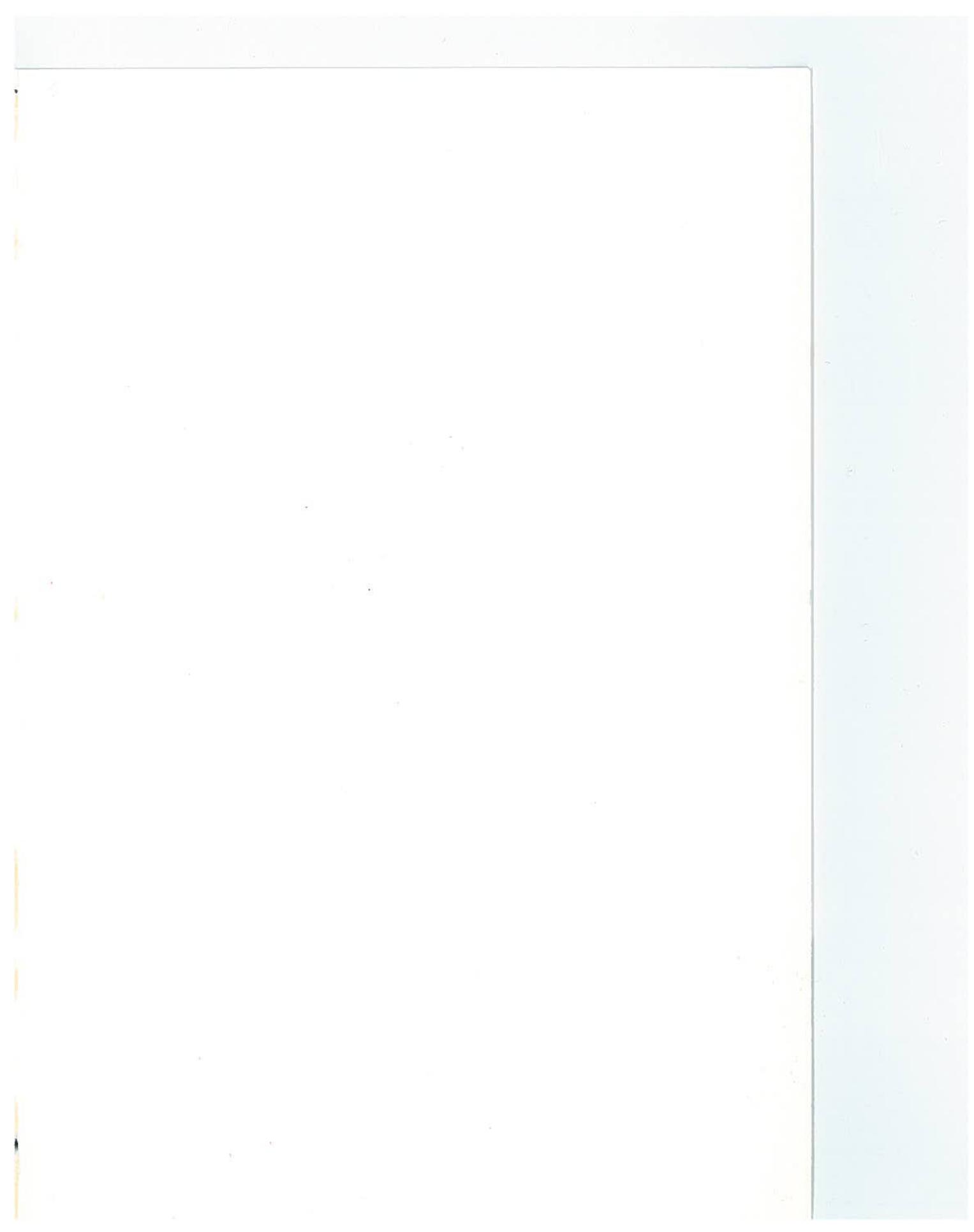


Analistas de laboratorio de almazara



Consejería de Agricultura y Pesca





**ANALISTA DE
LABORATORIO DE ALMAZARA**

**ANALISTA DE LABORATORIO DE ALMAZARA
(3ª Edición)**

© *Edita:* JUNTA DE ANDALUCÍA. *Consejería de Agricultura y Pesca.*

Publica: VICECONSEJERÍA. Servicio de Publicaciones y Divulgación.

Colección: AGRICULTURA

Serie: OLIVICULTURA Y ELAIOTECNIA

Autores: Frías Ruiz, L.; García-Ortiz Rodríguez, A.; Hermoso Fernández, M.; Jiménez Márquez, A.; Llaveró del Pozo, Mª P.; Bernardio Morales, J.; Ruano Ayuso, Mª T.; Uceda Ojeda, M.

Fotografías: Autores

Ilustraciones: Contreras Monleón, J.C. y Fernández López, H.

I.S.B.N.: 84-89802-61-0

Depósito Legal: SE.2.359 - 99

Fotocomposición e impresión: J. de Haro Artes Gráficas, S.L. Parque Ind. P.I.S.A.
Mairena del Aljarafe • Sevilla

ÍNDICE

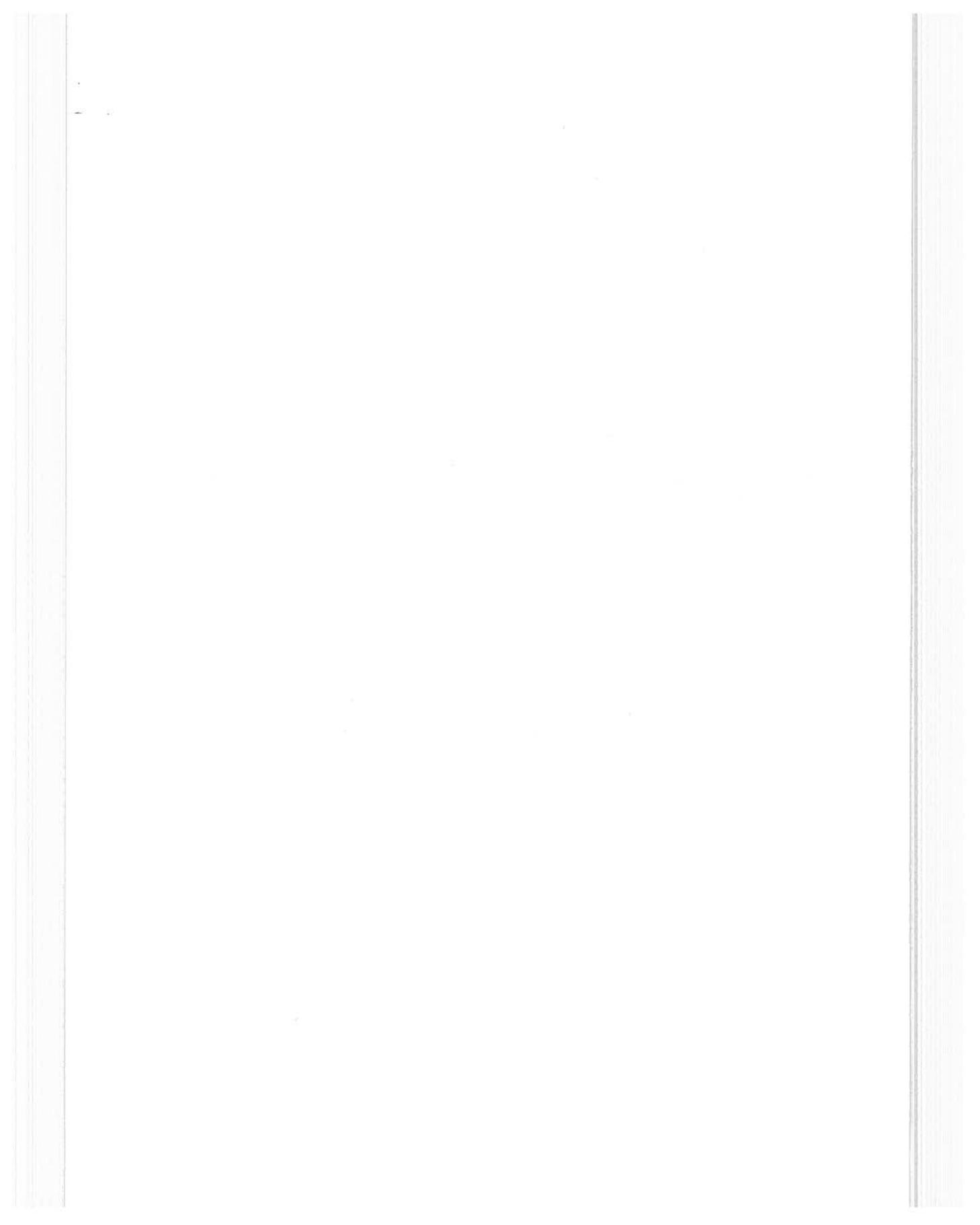
I. EL LABORATORIO EN LA ALMAZARA	9
I.1. Introducción.....	11
I.2. Diseño del laboratorio.....	11
I.3. Determinaciones a realizar.....	12
I.4. Instrumentación y equipo	13
I.5. Buenas prácticas de laboratorio.....	13
I.6. Registro y manejo de muestras	14
I.7. Normas de seguridad e higiene	15
I.8. Documentación, archivo y biblioteca	15
II. ANÁLISIS DE ACEITUNA	17
II.1. Materia prima.....	19
II.2. Toma de muestras de aceitunas	24
II.3. Sistemas de análisis: físicos, químicos y fisico-químicos	27
II.4. Descripción de los métodos: Abencor, Soxhlet, Foss-let, Autelec y R.M.N.....	28
III. ANÁLISIS DE SUBPRODUCTOS	45
III.1. Materia prima	47
III.2. Toma de muestras.....	50
III.3. Análisis de orujos	52
III.4. Análisis de alpechines o jamilas	55
III.5. Interpretación de resultados	57
IV. ANÁLISIS DE ACEITES (I)	59
IV.1. Composición de los aceites de oliva	61
IV.2. Denominaciones oficiales de los aceites de oliva	65
IV.3. Parametros que definen la calidad del aceite de oliva	69

IV.4. Toma de muestras de aceites	71
IV.5. Determinaciones analíticas: acidez, índice de peróxidos, K_{270}, humedad y materias volátiles, impurezas insolubles al éter de petróleo	73
IV.6. Análisis sensorial	81
V. ANÁLISIS DE ACEITES (II)	89
V.1. Criterios de pureza. Introducción	91
V.2. Composición de los aceites en general	92
V.3. Caracterización de un aceite	92
V.4. Determinaciones analíticas: ácidos grasos. Esteroles. Ácidos grasos saturados en posición β. reconocimiento del aceite de orujo. Alcoholes alifáticos. Contenido en percloroetileno	93
V.5. Métodos cromatográficos en el análisis de aceites: Terminología y definiciones. Cromatografía en papel. Cromatografía en capa fina. Cromatografía de gases. Cromatografía líquida de alta eficacia	103
BIBLIOGRAFÍA	111

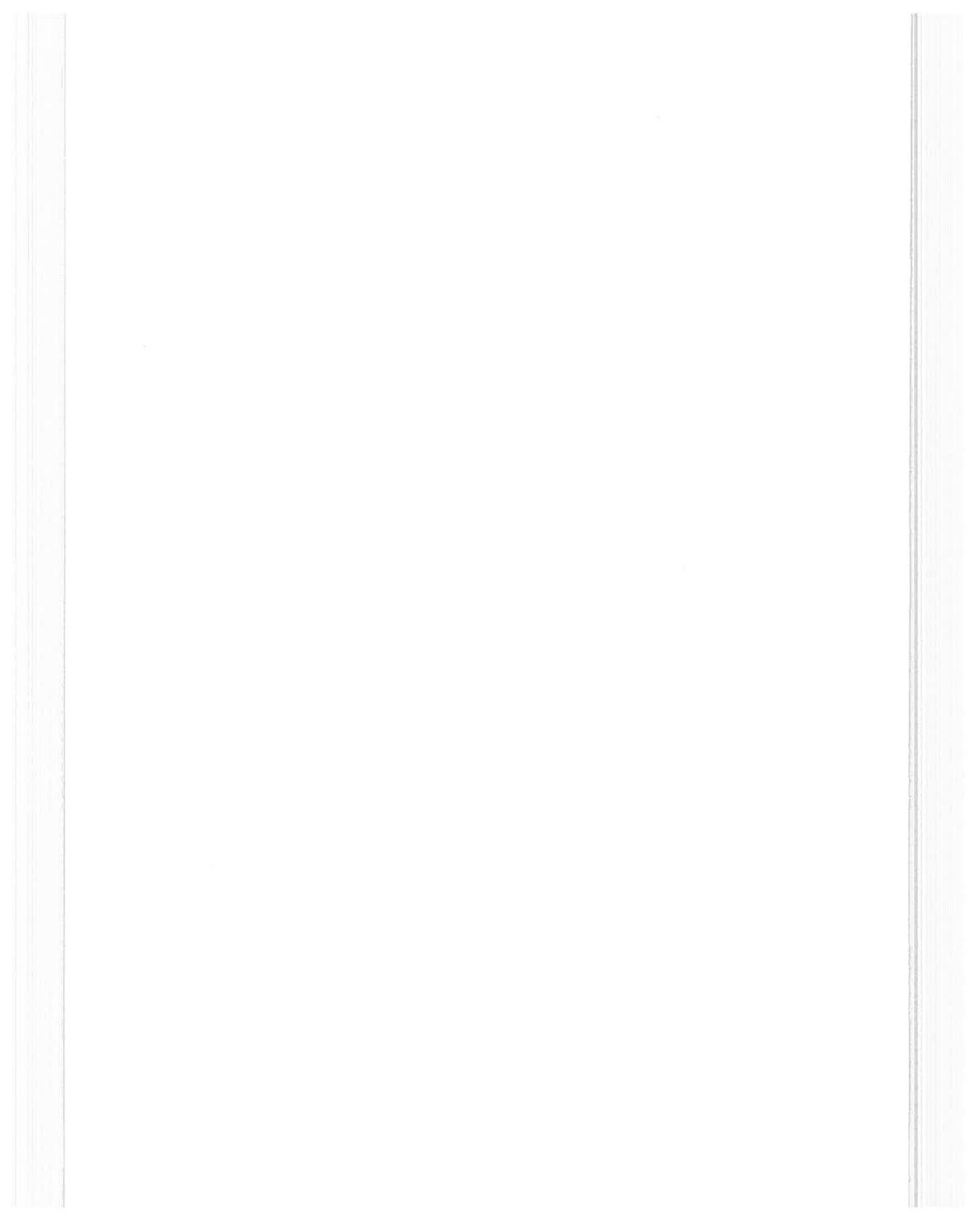
ANALISTA DE LABORATORIO DE ALMAZARA

AUTORES: (*) Luisa Frías Ruiz.
Ángel García-Ortiz Rodríguez.
Manuel Hermoso Fernández.
Antonio Jiménez Márquez.
M^a Paz Llaveró del Pozo.
Juan Morales Bernardino.
M^a Teresa Ruano Ayuso.
Marino Uceda Ojeda.

(*) Estación de Olivicultura y Elaiotecnia. Finca "Venta del Llano". Mengíbar (Jaén).
Dirección General de Investigación y Formación Agrarias. Consejería de Agricultura y Pesca.
JUNTA DE ANDALUCÍA.



I
EL LABORATORIO EN LA ALMAZARA



I. EL LABORATORIO EN LA ALMAZARA

I.1. Introducción

La extracción del aceite de oliva es un proceso industrial, en el que intervienen los siguientes elementos:

- *Materia prima*: Aceituna de diversas características.
- *Subproductos*: Orujo y Alpechín.
- *Producto final*: Aceite de oliva virgen de distintas calidades.

El Laboratorio en una Almazara tiene la función de suministrar información sobre:

- * La calidad potencial de la aceituna, y, como consecuencia su precio justo.
- * El agotamiento de los subproductos, tan importante en el control del proceso de elaboración.
- * La calidad del aceite obtenido en las distintas etapas de la campaña.

I.2. Diseño del laboratorio

El Laboratorio en la Almazara debe estar situado cerca de la misma, pero lo suficientemente aislado, para que no le influyan olores, ni ruidos molestos.

El material empleado en la construcción debe ser de calidad. Las paredes, suelos y mesas de trabajo deben ir revestidas de gres antiácido, de fácil limpieza. (*Foto 1*).

Contará con buena ventilación y luminosidad, instalación eléctrica adecuada, conducciones de agua fría y caliente, instalación de gases, extractores de humos, fre-gaderos, servicios, etc.

En la figura 1 se muestra un modelo de planta de laboratorio.

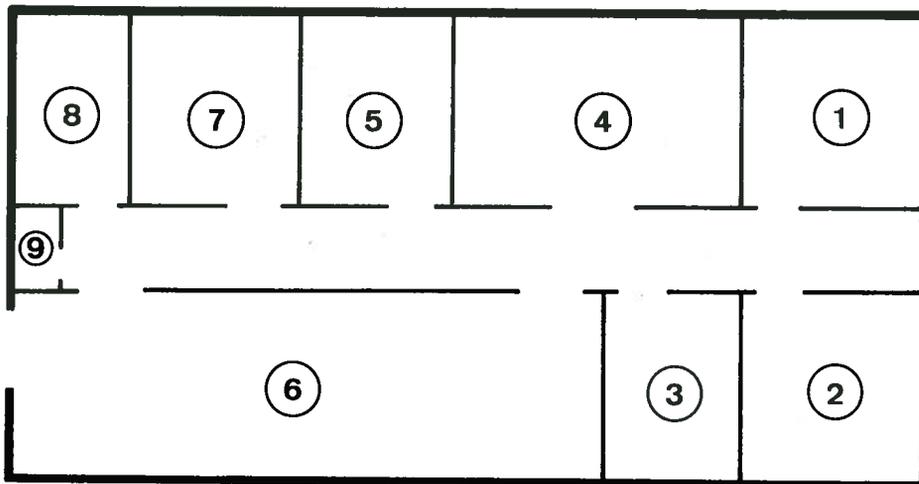


Figura 1.- Recepción y despacho. 2.- Sala de cata. 3.- Balanza. 4.- Sala de molienda. 5.- Sala de estufas. 6.- Sala de trabajo. 7.- Almacén. 8.- Servicios. 9.- Armario vestuario.

I.3. Determinaciones a realizar

Las determinaciones a realizar son:

1. En aceituna		Humedad
		Contenido graso
2. En orujos y alpechines		Humedad
		Grasa total
3. En aceites		Acidez
		Humedad e Impurezas
		Indice de Peróxidos
		Extinción al ultravioleta K_{270} , K_{232} , Delta K.
		Caracteres Organolépticos
Pureza		Acidos grasos
		Esteroles
		Eritrodiol + Uvaol
		Alcoholes alifáticos y ceras
		Triglicéridos
		Acidos grasos saturados en β .
		Contenido en Percloroetileno.
Estigmastadienos		

I.4. Instrumentación y equipo.

Para las determinaciones reseñadas en el apartado anterior, el equipo instrumental necesario es el siguiente:

- Molino triturador de aceituna.
- Equipo extracción de aceite.
- Balanzas de precisión.
- Estufas de desecación.
- Destilador de agua.
- Batería de extractores tipo Soxhlet.
- Analizador rendimiento graso.
- Frigorífico para conservar muestras.
- Espectrofotómetro ultravioleta-visible (*).
- Cromatógrafo de gases (*).
- Sala de cata.

Se dispondrá de todo o en parte y, según la capacidad que se quiera dar al laboratorio, el número de unidades vendrá multiplicado por la cifra adecuada y necesaria.

Según el número de análisis que se pretenda realizar, habrá que contar con el correspondiente material fungible: cápsulas, probetas, buretas, matraces, vasos de precipitado, copas de cata, etc.

En cuanto a los reactivos, éstos serán de la calidad recomendada en la metodología a aplicar.

I.5. Buenas prácticas de laboratorio.

Para que un Laboratorio de análisis sea considerado como de calidad, además de contar con instalaciones adecuadas, debe reunir los siguientes requisitos:

- Exactitud.
- Repetibilidad.
- Rapidez.
- Bajo coste.

La **exactitud** es el grado de concordancia entre el resultado de una medida y el verdadero valor de lo que se mide.

La **repetibilidad**, es el grado de concordancia entre un resultado analítico determinado y la media de un conjunto de ellos, obtenidos con el mismo proceso analítico y de la misma muestra.

(*) Únicos instrumentos optativos en el caso de montar un Laboratorio elemental.

La **garantía** de calidad de los trabajos que se realizan en un laboratorio, viene dada por:

- La formación del personal.
- Un buen sistema de calibrado y ajuste de instrumentos.
- Una metodología adecuada.
- La buena preparación y conservación de reactivos y soluciones.
- La contrastación de resultados.

Es una buena práctica de laboratorio, celebrar seminarios o reuniones periódicas de personas responsables, con el fin de poner al día conocimientos y contrastar resultados.

I.6. Registro y manejo de muestras.

Por definición, se denomina muestra a una cantidad determinada de un producto, obtenido por mezcla y homogeneización de varias porciones, tomadas de una partida, a la que representan.

Toda muestra que llega al laboratorio, se debe inscribir en un Libro de Registro, haciendo constar:

- Número de registro.
- Fecha de entrada.
- Tipo de muestra: aceituna, orujo, etc.
- Características que presenta.
- Procedencia.
- Observaciones.

El número de registro, que servirá para identificar la muestra durante todo el proceso analítico, se grabará de forma indeleble en el propio envase que contenga la muestra.

Para evitar alteraciones en su contenido, las muestras se deben conservar, con el envase bien cerrado, en lugar fresco y seco y a ser posible, en la oscuridad. En el caso de que no se pueda realizar el análisis en el transcurso de unas 48 horas, es conveniente guardar la muestra en frigorífico, (-4°C).

Una vez que se haya tomado la cantidad necesaria para el ensayo, se conservará convenientemente el ejemplar de muestra hasta la comprobación del resultado. Pasado un tiempo prudencial, se eliminarán todas las muestras, con el fin de facilitar la admisión de otras nuevas.

1.7. Normas de seguridad e higiene.

En el diseño, distribución y funcionamiento de un laboratorio, hay ciertos aspectos sobre seguridad e higiene que se deben tener en cuenta:

1. En todo laboratorio, por pequeño que sea, debe haber dos puertas de uso habitual, a ser posible, situadas en sentido opuesto.
2. Las conducciones de gas, electricidad, etc. deben estar protegidas convenientemente, y se instalarán llaves generales para poder interrumpir el suministro en un determinado momento.
3. Los desagües dispondrán de sifón.
4. La ventilación general será la suficiente para evitar acumulación de vapores en el trabajo normal.
5. Es importante contar, cerca de las mesas de trabajo, con alguna pila de lavado.
6. Se debe disponer de una ducha de disparo rápido en lugar bien accesible.
7. En el almacén de reactivos y productos químicos sólo se almacenarán las cantidades mínimas imprescindibles.
8. Se contará con suficiente número de extintores de incendios, situados en lugares estratégicos.
9. Habrá un botiquín propio del laboratorio.
10. Los productos químicos se deben ordenar en estanterías, por grupos, con etiquetas bien visibles y evitando que incida sobre ellos la luz solar.
11. Al terminar la jornada de trabajo, el material de vidrio debe quedar limpio y las mesas ordenadas.
12. El laboratorio elaborará sus propias normas de seguridad e higiene, se pondrán por escrito, y se designará a una persona responsable de que se cumplan.

1.8. Documentación, archivo y biblioteca.

En todo laboratorio de análisis hay que contar con la siguiente documentación:

- Normas o métodos oficiales de análisis.
- Inventario de material y reactivos.
- Manuales de manejo y calibrado de instrumentos.
- Procedimientos de trabajo empleados.

- Libro de registro de entrada de muestras.
- Impresos adecuados para la realización de los análisis.
- Boletines de resultados con copia a conservar.
- Archivo datos.
- Biblioteca

El producto final de un laboratorio son los boletines de análisis, con los resultados obtenidos.

Para asegurar la custodia de estos resultados y protegerlos de extravío, deterioro, etc., se debe establecer un sistema de archivo, que sea:

- Permanente.
- Seguro.
- De cómodo acceso al responsable.
- Contrastable.

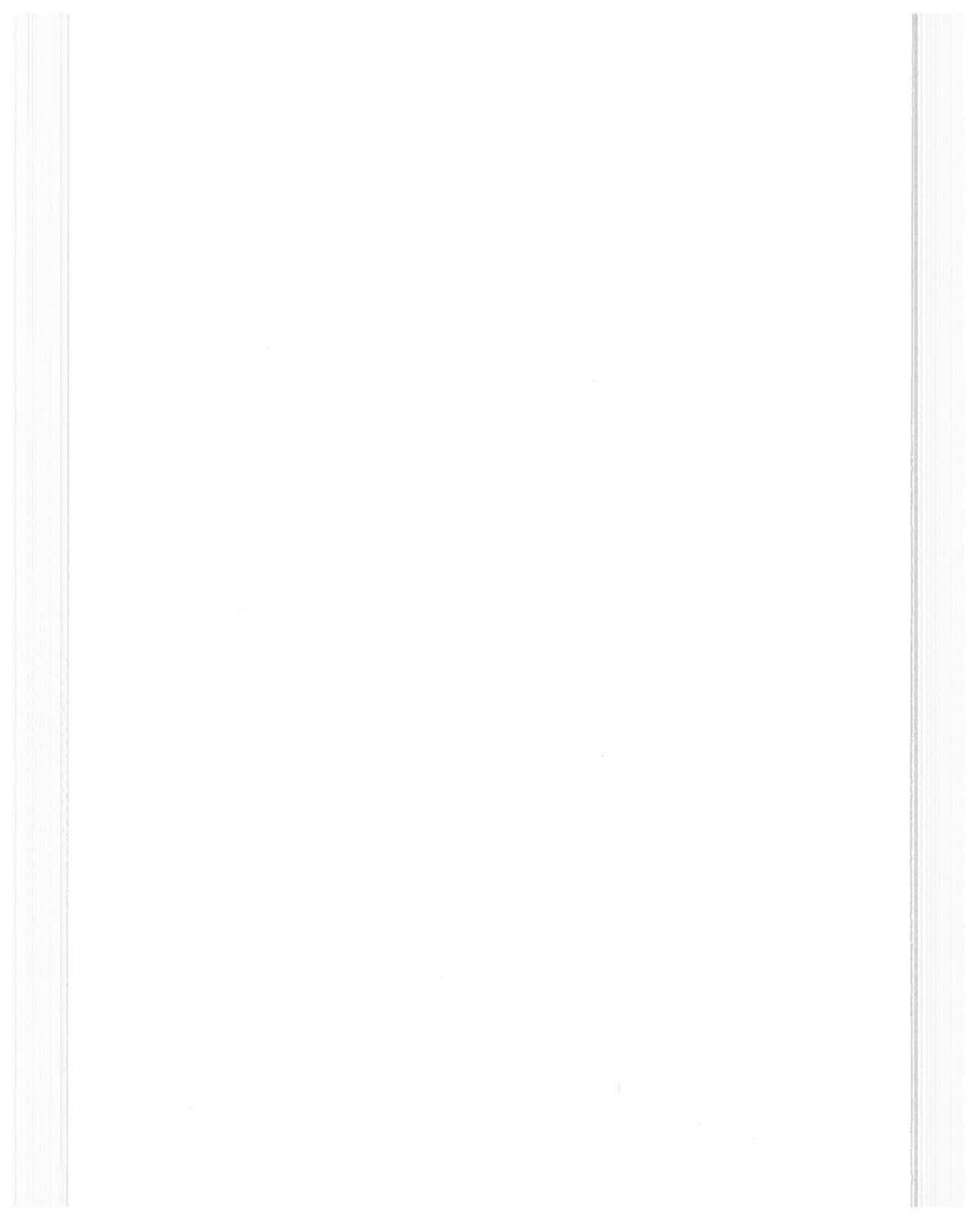
Actualmente, con la introducción de la Informática, los datos se suelen conservar en discos clasificados, ordenados y custodiados bajo llave.

