestras de aceite que proceden de frutos de secano y en las que se ha utilizado una criba de 4,5 para la trituración del fruto, pertenecientes a la campaña 2009-10.

Respecto de los modelos tabulados en las Tablas 5.100 y 5.101 se deduce que la temperatura de batido de la pasta ejerce una influencia negativa importante sobre el contenido en ácido vanílico en los aceites. El tiempo de batido también ejerce influencia negativa sobre la respuesta aunque de forma menos significativa que la temperatura. La dosis de talco no parece ejercer una influencia significativa.

A modo de ejemplo, en la Figura 5.45 se representa el modelo obtenido para la muestra C de la campaña 2009-10, en ella se observa como el contenido en ácido vanílico, en los aceites, disminuye con la temperatura, para el tiempo de batido y la dosis de coadyuvante las interacciones marcan la forma final de la superficie.



**Figura 5.45.** Superficie de respuesta del contenido en ácido vanílico. Campaña 2009-10, muestra C

### 5.2.2.11. Contenido en Vanillina

A partir de los datos experimentales de los puntos centrales de todos los experimentos de la campaña 2008-09, Tablas 5.18 a 5.33, realizados con las cribas de 4,5 y de 5,5 mm, se determina que el utilizar la criba de 4,5 mm incrementa ligeramente el contenido en Vanillina, mientras que el utilizar aceituna de regadío o de seco no lo afecta. La variación con la maduración del fruto es insignificante.

En las Tablas 5.102 y 5.103, se muestran los coeficientes de los modelos obtenidos para la respuesta Vanillina en las campañas 2008-09 y 2009-10.

**Tabla 5.102.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Vanillina  
Campaña 2008-09

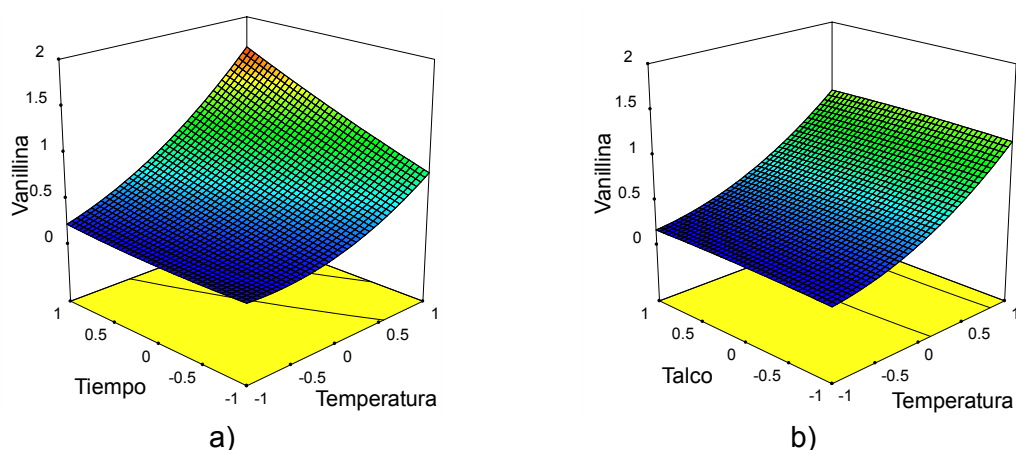
IM	Riego					Secano		
	A (0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E (3,5)	G (4,1)
<b>a<sub>0</sub></b>	0,56	0,42	0,30	0,30	0,34	0,33	0,29	0,30
<b>a<sub>1</sub></b>	0,29	0,26	1,19	0,23	0,28	0,29	0,27	0,30
<b>a<sub>2</sub></b>	0,08	0,09	0,09	0,11	0,07	0,11	0,13	0,13
<b>a<sub>3</sub></b>	0,00	0,04	0,01	0,02	0,04	0,01	0,01	0,03
<b>a<sub>12</sub></b>	0,08	0,09	0,09	0,11	0,06	0,10	0,12	0,11
<b>a<sub>13</sub></b>		0,04			0,04	0,02	0,04	
<b>a<sub>23</sub></b>	0,02		-0,02	0,02				
<b>a<sub>11</sub></b>	0,08	0,09	0,07	0,07	0,12	0,12	0,08	0,25
<b>a<sub>22</sub></b>			0,04	0,02	-0,02	0,04	0,05	-0,06
<b>a<sub>33</sub></b>								
<b>R<sup>2</sup></b>	0,984	0,981	0,990	0,996	0,992	0,996	0,988	0,993

Al examinar los términos independientes de todos los modelos de ambas campañas, se observa que prácticamente no hay diferencias significativas entre regadío y seco y entre las distintas campañas estudiadas. La acción del proceso es más importante que el contenido en Vanillina que tienen los aceites por considerar diferentes campañas, cribas, procedencias o maduración.

**Tabla 5.103.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Vanillina  
Campaña 2009-10

IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
$a_0$	0,44	0,42	0,43	0,32	0,32	0,32	0,49	0,33
$a_1$	0,50	0,30	0,37	0,39	0,27	0,23	0,51	0,39
$a_2$	0,06	0,13	0,20	0,09	0,10	0,11	0,22	0,18
$a_3$	0,03	0,00	0,04	0,00	0,02	0,02	0,01	0,02
$a_{12}$	0,15	0,12	0,17	0,10	0,09	0,12	0,21	0,18
$a_{13}$	0,14			-0,03	-0,08			0,03
$a_{23}$	-0,12							
$a_{11}$	0,19	0,12	0,15	0,25	0,05	0,08	0,19	0,16
$a_{22}$							0,03	0,05
$a_{33}$		-0,03					-0,02	
$R^2$	0,994	0,989	0,974	0,997	0,987	0,967	0,999	0,992

En las Tablas 5.102 y 5.103 se observa que todos los factores ejercen una influencia positiva sobre la respuesta, aunque la temperatura es el factor más importante seguido del tiempo de batido, la acción del talco es insignificante. A modo de ejemplo, en la Figura 5.46, se representa el modelo obtenido para la muestra F de la campaña 2009-10.



**Figura 5.46.** Superficie de respuesta del contenido en Vainillina.  
Campaña 2009-10, muestra F

En la Figura 5.46 se observa como el contenido en vainillina en los aceites se incrementa, de forma pronunciada, con la temperatura, el tiempo no presenta una acción significativa aunque sí una fuerte interacción con la temperatura. El talco no presenta influencia significativa y sí se debe considerar la gran curvatura de la respuesta con la temperatura.

### 5.2.2.12. Contenido en ácido p-Coumárico

Por observación de los valores tabulados en las Tablas 5.18 a 5.33 correspondientes a aceitunas molturadas con las cribas de 4,5 y de 5,5 mm en las condiciones de los puntos centrales del diseño se deduce que las aceitunas de riego son ligeramente más ricas en ácido p-Coumárico que las de secano y que la criba pequeña es mejor hasta valores de índice de madurez cercanos al envero donde todos los resultados caen y no se observan diferencias en ningún caso entre ellos.

En las Tablas 5.104 y 5.105 se recogen los coeficientes, de los factores codificados, de los modelos obtenidos para las campañas 2008-09 y 2009-10.

**Tabla 5.104.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Ácido p-Coumárico Campaña 2008-09

IM	Riego					Secano		
	A (0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E (3,5)	G (4,1)
$a_0$	0,80	1,45	1,60	1,34	0,84	0,95	1,13	1,02
$a_1$	0,37	-0,12	-0,21	-0,28	-0,22	-0,06	-0,19	.0,19
$a_2$	-0,33	-0,15	-0,33	-0,08	0,04	-0,23	0,05	0,02
$a_3$	0,014		0,04	0,01		0,03	-0,09	0,01
$a_{12}$	0,36	0,14			-0,04	0,12	0,09	-0,10
$a_{13}$	-0,41							0,10
$a_{23}$	0,27			-0,05	0,07		-0,08	-0,10
$a_{11}$	0,23	0,25	0,23	0,17	0,08	0,08	0,10	0,09
$a_{22}$	0,11	-0,25		0,12			0,19	0,14
$a_{33}$			-0,12	0,09				
$R^2$	0,961	0,822	0,936	0,956	0,983	0,965	0,957	0,969

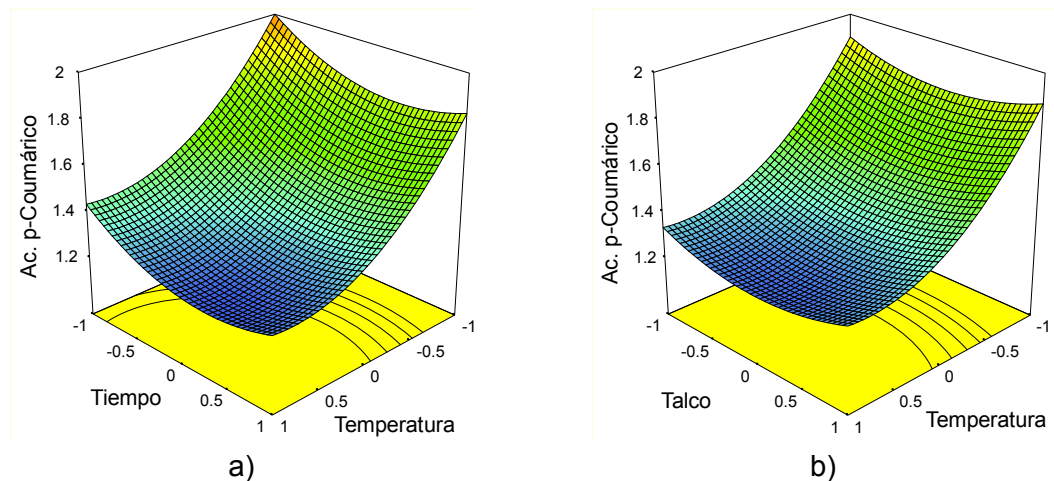
**Tabla 5.105.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Ácido p-Coumárico Campaña 2009-10

IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
<b>a<sub>0</sub></b>	1,10	1,47	1,06	0,61	1,57	1,32	1,18	0,43
<b>a<sub>1</sub></b>	-0,19	-0,21	-0,24	-0,08	-0,17	-0,22	-0,01	-0,10
<b>a<sub>2</sub></b>	-0,01	-0,03	0,08	-0,02	0,004	-0,13	-0,08	-0,007
<b>a<sub>3</sub></b>	-0,02	0,03	0,02	0,04	-0,04	0,09	0,09	-0,02
<b>a<sub>12</sub></b>		-0,10		0,14		0,14	0,13	0,04
<b>a<sub>13</sub></b>	0,04	-0,13		-0,19	-0,04	-0,10	-0,08	
<b>a<sub>23</sub></b>		0,12	0,04	0,20				
<b>a<sub>11</sub></b>	0,21	-0,08	0,25	0,07		0,14		0,11
<b>a<sub>22</sub></b>	-0,04		-0,06		-0,13		-0,05	
<b>a<sub>33</sub></b>							-0,05	0,04
<b>R<sup>2</sup></b>	0,919	0,976	0,973	0,912	0,931	0,940	0,923	0,918

Observando el término independiente de todos los modelos se deduce que prácticamente todos los aceites, por índice de madurez, son similares independientemente de que sean de regadío o de secano y de distintas campañas y que todos disminuyen por igual con la maduración de los frutos.

Respecto de los modelos de las Tablas 5.104 y 5.105 se deduce que la temperatura y el tiempo de batido tienen una influencia negativa sobre el contenido en ácido p-Coumárico en los aceites, más la temperatura que el tiempo. En cuanto a la influencia del talco, a lo largo de las dos campañas es mayoritariamente positiva pero muy poco significativa. Las interacciones entre factores en algunos casos pueden modificar la acción del nivel principal, los términos cuadráticos son poco significativos.

En la Figura 5.47 se representa, a modo de ejemplo, el modelo obtenido para la muestra F de la campaña 2008-09. En ella se observa como la temperatura y el tiempo de batido tienen diferente influencia negativa sobre el contenido en ácido p-coumarico, no muestran interacción y la curvatura positiva es importante. Con respecto del talco la figura es similar solo que la acción de este factor es poco significativa.

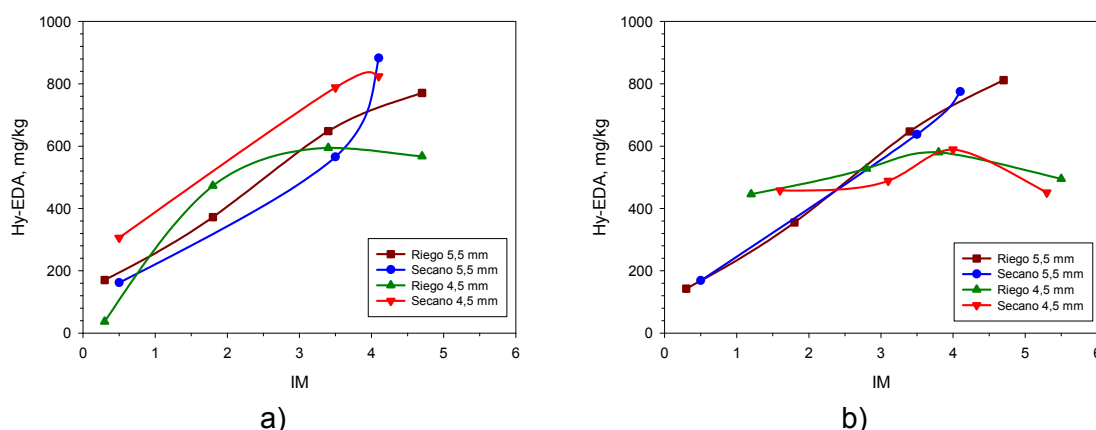


**Figura 5.47.** Superficie de respuesta del contenido en ácido p-Coumárico. Campaña 2008-09, muestra F

### 5.2.2.13. Contenido en Hy-EDA

La Figura 5.48.a muestra las medias de los puntos centrales, repetidos para las cribas de 5,5 y 4,5 mm, de la campaña 08-09. De ella se deduce que las muestras de aceite obtenidas de cultivos de secano y habiendo utilizado una criba de 4,5 mm en la molturación de las aceitunas, son las que tienen un mayor contenido en Hy-EDA. Para la criba de 5,5 mm los contenidos para riego y secano se invierten de tal forma que con esta criba los aceites de secano tienen menos Hy-EDA que los de regadío, lo cual da a entender que la procedencia de la aceituna no es significativa. Para todas las muestras y condiciones descritas en la Figura, se produce un aumento de Hy-EDA conforme aumenta la maduración del fruto, encontrándose máximos o tendencia entre valores de índice de madurez de 3 a 4. Por tanto, dentro del intervalo de índice de madurez estudiado, el tamaño de criba influye en el contenido de Hy-EDA en los aceites.

En relación a la influencia entre campañas, en la Figura 5.48.b se muestra una evolución distinta, con el índice de madurez, del contenido en Hy-EDA en los aceites, para ambas campañas. Es importante señalar que, en las curvas pertenecientes a la campaña 2009-10 se observa un máximo a índice de madurez próximo a 4, lo que se correspondería con el envero de los frutos; para los aceites de 2008-09 el incremento es continuo, aunque deberían marcar un máximo. Como se observa, no hay diferencias entre los aceites de riego y los de secano, para una misma campaña.



**Figura 5.48.** Contenido en Hy-EDA, para los puntos centrales de la campaña 2008-09 (a) y los coeficientes independientes de los modelos de ambas campañas (b)

En las Tablas 5.106 y 5.107 se muestran los modelos obtenidos para los aceites de las campañas 2008-09 y 2009-10. De ellas se deduce que la temperatura de batido es el factor más importante, con influencia positiva sobre el contenido de Hy-EDA. El tiempo de batido influye siempre de forma negativa y de manera menos significativa que la temperatura. La influencia del talco es variable y poco significativa.

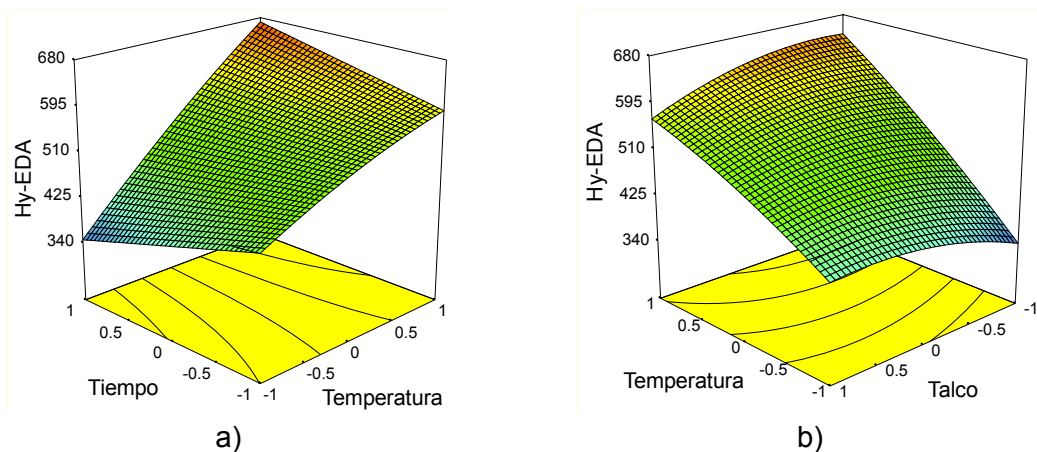
**Tabla 5.106.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Hy-EDA  
Campaña 2008-09

IM	Riego					Secano		
	A (0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E (3,5)	G (4,1)
<b>a<sub>0</sub></b>	5,83	142,6	354,8	647,2	811,9	168,4	637,8	774,8
<b>a<sub>1</sub></b>	7,06	176,3	303,6	238,1	249,5	288,2	243,4	331,0
<b>a<sub>2</sub></b>	-5,44	-136,6	-175,0	-36,1	-11,7	-150,2	-7,4	-9,0
<b>a<sub>3</sub></b>	0,45			-29,0	7,8	20,4		66,6
<b>a<sub>12</sub></b>	1,00	-39,3		21,8			73,2	-42,6
<b>a<sub>13</sub></b>								-32,8
<b>a<sub>23</sub></b>	-0,50				27,4	-25,4		-90,8
<b>a<sub>11</sub></b>	5,04	113,7	88,2	43,1		167,2	58,6	49,8
<b>a<sub>22</sub></b>	2,66	32,8	42,9			51,5		
<b>a<sub>33</sub></b>	2,71			38,7	-57,9	26,5		
<b>R<sup>2</sup></b>	0,998	0,978	0,976	0,984	0,986	0,986	0,924	0,980

**Tabla 5.107.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Hy-EDA  
Campaña 2009-10

IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
$a_0$	446,1	528,3	580,4	495,2	457,9	488,6	589,6	451,3
$a_1$	163,4	115,0	210,4	122,8	148,4	189,5	202,7	176,9
$a_2$	-38,5	-6,6	-8,3	-13,2	-55,9	-6,8	-46,0	-20,9
$a_3$	12,9	-3,0	9,2	-5,2	-15,7	17,0	-30,9	20,0
$a_{12}$	62,0	48,0				119,1		-15,8
$a_{13}$	-20,4	-34,3		-31,4	-16,6	79,9		
$a_{23}$	-23,4			-16,5	-28,6	-84,0		
$a_{11}$		-13,1		-114,1	25,7			
$a_{22}$			-17,4	-26,4			28,05	
$a_{33}$		-25,3	32,7		40,4			
$R^2$	0,984	0,978	0,977	0,968	0,982	0,966	0,959	0,969

A modo de ejemplo, en la Figura 5.49, se representa el modelo obtenido para la muestra C de la campaña 2009-10.



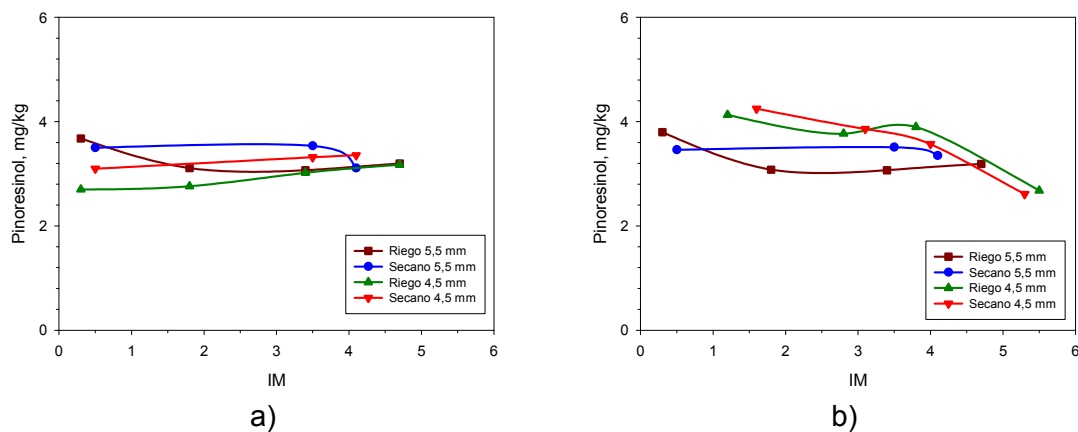
**Figura 5.49.** Superficie de respuesta del contenido en Hy-EDA.  
Campaña 2009-10, muestra C

En la Figura 5.49 se observa la influencia positiva y muy significativa de la temperatura de batido, así como su ligera curvatura negativa. El tiempo de batido y la

dosis de talco presentan muy poca actividad en sus niveles principales y sí una fuerte interacción con la temperatura, positiva para el tiempo y negativa con el talco, por lo que se torsiona la superficie para invertir la influencia en los niveles bajos y altos de temperatura. Es de destacar la curvatura negativa del talco.

### 5.2.2.14. Contenido en Pinoresinol

En la Figura 5.50 se han representado las medias de los puntos centrales de las muestras de la campaña 2008-09, repetidos para las cribas de 5,5 y 4,5 mm, y los términos independientes de los modelos tabulados en las Tablas 5.108 y 5.109, para las dos campañas de aceituna estudiadas.



**Figura 5.50.** Contenido en Pinoresinol, para los puntos centrales de la campaña 2008-09 (a) y los coeficientes independientes de los modelos de ambas campañas (b)

En la Figura 5.50.a se observa que el contenido en Pinoresinol de los aceites depende de su procedencia, secano o regadío, y de la criba con la que se molturen, 4,5 o 5,5 mm. Son más ricos los aceites de secano molturados con la criba grande. En los aceites de riego solo se observa variación debido a la criba con aceituna temprana, pasado el envero no hay diferencias. Por otra parte, no se observa una variación apreciable del contenido en Pinoresinol con la maduración de los frutos.

En la Figura 5.50.b, de los términos independientes de los modelos, se deduce que no hay diferencias entre regadío y secano para las muestras de la campaña 2009-10 y que estas presentan un mayor contenido en Pinoresinol, que las de la campaña 2008-09, disminuyendo con el índice de madurez. En cambio, en las muestra de la campaña 2008-09 sí es más rico en Pinoresinol el aceite de secano.

En las Tablas 5.108 y 5.109 se muestran los modelos de ajuste obtenidos para las dos campañas de aceituna estudiadas.

