

## Memoria de Investigación

### CINÉTICA DE OXIDACIÓN DEL ACEITE DE OLIVA VIRGEN EXTRA DE DIFERENTES VARIEDADES MEDIANTE PRUEBAS ACELERADAS DE VIDA ÚTIL

[OXIDATION KINETICS IN DIFFERENT VARIETIES EXTRA-VIRGIN OLIVE OIL UNDER  
ACCELERATED SHELF-LIFE TESTING]

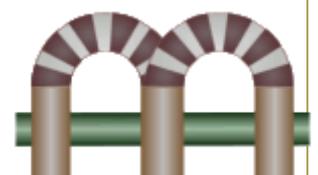
Alumno: María Luisa Barrionuevo García

Línea de Investigación [AGR-120]

[2014-2015]

Tutor de Investigación: Profa. Dra. Montserrat Vioque Amor

Palabras clave: [Aceite de oliva, vida útil, pruebas aceleradas]

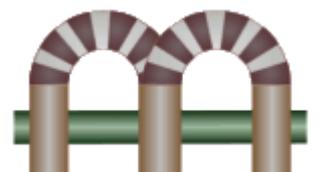
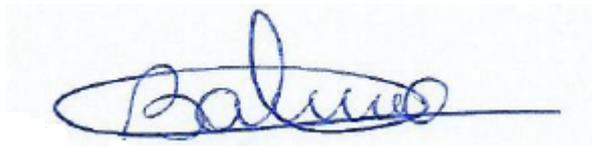


Memoria de investigación titulada: "CINÉTICA DE OXIDACIÓN DEL ACEITE DE OLIVA VIRGEN EXTRA DE DIFERENTES VARIEDADES MEDIANTE PRUEBAS ACELERADAS DE VIDA ÚTIL". [Oxidation kinetics in different varieties Extra-Virgin Olive Oil under accelerated shelf-life test] realizada por María Luisa Barrionuevo García, tutelado por: Profa. Dra. Montserrat Vioque Amor

Córdoba, 18 de noviembre de 2015

Fdo. el/a alumno/a:

VºBº Tutor de Investigación



## Contenido

Índice de tablas .....	3
Índice de figuras .....	3
Índice de Anexos .....	3
Resumen.....	4
Abstract .....	4
Introducción .....	5
Composición del aceite de oliva.....	6
Calidad del aceite de oliva.....	6
Determinación de la vida útil mediante el uso de herramientas predictivas. ....	7
Objetivos .....	9
Objetivo general.....	9
Objetivos específicos.....	9
Material y métodos .....	10
Pruebas de oxidación .....	10
Parámetros analíticos.....	10
Determinación del grado de acidez .....	10
Determinación del Índice de Peróxidos .....	10
Prueba espectrofotométrica en el ultravioleta.....	10
Análisis estadístico y tratamiento experimental de los datos .....	11
Resultados y Discusión .....	12
Caracterización físico-química de las variedades Picual (P), Arbequina (A), Hojiblanca (H) y Cornicabra (C) de aceite de oliva virgen extra. ....	12
Parámetros cinéticos.....	13
Conclusiones .....	20
Propuestas.....	20
Agradecimientos .....	20
Bibliografía .....	21
Anexos .....	23

## Índice de tablas

Tabla 1.-Características físico-químicas del aceite de oliva virgen extra .....	12
Tabla 2.-Valor de la constante de oxidación (k) y del coeficiente de regresión ( $r^2$ ) para la acidez, índice de peróxidos, $K_{232}$ y $K_{270}$ a las diferentes temperaturas. ....	14
Tabla 3.-Valores de la energía de activación $E_a$ [ $\text{KJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ], constante preexponencial A [ $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ] y valor $Q_{10}$ para los parámetros de calidad para cada variedad de AOVE. ....	15
Tabla 4.-Tiempo de vida útil (h) requerido para alcanzar el valor límite para el grado de acidez, índice de peróxidos, $K_{232}$ y $K_{270}$ .....	17