El avance de la tecnología hace que los conocimientos sobre análisis químicos estén cambiando continuamente. Las personas responsables de los laboratorios deben actualizar sus conocimientos, de acuerdo con las necesidades de trabajo. Por tanto, contarán siempre con una pequeña biblioteca, en la que además de textos básicos de Química, Manuales de Instrumentación y Análisis y de Fondos Legislativos sobre el tema, se cuente también con la suscripción a varias revistas especializadas.



Foto 1. Vista de laboratorio.

II ANÁLISIS DE ACEITUNA



II. ANALISIS DE ACEITUNA.

II.1. La materia prima.

II.1.1. Estructura anatómica e histológica:

La aceituna es una drupa (*fig. 2*) y por tanto consta de:

- * Epicarpio (piel).
- * Mesocarpio, parte carnosa del fruto. El conjunto Epicarpio y Mesocarpio, se conoce como pulpa.
- * Endocarpio (hueso), en cuyo interior se encuentra la semilla.

El peso de la aceituna varía entre 0,5 y 20 grs.; si bien, en variedades para la obtención de aceite, los valores normales pueden situarse entre 1,5 y 5 gr. Del peso del fruto, la pulpa representa un 70-90%, el hueso 9-27% y la semilla un 2-3%.

El peso del hueso depende, fundamentalmente, de la variedad. Así en Picual es de 0,5 a 0,7 gr., mientras en Arbequina es de 0,25 a 0,35 gr. También depende del tamaño del fruto: en una misma variedad, los frutos de mayor peso, también suelen tener el hueso algo mayor. Por esta razón, y como puede verse en el *cuadro n.º 1*, los frutos de mayor peso tienen una relación pulpa/hueso más elevada.

Por otra parte, según se desprende del *cuadro 2*, más del 95% del aceite total contenido en la aceituna se encuentra en la pulpa. Por tanto, frutos con una relación pulpa/hueso baja, deben tener también un contenido graso inferior al normal. Esta es la razón de los bajos rendimientos en frutos mal desarrollados, de tamaño pequeño respecto a la media de la variedad.

El aceite está alojado en las células, fundamentalmente del mesocarpio, constituyendo gruesas gotas que desplazan el núcleo hacia un extremo. Es frecuente, la coexistencia, en la misma célula, de gotas de diferente tamaño. Las capas celulares más externas son más ricas en clorofila y más pobres en aceite, al contrario que las situadas en el centro del mesocarpio, con poca clorofila y gruesas gotas de aceite.

Esta estructura, obliga a una cuidadosa molienda para romper todas las membranas celulares que contienen las gotas de aceite.

II.1.2. Componentes químicos.

Los constituyentes mayoritarios de la aceituna madura son el agua y el aceite. La cantidad de agua contenida en el fruto, se expresa como humedad (% de agua referido al peso total del fruto). Puede oscilar entre límites muy amplios, en función de la variedad, condiciones climáticas, etc. En la variedad Picual, la humedad del fruto varía entre un 35% (por ej. aceituna del suelo) y un 55% (por ej. aceituna del árbol de principio de campaña).

La cantidad de aceite, se expresa como contenido graso total (% de grasa referido al peso total del fruto), variando también dentro de límites muy amplios, según la variedad, condiciones climáticas, etc. En Picual, los valores normales están comprendidos entre el 20 y el 30%.

Entre estos dos constituyentes mayoritarios existe una relación inversa, que es importante conocer a un analista de laboratorio, ya que puede ayudar a la interpretación de algunos resultados aparentemente anormales. Por ello, se recurre a la expresión del contenido graso sobre materia seca, obtenido mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ G/M.S.} = \frac{\% \text{ G}}{100 - \% \text{ H}} \times 100$$

siendo:

% G/M.S. = Contenido graso sobre materia seca, expresado como porcentaje.

% G = Contenido graso (también llamado contenido graso en húmedo).

% H = Humedad.

El contenido graso sobre materia seca, es un parámetro mucho más estable al independizar el contenido graso de la humedad de la aceituna. En el ejemplo que se recoge en el *cuadro 3*, puede verse cómo frutos con diferente cantidad de agua y por consiguiente con diferente humedad, (si tienen la misma cantidad de aceite y de materia seca), tendrán diferente contenido graso en húmedo pero el mismo sobre materia seca.

En la variedad Picual, si los frutos están maduros y normalmente desarrollados, el contenido graso sobre materia seca es del 43-46%. En Hojiblanco, el valor es de 36-38%.

Otros compuestos importantes de la aceituna son:

- * *Polisacáridos*, en su mayor parte de sostén. Destacan celulosa, hemicelulosa, lignina, pectina, etc.
- * *Azúcares solubles*. El más importante es glucosa, seguido de fructosa y sacarasa.
- * *Otros compuestos* menores como compuestos fenólicos, tocoferoles, alcoholes grasos superiores, esteroides, etc.

II.1.3. Acumulación del aceite en la aceituna, a lo largo del desarrollo y maduración del fruto.

El aceite, elaborado en la aceituna, se acumula en el fruto siguiendo, a lo largo del tiempo, una curva sigmoide, en la que pueden distinguirse tres fases:

- 1.º) *De biosíntesis lenta*, que puede situarse hasta el endurecimiento del hueso. El fruto se comporta esencialmente como un tejido fotosintético, que prácticamente no acumula lípidos de reserva: aceite.
- 2.º) *De biosíntesis acelerada*, especialmente de lípidos de reserva. Tiene una duración de 18-22 semanas en que aumenta rápidamente el contenido graso de la aceituna. El período de máxima actividad, en cuanto a formación de aceite, puede situarse, en principio, cuando hay un viraje del color del fruto del verde intenso al verde-amarillento (segunda quincena de Septiembre).
- 3.º) *Estacionaria*, correspondiente a los frutos maduros, en que la cantidad total de aceite por fruto no varía.

Paralelamente a esta acumulación de aceite en el fruto, se producen otra serie de cambios. La humedad de la aceituna disminuye progresivamente a lo largo de la maduración, acelerándose este descenso a partir de diciembre; como consecuencia del descenso de temperatura. El peso del fruto, que ha ido creciendo a lo largo del proceso de maduración, experimenta oscilaciones importantes en frutos maduros, debidas a las variaciones de humedad. El contenido graso en húmedo también puede aumentar debido a la pérdida de humedad.

Es importante señalar que el contenido graso expresado sobre materia seca no varía cuando la aceituna ha alcanzado la madurez. Por ello, para determinar el momento de inicio de la recolección, es necesario utilizar este parámetro que es el único, estable en el tiempo, del contenido de aceite.

Simultáneamente a esta acumulación de aceite en la aceituna, el color del fruto varía pasando del verde intenso a coloraciones amarillentas y rojizas, e incluso, en bastantes variedades, llega al negro que penetra con tonos violáceos en la pulpa.

Las sustancias responsables de la variación del color son las antocianinas, cuyo contenido en la aceituna crece a lo largo del proceso de desarrollo y maduración, alcanzando el máximo en una época bastante tardía (de 6 a 8 semanas después que el fruto ha alcanzado el máximo de aceite).

El "color del fruto", especialmente en las variedades que alcanzan intensas coloraciones oscuras, se ha utilizado como indicador de la madurez. En la Estación de Olivicultura y Elayotecnia de Jaén, se estableció un "Índice de Madurez", en función del color, cuya determinación es como sigue:

Se toma una muestra de frutos de 1 kg. aproximadamente, rodeando el árbol y a la altura del operador. De esta muestra convenientemente homogeneizada, se toman 100 frutos que se clasifican de acuerdo con las categorías indicadas en el cuadro 4.

Siendo *a, b, c, d, e, f, g, h*, el número de frutos de cada categoría el índice de Madurez será:

$$I.M. = \frac{a.0 + b.1 + c.2 + d.3 + e.4 + f.5 + g.6 + h.7}{100}$$

De los estudios realizados, en variedades que desarrollan bien el color, se deduce que la cantidad total de aceite por fruto es máxima cuando el I.M. alcanza valores próximos a 3,5, lo que coincide con la práctica desaparición de los frutos verdes (categorías 0 y 1), estando la mayor parte de los frutos en envero o negros.

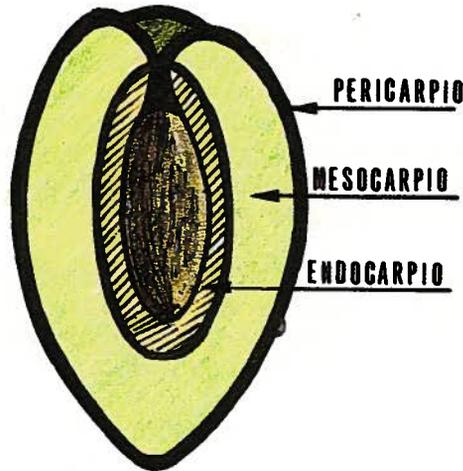


Figura 2. Aceituna en drupa.

CUADRO N.º 1
VARIACION DEL PESO DE HUESO, DE PULPA Y DE LA RELACIÓN
PULPA/HUESO, EN FUNCIÓN DEL PESO DEL FRUTO.
VARIEDAD PICUAL

Peso fruto (gr.)	Peso hueso (gr.)	Peso pulpa (gr.)	Relac. Pulpa/Hueso
4,18	0,68	3,50	5,08
2,35	0,51	1,84	3,60

CUADRO N.º 2
CANTIDAD Y PORCENTAJE DE ACEITE CONTENIDO EN EL FRUTO,
PULPA Y HUESO

	Peso (gr.)	Indice	Aceite total (gr.)	Indice
PICUAL				
Fruto	3,05	100	74,60	100
Pulpa	2,44	80	71,68	96,08
Hueso	0,61	20	2,92	3,91
HOJIBLANCA				
Fruto	3,15	100	48,79	100
Pulpa	2,67	84,75	47,55	97,45
Hueso	0,48	15,25	1,24	2,55

Fuente: Estación Experimental "Venta" del Llano".

CUADRO N.º 3
EJEMPLO DE ESTABILIDAD DEL CONTENIDO GRASO SOBRE MATERIA SECA

Peso (gr.)					%	
Fruto	Agua	Materia Seca	Aceite	Humedad	Contenido graso en húmedo	Contenido graso sobre materia seca
4,8	2,2	1,8	0,8	55	20,00	44,44
3,8	1,2	1,8	0,8	40	26,66	44,44

CUADRO N.º 4 DETERMINACION DEL ÍNDICE DE MADUREZ

El valor del índice de madurez es en realidad una medida del color del fruto, tanto en la piel como en la pulpa.

Para ponderar dicho color se ha establecido la siguiente escala:

a) Verde intenso	0
b) Verde amarillo.....	1
c) Envero con manchas rojizas	2
d) Envero con color rojizo o violeta claro en todo el fruto	3
e) Negro, sin color, bajo la epidermis.....	4
f) Negro, con color, sin llegar hasta la mitad de la pulpa	5
g) Negro, con color, pasando de la mitad, pero sin llegar al hueso.....	6
h) Negro, con color, en toda la pulpa	7

a = % aceitunas de clase 0

b = % aceitunas de clase 1

c = % aceitunas de clase 2

d = % aceitunas de clase 3

e = % aceitunas de clase 4

f = % aceitunas de clase 5

g = % aceitunas de clase 6

h = % aceitunas de clase 7

$$\text{Índice de Madurez} = \text{I.M.} = \frac{a.0+b.1.+c.2.+d.3.+e.4+f.5+g.6+h.7}{100}$$

II.2. Toma de muestras de aceituna.

La heterogeneidad de una partida de aceituna proviene de dos circunstancias:

a) *La propia aceituna*: Dentro de un mismo árbol, el contenido graso de la aceituna varía según la posición que ocupa ésta en el olivo. Como puede verse en la figura 3, el rendimiento graso varía en 5 puntos según que la aceituna provenga de la copa o del interior.

Por otra parte, el tamaño de la aceituna también influye en el rendimiento graso. Las aceitunas de tamaño muy pequeño tienen un bajo contenido de aceite. En la variedad Picual, y para tamaños inferiores a 2 gr. puede estimarse que el rendimiento graso aumenta en 0,5 puntos por cada 0,1 gr. que aumenta el peso.

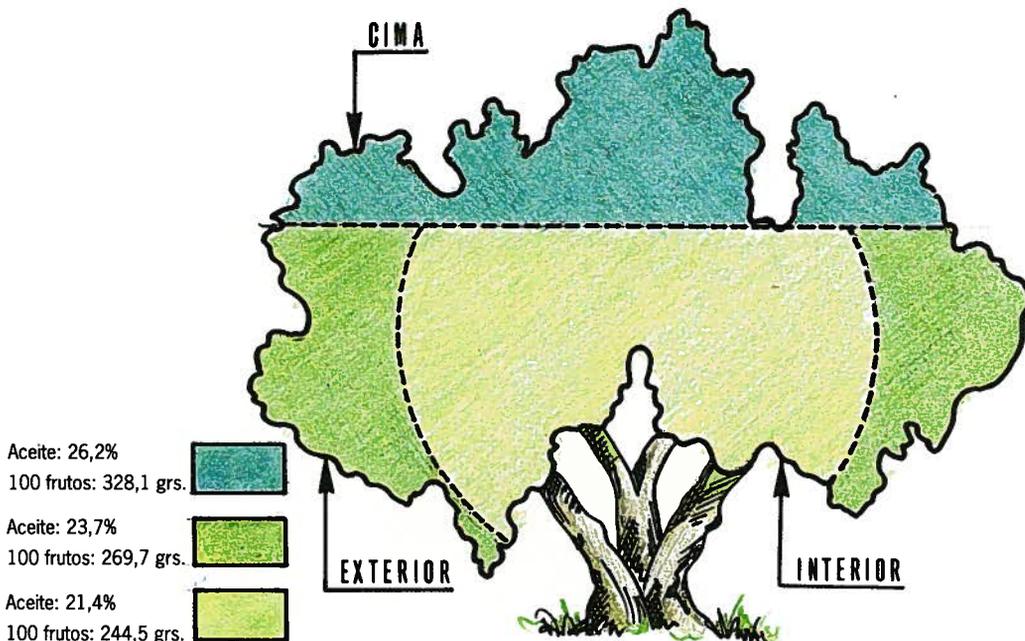


Figura 3. Variación en aceite y peso de la aceituna.

Por el contrario, para tamaños superiores a 3 gr., el rendimiento graso desciende muy ligeramente al aumentar el peso.

Finalmente, hay diferencias de rendimiento graso entre distintos árboles de una misma parcela homogénea y de una misma variedad, que en algunos controles han mostrado un coeficiente de variabilidad del 7,49%.

b) *Las impurezas que acompañan a la aceituna:* hojas, tierra, piedras, etc., han de formar parte de la muestra que ha de ser representativa de todas estas circunstancias, y llevar esta variabilidad en la misma proporción que en la partida objeto de análisis.

Para una almazara, especialmente si es cooperativa, los análisis se hacen fundamentalmente para comparar la aceituna de las diferentes partidas. Por tanto, es necesario que el criterio de toma de muestra sea uniforme. Para todos los socios, las muestras se deben tomar de igual forma, con el mismo sistema y con el mismo criterio.

La muestra debe tomarse del fruto que se va a pesar, y lo más próximo posible a este momento, para que las condiciones de humedad, etc., sean lo más parecidas a lo que se pesa.

El sistema, generalmente, más empleado es el de molinete instalado sobre una cinta transportadora. Es un buen sistema, aunque tiene el inconveniente de que las impurezas suelen depositarse en el fondo de la cinta y las recoge en menor proporción las cazoletas del molinete, lo que puede inducir a una toma de muestras defectuosa.

Por ello parece más aconsejable un sistema similar al indicado en la *figura 4*, en el que se obvia este inconveniente.



Nº 4. Cinta transportadora.

El empleo de sondas o similares, es poco recomendable, dado que al introducirla en el montón, pueden romperse los frutos.

Una vez tomada la porción, que debe ser de al menos 3 ó 4 kg. se remueve bien, y se toma la muestra definitiva para llevar al laboratorio, que debe ser de 1 kg. aproximadamente e incluso de 1,5 kg. si se utiliza el analizador ABENCOR.

La muestra debe introducirse en un recipiente lo más hermético e impermeable posible, para evitar pérdidas de humedad. Bolsas de plástico, bien cerradas, pueden ser un material apropiado, siempre y cuando no transcurra un tiempo superior a 48 horas, hasta que se realiza el análisis.

II.3. Sistemas de Análisis de Aceituna

En la actualidad existen diversos sistemas para la determinación del contenido graso de la aceituna. Los más conocidos pueden clasificarse en tres grupos importantes:

1. *Sistemas basados en métodos físicos.*
2. *Métodos fundados en procedimientos químicos.*
3. *Analizadores que se basan en métodos físico-químicos.*

II.3.1. Sistemas basados en métodos físicos.

Son aquellos que realizan la extracción de la grasa de la aceituna, empleando procedimientos mecánicos. La extracción no es total, quedando parte del aceite retenido en los residuos sólidos y acuosos a que da lugar.

El más conocido es el ABENCOR, que presenta una gran similitud con los llamados sistemas continuos de extracción industrial.

II.3.2. Métodos fundados en procedimientos químicos.

Están constituidos por todos aquellos métodos consistentes en la extracción total de la grasa en una muestra previamente molturada y deshidratada, mediante la adición de un disolvente orgánico. Entre ellos se encuentran:

- * Método SOXHLET (recogida en la norma UNE 55030).
- * Método FOSS-LET (basado en la medida de la densidad de una miscela aceite-percloroetileno).
- * Método AUTELEC (empleando Heptano como disolvente).

II.3.3. Analizadores que se basan en métodos físico- químicos.

Son instrumentos que miden el contenido graso total de la muestra, basándose en alguna propiedad físico-química. No emplean disolventes, ni alteran la muestra.

El más conocido es el que aplica la Resonancia Magnético Nuclear (R.M.N.) al análisis de aceituna.

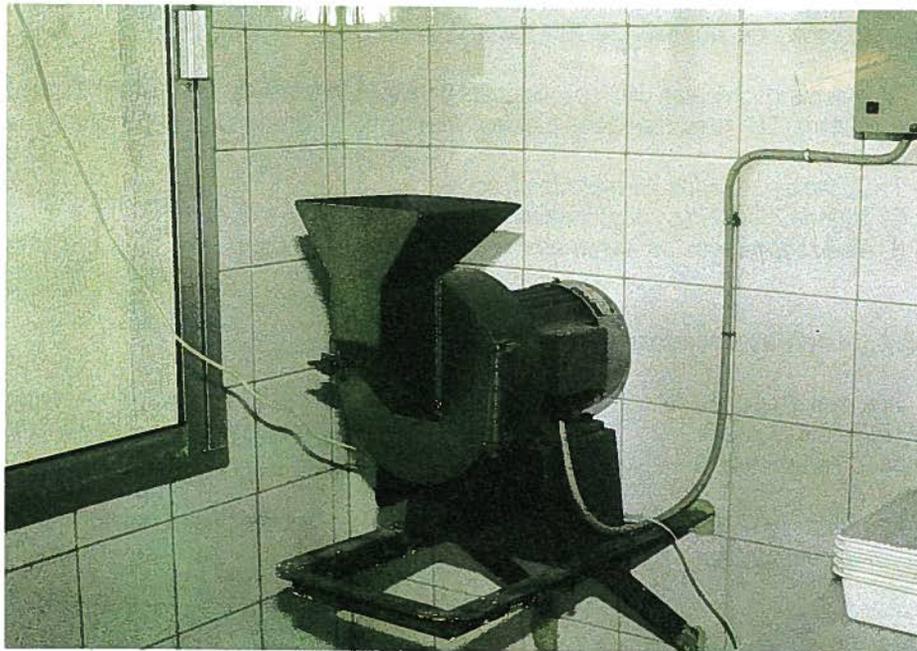


Foto 2. Molino triturador de aceituna.

II.4. Descripción de los metodos.

II.4.1. Método ABENCOR

Fundamento:

Este método, puesto a punto por Leví de León (1965), determina el rendimiento industrial de la aceituna, mediante reproducción, a escala de laboratorio, del proceso industrial, y siguiendo las mismas fases: molienda, batido, centrifugación y decantación.

El equipo consta de tres elementos fundamentales y una serie de accesorios. Los fundamentales son:

- * Un *molino* de martillos, de acero inoxidable, dotado de cribas intercambiables, para obtener distintos grados de molienda (Foto 2).
- * Una *termobatidora* múltiple, con capacidad para ocho muestras a la vez, con termostato para regular la temperatura del baño de agua (Foto 3).
- * Una *centrifuga* de tipo cesta, en acero inoxidable, con un bol que gira a 3.500 r.p.m. (Foto 4).
- * Probetas para decantación de los líquidos y medida del aceite obtenido. (Foto 5).



Foto 3. Termobatidora

Procedimiento:

- Se muele, aproximadamente, un kilogramo de aceituna. La masa se recoge en una bandeja, y se homogeneiza convenientemente.
- Se pesan de 600-700 gramos de la pasta en el recipiente de la batidora y se somete a batido en baño de agua durante 20 minutos, regulando el termostato para que la temperatura de la pasta no supere los 25°C.
- A continuación se añaden 300 ml. de agua hirviendo y se continúa batiendo 10 minutos más.



Foto 4. Centrifuga

– Acabado el batido, se vierte la totalidad de la pasta en la centrifuga, accionándola durante 1 minuto y recogiendo el mosto oleoso por la parte inferior en una probeta graduada.

– El recipiente de la batidora se enjuaga con 100 ml. de agua hirviendo. Este agua se vierte en la centrifuga, limpiando bien las paredes, se acciona un minuto más, recogiendo el líquido en la misma probeta anterior.

– Se deja reposar 10 minutos, y se lee en la probeta el aceite obtenido.

Cálculos:

El Rendimiento Industrial, en %, se obtiene a partir de la siguiente formula:

$$\% \text{ Aceite en la muestra} = \frac{\text{ml. de aceite obtenido} \times 0,915}{\text{gramos de pasta batida.}} \times 100$$

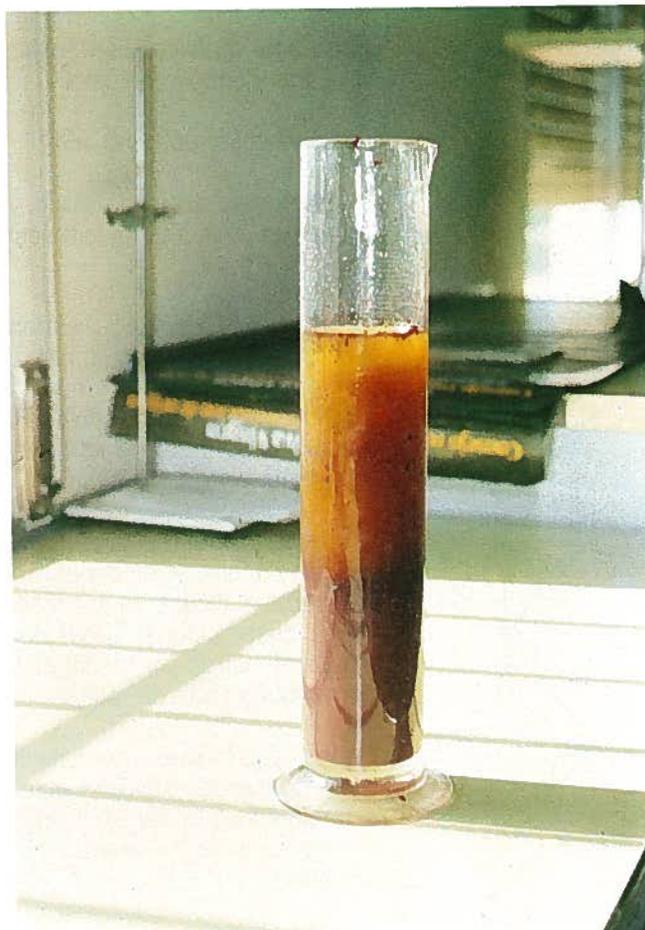


Foto 5. Probeta con líquido

II.4.2. Método SOXHLET

Fundamento:

El fundamento de la extracción con SOXHLET, consiste en que la masa de aceituna desecada, ya sea por estufa o por mezcla con sulfato sódico anhidro, se pone en contacto con un disolvente orgánico, en el que se produce la dilución de la grasa; éste líquido (miscela) es renovado varias veces por disolvente limpio hasta que en éste no se aprecie grasa. Las miscelas, recogidas en un matraz tarado, son sometidas a calefacción para eliminar el disolvente residual, quedando en el matraz el aceite extraído a la masa de aceituna. La cantidad de éste nos permite conocer cual es el contenido graso total, en % de la muestra de partida.

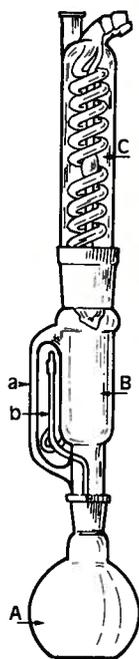


Figura 5. Extrator Soxhlet.

El sistema de extracción Soxhlet consta de tres elementos de vidrio y un foco de calor.

Los elementos de vidrio son:

A) Un matraz de fondo plano, donde se ha de recoger la grasa que se extrae de la muestra de aceituna que se va a analizar. (Foto 6).

B) Un cuerpo central, o extractor, donde se introduce la muestra desecada con su filtro, y

C) Un refrigerante de reflujo, (Foto 7), adaptado al anterior por medio de un cierre esmerilado, y con la correspondiente entrada y salida de agua.

El cuerpo central B está cerrado por su base, quedando con ello, sin *comunicación directa* con el matraz, aunque sí tiene *comunicación indirecta* por medio de los tubitos a y b. Este último desempeña el papel de sifón. La parte inferior se adapta al matraz por medio de cierre esmerilado, y la superior al refrigerante de reflujo.