**Tabla 5.108.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Pinoresinol  
Campaña 2008-09

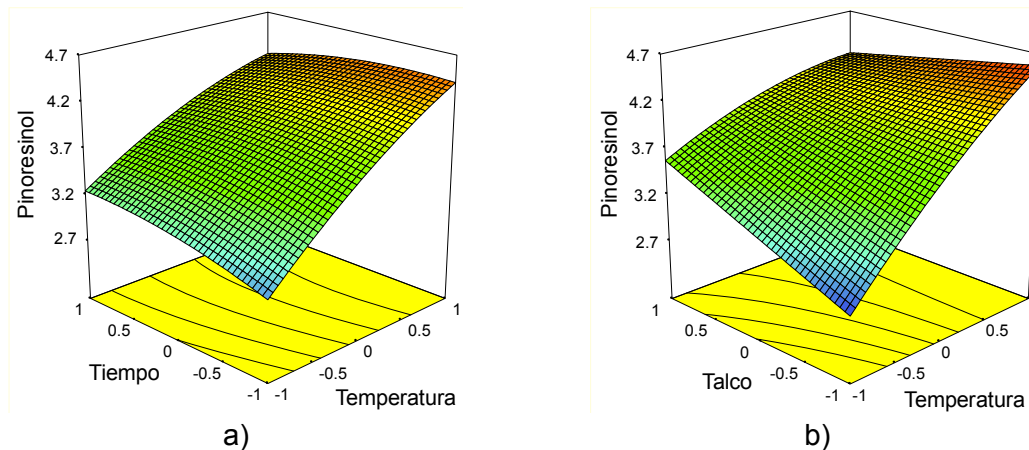
IM	Riego					Secano		
	A (0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E (3,5)	G (4,1)
$a_0$	3,00	3,80	3,08	3,07	3,19	3,46	3,51	3,35
$a_1$	0,90	0,51	0,59	0,61	0,79	1,07	0,52	0,84
$a_2$	0,09	-0,09	-0,08	0,19	0,15	-0,07	0,26	0,18
$a_3$	0,15		0,36	0,01	0,12	-0,06	-0,13	-0,25
$a_{12}$	0,20		0,39	0,14	0,28		0,24	0,29
$a_{13}$				-0,12				
$a_{23}$			0,29	0,14	0,20	-0,23		
$a_{11}$	0,63		0,14	0,41	0,16	0,39		
$a_{22}$				-0,06				-0,13
$a_{33}$	0,14		-0,18	0,04				0,24
$R^2$	0,950	0,894	0,959	0,998	0,962	0,928	0,926	0,932

**Tabla 5.109.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Pinoresinol  
Campaña 2009-10

IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
$a_0$	4,13	3,77	3,90	2,68	4,25	3,86	3,57	2,61
$a_1$	0,56	0,41	0,62	0,45	0,20	0,47	0,44	0,37
$a_2$	0,07	0,02	0,04	0,05	-0,17	0,09	0,08	-0,05
$a_3$	-0,26	0,14	0,12	-0,01	0,06	-0,08	0,15	0,07
$a_{12}$		0,19	-0,14	-0,13	-0,09			
$a_{13}$	-0,19		-0,30		-0,14		0,09	0,15
$a_{23}$			0,12	-0,14	-0,09			
$a_{11}$			-0,12	0,40	0,21	-0,23		-0,21
$a_{22}$	-0,21	0,15	-0,08		-0,14		0,29	0,12
$a_{33}$	0,15	-0,11		0,04		0,42		0,13
$R^2$	0,932	0,949	0,969	0,985	0,952	0,933	0,951	0,933

Del estudio las Tablas 5.108 y 5.109 se deduce que la temperatura es el factor más importante y el que más influye positivamente sobre el contenido en pinoresinol.

El tiempo de batido tiene una influencia menor y con signo variable para el nivel principal. Y la dosis de coadyuvante parece no influir significativamente en el contenido en Pinoresinol de los aceites. En algunos modelos existen interacciones entre factores, pero como en el caso de los coeficientes de los términos cuadráticos son poco importantes. A título de ejemplo, en la Figura 5.51 se muestra el modelo determinado para el experimento E de la campaña 2009-10.



**Figura 5.51.** Superficie de respuesta del contenido en Pinoresinol. Campaña 2009-10, muestra E

Como se observa en la Figura 5.51, la temperatura de batido de las pastas es el factor que más incrementa la respuesta, el tiempo influye positivamente pero de forma poco significativa y presenta una interacción negativa con la temperatura. El talco influye positivamente en la respuesta, aunque de forma menos significativa que la temperatura, existiendo una fuerte interacción negativa con ésta.

### 5.2.2.15. Contenido en Ty-EDA

Por observación de los puntos centrales de los modelos, Tablas 5.18 a 5.33, de la campaña 2008-09, repetidos para las cribas de 5,5 y de 4,5 mm se deduce que el contenido en Ty-EDA de las muestras de riego y secano para ambas cribas es constante y muy parecido para aceituna con índice de madurez superior a 2. Las muestras que presentan un mayor contenido en Ty-EDA, con pequeñas diferencias con el resto, son las obtenidas de cultivos de secano empleando la criba de 4,5 mm para la molienda de los frutos.

En las Tablas 5.110 y 5.83 se recogen los coeficientes de los factores codificados de los modelos obtenidos, para las dos campañas.

**Tabla 5.110.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Ty-EDA  
Campaña 2008-09

IM	Riego					Secano		
	A (0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E (3,5)	G (4,1)
<b>a<sub>0</sub></b>	2,24	188,8	140,0	133,4	143,0	116,6	135,8	112,5
<b>a<sub>1</sub></b>	0,53	149,1	136,5	104,6	87,1	207,3	100,3	101,4
<b>a<sub>2</sub></b>	0,06	18,9	36,3	47,5	36,1	25,9	40,1	35,6
<b>a<sub>3</sub></b>			7,2		12,0	-0,8	2,3	6,0
<b>a<sub>12</sub></b>		20,5	30,6	31,3	10,8	28,0	37,8	19,5
<b>a<sub>13</sub></b>								
<b>a<sub>23</sub></b>			-9,8		14,2			
<b>a<sub>11</sub></b>	-0,14	29,2	32,8	15,5	4,4	91,8		17,1
<b>a<sub>22</sub></b>	-0,05	-35,1	-12,2	-6,1	-6,4		-10,9	
<b>a<sub>33</sub></b>					-4,6	14,1	7,7	16,6
<b>R<sup>2</sup></b>	0,982	0,976	0,992	0,992	0,997	0,987	0,986	0,962

**Tabla 5.111.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Ty-EDA  
Campaña 2009-10

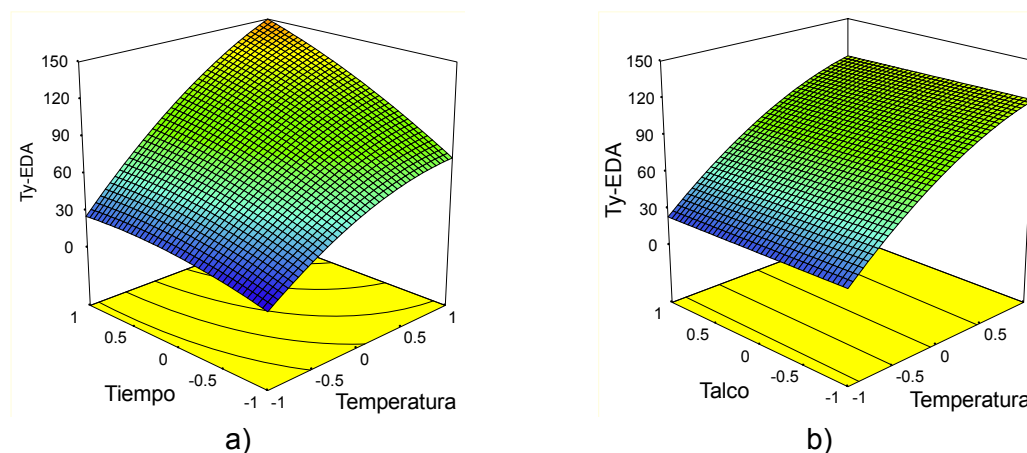
IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
<b>a<sub>0</sub></b>	101,3	94,8	93,2	85,4	111,0	100,5	112,2	75,4
<b>a<sub>1</sub></b>	80,5	70,8	73,8	46,8	83,7	-13,9	73,5	58,7
<b>a<sub>2</sub></b>	33,7	28,8	29,9	22,8	27,3	-63,0	36,8	22,2
<b>a<sub>3</sub></b>		-4,9		-1,1				
<b>a<sub>12</sub></b>	33,4	19,4	26,4	15,1	16,7	-75,5	19,7	18,4
<b>a<sub>13</sub></b>		-8,8						
<b>a<sub>23</sub></b>				-9,5				
<b>a<sub>11</sub></b>	15,0	14,9	13,1	-13,7	16,6	-32,1		6,9
<b>a<sub>22</sub></b>	-4,5	-4,4		-6,4	-7,2	-55,3		
<b>a<sub>33</sub></b>		-3,5						
<b>R<sup>2</sup></b>	0,988	0,996	0,984	0,968	0,993	0,943	0,960	0,978

En las Tablas 5.110 y 5.111, por observación de los términos independientes de los modelos, se deduce que las muestras de la campaña 2008-09 tienen un mayor

contenido en Ty-EDA, no existen diferencias significativas entre regadío y seco y la maduración influye negativamente en el contenido en Ty-EDA de los aceites.

Examinando los modelos se deduce que el factor más importante es la temperatura de batido, con una fuerte influencia positiva sobre la respuesta, sobre todo para los modelos de la campaña 2008-09. El tiempo también tiene una influencia positiva sobre la respuesta, pero menos importante que la de la temperatura, y la dosis de coadyuvante no influye en la mayoría de los modelos. No existen interacciones entre factores en la mayoría de los modelos y cuando las hay no son significativas, comparadas con el nivel principal del factor. Algunos términos cuadráticos son significativos para el nivel principal del factor considerado, por lo que lo modificarán apreciablemente en función de su signo, otros son pequeños y no significativos y en algunos casos no existen.

A título de ejemplo, en Figura 5.52 se muestra el modelo determinado para el experimento G de la campaña 09-10. En ella se observa la influencia positiva de la temperatura sobre la respuesta, como factor más importante, la escasa influencia positiva del tiempo de batido y la nula influencia de la dosis de coadyuvante. Es de destacar la interacción positiva entre los factores temperatura y tiempo de batido.



**Figura 5.52.** Superficie de respuesta del contenido en Ty-EDA. Campaña 2009-10, muestra G

### 5.2.2.16. Contenido en Luteolina

Por observación de los resultados experimentales obtenidos para los puntos centrales del diseño, repetidos con las cribas de 5,5 y 4,5 mm, en la campaña 2008-09 se deduce que prácticamente todos los aceites contienen valores similares de Luteolina y que hay un ligero descenso con el índice de madurez. Solo las muestras

obtenidas con la criba de 4,5 mm y aceituna de secano parecen mostrar un contenido mayor en Luteolina.

En las Tablas 5.112 y 5.113 se han tabulado los coeficientes de los modelos obtenidos.

**Tabla 5.112.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Luteolina  
Campaña 2008-09

IM	Riego					Secano		
	A (0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E (3,5)	G (4,1)
$a_0$	19,63	27,50	24,23	24,59	27,93	27,55	24,13	26,56
$a_1$	0,09	-3,24	-3,87	-7,23	-11,57	-3,01	-5,74	-10,32
$a_2$	-5,30	-5,91	-3,40	-3,27	-1,95	-2,66	0,79	-2,51
$a_3$	0,67	0,14	0,64		0,15		-0,67	
$a_{12}$		-4,10			-2,19	2,08	1,38	-3,23
$a_{13}$			0,89		0,84			
$a_{23}$					1,13		-1,78	
$a_{11}$	2,61	-1,96		5,81		-1,62	4,34	2,93
$a_{22}$	1,95	1,58	1,62	3,20	4,73		4,58	1,30
$a_{33}$	1,75	0,95	-2,42					
$R^2$	0,920	0,971	0,941	0,926	0,993	0,831	0,971	0,957

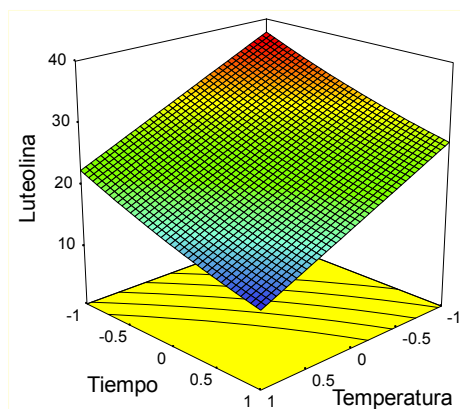
Por observación de los términos independientes de los modelos se deduce que todas las muestras de aceite, independientemente de la campaña y de la procedencia de la aceituna, tienen parecido contenido en Luteolina y comportamiento similar con la maduración de los frutos, disminuye ligeramente con esta.

En las Tablas 5.112 y 5.113 se observa que tanto la temperatura como el tiempo de batido tienen una influencia negativa sobre el contenido en luteolina en los aceites, con influencia ligeramente mayor de la temperatura. La dosis de talco no parece ejercer una influencia significativa.

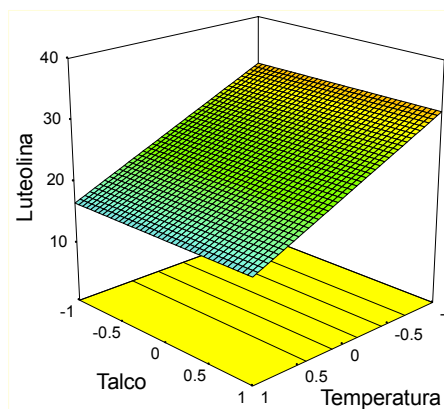
En la Figura 5.53 se ha representado el modelo obtenido para el contenido en Luteolina de la muestra D de la campaña 2009-10. En ella se observa la influencia negativa de los factores temperatura y tiempo de batido y la casi nula del talco.

**Tabla 5.113.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Luteolina  
Campaña 2009-10

IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
<b>a<sub>0</sub></b>	22,21	20,28	24,18	21,17	24,61	24,29	25,72	15,92
<b>a<sub>1</sub></b>	-3,20	-8,20	-5,37	-7,20	-9,98	-7,57	-6,86	-2,89
<b>a<sub>2</sub></b>	-4,20	-4,96	-3,37	-1,07	-4,71	-5,14	-3,52	-3,45
<b>a<sub>3</sub></b>		-1,11	0,61	-0,13	-0,37	0,03	0,66	-2,25
<b>a<sub>12</sub></b>	-0,91	-2,71	-1,48	-1,56	-1,13			
<b>a<sub>13</sub></b>		-1,63	-1,97					1,97
<b>a<sub>23</sub></b>		-1,82		-1,01		-1,19	1,35	
<b>a<sub>11</sub></b>	-1,53		6,36		2,30			-2,11
<b>a<sub>22</sub></b>	0,73	2,27		-1,15		0,75	3,98	1,11
<b>a<sub>33</sub></b>					1,06			1,52
<b>R<sup>2</sup></b>	0,966	0,973	0,977	0,967	0,981	0,967	0,964	0,972



a)



b)

**Figura 5.53.** Superficie de respuesta del contenido en Luteolina.  
Campaña 2009-10, muestra D

### 5.2.2.17. Contenido en ácido Cinnámico

Da las Tablas 5.18 a 5.33 de resultados experimentales obtenidos para los puntos centrales en la campaña 2008-09 y repetidos con las cribas de 5,5 y 4,5 mm se deduce que, con pequeñas diferencias, todos los aceites contienen valores similares de ácido Cinnámico y que hay un ligero descenso con el índice de madurez. Solo las muestras obtenidas con la criba de 4,5 mm y aceituna de secano tienen un mayor contenido en ácido Cinnámico.

En las Tablas 5.114 y 5.115 se muestran los coeficientes de los modelos obtenidos para la respuesta ácido Cinnámico.

**Tabla 5.114.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Ácido Cinnámico  
Campaña 2008-09

IM	Riego					Secano		
	A (0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E (3,5)	G (4,1)
<b>a<sub>0</sub></b>	0,95	1,24	1,34	1,19	1,02	1,30	1,30	1,09
<b>a<sub>1</sub></b>	-0,13	-0,13	-0,09	-0,10	-0,10	0,09	0,22	-0,12
<b>a<sub>2</sub></b>	-0,43	-0,37	-0,33	-0,27	-0,12	-0,45	-0,42	-0,20
<b>a<sub>3</sub></b>	-0,08	-0,20	0,07	-0,04	-0,02	0,18	0,08	-0,12
<b>a<sub>12</sub></b>	-0,16	-0,14	0,04	-0,17	-0,12	-0,36	-0,30	-0,26
<b>a<sub>13</sub></b>	-0,16	-0,11	-0,04					-0,13
<b>a<sub>23</sub></b>	-0,21	0,15	-0,41		0,04			-0,12
<b>a<sub>11</sub></b>	-0,08		-0,24	-0,09	-0,13	-0,32	-0,12	-0,12
<b>a<sub>22</sub></b>	0,19		0,07	0,05				
<b>a<sub>33</sub></b>	0,06			0,08	0,09			
<b>R<sup>2</sup></b>	0,987	0,928	0,983	0,990	0,966	0,942	0,921	0,939

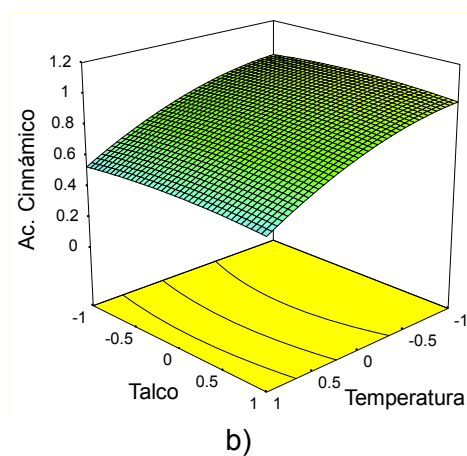
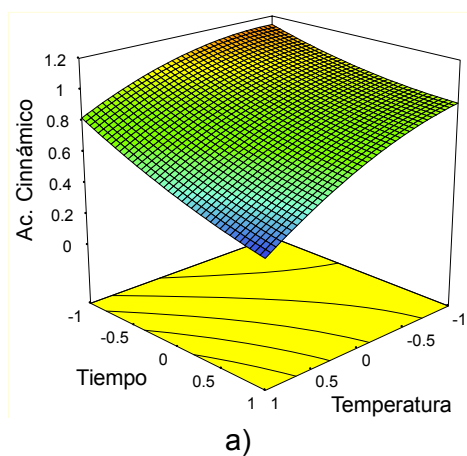
Por observación de los términos independientes de los modelos de las Tablas 5.114 y 5.115 se deduce, claramente, que los aceites presentan contenido diferente de una campaña a la otra y que entre sí, regadío y secano para una misma campaña, son iguales. En todos los casos desciende con la maduración.

En las Tablas 5.114 y 5.115 se observa que la temperatura y el tiempo de batido tienen influencia negativa sobre la respuesta, para todos los modelos, con influencia intercambiable entre factores y campañas. La influencia de la dosis de coadyuvante es variable y poco significativa. Los niveles superiores, términos cuadráticos e interacciones, son poco importantes para la mayoría de los modelos. En

la Figura 5.54 se representa, a título de ejemplo, el modelo obtenido para la muestra C de la campaña 2009-10.

**Tabla 5.115.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Ácido Cinnámico  
Campaña 2009-10

IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
$a_0$	0,73	0,87	0,84	0,77	0,89	0,81	0,70	0,74
$a_1$	-0,07	-0,21	-1,00	-0,08	-0,26	-0,08	-0,06	-0,05
$a_2$	-0,13	-0,16	-0,14	-0,13	-0,19	-0,12	-0,15	-0,09
$a_3$	-0,02	0,00		0,005	0,07	0,06	0,007	0,06
$a_{12}$		-0,06	-0,10	-0,03	-0,06	-0,14	-0,11	-0,15
$a_{13}$					-0,04	-0,05		-0,07
$a_{23}$				-0,04	-0,08		-0,02	
$a_{11}$	-0,06	-0,08		-0,07	0,05	-0,08	-0,08	-0,14
$a_{22}$		0,04					0,06	-0,03
$a_{33}$	-0,03	-0,03			-0,04	-0,03		-0,05
$R^2$	0,967	0,979	0,944	0,963	0,982	0,971	0,987	0,957

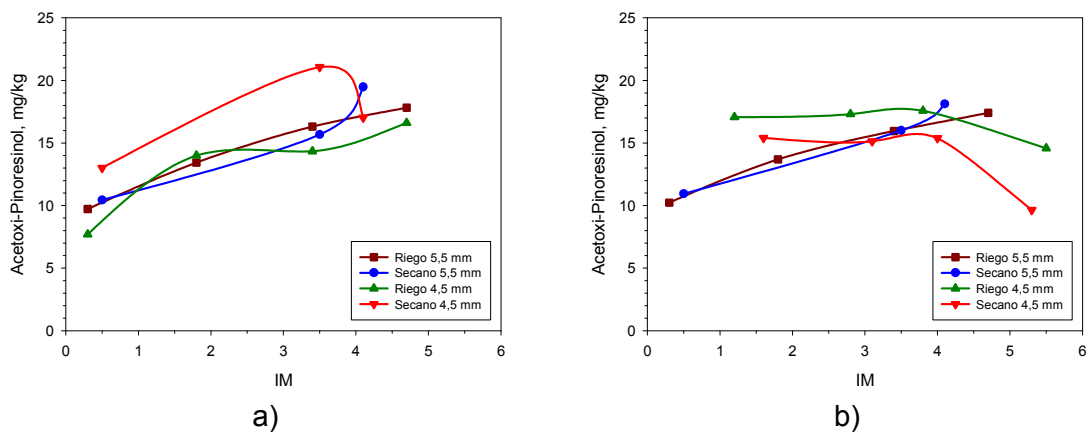


**Figura 5.54.** Superficie de respuesta del contenido en ácido Cinnámico.  
Campaña 2009-10, muestra C

En la Figura 5.54 se observa la influencia negativa de los factores temperatura y tiempo de batido y la nula actividad del talco.

### 5.2.2.18. Contenido en (+)-1-Acetoxi-Pinoresinol

En la Figura 5.55 se han representado los valores medios, para los puntos centrales del diseño de experimentos, del contenido en (+)-1-Acetoxi-Pinoresinol de los aceites obtenidos en la campaña 2008-09 con las cribas de 4,5 y de 5,5 mm.



**Figura 5.55.** Contenido en (+)-1-Acetoxi-Pinoresinol, para los puntos centrales de la campaña 2008-09 (a) y los coeficientes independientes de los modelos de ambas campañas (b)

En la Figura 5.55.a se observa que, para los puntos centrales, todos los aceites muestran valores similares de contenido en (+)-1-Acetoxi-Pinoresinol, excepto los de secano obtenidos con la criba de 4,5 mm. Igualmente, todos presentan tendencia ascendente con la maduración de los frutos, en el rango de índices de madurez estudiados en esta Memoria.