## Índice de figuras

Figura 1. Principales países productores mundiales de aceite de oliva virgen en 2013. Fuente: FAOSTAT.....	5
Figura 2.- Efecto de la temperatura sobre el tiempo requerido para alcanzar el valor límite para el grado de acidez, índice de peróxidos, $K_{232}$ y $K_{270}$ para las diferentes variedades de aceites de oliva virgen .....	19

## Índice de Anexos

Anexo 1.-Controles de toma de muestra (h) para la diferentes variedades de aceite .....	23
Anexo 2.-Evolución de los índices de oxidación durante el periodo de conservación a 50 °C, 60 °C y 75 °C para el aceite de oliva virgen extra de la variedad Picual.....	24
Anexo 3.- Evolución de los índices de oxidación durante el periodo de conservación a 50 °C, 60 °C y 75 °C para el aceite de oliva virgen extra de la variedad Arbequina .....	25
Anexo 4.- Evolución de los índices de oxidación durante el periodo de conservación a 50 °C, 60 °C y 75 °C para el aceite de oliva virgen extra de la variedad Hojiblanca .....	26
Anexo 5.- Evolución de los índices de oxidación durante el periodo de conservación a 50 °C, 60 °C y 75 °C para el aceite de oliva virgen extra de la variedad Cornicabra.....	27
Anexo 6. Parámetros de regresión y ajuste al modelo hiperbólico de los parámetros de calidad considerados de la acidez libre. ....	28
Anexo 7. Parámetros de regresión y ajuste al modelo hiperbólico de los parámetros de calidad considerados de Índice de Peróxidos.....	28
Anexo 8. Parámetros de regresión y ajuste al modelo hiperbólico de los parámetros de calidad considerados de $K_{232}$ . ....	29
Anexo 9. Parámetros de regresión y ajuste al modelo hiperbólico de los parámetros de calidad considerados de $K_{270}$ . ....	29

## "CINÉTICA DE OXIDACIÓN DEL ACEITE DE OLIVA VIRGEN EXTRA DE DIFERENTES VARIEDADES MEDIANTE PRUEBAS ACELERADAS DE VIDA ÚTIL" / María Luisa Barrionuevo García

### Resumen

El objetivo de este estudio fue determinar el tiempo de vida útil de diferentes variedades de Aceite de Oliva Virgen Extra mediante pruebas aceleradas de vida útil. Muestras de aceites de oliva virgen extra de las variedades Picual, Arbequina, Hojiblanca y Cornicabra se conservaron en oscuridad a diferentes temperaturas (50 °C, 60 °C y 75 °C) durante 38 días para las variedades Picual y Arbequina, y durante 31 días para Hojiblanca y Cornicabra. Durante este tiempo se analizaron cuatro parámetros de calidad, Índice de Acidez, Índice de Peróxidos y espectrometría ultravioleta a longitudes de onda de 232nm y 270nm.

A partir del análisis estadístico de los resultados se observó que la evolución con respecto al tiempo de las variables de calidad estudiadas se ajusta a reacciones de orden pseudo-cero, considerándose el valor de  $K_{232}$  y el  $K_{270}$  como los mejores índices para evaluar la evolución de la oxidación y, por tanto, la vida útil. Se evidenció una dependencia entre la constante de velocidad ( $k$ ) y la temperatura de almacenamiento para todos los parámetros de calidad analizado, ajustándose mejor al modelo hiperbólico.

El tiempo requerido para superar el límite máximo permitido por la legislación europea para la categoría de aceite de oliva virgen extra se correlaciona con la temperatura de forma potencial, por lo que se pueden diseñar pruebas de vida útil a partir de las cuales se puede estimar la vida útil a las temperaturas habituales de almacenamiento.

### Abstract

The aim of this work was to determine the shelf-life of different varieties of Extra-Virgin Olive Oil by accelerated shelf-life test. Olive oils varieties Picual, Arbequina, Hojiblanca and Cornicabra samples were subjected to storage in darkness at different temperatures of 50°C, 60°C and 75°C during 38 days for Picual and Arbequina, and during 31 for Hojiblanca and Cornicabra. During this time four quality parameters were analyzed, which were acidity index, peroxide value and specific extinction coefficient at 232 nm and 270 nm.