El foco de calor puede ser: una placa de calefacción, (Foto 8), un baño de arena, o simplemente un baño maría (Foto 9) todos con termostato regulable. Y capaz de producir la temperatura necesaria, para la ebullición y evaporación del disolvente empleado.

Procedimiento:

– De la muestra de aceituna, molida y homogeneizada, se pesan en una cápsula o platillo previamente tarado, unos 30-40 gramos, aproximadamente, y se introducen en estufa de secado por aire, manteniéndola a 105°C durante toda la noche, para que la desecación sea total.

– La cápsula o platillo, con la muestra desecada, se vuelve a pesar, una vez fría, para determinar el agua perdida, obteniendo de ésta diferencia de peso, el % de humedad de la muestra.

– El producto desecado, se envuelve en un filtro plegado, numerado y pesado, formando un cartucho (Foto 10), y se introduce en el cuerpo central B, cuidando que el envoltorio quede más bajo que el nivel superior del sifón b.

– Una vez colocado el cartucho en el extractor, se acopla éste, por su parte inferior, al matraz A, que se habrá etiquetado y pesado previamente.

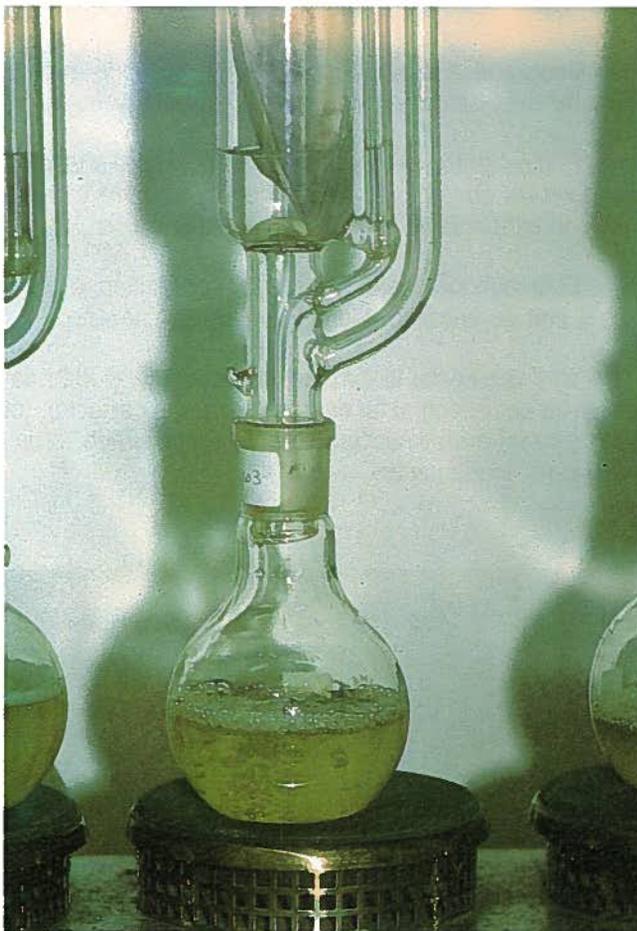


Foto 6. Matraz.

– Por la parte superior del extractor, se va echando el disolvente a utilizar (hexano, éter etílico o éter de petróleo), hasta que sífone por el tubo b; cuando haya terminado de sífonar, se le añade más disolvente, con el fin de que al evaporarse no quede el balón completamente seco.

– A la parte superior del extractor, se le acopla el refrigerante C. El conjunto se sujeta al soporte del aparato, de tal manera, que el matraz A descansa sobre el foco de calefacción.

Si el foco de calor se trata de baño maría, se tendrá cuidado de que el agua no sobrepase las 3/4 partes del balón.

– A continuación, se abre el paso de agua para la alimentación de los refrigerantes, regulando el caudal, para que la refrigeración sea adecuada; después se enciende el foco de calor, con lo que se activa la evaporación del disolvente, que escapará por el tubo a hasta pasar al refrigerante de reflujo, de donde, al condensarse, cae sobre la muestra, almacenándose en forma líquida, en el extractor, hasta

que alcanza el nivel superior del sifón, cayendo al matraz y produciéndose así un arrastre del disolvente con la grasa extraída disuelta.

– El disolvente, una vez en el matraz, vuelve a volatilizarse y a condensarse, repitiéndose las operaciones de sifonado y arrastre tantas veces como sea necesario, hasta el agotamiento total de la muestra.

– El tiempo necesario para toda la operación, es de unas dos horas con éter etílico o éter de petróleo, y unas 6 horas con hexano.

– Una vez hecha la extracción, se apaga el foco de calor y esperamos que se enfríe un poco, con el fin de poder sacar el cartucho, (que se hace con la ayuda de unas pinzas) a continuación se deja secar al aire, o en estufa a 50°C durante una hora aproximadamente.

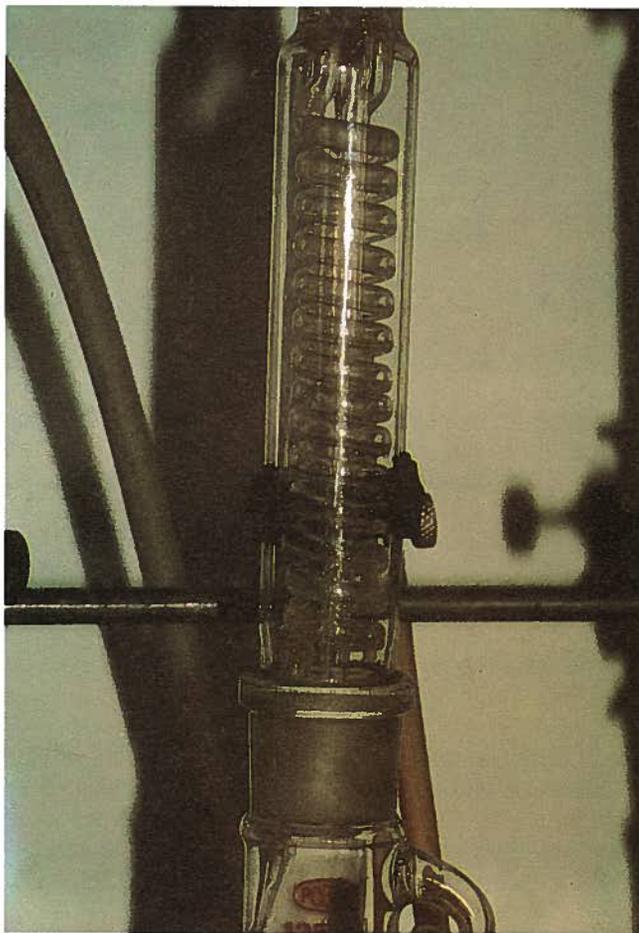


Foto 7. Refrigerante



Foto 8. Bateria Soxhlet "Placa".

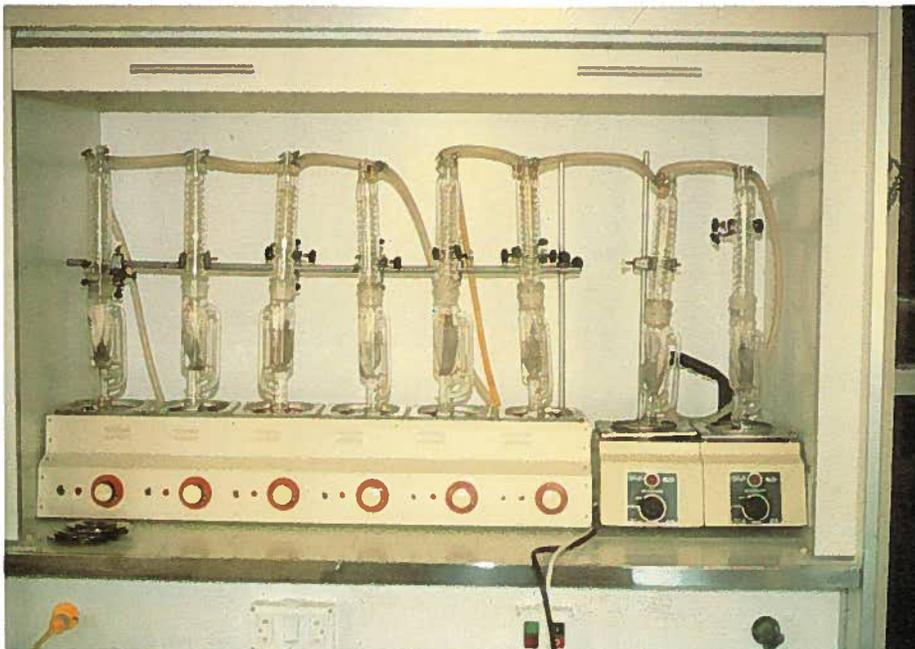


Foto 9. Extractor Soxhlet "baño maría".

– El matraz con el extractor y el refrigerante, se vuelve a poner en el foco de calor, hasta que la totalidad del disolvente pase al extractor. Después se retira el matraz con la grasa extraída, y se mantiene en estufa a 50°C, para eliminar el posible disolvente que pueda haber quedado.

– La eliminación se comprueba por la ausencia de olor a disolvente en el matraz.

– El contenido graso se puede determinar de dos maneras:

a) Pesando el cartucho, una vez seco, con lo se halla la grasa perdida.

b) Pesando el matraz, una vez frío, con la grasa extraída.



Foto 10. Extractor Soxhlet
"Cartucho".

Cálculo

a) *Pesando el filtro:*

$$\% \text{ Aceite en húmedo} = \frac{P1 - P2}{P} \times 100$$

P1 = Peso del filtro + masa.

P2 = Peso del filtro + masa extractada.

P = Peso inicial de masa sin desecar.

b) *Pesando el matraz:*

$$\% \text{ Aceite en húmedo} = \frac{P4 - P3}{P} \times 100$$

P3 = Peso del matraz.

P4 = Peso del matraz + grasa.

P = Peso inicial masa sin desecar.



Foto 11. Reactor-Vibrador.

II. 4.3. Método FOSSLET.

Fundamento.

Se realiza la extracción de la grasa con el disolvente percloroetileno por medio de un homogeneizador-vibrador. (Foto 11). La mezcla formada es filtrada bajo presión en una cámara cerrada y termostatazada, (Foto 12) en donde se realiza una medida electrónica de la densidad. Mediante lectura directa del digital o utilizando unas tablas de conversión, se puede obtener el contenido graso total, en % de la muestra.

Procedimiento.

– De la muestra de aceituna, previamente molida y homogeneizada, se pesan 22,5 grs. y se le añaden otros 22,5 grs. de sulfato sódico anhidro (para extraerle el agua).

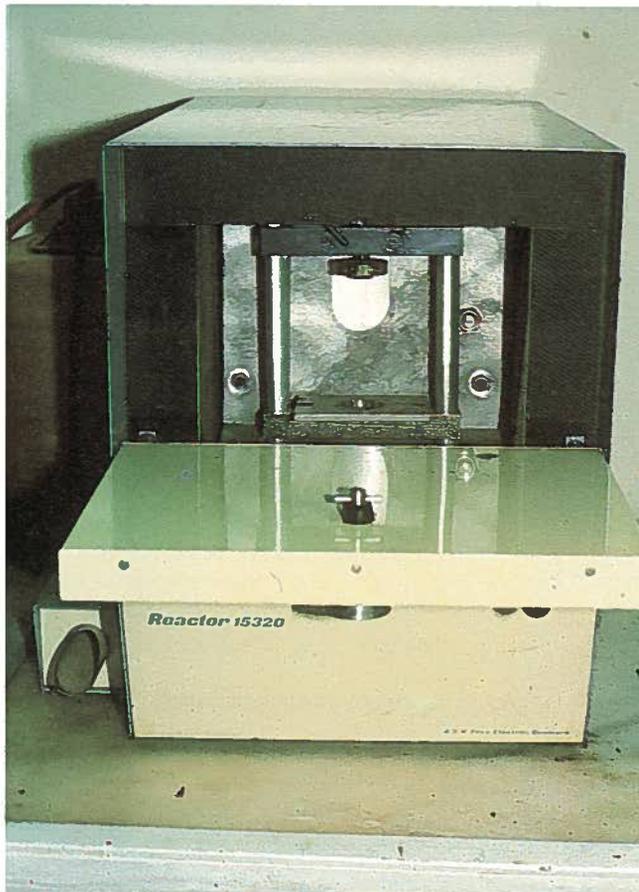


FOTO 12.
Interior del Reactor

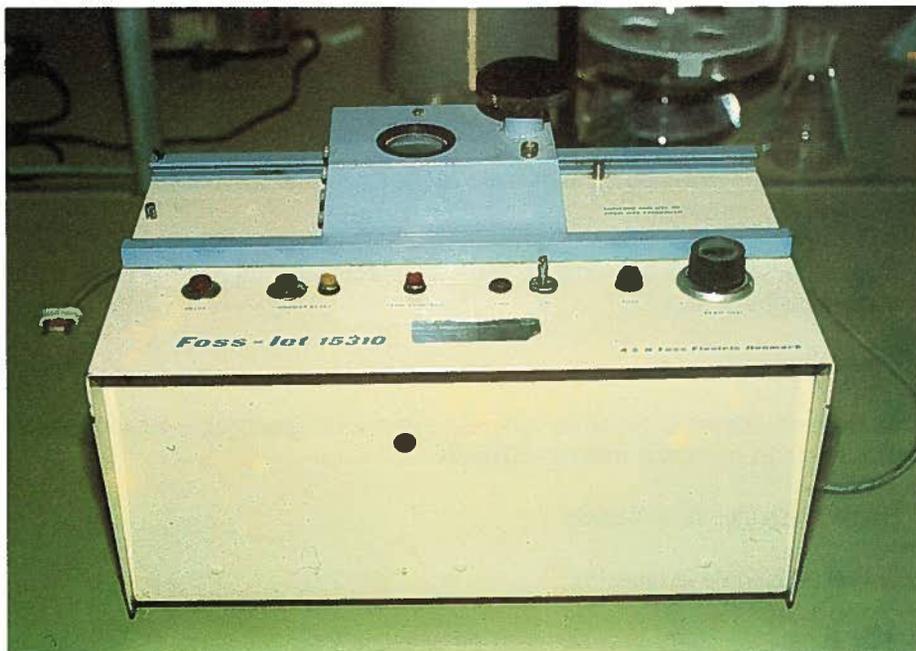


Foto 13. Medidor de gravedad.

- Se le agrega 1 dosis de Percloroetileno (120 cc.) calibrados a temperatura ambiente, y se llevan al reactor-vibrador durante 2 minutos. Después de la extracción, la mezcla se filtra, utilizando filtros redondos de papel especial Scheilecher nº 589/1 de 7cm. de Ø

- El filtrado fluye al medidor de gravedad, (Foto 13) que da directamente el contenido graso de la muestra en % de aceite en húmedo.

- En el caso de que se quiera determinar la humedad, se posan 45 grs. y se desecan en estufa a 105°C, durante la noche, volviendo a pesar antes de determinar la grasa, con lo que se obtiene el % de humedad por diferencia de pesada. De la materia seca, se pesan 22,5 grs. a la que se le añaden 5 grs. aproximadamente de Sulfato Sódico Anhidro; el resto de las operaciones, como se ha descrito anteriormente.

II.4.4. Método AUTELEC

Funcionamiento.

Se basa en determinar la riqueza grasa total sobre húmedo en aceitunas, mediante la medida de la densidad de la miscela aceite-disolvente por pesada. El disolvente empleado es heptano.

El aparato se calibra previamente entre los porcentajes de riqueza grasa sobre húmedo que interesen.

Procedimiento.

Se trata de extraer la grasa de la muestra (masa de aceituna), y posteriormente medir su riqueza por dicho método AUTELEC.

Pueden distinguirse 3 etapas:

a) Preparación de la muestra:

– Se toman de 30-40 grs. de masa de aceituna y se depositan en el VASO (el peso exacto lo establecerá el aparato). A continuación se añaden 3 medidas de sulfato sódico anhidro, aproximadamente 20-30 gr. que es utilizado en dicha masa. Por último es añadido automáticamente el disolvente.

b) Homogeneización:

Puede dividirse a su vez en dos pasos:

1. Se introduce en el VASO DE MUESTRA, el martillo triturador, y se cubre con la tapa. A continuación se lleva al aparato homogeneizador, asegurándose que el VASO está bien sujeto. La homogeneización se realiza en 2 minutos.

2. En este segundo paso, el contenido del VASO se hace pasar por un recipiente-filtro, donde es empujado mediante un émbolo, y de donde se recoge en un matraz una parte líquida o miscela y otra parte sólida que permanece retenida en el filtro.

c) Medida de la riqueza grasa:

– De la miscela recogida en el matraz se vierten aproximadamente 50-70 cc. en el AUTELEC, que ofrecerá directamente el contenido graso de la muestra en la pantalla y de forma impresa.

II.4.5. Analizador por R.M.N. (foto 14)

Fundamento:

La Resonancia Magnética Nuclear (R.M.N.) como técnica de medida física data de 1946, y tiene su fundamento en la capacidad de algunos núcleos atómicos de comportarse como imanes elementales y, en consecuencia, de orientarse en presencia de un campo magnético externo. Esta orientación puede invertirse si se comunica al sistema cierta energía en forma de radio-frecuencias. Este cambio del sentido de la orientación es lo que se denomina resonancia magnética nuclear.

Uno de los núcleos que puede resonar es el del Hidrógeno-1, no presentando esta propiedad el Carbono-12, el Oxígeno-16 o el Nitrógeno-14. Por tanto, en los materiales orgánicos normalmente sólo resonarán los núcleos del Hidrógeno-1 y del Carbono 13.

El número de núcleos que cambian de orientación es proporcional al número de núcleos de la misma especie presentes, y siempre que se cumpla una determinada relación de frecuencia a campo magnético.



Foto 14. Analizador de Rendimiento Graso.



Foto 15.
Tubo con muestras.

Para determinar cuantitativamente el contenido graso en aceituna, hay que evitar la interferencia del agua. Esto puede conseguirse, eliminando el agua: por desecación por medios físicos, por deshidratación por vía química, o por diferenciación de las señales del agua y el aceite, por saturación de radio frecuencias.

Procedimiento:

De una masa de aceituna, previamente molida, se toma una muestra de unos 60 gr., que se deposita sobre un platillo de aluminio, cubierto con una lámina de plástico resistente a altas temperaturas, exento de grasa y previamente tarado. Esta muestra, se deseca en estufa a 105°C de temperatura hasta peso constante.

La muestra, una vez desecada y enfriada en desecador, se pesa para determinar la humedad por diferencia. La masa desecada se introduce en un vaso de vidrio de muestras de 150 cc. de capacidad (Foto 15), haciéndose 3 lecturas en el R.M.N.,

a partir de las cuales se determina el contenido de aceite en dicha muestra, por comparación con las lecturas obtenidas con un patrón de aceite de peso conocido. (Foto 16).

El patrón se prepara igualmente en un vaso de muestras de 150 cc., pesándose 50 gr. de aceite de oliva, realizándose 3 lecturas de referencia a partir de las cuales se establece una relación señal/masa del patrón, que corresponde a un contenido de aceite 100 por 100.

Cálculos.

El cálculo de la riqueza grasa se realiza aplicando la formula siguiente:

$$\% \text{ Aceite de la muestra} = \frac{P_i}{a L} \times 100$$

siendo:

P = Peso de aceite del patrón (gr.).

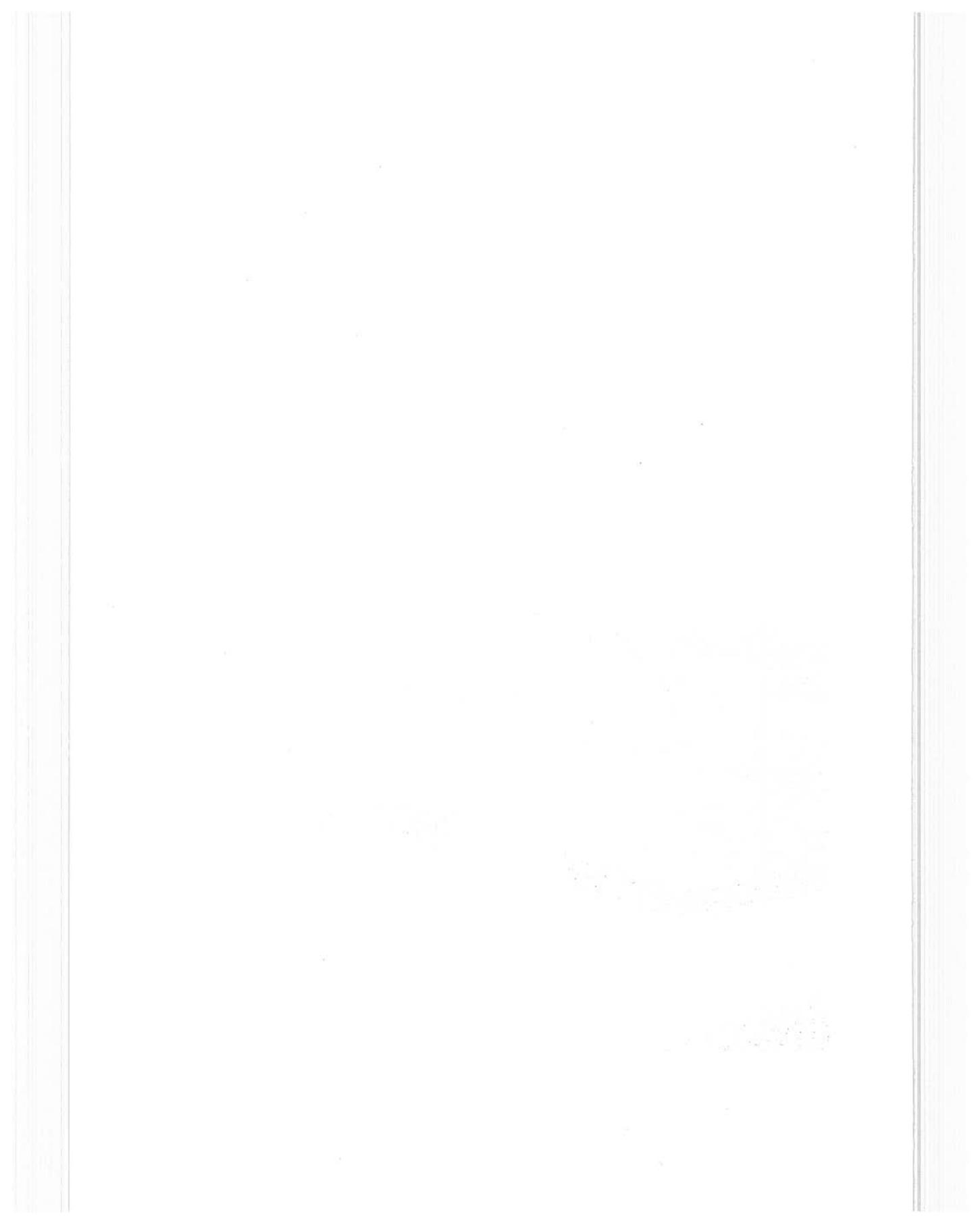
L = Lectura media del patrón en R.M.N.

a = Peso fresco de la muestra de aceituna (gr.)

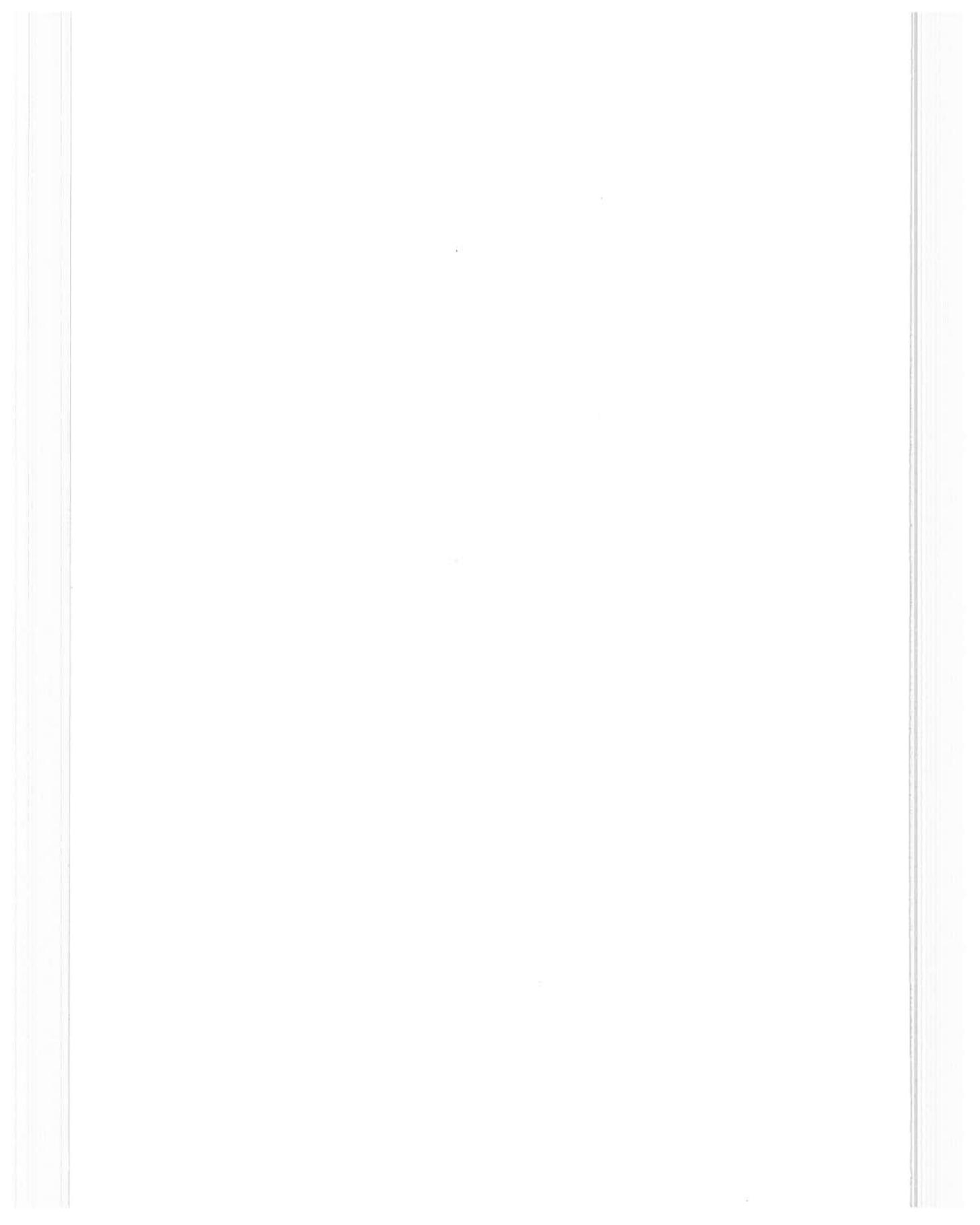
l = Lectura media de la muestra desecada en R.M.N.