En la Figura 5.55.b, para los términos independientes de los modelos, se observa la diferencia entre campañas, especialmente en la campaña 2009-10 en la, además, existen diferencias entre los cultivos de secano y regadío. Mientras en la primera campaña los aceites de regadío y secano son similares y con tendencia a incrementar el contenido en (+)-1-Acetoxi-Pinoresinol con la maduración, en la segunda los aceites muestran un máximo entre valores de 3,5 a 4 de índice de madurez. En esta campaña la aceituna de regadío contiene más (+)-1-Acetoxi-Pinoresinol.

En las Tablas 5.116 y 5.117 se muestran los coeficientes codificados de los modelos de ajuste para las dos campañas.

**Tabla 5.116.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: (+)-1-Acetoxi-Pinoresinol. Campaña 2008-09

IM	Riego					Secano		
	A (0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E (3,5)	G (4,1)
<b>a<sub>0</sub></b>	7,69	10,23	13,69	15,96	17,41	10,94	16,00	18,12
<b>a<sub>1</sub></b>	-3,14	-4,20	-2,61	-2,37	-3,58	0,82	-3,52	-3,09
<b>a<sub>2</sub></b>	-6,56	-5,20	-6,58	-3,92	-2,32	-5,12	-2,90	-2,46
<b>a<sub>3</sub></b>	-0,10	1,25	0,70	-0,98	0,23	-0,65		1,70
<b>a<sub>12</sub></b>	1,19	-0,44	2,96	-1,42	-1,93	-0,98		-3,06
<b>a<sub>13</sub></b>	-0,40	-0,90	2,45			-1,59		-1,44
<b>a<sub>23</sub></b>	0,42		1,98	1,65	1,23	-0,88		-2,15
<b>a<sub>11</sub></b>	1,52	0,54	-0,91		-1,69	1,48		
<b>a<sub>22</sub></b>	3,51		2,21	1,40		0,81	2,01	
<b>a<sub>33</sub></b>	0,60	1,46		1,17		1,01		-1,02
<b>R<sup>2</sup></b>	0,998	0,996	0,983	0,977	0,983	0,982	0,960	0,941

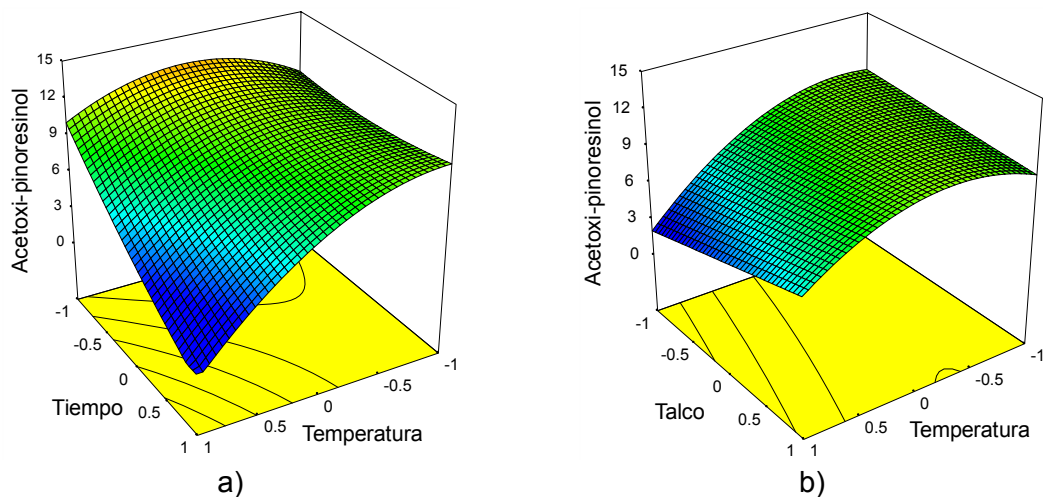
**Tabla 5.117.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: (+)-1-Acetoxi-Pinoresinol. Campaña 2009-10

IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
<b>a<sub>0</sub></b>	17,07	17,31	17,58	14,58	15,41	15,14	15,39	9,64
<b>a<sub>1</sub></b>	-0,16	-2,84	0,08	-2,40	-3,28	-2,11	-3,96	-2,75
<b>a<sub>2</sub></b>	-3,65	-2,21	-1,64	-1,67	-4,00	-2,63	-2,14	-2,55
<b>a<sub>3</sub></b>	-0,03	-1,06	0,59		0,19	0,31	0,08	0,78
<b>a<sub>12</sub></b>	-1,13	-3,91	-3,16	-1,20	-1,14	-1,53	-0,79	-2,81
<b>a<sub>13</sub></b>		2,46	-1,92				0,62	1,34
<b>a<sub>23</sub></b>	-0,57	2,70	-2,22		-0,99	-0,64		1,83
<b>a<sub>11</sub></b>	-1,61	-1,92	-1,50	-3,05	0,78	-1,02		-2,70
<b>a<sub>22</sub></b>			-0,62	-0,96	0,49		2,31	0,59
<b>a<sub>33</sub></b>	-0,49	-1,09						
<b>R<sup>2</sup></b>	0,949	0,959	0,930	0,953	0,976	0,970	0,976	0,958

En las Tablas 5.116 y 5.117 se observa la influencia negativa de la temperatura y del tiempo de batido, para todos los modelos de ambas campañas, y la alternante y

poco significativa del talco. En casi todos los modelos la interacción tiempo-temperatura es negativa e importante, por lo que a valores bajos de un factor la superficie se nivela para el otro, pero a valores altos la pendiente negativa es mayor. La interacción con el resto de factores, al igual que los términos cuadráticos, son poco significativos comparados con los niveles principales.

En la Figura 5.56 se muestra la superficie de respuesta del modelo determinado para el experimento H de la campaña 2009-10. En las figuras se observa la influencia negativa de la temperatura y el tiempo, la interacción negativa y la curvatura igualmente negativa de la temperatura. También se observa una pequeña interacción positiva entre el talco y la temperatura.

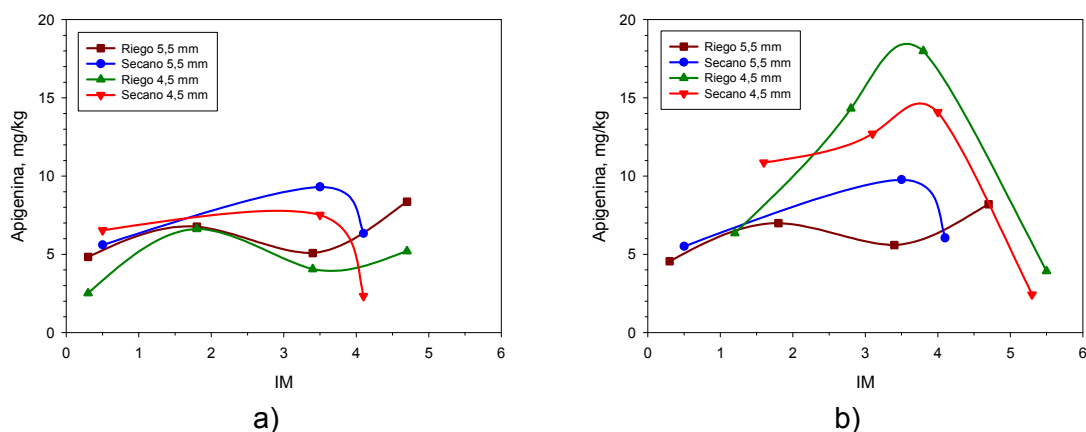


**Figura 5.56.** Superficie de respuesta del contenido en (+)-1-Acetoxi-Pinoresinol. Campaña 2009-10, muestra H

### 5.2.2.19. Contenido en Apigenina

A partir de los datos experimentales de los puntos centrales de todos los experimentos de la campaña 2008-09, Tablas 5.18 a 5.33, se determina que la criba de 5,5 mm es mejor, que la de 4,5 mm, de cara a obtener aceites ricos en Apigenina; y da aceites con más concentración la aceituna de secano que la de riego, Figura 5.57.

En la Figura 5.57 también se observa, al representar los términos independientes de los modelos de las Tablas 5.118 y 5.119, que la aceituna de la campaña 2009-10 es más rica en Apigenina, el riego es preferible al secano y muestra un máximo entre 3,5 a 4 de índice de madurez.



**Figura 5.57.** Contenido en Apigenina, para los puntos centrales de la campaña 2008-09 (a) y los coeficientes independientes de los modelos de ambas campañas (b)

En las Tablas 5.118 y 5.119, se recogen los coeficientes codificados de los modelos obtenidos para ambas campañas.

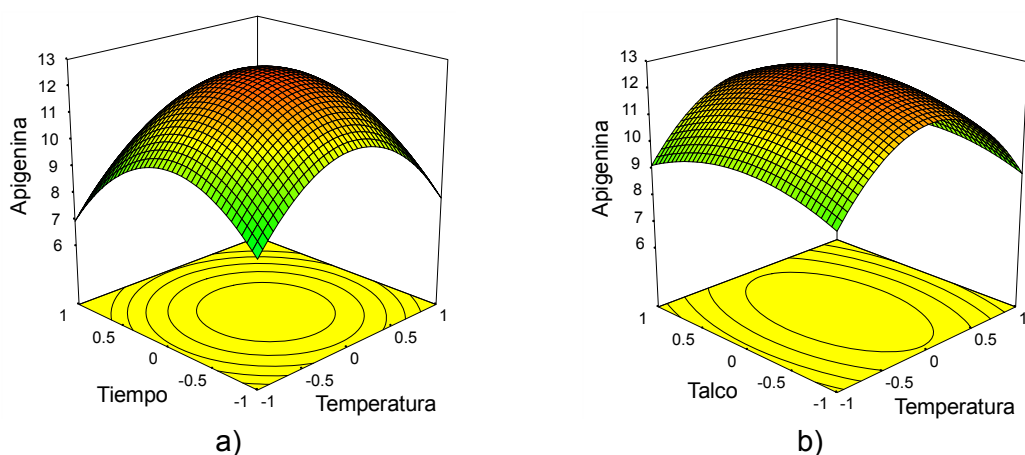
**Tabla 5.118.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Apigenina  
Campaña 2008-09

IM	Riego					Secano		
	A (0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E (3,5)	G (4,1)
<b>a<sub>0</sub></b>	2,29	4,55	6,99	5,59	8,26	5,50	9,77	6,04
<b>a<sub>1</sub></b>	0,26	-1,09	-1,27	-1,76	-0,37	0,65	-1,05	-2,88
<b>a<sub>2</sub></b>	-1,46	-1,90	-1,55	-0,76	-0,17	-1,15	-1,55	-1,46
<b>a<sub>3</sub></b>		-0,32	-0,07		0,65	0,31	0,53	0,43
<b>a<sub>12</sub></b>	-0,29		0,25		-0,78	0,55		-1,28
<b>a<sub>13</sub></b>		0,76						0,76
<b>a<sub>23</sub></b>		0,96			0,65			0,83
<b>a<sub>11</sub></b>	1,46		-1,00	1,00	-0,37		-1,78	-2,33
<b>a<sub>22</sub></b>	0,41	0,35	0,23	0,30			-0,79	1,79
<b>a<sub>33</sub></b>		-0,39	0,20		0,71			
<b>R<sup>2</sup></b>	0,950	0,967	0,973	0,915	0,894	0,901	0,927	0,962

**Tabla 5.119.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Apigenina  
Campaña 2009-10

IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
$a_0$	6,35	14,32	18,00	3,92	10,87	12,72	14,09	2,43
$a_1$	-0,23	-0,80	-0,32	-1,02	-0,87	-0,21	-0,24	-1,04
$a_2$		-0,62	-0,16	-0,26	-0,80	-0,65	-0,53	-0,33
$a_3$	-0,17	-0,07	0,26	-0,17	-0,10	-0,06	0,02	0,01
$a_{12}$				-0,54	-0,63		1,73	0,62
$a_{13}$							-1,81	-0,52
$a_{23}$						-0,49	1,86	
$a_{11}$	-1,71	-3,15	-3,98		-1,66	-2,77	-2,78	1,16
$a_{22}$		-3,03	-1,69	0,31	-3,34	-2,53	-3,11	0,14
$a_{33}$	0,25	-1,89	-4,59	0,15	0,57	-0,90	-2,11	
$R^2$	0,960	0,953	0,982	0,952	0,967	0,953	0,984	0,951

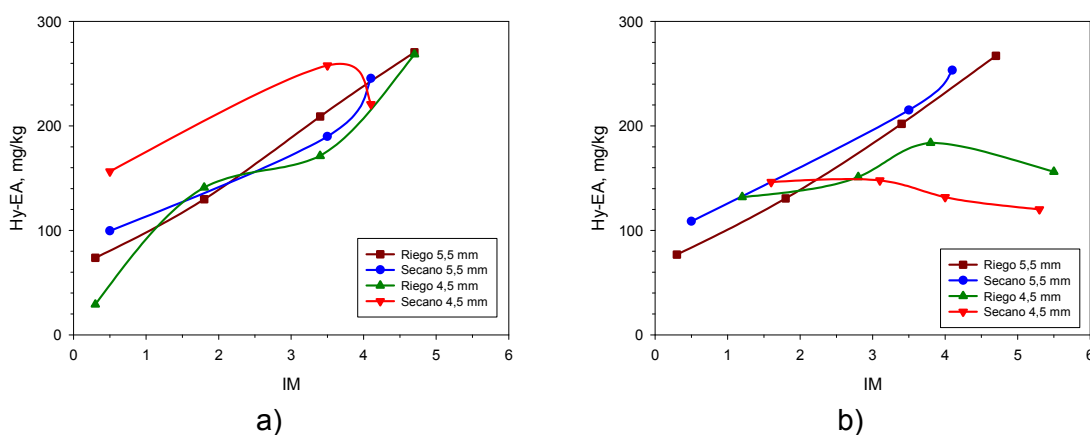
En las Tablas 5.118 y 5.119 se observa la influencia negativa de la temperatura y el tiempo de batido y la insignificante del talco. Los términos de interacción y cuadráticos no son muy significativos excepto para los aceites de la segunda campaña que sí lo son. Como ejemplo, en la Figura 5.58 se ha representado el modelo obtenido para la muestra D de la campaña 2009-10.

**Figura 5.58.** Superficie de respuesta del contenido en Apigenina.  
Campaña 2009-10, muestra D

En la Figura 5.58 se observa como el término cuadrático, con influencia negativa, del modelo es el más importante, para todos los factores. Esto implica que en los puntos centrales el modelo prediga valores altos, que van descendiendo conforme los factores se alejan del centro.

### 5.2.2.20. Contenido en Hy-EA

En la Figura 5.59.a se han representado los puntos centrales de todos los aceites obtenidos con las cribas de 4,5 y de 5,5 mm en la campaña 2008-09, frente al índice de madurez. Como se puede apreciar, las muestras correspondientes a cultivos de secano y en las que se ha utilizado una criba de 4,5 mm tienen un mayor contenido en Hy-EA. El contenido de esta respuesta aumenta con el índice de madurez de los frutos, existiendo un máximo alrededor de 3,5. Para el resto de aceites el contenido en Hy-EA es similar y se incrementa con la maduración. Esto indica que el tamaño de la criba utilizado no es indicativo de mayor o menor contenido en Hy-EA, o sea, la criba no es significativa.



**Figura 5.59.** Contenido en Hy-EA, para los puntos centrales de la campaña 2008-09 (a) y los coeficientes independientes de los modelos de ambas campañas (b)

En la Figura 5.59.b para la campaña 2008-09 los aceites de secano contienen algo más de Hy-EA que los de regadío, en cambio, para la campaña 2009-10 solo se observan diferencias por encima de índice de madurez próximo a 3, y son más ricos los aceites de regadío. A partir del envero se observa una ligera caída del contenido en Hy-EA con la maduración.

En las Tablas 5.120 y 5.121 se muestran los coeficientes, para factores codificados, de los modelos obtenidos en las campañas 2008-09 y 2009-10.

**Tabla 5.120.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Hy-EA  
Campaña 2008-09

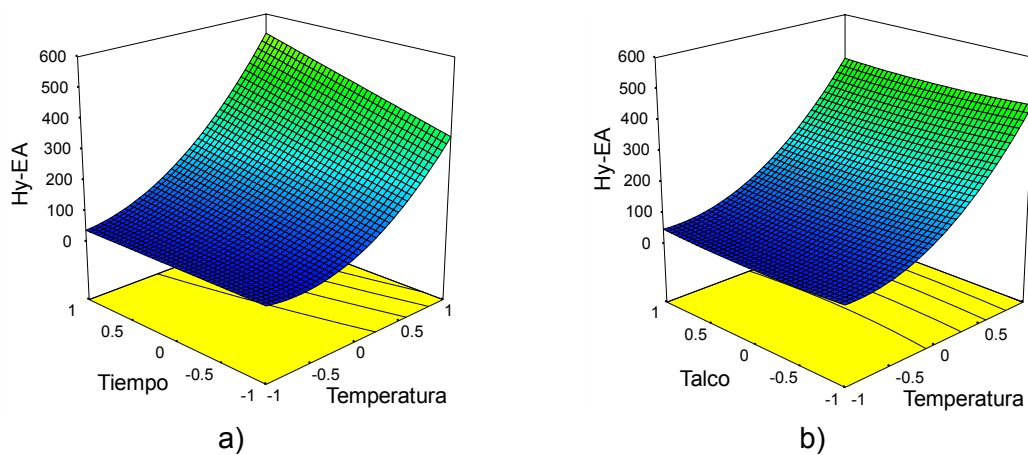
IM	Riego					Secano		
	A (0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E (3,5)	G (4,1)
<b>a<sub>0</sub></b>	28,5	76,8	130,6	202,1	267,1	108,6	215,1	253,2
<b>a<sub>1</sub></b>	113,9	91,9	169,6	214,8	219,0	226,1	249,9	298,1
<b>a<sub>2</sub></b>	-51,7	-56,9	-25,4	32,3	62,1	-33,2	118,2	
<b>a<sub>3</sub></b>	9,8			24,4	8,3			
<b>a<sub>12</sub></b>	10,0	-29,2		83,7	57,3		128,8	
<b>a<sub>13</sub></b>								
<b>a<sub>23</sub></b>				29,7				
<b>a<sub>11</sub></b>	74,4	52,5	74,6	81,9	72,3	133,9	92,8	134,8
<b>a<sub>22</sub></b>	-11,2	9,3					51,7	
<b>a<sub>33</sub></b>	-9,7				-5,7			
<b>R<sup>2</sup></b>	0,984	0,977	0,988	0,992	0,998	0,978	0,991	0,967

**Tabla 5.121.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Hy-EA  
Campaña 2009-10

IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
<b>a<sub>0</sub></b>	131,9	151,1	183,8	156,2	146,4	147,9	131,8	120,1
<b>a<sub>1</sub></b>	171,7	182,6	306,9	101,4	196,9	211,6	199,9	165,8
<b>a<sub>2</sub></b>	50,5	51,4	131,8	0,3	42,8	47,1	45,4	34,9
<b>a<sub>3</sub></b>		-12,5	11,3	-4,2		17,9	-1,9	
<b>a<sub>12</sub></b>	65,3	51,8	125,7		49,7	69,5	47,5	35,9
<b>a<sub>13</sub></b>		-13,0		-12,2				
<b>a<sub>23</sub></b>						17,8		
<b>a<sub>11</sub></b>	65,8	71,4	125,9	17,7	80,8	105,9	108,9	68,4
<b>a<sub>22</sub></b>			40,5	-29,5		-9,2		
<b>a<sub>33</sub></b>			10,2			-6,8	10,8	
<b>R<sup>2</sup></b>	0,980	0,988	0,998	0,987	0,970	0,999	0,988	0,987

En las Tablas 5.120 y 5.121 se observa una fuerte influencia positiva de la temperatura en todos los modelos. Para el tiempo de batido la influencia es menor que para la temperatura, es positiva para la campaña 2009-10 y mayoritariamente negativa para los modelos de la campaña 2008-09. La influencia de la dosis de coadyuvante no es significativa. Es de mencionar la fuerte interacción positiva entre la temperatura y el tiempo de batido, sobre todo en la segunda campaña.

En la Figura 5.60 se representa el modelo obtenido para el experimento F de la campaña 2009-10. En ella se puede observar la gran influencia que tiene la temperatura, en su nivel principal como en el cuadrático, la pequeña interacción con el tiempo y la casi nula influencia de este. Igualmente, se observa que el talco no ejerce influencia sobre la respuesta.



**Figura 5.60.** Superficie de respuesta del contenido en Hy-EA  
Campaña 2009-10, muestra F

### 5.2.2.21. Contenido en Ty-EA

Al representar, frente al índice de madurez, los puntos centrales de los diseños de la campaña 2008-09, realizados con las cribas de 4,5 y de 5,5 mm, se ha observado que, como en casos anteriores, los aceites con mayor contenido en Ty-EA son los obtenidos de cultivos de secano con la criba de 4,5 mm. No se observan diferencias apreciables entre los aceites de secano y de regadío ni entre las cribas empleadas. Para todos los aceites desciende el contenido en Ty-EA con la maduración de la aceituna.

En las Tablas 5.122 y 5.123 se muestran los coeficientes de los modelos obtenidos en las campañas 2008-09 y 2009-10.

**Tabla 5.122.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Ty-EA  
Campaña 2008-09

IM	Riego					Secano		
	A (0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E (3,5)	G (4,1)
<b>a<sub>0</sub></b>	160,0	172,9	151,4	104,2	120,5	167,2	108,3	119,3
<b>a<sub>1</sub></b>	83,6	61,0	115,7	96,8	70,9	170,1	97,8	113,3
<b>a<sub>2</sub></b>	5,3	4,0	41,5	15,9	18,8	33,9	45,2	26,4
<b>a<sub>3</sub></b>	8,2	-13,7	6,0	2,5	15,1		-10,3	23,3
<b>a<sub>12</sub></b>	10,0	-7,2	9,4	50,8	22,1	30,4	51,9	8,6
<b>a<sub>13</sub></b>		-19,6	28,7		-12,2			
<b>a<sub>23</sub></b>			28,9	17,7			-14,5	-22,0
<b>a<sub>11</sub></b>	55,3		34,3	35,0	17,9	82,3	32,9	36,3
<b>a<sub>22</sub></b>	-11,2	-9,4	-9,9				23,6	-8,6
<b>a<sub>33</sub></b>	-9,7				-7,9			-7,7
<b>R<sup>2</sup></b>	0,984	0,971	0,997	0,964	0,994	0,969	0,985	0,990

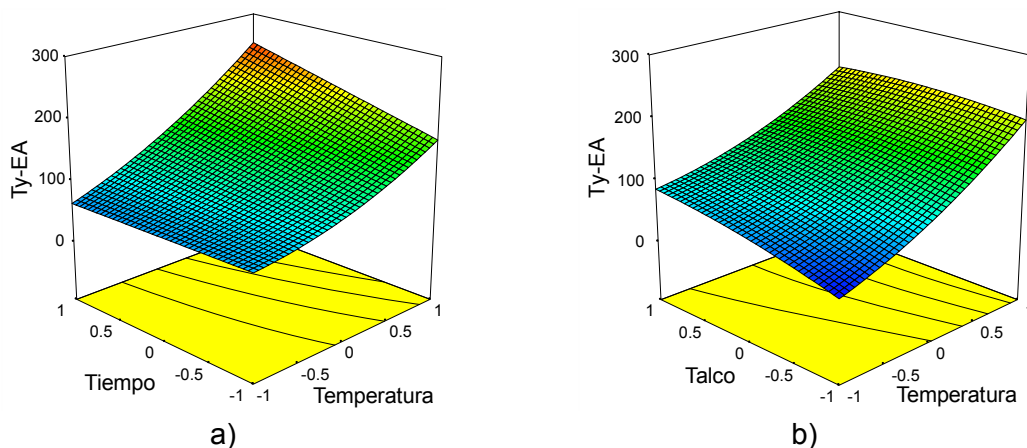
**Tabla 5.123.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Ty-EA  
Campaña 2009-10

IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
<b>a<sub>0</sub></b>	84,6	54,2	87,0	51,6	93,6	72,9	50,8	47,5
<b>a<sub>1</sub></b>	73,4	80,6	105,6	49,3	110,1	85,4	71,8	70,5
<b>a<sub>2</sub></b>	33,9	19,6	27,6	7,3	19,9	24,1	18,4	17,9
<b>a<sub>3</sub></b>	-15,2	-8,5		-2,2		6,9		
<b>a<sub>12</sub></b>	30,3	19,2	34,8		18,9	24,8	18,6	25,6
<b>a<sub>13</sub></b>	-12,4	-6,7		-4,1				
<b>a<sub>23</sub></b>								
<b>a<sub>11</sub></b>	16,3	38,3	45,4	18,9	40,8	38,8	47,4	33,4
<b>a<sub>22</sub></b>		10,1			-11,2			
<b>a<sub>33</sub></b>		4,5				8,6		
<b>R<sup>2</sup></b>	0,972	0,996	0,986	0,982	0,970	0,980	0,987	0,987

Examinando los términos independientes de los modelos de las Tablas 5.122 y 5.123 se aprecia una clara diferencia entre campañas, así, el contenido de los aceites de la primera campaña es superior a los de la segunda. Por otra parte, no hay diferencias entre regadío y seco y el contenido en Ty-EA de todos los aceites disminuye con la maduración de la aceituna.