From the statistical analysis of the results obtained, it was determined that the best linear adjustment to the quality parameters analyzed was a reaction kinetics of pseudo-zero-order. The dependence between the speed constant ( $k$ ) and the storage temperature was demonstrated for every quality parameter analyzed, with a better adjustment to the hyperbolic model. Finally, it was determined that the shelf-life of Extra-Virgin Olive Oil depend on the physico-chemical parameters that define its commercial quality.

The time required to reach the upper limits for PV,  $K_{232}$  and  $K_{270}$  established for the EVOO category in the current EU legislation correlated well with temperature using a potential equation, making it possible to set up an accelerated stability test at temperatures to estimate the potential shelf life under normal storage temperature conditions.

## Introducción

Aceite de Oliva Virgen es la máxima expresión de la calidad que puede obtener un Aceite de Oliva. Es el zumo natural de aceitunas que conservan intactas todas sus propiedades tanto sensoriales, nutricionales y sensoriales. Es el único aceite vegetal que se puede consumir crudo, sin necesidad de ser refinado, conservando íntegramente su contenido en vitaminas, ácidos grasos esenciales y otros productos naturales de gran importancia dietética.

El aceite de oliva virgen extra es el alimento principal de la dieta mediterránea, siendo además, protagonista de numerosos estudios en los que se ha demostrado los efectos saludables de su consumo habitual.

En España el cultivo del olivar trasciende de la vertiente exclusivamente agraria, llegando a ser el elemento decisivo en la conformación del entramado social, cultural y ambiental de un gran número de sus municipios.

El olivar ha condicionado el paisaje, la cultura y la forma de vida de gran número de municipios andaluces donde ha tenido lugar su cultivo de manera tradicional, lo que ha originado un patrimonio cultural, de interés artístico, ambiental, histórico, arqueológico, documental, científico y técnico.

Tiempo atrás, el aceite de oliva virgen extra era consumido principalmente en los países de la costa mediterránea, pero en los últimos años, debido a la globalización y a estudios que ensalzan sus beneficios, ha aumentado el consumo de aceite de oliva en numerosos países.

La producción de aceite de oliva se concentra en los países mediterráneos como España, Italia, Grecia, Túnez, Turquía, Siria, Marruecos y Argelia [1] [Figura 1]. Sólo en España se produjo 1.110.000 Tn de aceite de oliva en 2013. Por lo tanto, el aceite de oliva que se consume en países no mediterráneos procede principalmente de la importación desde estos países mediterráneos. Debido a esto, el sector del aceite de oliva necesita conocer muy bien los parámetros de calidad y estabilidad del aceite que produce, para aumentar su comercialización.

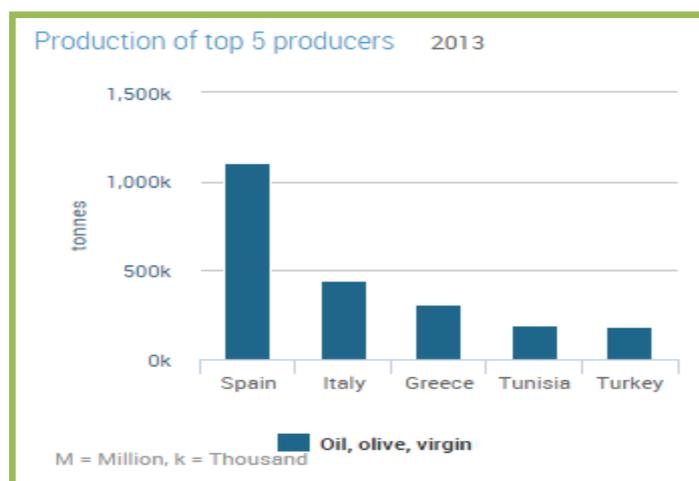


Figura 1. Principales países productores mundiales de aceite de oliva virgen en 2013.

Fuente: FAOSTAT.