Foto 16. Patrón de aceite de oliva.



III
ANÁLISIS DE SUBPRODUCTOS



III ANÁLISIS DE SUBPRODUCTOS.

III.1. La materia prima.

Durante el proceso de extracción del aceite de oliva, se obtienen dos subproductos: el orujo y el alpechín. El interés de su análisis en la almazara es doble:

- a) Permite conocer el nivel de agotamientos, y por tanto, establecer posibles mecanismos de corrección. En consecuencia, los parámetros a medir son la humedad y el contenido graso.
- b) Debe servir para valorar, a nivel comercial, el precio de los orujos.

El *ORUJO*, es el subproducto sólido obtenido en la extracción del aceite de oliva. Desde el punto de vista de un analista de laboratorio, el orujo es una substancia de composición relativamente simple. Contiene la mayor parte de los sólidos que se encuentran en la aceituna, además de una cierta cantidad de aceite y agua, cantidad que depende, en primer lugar, del sistema de extracción. En los sistemas de presión, la humedad es del 24-28%, y el contenido graso del 5-9%. En los sistemas de extracción por centrifugación o continuos en 3 fases, la humedad suele tener valores comprendidos entre el 40-55% y el contenido graso varía del 2 al 5%. Los orujos húmedos, obtenidos en el sistema de 2 fases, tienen una humedad superior al 60% y una estructura que les lleva a expandirse. El contenido graso varía del 1-2%

Esta diferencia de humedad y contenido graso, entre los diferentes orujos, aconseja referir el contenido graso a seco, mediante la formula de transformación:

$$\% \text{ G/MS} = \frac{\% \text{ G}}{100 - \% \text{ H}} \times 10.0$$

siendo:

% G/MS = Contenido graso sobre materia seca (%)

% G = Contenido graso en húmedo (%)

% H = Humedad (%)

Este valor del contenido graso sobre materia seca, debe ser el que se utilice para comparar sistemas, máquinas, etc.

El valor comercial de los orujos depende, principalmente, de estos dos parámetros: humedad y contenido graso en húmedo. Lógicamente, el contenido graso revaloriza los orujos mientras una alta humedad los deprecia ya que exige mayor gasto de transporte y de secado.

Por cada 100 kgr. de aceituna, se obtienen aproximadamente 32-35 kg. de orujo en los sistemas de prensas y 45-70 kgr. en los sistemas continuos. En el orujo, se encuentran las siguientes partes referidas a materia seca:

Aceite: 5-11 %.

Pulpa, piel, almendra: 40-50 %.

Fragmentos de hueso: 50-60 %

Como el orujo contiene todavía una notable riqueza en aceite, es materia prima de otra industria de extracción que, mediante el tratamiento con disolventes orgánicos (hexano principalmente) permite la recuperación de una alta proporción de esa riqueza grasa. Concluidas las tres fases de secado, extracción y destilación de la mezcla grasa, queda como subproducto el "orujo extractado" u "orujillo". La casi totalidad del orujo se somete a este proceso de recuperación.

La aplicación más habitual del orujo extractado es para combustible ofreciendo un poder calorífico del orden de 4.600 kcal./kg. referido a materia seca.

Cuando este orujo extractado se somete al deshuesado, se obtiene un producto llamado "pulpa de aceituna" que puede utilizarse para alimentación animal. El hueso fragmentado obtenido en la separación de esta pulpa, es un buen combustible con un poder calorífico de 6.750 kcal./kg. (en seco).

El *ALPECHIN* o *JAMILA*, es el residuo líquido, no oleoso, que se separa, por decantación o centrifugación, en el proceso de extracción del aceite de oliva. Es un líquido oscuro, que fermenta muy rápidamente, en cuyo caso adquiere un olor desagradable.

Las características y composición química del alpechín son muy variables, dependiendo de muchos factores: variedad de aceituna, época de recolección, tiempo de atrojado, y sobre todo, el proceso de extracción utilizado (prensa o continuo); según se refleja en el cuadro nº 5.

De la observación de este cuadro, cabe deducir algunas propiedades del alpechín. Así:

* Bajo pH, con dificultad de variarlo, debido a su poder tampón, consecuencia de la alta cantidad de ácidos orgánicos presentes.

- * Gran poder contaminante, debido a su alta demanda biológica de oxígeno (DBO) una de las razones por lo que su vertido a los cauces públicos está totalmente prohibido.
- * Cantidad elevada de sustancias minerales y orgánicas, que tienen interés nutricional para los vegetales, por lo que se puede emplear como fertilizantes. Sin embargo debe usarse con precauciones por su gran riqueza en Potasio y en Polifenoles que tienen poder herbicida.

Desde el punto de vista de un analista de laboratorio de almazara, interesan algunos aspectos de una manera especial:

- * Su densidad variable, es mayor que la del aceite, por lo que este tiende a sobrenadar. Esto exige que la toma de muestras y la propia manipulación de la muestra se haga con toda clase de precauciones, sobre todo pensando en que el contenido graso suele ser inferior al 1 %.
- * Contener trozos de pulpa, rodeados de película de grasas ("finos") que forma emulsión, dificultando la extracción de aceite con los disolventes orgánicos.
- * Elevado contenido en azúcares, lo que lleva consigo dificultades en el proceso de desecación del mismo, presentándose problemas de "caramelización" de la sustancia seca.

CUADRO N.º 5 CARACTERÍSTICAS Y COMPOSICIÓN MEDIA DEL ALPECHIN

ph	4,5-5
D.B.O	30.000-100.000 ppm.
Humedad	87-96%
Substancia Seca	13-4%
* Substancia mineral	0,4-1,5%
• P.....	100-500 ppm.
• K	1.200-3.000 ppm.
• Ca.....	120-350 ppm.
• Mg	50-200 ppm.
• Na.....	50-150 ppm.
• Fe	15-50 ppm.
* Substancia orgánica	2,5-10,5%
• Azúcares totales	1-2%
• Nitrógeno orgánico	0,06-0,2%
• Acidos orgánicos	0,3-0,7%
• Polialcoholes	1,1 - 1,8%
• Pectinas, Mucilagos, Taninos	0,5- 1,37%
• Polifenoles.....	0,5- 1 %
• Grasa	0,1-1%

III. 2. Toma de Muestras.

III.2.1. Toma de muestra de orujo.

Se pueden presentar 2 casos:

- a) Que el análisis se haga para el control del funcionamiento de la Almazara.
- b) Que el análisis se haga para comprobar las características del orujo que se vende.

En el primer caso, se presentan también dos situaciones:

- a. 1. Que el sistema de elaboración sea continuo.
- a. 2. Que el sistema de elaboración sea clásico (prensas).

a.1. Sistema de elaboración continuo

El orujo está constituido por dos fracciones:

- El que sale directamente del decánter.
- El que se separa en los tamices vibratorios, mucho más rico en grasa.

Las muestras deben tomarse una vez que están mezcladas las dos fracciones, por ejemplo en la cinta que lo lleva a la tolva.

La mecánica es tomar porciones de unos 200 gr., cada una, a intervalos de 10 minutos, durante 1 hora. Una vez tomadas las porciones, se mezclan bien y se toma la muestra de 1.000 gr. para enviar al laboratorio. Esta muestra se coloca en bolsa de plástico bien cerrada, no debiendo transcurrir más de 48 h. hasta que se efectúe el análisis.

a.2. Sistema de elaboración clásico (prensas)

La prensa no agota por igual toda la masa que contiene el cargo.

El máximo agotamiento se obtiene en:

- Los capachos próximos a las puentes, superior e inferior.
- En las fracciones de masa exterior e interior (junto a la aguja) del capacho.

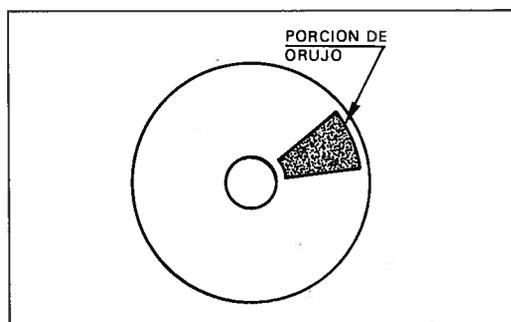
Estas dos circunstancias hay que tenerlas en cuenta, a la hora de tomar la muestra.

Para ello, se procede de la siguiente manera:

Se toma una porción de orujo en tres capachos: uno de la parte superior del cargo, otro de la mitad y el último de la parte inferior del cargo.

La porción, en cada caso, será un sector circular del capacho, tal como se indica en la figura 6.

Así tomadas las tres porciones se trocean, se mezclan y se toma la muestra definitiva para enviar al laboratorio, tal y como se ha señalado anteriormente.



N.º6. Porción de muestra de orujo.

Tanto en el caso a. 1 como a.2, el análisis debe ser diario como mínimo, o aún más frecuente si se observa alguna anomalía, cambia el tipo de aceituna, se modifica alguna regulación, etc.

Cuando la muestra de orujo se toma para comprobar las características del orujo que se vende, pueden tomarse pequeñas porciones, según se va cargando el camión, de manera que se obtenga en total unos 5 kg. de orujo, tomado en 8 ó 10 porciones. De este total, convenientemente troceado y mezclado se toma la muestra definitiva.

También puede emplearse la sonda como se indica en el gráfico nº 4, haciendo un número tal de extracciones que permita reunir los 5 kg., de donde se tomará la muestra definitiva.

Existe una norma UNE para esta toma de muestras: la 55036.

III.2.2. Toma de muestras de alpechín

El análisis de alpechín se hace siempre como método de control del funcionamiento de la almazara.

Como en el caso del orujo se pueden presentar dos situaciones:

- a) Que la muestra se tome de la centrífuga vertical.
- b) Que se tome en los jamileros o alpechineras.

a) Si la muestra se toma en la centrífuga vertical, la heterogeneidad del alpechín viene determinada por el hecho que esta máquina proporciona los mejores agotamientos inmediatamente después de la descarga, y los peores inmediatamente antes.

Por esta razón se tomarán al menos tres porciones:

La primera unos 5 minutos después de efectuar la descarga.

La segunda, en un momento a mitad de las dos descargas.

La tercera, unos cinco minutos antes de la descarga.

Las tres fracciones, de igual cuantía, por ejemplo 250 cc., se deben guardar en un frasco de boca ancha y de capacidad al menos un 25% superior al volumen total de la muestra. Una vez cerrado, se envía a laboratorio.

b) *Si la muestra se toma en alpechineras*, la heterogeneidad es en profundidad, ya que la fracción más rica en aceite queda en la parte superficial. Por ello las porciones deben tomarse en la salida de alpechines, recogiendo completo todo el caudal. Es importante recoger todo el caudal, pues si se toma la fracción superior, irá en la muestra una mayor riqueza grasa que la que realmente existe y si se recoge la fracción inferior irá en la muestra un alpechín, con menor riqueza grasa.

Tomadas al menos tres fracciones durante 1 hora, se procede de igual manera que en el caso anterior.

El análisis debe ser como mínimo diario.

III.3. Análisis de orujos.

III.3.1. Tipos de orujos.

En la actualidad existen tres tipos de orujos:

- a) Los de prensas: orujos de clásicos.
- b) Los de centrifugas y filtración selectiva: orujos de continuo.
- c) Los orujos de dos fases, conocidos como "alpeorujos"

Se diferencian fundamentalmente en el contenido de agua.

De 100 kg. de aceituna se obtienen aproximadamente:

- Sistema Clásico 35 kg.
- Sistema Continuo 50 kg.
- Sistema de Dos Fases 70 Kg.

III.3.2. Determinaciones analíticas.

Las más importantes son: la determinación de la humedad y la del contenido graso.

A) DETERMINACION DE LA HUMEDAD (UNE 55031)

La humedad, contenida en el orujo de aceituna, se determina por desecación de la muestra, en estufa de circulación forzada de aire y regulación automática.

Material necesario

- Platos o cápsulas.
- Estufa de desecación por aire, capaz de alcanzar de 100-105°C, con regulación automática.
- Balanza de precisión con sensibilidad de 0,001 gramos.
- Mortero de porcelana.

Procedimiento.

La muestra se debe desmenuzar previamente, triturándola en el mortero, si es necesario.

En un plato o cápsula, previamente desecado y tarado, se pesa 30-40 gr. de muestra. Se introduce en la estufa, regulada a 105°C y se mantiene en ella durante 6-8 horas. Al cabo de éste tiempo se saca de la estufa, se enfría y se pesa, repitiendo esta operación, hasta alcanzar, entre dos pesadas consecutivas, una variación inferior a 0,02 gramos.

Resultados.

La diferencia de peso, después de la desecación (H₂O perdida), referida a %, expresa la humedad de la muestra.

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{Dif. peso m. desecada} \times 100}{\text{Peso de muestra.}}$$

Observaciones.

Como el orujo sufre alteraciones de tipo microbiológico que determinan variaciones en la humedad y en el contenido graso, su análisis no debe demorarse a partir de su entrada en el laboratorio.

La humedad dificulta la extracción, pero los orujos demasiados secos también se extraen mal.

B) DETERMINACION DE LA MATERIA GRASA (UNE 55032)

La materia grasa total, contenida en el orujo de aceituna, se extrae por medio de un disolvente orgánico: Hexano o Éter.

Material necesario.

- Placa de calefacción o baño maría.
- Extractor tipo Soxhlet, completo.
- Cartucho de extracción o papel de filtro.
- Disolvente: Hexano o Eter.

Procedimiento.

La muestra de orujo, desecada y pesada, se coloca en el cartucho de extracción, tapándolo con un poco de algodón hidrófilo. Si se utiliza papel de filtro, se envuelve en él y se pesa.

Pesar un matraz de 250 ml., perfectamente limpio y seco.

Colocar en el aparato de extracción el cartucho (o el envoltorio de papel de filtro con la muestra).

Verter en el matraz la cantidad necesaria de disolvente (unos 150 ml.), adaptarlo al aparato de extracción y colocarlo sobre la placa de calefacción. Llevar la calefacción a tal grado, que se produzca una ebullición moderada.

Después de unas 3-4 horas, dejar enfriar. Retirar el cartucho y eliminar el disolvente en estufa a 80°C. Enfriar y pesar, tanto el matraz como el filtro.

Resultados

La diferencia de peso que experimenta el matraz (grasa contenida) o el filtro (grasa extraída), da la grasa total de la muestra, que se refiere al % por dos procedimientos que deben coincidir con bastante aproximación:

a) *Pesando el matraz:*

$$\% \text{ Grasa total} = \frac{\text{Peso de grasa en el matraz} \times 100}{\text{Peso de muestra}}$$

b) *Pesando el filtro:*

$$\% \text{ Grasa total} = \frac{\text{Peso perdido en el filtro} \times 100}{\text{Peso de muestra}}$$

Para obtener el % de grasa referida a un orujo con el 25% de humedad:

$$\text{Grasa ref. 25\% hdad.} = \frac{(100-25) \times \% \text{ Grasa total \%}}{(100 - \text{humedad})}$$

III.4. Análisis de alpechines o jamilas.

Los alpechines o jamilas son las aguas residuales de las almazaras, constituidas por el agua de vegetación de la aceituna, que representa el 50% de las mismas, y las aguas de lavado utilizadas en el proceso industrial de obtención del aceite de oliva.

Se considera materia grasa del alpechín al producto extraído por un disolvente determinado.

III.4.1. Determinación de la grasa total

El contenido graso de los alpechines se puede determinar por varios procedimientos:

a) *Extracción en ampollas de separación* (Método oficial nº 42)

Es un método lento, que presenta muchas dificultades.

Material.

- Ampollas de separación de 1,5 litros de capacidad.
- Matraces redondos, fondo plano, de 250 ml. de capacidad.
- Éter de petróleo 40-60°C.
- Sulfato sódico anhidro.

Procedimiento.

Agitar bien la muestra, para conseguir la homogeneización de la misma, y pesar 1 kg. en un vaso de precipitado.

Verter en la ampolla de decantación, lavar el vaso con agua destilada arrastrando los restos de alpechín y añadirla a la ampolla. Agregar unos 150 ml. de Éter de petróleo en frío. Agitar fuertemente y dejar decantar hasta la separación en dos capas del éter y del alpechín. Trasvasar el éter por la parte superior a una segunda ampolla, realizando lavados con agua destilada y repetir hasta 3 veces las extracciones con Éter de petróleo. El último extracto se filtra, a través de Sulfato sódico, sobre un matraz tarado.

Eliminar el éter por destilación, enfriar y pesar la grasa contenida. Referirla a %.

b) *Método rápido Soxhlet.*

Para la extracción de la grasa en los alpechines, siguiendo el método Soxhlet, es necesario previamente eliminar el agua, hasta desecación total de la muestra.

Material.

- Estufa de desecación por aire, capaz de alcanzar 110-120°C de temperatura, con regulación automática.
- Cápsulas de 100 ml. de capacidad. - Papel de estaño.
- Placa de calefacción eléctrica o baño maría.
- Equipo completo de extracción Soxhlet.
- Cartuchos de extracción o papel de filtro.
- Éter de petróleo 40-60°C.

Procedimiento.

Pesar 100 gramos de la muestra en una cápsula revestida de papel de estaño y tarada (Foto 17).



Foto 17. Cápsulas revestidas de papel de estaño.

Poner la estufa regulada a 110°C, durante 24 horas como mínimo, hasta conseguir la desecación total.

Pesar un matraz de 250 ml.

Realizar la extracción de la grasa en Soxhlet, empleando Éter de petróleo como disolvente.

Finalizada la extracción, enfriar, retirar el matraz, eliminar el Éter en evaporador rotatorio, y posar el matraz con la grasa extraída.

Del peso obtenido, se calcula el % de grasa total contenida en la muestra.

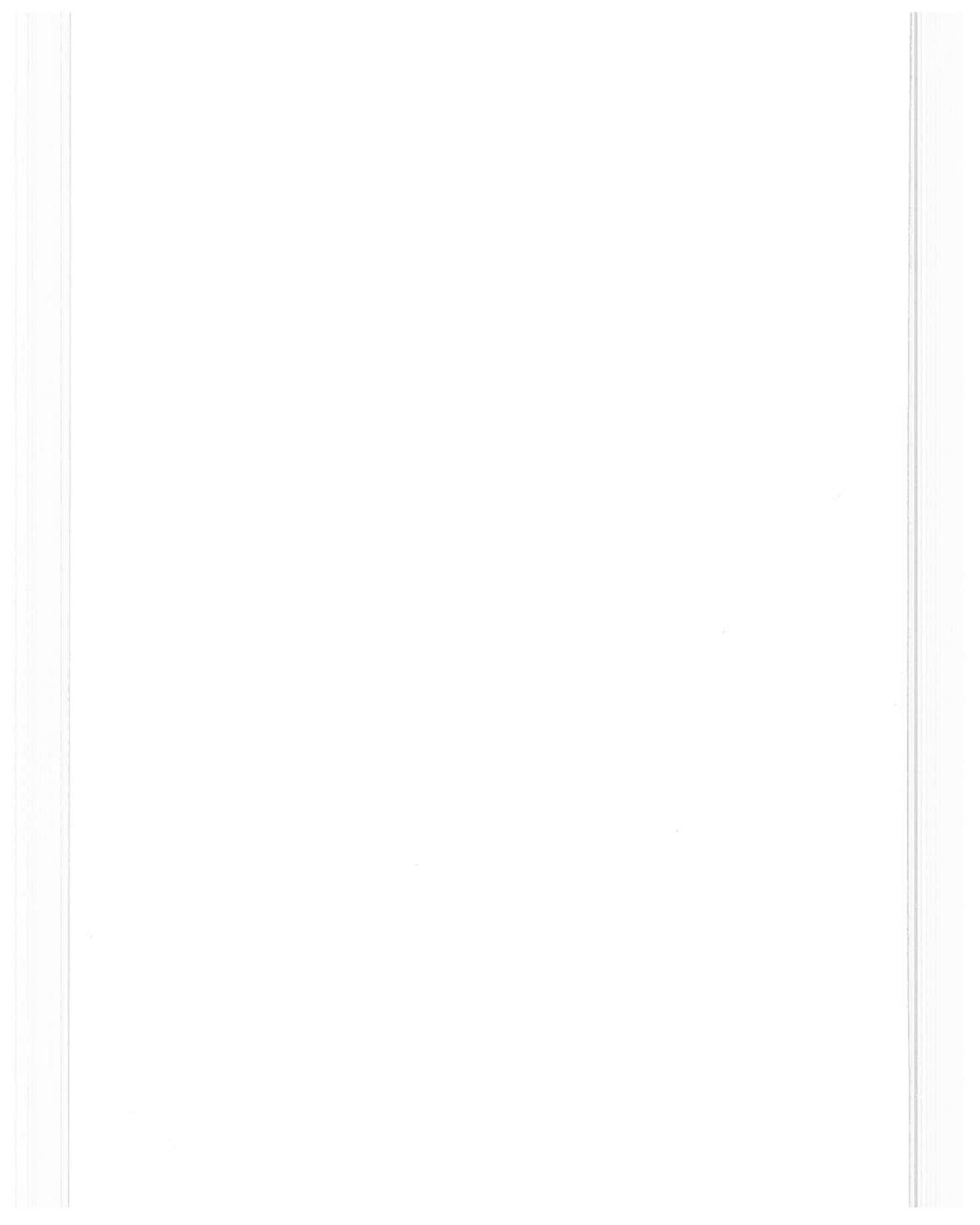
III.5. Interpretación de resultados.

El contenido máximo de grasa tolerable en alpechín es:

- En sistema continuo 0,2%
- En sistema clásico 0,4%

El procedimiento seguido para la determinación analítica del aceite contenido en el alpechín, tiene una gran importancia, ya que el alto contenido en azúcares y la presencia de pequeñas partículas sólidas en suspensión, dificultan la extracción de la grasa y conducen a resultados no reproducibles.

IV
ANÁLISIS DE ACEITES (I)



IV. ANÁLISIS DE ACEITES (I).

IV.1. Composición de los aceites de oliva.

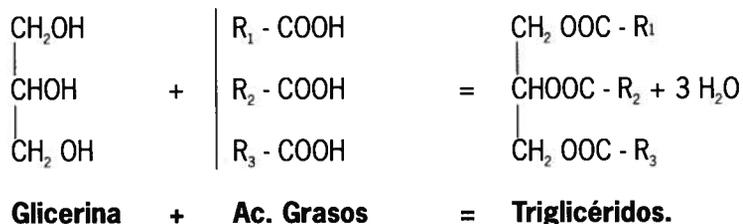
Al igual que el resto de los aceites vegetales, los componentes de un aceite de oliva se pueden dividir en dos grupos:

1. La fracción saponificable, que representa la casi totalidad del peso del aceite.
2. La fracción insaponificable, presente en una proporción muy pequeña respecto a la anterior, pero que tiene gran importancia desde el punto de vista del valor biológico del aceite y de la conservación del mismo.

IV.1.1. Composición de la fracción saponificable.

Los glicéridos constituyen la parte más importante de la fracción saponificable, estando constituido el resto por ácidos grasos libres. Son los glicéridos los que constituyen fundamentalmente el aceite y los que determinan sus principales características físicas.

Los glicéridos son ésteres de la glicerina y los ácidos grasos, siendo su estructura la que se esquematiza a continuación:



Dependiendo del número de grupos alcohol de la glicerina que se unan con ácidos grasos, se tendrá un triglicérido (tres ácidos grasos esterificando a la glicerina) un diglicérido (dos ácidos grasos) o un monoglicérido (un ácido graso).

Los triglicéridos constituyen el grupo mayoritario en el aceite. Los mono y diglicéridos, aunque se encuentran en forma natural en pequeña cantidad en el aceite, pueden ser el resultado de la hidrólisis (ruptura) de los triglicéridos debido a la alteración del aceite.

Dentro de cada tipo de glicéridos, también se puede establecer otra clasificación en función del tipo de ácido graso y la posición del mismo dentro de la molécula del glicérido.

Así por ejemplo, la trioleína es un triglicérido en el que las tres funciones alcohol de la glicerina están esterificadas por tres moléculas de ácido oleico (este triglicérido es el mayoritario en el caso del aceite de oliva, constituyendo alrededor del 40% del total).

Para finalizar este apartado hay que hacer significar que la saponificación (fabricación de jabones) consiste precisamente en la ruptura de los enlaces éster que dieron lugar a la formación del glicérido, lo que se realiza por tratamiento en caliente con sosa o potasa acuosa. De esta forma se liberan sus constituyentes, es decir, la glicerina por un lado, y los ácidos grasos en forma de sales sódicas o potásicas por otro.

B) Ácidos grasos

Con este nombre se denomina a aquellas sustancias constituidas por una larga cadena hidrocarbonada (formada sólo por átomos de carbono e hidrógeno) que posee en un extremo un grupo ácido (-COOH).

Los ácidos grasos pueden ser saturados (cuando no poseen dobles enlaces carbono-carbono) o insaturados (cuando poseen uno o varios dobles enlaces).

A la vista de lo anterior, los ácidos grasos se diferencian por su número de átomos de carbono (que oscila entre 16 y 20 en el aceite de oliva, siendo mayoritariamente un número par) y por la cantidad de dobles enlaces que posea (que se encuentra entre 0 y 3).

Como ejemplo, puede citarse el ácido oleico, que posee 18 átomos de carbono (C18) y un doble enlace (C'), entre los átomos de carbono 9 y 10; se representa por C'18.



Los ácidos grasos más frecuentes en los aceites de oliva virgen son los que se indican en el siguiente cuadro:

ACIDO GRASO	SIMBOLO	CONTENIDO (%)
Oléico	C'18	56,0- 83,0
Palmítico	C16	7,5 - 20,0
Linoléico	C"18	3,5 - 20,0
Esteárico	C18	0,5 - 3,5
Palmitoléico	C'16	0,3 - 3,5
Linolénico	C"18	0,0- 1,5
Mirístico	C14	0,0 - 0,05

De los datos de este cuadro se observa un predominio de los ácidos oleico, palmítico y linoléico, con un evidente predominio del primero.

El ácido oleico es un ácido monoinsaturado, lo que tiene dos consecuencias importantes:

- Desde el punto de vista nutricional, está demostrado que el aceite de oliva, rico en ácido oleico, presenta actividad en la prevención de la arterioesclerosis.
- Desde el punto de vista de su estabilidad, los aceites con mayor contenido en ácido oléico son más estables. Los ácidos grasos poliinsaturados son fácilmente oxidables, por lo que se pueden alterar con mayor rapidez.

IV.1.2. Composición de la fracción insaponificable.

Se denomina insaponificable al conjunto de constituyentes de los aceites que no reaccionan con la sosa o potasa para dar jabones, y que después de la saponificación continúan siendo solubles en los disolventes clásicos de las grasas (hexano, éter, etc).