En la Tablas 5.122 y 5.123, se observa la influencia positiva sobre la respuesta de la temperatura y el tiempo de batido, siendo más importante la primera. La influencia de la dosis de coadyuvante es poco significativa. Existen algunas interacciones importantes entre los factores, sobre todo entre la temperatura y el tiempo, y algunos términos cuadráticos son significativos, especialmente para la temperatura.

A título de ejemplo, en la Figura 5.61 se muestra el modelo determinado para el experimento H de la campaña 2008-09. En ella se aprecia la influencia positiva de la temperatura y la interacción, también positiva, con el tiempo. También se observa, para el talco, la interacción negativa con la temperatura y, tanto para tiempo como para talco, se deduce un valor bajo del coeficiente del nivel principal.

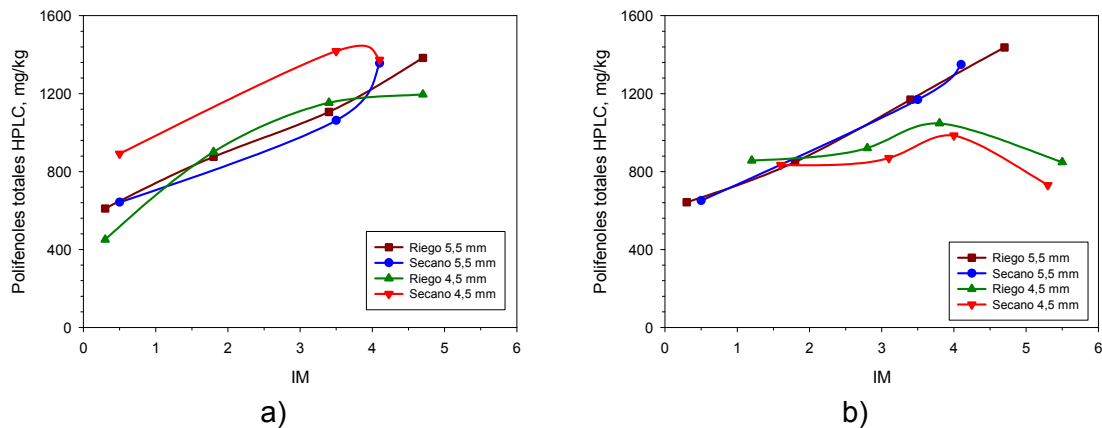


**Figura 5.61.** Superficie de respuesta del contenido en Ty-EA  
Campaña 2008-09, muestra H

### 5.2.2.22. Contenido en polifenoles totales HPLC

Representados, en la Figura 5.62.a, los puntos centrales de todas las muestras de la campaña 2008-09, obtenidos con las cribas de 5,5 y 4,5 mm, frente al índice de madurez, se deduce que el mayor contenido en polifenoles corresponde a los aceites de seco obtenidos con la criba de 4,5 mm. Para el resto todos contienen valores similares en polifenoles, independientemente de la criba y de la procedencia de los

frutos. Todos los aceites incrementan su contenido en polifenoles con la maduración, en el rango de índice de madurez estudiado.



**Figura 5.62.** Contenido en polifenoles totales HPLC, para los puntos centrales de la campaña 2008-09 (a) y los coeficientes independientes de los modelos de ambas campañas (b)

Los términos independientes de las Tablas 5.124 y 5.125 se han representado en la Figura 5.62.b. En ella se observa que los aceites de la campaña 2008-09 tienen un contenido en polifenoles mayor que los de la campaña 2009-10. Seguramente debido a la menor lluvia habida durante el desarrollo del fruto en la primera campaña. Se vuelve a poner de manifiesto la gran influencia que el año agronómico tiene sobre la composición de los aceites y sus características. Por otra parte, también se observa que el contenido en polifenoles de los aceites de la campaña 2008-09 se incrementa continuamente, mientras que para los de la 2009-10 se incrementa hasta, aproximadamente, 3,5-4 para disminuir a continuación.

En las Tablas 5.124 y 5.125 se han tabulado los coeficientes de los modelos obtenidos en las campañas 2008-09 y 2009-10. En ellas se observa la fuerte influencia positiva de la temperatura de batido sobre la respuesta y la menor influencia positiva, en algunos modelos, y negativa, en otros, para el tiempo de batido. El talco no parece tener influencia, sus coeficiente son pequeños y de signo variable. Señalar la fuerte interacción positiva entre los factores temperatura y tiempo. Es destacable la fuerte interacción existente, en algunos casos, entre la temperatura y el tiempo y la elevada influencia de los términos cuadráticos de la temperatura.

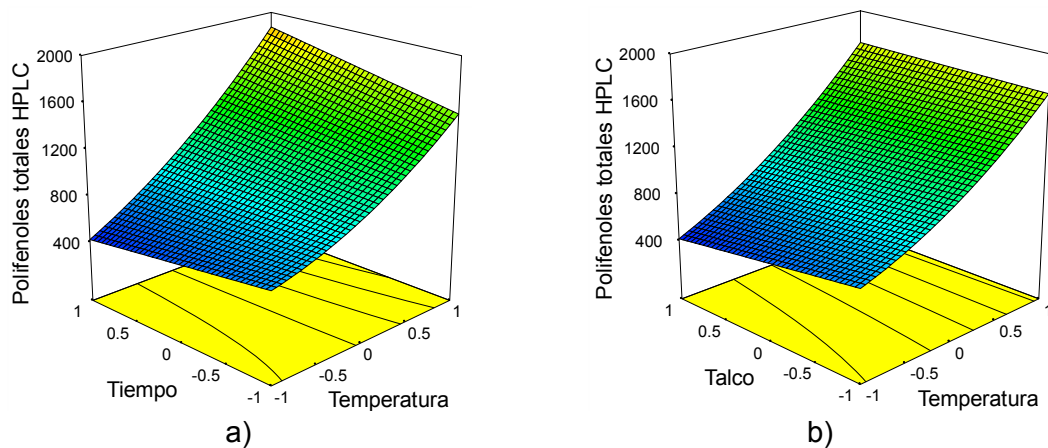
Como ejemplo en la Figura 5.63 se representa el modelo obtenido para el experimento F de la campaña 2009-10.

**Tabla 5.124.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: P. Totales HPLC  
Campaña 2008-09

IM	Riego					Secano		
	A (0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E (3,5)	G (4,1)
<b>a<sub>0</sub></b>	459,8	642,7	849,6	1169,5	1437,3	650,4	1168,8	1348,6
<b>a<sub>1</sub></b>	539,3	442,3	680,6	653,5	620,0	934,3	689,8	870,8
<b>a<sub>2</sub></b>	-170,2	-230,6	-158,7	38,4	125,8	-149,3	202,0	86,1
<b>a<sub>3</sub></b>	-26,8	-46,3		30,1	27,9	44,3		162,8
<b>a<sub>12</sub></b>	182,9			200,0	38,5		296,0	167,2
<b>a<sub>13</sub></b>	-209,5							125,5
<b>a<sub>23</sub></b>	206,1			76,5	86,3	-59,4		
<b>a<sub>11</sub></b>	223,4	174,8	200,1	185,1	77,6	691,0	201,9	313,9
<b>a<sub>22</sub></b>	75,4	60,2	32,4		-45,7		89,3	
<b>a<sub>33</sub></b>					-79,1			
<b>R<sup>2</sup></b>	0,990	0,971	0,995	0,985	0,996	0,995	0,979	0,960

**Tabla 5.125.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: P. Totales HPLC  
Campaña 2009-10

IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
<b>a<sub>0</sub></b>	857,1	921,2	1048,1	848,1	897,2	866,3	985,6	730,8
<b>a<sub>1</sub></b>	529,5	459,6	728,0	308,5	536,7	560,9	579,2	475,0
<b>a<sub>2</sub></b>	128,5	72,9	147,3	1,0	50,9	100,9	32,9	57,4
<b>a<sub>3</sub></b>		-30,8		-15,2	7,7	39,1	-48,9	
<b>a<sub>12</sub></b>	168,3	106,3	205,9		72,7	301,9	142,7	63,5
<b>a<sub>13</sub></b>		-59,8		-54,6	-74,0	155,6	67,3	
<b>a<sub>23</sub></b>					-77,8	-148,3	-59,4	
<b>a<sub>11</sub></b>	126,2	176,9	222,8	-81,2	214,4	124,2	125,9	92,7
<b>a<sub>22</sub></b>	-88,0	-17,2		-72,2	-46,7			
<b>a<sub>33</sub></b>		-45,4						
<b>R<sup>2</sup></b>	0,990	0,999	0,981	0,977	0,989	0,990	0,986	0,980



**Figura 5.63.** Superficie de respuesta del contenido en Polifenoles totales HPLC Campaña 2009-10, muestra F

En la figura 5.63 se observa que la temperatura de batido es el factor que más incrementa la respuesta y la influencia del tiempo y el talco es baja o nula. Debido a la interacción positiva temperatura-tiempo la superficie se torsiona entre los extremos de los factores, así, a temperaturas bajas la respuesta disminuye con el tiempo y a las altas aumenta.

### 5.2.2.23. Contenido en $\alpha$ -Tocoferol

En la Figura 5.64.a se han representado los puntos centrales de los experimentos de la campaña 2008-09, realizados con los dos tamaños de criba. En ella se observa que no existen, prácticamente, diferencias en el contenido en  $\alpha$ -Tocoferol de los aceites obtenidos de aceitunas de secano y de regadío, ni entre las muestras molturadas con diferentes cribas. En todos los casos el contenido en  $\alpha$ -Tocoferol disminuye con la maduración del fruto.

En las Tablas 5.126 y 5.127 se muestran los modelos obtenidos, por ajuste del contenido en  $\alpha$ -tocoferol de los aceites, para los experimentos realizados en las campañas 2008-09 y 2009-10.

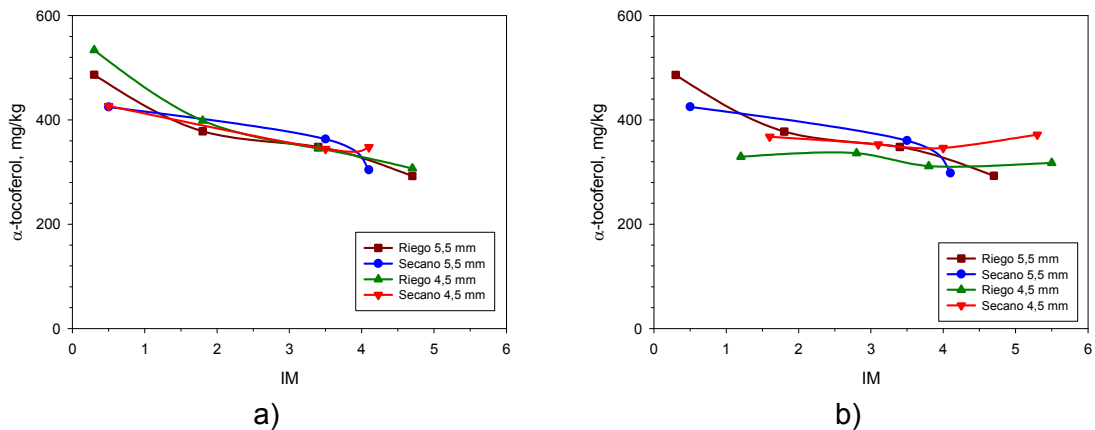
En la Figura 5.64.b, de los términos independientes de los modelos para ambas campañas, se observa un comportamiento similar del contenido en  $\alpha$ -Tocoferol, con el índice de madurez, para todos los aceites estudiados, independientemente de la procedencia de las aceitunas, regadío o secano, de la campaña y la criba utilizada. Para todas las aceitunas, el contenido en  $\alpha$ -Tocoferol de los aceites es constante o ligeramente descendente con la maduración de los frutos.

**Tabla 5.126.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta:  $\alpha$ -Tocoferol  
Campaña 2008-09

IM	Riego					Secano		
	A (0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E (3,5)	G (4,1)
<b>a<sub>0</sub></b>	527,1	486,3	377,8	348,3	293,1	425,1	360,4	298,2
<b>a<sub>1</sub></b>	8,8	20,2	13,5	11,6	9,6	-4,7	2,5	0,8
<b>a<sub>2</sub></b>	2,2	3,5	-0,4	6,5	5,7	1,6	5,4	5,3
<b>a<sub>3</sub></b>	14,9	12,6	1,7	1,8	3,3	0,9	2,6	9,3
<b>a<sub>12</sub></b>	4,2	-11,15		-6,3	-14,3	6,0		-7,0
<b>a<sub>13</sub></b>	-10,3		4,6	6,0	-15,2	5,4	-7,6	
<b>a<sub>23</sub></b>	17,1	9,4		-5,8	13,6	9,4		
<b>a<sub>11</sub></b>		11,2	13,2	-13,9	4,5	5,2	-11,2	12,4
<b>a<sub>22</sub></b>	-5,1		10,6		-8,7	1,5	3,1	-3,1
<b>a<sub>33</sub></b>	3,4					-1,3	5,6	4,5
<b>R<sup>2</sup></b>	0,954	0,954	0,960	0,906	0,925	0,966	0,940	0,907

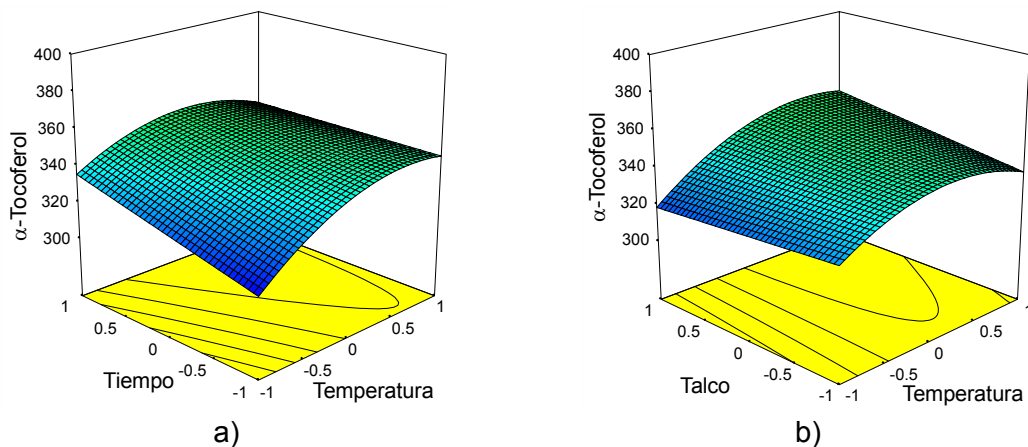
**Tabla 5.127.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta:  $\alpha$ -Tocoferol  
Campaña 2009-10

IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
<b>a<sub>0</sub></b>	329,5	336,4	311,6	317,7	367,9	353,0	346,2	371,9
<b>a<sub>1</sub></b>	3,3	-1,0	-0,7	-2,5	-2,8	0,4	4,3	8,3
<b>a<sub>2</sub></b>	4,1	8,6	1,5	4,3	5,4	7,5	1,6	6,7
<b>a<sub>3</sub></b>	2,6	6,8	0,6	-3,8	2,8	3,8	-5,6	7,6
<b>a<sub>12</sub></b>		5,8		9,4		6,4	23,4	
<b>a<sub>13</sub></b>		5,1	4,0	-11,1	2,7		18,9	-4,4
<b>a<sub>23</sub></b>	-4,5			6,5			23,7	
<b>a<sub>11</sub></b>	-5,5	-5,7	2,7	4,1	-6,5	-2,9	-4,2	-6,0
<b>a<sub>22</sub></b>		-3,9	3,5		-8,1	-3,1	6,9	
<b>a<sub>33</sub></b>			1,4	4,9	-2,1	-1,8		-12,6
<b>R<sup>2</sup></b>	0,942	0,954	0,910	0,908	0,966	0,949	0,932	0,948



**Figura 5.64.** Contenido en  $\alpha$ -tocoferol, para los puntos centrales de la campaña 2008-09 (a) y los coeficientes independientes de los modelos de ambas campañas (b)

En las Tablas 5.126 y 5.127 se observa que los tres factores muestran una influencia positiva sobre la respuesta, pero esta es muy pequeña comparada con el término independiente, por lo que la variación en el contenido en  $\alpha$ -Tocoferol de los aceites se modifica poco durante la elaboración de estos. A modo de ejemplo y para poder observar la influencia de los factores, se ha elegido el modelo del experimento F de la campaña 2008-09 para representarlo en la Figura 5.65.



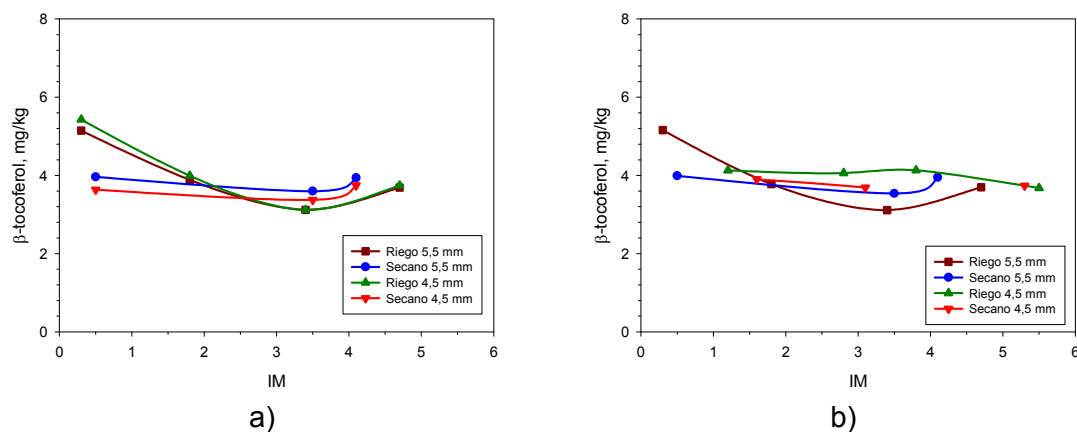
**Figura 5.65.** Superficie de respuesta del contenido en  $\alpha$ -tocoferol  
Campaña 2008-09, muestra F

En la Figura 5.65 se aprecia la influencia de la temperatura y el tiempo de batido y como se modifica la superficie debido a la interacción negativa entre factores y al término cuadrático, también negativo, de la temperatura. Para el talco, por

observación de la figura, se deduce que o bien el término principal es negativo y la interacción con la temperatura positiva o el nivel inferior es positivo y la interacción es negativa. En la figura se observa la pequeña variación que experimenta la respuesta con la variación de los factores.

### 5.2.2.24. Contenido en $\beta$ -Tocoferol

En la Figura 5.66.a se han representado, frente al índice de madurez, los puntos centrales de los experimentos realizados en la campaña 2008-09 con las cribas de 5,5 y 4,5 mm. En ella se observa que para aceites de secano la criba de 5,5 mm proporciona concentraciones mayores de  $\beta$ -Tocoferol, para la aceituna de regadío no se diferencian las cribas. Los aceites de secano, excepto a índices de madurez muy bajos, son mejores que los de regadío.



**Figura 5.66.** Contenido en  $\beta$ -tocoferol, para los puntos centrales de la campaña 2008-09 (a) y los coeficientes independientes de los modelos de ambas campañas (b)

En la Figura 5.66.b se ha representado los términos independientes de los modelos de las Tablas 5.128 y 5.129. Se observa que todos los aceites tienen niveles similares de  $\beta$ -Tocoferol, alrededor de 4, que parece ser constante con la maduración, aunque debe disminuir para maduraciones mayores a las estudiadas.

En las Tablas 5.128 y 5.129 se recogen los coeficientes, para factores codificados, de los modelos obtenidos, por ajuste de los resultados experimentales, en las campañas 2008-09 y 2009-10. De ellas se deduce que los tres factores tienen una influencia, mayoritariamente, positiva sobre la respuesta, pero poco significativa. Respecto de los niveles superiores, interacciones y cuadráticos, donde existen son de ambos signos y de coeficientes con valores similares a los niveles principales, por lo que modifican la acción de estos últimos, según sean los signos de cada uno de ellos.