El mejor envase para conservar un AOVE es el propio fruto de la aceituna, por lo que desde el mismo momento que se arranca de árbol, el aceite inicia un irremediable proceso de deterioro que supone una merma de calidad. Este deterioro se iniciará o intensificará en función de numerosos procesos de distinta naturaleza:

- Hidrolíticos, que conducen a la elevación del índice de acidez del aceite.
- Oxidativos, siendo especialmente influyente la exposición a la luz, por lo que la fase de conservación y el tipo de envase son claves. Responsable del aumento del índice de peróxidos,  $K_{232}$  y  $K_{270}$ .
- Fermentativos, por la presencia de partículas orgánicas en suspensión que faciliten los mismos, como puede ocurrir en aceites no filtrados.

El aceite no tiene fecha de caducidad, sin embargo la normativa actual obliga a señalar una fecha de consumo preferente en la etiqueta elegida a criterio del envasador que suele oscilar entre un año y medio y dos años desde la fecha de envasado en función de la variedad y calidad inicial del aceite [2] [3] [4].

Después de esa fecha de consumo preferente, un aceite de oliva se puede consumir con plena garantía, ya que no es un producto perecedero, lo que sí ocurre es que los atributos sensoriales y nutricionales se van modificando, disminuyendo la calidad y categoría del aceite.

### **Composición del aceite de oliva**

La composición del aceite de oliva es bastante compleja y dentro de esta se puede distinguir fundamentalmente dos grupos de compuestos: una fracción mayoritaria, llamada Saponificable, que representa entre 98 y 99 % del peso total, formada por una mezcla de triglicéridos (ésteres naturales de ácidos grasos y de glicerina) y ácidos grasos libres, dependientes del estado de deterioro de la aceituna o del aceite. Los ácidos grasos principales que forman los triglicéridos del aceite son el oleico (entre 55 y 83%), el palmítico, el linoleico, el esteárico y linolénico. En función de su estabilidad, la tasa relativa de autooxidación es de 1:12:25 para oleato, linoleato y linolenato respectivamente [5].

La fracción insaponificable, que representa entre 0,5 a 1,5% en peso, es muy importante para caracterizar a los aceites de oliva vírgenes dado que es la responsable del olor, color y sabor de los aceites, propiedades que desaparecen en buena medida en el proceso de refinación.

La fracción insaponificable comprende sustancias fundamentales como terpenos, esteroides, alcoholes, pigmentos (clorofila, carotenos), tocoferoles (predominantemente vitamina E) y polifenoles.

### **Calidad del aceite de oliva**

Definir la calidad del aceite de oliva es complicado ya que la calidad no es un valor absoluto, sobre todo cuando se trata de un alimento en el que entran criterios de composición fisicoquímica, características nutricionales y terapéuticas, características sensoriales, cualidades culinarias, etc. En el caso del aceite de oliva se puede decir que la máxima calidad es la que se obtiene cuando los frutos están maduros y sanos antes de su recolección.

La calidad del aceite de oliva se define por sus características comerciales, nutricionales y sensoriales [6] [7]. Esta calidad es la resultante de una serie de procesos y depende de la calidad inicial del aceite y de las condiciones de envasado y almacenamiento durante su vida útil. La calidad inicial del aceite, a su vez, depende de la calidad inicial de la materia prima y de sus condiciones de obtención y procesado.

El Reglamento de la Comunidad Económica Europea (CE) No 1989/2003 de la Comisión del 6 de noviembre de 2003[8], por el que se modifica el Reglamento (CE) No 2568/91 [9] relativo a las características de los aceites de oliva y de los aceites de orujo de oliva y sobre sus métodos de análisis, así como la normativa del Consejo Oleícola Internacional (COI) Res-4/75-IV/96 del 20 de noviembre de 1996[10], establece categorías comerciales para el aceite virgen de oliva y así diferenciar calidades, desde un punto de vista netamente comercial. Es así que tenemos aceites de oliva Virgen Extra, Virgen o Fino, Corriente y Lampante (a escala europea, la categoría Corriente queda incluida en Lampante, a partir de noviembre de 2003) [5-6].

Tabla 1.- Parámetros reglamentados de calidad según categoría para aceite de Oliva virgen.