Los principales grupos de sustancias que componen la fracción insaponihcable son los siguientes:

- *Hidrocarburos.* El insaponificable de los aceites de oliva comprende una fracción importante de hidrocarburos, que puede oscilar entre un 30 y un 50% del total. El más importante de ellos es el *escualeno*.

- *Alcoholes triterpénicos.* Estos se encuentran en mayor cantidad en las cutículas de los vegetales, y por tanto, en los aceites de orujo. Su determinación constituye una prueba para el reconocimiento de aceite de orujo en aceite de oliva, (determinación del EritrodioI).

– *Esteroles*. El aceite de oliva posee pequeñas cantidades de diversos esteroides, de entre ellos el más abundante es el β -sitosterol, extendido en todos los aceites vegetales. Por el contrario, de colesterol, sólo se encuentran trazas.

– *Alcoholes alifáticos*. Al igual que los alcoholes triterpénicos, son más abundantes en los aceites de orujo. Esterificados con los ácidos grasos forman las ceras.

– *Tocoferoles*. Existen varios isómeros, de los que el mayoritario es el α tocoferol. Su presencia es importante por dos razones: en primer lugar, presenta actividad vitamínica (el α - tocoferol es la vitamina E); en segundo lugar, poseen carácter antioxidante, por lo que su presencia es deseable con vistas a proteger al aceite de la oxidación.

– *Sustancias volátiles*. Se encuentran sólo en el aceite de oliva virgen. Son compuestos volátiles de distinta naturaleza (hidrocarburos, alcoholes, fenoles, cetonas, aldehidos, ésteres, terpenos, ácidos cortos, etc.). Se les considera responsables del aroma de los aceites.

IV.1.3. Polifenoles.

Hay otro tipo de componentes que no pertenecen a la fracción insaponificable ni a la saponificable; es trata de los polifenoles.

Estos compuestos se hayan presentes en la aceituna formando parte de moléculas complejas que por acción de ciertos enzimas pueden liberarlos. Son solubles en agua, por lo que en el proceso de fabricación pasan mayoritariamente a los alpechines, aunque una parte queda retenida en el aceite. La importancia de los polifenoles radica en que tienen actividad como antioxidantes, por lo que al igual que los tocoferoles les preservan al aceite de la oxidación.

IV.1.4. Trazas metálicas.

Se denominan “elementos-trazas” a aquellos componentes que se encuentran en cantidades tan pequeñas, que no es posible determinarlas por métodos clásicos de análisis. En el aceite de oliva podemos encontrar: Cu, Fe, Mn... Para su determinación hay que recurrir a la Absorción Atómica, utilizando la técnica de cámara de grafito. La Reglamentación española de aceites vegetales comestibles permite un máximo de:

Hierro.....	10 ppm.
Cobre.....	0,4 ppm.
Plomo	0,1 ppm.
Arsénico.....	0,1 ppm.

COMPONENTES DEL ACEITE DE OLIVA

1) Fracción saponificable

- Glicéridos
- Ácidos grasos libres

2) Fracción insaponificable

- Hidrocarburos
- Alcoholes triterpénicos
- Esteroles
- Alcoholes alifáticos
- Tocoferoles
- Sustancias volátiles

3) Polifenoles

4) Trazas metálicas.

IV.2. Denominaciones oficiales de los aceites de oliva

I. La Comunidad Económica Europea estableció en el Reglamento del Consejo nº 136/66/C.E.E., de fecha 22 de septiembre de 1966, las denominaciones y definiciones de los aceites de oliva y de los aceites de orujo de oliva, comercializados dentro de cada Estado miembro, así como en los intercambios intracomunitarios y con terceros países.

Con fecha 5 de septiembre de 1991, el Diario Oficial de las Comunidades Europeas, publica el Reglamento nº 2568/91/C.E.E., en el que se fijan las características que definen cada tipo de aceite y establece los métodos comunitarios de análisis químico y de valoración organoléptica, que se deben aplicar de manera uniforme en toda la Comunidad.

Las características fisicoquímicas de los distintos tipos de aceites y las características organolépticas de los aceites vírgenes, se recogen en el Cuadro 6 (anexo I al Reglamento 2568/91).

Las denominaciones y definiciones han sufrido algunas modificaciones, quedando adoptadas en su Artículo 1 las siguientes:

1. Aceites de oliva vírgenes: Se consideran *aceites de oliva vírgenes*, aquellos aceites cuyas características se ajusten a las indicadas en los puntos 1,2 y 3 del ANEXO I.

CUADRO Nº 6 CARACTERÍSTICAS DE LOS ACEITES DE OLIVA.
Diario Oficial de las Comunidades Europeas (29-3-95)

CATEGORIA	Acidez %	Indc. Peróxidos	Solvents. halógenos	Ceras mg/Kg	Ácids. grasos saturds. en posición 2.	Estigmastadienos mg/kg	Ertrodiol + Uvaol %	Tritoleína %	Colesterol %	Brassicasterol %	Campesterol %	Estigmasterol %	β-sitosterol %	Δ ⁷ Estigmasterol %	Esteroles totales, mg/Kg.	Ácidos Grasos %						Suma de los isómeros transoleicos y translinoleicos.	K ₂₃₂	K ₂₃₃	K ₂₃₄	K ₂₃₅	Panel test
																Mirístico C ₁₄	Linoleico C ₁₈ ¹	Araquídico C ₂₀	icosanoico C ₂₂ ¹	Béniénico C ₂₂	Lignocénico C ₂₄						
1. Aceite de Oliva Virgen Extra	Máx. 1,0	Máx. 20	Máx. 0,2	Máx. 250	Máx. 1,3	Máx. 0,15	Máx. 4,5	Máx. 0,5	Máx. 0,5	Máx. 0,1	Máx. 4,0	< Camp.	Min. 93,0	Máx. 0,5	Min. 1000	Máx. 0,05	Máx. 0,9	Máx. 0,6	Máx. 0,4	Máx. 0,2	Máx. 0,2	Máx. 0,05	Máx. 2,50	Máx. 0,20	Máx. 0,10	Máx. 0,01	Min. 6,5
2. Aceite de Oliva Virgen	Máx. 2,0	Máx. 20	Máx. 0,2	Máx. 250	Máx. 1,3	Máx. 0,15	Máx. 4,5	Máx. 0,5	Máx. 0,5	Máx. 0,1	Máx. 4,0	< Camp.	Min. 93,0	Máx. 0,5	Min. 1000	Máx. 0,05	Máx. 0,9	Máx. 0,6	Máx. 0,4	Máx. 0,2	Máx. 0,2	Máx. 0,05	Máx. 2,60	Máx. 0,25	Máx. 0,10	Máx. 0,01	Min. 5,5
3. Aceite de Oliva Virgen Corriente	Máx. 3,3	Máx. 20	Máx. 0,2	Máx. 250	Máx. 1,3	Máx. 0,15	Máx. 4,5	Máx. 0,5	Máx. 0,5	Máx. 0,1	Máx. 4,0	< Camp.	Min. 93,0	Máx. 0,5	Min. 1000	Máx. 0,05	Máx. 0,9	Máx. 0,6	Máx. 0,4	Máx. 0,2	Máx. 0,2	Máx. 0,05	Máx. 2,60	Máx. 0,25	Máx. 0,10	Máx. 0,01	Min. 3,5
4. Aceite de Oliva Virgen Lampante	Min. 3,3	Min. 20	Min. 0,2	Máx. 350	Máx. 1,3	Máx. 0,5	Máx. 4,5	Máx. 0,5	Máx. 0,5	Máx. 0,1	Máx. 4,0	-	Min. 93,0	Máx. 0,5	Min. 1000	Máx. 0,05	Máx. 0,9	Máx. 0,6	Máx. 0,4	Máx. 0,2	Máx. 0,2	Máx. 0,10	Máx. 3,70	Máx. 0,25	Máx. 0,11	-	< 3,5
5. Aceite de Oliva Refinado	Máx. 0,5	Máx. 5	Máx. 0,2	Máx. 350	Máx. 1,5		Máx. 4,5	Máx. 0,5	Máx. 0,5	Máx. 0,1	Máx. 4,0	< Camp.	Min. 93,0	Máx. 0,5	Min. 1000	Máx. 0,05	Máx. 0,9	Máx. 0,6	Máx. 0,4	Máx. 0,2	Máx. 0,2	Máx. 0,20	Máx. 3,40	Máx. 1,20	-	Máx. 0,16	-
6. Aceite de Oliva de Oliva Crudo	Máx. 1,5	Máx. 15	Máx. 0,2	Máx. 350	Máx. 1,5		Máx. 4,5	Máx. 0,5	Máx. 0,5	Máx. 0,1	Máx. 4,0	< Camp.	Min. 93,0	Máx. 0,5	Min. 1000	Máx. 0,05	Máx. 0,9	Máx. 0,6	Máx. 0,4	Máx. 0,2	Máx. 0,2	Máx. 0,20	Máx. 3,30	Máx. 1,20	-	Máx. 0,13	-
7. Aceite de Orujo de Oliva Crudo	Min. 2,0	-	-	-	Máx. 1,8		Min. 12	Máx. 0,7	Máx. 0,5	Máx. 0,1	Máx. 4,0	-	Min. 93,0	Máx. 0,5	Min. 2500	Máx. 0,05	Máx. 0,9	Máx. 0,6	Máx. 0,4	Máx. 0,3	Máx. 0,2	Máx. 0,20	Máx. 0,10	-	-	-	-
8. Aceite de Orujo de Oliva Refinado	Máx. 0,5	Máx. 5	Máx. 0,2	-	Máx. 2,0		Min. 12	Máx. 0,6	Máx. 0,5	Máx. 0,1	Máx. 4,0	< Camp.	Min. 93,0	Máx. 0,5	Min. 1800	Máx. 0,05	Máx. 0,9	Máx. 0,6	Máx. 0,4	Máx. 0,3	Máx. 0,2	Máx. 0,40	Máx. 5,50	Máx. 2,50	-	Máx. 0,25	-
9. Aceite de Orujo de Oliva	Máx. 1,5	Máx. 15	Máx. 0,2	> 350	Máx. 2,0		> 4,5	Máx. 0,6	Máx. 0,5	Máx. 0,1	Máx. 4,0	< Camp.	Min. 93,0	Máx. 0,5	Min. 1600	Máx. 0,05	Máx. 0,9	Máx. 0,6	Máx. 0,4	Máx. 0,3	Máx. 0,2	Máx. 0,40	Máx. 5,30	Máx. 2,00	-	Máx. 0,20	-

Máx. = Máximo; Mín. = Mínimo

Nota: Para descalificar su aceite bastará con que una sola de las características no se ajuste a los límites fijados.

2. Aceite de oliva virgen lampante: Se considerará *aceite de oliva virgen lampante*, el aceite cuyas características se ajusten a las indicadas en el punto 4 del ANEXO I.

3. Aceite de oliva refinado: Se considerará *aceite de oliva refinado*, el aceite cuyas características se ajusten a las indicadas en el punto 5 del ANEXO I.

4. Aceite de oliva: Se considerará *aceite de oliva*, (denominado anteriormente "aceite puro de oliva"), el aceite cuyas características se ajusten a las indicadas en el punto 6 del ANEXO I.

5. Aceite de orujo de oliva crudo: Se considerará *aceite de orujo de oliva crudo*, el aceite cuyas características se ajusten a las indicadas en el punto 7 del ANEXO I.

6. Aceite de orujo refinado: Se considerará *aceite de orujo de oliva refinado*, el aceite cuyas características se ajusten a las indicadas en el punto 4 del ANEXO I.

7. Aceite de orujo de oliva: Se considerará *aceite de orujo de oliva*, (denominado anteriormente "aceite de orujo refinado de oliva", y constituido por la mezcla de aceite de orujo de oliva refinado y aceite de oliva virgen), el aceite cuyas características se ajusten a las indicadas en el punto 9 del ANEXO I.

II. Por otra parte, el Reglamento 2568/9 I/C.E.E., recoge en el ANEXO XIV, unas notas complementarias de la nomenclatura combinada, estableciendo que:

1. Sólo se considerará "*aceite de oliva*", el aceite que proceda exclusivamente del tratamiento de aceitunas, con exclusión del aceite de oliva reesterificado y de cualquier mezcla de aceites de oliva con aceites de otra naturaleza.

Comunes a todos los aceites de oliva son las características fijadas en el ANEXO I, respecto al contenido en ácidos grasos y en esteroleos.

2. Se considerarán "*aceites de oliva vírgenes*", a los obtenidos a partir del fruto del olivo únicamente por procedimientos mecánicos u otros procedimientos físicos, en condiciones, sobre todos térmicas, que no impliquen la alteración del aceite, y que no hayan sufrido tratamiento alguno distinto del lavado, la decantación, el centrifugado y el filtrado, con exclusión de los aceites obtenidos mediante disolventes.

3. Se considerarán "*aceite de oliva virgen lampante*", cualquiera que sea su acidez, el aceite que presenta las siguientes características:

- a) un contenido en *alcoholes alifáticos* de 400 mg/kg. como máximo.
- b) un contenido de *eritrodíol* y *uvaol* del 4,5% como máximo.
- c) un contenido en *ácidos grasos saturados en la posición 2* de los triglicéridos del 1,3% como máximo.

- d) o una de las características siguientes:
- 1) un índice de peróxidos superior a 20 meq. O_2 /kg.
 - 2) un contenido total de disolventes halogenados volátiles superior a 0,2 mg./kg. y/o que alguno de ellos sea superior a 0,1 mg./kg.
 - 3) un coeficiente de extinción K_{270} superior a 0,24, y después de tratar el aceite con alúmina activada, no superior a 0,11. En caso contrario, después de neutralizarlos y decolorarlos en el laboratorio, deberán presentar:
 - un coeficiente de extinción K_{270} inferior o igual a 1,20
 - una variación (ΔK) del coeficiente K_{270} superior a 0,01 e inferior o igual a 0,16.
 - 4) características organolépticas con defectos, que den en la cata una puntuación inferior a 3,5.

4. Sólo se considerarán "aceites de oliva vírgenes" (anteriormente considerados como aptos para el consumo), a los aceites de oliva que presentan las siguientes características:

- a) una acidez máxima de 3,3%.
- b) un índice de peróxidos de 20 meq. O_2 /kg. como máximo.
- c) un contenido de alcoholes alifáticos de 300 mg./kg. como máximo.
- d) un contenido total de disolventes halogenados volátiles que no exceda de 0,2 mg./kg. y siempre que no exceda de 0,1 mg./kg. en cada uno de ellos.
- e) un coeficiente de extinción K_{270} de 0,25 como máximo y, después de tratar el aceite con alúmina activada, de 0,10 como máximo.
- f) una variación del coeficiente de extinción (ΔK) en la zona del 270 de 0,010 como máximo.
- g) características organolépticas que den en la cata una puntuación superior o igual a 3,5.
- h) un contenido en eritrodol y uvaol del 4,5% como máximo.
- i) un contenido de ácidos grasos saturados en la posición 2 de los triglicéridos del 1,3% como máximo.

5. Se considerará "aceite de oliva refinado" o "Aceite de oliva" simplemente el aceite de oliva obtenido por tratamiento de los aceites lampantes o vírgenes, incluso con adición de aceite de oliva virgen, que presente las siguientes características:

- a) una acidez máxima de 1,5%.
- b) un contenido de alcoholes alifáticos de 350 mg./kg. como máximo.
- c) un K_{270} superior a 0,25 pero no a 1,20, y después del paso por alúmina, superior a 0,10.
- d) un ΔK en la zona del 270 superior a 0,01 pero no a 0,16.
- e) un contenido en eritrodol y uvaol de 4,5% como máximo.
- f) un contenido en ácidos grasos saturados en la posición 2 de los triglicéridos del 1,5% como máximo.

6. Se considerarán "aceites crudos", principalmente los aceites de orujo, que presentan las siguientes características:

- a) una acidez superior al 2%.
- b) un contenido en eritrodol y uvaol superior al 12%.
- c) un contenido de ácidos grasos saturados en la posición 2 de los triglicéridos de 1,8% como máximo.

7. Se considerarán “*aceites de orujo de oliva refinados*” o “*aceites de orujo de oliva*”, simplemente, a los aceites obtenidos por tratamiento de los aceites crudos, incluso con adición de aceites de oliva vírgenes, que no posean las características de los aceites vírgenes, y siempre que presenten un contenido de ácidos grasos saturados en la posición 2, del 2% como máximo.

IV.3. Parámetros que definen la calidad del Aceite de Oliva.

La Reglamentación actual, recoge en el ANEXO I del Reglamento 2568/91/ C.E.E., las categorías en que se dividen los aceites de oliva vírgenes utilizables para consumo directo, clasificándolos de acuerdo con su calidad en:

- Virgen “extra”.
- Virgen (simplemente).
- Virgen “corriente”.

Una vez que el aceite de oliva se ajuste a las características generales para considerarlo como “virgen”, su calidad viene definida por dos aspectos fundamentales:

- a) La valoración organoléptica, obtenido por medio de las pruebas de panel test.
- b) Los índices fisicoquímicos de calidad, distinguiendo como específicos de la misma, los siguientes:

- Acidez libre.
- Índice de Peróxidos.
- Coeficiente de extinción al UV K_{270} .

IV.3.1. Valoración organoléptica

Aplicando el método descrito en el Anexo XII del Reglamento, se clasifica el aceite de oliva virgen en una escala numérica, del 1 al 9, relacionada con la percepción de los estímulos de su flavor, según el juicio de un grupo de catadores seleccionados, debiendo alcanzar la siguiente puntuación:

- Aceite de oliva virgen “extra” $\geq 6,5$
- Aceite de oliva virgen (simplemente) $\geq 5,5$
- Aceite de oliva virgen “corriente” $\geq 3,5$

El analista, asistido de un grupo de expertos, llevará a cabo la valoración de las características organolépticas del aceite. En el caso de que la puntuación otorgada determine características organolépticas distintas de las correspondientes a la denominación del producto, el analista someterá la muestra al examen de un panel de catadores.

IV.3.2. Índices fisicoquímicos

Los parámetros específicos, denominados índices fisicoquímicos, que definen la calidad del aceite de oliva virgen, se basan en diversos fenómenos indicadores de la buena conservación o de la alteración del aceite. Estos parámetros son:

- **Acidez:** Determina el contenido en ácidos grasos libres, presentes en un aceite, expresado en % de ácido oleico. La grasa biológicamente sintetizada es neutra, por lo que la presencia de ácidos grasos libres es una anomalía, resultante del mal estado de los frutos, de un proceso incorrecto de elaboración o de una mala conservación. Los ácidos grasos se liberan por ruptura de las moléculas de los triglicéridos a través de sus enlaces éster.

En función de su *acidez*, el aceite de oliva se clasifica en:

- Virgen "extra": Máximo 1,0%.
- Virgen (simplemente): Máximo 2,0%.
- Virgen "corriente": Máximo 3,3%.

- **Índice de Peróxidos:** Es la cantidad (expresada en miliequivalentes de oxígeno activo por kg. de grasa) de peróxidos presentes en una muestra, que ocasionan la oxidación del yoduro potásico en unas condiciones determinadas.

El índice de peróxidos permite estimar el grado de oxidación y, por tanto, la alteración de un aceite.

En las primeras etapas de la oxidación de los ácidos grasos se producen hidroperóxidos y el índice de peróxidos crece.

En etapas posteriores, los compuestos peroxídicos evolucionan hacia otro tipo de sustancias más oxidadas, responsables del mal olor y sabor de los aceites, aunque el índice de peróxidos sea asertor.

Para todos los aceites de oliva vírgenes, utilizables en consumo directo, el valor máximo del índice de peróxidos es de 20 :meq. O₂/kg. Por tanto, la clasificación del aceite de oliva virgen, en función del índice de peróxido es:

- Virgen "extra": Máx. 20.
- Virgen (simplemente): Máx. 20.
- Virgen "corriente": Máx. 20.

• *Coefficiente de extinción al ultravioleta: K_{270}* : Es la medida de la absorbencia de una muestra de aceite en la longitud de onda de 270 nm, que pertenece al rango de la radiación ultravioleta, y que se expresa convencionalmente como K_{270} .

Las máximas absorciones de 270 nm se deben a la presencia de dienios y trienios conjugados; por tanto, la prueba es pectrofotométrica en el ultravioleta, nos indica la calidad de un aceite, su estado de conservación y las modificaciones que puede haber sufrido por los procesos tecnológicos..

En relación con éste coeficiente K_{270} , los aceites de oliva vírgenes se clasifican en:

- Virgen "extra": Máx. 0,20.
- Virgen (simplemente): Máx. 0,25.
- Virgen "corriente": Máx. 0,25.

Para la determinación de la pureza, en caso de que el K_{270} sobrepase el límite establecido para la categoría correspondiente, deberá efectuarse una nueva determinación del K_{270} después de tratar el aceite con alúmina activada. En este caso, el nuevo coeficiente K_{270} deberá ser como máximo 0,10 para todas las categorías.

IV.4. Toma de muestras de aceites.

Se pueden presentar dos situaciones:

- a) Que el análisis se haga como control del proceso de fabricación.
- b) Que el análisis se haga para conocer las características del producto que se va a vender.

a) Si la toma de muestras es para el control del proceso de fabricación, se presenta igual que en el caso de alpechines dos situaciones:

- a. 1. Toma de muestras de la centrífuga vertical.
- a. 2. Toma de muestras de los pozuelos de decantación.

Los criterios de toma de muestras son en todo análogos a los descritos en los alpechines.

Solo indicar que la toma de muestras en este caso, es necesaria hacerla cuando se vaya a echar aceite a un nuevo depósito, cambie el tipo de aceituna, etc.

- b) Si el análisis, se hace para conocer las características del aceite que se va a vender, existe una Norma UNE para la toma de muestras: 55010.

Aparatos de toma de muestras:

* **Sonda de Cámara:** La sonda de cámara es un aparato construido en acero inoxidable. Se compone de una media caña provista de unas guías en los extremos superiores por los cuales se desliza, en toda la longitud de la sonda, una lámina de cierre. En su interior, la cámara se divide en compartimentos de medidas crecientes a partir del extremo inferior. La longitud total es variable, dependiente de la profundidad del depósito en que se vayan a utilizar, aunque generalmente basta con una longitud de 1,10 m.

Par su utilización se introduce la sonda con la cámara cerrada, hasta tocar el fondo del depósito. Colocada en posición vertical se sube poco a poco la lámina de cierre hasta alcanzar la superficie del líquido. Inmediatamente se baja y se extrae la sonda. Colocada ésta en posición horizontal se abre la cámara, pudiéndose observar cómodamente el aspecto que ofrece el líquido a distintas profundidades.

Inclinando poco a poco la sonda abierta sobre el recipiente portaporciones se vacía la cámara.

Esta sonda permite recoger muestras de hasta 5 mm. del fondo del depósito (Fig 7).

* **Sonda o extractor parcial:** Este aparato constará de un compartimento bien cerrado y construido de modo que pueda tomarse una porción de una sección determinada del tanque o depósito de que se trate, permitiendo el acceso a un cm. o menos del fondo. La válvula debe poder abrirse fácilmente a mano, manipulándose por medio

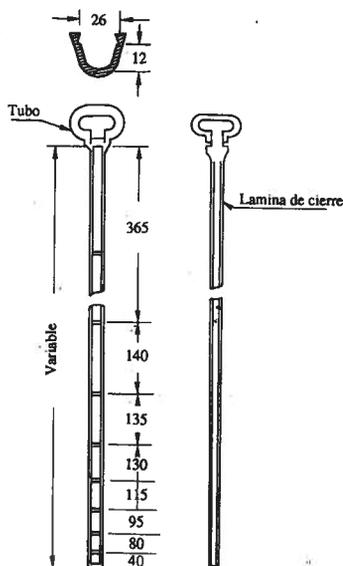


Figura 7. Sonda de Cámara

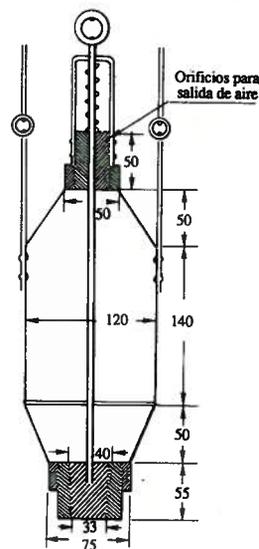


Figura 8. Sonda o extractor parcial.

de una cuerda. Todo el aparato irá construido en acero inoxidable o aleación dura de aluminio, aunque es preferible el primero cuando sea necesario dar peso al aparato. El dispositivo permite una limpieza fácil. Irá suspendido de un cable que llevará marcado la profundidad a que se encuentra la boca inferior de la sonda (Fig. 8).

* *Sonda abierta*: Este apartado consta de una media caña metálica, construida en acero inoxidable o aleación dura de aluminio, provista de un mango para facilitar el movimiento de rotación que habrá que darle al introducirlo en el producto. El diámetro será de 35 mm. aproximadamente. Los bordes estarán afilados. La longitud será variable, aunque lo usual es de unos 60 cm. (Fig. 9).

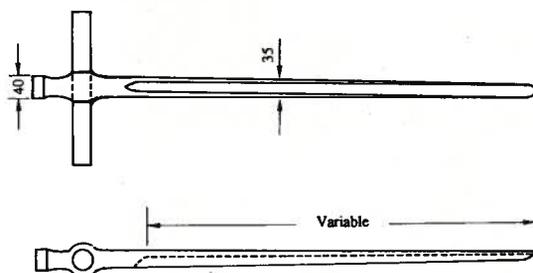


Figura 9. Sonda abierta.

IV.5. Determinaciones analíticas.

IV.5.1. Acidez libre (o grado de acidez)

Tiene por objeto la determinación de los ácidos grasos libres en el aceite de oliva.

El método consiste en la disolución de la muestra en una mezcla de disolventes y la valoración de los ácidos grasos libres mediante una solución etanólica de hidróxido potásico, utilizando fenolftaleína como indicador.

El resultado se expresa en % de ácido oleico.

Procedimiento.

De la muestra, previamente filtrada, se pesan, en un matraz erlenmeyer de 250 ml. de capacidad, unos 5-10 gramos de aceite (según el grado de acidez previsto), con precisión de 0,01 gr. Se añaden 50 ml. de solución alcohol-éter etílico, previamente neutralizada. Se agita, hasta conseguir la disolución de la grasa, se le añaden unas gotas de fenolftaleína al 1% y se valora con hidróxido potásico 0,1 N. hasta que una sola gota produzca un viraje débil del indicador (la coloración rosa debe permanecer unos segundos).