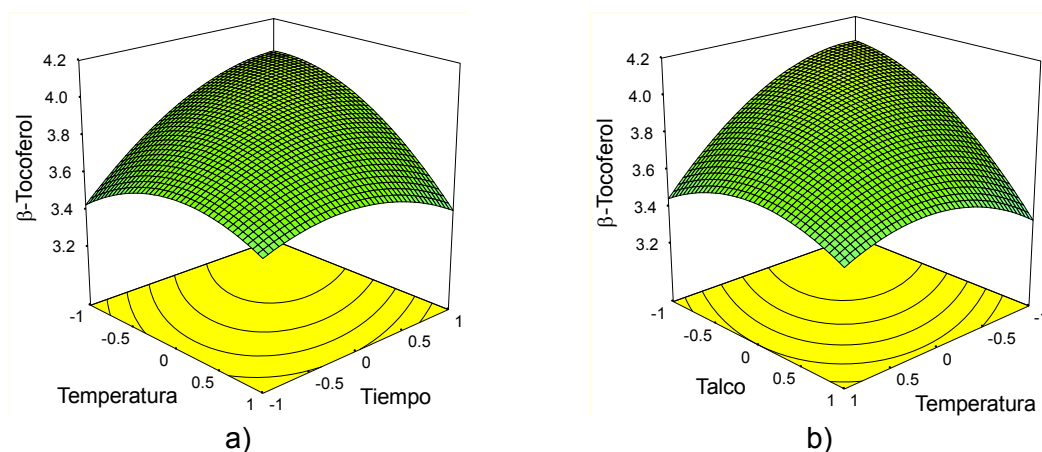
**Tabla 5.128.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta:  $\beta$ -Tocoferol  
Campaña 2008-09

IM	Riego					Secano		
	A (0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E (3,5)	G (4,1)
$a_0$	5,68	5,16	3,78	3,11	3,70	3,99	3,54	3,95
$a_1$	0,08	0,02	-0,10	0,91	0,19	-0,11	0,20	-0,89
$a_2$	0,31	0,72	0,15	0,03	0,10	0,43	0,14	-0,84
$a_3$	-2,27	0,22	0,04	-0,83	0,05	0,12	-0,02	0,12
$a_{12}$	2,63		0,28	-0,03	1,60	-0,18		-1,86
$a_{13}$		0,21		-0,06	-0,25	-0,09	-0,09	0,71
$a_{23}$	-2,68	-0,07	0,34	0,87	1,65		-0,09	-0,79
$a_{11}$	-0,37		0,14	0,52	-0,08	-0,15		0,42
$a_{22}$				0,19	-0,13		0,30	-0,68
$a_{33}$				-0,54	-0,06	-0,16	-0,13	
$R^2$	0,930	0,961	0,821	0,992	0,996	0,954	0,950	0,998

**Tabla 5.129.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta:  $\beta$ -Tocoferol  
Campaña 2009-10

IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
$a_0$	4,13	3,97	3,73	3,68	3,90	3,69		3,74
$a_1$	1,27	2,51	1,12	0,45	-0,12	0,11		-0,70
$a_2$	0,21	1,18	0,57	-0,40	0,12	0,08		0,27
$a_3$	1,16	-0,69	0,46	0,48	-0,17	-0,01		-0,02
$a_{12}$	-0,94	1,19		0,58	-0,18	0,05		0,26
$a_{13}$		-0,72	-0,37	-0,12	0,19	-0,12		
$a_{23}$	-1,13			0,34	0,25			-0,10
$a_{11}$	0,83	1,05	0,44	0,14	-0,16	0,10		-0,19
$a_{22}$		0,59	0,25	-0,34	-0,14	0,11		-0,14
$a_{33}$	-0,81	0,38	0,32	0,07	-0,15			
$R^2$	0,946	0,981	0,983	0,995	0,935	0,963		0,952

Como ejemplo, en la Figura 5.67 se ha representado el modelo obtenido para el experimento B de la campaña 2009-10.



**Figura 5.67.** Superficie de respuesta del contenido en  $\beta$ -tocoferol  
Campaña 2009-10, muestra B

En la Figura 5.67 se observa la pequeña influencia de la temperatura, tiempo y talco y como las interacciones y los términos cuadráticos son los que definen la superficie. Básicamente se observan las interacciones, negativa para temperatura-tiempo y positiva para temperatura-talco, y los términos cuadráticos negativos en todos los casos.

#### 5.2.2.25. Contenido en $\gamma$ -Tocoferol

En la Figura 5.68.a se han representado, frente al índice de madurez, el contenido en  $\gamma$ -Tocoferol de los aceites obtenidos para los puntos centrales con las cribas de 4,5 y de 5,5 mm, en la campaña 2008-09. Como se observa no existen diferencias entre los cultivos de secano y de regadío, ni entre las cribas utilizadas. Conforme aumenta el índice de madurez de las aceitunas, se incrementa el contenido en  $\gamma$ -tocoferol en los aceites.

En las Tablas 5.130 y 5.131 se muestran los coeficientes de los modelos determinados por ajuste de los datos experimentales del contenido en  $\gamma$ -tocoferol en los aceites de la campaña 2008-09 y 2009-10.

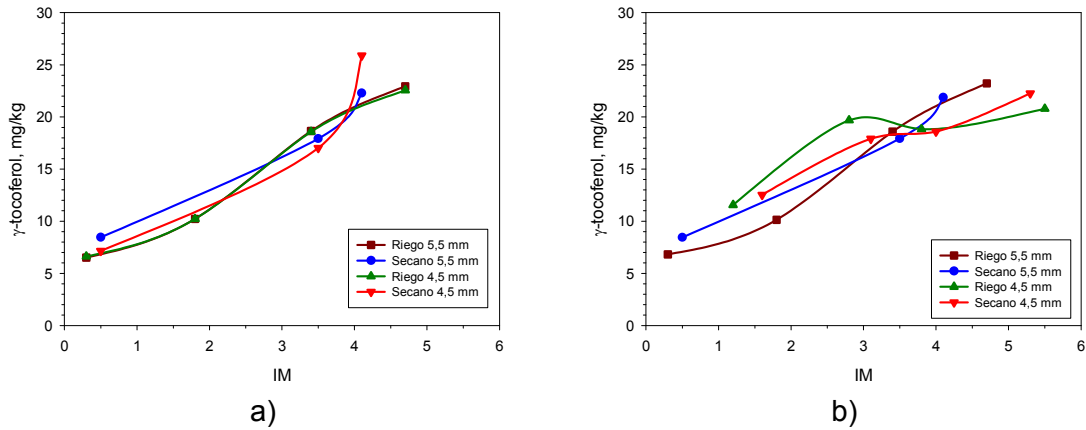
En la Figura 5.68.b se muestran los términos independientes de los modelos, para las campañas 2008-09 y 2009-10. De ella se deduce que no hay grandes diferencias entre campañas y tipos de cultivo, aumentando, en todos los casos, el contenido de  $\gamma$ -tocoferol con el índice de madurez

**Tabla 5.130.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta:  $\gamma$ -Tocoferol  
Campaña 2008-09

IM	Riego					Secano		
	A (0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E (3,5)	G (4,1)
<b>a<sub>0</sub></b>	6,91	6,82	10,13	18,60	23,22	8,45	17,93	21,87
<b>a<sub>1</sub></b>	0,04	3,14	0,98	-0,35	0,55	-0,23	1,38	0,55
<b>a<sub>2</sub></b>	-0,44	-1,58	0,21	0,44	0,35	-0,45	0,41	1,88
<b>a<sub>3</sub></b>	0,87	0,32	0,14	-0,08	0,13	-0,15	-0,85	0,64
<b>a<sub>12</sub></b>			-0,61		-0,83	-1,10		-1,28
<b>a<sub>13</sub></b>	2,81	-1,22	-0,99	-0,22	-1,04	0,77	-1,00	-0,91
<b>a<sub>23</sub></b>	-0,65	1,44	0,87		-0,67	-0,65		0,75
<b>a<sub>11</sub></b>		2,09		0,27	-0,86	-0,51	-0,63	-0,60
<b>a<sub>22</sub></b>		-1,39	-0,22	-0,88	-0,86	0,74	0,46	0,60
<b>a<sub>33</sub></b>	-3,04		-0,15		-0,54	-0,19	0,59	0,52
<b>R<sup>2</sup></b>	0,955	0,978	0,984	0,952	0,899	0,996	0,961	0,984

**Tabla 5.131.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta:  $\gamma$ -Tocoferol  
Campaña 2009-10

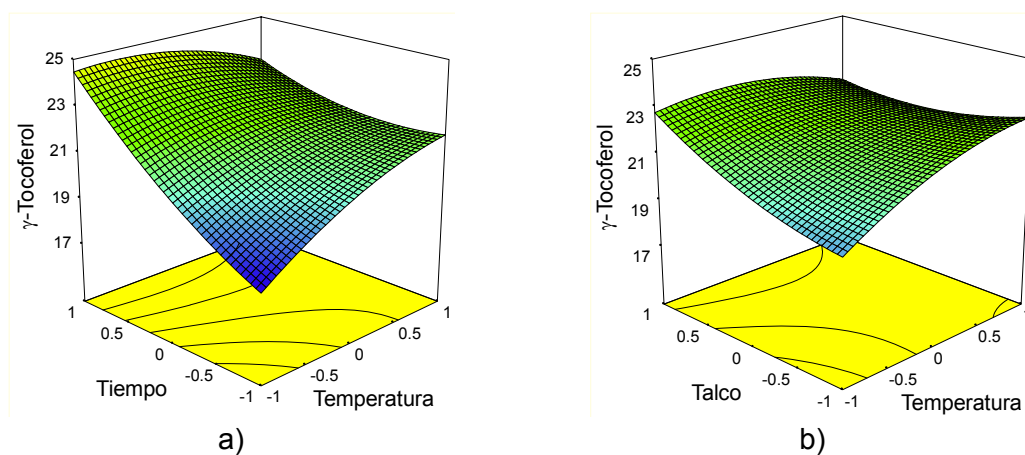
IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
<b>a<sub>0</sub></b>	11,55	19,69	18,83	20,79	12,53	17,91	18,60	22,26
<b>a<sub>1</sub></b>	0,24	0,37	0,16	0,79	-0,28	0,26	0,52	0,79
<b>a<sub>2</sub></b>	2,26	-0,18	1,10	0,16	0,19	0,16	0,36	-0,43
<b>a<sub>3</sub></b>		0,16	-0,22	-0,06	-0,02	-0,04	0,33	0,06
<b>a<sub>12</sub></b>	-0,43		-0,29	-0,54	0,16			
<b>a<sub>13</sub></b>			-0,60	0,85	-0,18	-0,41		
<b>a<sub>23</sub></b>			-1,16	0,66	-0,19			-0,53
<b>a<sub>11</sub></b>	0,56			-0,27	-0,27	0,09	1,01	-0,34
<b>a<sub>22</sub></b>	1,25	-0,37	0,74		-0,25	-0,25	0,26	0,38
<b>a<sub>33</sub></b>		-0,32		-0,24			0,33	
<b>R<sup>2</sup></b>	0,982	0,892	0,968	0,925	0,908	0,946	0,864	0,960



**Figura 5.68.** Contenido en  $\gamma$ -tocoferol, para los puntos centrales de la campaña 2008-09 (a) y los coeficientes independientes de los modelos de ambas campañas (b)

En las Tablas 5.130 y 5.131, para los niveles principales de los modelos se deduce que los factores temperatura y tiempo tienen una influencia positiva en la mayoría de los modelos de ambas campañas. Respecto de la dosis de coadyuvante, esta alterna el signo entre unos experimentos y otros. Las interacciones entre factores son mayoritariamente negativas, por lo que aumentará la acción de un factor a valores bajos del otro y la aumentará para los valores altos. Los términos cuadráticos son mayoritariamente de signo negativo por lo que marcarán máximos en las superficies.

En la Figura 5.69 se muestra el modelo obtenido para la muestra G de la campaña 2008-09.

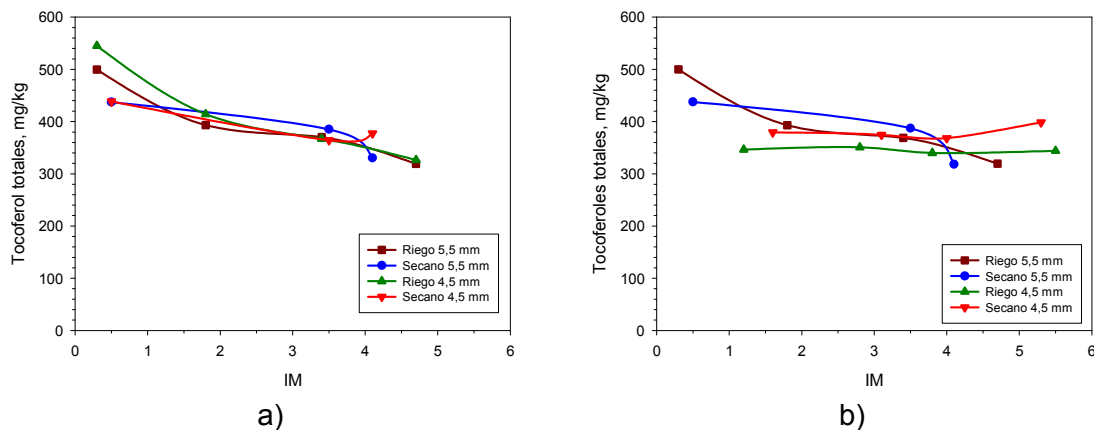


**Figura 5.69.** Superficie de respuesta del contenido en  $\gamma$ -tocoferol Campaña 2008-09, muestra G

En ella se observa el aumento de la respuesta con la temperatura y con el tiempo, así como la interacción negativa entre ellos. Por la curvatura de la superficie se observa que la temperatura tiene un término cuadrático negativo, y positivo para el tiempo. Respecto del talco se observa influencia positiva con interacción negativa con la temperatura, la influencia se incrementa a valores bajos de temperatura y disminuye a los altos, y curvatura positiva.

### 5.2.2.26. Contenido en tocoferoles totales

En la Figura 5.70.a se han representado los valores obtenidos para los puntos centrales, realizados para los dos tamaños de criba, frente al índice de madurez, y los términos independientes de los modelos, Tablas 5.132 y 5.133, para ambas campañas.



**Figura 5.70.** Contenido en tocoferoles totales, para los puntos centrales de la campaña 2008-09 (a) y los coeficientes independientes de los modelos de ambas campañas (b)

En la Figura 5.70.b no se aprecian diferencias entre cribas ni entre cultivos, secano y regadío, y sí un descenso con la maduración. Tampoco se observan diferencias porque las aceitunas sean de distintas campañas, aunque para la campaña 2009-10 se aprecia que los aceites de secano contienen más tocoferoles que los de regadío.

En las Tablas 5.132 y 5.133 se muestran los coeficientes, para factores codificados, de los modelos obtenidos para las campañas 2008-09 y 2009-10.

**Tabla 5.132.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Tocofer. Totales Campaña 2008-09

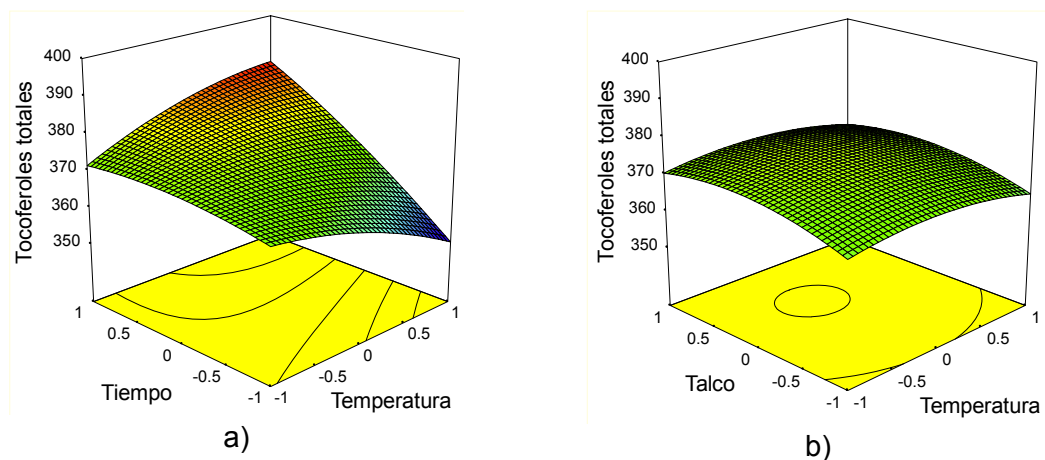
IM	Riego					Secano		
	A (0,3)	B (0,3)	D (1,8)	F (3,4)	H (4,7)	C (0,5)	E (3,5)	G (4,1)
<b>a<sub>0</sub></b>	540,8	499,8	393,0	368,9	319,5	437,55	387,2	318,10
<b>a<sub>1</sub></b>	0,8	34,7	11,9	12,2	10,4	-6,21	2,5	0,35
<b>a<sub>2</sub></b>	5,4	2,9		6,9	6,9	1,42	2,8	6,94
<b>a<sub>3</sub></b>	10,9	7,7	1,7		5,7	0,54	-1,8	6,24
<b>a<sub>12</sub></b>					-17,4	6,01		-8,39
<b>a<sub>13</sub></b>			4,1		-19,4	6,04	-6,0	-1,80
<b>a<sub>23</sub></b>	10,0				-16,6	9,46	-4,5	-2,29
<b>a<sub>11</sub></b>	4,6	17,8	19,2	-18,4	3,7	5,03	-14,5	15,00
<b>a<sub>22</sub></b>	-6,0	-6,4			-9,6	1,86		
<b>a<sub>33</sub></b>					-3,2	-1,75	4,4	3,14
<b>R<sup>2</sup></b>	0,867	0,950	0,933	0,881	0,911	0,958	0,927	0,986

**Tabla 5.133.** Coeficientes de los factores codificados. Respuesta: Tocofer. Totales Campaña 2009-10

IM	Riego				Secano			
	A (1,2)	C (2,8)	E (3,8)	G (5,5)	B (1,6)	D (3,1)	F (4,0)	H (5,3)
<b>a<sub>0</sub></b>	346,4	358,58	334,23	344,1	379,4	374,6	368,3	398,5
<b>a<sub>1</sub></b>	5,1	0,69	-4,41	0,9	-2,7	-0,8	14,3	8,8
<b>a<sub>2</sub></b>	6,7	10,53	4,01	3,6	6,1	9,8	2,5	6,2
<b>a<sub>3</sub></b>	2,7	7,77	-0,38	-2,2	2,2	2,0		7,8
<b>a<sub>12</sub></b>		8,21		2,0		8,3	-14,1	
<b>a<sub>13</sub></b>		6,53		-3,0	2,0		5,9	-4,7
<b>a<sub>23</sub></b>	-4,0	-1,38	1,85					
<b>a<sub>11</sub></b>	-4,5	-2,54			-4,9	-3,1		-6,4
<b>a<sub>22</sub></b>		-1,77	4,77	-2,2	-6,6	-2,2		
<b>a<sub>33</sub></b>	-2,1	-5,32	1,77	17,3		-3,8		-12,7
<b>R<sup>2</sup></b>	0,943	0,971	0,982	0,955	0,949	0,948	0,736	0,947

En las Tablas 5.132 y 5.133 se observa que los tres factores estudiados tienen influencia positiva, en la mayoría de los casos. Respecto de los niveles superiores, interacciones y términos cuadráticos, según sea su signo respecto del nivel inferior y el valor de su coeficiente pueden modificar las tendencias y curvar más o menos la superficie.

En la Figura 5.71 se representa, a modo de ejemplo, la superficie de respuesta del modelo de tocoferoles totales obtenido para los aceites de la muestra de aceitunas D de la campaña 2009-10.



**Figura 5.71.** Superficie de respuesta del contenido en Tocoferoles totales  
Campaña 2009-10, muestra D

En ella se observa la influencia negativa de la temperatura, a tiempos de batidos bajos, y positiva a tiempos de batido altos, lo cual es indicativo de que hay interacción positiva. El coeficiente de los niveles principales puede ser positivo, a valores bajos de un factor la acción del otro disminuye y a valores altos aumenta, o negativo, por lo que a valores bajos de un factor la acción negativa del otro se incrementa y a los altos la acción negativa disminuye o puede hacerse positiva. Del talco solo es significativo el término cuadrático de coeficiente negativo, curvatura hacia abajo y por consiguiente marcando un máximo.



### 5.3. APLICACIÓN DE LOS MODELOS

Una vez obtenidos los modelos en el Apartado 5.2.2 deben aplicarse a casos concretos que informen de las mejores condiciones de molturación y batido en función de la aplicación que se les vaya a dar a los aceites.

Para aplicar los modelos se ha pensado en utilizar dos, uno de seco y otro de regadío, que estén localizados en las proximidades de los máximos observados en el Apartado anterior, alrededor del envero (3,5 para aceituna de la variedad Picual). Dado que la criba del molino no es un factor determinante, aunque en algunas respuestas pueda ser significativa; y que los aceites, de regadío y de seco, de las campañas cuyo año agronómico haya sido bastante lluvioso y sin problemas climatológicos, o sea, con un desarrollo normal de todas las etapas por las que pasa el fruto hasta que es recogido del árbol, son muy similares entre sí y con muy pequeñas diferencias, como es el caso de la campaña 2009-10; se ha pensado en seleccionar dos modelos de la campaña 2008-09, uno de regadío y otro de seco, en la que sí hubo sequía y las diferencias entre los dos aceites son mayores.

Los modelos seleccionados para hacer la simulación de todas las respuestas estudiadas en función de los factores tecnológicos aplicados son los correspondientes a las muestras E y F de la campaña 2008-09 (Tabla 5.2), el primero de seco y el segundo de regadío y con índices de madurez de 3,5 y 3,4 respectivamente. En las Tablas 5.134 y 5.135 se muestran los resultados de aplicar diferentes valores de los factores a los modelos obtenidos para cada respuesta en los experimentos E y F de la campaña 2008-09.

En las Tablas 5.134 y 5.135 se observa que el talco incrementa el rendimiento de extracción, disminuye el contenido en polifenoles totales determinados espectrofotométricamente y no es significativo para los polifenoles totales por determinación cromatográfica.

El tiempo incrementa el rendimiento de extracción y los polifenoles cromatográficos y disminuye los espectrofotométricos.

Y la temperatura no influye sobre el rendimiento, aunque entre 25 y 30 °C muestra un máximo, e incrementa todos los polifenoles. Como inconveniente principal está que disminuye la calidad de los aceites.

Según las Tablas, si el objetivo es obtener aceites ricos en antioxidantes la combinación de factores C sea la idónea, quizás con el talco al 0,5 %, pero si se quieren aceites de calidad con un contenido en antioxidantes aceptable la opción G es la que se debe elegir.