		ACEITE DE OLIVA VIRGEN		
		Virgen Extra	Virgen	lampante
<b>Análisis químicos</b>	Acidez	≤ 0.8	≤ 2.0	>2.0
	Índice de Peróxidos	≤ 20	≤ 20	>20
	K <sub>232</sub>	≤ 2.50	≤ 2.60	-
	K <sub>270</sub>	≤ 0.22	≤ 0.25	-
	ΔK	≤ 0.01	≤ 0.01	-
<b>Análisis sensorial</b>	Mediana del defecto	0	≤2.5	>2.5 <sup>1</sup>
	Mediana del frutado	>0	>0	-

<sup>1</sup>O cuando la mediana de los defectos es inferior o igual a 2,5 y la mediana del atributo frutado es igual a 0.

### Determinación de la vida útil mediante el uso de herramientas predictivas.

La vida útil o caducidad de un alimento puede definirse como “el período de tiempo, después de la elaboración y/o envasado y bajo determinadas condiciones de almacenamiento en el que el alimento sigue siendo seguro y apropiado para su consumo”, es decir, durante ese tiempo debe conservar sus características fisicoquímicas microbiológicas y sensoriales, así como sus características nutricionales y funcionales [11] [12].

Según Dominic [8], todos los alimentos tienen una caducidad microbiológica, una caducidad química o fisicoquímica y una caducidad sensorial; la cual va a depender de cuatro factores

principales: la formulación, el procesado, el envasado, y las condiciones de almacenamiento. Sin embargo, si las condiciones posteriores de manipulación no son las adecuadas, entonces la vida útil de los mismos puede limitarse a un período menor al establecido. Los cuatro factores son críticos pero su importancia relativa depende de cuán perecedero es el alimento.

La estimación de la vida útil de un alimento es un requisito fundamental, y ésta debe figurar, salvo ciertas excepciones, en la etiqueta de los mismos. Es variada la metodología empleada para estimar la vida útil. Los métodos más empleados para determinar la vida útil de un alimentos son la determinación a tiempo real y la determinación rápida de la caducidad “Test de vida útil acelerado” (Accelerated Shelf Life Test, ASLT).

La determinación de la vida útil a tiempo real evalúa el efecto de la temperatura “normal” de conservación sobre las propiedades microbiológicas, físicoquímicas y sensoriales de un alimento durante un período de tiempo, entendiéndose como temperatura normal aquella que será empleada durante la conservación comercial del producto. Para la determinación de la vida útil de un alimento deberán considerarse las variables microbiológicas, físicoquímicas y sensoriales que mayor influencia tendrán sobre la calidad del producto [11].

La determinación mediante la pruebas de aceleración de la vida útil (ASLT), es la metodología más empleada hoy día para calcular la vida útil de un alimento no perecedero o estable. Esta técnica estudia el efecto de condiciones de exceso de temperatura, examinando el producto periódicamente hasta el fin de la vida útil. Los resultados obtenidos se usan para realizar predicciones mediante modelos matemáticos de la vida útil del producto bajo las verdaderas condiciones de almacenamiento [11].

## Objetivos

### Objetivo general

La estabilidad de las grasas y aceites comestibles es una de las características que más preocupa a los productores, ya que es uno de los principales criterios de calidad en estos productos y determina el tiempo durante el cual pueden tener el producto en el mercado. Para el sector oleícola la determinación de la vida útil del aceite de oliva virgen extra es de gran interés.

El objetivo general del presente estudio es el de estimar la vida útil de diferentes variedades de aceite de oliva virgen extra, en base a “Test de vida útil acelerado”. Para ello analizaremos cómo evolucionan los parámetros de calidad del aceite durante su conservación en condiciones de abuso de temperatura.

### Objetivos específicos

Los objetivos específicos del presente estudio son los siguientes:

- Caracterización de las diferentes variedades de aceites en función de los criterios de calidad recogidos en el Reglamento (CEE) 2568/91.
- Evaluar la cinética de deterioro de aceite de oliva de las variedades picual (P), arbequina (A), hojiblanca (H) y cornicabra (C) a temperatura de 50 °C, 60 °C y 75 °C. Determinar el orden de reacción y valor de la constante de velocidad (k) a las diferentes temperaturas.
- Establecer qué modelo matemático describe mejor la influencia de la temperatura sobre la constante de velocidad.
- Estimar la energía de activación ( $E_a$ ), constante preexponencial (A) y valor Q10 para los diferentes índices de oxidación para cada una de las variedades de aceites.
- Determinar el tiempo de vida útil de diferentes variedades de aceite de oliva virgen extra mediante pruebas aceleradas a diferentes temperaturas de almacenamiento y a diferentes niveles de calidad inicial del producto.