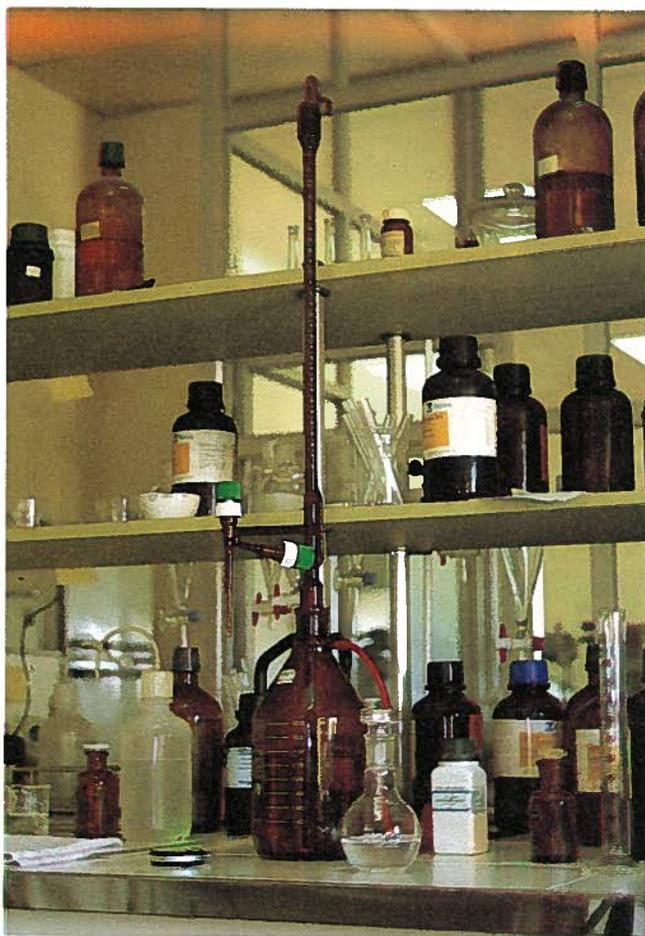


Foto 18. Bureta.

Cálculos

Expresión de la acidez en porcentaje de ácido oleico:

$$\text{Grado de acidez (\% \text{ ácido oleico})} = \frac{V \times N \times 282}{10 \times p}$$

V = Volumen de KOH gastado (ml.)
 N = Normalidad del KOH
 P = peso del aceite (gramos).

Preparación de reactivos

- **Solución de KOH 0,1 N.** 7 grs. de KOH (P.A.) se disuelven en 200 ml. de agua destilada. Se enrasa, con la misma agua hasta 1 litro.
Se contrasta con ácido oxálico, 0,1 N. usando fenolftaleína como indicador.
- **Solución alcohol etílico-éter etílico (1:1).** Se prepara mezclando partes iguales de alcohol y éter. Antes de su uso se neutraliza con KOH 0,1 N usando como indicador fenolftaleína.

• **Solución indicadora de fenolftaleína alcohólica al 1%.** 1 gr. de fenolftaleína se disuelve hasta 100 ml. de alcohol etílico.

IV.5.2. Índice de peróxidos.

Los peróxidos son producto de oxidación existentes en una muestra, en un momento determinado. El índice de peróxidos mide el grado de oxidación primaria de un aceite, e indica el estado de conservación del mismo. Se expresa en miliequivalentes de Oxígeno activo por kg. de grasa.

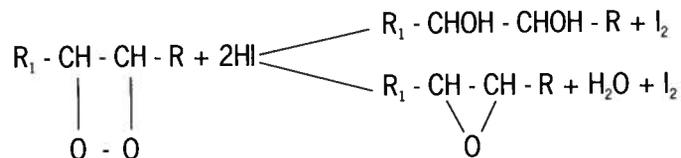
Su determinación se realiza por Iodometría. La muestra, disuelta en Ácido acético y Cloroformo, se trata con solución de Yoduro potásico. El Yodo liberado se valora con solución de Tiosulfato sódico de normalidad conocida.

Los peróxidos se consideran como los primeros productos de la oxidación de las grasas y su formación sigue, al menos durante las primeras etapas, una marcha paralela a la cantidad de Oxígeno absorbido.

Existen una serie de factores que Influyen sobre la velocidad de la oxidación de las grasas. Unos retardándola, como son ciertas sustancias denominadas "Antioxidantes", y otras acelerándola. Dentro de estos últimos, los principales son:

- Luz.
- Calor.
- Trazas metálicas.
- Catalizadores orgánicos, etc.

El fundamento de la determinación volumétrica es la capacidad de los peróxidos para liberar Yodo del IK según la siguiente reacción:



El Yodo liberado se valoró con Tiosulfato sódico según la reacción:



Es decir, se ve que un mol de Oxígeno peroxídico deja en libertad un mol de Yodo, sea cualquiera el mecanismo de reacción.

El Índice de Peróxidos (I.P.) se debería definir como el Oxígeno peroxídico capaz de reaccionar con el IK en las condiciones de la prueba, ya que la reacción tiene algunos puntos oscuros, tales como:

- a) Oxidación de los reactivos por el Oxígeno del aire acelerada por la luz.
- b) Reactividad variable de los Peróxidos presentes.
- c) Reabsorción por la grasa de Yodo liberado o liberación incompleta del mismo.

Procedimiento

Pesar un matraz de 250 ml. de cierre esmerilado, con su tapón, previamente limpio y seco. Añadir de 1,2 a 2 gramos de aceite lo más rápidamente posible. Agregar 25 ml. de mezcla de Cloroformo-Ácido acético en la proporción de 10 partes de Cloroformo y 15 de Ácido acético. Agregar 1 ml. de solución sobresaturada de Yoduro potásico.

- Cerrar el matraz.
- Agitar durante un minuto, suavemente
- Mantener durante 5 minutos en la oscuridad.
- Agregar 75 ml. de agua destilada y agitar vigorosamente.

Valorar el Yodo liberado con Tiosulfato sódico (0,01 N). Agitando en presencia de almidón. El viraje se reconoce cuando cambie el color de violeta al blanco sucio. Después de cada adición de Tiosulfato, hay que agitar con fuerza.

Igual, pero sin aceite, realizar una prueba en blanco.

Cálculos

$$\text{I.P.} = \frac{(V - V_0) \times N \times 1.000}{P} \quad (\text{miliequivalentes de Oxígeno activo por kg. de aceite})$$

1 Milimol/kg = 2 Miliequivalentes/kg = 16 microgramos/gr.

V = ml. de Tiosulfato gastados en el ensayo.

V₀ = ml. de Tiosulfato gastados en el ensayo en blanco.

N = Normalidad del Tiosulfato sódico.

P = Peso en gramos de aceite.

Preparación de reactivos

• **Tiosulfato sódico 0,01 N.** Pesar 2,48 gr. de Tiosulfato sódico ($\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2 \times 5 \text{H}_2\text{O}$) y disolverlos en H_2O desionizada, completando hasta 1 litro. Añadir 10 mgr/l. de I_2Hg como conservador.

• **Solución saturada de IK.** A 20°C, 144 gr. se disuelven en 100 cc. de H₂O bidestilada. Se mantiene en frasco de topacio bien tapado. (1)

• **Solución indicadora de almidón.** Mezclar 5 gr. de almidón soluble con 0,01 gr. de I₂Hg (como estabilizante) y disolver en 30 cc. de H₂O destilada. Esta solución se agrega a 1.000 cc. de H₂O destilada hirviendo, manteniendo la ebullición durante 3 minutos. La solución así preparada puede conservarse largo tiempo sin que se altere.

• **Contraste del S₂O₃⁼ con Cr₂O₇⁼.** Tomar en un matraz pequeño 1 cc. de disolución de Dicromato potásico 0,1 N.

Añadirle 0,05 gr. de IK.

Se le añade 0,5- 1 cc. de SO₄H₂ o ClH concentrado y unas gotas de almidón, con lo que aparece un color azul intenso debido al I₂ liberado.

Se le va echando gota a gota con bureta, el Dicromato, hasta que vire del azul al verde, con la adición de una sola gota.

Reacciones.



Este I₂ es el que se valora con el S₂O₃⁼ :



V = Volumen del Dicromato.

$$V \times N = V' \times N'$$

N = Normalidad del Dicromato.

V' = Volumen del Tiosulfato.

N' = Normalidad del Tiosulfato.

IV.5.3. Coeficiente de Extinción al ultravioleta: K₂₇₀

Se utiliza, en especial para detectar la presencia de compuestos oxidados anormales, que alteran la calidad del aceite. Su medida se emplea como criterio de calidad.

El aceite de oliva virgen, de buena calidad y almacenado convenientemente, contiene muy pocos productos de oxidación y presenta una extinción específica en el entorno al 270 nm. Los aceites refinados tienen valores mayores de extinción a 270.

La espectrofotometría ultravioleta es, por tanto, uno de los medios más seguros para conocer el estado de oxidación y conservación de un aceite de oliva, y permite sospechar una eventual adulteración con aceite refinado o aceite de orujo.

(1) Preparar la cantidad para cada día (unos c.c. de más), para evitar usar en días sucesivos, la solución atrasada.

Para la medida, hay que contar con un Espectrofotómetro ultravioleta de longitud de onda entre 200 y 300 nm, con posibilidad de lectura para cada unidad nanométrica, equipado con cubetas de cuarzo de 1 cm. de espesor.

Procedimiento

Se pesan 0,1 gramos de aceite filtrado en un matraz de 10 ml. Se agrega ciclohexano hasta el enrase, se tapa y se agita. Empleando ciclohexano como referencia, se llenan las cubetas, una con el disolvente sólo y otra con la solución de la muestra y se mide la extinción a 270 nm. La lectura debe estar comprendida entre 0,1 y 0,8. Es conveniente hacer dos lecturas y hallar la media.

Cálculos

• El coeficiente $K_{270} = \frac{L}{C \times e}$

L = Lecturas a 270 nm
C = Concentración de la muestra (gramos/100 cc.).
e = Espesor de la cubeta en cm.

Comprobación del Espectrofotómetro

- Disolver 0,200 gramos de Cromato potásico en 1.000 ml. de Hidróxido potásico 0,05 N.
- Tomar 25 ml. de ésta disolución y pasarlos a un matraz aforado de 500 ml. completando hasta el enrase con el Hidróxido potásico 0,05 N.
- Leer a 275 nm frente a la solución de Hidróxido potásico 0,05 N.
- La lectura deberá ser $0,200 \pm 0,005$.

IV.5.3.1. Determinación del K_{270} después del paso por alúmina.

Para determinar la extinción específica después del tratamiento con alúmina, hay que proceder del siguiente modo:

- En una columna para cromatografía, de 54 cm. de longitud total, con tubo superior de 3,5 cm. de diámetro y tubo inferior de un diámetro aproximado de 1 cm., se introducen 30 gramos de alúmina básica activada, en suspensión en hexano; después de asentarse el absorbente se elimina el exceso de hexano, hasta 1 cm. aproximadamente sobre el nivel de la alúmina.

- Se pesan 10 gramos de la muestra de aceite, homogeneizada y filtrada, se disuelven en 100 ml. de hexano y se vierte ésta solución en la columna. El líquido eluído se recoge a la salida de la columna en un matraz pequeño, y se evapora totalmente el disolvente, en vacío a temperatura inferior a 25°C.

– Con el aceite, así tratado, se procede a determinar el coeficiente de extinción específica en el ultravioleta.

IV.5.3.2. Determinación del incremento de K.

La presencia de trienos conjugados en un aceite se pone en evidencia con la determinación del incremento de K. En los aceites de oliva vírgenes, este valor no debe ser superior a 0,01, mientras que en el aceite de oliva refinado puede llegar a 0,16.

La determinación del ΔK viene definida por la siguiente fórmula:

$$\Delta K = K_m - \frac{K_{m-4} + K_{m+4}}{2}$$

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

IV.5.4. Humedad y Materias Volátiles.

Aunque en el Anexo I del Reglamento 2568/91/C.E.E. no figuran como características de los aceites de oliva, la ausencia de humedad e impurezas, el Código Alimentario Español, en su edición de junio de 1991, establece una tolerancia en los aceites comestible de:

- Humedad y materiales volátiles: Máx.: 0,1%.

El agua, aunque es inmisible con el aceite, puede existir en forma de emulsión estabilizada por ciertos componentes. La humedad favorece la hidrólisis, sobre todo en aquellos aceites cuya acidez inicial es elevada.

Una decantación y filtración adecuada permite obtener aceites que no sobrepasen estos límites.

La determinación se realiza mediante la norma UNE 55-020-73, en la cual la muestra de aceite es sometida a calefacción, en estufa, a 105° C hasta que la diferencia entre dos pesadas consecutivas no exceda del 0,05%. En estas condiciones, no sólo se determina el agua, sino también todas aquellas materias que son volátiles a la temperatura que se opera.

Procedimiento

En una cápsula, previamente desecada en estufa a 105°C y enfriada en desecador, se pesa unos 10 grs. de muestra perfectamente homogeneizada. Se coloca en

estufa a 105°C y se mantiene durante toda la noche. A la mañana siguiente, se deja enfriar en desecador y se pesa. Se vuelve a colocar en estufa y se repite la operación de pesada hasta que ésta sea constante. De la diferencia de peso se obtiene el % de humedad y materias volátiles.

IV.5.5. Impurezas solubles en éter de petróleo.

Permite la dosificación de un conjunto de sustancias, consideradas también como contaminantes por la misma norma anterior, que son insolubles en un disolvente orgánico volátil y que no hayan sido ya determinadas como humedad y materia volátil.

El disolvente más utilizado es el éter de petróleo, aunque también puede emplearse el éter etílico. El empleo de uno u otro dependerá del tipo de sustancias que se deseen insolubilizar: las impurezas mecánicas (tierra, arena, etc.); parte de ácidos oxidados libres y sus productos de polimerización, lactonas, jabones de cal, hidratos de carbono, materias nitrogenadas, determinadas resinas, etc.

La determinación se realiza mediante la Norma UNE 55002, y se establecen los valores máximos de impurezas, para el aceite virgen comestible en el 0,1 %.

Procedimiento

En una cápsula, previamente desecada, se pesan 10 gramos de aceite y se coloca en estufa a 105°C hasta eliminación total del agua.

Una vez que la muestra está desecada, se va agregando a la cápsula pequeñas cantidades de Éter de petróleo para que disuelvan la grasa, ayudándose de una varilla. La cantidad necesaria de disolvente es de unos 200 ml. A continuación se va filtrando a través de un filtro, previamente desecado y tarado, lavando el filtro con pequeñas porciones de disolvente y recogiendo el filtrado en un matraz. Una vez que el filtro está limpio de grasa se coloca en estufa a 60°C donde se seca. El incremento de peso del filtro dará las impurezas, que referirán a % en la muestra.

Cálculos:

$$\% \text{ Impurezas} = \frac{P_i - P_f}{P} \times 100$$

Pf = Peso en g. del filtro seco.

Pi = Peso en g. del filtro seco más impurezas.

P = Peso en g. de la muestra.

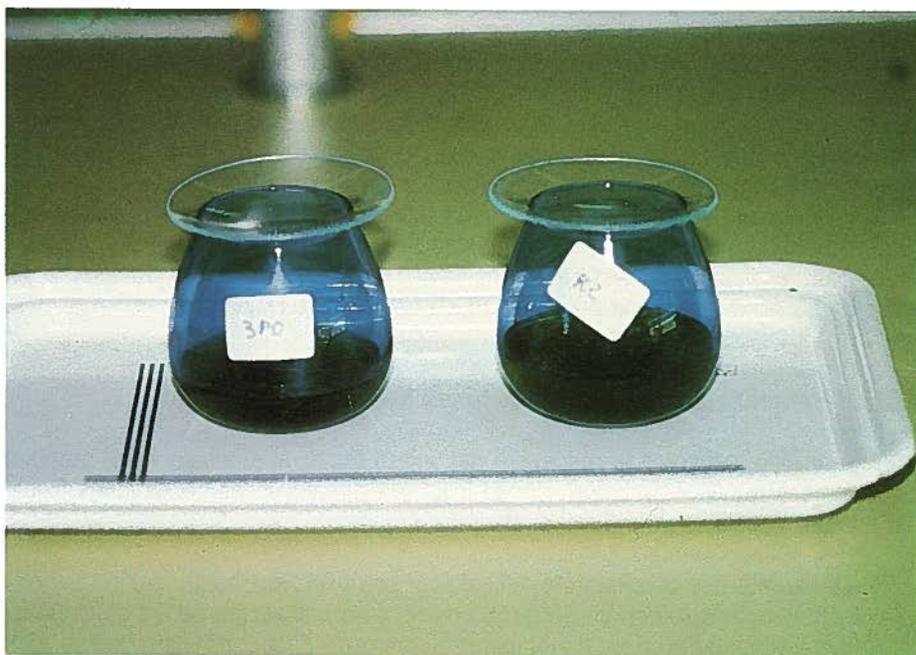


Foto 19. Copas de cata.

IV. 6. Analisis sensorial.

Las *propiedades organolépticas* de una sustancia son aquellos caracteres, percibidos por los órganos de los sentidos, correspondientes a los diversos estímulos sensoriales que posee dicha sustancia.

Se trata ante todo, de propiedades físicas o químicas, relativas a su composición; sin embargo, los avances de la física y química no son suficientes para sustituir a nuestros sentidos. En el aceite de oliva los compuestos que se controlan están indirectamente relacionados con el flavor y sólo cuando superen valores extremos pueden considerarse decisivos.

El *análisis sensorial*, se puede definir como una disciplina científica usada para medir, analizar e interpretar las reacciones a aquellas características de los alimentos que son percibidas por los sentidos; "catar", es probar con atención un producto cuya calidad queremos apreciar, es someterlo a nuestros sentidos, en particular al del gusto y al del olfato, es tratar de conocerlo.

Para llegar a ser un buen catador es indispensable una nítida percepción de gustos y olores, después de haber adquirido unas nociones básicas y con la ayuda de una técnica de trabajo adecuada.

Tradicionalmente, los productos alimenticios sometidos a “análisis sensorial”, han estado bajo el control de un solo experto, el *catador tradicional*, pero actualmente se tiende a sustituir el juicio individual por el criterio de un grupo de catadores que realizan los ensayos organolépticos bajo condiciones controladas y de acuerdo con técnicas sensoriales preestablecidas, en lo que se denominan “*pruebas de panel*”. De esta forma se pretende objetivizar los resultados del análisis sensorial para que éstos puedan ser técnicamente aceptados. Estadísticamente, el valor medio obtenido será el más probable y, puesto que las respuestas se distribuirán a la izquierda y derecha del valor de la media, éste estará compensado, permitiendo calcular su error o sus límites de confianza para una probabilidad estadística determinada.

IV.6.1. Normalización de las condiciones de ensayo.

En el análisis sensorial la respuesta del sujeto frente al estímulo viene afectada por varios valores ($R=f(E, F, Ps)$), donde E es el estímulo; F, las condiciones físicas y ambientales, y Ps, las condiciones psicofisiológicas).

Es interesante que la respuesta del catador sea exclusivamente función del estímulo; ésto se consigue con un correcto control y normalización de las condiciones del ensayo y dotando el panel de un número adecuado de jueces (para que se compense las variables psicofisiológicas).

Con este objeto, existen una serie de normas que han de tenerse en cuenta cuando se vaya a proceder al análisis sensorial de cualquier muestra:

La Sala de Cata

Debe tener paredes de un tono claro liso; de iluminación uniforme, regulable y difusa; insonorizada, y con una ventilación eficaz, que proporcione un aire libre de olores extraños y a ser posible con un 60-70% de humedad relativa (fg. 10).

Los Catadores

Deben seguir las siguientes normas de actuación:

- Se abstendrán de fumar al menos 30 minutos antes de la hora fijada para la cata.
- No utilizarán ningún perfume, cosmético o jabón cuyo olor persista en el momento del ensayo.
- No deberá haber tomado alimento al menos una hora antes de realizar la cata.
- Si se encontrase en condiciones de inferioridad fisiológica, particularmente si tiene afectado el sentido del olfato o del gusto, o bajo algún efecto psicológico que le impida concentrarse en su trabajo, deberá comunicarlo al jefe de panel.

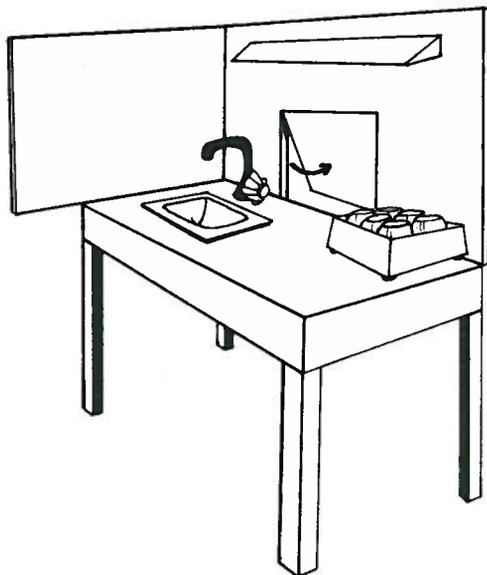


Figura 10. Cabina de Cata

La temperatura de la muestra.

Se recomienda que sea de 20-22°C.

El tamaño de la muestra

Debe ser homogéneo, cada candidato debe recibir 15 ml., que le serán servidos en copas marcadas en clave, y a una temperatura aproximada de 26 a 30° (Foto 19).

La hora de realizar la cata

Es de 10 a 12 de la mañana, que es un período de óptima percepción para el gusto y el olfato.

El número de juicios por sesión de cata

Debe ser tal que no produzca fatiga sensorial (disminución de la sensibilidad); dependerá de la mayor o menor similitud entre las muestras, pero en general, será de 3 a 6.

El tiempo para emitir un juicio

Puede variar, siendo aproximadamente de 30 sg., dejando transcurrir un mínimo de 30 sg. entre 2 catas.

IV.6.2. Características del Aceite de Oliva

El *Aceite de Oliva Virgen* es el “líquido oleoso extraído del fruto del olivo (*Olea europea*) por procedimientos exclusivamente mecánicos, y en condiciones térmicas que no produzcan alteraciones químicas detestables aceite, no debiendo ser sometido posteriormente a otras manipulaciones que no sean sedimentación, decantación, centrifugación o filtración. Su flavor es característico, y recuerda al fruto molido del que procede”.

Puede clasificarse en varias categorías:

– *Aceite de oliva virgen “extra”*. De olor intensamente frutado, gusto suave, extremadamente agradable y carente del más leve defecto. El grado de acidez máximo es de 1°.

– *Aceite de oliva virgen “fino”*. Similar al “extra”, pero su flavor es menos intenso. El grado de acidez máximo es de 2°.

– *Aceite de oliva “para encabezar”*. De características organolépticas excesivamente intensas para su consumo directo. Normalmente se adiciona a aceites de características aromáticas tenues o a aceites refinados.

– *Aceite de oliva virgen corriente*. Aceite de oliva en que se aprecian defectos que pueden llegar a hacerlo poco agradable, aunque aceptable. El grado de acidez puede alcanzar 3,3°.

– *Aceite de oliva virgen lampante*. Aceites que no cumplen las especificaciones mínimas de calidad que se establecen para aceites comestibles. Sus caracteres organolépticos suelen ser desagradables y sólo pueden ser destinados a alimentación, previa rectificación por procedimientos autorizados.

IV.6.3. Atributos y defectos.

Los atributos más característicos que se suelen detectar en los aceites de oliva vírgenes son:

* *Frutado*. Flavor que recuerda el olor y gusto del fruto sano y fresco, recogido en el punto óptimo de maduración. Se acompaña de “maduro” cuando el aceite es de sabor “dulce” y olor “apagado”. El “apagado” no se considera atributo, pero tampoco defecto.

* *Almendrado*. Flavor que recuerda a las almendras (frescas o secas).

* *Amargo*. Sabor característico del aceite obtenido de las aceitunas verdes o en envero. Se manifiesta más o menos agradable según su intensidad.

* *Dulce*. Sabor agradable, sin ser precisamente azucarado, que casi excluye otros atributos como el amargor, la astringencia y el picante.

* *Hierba*. Flavor que recuerda a la hierba cortada.

* *Hojas verdes*. Flavor característico del aceite obtenido de aceitunas muy verdes o que han sido molidas con hojas y tallos.

* *Manzana*. Flavor que recuerda a dicho fruto.

Entre los *defectos* se encuentran:

* *Alpechin*. Flavor producido por una mala decantación del aceite.

* *Aspero*. Sensación buco-táctil de astringencia.

* *Atrojado*. Flavor característico de aceites obtenidos de aceituna en un avanzado grado de fermentación.

* *Avinado-avinagrado*. Flavor que recuerda al vino o al vinagre.

* *Basto*. Sensación buco-táctil densa y pastosa.

* *Borras*. Flavor característico del aceite recuperado en los lodos decantados en los depósitos y trujales.

* *Rancio*. Flavor característico común a todos los aceites y grasas que han sufrido un proceso autooxidativo. Este flavor es muy desagradable e irreversible.

IV.6.4. Forma y degustación de las muestras.

Si no existen instrucciones en contra y la presentación de las muestras se hace en línea, el catador procederá a tomar la primera copa de su izquierda, manteniéndola cubierta con su vidrio de reloj y se inclinará ligeramente a fin de mojar lo más posible la superficie interior de la copa, y procederá a oler la muestra, hasta formarse un criterio sobre el aceite a juzgar.

Una vez tomada la correspondiente decisión se procederá a anotar en la hoja de puntuación la clave de la copa y el juicio emitido.

Tras el ensayo olfativo de todas las copas se procederá a enjuiciar el flavor comenzando por la copa de la izquierda. Se toma un pequeño sorbo de aceite y se distribuye por toda la cavidad bucal, desde la parte anterior de la boca y la lengua, por los laterales y la parte posterior hasta los pilares del paladar, haciendo inspiraciones cortas y sucesivas, introduciendo aire por la boca.

Después de cada cata, se eliminarán de la boca los restos de aceite de ésta con un pequeño trozo de manzana, se procede a enjuagarse con un poco de agua, y se dejan transcurrir al menos 30 sg. antes de empezar una nueva cata.

IV.6.5. Selección de candidatos.

A) Determinación del “umbral medio” del grupo para “atributos característicos” (Rancio, Avinado, Atrojado y Amargo)

Se preparan una serie de muestras de distintas concentraciones de cada uno de los atributos.

A cada candidato se le presentan dos copas, una que sólo contenga “soporte” y la otra con una concentración determinada.

El catador, después de realizar el ensayo, deberá indicar si son iguales o distintas.

El umbral de detección será aquella concentración para la cual el 75% de los candidatos han apreciado diferencias con la copa soporte.

B) Selección de catadores por el método de “clasificación de intensidad”.

Tomando como referencia la “concentración umbral”, se prepara una serie de 12 copas de distinta concentración y se ordenan en orden creciente de concentración. El candidato, después de familiarizarse con los olores de las copas que forman la serie, debe ser capaz de restituir a su lugar una copa que ha sido previamente entresacada en su ausencia.

El jefe de panel procede frente a los resultados de la prueba a asignar a cada catador una puntuación que permita seleccionar o no al candidato, en función de sus respuestas frente a los cuatro atributos.