**Tabla 5.134.** Respuestas de los modelos del experimento E (2008-09). Secano

<b>Temp., °C</b>	20	20	60	60	40	40	25
<b>Tiempo, min</b>	60	60	60	20	40	40	60
<b>Talco, %</b>	0,5	2	2	2	2	0,5	2
	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>	<b>E</b>	<b>F</b>	<b>G</b>
<b>R<sub>s</sub></b>	33,33	33,55	33,28	31,34	34,16	32,25	34,27
<b>IA</b>	0,17	0,21	0,24	0,24	0,24	0,22	0,21
<b>IP</b>	3,51	4,64	4,29	4,75	3,90	4,52	4,48
<b>K<sub>270</sub></b>	0,16	0,15	0,24	0,25	0,24	0,25	0,17
<b>K<sub>232</sub></b>	1,57	1,51	1,96	1,85	1,63	1,69	1,57
<b>Clrf</b>	39,46	40,21	110,34	79,74	68,13	67,38	45,79
<b>Crd</b>	13,99	15,21	35,06	26,31	23,97	24,05	16,81
<b>PTE</b>	825,61	766,05	1091,59	1337,02	1068,29	1145,86	806,74
<b>ODF</b>	98,56	97,95	208,10	264,43	144,16	144,77	97,94
<b>Hy</b>	9,21	8,24	9,47	10,60	8,32	8,36	8,06
<b>Ty</b>	7,69	6,72	7,22	6,34	5,51	5,99	6,44
<b>VCO</b>	2,14	1,51	1,00	0,85	1,07	1,53	1,39
<b>VNA</b>	0,20	0,15	0,98	0,50	0,30	0,29	0,21
<b>pCOU</b>	1,74	1,40	1,20	1,07	1,04	1,22	1,33
<b>Hy-EDA</b>	372,35	372,35	1005,59	874,05	637,75	637,75	425,85
<b>PR</b>	3,14	2,88	4,40	3,39	3,37	3,64	3,07
<b>Ty-EDA</b>	32,38	36,85	312,93	157,24	145,72	141,25	71,36
<b>LTNA</b>	40,65	35,75	27,03	26,26	23,46	24,80	32,76
<b>CNCO</b>	1,19	1,36	0,32	1,76	1,38	1,22	1,28
<b>APR</b>	18,63	18,63	11,58	17,39	16,00	16,00	17,75
<b>APG</b>	6,17	7,22	5,13	8,23	10,30	9,24	7,74
<b>Hy-EA</b>	99,10	99,10	856,44	362,65	215,10	215,10	153,15
<b>Ty-EA</b>	85,13	35,38	334,72	169,70	97,93	118,60	58,41
<b>PTCL</b>	676,13	676,13	2647,79	1651,82	1168,80	1168,80	834,28
<b>ATCO</b>	350,60	371,11	360,86	350,03	368,58	363,36	374,71
<b>BTCO</b>	3,67	3,64	3,85	3,75	3,39	3,43	3,66
<b>GTCO</b>	17,24	17,53	18,29	17,47	17,67	19,38	17,90
<b>TCOT</b>	377,61	377,06	370,00	373,43	389,80	393,38	382,54

**Tabla 5.135.** Respuestas de los modelos del experimento F (2008-09). Riego

Temp., °C	20	20	60	60	40	40	25
Tiempo, min	60	60	60	20	40	40	60
Talco, %	0,5	2	2	2	2	0,5	2
	A	B	C	D	E	F	G
<b>R<sub>s</sub></b>	28,35	28,76	29,04	26,29	27,82	26,39	28,80
<b>IA</b>	0,22	0,20	0,28	0,27	0,24	0,25	0,20
<b>IP</b>	2,69	4,02	4,26	2,85	4,69	4,33	4,30
<b>K<sub>270</sub></b>	0,18	0,17	0,27	0,30	0,23	0,23	0,18
<b>K<sub>232</sub></b>	1,53	1,42	1,92	1,97	1,77	1,72	1,49
<b>Clrf</b>	40,93	39,09	115,67	84,26	59,07	55,34	43,68
<b>Crd</b>	14,58	12,99	36,45	28,27	20,13	19,81	14,42
<b>PTE</b>	1032,42	800,65	1320,59	1342,63	915,48	951,15	851,22
<b>ODF</b>	109,80	92,82	238,92	237,91	163,48	138,83	105,34
<b>Hy</b>	9,61	9,01	7,49	13,48	10,13	9,39	8,52
<b>Ty</b>	5,46	6,87	6,24	5,92	5,94	5,73	6,44
<b>VCO</b>	1,97	2,14	1,07	1,13	1,17	1,28	1,88
<b>VNA</b>	0,13	0,19	0,88	0,39	0,31	0,28	0,25
<b>pCOU</b>	1,99	1,86	1,29	1,57	1,42	1,44	1,71
<b>Hy-EDA</b>	461,96	403,98	923,69	952,43	656,86	714,84	450,08
<b>PR</b>	2,63	3,18	4,42	3,48	3,12	3,10	3,15
<b>Ty-EDA</b>	54,54	54,54	326,23	168,61	133,41	133,41	81,73
<b>LTNA</b>	37,55	37,55	23,10	29,64	24,59	24,59	33,20
<b>CNCO</b>	1,27	1,20	0,65	1,53	1,24	1,31	1,17
<b>APR</b>	17,73	19,06	11,49	18,88	16,15	18,11	18,12
<b>APG</b>	7,88	7,88	4,36	5,88	5,59	5,59	7,00
<b>Hy-EA</b>	-36,27	71,92	668,87	377,40	226,50	177,76	110,73
<b>Ty-EA</b>	-12,82	27,75	322,91	154,15	106,78	101,61	49,36
<b>PTCL</b>	432,90	646,09	2353,12	1723,42	1199,62	1139,38	778,48
<b>ATCO</b>	345,68	325,80	348,26	359,49	350,18	346,47	334,68
<b>BTCO</b>	3,23	3,44	3,28	3,32	1,74	3,40	3,19
<b>GTCO</b>	18,64	18,93	17,79	16,92	18,52	18,68	18,66
<b>TCOT</b>	345,21	345,21	369,64	355,73	368,88	368,88	356,31



## **6. CONCLUSIONES**

---



Del trabajo realizado se obtienen las siguientes conclusiones:

1. El porcentaje de aceite extraído de las aceitunas es función casi lineal, hasta el envero, del grado de maduración e independiente de la criba usada. El tiempo de batido, la dosis de talco y la temperatura, por este orden, son los factores que se deben incrementar para mejorar los rendimientos. La climatología tiene una gran influencia sobre el contenido graso del fruto.
2. Para frutos recogidos directamente del árbol, el tamaño de criba y la maduración de la aceituna no influyen sobre la acidez de los aceites. La temperatura de batido incrementa el grado de acidez por lo que se debe trabajar lo más en frío posible. El tiempo y el talco no influyen sobre este parámetro.
3. El índice de peróxidos se incrementa con la temperatura y el tiempo de batido. El coadyuvante no influye significativamente.
4. EL  $K_{232}$  y el  $K_{270}$  se incrementan con la temperatura. El tiempo de batido parece disminuir ligeramente el  $K_{270}$ .
5. Los aceites procedentes de secano contienen más pigmentos fotosintéticos que los de regadío. La disminución del tamaño de la criba permite obtener aceites más coloreados, sobre todo en aceitunas tempranas. La maduración de la aceituna influye negativamente en la pigmentación de los aceites, en cambio, los tres factores estudiados incrementan la coloración, siendo el más importante la temperatura.
6. Los aceites de secano, por lo general, presentan mayor contenido en polifenoles que los de regadío. La criba de 4,5 mm proporciona aceites con mayor contenido en polifenoles. Estos se incrementan con la temperatura y disminuyen con el tiempo de batido.
7. El contenido en hidroxitirosol y tirosol es mayor en los aceites de secano y ligeramente mejor si se emplea la criba de 4,5 mm. El tiempo y la temperatura de batido influyen negativamente en años secos y positivamente en los de abundantes lluvias, aunque muy ligeramente en ambos casos. Su concentración se incrementa con la maduración del fruto hasta un valor máximo cercano al envero.
8. Los ácidos fenólicos, vanílico, p-coumárico y cinnámico, se ven negativamente influenciados por la temperatura y el tiempo de batido. Los aceites de riego tienen un mayor contenido de estos ácidos. Su composición desciende con la maduración.

9. Para el grupo de antioxidantes secoiridoides: Hy-EDA, Hy-EA, Ty-EDA y Ty-EA; la temperatura incrementa la respuesta, la acción del tiempo es variable y poco significativa. Son más ricos los aceites de secano obtenidos con la criba de 4,5 mm. El contenido varía ligeramente con la maduración, mostrando un máximo alrededor del envero.
10. Para la familia de los lignanos, pinosinol y (+)-1-acetoxipinosinol, la influencia de la temperatura y el tiempo de batido es positiva para el primero y negativa para el segundo, aunque para el primero la influencia del tiempo es poco significativa. Los aceites de secano contienen, ligeramente, más lignanos. Parece existir un máximo alrededor de 3,5 de índice de madurez.
11. La temperatura y el tiempo de batido influyen negativamente en la luteolina y apigenina. Estos compuestos disminuyen ligeramente con la maduración.
12. Los tocoferoles totales disminuyen con la maduración del fruto. La temperatura es el factor que más los incrementa, el tiempo los aumenta ligeramente.
13. Con el objetivo de obtener aceites ricos en antioxidantes, se deben utilizar aceitunas de secano, molturadas con la criba de 4,5 mm, con índices de madurez entre 3,5 y 4 y temperatura elevada.
14. Si el objetivo son aceites de elevada calidad y con un contenido en antioxidantes aceptable se debe trabajar en condiciones similares al punto anterior, a bajas temperaturas y elevados tiempos de batido y usar coadyuvante.

## **7. NOMENCLATURA**

---



---

A	Acidez, % en ácido oléico
$A_\lambda$	Absorbancia a la longitud de onda lambda
C	Concentración molar, mol/L
C	Dosis de coadyuvante empleado. Ecuación 5.1
$C_a$	Concentración de la disolución de aceite, g/100mL
$C_p$	Concentración de pigmento en la muestra de aceite, mg/kg <sub>aceite</sub>
e	Paso de luz de la cubeta, cm.
H	Humedad de la pasta de aceituna, %
$H_i$	Humedad de la muestra de aceituna i. Ecuación 5.3
$k_\lambda$	Extinción específica a la longitud de onda lambda
$k_m$	Extinción específica a la longitud de onda m de máxima absorción
m	Longitud de onda de máxima absorción
M	Peso molecular del ácido oléico, g/mol
$m_a$	Masa de aceite extraído, g. Ecuación 4.3
$m_a$	Masa de la muestra de aceite, g. Ecuación 4.5
$m_h$	Masa de la muestra (pasta u orujo) húmeda, g
$m_p$	Masa de la pasta de aceituna
$m_s$	Masa de la muestra (pasta u orujo) seca, g
N	Normalidad de la disolución, Eq/L
R	Rendimiento de extracción de aceite, %
$R^2$	Coefficiente de determinación
$R_{Hi}$	Rendimiento de extracción en base húmeda de la muestra de aceituna i, %
$R_s$	Contenido graso en base seca, %
$R_{si}$	Rendimiento de extracción en base seca de la muestra de aceituna i, %
rpm	Revoluciones por minuto
T	Temperatura de batido de la pasta, °C

t	Tiempo de batido de la pasta, min
V	Volumen de reactivo gastado, mL
V <sub>a</sub>	Volumen de aceite obtenido, mL
V <sub>0</sub>	Volumen de reactivo gastado, mL
V <sub>f</sub>	Volumen final de la disolución, mL
Y	Respuesta a estudiar

### LETRAS GRIEGAS

$\Delta k$	Parámetro de calidad del aceite
$\rho$	Densidad del aceite, g/cm <sup>3</sup>
$\beta_0$	Coefficiente de intercepción de un modelo cuadrático o lineal, de ajuste de datos
$\beta_i$	Coefficiente lineales de un modelo cuadrático, o lineal, de ajuste de datos
$\beta_{ij}$	Coefficiente de interacción de un modelo cuadrático, o lineal, de ajuste de datos
$\beta_{ii}$	Coefficientes cuadráticos de un modelo cuadrático de ajuste de datos
$\varepsilon_{1\%}$	Absorbancia específica de una disolución al 1%
$\varepsilon$	Error observado en la respuesta

**ABREVIATURAS**

AGPI	Ácidos grasos poliinsaturados
AVO	Aceite de oliva virgen
ANOVA	Análisis de varianza
APG	Apigenina
APR	Acetoxy-pinoresinol
ATCO	$\alpha$ -Tocoferol
BTCO	$\beta$ -Tocoferol
CCR	Central compuesto rotable
CNCO	Ácido cinnámico
CLA	Ácido linoleico conjugado
Clrf	Clorofilas
COI	Consejo Oleícola Internacional
Crd	Carotenoides
CV	Caballos de vapor
DEE	Diseño estadístico de experimentos
3,4-DHPEA	Hidroxitirosol (3,4-dihidroxi-feniletanol)
3,4-DHPEA-EDA	Forma dialdehídica del ácido elenólico unido al hidroxitirosol
3,4-DHPEA-EA	Oleuropeina aglucona
EOO	1-estearil-2,3 dioleil-glicerol
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura
GTCO	$\gamma$ -Tocoferol
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
Hy	Hidroxitirosol. (3,4-dihidroxi-feniletanol)

Hy-EDA	Forma dialdehídica del ácido elenólico unido al Hy
Hy-EA	Oleuropeina aglicona
IA	Índice de acidez
IP	Índice de peróxidos
IM	Índice de madurez de las aceitunas
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
LOX	Lipoxygenasas
LTNA	Luteolina
MUFA	Ácidos grasos monoinsaturados
MSR	Metodología de superficies de respuesta
n-3 PUFA	Ácidos omega 3 poliinsaturados
OOO	Trioleil-glicerol
OOL	1,2-dioleil-3 linoleil-glicerol
ODF	Ortodifenoles
PAL	L-fenilalanina amonio lipasa
p-COU	Ácido p- coumárico
p-HPEA	Tirosol (p-hidroxi-feniletanol)
p-HPEA-EDA	Forma dialdehidica del ácido elenólico unida al tirosol
p-HPEA-EA	Ligustróxido aglicona
PPO	1,2 dipalmitil-3 oleil-glicerol
PPO	Polifenil oxidasa
POD	Peroxidasas
POL	1-palmitil-2 oleil-3 linoleil-glicerol
PR	Pinoresinol
PTE	Polifenoles totales determinados espectrofotométricamente
ROS	Especies reactivas de oxígeno

Ty	Tirosol (p-hidroxi-feniletanol)
Ty-EA	Ligustróxido aglicona
Ty-EDA	Forma dialdehídica del ácido elenóico unido al tirosol
TCTO	Tocoferoles totales
UV/VIS	Ultravioleta/visible
VCO	Ácido vanílico
VNA	Vanillina



## **8. BIBLIOGRAFÍA**

---



- 
- Agramont, A.; Llinas, M.; López-Sabater, C.; Boatella, J.; De la Torre, M.C. (1986). Evolution de la teneur en tocopherol et en tocotrienol pendant le murissage des olive. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. **70**, 419.
  - Aguilera, M.P. (2006). Influencia de las condiciones de batido de la pasta en los compuestos volátiles de oxidación del aceite de oliva virgen. Tesis Doctoral. Universidad de Jaén.
  - Aguilera, M.P.; Jiménez, A.; Beltrán; G. (2010). Condiciones de batido de la pasta de aceituna en frutos de Picual de recolección temprana. *Vida Rural*. (1/Noviembre/2010). 32-35.
  - Alba, J.; Muñoz, E.; Martínez, J.M. (1982). Obtention of olive oil use of additives facilitating its extraction. *Alimentaria*. **138**, 25-55.
  - Alba, J.; Hidalgo, F.; Ruíz, M.A.; Martínez, F.; Moyano, M.J.; Cert, A.; Pérez, M.C.; Ruíz, M.V. (1996). Características de los aceites de oliva de primera y segunda centrifugación. *Grasas y Aceites*. **47**, 163-181.
  - Alba, J.; Capogna, D.; Martinez, F.; Moyano, M.J.; Hidalgo, F.; Borja, R.; Graciani, E.; Ruíz, M.V. (2004). Elaboración del aceite de oliva virgen. En: *El Cultivo del Olivo*. Barranco, D.; Fernández-Escobar, R.; Rallo, L. (Eds.) 5ª Ed. 615-655. Mundi-Prensa. Madrid.
  - Alba Mendoza, José; Martínez Román, Fernando; Moyano Pérez, Mª José; Hidalgo Casado, Francisco. (2009). Tecnología de elaboración de aceite de oliva virgen. En: *Algunas contribuciones sobre Olivicultura y Elaiotecnia desde la perspectiva de la experiencia*. Vilar Hernández, Juan. Ed. Gea Westfalia Separator. Andaluciz, S.L.
  - Alter, M. y Gutfinger, T. (1982). Phospholipids in several vegetable oils. *Rivist. Italiana delle Sostanze Grasse*. **59**, 14.
  - Allogio, V.; Caponio, F.; De Leonardis, T. (1996). Influencza delle tecniche di preparazione della pasta de olive sulla qualità dell'olio. Profilo quali-quantitativo delle sostanze fenoliche, mediante HPLC in olio d'oliva vergine dell cv Ogliarola salentina. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. **73**, 355-360.
  - Amirante, R.; Cini, E.; Montel, G.L.; Pasqualone, A. (2001). Influence of mixing and extraction parameters on virgin oil quality. *Grasas y Aceites*. **52**, 196.
  - Amirante, P.; Dugo, G.; Gomes, T. (2002). Influencia de la innovación tecnológica en la mejora de la calidad del aceite de oliva virgen extra. *Olivae*. **93**, 34-42.
  - Andrewes, P.; Busch, J.; De Joode, T.; Groenewegen, A.; Alexandre, H. (2003). Sensory properties of virgin olive oil polyphenols: identification of Deacetoxy-ligstroside aglicon as a key contributor to pungency. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **51**, 1415-1420.

- Angerosa, F.; Solinas, M. (1990). Influenza della frangitura sulle caratteristiche di qualità dell'olio di oliva. *Atti del Seminario Internazionale Olio di oliva e olive ditavola tecnologia e qualità*. Ed. Ist. Sper. Elaiotacnia. Citta S. Angelo. (Italia). 135-146.
- Angerosa, F.; Di Giacinto, L. (1993). Oxidation des huelles d'olive vierges par les metaux: manganèse et nickel. Note I. *Revue Française des Corps Gras*. 40 année. **1, 2**, 41.
- Angerosa, F.; Di Giacinto, L. (1995). Caratteristiche di qualità dell'olio di oliva vergine in relazione ai metodi di frangitura. Nota II. *La Revista Italiana delle Sostanze Grasse*. **72**, 1.
- Angerosa, F.; d'Alessandro, N.; Corana, F.; Mellerio, G. (1996). Characterization of phenolic and secoiridoid aglycons present in virgin olive oil by gas chromatography-chemical ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. **736**, 195-203.
- Angerosa, F.; Mostallino, R.; Basti, C.; Vito, R. (2001). Influence of malaxation temperature and time on the quality of virgin olive oils. *Food Chemistry*. **72**, 19-28.
- Aparicio, R.; Harwood, J. (2003). Manual del aceite de oliva. A. Madrid Vicente Ediciones. Mundi-Prensa. Madrid.
- Artajo, L.S.; Romero, M.P.; Suarez, M.; Motilva, M.J. (2006). Partición of phenolic compounds during the virgin olive oil industrial extraction process. *European Food Research and Technology*. **225**, 617-625.
- Artajo, L.S.; Romero, M.P.; Tovar, M.J.; Motilva, M.J. (2006). Effect of irrigation applied to olive trees (*Olea europea* L.) on phenolic compound transfer during olive extraction. *European Journal of Lipid Science and Technology*. **108**, 19-27.
- Artajo, L.S.; Romero, M.P.; Suárez, M.; Motilva, M.J. (2007). Partition of phenolic compounds during the virgin olive oil industrial extraction process. *European Food Research and Technology*. **225**, 617-625.
- Baldioli, M.; Servili, M.; Peretti, G.; Montedoro, G.F. (1996). Antioxidant activity of tocopherols and phenolic compounds of virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists Society*. **73**, 1589-1593.
- Bays, H.E.; Dujovne, C.A. (1993). Antioxidant in the treatment and prevention of atherosclerotic cardiovascular disease. *Clinica e Investigación. Arteriosclerosis*. **42**, 498-506.
- Beauchamp, G.K.; Keast, R.S.J.; Morel, D.; Lin, J.; Pika, J.; Han, Q.; Lee, C.H.; Smith, A.B.; Breslin, P.A.S. (2005). Ibuprofen-like activity in extra-virgin olive oil. *Nature*. **437** (7055), 45-46.

- 
- Beltrán, G.; Jiménez, A.; Uceda, M. (1995). Efecto del régimen hídrico sobre la fracción fenólica del aceite de oliva variedad "Arbequina". 1<sup>er</sup> Simposi de L`Olivera Arbequina a Catalunya. Les Borges Blanques, Lleida.
  - Beltrán, G.; Jiménez, A.; Aguilera, M.P.; Uceda, M. (2000). Análisis mediante HPLC de la fracción fenólica del aceite de oliva virgen de la variedad "Arbequina". Relación con la medida del amargor  $K_{225}$  y la estabilidad. *Grasas y Aceites*. **51**, 320.
  - Beltrán, G.; Aguilera, M.P.; del Rio, C.; Sánchez, S.; Martínez, L. (2005). Influence of fruit ripening on the natural antioxidant content of Hojiblanca virgin olive oils. *Food Chemistry*. **89**, 207-215.
  - Berenger, M.J.; Gracia, M.S.; Espada, J.L. (2006). Calidad del aceite de oliva cv. Arbequina bajo suministro variable de riego en Aragon. *Actas XIX Congreso Nacional de Riegos*. Zaragoza. 61-63.
  - Bocci, F.; Frega, N.; Lercker, G. (1992). Preliminary research on volatile extra virgin olive oil components. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. **69**, 611.
  - Boskou, D.; Stephanou, G.; Konstantinidis, M. (1983). Tetracosanol and hexacosanol content of greek olive oils. *Grasas y Aceites*. **34**, 402.
  - Boskou, D.; Vlachopoulou, J. (1986). On the level of steryl esters in olive oil. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. **19**, 156.
  - Boskou, D. (1996). Olive oil composition. En: Olive oil chemistry and technology. Boskou, D. Ed. AOCS Press. Champaign. Illinois.
  - Boskou, D. (1998). Química y Tecnología del aceite de oliva. Mundi Prensa. AMV Ediciones. Madrid.
  - Box, G.E.P.; Wilson, K.G. (1951). On the experimental attainment of optimum conditions. *Journal of the Royal Statistical Society*. **13** (1), 1-45.
  - Box, G.E.P.; Hunter, W. G.; Hunter, J.S. (2002). Estadística para investigadores: introducción al diseño de experimentos. Análisis de datos y construcción de modelos. Ed. Reverté. Barcelona.
  - Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, odietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*. **56**, 317-333.
  - Brenes, M.; Hidalgo, F.J.; García, A. *et al.* (2000). Ponoresinol and 1-acetoxypinoresinol, two new phenolic compounds identified in olive oil. *Journal of American Oil Chemists Society*. **77**, 715-720.
  - Brenes, M.; García, A.; García, P. *et al.*, (2001). Acid hydrolysis of secoiridoid aglycons during storage of virgin olive oil. *Journal Agriculture and Food Chemistry*. **49**, 5609-5614.