## **Material y métodos**

Para la realización de este estudio se han utilizado cuatro aceites de oliva virgen extra monovarietales (Picual, Arbequina, Hojiblanca y Cornicabra) que se adquirieron en una gran superficie comercial.

### **Pruebas de oxidación**

Se prepararon 20 alícuotas (20 ml, 18,2 g) de cada variedad de aceite de oliva virgen en botes abiertos de cristal ámbar (9 cm de altura y área expuesta al aire de 3,14 cm<sup>2</sup>) llenos hasta el borde y se conservaron en la oscuridad en estufas a temperatura de 50 °C, 60 °C y 75 °C.

A los tiempos indicados en el anexo 1, se retiraba de las estufas a 50 °C, 60 °C y 75 °C un bote de cada variedad de AOVE para proceder a su análisis.

Todos los análisis se realizaron por duplicado.

### **Parámetros analíticos**

Para la determinación del grado de acidez, índice de peróxidos y las pruebas espectrofotométricas en el ultravioleta ( $K_{232}$  y  $K_{270}$ ) se siguieron los métodos analíticos descritos en el *Reglamento (CEE) Nº 2568/91 de la Comisión de 11 de julio de 1991, relativo a las características de los aceites de oliva y de los aceites de orujo de oliva y sobre sus métodos de análisis*.

### **Determinación del grado de acidez**

El método consiste en la disolución de la muestra en una mezcla de disolventes (éter dietílico y etanol en proporción 1:1) y valoración de los ácidos grasos libres mediante una solución etanólica de hidróxido potásico. La acidez se expresa en porcentaje de ácido oleico.

### **Determinación del Índice de Peróxidos**

El índice de peróxidos es la cantidad (expresada en miliequivalentes de oxígeno activo por kg de aceite) de peróxidos en la muestra que ocasionan la oxidación del yoduro potásico en las condiciones de trabajo descritas.

La muestra problema, disuelta en ácido acético y cloroformo en proporción 2:3, se trata con solución de yoduro potásico. El yodo liberado se valora con una solución de tiosulfato sódico.

### **Prueba espectrofotométrica en el ultravioleta**

La prueba espectrofotométrica en el ultravioleta proporciona indicaciones sobre la calidad de un aceite, su estado de conservación y las modificaciones inducidas por los procesos tecnológicos. Las absorciones en las longitudes de onda 232 y 270 indicadas en el método se deben a la presencia de sistemas diénicos y triénicos. Los valores de estas absorciones se expresan en extinción específica  $E_{1cm1\%}$  (extinción de una solución de la materia grasa al 1 % en el isoctano como disolvente, en un espesor de 1 cm) que se expresará convencionalmente como K, también denominado coeficiente de extinción. Los resultados deben expresarse con dos cifras decimales. Se determinan aplicando las siguientes fórmulas:

$$K_{\lambda} = \frac{E_{\lambda}}{c \cdot e}$$

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

### **Análisis estadístico y tratamiento experimental de los datos**

Según Labuza y Schmidl (1985), para establecer el orden de deterioro hidrolítico y oxidativo del aceite de oliva de las diferentes variedades, se graficaron los valores del grado de acidez, índice de peróxido y los coeficientes del ultravioleta  $K_{232}$  y  $K_{270}$  obtenidos a las diferentes temperaturas de almacenamiento por cada una de las variedades.

Para cada una de las gráficas, mediante regresión lineal se obtuvieron los modelos matemáticos que mejor se ajustaban según el valor del coeficiente de determinación ( $r^2$ ) para la determinación del orden de reacción. Seleccionado el orden de cada reacción (acidez libre, índice de peróxidos,  $K_{232}$  y  $K_{270}$ ) a cada temperatura (50 °C, 60 °C y 75 °C), se calcularon los valores de las constantes de velocidad (k) mediante el cálculo de la pendiente de cada gráfica.