C) Entrenamiento

Una vez seleccionados los catadores de panel, se procederá a un entrenamiento de éstos con el objeto de:

- Familiarizar al catador con las numerosas variantes olfato-gustativas que ofrecen los aceites de oliva vírgenes.
- Familiarizar a los catadores con la metodología sensorial específica.
- Incrementar la habilidad individual que reconocen, identifican y clasifican los atributos sensoriales.
- Mejorar la sensibilidad y la memoria frente a los distintos atributos para conseguir juicios consistentes.

IV.6.6. Evaluación organoléptica de Aceites de Oliva Virgenes.

Reunidas las condiciones y medios necesarios indicados en las normas anteriores citadas y seleccionado el grupo de catadores, cada uno de ellos olerá y degustará la copa que contiene la muestra de aceite sometida a examen analizando en ella las percepciones olfativas y gustativas, con ayuda de la hoja de perfil y la tabla de puntuación.

Los estímulos perceptibles deberán ser valorados de 0 a 5, según a su intensidad, con una señal en el casillero correspondiente a las Notas olfato-gustativas-táctiles, de acuerdo con el criterio siguiente:

0. Ausencia total.
1. Casi imperceptible.
2. Ligera.
3. Media.
4. Grande.
5. Extrema.

En la parte derecha de esta hoja, se establece una escala de 9 puntos (9 calidad excepcional, 1 pésima), que será utilizada por el catador para dar una puntuación única,conjunta, de las características del aceite. Esta puntuación debe ser consecuente con las virtudes, defectos encontrados en el aceite, anotados ya en la parte de la izquierda.

La primera columna (defectos) de la tabla de puntuación comprende cinco apartados, de esta forma la clasificación de los aceites se basará fundamentalmente en la ausencia total o en la presencia de sabores defectuosos así como en la mayor o menor gravedad o intensidad de éstos; sin embargo, como la escala de valoración es de 9 puntos, deberán considerarse algunos matices o aspectos que contribuyen de forma definitiva a decidir la puntuación total de calidad, que se describen en la segunda columna "características".

IV.6.7. Puntuación final.

El jefe de panel recogerá las puntuaciones dadas por cada uno de los catadores, comprobará que los atributos y las intensidades con que los ha percibido y marcado en la tabla de perfil se corresponden aceptablemente con la valoración asignada al aceite en la "tabla de puntuación". En caso de notable diferencia requerirá al catador para que revise la hoja de puntuación. Si fuese necesario repetirá el ensayo.

A continuación, el jefe de panel tabulará todas las puntuaciones del grupo y calculará su media aritmética. En un período no superior a una semana y con intervalos mínimos de un día, volverá a repetir los ensayos, hasta obtener una evaluación por triplicado de la muestra. La puntuación "final" de la muestra será media de las tres puntuaciones dadas con una cifra decimal.

**ESTACIÓN DE OLIVICULTURA "VENTA DEL LLANO"
ACEITE DE OLIVA VIRGEN**

NOTAS OLFACTO-GUSTATIVAS-TÁCTILES

TABLA DE PUNTUACIÓN

Atributos	Intensidad de percepción					Defectos	Características	Evaluación Global: Puntos
	0	1	2	3	4			
Frutado de aceituna (madura o verde) 1/							Frutado de aceituna	9
Manzana								
Otra (s) fruta (s) madura (s)						Ninguno	Frutado de aceituna	8
Verde (hoja, hierba)							Otros frutos frescos	7
Amargo								
Picante						Apenas percibido	Frutado apagado de cualquier tipo	6
Dulce								
Otro (s) atributo (s) tolerable (s)						Percibidos Ligeramente	Frutado algo defectuoso, olores, y sabores anómalos	5
(¿Cuál (es)?								
Agrio / Avinado / Avinagrado / Ácido 1/								
Basto						Percibidos intensidad media	Ciaramente defectuoso	4
Metálico							Olores y sabores desagradables	
Moho / humedad								
Borras / Turbios								
Atrojado								
Rancio						Percibidos claramente y con intensidad extrema	Olores y sabores totalmente inadmisibles para el consumo	3
Otro (s) Atributo (s) intolerable (s)								2
(¿Cuál (es)?								1

1/ Tachese lo que no proceda
 Intensidad de la percepción
 0 Ausencia total
 1 Casi imperceptible
 2 Ligera
 3 Medi
 4 Grande
 5 Extrema
 Es obligatorio indicar la ausencia de la nota sensorial marcando una "x" en la casilla correspondiente

OBSERVACIONES

NOMBRE DEL CATADOR

CLAVE DE LA MUESTRA

FECHA

V
ANÁLISIS DE ACEITES (II)

V. ANALISIS DE ACEITES (II)

V.1. Criterios de pureza. Introducción.

- Las grasas son, junto con las proteínas y los hidratos de carbono, los principales componentes de los alimentos.
- Aunque su papel principal en el organismo es el de servir como fuente energética (1 gramo de grasa proporciona 9 calorías), desempeñan también otras funciones, como por ejemplo:
 - a) Son fuentes de ácidos grasos esenciales.
 - b) Transportan las vitaminas liposolubles.
 - c) Confieren a los alimentos fritos la textura que los hace más apetecibles.
 - d) Contribuyen al buen sabor y presentación en el aderezo de alimentos, etc.

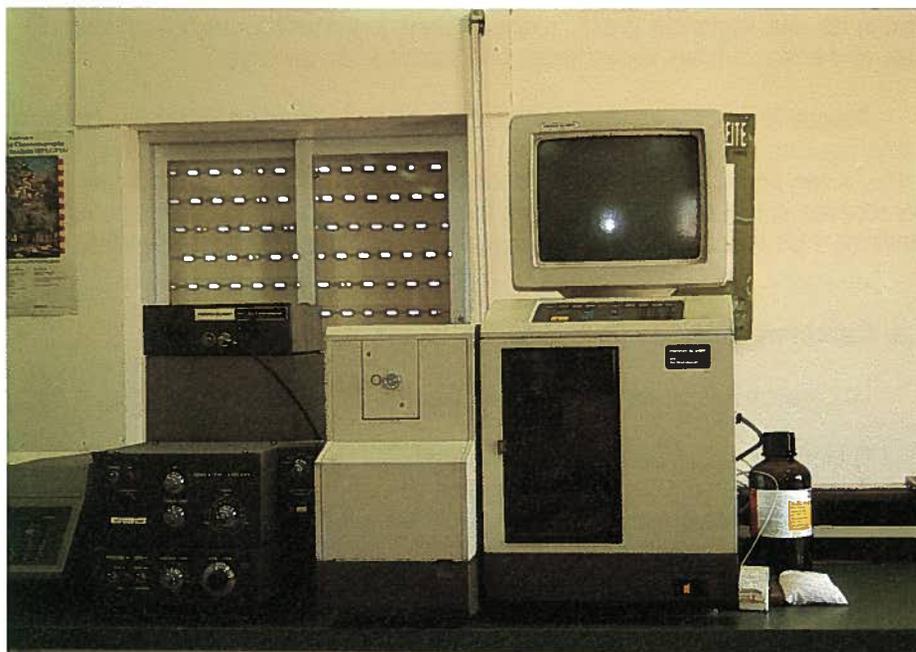


Foto 20. Cromatógrafo ácidos grasos "Picual".

- Las grasas que se utilizan en la alimentación son de origen animal o vegetal. A éstas últimas se les llama comúnmente "Aceites vegetales comestibles".
- Entre éstos aceites hay dos grupos:
 - 1.º) Aceite de Oliva.
 - 2.º) Aceite de Semillas.
- Al primero le debería corresponder solamente el nombre de "Aceite", puesto que se obtiene de la aceituna.
- Al resto de los aceites vegetales, hay que añadir siempre el nombre de la semilla o fruto de donde procede.

V.2. Composición de los aceites.

- Debido a la perfección alcanzada por los métodos analíticos en los últimos años, hoy se conoce casi completamente la composición de los aceites en general, y no sólo en lo que se refiere a los glicéridos y ácidos grasos, sino también a los compuestos no glicéridos pertenecientes a distintas especies químicas, que se incluyen bajo la denominación de "componentes menores", por su pequeña proporción.

- Esto no quiere significar que, desde el punto de vista biológico o de caracterización de una sustancia grasa, tengan menos importancia que los anteriores, ya que, de hecho, muchas veces tienen una significación decisiva.

- Aunque la mayoría de estos compuestos se encuentran en la fracción insaponificable, hay otro tipo de sustancias que no aparecen en ella, ni tampoco en la saponificable, y que por diversas causas (volatilidad, solubilidad, o mínima cantidad) han de ser aisladas con el empleo de técnicas especiales, como ocurre con los compuestos fenólicos y las sustancias volátiles responsables del aroma del aceite de oliva.

V.3. Caracterización de un aceite.

- La caracterización de un aceite se puede hacer por dos caminos:

- 1.º) Mediante la identificación de un componente específico de dicho aceite.
- 2.º) Por el contenido de alguno o algunos de sus componentes, comunes a otras grasas, pero distribuidos en forma diferente: valores de composición.

- El primero de los caminos es más sencillo: se trata de buscar un método analítico en el que, por medio de una reacción coloreada o por el aislamiento del componente específico de que se trate, se llegue a la caracterización del aceite.

– El segundo, es más complicado; ya que se necesita disponer de la suficiente información analítica, que permita establecer los límites entre los que fluctúan determinados componentes para cada aceite. El conocimiento de valores de composición de un amplio número de componentes, puede servir como criterio de caracterización de aceites. Sin embargo, se pueden encontrar muestras, en las que se hayan efectuado mezclas en la proporción necesaria, para no alterar significativamente los valores de composición, y que por tanto resulte muy difícil dictaminar sobre la pureza del aceite de procedencia.

V.4. Determinaciones analíticas.

– Las principales pruebas analíticas seguidas como criterio de pureza son:

V.4.1. Composición en ácidos grasos.

– La composición en ácidos grasos del aceite de oliva es bastante simple: seis ácidos son los mayoritarios: (palmítico, palmitoléico, esteárico, oleico, linoléico y linolénico) y otros están presentes en menor cantidad, a veces tan pequeña, que incluso no llegan a detectarse (mirístico, margárico, margaroléico, aráquico, behénico y lignocérico) (Cuadro 7).

CUADRO 7
COMPOSICIÓN EN ÁCIDOS GRASOS DEL ACEITE DE OLIVA
MUESTRAS DEL FICHERO OLEICOLA NACIONAL
DATOS DE 10 CAMPAÑAS

Acido Graso	Intervalos de variación al 95%	% Muestras en que se detectó
PALMITICO	7,66 - 13,12	100
PALMITOLEICO	0,30 - 1,21	100
MARGARICO	0,00 - 0,29	46
MARGAROLEICO	0,00 - 0,41	67
ESTEARICO	1,77 - 4,22	100
OLEICO	68,32 - 82,60	100
LINOLEICO	3,06 - 14,50	100
LINOLENICO	0,64 - 1,30	100
ARAQUICO	0,22 - 0,62	90,5

Fuente: Estación de Olivicultura. Jaén

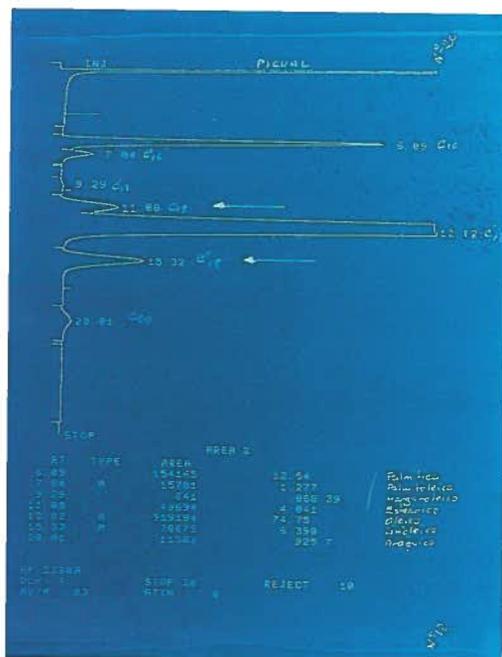


Foto 21. Cromatogramas ácidos grasos "Picual".

des que poseía la Estación de Olivicultura en los terrenos de la Granja Agrícola en Jaén, se ha podido conocer también la composición en ácidos grasos de un buen número de variedades, de las que se cultivan en distintas zonas españolas (Cuadro 9).

– En el cuadro 10 se presenta la composición de los aceites vegetales comestibles más utilizados en la alimentación humana, incluyendo el aceite de oliva. Los aceites de semillas son refinados, tal y como se presentan al consumidor. En cuanto al aceite de colza, las variedades que se cultivan actualmente, están casi exentas de ácido eúrico.

– Los principales factores que influyen en ésta composición son: la variedad, el clima, el grado de madurez del fruto, etc.

– Estudios llevados a cabo en la Estación de Olivicultura (1975-80), llevaron a diferenciar perfectamente las variedades de más cultivo en España: Picual, Hojiblanco, Picudo y Lechín, atendiendo precisamente a su composición en ácidos grasos. (Fotos 20, 21, 22 y 23).

– En el Cuadro 8 se reflejan los resultados de cuatro campañas, con los intervalos de confianza al 80 y 90% para cada una de las variedades estudiadas.

– Sin llegar a un estudio tan exhaustivo, pero gracias al jardín de variedad

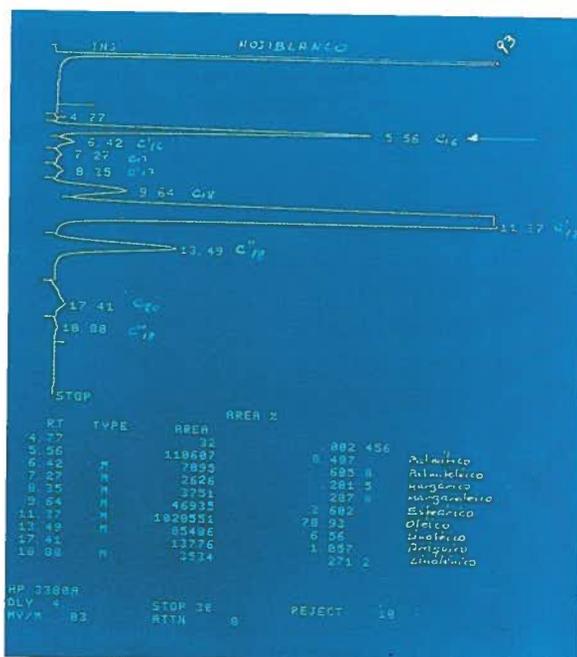


Foto 22. Cromatogramas ácidos grasos "Hojiblanco".

**CUADRO 8
RESULTADOS MEDIOS DEL CONJUNTO DE CAMPAÑAS**

Ácidos Grasos	Variedad		C16	C17	C17	C18	C18	C18	C20	C"18
	Media	Intervalo								
PICUAL N.º de Muestras: 146	Media	10,67	0,81	(1)	(2)	3,78	78,27	5,11	0,38	0,92
	Intervalo al 80%	9,43-11,91	0,55-1,07	-	-	2,96-4,60	75,52-81,02	3,24-6,98	0,24-0,52	0,62-1,22
	Intervalo al 90%	9,08-12,26	0,48-1,14	de - a 0,13	de - a 0,23	2,72-4,84	74,74-81,80	2,71-7,51	0,20-0,56	0,54-1,30
LECHIN N.º de Muestras: 106	Media	12,08	0,98	0,20	0,38	1,96	69,70	13,26	0,27	1,20
	Intervalo al 80%	10,87-13,29	0,77-1,19	0,11-0,29	0,26-0,50	1,54-2,38	65,86-73,54	9,74-16,78	0,13-0,41	0,87-1,53
	Intervalo al 90%	10,52-13,64	0,71-1,25	0,08-0,32	0,23-0,53	1,41-2,51	64,75-74,65	8,73-17,70	0,09-0,45	0,77-1,63
PICUDO N.º de Muestras: 46	Media	13,43	1,22	-	0,09	2,26	66,63	14,74	0,37	1,30
	Intervalo al 80%	12,21-14,65	1,00-1,44	-	0,07-0,11	1,77-2,75	63,48-69,78	12,80-16,68	0,25-0,49	0,94-1,66
	Intervalo al 90%	11,85-15,01	0,93-1,51	-	-0,06-0,12	1,62-2,90	62,57-70,69	12,24-17,24	0,22-0,52	0,83-1,77
HOJIBLANCO N.º de Muestras: 106	Media	8,86	0,60	0,19	0,27	3,55	75,67	9,22	0,44	1,20
	Intervalo al 80%	7,04-10,68	0,42-0,78	0,13-0,25	0,20-0,34	3,12-3,98	71,54-79,80	6,73-11,71	0,30-0,58	0,95-1,4
	Intervalo al 90%	6,52-11,20	0,37-0,83	0,11-0,27	0,18-0,36	3,00-4,10	70,36-80,98	6,01-12,43	0,26-0,62	0,88-1,52

(1) Aparece en el 4,83%

(2) Aparece en el 60,00%

(3) Aparece en el 95,86%

(4) Aparece en el 91,51%

(5) Aparece en el 87,74%

(6) Aparece en el 64,44%

(7) Aparece en el 97,30%

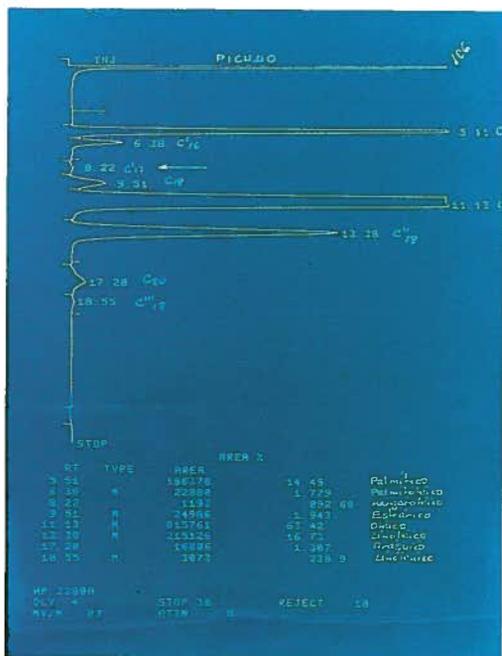


Foto 23. Cromatogramas ácidos grasos "Picudo".

se añaden 5 ml. de Metanol sulfúrico al 4% dejándolo hervir otros 5 minutos. Hecho esto, se retira el matraz y se deja enfriar tapado. Con un embudo se pasa la solución a un matraz de cuello estrecho y se añaden 3 ml. de hexano enjuagando el matraz de 50 ml. Se calienta suavemente durante 1 minuto y se añade salmuera para ayudar a sobrenadar los ésteres.

Los métodos de análisis comunitarios describen cinco procedimientos para la preparación de los ésteres metílicos. La elección del procedimiento deberá hacerse en función de la composición prevista y de la acidez de la muestra.

– La determinación de los ácidos grasos se hace por cromatografía gaseosa (Método Oficial nº 41). Hay que contar con aparato apropiado. Actualmente se tiende a utilizar columnas capilares. (Foto 24).

Procedimiento.

– Para determinar la composición de ácidos grasos en un aceite es necesario metilarlos para conseguir liberarlos de su enlace glicerídico y mejorar las condiciones cromatográficas.

– La preparación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos se realiza pesando 0,3 gramos de aceite en un matraz de 50 ml., añadiendo 5 ml. de Metilato sódico y colocándolo sobre una placa con un refrigerante, hirviendo durante 5 minutos. A continuación

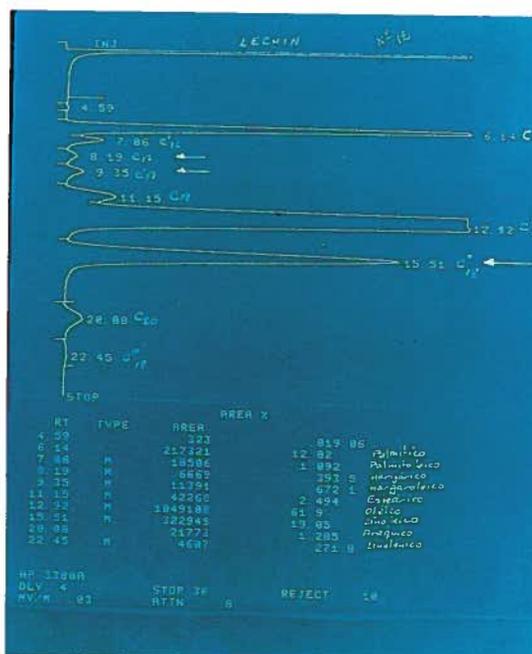


Foto 24. Cromatogramas ácidos grasos "Lechin".

**CUADRO 9
ACEITES DE OLIVA - COMPOSICIÓN EN ÁCIDOS GRASOS %**

VARIEDAD	LOCALIZACIÓN	C ₁₄	C ₁₆	C ₁₆	C ₁₇	C ₁₇	C ₁₈	C ₁₈	C ₁₈	C ₂₀	C ^m ₁₈	lnsa/sa
PICUAL	Jaén	-	9,98	0,61	-	0,09	3,61	79,72	4,82	0,34	0,82	6,18
HOJIBLANCO	Córdoba	-	8,60	0,72	0,18	0,27	4,07	74,32	10,03	0,45	1,36	6,52
LECHIN	Sevilla	-	12,29	1,11	0,17	0,41	1,71	69,15	13,50	0,24	1,41	5,94
PICUDO	Córdoba	-	13,51	1,36	-	0,09	2,22	65,56	15,56	0,34	1,36	5,22
CORNICABRA	Toledo	-	8,48	0,59	-	0,09	3,89	80,29	5,58	0,38	0,71	6,84
ARBEQUINA	Lérida	-	13,52	1,52	0,15	0,24	1,93	70,18	11,41	0,28	0,76	5,30
EMPELTRE	Aragón	-	12,06	1,20	0,08	0,20	7,38	74,63	9,43	-	1,02	6,40
NEGRAL	Valle del Ebro	-	10,88	0,79	0,11	0,20	3,00	72,23	11,80	0,21	0,79	6,40
BLANQUETA	Levante	-	14,51	1,47	0,10	0,25	1,48	67,41	14,21	-	0,58	5,22
GENOVESA	Levante	-	11,04	0,70	0,16	0,23	2,33	75,31	8,77	0,37	1,09	6,19
VERDIAL	Sevilla	-	10,85	0,90	0,18	0,23	2,61	81,08	3,11	0,36	0,66	6,14
REDONDILLA	Rioja	-	14,40	1,28	-	0,06	2,52	68,27	12,50	0,18	0,80	4,85
MORISCA	Badajoz	-	12,96	1,02	-	0,10	1,90	72,40	10,93	-	0,69	5,73
MORRUDA	Tarragona	-	12,76	1,02	-	0,07	4,21	71,36	9,29	0,20	0,98	4,79
FARGA	Tarragona	-	10,57	1,00	-	0,09	1,15	799,26	7,45	-	0,48	7,53
CHANGLOT REAL	Levante	-	10,90	0,59	0,16	0,33	1,30	80,04	6,06	-	0,62	7,09
ZARZARIEGA	Badajoz	-	9,63	0,52	-	-	3,95	64,63	19,77	0,45	1,04	6,13
ZORZALEÑO	Sevilla	-	11,201	1,02	0,18	0,43	1,22	75,48	9,31	-	0,67	6,90

CUADRO 10
RECONOCIMIENTOS DE ACEITES VEGETALES. FRACCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS. LÍMITES

Tipo Aceite	Mirístico C₁₄	Palmitico C₁₆	Palmitoleico C₁₆	Estearico C₁₈	Oleico C₁₈	Linoleico C₁₈	Linolenico C₁₈	Araquico C₂₀	Behenico C₂₂	Erucico C₂₂	Lignocérico C₂₄
Oliva (Virgen y refinado)	No hay	7,00 16,0	0,3 2,8	1,00 4,90	61,3 82,4	2,3	≤1,4	No hay	-	-	-
Orujo refinado	≤0,1%	10,0 14,0	0,0 2,0	1,00 4,90	74,0 80,0	4,0 6,0	≤0,8	-	-	-	-
Soja refinado	0,1	7,0 12,0	0,0 0,5	2,00 5,50	20,0 35,0	45,0 60,0	5,0 10,0	≤1,0	0,5	-	-
Algodón refinado	0,6 1,2	17,0 29,0	0,5 1,0	1,00 3,00	16,0 44,0	33,0 58,0	0,1 2,1	0,1 0,3	-	-	-
Girasol refinado	Trazas	5,0 8,0	0,0 0,2	3,00 6,00	18,0 37,4	50,0 70,0	0,2 1,7	0,2 1,2	≤1,0	-	-
Cacahuete refinado	≤0,3	8,2 13,0	0,1 0,3	2,80 4,90	38,0 63,0	17,9 41,3	0,0 1,0	1,2 2,6	2,0 5,0	-	1,2 2,5
Colza refinado	≤0,3	2,0 5,0	0,1 0,5	1,00 2,00	11,0 17,0	12,0 29,0	12,0 20,0	0,4 1,0	0,2 0,8	30,0 60,0	-
Maiz refinado	Trazas	10,0 17,0	0,0 0,2	1,50 2,70	27,5 43,0	45,0 60,0	Trazas 2,0	0,4 1,0	0,0 Trazas	-	-
Cártamo refinado	0,1	4,0 10,0	0,0 0,1	2,00 4,00	11,0 25,0	55,0 80,0	1,0 3,0	0,2 1,0	0,2 1,0	-	-
Pepita de uva	0,1	6,5 9,8	0,1 1,2	3,00 4,70	12,1 24,6	61,8 77,3	0,1 1,0	Trazas	-	-	-

Preparación de los reactivos.

– Metilato sódico. En 1.000 ml. de metanol se dejan disolver 5 gramos de sodio metálico.

– Metanol sulfúrico al 4%. Poner 1.000 ml. de metanol en un vaso, sobre el agitador. Dejar caer con bureta gota a gota 17 ml. de ácido sulfúrico sobre el metanol en agitación, cuidando que no se eleve la temperatura por encima de 40°C.

– Una vez obtenidos los esteres metílicos de los ácidos grasos, para separarlos y obtener su porcentaje se inyecta en el cromatógrafo de gases con una microjeringa (aproximadamente 0,8 ml.). La columna utilizada para ello puede ser de relleno (DEGS al 15%) y 1/8 de pulgada, o capilar y las condiciones de trabajo son: isoterma a 180°C durante 25 minutos y Nitrógeno o Helio como gas portador con un flujo de 40 l/h.

V.4.2. Contenido en esteroides.

– Los esteroides son alcoholes naturales, que constituyen la mayor fracción del insaponificable. El componente mayoritario es el β sitosterol, que se encuentra en todos los aceites vegetales. En los aceites de oliva y de orujo de aceituna el contenido en β sitosterol debe ser superior al 93% y el de campesterol inferior al 4%. Si se encuentra colesterol, su contenido no debe sobrepasar el 0,5% de la fracción de esteroides.