- Burton, G.W.; Ingold, U.K. (1986). Vitamin E: Application of the principles of physical organic chemistry to the exploration of its structure and function. *Accounts of Chemical Research*. **19**, 194-201.
- Cai, Y.Z.; Sun, M.; Xing, J.; Luo, Q.; Corke, H. (2006). Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Science*. **78**, 2872-2888.
- Calapaj, R.; Chiricosta, S.; Saija, G.; Binova, V. (1993). Evaluation of gas chromatographic and spectrophotometric analytical results to check the presence of seed oils in olive samples. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. **70**, 585.
- Camera, L.; Angerosa, F. (1978). The higher alcohols of olive oil. Their development with the progressive ripening of the olives. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. **55**, 138.
- Cañuelo, A.; Martínez, E.; Siles, E.; Martínez, R.; Peinado, M.A. (2011). El tirosol, un fenol presente en el aceite de oliva virgen extra, induce el aumento de la longevidad en un modelo animal. *XV Científico-Técnico del Aceite de Oliva (Expoliva 2011)*.
- Capella, P.; Fedeli, E.; Bonaga, G.; Lerker, G. (1997). *Manuale degli oli e dei grassi. Tecniche Nuove. Milano (Italy)*.
- Caponio, F.; Alloggio, V.; Gomes, T. (1999). Phenolic compounds of virgin olive oil: influence of pasta preparation techniques. *Food Chemistry*. **64**, 203-209.
- Caponio, F.; Catalano, P. (2001). Hammer crushers vs disk crushers: the influence of working temperature on the quality and preservation of virgin olive oil. *European Food Research and Technology*. **213**, 219-224.
- Caponio, F.; Gomes, T.; Summo, C.; Pasqualone, A. (2003). Influence of the type of olive-crusher use on the quality of extra virgin oils. *European Journal Lipid Science Technology*. **105**, 201-206.
- Carlsson, D. J.; Suprunchuk, T.; Wiles, H.M. (1976). Photooxidation of unsaturated oils. Effects of singlet oxygen quenchers. *Journal of the American Oil Chemists Society*. **53**, 656.
- Carluccio, M.A.; Siculella, L.; Ancora, M.A.; Massaro, M.; Scoditti, E.; Storelli, C.; Visioli, F.; Distanti, A.; De Caterina, R. (2003). Olive oil and red wine antioxidant polyphenols inhibit endothelial activation: Antiatherogenic properties of Mediterranean diet phytochemicals. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. **23** (4), 622-629.

- 
- Ceriello, A.; Mercuri, F.; Quagliari, L.; Assaloni, R.; Motz, E.; Tonutti, L.; Taboga, C. (2001). Detection of nitrotyrosine in the diabetic plasma: evidence of oxidative stress. *Diabetologia*. **44**, 834-838.
  - Cert, A.; Alba, J.; Pérez-Camino, M.C.; Hidalgo, F. (1999). Influencia de los sistemas de extracción sobre las características y los componentes menores del aceite de oliva virgen extra. *Olivae*. **79**, 41.
  - Cert, A.; Alba, J.; León, M.; Moreda, W.; Pérez, M.C. (1996). Effect of talc addition and operating mode on the quality and oxidative stability of virgin olive oils obtained by centrifugation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. **44**, 3930-3934.
  - Cinqunta, L.; Esti, M.; La Note, E. (1997). Evolution of phenolic compounds in virgin olive oil during storage. *Journal of the American Oil Chemists Society*. **74**, 1259-1264.
  - Cinqunta, L.; Esti, M.; Di Matteo, M. (2001). Oxidative stability of virgin olive oils. *Journal of the American Oil Chemists Society*. **78**, 1197-1202.
  - Civantos, L.; Contreras, R.; Grana, R. (1999). *Obtención del aceite de oliva virgen*. 2ª Ed. Editorial Agrícola Española. Madrid.
  - Civantos, L. (2009). La maduración de las aceitunas. En *Algunas contribuciones sobre Olivicultura y Elaiotécnica desde la perspectiva de la experiencia*. Vilar, J. Ed. Gea Wesfalia Separator Andalucía, S.L.
  - Codoceo, R.; Muñoz, R.A. (1999). Vitaminas liposolubles: vitaminas A, E y K, en Hernández M. Sastre, A. Ed. *Tratado de Nutrición*. 177-202. Díaz de Santos. Madrid.
  - Comisión de la Unión Europea (1991). Reglamento (CEE) nº 2568/91 relativo a las características de los aceites de oliva y de los aceites de orujo de oliva y sobre sus método de análisis. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*. L 248.
  - Comisión de la Unión Europea. (1993). Reglamento (CEE) nº 183/93 que modifica el Reglamento (CEE) nº 2568/91. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*. L 22/58.
  - Comisión Europea. (2001). Reglamento 1513/2001 que modifica el Reglamento (CEE) nº 2568/91. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*. L 201.
  - Comisión de la Unión Europea. (2011). Reglamento (CEE) nº 61/2011 que modifica el reglamento (CEE) nº 2568/91. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*. L178/11.
  - Consejo oleícola Internacional (1987). Valoración organoléptica del aceite de oliva virgen. T-20.

- Consejo Oleícola Internacional. (2003). Resolución RES-3/89-IV03 de 5 de diciembre de 2003.
- Conte, L.S.; Caboni, M.F.; Lercker, G. (1993). Olive oil produced in Romagna. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. **70**, 157.
- Coppens, P.; da Silva, M.F.; Pettman, S. (2006). European regulations on nutraceuticals, dietary supplements and functional foods: A framework base on safety. *Toxicology*. **221**(1), 57-74.
- Cross, C.E.; Halliwell, B.; Borish, E.T.; Pryor, W.A.; Ames, B.N.; Saul, R.L.; *et al.* (1987). Oxygen radicals and human disease. *Annals of Internal Medicine*. **107**, 526-545.
- De Lorgeril, M.; Salen, P.; Martín, J.L.; Monjaud, I.; Delaye, J.; Mamelle, N. (1999). Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction. *Circulation*. **99**, 779-785.
- De Sefano, G.; Piaquadio, P.; Servili, M.; Di Giovacchino, V. (1999). *Sciancalepore, Fat/Lipids*. 101.
- Deiana, M.; Rosa, A.; Cao, C.F.; Pirisi, F.M.; Bandino, G.; Dessi, A. (2002). Novel approach to study oxidative stability of extra virgin olive oils: importance of  $\alpha$ -tocopherol concentration. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. **50**, 4342-4346.
- Díaz Alonso, A.L.; Lovera Prieto, C.; Lobillos Rios, C. (1993). *Nuestro aceite de oliva*. Caja Provincial de ahorros de Córdoba. Córdoba.
- Di Giovacchino, L. (1991). L' estrazione dell'olio con la centrifugazione diretta delle paste di oliva. Nota: influenza della granulazione. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. **68**, 314-420.
- Di Giovacchino, L. (1991b). Extracción de aceite de oliva de las aceitunas por presión, centrifugación y percolación: efecto de las técnicas sobre los rendimientos del aceite de oliva. *Olivea*. **38**, 16.
- Di Giovacchino, L.; Sestili, S.; Di Vincenzo, D. (2002). Influence of olive processing on virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology*. **104**, 587-601.
- Di Giovacchino, L.; Constatini, N.; Ferrante, M.L.; Serraiocco, A. (2002a). Influence of malaxation time of olive paste on oil extraction yields of chemical and organoleptic characteristics of virgin olive oil obtained by a centrifugal decanter at water saving. *Grasas y Aceites*. **53**, 179-184.
- Di Giovacchino, L.; Sestili, S.; Di Vincenzo, D. (2002b). Influence of olive processing on virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology*. **104**, 587-601.

- 
- Diplock, A. T.; Aggett, P. J.; Ashwell, M.; Borner, F.; Fern, E. B.; Roberfroid, M.B. (1999). Scientific concepts of functional foods in Europe consensus document. *British Journal of Nutrition*. **81**, (4), S1-S27.
  - Driss, F.; Duranthon, V.; Viard, V. (1996). Effects biologiques des composés polyphénoliques de l'olivier. *Corps Gras*. **3**, 448.
  - Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*. **82**, 47-95.
  - EC (1993). *Official Journal of the Commission of the European Communities*. Regulation nº 183/93, L 22, 30 de enero de 1993.
  - Endo, Y.; Usuki, K.; Kaneda, T. (1984). Antioxidant effects of chlorophylls and their decomposition products on the photooxidation of methyl linoleate. *Journal of the American Oil Chemists Society*. **61**, 718.
  - Espínola, F. (1996). Cambios tecnológicos en la extracción del aceite de oliva virgen. *Alimentación, Equipos y Tecnología*. **15**, 51-58.
  - Espínola, F. (2000). Centrifugación de la pasta de aceituna para la obtención de aceite de oliva virgen. *Alimentación, Equipos y Tecnología*. **5**, 71-78.
  - Espínola, F. (2003). Cambios tecnológicos en la extracción del aceite de orujo de oliva. *Alimentación, Equipos y Tecnología*. **178**, 60-64.
  - Esterbauer, H.; Jurgens, D.; Quehenberger, O.; Koller, E. (1987). Autoxidation of human low density lipoprotein: loss of polyunsaturated fatty acids and vitamin E and generation of aldehydes. *The Journal of Lipid Research*. **28**, 495-509.
  - Fakourelis, N.; Lee, E.C.; Min, D.B. (1987). Effects of chlorophyll and  $\beta$ -carotene on the oxidation stability of olive oil. *Journal of Food Science*. **52**, 234.
  - Fanguin, J. (1990). Procedimientos para medir los resultados de la centrifugación. *Oleagineux*. **45**, 237-239.
  - Fedeli, E. (1977a). Lipids of olives. *Progress in the Chemistry of Fats and others Lipids*. **15**, 57.
  - Fedeli, E. (1996). Tecnología de la producción y de conservación del aceite. En la Enciclopedia mundial del olivo. COI. Plaza y Janés Eds. Barcelona.
  - Fernández, D.G. (2009). Modelado y optimización de las principales etapas del proceso de elaboración de aceite de oliva virgen. Investigación de nuevos coadyuvantes tecnológicos. Tesis Doctoral. Universidad de Jaén.

- Ficarra, P.; Ficarra, R.; De Pasquale, A.; Monforte, M.T.; Calabro, M.L. (1991). HPLC analysis of oleuropein and some flavonoids in leaf and bud of *Olea europaea* L. II *Farmaco*. **46**, 803.
- Fini, L.; Hotchkiss, E.; Fogliano, V.; Graziani, G.; Romano, M.; De Vol, E.B.; Qin, H.; Selgrad, M.; Boland, C.R.; Ricciardiello, L. (2008). Chemopreventive properties of pinoretinol-rich olive oil involve a selective activation of the ATM-p53 cascade in colon cancer cell lines. *Carcinogenesis*. **29** (1), 139-146.
- Fitó, M.; Covas, M.I.; Lamuela-Raventós, R.M.; Vila, J.; Torrents, J.; de la Torre, C.; Marrugat, J. (2000). Protective effect of olive oil and its phenolic compounds against low density lipoprotein oxidation. *Lipids*. **35** (6), 633-638.
- Fitó, M. (2003). Efectos antioxidantes del aceite de oliva y de sus compuestos fenólicos. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona.
- Flebes, C.; Soto, C.; Saldaña, A.; García, B. (2002). Funciones de la vitamina E. *Revista Cubana de Estomatología*. **40**, 28-32.
- Frankel, E.N. (1996). Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. *Food Chemistry*. **57**, 51-55.
- Gandul, B.; Mínguez, M.I. (1996). Chlorophyll and carotenoid composition in virgin olive oils from various Spanish olive varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **72**, 31-39.
- García, J.M.; Gutiérrez, F.; Castellano, J.M. Perdiguero, S.; Morillo, A.; Albi, M.A. (1996). Influence of storage temperature on fruit ripening and olive oil quality. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. **44**, 264.
- García, J.M.; Yousfi, K.; Mateos, R.; Olmo, M.; Cert, A. (2001). Reduction of oil bitterness by heating of olive (*Olea europaea*) fruits. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. **49**, 4231-4235.
- García, A. (2003). Caracterización, cuantificación y transformaciones de los compuestos fenólicos en aceite de oliva virgen. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla.
- Gennaro, L.; Piciola, A.; Modesti, D.; Masella, R.; Coni, E. (1998). Effect of biophenols on olive oil stability evaluated by thermogravimetric analysis. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. **46**, 4465-4469.
- Gerald, F.; Combs, J.R. (1992). The vitamins fundamental aspects in nutrition and health. Academic Press Inc. San Diego. (California).
- Gimeno, E. (2004). Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. *Ámbito Farmacéutico. Nutrición*. **23**, 80-84. Nº 6.

- 
- González, M.P. (2005). Estudio de los efectos cardiovasculares y la absorción oral del hidroxitirosol en modelos animales y humanos. Tesis Doctoral. Unuversidad de Granada.
  - Gómez-Rico, A.; Salvador, M.D.; La Creta, M.; Fregapane, G. (2006). Phenolic and Volatile Compounds of Extra Virgin Olive Oil (*Olea europea* L. Cv. Cornicabra) with Regard to Fruit Ripening and Irrigation Management. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **54**, 7130-7136.
  - Gómez-Rico, A.; Salvador, M.D.; Moriana, A.; Pérez, D.; Olmedilla, N.; Rivas, F.; Fregapane, G. (2007). Influence of different irrigation in strategies in a traditional Cornicabra cv. Olive orchard on virgin olive oil composition and quality. *Food Chemistry*. **100**, 568-578.
  - Gómez-Rico, A.; Fregapane, G.; Salvador, M.D. (2008). Effect of cultivar and ripening on minor components in Spanish olive fruits and their corresponding virgin olive oils. *Food Research International*. **41**, 433-440.
  - Gómez-Rico, A.; Salvador, M.D.; Fregapane, G. (2009). Virgin olive oil and olive fruit minor constituents as affected by irrigation management base don SWP and TDF as compared to ET<sub>c</sub> in médium-density Young olive orchards (*Olea europaea* L. cv. Cornicabra and Morisca). *Food Rcheseah International*. **42**, 1067-1076.
  - Gomez-Rico, A.; Inarejos-García, A.M.; Salvador, M.D.; Fregapane, G. (2009). Effect of Malaxation Conditions on Phenol and Volatile Profiles in Olive Paste and tha Corresponding Virgin Olive Oils. (*Olea erropaea* L. Cv. Cornicabra). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **57**, 3587-3595.
  - Gómez, A.M. (2009). Caracterización de alimentos funcionales mediante metologías separativas avanzadas y aplicaciones a tecnología de alimentos. Tesis Doctoral. Universidad de Granada.
  - Grande, F. (1988). El aceite de oliva en la prevención de enfermedades cardiovasculares. II Simposio Científico-técnico del Aceite de Oliva. Expoliva 89. Jaén.
  - Grundy, S.M.; Florentin, L.; Nix, D.; Whelan, M.F.; (1988). Comparasion of monounsaturadet fatty acids and carbohydrates for reducing raised levels of plasma colesterol in mam. *The American Journal of Clinical Nutrition*. **47**, 965-969.
  - Gucci, R.; Servili, M.; Esposito, S. (2004). Oil quality of olive cv “Leccino” grown under irrigation of dry-farmer conditions. *Acta Horticulturae*. **664**, 297-302.
  - Gutfinger, J.; Letan, A. (1974). Studies of unsaponifiables in several vegetable oils. *Lipids*. **9**, 658.

- Gutfinger, T. (1981). Polyphenols in olive oil. *Journal of the American Oil Chemists Society*. **68**, 966-968.
- Guth, H.; Grosh, W. (1991). A comparative study of the potent of different virgin olive oils. *Fat Science Technology*. **93**, 335.
- Gutiérrez, R.; Janer, C.; Janer, M.L.; Gutiérrez, F.; Vázquez, A. (1977). Relación entre los polifenoles y la calidad y estabilidad del aceite de oliva virgen. *Grasas y Aceites*. **28**, 101.
- Gutiérrez, R.; Dobarganes, M.C. Gutiérrez, F.; Olías, M. (1981). Volatile components in the aroma of virgin olive oil. V. *Grasas y Aceites*. **32**, 299.
- Gutiérrez, F.; González, R. (1989). Parámetros de calidad en el aceite de oliva. En su utilización en crudo. III Simposium Nacional del Aceite de Oliva. Expoliva'89. Jaén.
- Gutiérrez, F.; Perdiguero, S.; Gutiérrez R.; Olías, J.M. (1992). Evaluation of the bitter taste in virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists Society*. **69**, 394.
- Gutiérrez, F.; Fernández, J.L. (2002). 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*. **50**, 571-577.
- Gutteridge, JM. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*. **41**, 1819-1828.
- Hamann, Y.; Chaouch, A.; Lesgards, G. (1988). Analysis of unsaponifiable constituents of olive oils by HPLC using electrochemical detection. *Annal. Des Falsif. De l'Exp. Chim. Et Toxicol*. **81**, 11.
- Hammond, B.R., Wooten, B.R.; Snodderly, D.M. (1998). Preservation of visual sensitivity of older individuals: Association with maculr pigment density. *Investigative Ophthalmology Visual Science*. **39**, 397-406.
- Hermoso, M.; Uceda, M.; García-Ortíz, A.; Morales, J.; Frías, L.; Fernández, A. (1991). Elaboración de aceite de oliva de calidad. Serie Apuntes 5/91. Servicio de Publicaciones y Divulgación. Consejería de Agricultura y pesca de la Junta de Andalucía. Sevilla.
- Hermoso, M.; González, J.; Uceda, M.; García-Ortíz, A.; Morales, J.; Frías, L.; Fernández, A. (1998). Elaboración de aceite de oliva de calidad. Obtención por el sistema de dos fases. Serie Apuntes 61/98. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. Sevilla.
- Hogg, N. (1998). Free radicals in disease. *Seminars in Reproductive Endocrinology*. **16**, 241-248.

- 
- Hooper, L.; Cassidy, A. (2006). A review of the health care potential of bioactive compounds. *Journal of Science of Food and Agriculture*. **86**, 1805-1813.
  - Howitz, K. T.; Bitterman, K.J.; Cohen, H.Y.; Lamming, D.W.; Lavu, S.; Wood, J.G.; Ipkin, R.E.; Chung, P.; Kisiekewski, A.; Zhang, L.; Scherer, B.; Sinclair, D. (2003). Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature*. **425**, 191-196.
  - Interesse, F.S.; Ruggiero, P.; Vitagliano, M. (1971). Autoxidation of olive oil. Effects of chlorophyll pigments. *Agrarian Industry*. **9**, 318.
  - Itoh, T.; Yoshida, K.; Yatsu, T.; Tamura, T.; Matsumoto, T. (1981). Triterpene alcohols and sterols of spanish oil. *Journal of the American Oil Chemists Society*. **58**, 545.
  - IUPAC (1992). Determination of tocopherol and tocotrienol in vegetable oils and fats by HPLC. Method nº 2432. En: *Estándar Methods for the Analyses of Oil, Fats and Derivatives*. Blackwell. 7. Revisada. Oxford. Blackwell.
  - Jacoboni, A.; Pinnola, M.; Baltadori, A. (1999). The production of *Olea europaea* L in Viterbo in relation to the climatological factors. *Acta Horticulturae*. **474**, 229-232.
  - Jiménez, A.; Uceda, M. (1995). Características químicas y organolépticas del aceite de oliva virgen de la variedad Arberquina. 1<sup>er</sup> *Simposi de L'Olivera Arberquina a Catalunya*. Les Borges Blanques. Lérida.
  - Jimenez, A.; Hermoso, M.; Uceda, M. (1995). Elaboración del aceite de oliva virgen mediante sistema continuo en dos fases. Influencia de diferentes variables del proceso en algunos parámetros relacionados con la calidad del aceite. *Grasas y Aceites*. **46** (4-5), 299-303.
  - Jiménez, B.; Carpio, A. (2008). *La cata de aceites*. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.
  - Kalua, C.M.; Bedgood, D.R.; Bishop, A.G.; Prenzler, P.D. (2006). Changes in volatile and phenolic compounds with malaxation time and temperatura during virgin olive oil production. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. **54**, 7641-7651.
  - Kamal-Eldin, A.; Appelqvist, L.A. (1996). The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids*. **31**, 671-701.
  - Kiritsakis, A. (1980). The effect of light on the oxidative deterioration of olive oil. Proc. Int. Congr. Biol. Value Olive Oil. Chanea. Greece.
  - Kiritsakis, A.K. (1992). *El aceite de oliva*. Ed. A. Madrid Vicente. Madrid.
  - Kiritsakis, A.; Osman, M. (1995). Efectos del  $\beta$ -caroteno y del  $\alpha$ -tocoferol en la estabilidad fotooxidativa del aceite de oliva. *Olivae*. **56**, 25.

- Kohyama, N.; Nagata, T.; Fijimoto, S.; Sekiya, K. (1997). Inhibition of arachidonate lipoxygenase activities by 2(3,4-dihydroxyphenyl) ethanol, a phenolic compound from olives. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. **61**, 347.
- Kris-Etherton, P.M.; Lefevre, M.; Beecher, G.R.; Gross, M.D.; Keen, C.L.; Etherton, T. D. (2004). Bioactive compounds in nutrition and health-research methodologies for establishing biological function: The antioxidant and anti-inflammatory effects of flavonoids on atherosclerosis. *Manual Review of Nutrition*. **24**, 511-538.
- Le Tutor, B.; Guedon, D. (1992). Antioxidative activities of *Olea europaea* L. leaves and related phenolics compounds. *Phytochemistry*. **31**, 1173.
- Lee, E.C.; Min, D.B. (1988). Quenching mechanism of  $\beta$ -carotene on the chlorophyll sensitized photooxidation of soybean oil. *Journal of Food Science*. **53**, 1893.
- Lercker, G.; Frega, N.; Bocci, F.; Mozzori, M. (1999). Volatile constituents and oxidative stability of virgin olive oils: influence of the kneading of the olive paste. *Grasas y Aceites*. **50**, 26-29.
- Lipworth, L.; Martínez, M.E.; Angell, J.; Hsieh, C.C. Trichopoulos, D. (1997). Olive Oil and Human Cancer: An Assessment of the Evidence. *Preventive Medicine*. **26**, 181-190.
- López-Miranda, J.; Gómez, P.; Castro, P.; Marín, C.; Paz, E.; Bravo, M.D.; Blanco, J.; Jiménez-Perepérez, J.; Fuentes, F.; Pérez-Jiménez, F. (2000). La dieta mediterránea mejora la resistencia a la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad. *Medicina Clínica*. **115**, 363-365. Nº 10.
- Ludlow, D.; Schulz, K.; Erjavec, J. (1995), teaching statistical experiment design using a laboratory experiment. *Journal of Engineering Education*. **84**, 351-359.
- Mariani, C.; venturini, S.; Bondioli, P.; Fedeli, E.; Grob, K. (1992). Evaluation of the variations producing by bleaching process on the more meaningful minor components, free and esterified in olive oil. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. **69**, 393.
- Martel, J.; Alba, J. (1981). Influencia del método de obtención de aceites de oliva por centrifugación de las pastas sobre su contenido en alcoholes grasos superiores. *Grasas y Aceites*. **32**, 233.
- Martínez, J.M.; Muñoz, E.; Alba, J.; Lanzón, A. (1975). Informe sobre utilización del Analizador de Rendimientos Abencor. *Grasas y Aceites*. **26**, (6) 379-385.
- Martínez-Valverde, I.; Periago, M.J.; Ros, G. (2000). Significado nutricional de los componentes fenólicos en la dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. **50**, 5-18.