Con el fin de establecer qué modelos matemáticos describen mejor la influencia de la temperatura sobre la constante de velocidad de reacción (k), se probaron los siguientes modelos matemáticos Arrhenius, Lineal, Exponencial e Hiperbólico. Los modelos fueron linealizados, para así establecer el modelo matemático de mejor ajuste (modelo que presente mayor coeficiente de correlación ( $r^2$ )), a partir del cual se dedujo la energía de activación ( $E_a$ ) y, por interpolación, la constante de velocidad (k) a temperatura ambiente (25 °C).

El tiempo de vida útil se calculó de acuerdo al orden de reacción, al máximo valor permitido para cada uno de los criterios de calidad establecidos por el Reglamento de la Comunidad Económica Europea (CE) No 1989/2003 de la Comisión del 6 de noviembre de 2003[4] y a la constante de reacción, para cada una de las temperaturas de ensayo.

La cinética del proceso de oxidación se ajusta a una reacción de orden-pseudo-cero, donde la velocidad de reacción no depende de la concentración y que se corresponde con la expresión:

$$C = C_0 + k t \quad (1)$$

Donde C y  $C_0$  son respectivamente los valores en la muestra control y valor máximo que puede alcanzar la acidez libre, el índice de peróxidos,  $K_{232}$  y  $K_{270}$  según [4]. K es la constante de velocidad de reacción a la temperatura dada y t (h) el tiempo de vida útil.

Los datos estadísticos se analizaron mediante el programa Microsoft Excel 2007.

## Resultados y Discusión

### Caracterización físico-química de las variedades Picual (P), Arbequina (A), Hojiblanca (H) y Cornicabra (C) de aceite de oliva virgen extra.

Los resultados de los análisis físico-químicos realizados para la caracterización inicial de las diferentes variedades de aceite de oliva virgen se muestran en el Tabla 1.

**Tabla 1.**-Características físico-químicas del aceite de oliva virgen extra

	Picual	Arbequina	Hojiblanca	Cornicabra
Acidez	0,28	0,29	0,21	0,37
IP (meq de O <sub>2</sub> /kg	6,00	7,00	9,50	14,00
K <sub>232</sub>	1,87	1,90	1,96	2,20
K <sub>270</sub>	0,15	0,11	0,08	0,18

Los niveles de acidez encontrados fueron bajos para las variedades picual (P), arbequina (A) y hojiblanca (H), y ligeramente superiores para la variedad cornicabra (C). Los valores de índices de peróxidos oscilaron entre los 6 miliequivalentes/Kg para la variedad picual (P) y 14 miliequivalentes/Kg para la variedad cornicabra (C). Todos están dentro de los valores máximos permitidos por el Reglamento de la Comunidad Económica Europea (CE) No 1989/2003 para esta categoría de aceite.

Los valores de K<sub>232</sub> oscilaron 1,87 entre el valor más bajo presentado por la variedad Picual y el más elevado de 2,20 para la variedad Arbequina, valor muy próximo al valor máximo permitido por ley para esta categoría de aceite que es de 2,50. Los valores de K<sub>270</sub> para las cuatro variedades fueron < 0,20 valor máximo permitido para los AOVE.

La diferente composición en ácidos grasos de las cuatro variedades, las diferencias entre tipo y concentración de polifenoles, junto con el tiempo transcurrido desde su obtención son las posibles causas de la variabilidad encontrada en los valores iniciales de los parámetros indicadores de oxidación (tabla 1).

El aceite de oliva virgen extra de la variedad Picual se caracteriza por ser un aceite con elevado contenido en polifenoles, lo que hace de él un aceite muy estable térmicamente, y por ello con mayor vida útil [7]. El aceite de oliva virgen extra de la variedad Cornicabra también es un aceite bastante estable a la oxidación pero en este caso su estabilidad se debe a su alto contenido en ácidos grasos monoinsaturados [14].