– En los aceites vegetales, la identificación y dosificación de los esteroides, se utiliza para el reconocimiento de los mismos, así como para detectar la adulteración con grasas animales. En el Cuadro 11 se presenta la composición en esteroides de los principales aceites vegetales.

– Para hacer un análisis de esteroides se requiere:

- 1) Saponificar, la muestra y extraer el insaponificable.
- 2) Aislar los esteroides por cromatografía en capa fina.
- 3) Analizar la fracción esteróica aislada por cromatografía en fase gaseosa a elevada temperatura.

CUADRO 11
FRACCIÓN ESTEROLICA

	OLIVA	COLZA	SOJA	GIRASOL
Colesterol	-	-	-	-
Brasicasterol	-	11	-	-
Campesterol	2	29	23	11
Estigmasterol	1	-	19	10
Beta sitosterol	97	60	56	62
Δ 7 Estigmasterol	-	-	2	17

– El cromatógrafo de gases debe contar con detector de ionización de llama y columna de vidrio, puesto que los esteroides, se pueden descomponer a elevada temperatura en contacto con los metales.

– El Método Oficial es el nº 24 (a) y (b). El relleno puede ser SE-30 o OV-17.

Procedimiento. (Método Oficial nº 24 (a))

– Se pesan 5 gramos de muestra, y se extrae el insaponificable empleando Éter etílico. Se elimina el disolvente en un evaporador rotatorio, cuidando no pasar la temperatura de 50°C. El insaponificable se disuelve en 2 ml. de Cloroformo.

– Los esteroides se aíslan por cromatografía en capa fina, depositando 1 ml. del insaponificable en una banda de 2 cm. del borde inferior y empleando colesterol como patrón de referencia. El líquido de desarrollo es una mezcla hexano-éter etílico 60:40, a la que se agrega 1 % de Ácido fórmico.

– Se rasca la sílice correspondiente a la banda de esteroides, pasándola a una columnita de elución, adicionando Éter isopropílico o Cloroformo varias veces.

– La solución se recoge en un matraz en forma de pera de 10 ml. y se elimina el disolvente en evaporador rotatorio. El residuo sólido se disuelve en 250 µl. de cloroformo y se inyecta en el cromatógrafo.

– Las condiciones de trabajo, para conseguir resultados óptimos, suelen ser:

* Temperatura de la columna	240-250°C
* Temperatura del inyector	290-300°C
* Temperatura del detector	270°C
* Flujo del gas portador	30-40 ml/min.
* Detector de ionización de llama	
* Inyector de vidrio.	
* Columna de vidrio, relleno al 3%: (SE-30) o (OV-17)	

– El pico del β-sitosterol suele aparecer a los 30 minutos del disolvente.

Cálculos

– El contenido en % de cada esteroide, viene dado por la expresión:

$$\% \text{ esteroide A} = \frac{t_A \cdot h_A}{(t_x \cdot h_x)} \times 100$$

t = tiempo de retención.

h = altura del pico.

V.4.3. Contenido en ácidos grasos en posición β de los triglicéridos. (Método Oficial nº 34)

– Es una determinación en aceites y grasas de la composición de la fracción de ácidos grasos que han sido esterificados en la posición 2 (o posición β del glicerol). Se aplica para verificar si el tratamiento industrial ha originado algún deterioro en la estructura inicial de los aceites.

– Hay que hacer una neutralización del aceite, purificarlo por alúmina, hidrolizar la fracción de triglicéridos por la lipasa pancreática, separar los monoglicéridos por cromatografía en capa fina, transformar los ácidos grasos en ésteres metílicos y analizar éstos por cromatografía en fase gaseosa.

– Si la suma de los contenidos en ácido palmítico + ácido esteárico es superior al 1,5% para los aceites de oliva o al 2% para los aceites de orujo, se puede considerar la presencia de esterificados.

Procedimiento.

– Cinco gramos de aceite filtrado son disueltos con 50 ml. de Éter de petróleo, la disolución se hace pasar por una columna de vidrio, rellena con 15 gr. de alúmina, recogiendo la grasa purificada y decolorada en un matraz apropiado para el rota-vapor, en donde se eliminará todo el disolvente. Una cantidad de ésta grasa, exenta de Éter de petróleo, se deposita en un tubo con tapón y se le añade 10 mg. de Lipasas Pancreática por cada 100 mg. de grasa. A continuación se añaden los reactivos siguientes en el orden indicado:

- * 2 ml. de trishidroximetilamonio
- * 0,2 ml. de Cl_2 Ca.
- * 0,5 ml. de Colato sódico.
- * Agitación suave.
- * 1 ml. de ClH_6 N.
- * 1 ml. de Éter petróleo.

– Se agita vigorosamente durante 2 minutos y se deja reposar hasta que se produzca una clara separación de fases.

– De la fase etérea (superior) se toman las porciones que se han de depositar en la placa de Gel de Sílice, la cual se desarrolla en un líquido compuesto (por cada 100 ml.) de:

- * 65,5 ml. de Éter de petróleo.
- * 32,8 ml. de Éter etílico.
- * 1,6 ml. de Ácido fórnico.

– Una vez que el frente del disolvente ha alcanzado, la altura adecuada, se saca la plaza de la cubeta y se deja secar, señalando, posteriormente, la posición de los β monoglicéridos que se observan al trasluz como una banda ancha inmediatamente por encima de la posición original de aplicación. Se raspa la zona deseada y se pasa a un matraz para metilación, a continuación los mismos pasos que en la determinación de los ácidos grasos por cromatografía gaseosa (método oficial nº 41).

V.4.4. Presencia de aceite de orujo.

– Entre los componentes de los aceites vegetales, se encuentran los alcoholes grasos superiores. Estos alcoholes, que forman parte de las cutículas de los vegetales, son insolubles, estables y de alto punto de fusión.

– La presencia de estos alcoholes, especialmente del Eritrodiol, nos puede servir para el reconocimiento del aceite de orujo.

– Varias son las determinaciones analíticas con esta finalidad:

A) Contenido en Eritrodiol (Método Oficial nº 58)

– Entre los alcoholes terpénicos que se encuentran en mayor proporción en el insaponificable del aceite de orujo, está el Eritrodiol.

– Su determinación consta de la extracción del insaponificable, el fraccionamiento por cromatografía en capa fina, la recuperación de la fracción de esteroides y dialcoholes terpénicos y la cuantificación por cromatografía de gases. El contenido en Eritrodiol del aceite de oliva no debe ser superior al 4,5%.

B) Alcoholes alifáticos.

– El contenido total en alcoholes (del C_{20} al C_{28}) en un aceite virgen de oliva, de las calidades extra y corriente, no debe ser superior a 300 mg./kg.

– El método consta de tres fases:

a) Saponificación del aceite con adición de eicosanol como patrón interno.

b) Fraccionamiento del insaponificable por cromatografía en capa fina y aislamiento de los alcoholes alifáticos.

c) Recuperación del gel de sílice y fraccionamiento de los alcoholes por cromatografía gaseosa en columna capilar.

C) Contenido en ceras.

V.4.5. Contenido en percloroetileno.

– Para que un aceite sea aceptable para el consumo, su contenido en disolventes halógenados (percloroetileno), no puede exceder el límite de 0,200 mg/kg. En caso contrario, se le considera *lampante*.

– El método analítico para la determinación del percloroetileno, consiste en una cromatografía gaseosa con detector de captura de electrones. La inyección se puede hacer por dos procedimientos:

- a) Inyectando en el cromatógrafo un volumen de gas, procedente del espacio de cabeza de la muestra, en determinadas condiciones.
- b) Instalando una pro-columna, donde se inyecta el aceite directamente.

En los dos casos se necesitan patrones de referencia.

V.5. Métodos Cromatográficos en el Análisis de Aceites.

La palabra CROMATOGRAFIA, de las palabras griegas khromatos (color) y graphos (escrito), fue usada por primera vez en 1906 por Miguel Tswett, botánico ruso, para describir la separación de pigmentos vegetales en distintas zonas coloreadas. Tswett utilizó una columna de vidrio rellena de Carbonato cálcico absorbente, a través de la cual pasaba un extracto de la planta disuelto en Éter de petróleo; así obtuvo bandas verdes y amarillas de pigmentos.

La definición que se ha adoptado como más general exclusiva y definidora de las características de la técnica cromatográfica es:

CROMATOGRAFIA: es un método físico de separación en el que los componentes a separar se distribuyen entre dos fases, una de ellas es un lecho estacionario de gran área superficial y la otra es un fluido que se infiltra a través del lecho estacionario.

El lecho estacionario, fase estacionaria, puede ser un sólido o un líquido impregnado en un soporte inerte, y el fluido o fase móvil, un líquido o un gas.

Todos los métodos cromatográficos van dirigidos fundamentalmente a la separación de dos o más sustancias. Las separaciones cromatográficas se consiguen mediante la distribución de los componentes de una mezcla entre una fase fija y otra que se desplaza, llamadas, respectivamente, fase estacionaria y fase móvil. La separación entre dos sustancias empieza cuando una es retenida más fuertemente por la fase estacionaria que la otra, que tiende a desplazarse más rápidamente en la fase móvil.

V.5.1. Terminología y definiciones.

La terminología y las definiciones enumeradas a continuación están basadas en las recomendaciones internacionales de nomenclatura y presentación de datos.

– *Cromatograma*: es la representación gráfica de la respuesta del detector en función del tiempo. Cromatograma típico es el que se muestra en la *figura 11*.

– *Línea de base*: es la porción de cromatograma registrada cuando por la columna solamente sale gas portador.

– *Pico*. es la porción del cromatograma que registra el detector cuando por la columna fluye un componente. Si la separación de los componentes de una mezcla es incompleta, dos o más componentes pueden aparecer como un solo pico o como picos solapados.

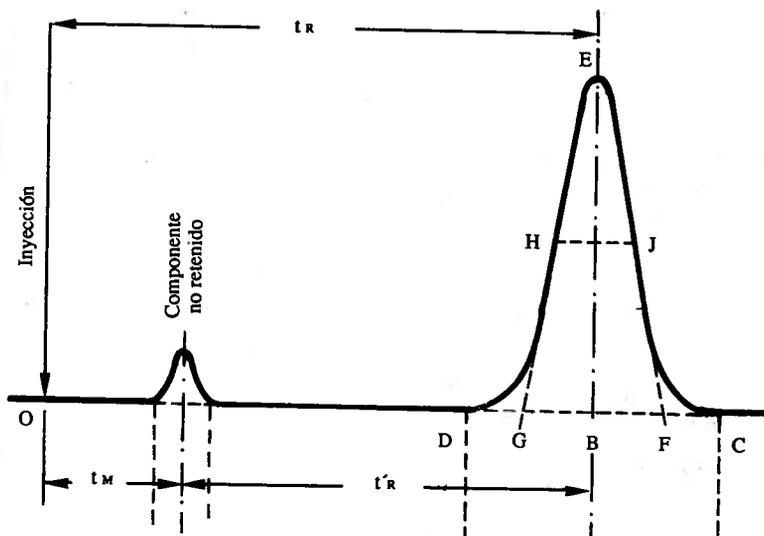


Figura 11. Cromatograma típico.

- *Base del pico*: Es el segmento CD.
- *Anchura del pico*: es el segmento FG.
- *Área del pico*: es la superficie comprendida entre el pico y su base.
- *Altura del pico*: es el segmento BE.

Hay distintos tipos de cromatografía

- En columna: C. de gases
C. líquida de alta eficacia
- En papel
- En capa fina

La columna forma un sistema cerrado, en contraste con los sistemas abiertos de papel y capa fina.

V.5.2. Cromatografía en papel.

Si se coloca una pequeña cantidad de una mezcla de sustancias, en forma de mancha, sobre un papel de filtro y sobre este discurre un disolvente, dichas sustancias se desplazan a distancias distintas en el transcurso del tiempo.

La ventaja de la cromatografía sobre papel es la pequeña cantidad de muestra necesaria, la gran capacidad de resolución, la facilidad de detección y la simplicidad del utillaje. Sigue siendo la técnica más efectiva para compuestos polares.

V.5.3. Cromatografía en capa fina.

La cromatografía en capa fina se basa en la preparación de una capa, uniforme, de un absorbente mantenido sobre una placa de vidrio u otro soporte. Los requisitos esenciales son, pues, un absorbente, placas de vidrio, un dispositivo que mantenga las placas durante la extensión, otra para aplicar la capa de absorbente y una cámara en la que se desarrollan las placas cubiertas. Es preciso también poder guardar con facilidad las placas preparadas y una estufa para activarlas.

Sobre esta capa de absorbente se aplican los productos a examinar disueltos, cuando sea posible, en un disolvente orgánico que tenga un punto de ebullición lo suficientemente bajo para que se evapore después de la aplicación. El desarrollo de los cromatogramas en capa fina se hacen normalmente por el método ascendente, esto es, que el eluyente ascienda por la placa casi en posición vertical, y la atmósfera ha de estar saturada de dicho eluyente que se introduce en la cámara de desarrollo una hora antes; pasado este tiempo se meten las placas y se tapa.

Una vez acabado el desarrollo se aplican uniformemente los reactivos reveladores y se localizan los compuestos, si es necesario utilizamos una lámpara ultravioleta.

La C.C.F. ha demostrado ser de excepcional valía para determinadas clases de sustancias, tales alcaloides, aminoácidos, lípidos, péptidos, y esteroides. Existen también muchas aplicaciones del método para antibióticos, hidratos de carbono, colorantes, insecticidas y vitaminas.

V.5.4. Cromatografía de gases.

La cromatografía de gases incluye todos los métodos cromatográficos en los que la fase móvil es un gas.

Los nombre más empleados para denominar la técnica son: cromatografía de gases y cromatografía en fase vapor. Presenta muchas ventajas: se detectan fácilmente los componentes a la salida de las columnas con equipos relativamente sencillos y en la corriente del gas portador es posible determinar cuantitativamente pequeñas cantidades de sustancias eluidas, ya que la fase móvil es inerte.

Las muestras manipuladas son del orden del miligramo y en algunos casos del microgramo. Una gran ventaja de la técnica es su relativa sencillez operativa. El equipo de cromatografía de gases, comparativamente con otros analíticos, es de los más económicos que existen. El defecto principal de la Cromatografía de Gases es que su campo de aplicación se limita a compuestos volátiles; existe la tendencia a ampliarlo a compuestos menos volátiles, aumentando su presión de vapor por tratamiento térmico o químico.

En los laboratorios químicos su aplicación principal es el análisis químico para separación e identificación cualitativa de los componentes de mezclas complejas y cálculo de su composición cuantitativa.

– Equipo para la Cromatografía de Gases.

Las partes principales del equipo son: *Figura 12 y Foto 20.*

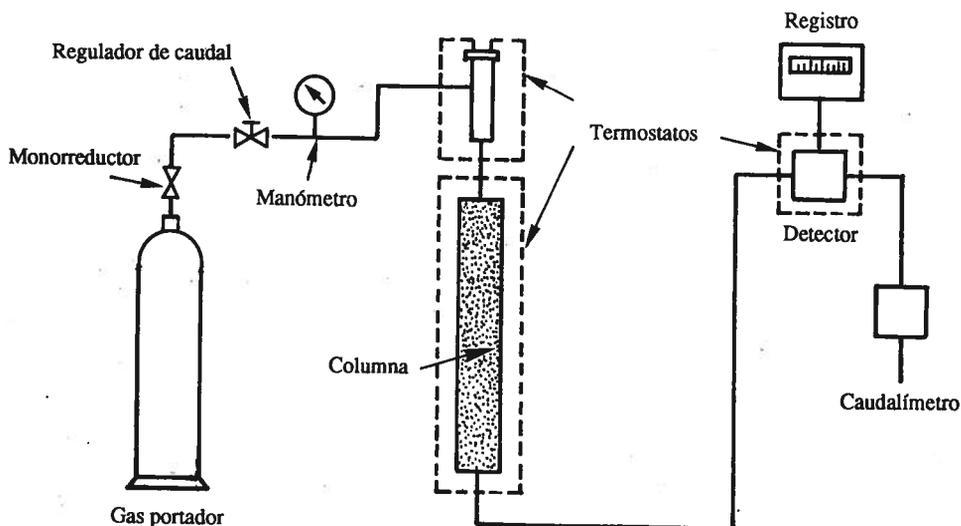


Figura 12. Esquema de un cromatógrafo de gases.

- a) Fuente de gas portador.
- b) Sistema de regulación de caudal formado por manorreductor, medidor de presión de entrada en columna, y regulador de caudal.
- c) Cámara termostatada de inyección de muestras.
- d) Columna termostatada, rellena de fase estacionaria.
- e) Detector termostatado, con amplificador de señal y registro gráfico.
- f) Caudalímetro de precisión.

El gas portador (fase móvil) es un gas inerte, generalmente Helio, Nitrógeno o Argón, de elevado grado de pureza y que está contenido en botellas de presión ordinarias provistas de manorreductores de doble estadio con indicador de presión. Para disminuir las variaciones de flujo se coloca un regulador de caudal antes de la entrada de gas en la columna. El flujo de gas portador es la fuerza impelente en Cromatografía de Gases.

La cámara de inyección por la que se introducen los solutos en la corriente de gas portador, tiene la misión de vaporizar las muestras cuando no son gaseosas; por lo tanto, su temperatura ha de ser superior a la del punto de ebullición del componente menos volátil de las mezclas.

Las columnas cromatográficas pueden ser de diferentes tipos: las columnas tradicionales, de vidrio o metálicas, denominadas, "columnas empacadas", que suelen tener entre 1-6 metros de longitud y un diámetro interno de 4-6 mm., y las columnas actuales de vidrio, de tipo capilar, con longitudes que pueden ir desde los 15-20 metros a los 105 metros y diámetros internos entre los 0,530 mm. (widebore) y 0,250 mm. (narrow-bore). Están rellenas con una fase estacionaria: en cromatografía gas-sólido, un sólido absorbente, y en cromatografía gas-líquido, un soporte sólido recubierto por un líquido estacionario. La temperatura de la columna se mantiene constante con una precisión de por lo menos $\pm 1^{\circ}\text{C}$, o se eleva progresivamente durante la separación según un programa determinado. La temperatura de la columna ha de fijarse de forma que se puedan conseguir las separaciones en tiempo razonable, generalmente de diez minutos a una hora.

El detector tiene por objeto medir las variaciones de concentración por la elución de cada compuesto y emitir una señal al registrador que las recoge en forma de un cromatograma en un registro gráfico de carta. La temperatura del detector ha de ser mayor o igual que la de la columna; en caso contrario, algunos compuestos eluidos se condensan en el mismo.

El caudal de gas portador se mide a la salida de la columna y a temperatura ordinaria mediante un caudalímetro de precisión.

La separación de los componentes de las mezclas se realiza de la manera siguiente: primeramente se ajustan las temperaturas apropiadas de la cámara de inyección, termostato y detector, y el caudal del gas portador. Cuando la señal del detector es constante y no se produce ruido ni deriva se pueden introducir las muestras.

La muestra, en cantidades de alrededor de 1 μ l para líquidos, 1 ml para gases, se inyecta en la cámara de inyección en donde se vaporiza si no está en estado gaseoso. La vaporización se ha de realizar de la manera más rápida posible. Los componentes, en estado gaseoso, pasan a través de la columna, en donde se absorben en una pequeña zona, por equilibrios sucesivos entre fase móvil y estacionaria, cada compuesto se desplaza, a lo largo de la columna, a velocidades diferentes.

Los componentes que salen de la columna se miden con el detector adecuado. La curva obtenida es el cromatograma que presenta una serie de picos.

Se dice que se ha conseguido una buena separación, separación eficaz, cuando los picos de dos compuestos se presentan bien resueltos en los cromatogramas. Esta separación o resolución se produce mejor en las columnas capilares debido al mayor número de platos teóricos que son capaces de presentar, aumentando el número de equilibrios de reparto de los compuestos entre la fase estacionaria y la fase móvil.

Los componentes individuales de una muestra se identifican por su tiempo de retención, que normalmente se mide a lo largo del papel del cromatograma, pero la reproducibilidad de esos tiempos de retención se ve muy afectada por las alteraciones en el flujo del gas y en la temperatura de la columna. No es prudente confiar en los valores de los tiempos de retención archivados, sino que es preferible determinarlos a intervalos frecuentes.

Algunas de las aplicaciones de la cromatografía gaseosa en análisis de aceites es la determinación de *ácidos grasos* y sus porcentajes, y de esteroides (*Fotos 21, 22, 23 y 24*)

V.5.5. Cromatografía líquida de alta eficacia.

El desarrollo de la Cromatografía de gases en la década de los 50 redujo el interés de la Cromatografía líquido-líquido hasta la aparición de la Cromatografía líquida de alta eficacia o HPLC (high performance liquid chromatography), que puede competir con la cromatografía de gases en muchas aplicaciones analíticas.

Para una separación eficaz es necesario contar con soportes muy regulares y finamente divididos, con un suministro de fase móvil a la presión necesaria para mantener un flujo constante y adecuado a través de la columna y con un sistema de detección eficaz. Los aparatos utilizados constan de 5 componentes básicos: *figura 13*.

La utilización de rellenos en las columnas con tamaños de partículas muy fino y la necesidad de flujos elevados para efectuar los análisis con rapidez, hace necesario el empleo de presiones relativamente altas. Además, para evitar fluctuaciones en la línea base del detector es necesario que no se produzcan fluctuaciones importantes en la presión, que aparecen siempre que se utilizan bombas de un sólo efec-

to. Para conseguir un bombeo libre de pulsaciones es necesario incluir un sistema eliminado de pulsaciones, que normalmente es poco eficaz, o emplear una bomba más sofisticada con dos pistones.

El sistema de suministro de solvente incluye una bomba que proporciona el solvente adecuado, desde un reservorio, a una velocidad preseleccionada. Un sistema como éste con un sólo solvente, se denomina isocrático y cuando es necesario alterar la composición del eluyente durante la cromatografía el sistema es conocido como elución en gradiente.

En el sistema de inyección de muestra pueden utilizarse jeringas para alta presión aunque es preferible el empleo de válvulas de muestra por su mayor precisión.

Entre los sistemas de detección continua en HPLC, el más común es el que se basa en la absorción en el ultravioleta. También pueden utilizarse detectores de fluorescencia pero su campo de aplicación es reducido, dado el pequeño número de compuestos fluorescentes. Los refractómetros diferenciales que detectan cambios en el índice de refracción del solvente debido a la presencia de solutos son capaces de detectar cualquier tipo de sustancia, aunque son menos sensibles que los otros detectores y no pueden usarse con eluciones en gradiente.

Las células de flujo se construyen con un material que transmite la radiación; es importante que el volumen de la célula sea pequeño para obtener una buena resolución, entre dos componentes de la muestra que se eluyen próximos el uno al otro.

Las columnas se fabrican habitualmente con tubo de acero inoxidable pulido interiormente, de un diámetro interno de aproximadamente 4 mm. y una longitud de 25 cm. aunque pueden ser mayores o incluso más pequeños.

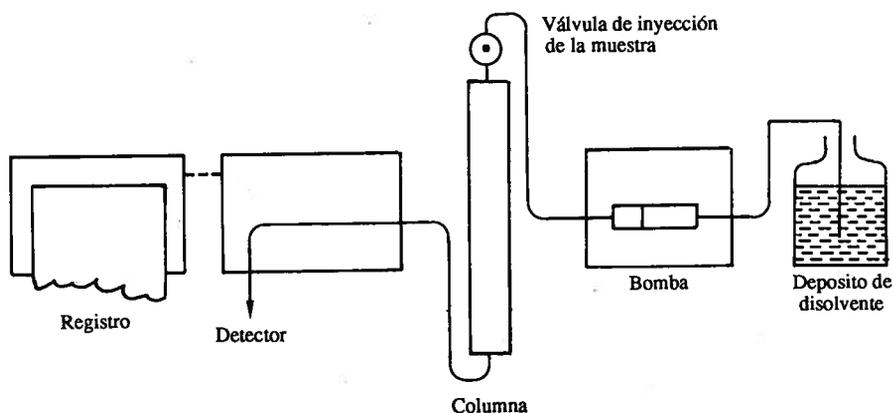


Figura 13. Esquema de un cromatógrafo de líquidos.

Las dimensiones del material de relleno son importantes para obtener la máxima eficacia en la separación y puede variar de 2 μm a 40 μm .

La versatilidad de la HPLC se basa sobre todo en el gran número de disolventes y mezclas de disolventes que pueden emplearse con fases estacionarias unidas químicamente. Es posible seleccionar una mezcla de solventes que tenga una polaridad particular y pueda ser utilizado con un amplio rango de fases estacionarias.

En el caso de que no se pueda encontrar una mezcla de solventes con la polaridad adecuada puede utilizarse la elución en gradiente.

Algunas de las aplicaciones de la HPLC en el análisis de aceites son: determinación de ácidos grasos, triglicéridos y tocoferoles, etc.

BIBLIOGRAFÍA

1. Métodos Oficiales de Análisis del Ministerio de Agricultura "B.O.": (29-agosto-79), (14-octubre-81), (20-enero-82), (28-mayo-82), (15-noviembre-85) y (31-enero-89).
2. Normas UNE (Instituto Nacional de Racionalización y Normalización - IRANOR-Serrano, 150 - MADRID).
3. Reglamentación Técnico Sanitaria de Aceites Vegetales Comestibles "B.O.": (21-febrero-83), (17-mayo-83), (6-marzo-85) y (7-julio-88).
4. Normas de calidad para la exportación de aceite de oliva y de orujo de aceituna: "B.O." (12-febrero-80) y (7-julio-88).
5. "Manual D'Analyse des Corps Grass". I.P. Wolff. Ed. Azoulay. París.
6. Industrial oil and Fat Products. A. E. Bailey. Ed. El Noticiero. Zaragoza.
7. "Grasas y Aceites". Revista del Instituto de la Grasa y sus Derivados. Sevilla.
8. Rivista Italiana dalle SOSTANZE GRASSE. Stazione Experimentale degli Oli e dei Grassi. Milano (Italia).
9. OLIVAE. Revista Oficial del Consejo Oleícola Internacional. Madrid.
10. Revue Française des Corps Grass. L'Institut des Corps Gras. París.
11. Reglamento (CEE) nº 2568/91 y posteriores modificaciones.

AGRICULTURA



GANADERÍA



PESCA Y ACUICULTURA



POLÍTICA, ECONOMÍA Y SOCIOLOGÍA AGRARIA



FORMACIÓN AGRARIA



CONGRESOS Y JORNADAS



R.A.E.A.



ISBN 84-89802-61-0



9 788489 802612

P.V.P.: 1.100 Ptas. 6,61€



JUNTA DE ANDALUCÍA

Consejería de Agricultura y Pesca