- 
- Masella, R.; Vari, R.; D'Archivio, M.; Di Benedetto, R.; Matarrese, P.; Malorni, W.; Scazzocchio, B.; Giovannini, C. (2004). Extra virgin olive oil biophenols inhibit cell-mediated oxidation of LDL by increasing the mRNA transcription of glutathione-related enzymes. *Thrombosis Research*. **78** (2), 151-160.
  - Mataix, J.; Martínez, E. (1988). El aceite de oliva: Bases para el futuro. Ed. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.
  - Mataix, J. (2001). Aceite de olive virgen: nuestro patrimonio alimentario. Ed. Universidad de Granada, Puleva Food. Granada.
  - Mateos, R.; Espartero, J.L.; Trujillo, M.; Rios, J.J.; León-Camacho, M.; Alcludia, F.; Cert, A. (2001). Determination of Phenols, Flavones, and Lignans in Virgin Olive Oils by Solid-Phase Extraction and High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Ultraviolet Detection. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. **49**, 2185-2192.
  - Mensink, R.P.; Katan, M.B. (1992). Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins. A meta-analysis of 27 trials. *Artheroscler, Thrombosis and Vascular Biology*. **12**, 911-919.
  - Minguez, M.I.; Rejano, L.; Gandul, B.; Sánchez, A.H.; Garrido, J. (1991). Colour pigment correlation in virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists Society*. **68**: 332-336.
  - Moncada, S.; Vane, J.R. (1979). Arachidonic acid metabolites and the interactions between platelets and blood-vessel walls. *The New England Journal of Medicine*. **300**, 1142-1147.
  - Montedoro, G.F. (1972). I costituenti fenolici presenti negli oli vergini di oliva. Nota 1: identificazione di alcuni acidi fenolici e loro potere antiossidante. *Society of Technical Analysts*. **3**, 177-186.
  - Montedoro, G.; Bertuccioli, M.; Anichini, F. (1988). Aroma Analysis of Virgin Olive Oil by Head Space and Extraction Techniques. *Flavor of Foods and Beverages*. Charalambous, G. Ed. Academic Press. Londres-Nueva York.
  - Montedoro, G.F.; Servili, M.; Baldioli, M.; Miniati, E. (1992a). Simple and hydrolyzable compounds in virgin olive oil. 1. Their extraction, separation and quantitative and semiquantitative evaluation by HPLC. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. **40**, 1571-1576.
  - Montedoro, G.F.; Servili, M.; Baldioli, M.; Miniati, E. (1992b). Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil. 2. Initial characterization of the hydrolyzable fraction. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. **40**, 1577-1580.

- Montedoro, G.F.; Servili, M.; Baldioli, M.; Miniati, E. (1993). Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil. 3. Spectroscopy characterization of the secoridoid derivatives. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. **41**, 2228-2234.
- Montedoro, G.F.; Servili, M.; Baldioli, M. *et al.* (2002). The use of biotechnology means during oil mechanical extraction process: relationship with sensory and nutritional parameters of virgin olive oil quality. *Acta Horticulturae*. **586**, 557-560.
- Montgomery, D.C. (2002). Diseño y análisis de experimentos. Limusa. Wiley. México.
- Morales, M.T.; Tsimidou, M. (2003). El papel de los compuestos volátiles y los polifenoles en la calidad sensorial del aceite de oliva. En: Manual del aceite de oliva. Aparicio, R.; Harwood, J. Ed. A. Madrid Vicente-Mundi Prensa.
- Morales, M.T.; Przybylski, R. (2003). Oxidación del aceite de oliva. En: Manual del aceite de oliva. Aparicio, R.; Harwood, J. Ed. Mundi Prensa, Madrid, 443-473.
- Moreno, M.V.; Espínola, F. (2004). Características y parámetros de calidad del aceite de oliva virgen Picual de Jaén. *Alimentación, Equipos y Tecnología*. **189**, 45-48.
- Moya, M.; Espínola, F.; Fernández, D.G.; de Torres, A.; Marcos, J.; Vilar, J.; Josue, J.; Sánchez, T.; Castro, E. (2010). Industrial trial on coadjuvants for olive oil extraction. *Journal of Food Engineering*. **97**, 57-63.
- Mukhtar, H.; Ahmad, N. (1999). Green tea chemoprevention of cancer. (1999). *The Journal of Toxicological Sciences*. **52**, 111-117.
- Muñoz, A.M.; Ramos, F. (2007). Componentes fenólicos de la dieta y sus propiedades biomedicinales. *Revista Horizonte Médico*. **7**, 23-31.
- Nicolaiew, N.; Lemort, N.; Adoni, L.; Berra, B.; Montorfano, G.; Rapelli, S. *et al.* (1998). Comparison between extra virgin olive oil and oleic acid rich sunflower oil: effects on postprandial lipemia and LDL susceptibility to oxidation. *Annals of Nutrition and Metabolism*. **42**, 251-250.
- Nikaido, T.; Ohmoto, T.; Kinoshita, T.; Sankawa, U.; Niahibe, S.; Hisasa, S. (1981) Inhibition of cyclic APM phosphodiesterase by lignans. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. **29**, 3586-3592.
- Niki, E. (2002). Antioxidant activity: are we measuring it correctly? *Nutrition*. **18**, 524-525.
- Olías, J.M. Gutierrez, F.; Dobarganes, M.C.; Gutiérrez, R. (1980). Componentes volátiles en el aroma del aceite de oliva. IV. Su evolución e influencia en el aroma durante el proceso de maduración de los frutos de las variedades Picual y Hojiblanca. *Grasas y Aceites*. **31**, 391.

- 
- Olías, J.M.; Lozano, M.D.; Rios, J.J.; Gutiérrez, F.; Gutiérrez, R. (1988). Determinación de ácidos grasos volátiles en aceites de oliva vírgenes. *Grasas y Aceites*. **39**, 77.
  - Olías, J.M.; Pérez, A.G.; Rios, J.J.; Sanz, L.C. (1993). Aroma of virgin olive oil. Biogenesis of the green odor notes. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. **41**, 2368.
  - Oliveras, M.J. (2005). Calidad del aceite de oliva virgen extra. Antioxidantes y función biológica. Tesis Doctoral. Universidad de Granada.
  - Olmedilla, B.; Granado, F.; Blanco, I. (2001). Carotenoides y salud humana. Fundación Española de la Nutrición. Series Informes. Madrid.
  - Orgaz y Fereres. (2004). Riego. En: El cultivo del olivo. Editores: D.Barranco; R. Fernández-Escobar; L.Rallo.; M.P. Consejería de Agricultura y Pesca.
  - Owen, R.W.; Giacosa, A.; Hull, W.E.; Haubner, R.; Spiegelhalder, B.; Bartsch, H. (2000). The antioxidant/anticancer potencial of phenolic compounds isolated from olive oil. *European Journal of Cancer*. **36**, 1235-1247.
  - Owen, R.W.; Mier, W.; Giacosa, A. Hull, W.E.; Spiegelhalder, B.; Bartsch, H. (2000). Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food and Chemical Toxicology*. **38**, 647-659.
  - Quiles, J.L.; Ramirez-Tortosa, M.C.; Ibañez, S.; Alfonso, J.; Duthie, G.G.; Huertas, J.R.; Mataix, J. (1999). Vitamin E supplementation increases the stability and the in vivo antioxidant capacity of refined olive oil. *Free Radical Research*. S129-135.
  - Packer, L. and Wirds, K. (1995). Signalling Messenger and trigger molecules from free radical reactions, and their control by antioxidants in: signalling mechanisms from transcription factor to oxidative stress. 157-164. Springer-Verlag. Berlin.
  - Packer, L. and Obemüller-Jevic. U. (2002). Vitamin E in disease prevention and therapy: future perspectives in Packer, L.; Traber, M.; Kraemer, K.; Frei, B. Ed. *The antioxidant Vitamin C and E*. 255, 288. AOCs Press. California.
  - Pannelli, G.; Servilli, M.; Selvaggini, M.; Montedoro, G. (1994). Effect of agronomic and seasonal factor on olive (*Olea europaea* L.) production and on the qualitative characteristics of the oil. *Acta Horticulturae*. **356**, 239-243.
  - Parenti, A.; Spugnoli, P. (2002). Influenza delle temperatura delle paste di oliva sul contenuto polifenolico degli oil estratti. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. **79**, 97.

- Parenti, A.; Spugnoli, P.; Masella, P.; Calamai, L. (2008). The effect of malaxation temperature on the virgin olive oil phenolic profile under laboratory-scale conditions. *European Journal of Lipid Science and Technology*. **110**, 735-741.
- Patumi, M.; D'Andria, R.; Fontanazza, G.; Morelli, G.; Sorrentino, G. (1999). Yield and oil quality of intensively trained trees of three cultivars of olive (*Olea europaea* L.) under different irrigation regimes. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. **74**, 729-737.
- Patumi, M.; D'Andria, Marsilio, V.; Fontaneda, G.; Morelli, G.; Lanza, B. (2002). Olive and olive oil quality after intensive monoculture olive growing (*Olea Europea* L., Kalamata) in different irrigation regimes. *Food Chemistry*. **77**, 27-34.
- Petroni, A.; Blasevich, M.; Salami, M.; Panini, N.; Montedoro, G.F.; Galli, C. (1995). Inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil. *Thrombosis Research*. **72** (2), 151-160.
- Piacquadio, P.; De Stefano, G.; Sciancalepore, V. (1998). Quality of virgin olive oil extracted with the new centrifugation system using a two-phase decanter. *Fett Lipid*. **100**, 472-474.
- Plagiarini, E.; Zanoni, B.; Giovanelli, G. (2000). Predictive study on Tuscan extra olive oil stability under several commercial conditions. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. **48**, 1345-1351.
- Psomiadou, E.; Tsimidou, M.; Boskou, D. (2000).  $\alpha$ -Tocopherol content of Greek virgin olive oils. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. **48**, 1770-1775.
- Quiles, J.L.; Ramirez-Tortosa, M.C.; Ibañez, S.; Alfonso, J.; Duthie, G.G.; Huertas, J. R.; Mataix, J. (1999). Vitamin E supplementation increases the stability and the in vivo antioxidant capacity of refined olive oil. *Free Radical Research*. **S129**, 135.
- Ramón, J.R.; Alonso, M.B.; Rubio, S.; Ramón, B.M.; Plaza, L.; Mostaza, J.M. et al. (1996). Antioxidantes de la dieta y enfermedad coronaria. *Clinical Cardiovascular*. **14**, 29-38.
- Ranalli, A. (1992). Incidence of the processing parameters of the olive fruits on the chromatic and analytical characteristics of the oil. *Industria Alimentare*. **31**, 513-516.
- Ranalli, A. (1989). Confronto tra frangitore a martelli e frantoio tradizionale. Incidenza sulla qualità dell'olio. *L'informatore Agrario*. **22**, 43-49.
- Ranalli, A.; de Mattia, G.; Ferrante, M.L.; Giansante, L. (1997). Incidence of olive cultivation area on the analytical characteristics of the oil. Note 1. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. **74**, 501-508.

- 
- Ranalli, A.; Contento, S.; Schiavone, C.; Simone, N. (2001). Malaxing temperatura affects volatile and phenol composition as well as other analytical features of virgin olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*. **103**, 228-238.
  - Ranalli, A.; Pollastri, L.; Contento, S.; Lannucci, E.; Lucera, L. (2003). Effect of paste Kneading process time on the overall quality of virgin olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*. **105**, 57-67.
  - Ranalli, A.; Pollastri, L.; Contento, S.; Iannucci, E.; Lucera, L. (2003b). Effect of olive paste kneading process time on the overall quality of virgin olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*. **105**, 57.
  - Raws, H.R.; Van Santen, P.J. (1970). A possible role for singlet oxygen in the initiation on fatty acid autoxidation. *Journal of the American Oil Chemists Society*. **47**, 121-125.
  - Renaud, S.; de Lorgeril, M.; Delaye, J.; Guidollet, J.; Jacquard, F. Mamelle, N. *et al.* (1995). Cretan Mediterranean diet for prevention of coronary heart disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*. **61**, 1360S-1367S.
  - Renaud, S.; de Lorgeril, M. (1992). Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *The Lancet*. **339**, 1523-1526.
  - Rice-Evans, C.A.; Miller, N.J.; Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*. **20**, 933-956.
  - Roca, M.; Mínguez, M.I. (2001). Changes in chloroplast pigments of olive varieties during fruit ripening. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. **49**, 832-839.
  - Rodis, P.S.; Karathanos, V.T.; Mantzavinou, A. (2002). Partitioning of olive oil antioxidants between oil and water phases. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. **50**, 596-601.
  - Rodríguez de la Borbolla, J.M.; Fernández Díez, M.J.; González Pellisó, F. (1955). Cambios en la composición de la aceituna durante su desarrollo. I. *Grasas y Aceites*. **6**, 5.
  - Romero, R.; Ferrer, A.; Capilla, C.; Zunica, L.; Balasch, S.; Serra, V.; Alcover, R. (1995). Teaching statistics to engineers: an innovative pedagogical experience. *Journal of Statistics Education*. **3**. Nº 1.
  - Rovellini, P.; Cortesi, N.; Fedeli, E. (1997). Analydis of flavonoids from *olea europea* by HPLC-UV and HPLC-Electrospray-MS. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. **74**, 273-279.

- Salas, J.; Pastor, M.; Castro, J.; Vega, V. (1997). Influencia del riego sobre la composición y características organolépticas del aceite de oliva. *Grasas y Aceites* **48**(2), 74-82.
- Salkeld, R.M. (1991).  $\beta$ -caroteno and prevention of cáncer. *Cancer Nutrition and Dietetics*. **26**, 61.
- Salvador, M.D.; Aranda, F.; Gómez-Alonso, S.; Fregapane, G. (2003). Influence of extraction system, production year and area on Cornicabra virgin olive oil: a study of five crop seasons. *Food Chemistry*. **80**, 359-366.
- Sánchez-Salz, J.J.; Herce, M.D.; Baleaoero, T. (1991). Identification of cinnamic acid ethyl ester and 4- vinylphenol in off-flavour olive oils. *Analytical Chimica Acta*. **247**, 295-297.
- Sayago, A.; Marín, M.I.; Aparicio, R.; Morales, M.T. (2007). Vitamina E y aceites vegetales. *Grasas y Aceites*. **58** (1), 74-86.
- Scalbert, A.; Manach, C.; Morand, C.; Rémésy, C. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. **45**, 287-306.
- Servili, M.; Baldioli, G.; Montedoro, G. (1994). Phenolic composition of virgin olive oil in relationship to some chemical and physical aspects of malaxation. *Acta Horticulturae*. **356**, 331-336.
- Servili, M.; Baldioli, M.; Begliomini, A.; Selvaggini, R.; Montedoro, G.F. (2000) The phenolic and volatile compounds of virgin olive oil: relationship with the endogenous oxidoreductases during the mechanical oil extraction process. In *Flavour and Fragrance Chemistry; Proceedings of the Phytochemical Society of Europe*. Campobasso. Italy. January 13-16.; Kluwer Academic: Dordrecht. The Netherlands. 163-173.
- Servili, M.; Esposito, S.; Lodolini, E.; Selvaggini, R.; Taticchi, A.; Urbani, S.; Montedoro, G.; Serravalle, M.; Gucci, R. (2007). Irrigation Effects on Quality, Phenolic Composition, and Selected Volatiles of Virgin Olive Oils Cv, Laccino. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. **55**, 6609-6618.
- Servilli, M.; Montedoro, G.F. (2002). Contribution of phenolic compounds to virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology*. **104**, 602-613.
- Servili, M.; Selvaggini, R.; Taticchi, A.; Esposito, S.; Montedoro, G.F. (2003). Volatile compounds and phenolic composition of virgin olive oil: optimization of temperature and time of exposure of olive paste to air contact during the mechanical extraction process. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **51**, 7980-7988.

- 
- Servili, M.; Salvaggini, R.; Esposito, S.; Taticchi, A.; Montedoro, G.F.; Morozzi, G. (2004). Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil. *Journal of Chromatography A*. **1054**, 113-127.
  - Servili, M.; Esposito, S.; Lodolini, E.; Selvaggini, R.; Taticchi, A.; Urbani, S. (2007). Irrigation effects on quality, phenolic composition and selected volatiles of virgin olive oil cv. Leccino. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **55**, 6609-6618.
  - Servili, M.; Esposito, S.; Fabiani, R.; Urbani, S.; Taticchi, A.; Mariucci, F.; Selvaggini, R.; Montedoro, G.F. (2009). Phenolic compounds in olive oil: antioxidant, health and organoleptic activities according to their chemical structure. *Inflammopharmacology*. **17**, 76-84.
  - Shahidi, F. (1996). Natural antioxidants chemistry, health effect and applications. Ed. AOCS Press. Champaign. IL (USA). 97-149.
  - Sih, C.J.; Ravikumar, P.R.; Huang, F.C.; Buckner, C; Whitlock, H. (1976). Isolation and synthesis of pinoresinol diglucoside, a mayor antihypertensive principle of Tu-Chung (*Eucommia ulmoides*, Olivier). *Journal of the American Chemical Society*. **98**, 5412-5413.
  - Solinas, M.; Di Giovacchino, L.; Cucurachi, A. (1975). I polifenoli delle olive e olio di oliva. Nota 2. Indagine preliminare sull'indidenza delle tecniche operative adottate per l'estrazione dell'olio. *Ann. Ist. Sper. Elaiotecnica* V. 125-154.
  - Solinas, M.; Di Giovacchino, L.; Mascolo, A. (1978). The polyphenols of olive oil. Nota III: influence of temperatura and kneading time on the oil polyphenol content. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. **55**, 19-23.
  - Spugnoll, P.; Parenti, A.; Carolini, D.; Modi, G., Caselli, S. (1998). Caratterizzazione di oil extra vergini monovarietal di tre cultivar toscane. *Rivista Italiana delle Sostanza Grasse*. **76**, 227-233.
  - Stanley, J. (2005). Vitamin E supplements and vascular disease. *Lipid Thechnology*. **17**, 15-21.
  - Stanton, C.; Ross, R. P.; Fitzgerald, G. F.; Van Sinderen, D. (2005). Fermented functional foods base don probiotics and their biogenic metabolites. *Current Opinion in Biotechnology*. **16**, (2), 198-203.
  - Sundaresan, M.; Yu, Z.X.; Ferrans, V.J.; Irani, K.; Finkel, T. (1995). Requirement for generation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for platelet-derived growth factor signal transduction. *Science*. **270**, 296-299.
  - Tan, C.M.; Xenoyannis, S.; Feldman, R.D. (1995). Oxidant stress enhances adenylyl ciclase activation. *Circulation Research*. **77**, 710-717.

- Taticchi, A.; Esposito, S.; veneziani, G.; Urbani, S.; Selvaggini, R.; Servili, M. (2012). The influence of the malaxation temperature on the activity of polyphenoloxidase and peroxidase and on the phenolic composition of virgin olive oil. *Food Chemistry*. **136**, 975-983.
- Teixeira, S.; Siqueta, C.; Alves, C.; Boal, I.; Marques, M.P.; Borges, F.; Lima, J.L.F.C.; Reis, S. (2005). Structure-property studies on the antioxidant of flavonoids present in diet. *Free Radical Biology and Medicine*. **15**, 1099-1108.
- Toscano, G.; Colarieti, M.L.; Greco, G. (2003). Oxidative polymerisation of phenols by a phenol oxidase from green olives. *Enzyme and Microbial Technology*. **33**, 47-54.
- Tous, J.; Romero, A.; Díaz, I. (2005). Composición del aceite. En: *Variedades de olivo en España*. Rallo, L.; Barranco, D.; Caballero, J.M.; del Rio, C.; Tous, J.; Trujillo, I. (Eds.) Mundi-Prensa. Junta de Andalucía. Sevilla.
- Tovar, M.J. (2001). Estudio del efecto de la aplicación de diferentes estrategias de riego al olivo (*Olea europea* L.) de la variedad arbequina sobre la composición del aceite. Tesis Doctoral. Universidad de Lérida.
- Tovar, M.J.; Montilva, M.J.; Romero, M.P. (2001). 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*. **49**, 5502-5508.
- Tovar, M.J.; Romero, M.P.; Alegre, S.; Girona, J.; Montilva, M.J. (2002). Composition and organoleptic characteristics of oil from Arbequina olive (*Olea europea* L.) trees under deficit irrigation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **82**, 1755-1763.
- Trichopoulou, A.; Katsouyanni, K.; Stuver, S.; Tzala, L.; Gnardellis, C.; Rimm, E. (1995) Consumption of olive oil and specific food groups in relation to breast cancer risk in Greece. *Journal Natural Cancer Institute*. **87**, 110-116.
- Trichopoulou, A.; Lagiou, P. (1997). Healthy traditional Mediterranean diet: an expression of cultura, history, and lifestyle. *Nutrition Reviews*. **55**, 383-389.
- Tsimidou, M.; Lytridou, M.; Boskou, D.; Paooa-Lousi, A.; Kotsijaki, F.; Petrakis, C. (1996). On the determination of minor phenolic acids of virgin olive oil by RP-HPLC. *Grasas y Aceites*. **47**, 151-157.
- Tsimogiannis, D.I.; Oreopoulou, V. (2006). The contribution of flavonoid C-ring on the DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3', 4'-hydroxy substituted members. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. **7** (2), 140-146.

- 
- Uceda, M y Frias, L. (1985). Épocas de recolección, evolución del contenido graso del fruto y de la composición y la calidad del aceite. En: *La mecanización de la Recolección*. Pp 37-68. FAO-PNUD. Febrero 1985. Córdoba.
  - Uceda, M.; Hermoso, M.; Aguilera, M.P. (2004). La calidad del aceite de oliva. En: *El Cultivo del Olivo*. Barranco, D.; Fernández-Escobar, R.; Rallo, R. (Eds). Mundi Prensa-Junta de Andalucía.
  - Uceda, M.; Jiménez, A.; Beltrán, G. (2006). Olive oil extraction and quality. *Grasas y Aceites*. **57** (1), 25-31.
  - Uceda, M. (2009). Composición y calidad de los aceites de oliva vírgenes extra. Influencia de la variedad. En: *Algunas contribuciones sobre Olivicultura y Elaiotecnia desde la perspectiva de la experiencia*. Vilar, J. Ed. Gea Westfalia Separator Andalucía, S.L.
  - Urquiaga, I.; Leighton, F. (2000). Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological Research*. **33**, 55-64.
  - Vázquez, A.; Janer, C.; Jane, M.L. (1973). Determinación de polifenoles totales del aceite de oliva. *Grasas y Aceites*. **24**, 350-357.
  - Vázquez, A. (1980). A study of the polar compounds in olive oil by gas chromatography. *Grasas y Aceites*. **31**, 309.
  - Vekiari, S.A.; Koutsaftaks, A. (2002). The effect of the different processing stages of olive fruit on the extracted olive oil polyphenol content. *Grasas y Aceites*. **53**(3), 304-308.
  - Viola, P. (1991). Attualiatá nutrizionale dell'olio di olive. Giornata di studio sulla definizione di qualità per l'olio di olive. Collana Técnica Quaderno n°1. Spoleto.
  - Violi, F.; Micheletta, F.; Iluliano, L. (2002). Antioxidants and atherosclerosis. *European Heart Journal Supplements*. **4**, B17-B21.
  - Visioli, E.; De la Maza, M.P. (1994). Oleuropein protects low-density proteins from oxidation. *Life Sciences*. **55**, 1565-1971.
  - Visioli, F.; Galli, C. (1998). The effect of minor constituents of olive oil on cardiovascular disease: new findings. *Nutrition Reviews*. **56**, 142-147.
  - Visioli, F.; Galli, C. (1998b). Olive oil phenols and their potential effects on human health. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. **46**, 4292-4296.
  - Visioli, F.; Galli, C. (1999a). Free radical-scavenging actions of olive oil phenolic. *Lipids*. **34**, S 315.

- Vitagliano, M.; Rodagna, V.M. (1972). Perspectives de la technologie oleicole. *Inform. Oleic Intern.* **58-59**,73.