Los aceites de oliva virgen extra de las variedades Arbequina y Hojiblanca, son aceites poco resistentes frente a la oxidación y menos estables térmicamente, por lo que habría que mantenerlos en lugares frescos y oscuros para garantizar que llegan en adecuadas condiciones hasta el final de su vida útil [15].

## Parámetros cinéticos

En los gráficos mostrados en los anexos 2, 3, 4, 5 se puede observar la evolución del grado de acidez, índice de peróxidos,  $K_{232}$  y  $K_{270}$  a las diferentes temperaturas y para cada una de las variedades de aceites.

El Reglamento Europeo [5] y las posteriores modificaciones marcan como valores máximos permitidos para grado de acidez, índice de peróxidos,  $K_{232}$  y  $K_{270}$  valores de 0,8 % de oleico, 20 miliequivalentes de  $O_2/Kg$ , 2,50 y 0,22 respectivamente.

El valor máximo para el grado de acidez no se alcanzó a ninguna de las temperaturas en las variedades Picual y Arbequina, sin embargo, sí se superaron para las variedades Hojiblanca y Cornicabra a las 456 horas de conservación a 75 °C.

A 75 °C, el valor máximo de 20 miliequivalentes de  $O_2/Kg$  se alcanzó a las 96 h para las variedades Arbequina y Cornicabra, mientras que este valor no se alcanzó hasta las 192 h en las variedades Picual y Hojiblanca. A 60 °C, el límite máximo se superó a las 168 h en las variedades Arbequina, Cornicabra y Hojiblanca, y a las 336 h en la variedad Picual. A 50 °C la variedad Picual fue la más resistente alcanzando el valor límite en el último control realizado mientras que las demás variedades lo alcanzaron en los controles realizados entre las 288 y 336 h.

Todas las muestras durante el estudio, superaron el valor límite para  $K_{232}$ , sin embargo, hay diferencia en el momento en el que se alcanza. La variedad Picual alcanza su valor máximo en el control realizado a las 144 h de almacenamiento a 50 °C mientras que las demás variedades lo alcanzan en la mitad de tiempo. Cuando la temperatura de almacenamiento es 10 grados superior dicho valor se alcanza a las 120 h para variedad Picual y, sin embargo, a las 24 h de iniciadas las pruebas ya se superaba el valor límite en las demás variedades. A 75 °C igualmente la variedad Picual fue la más resistente superando el valor límite de 2,50 a las 96 h mientras que las demás variedades lo alcanzan entre las 10 y 24 h.

Respecto al incremento de los valores de oxidación secundaria cuantificada en el valor de  $K_{270}$ , cuyo valor límite permitido para la categoría de AOVE es de 0,22, se observaron comportamientos muy variados en función de la variedad de aceite. De tal modo que las muestras de aceite de la variedad Picual no superaron dicho límite en el ensayo a temperaturas de 50°C y 60 °C. Sin embargo, dicho valor límite se superó por los aceites de las variedades Cornicabra y Hojiblanca en todos los ensayos. A 50 °C en los controles a los 72 y 144 h respectivamente mientras que a 60 °C y 75 °C a las 10 h ya se había superado el valor límite.

Al representar gráficamente los valores obtenidos para grado de acidez, índice de peróxidos,  $K_{232}$  y  $K_{270}$  para las muestras de las cuatro variedades de aceite a las temperaturas ensayadas, se observó que la evolución con respecto al tiempo se ajusta a reacciones de orden pseudo-cero. [10][11][12], han aportado similares resultados con la excepción del orden de reacción para los productos resultantes de la oxidación secundaria ( $K_{270}$ ) cuya cinética parece ajustarse mejor a una reacción de orden uno.

A partir de las graficas de los anexos 2, 3, 4, 5 se obtienen los valores de las constantes de velocidad (k) y los coeficientes de regresión para los diferentes parámetros de oxidación que se muestran en la tabla 2.

**Tabla 2.**-Valor de la constante de oxidación (k) y del coeficiente de regresión ( $r^2$ ) para la acidez, índice de peróxidos,  $K_{232}$  y  $K_{270}$  a las diferentes temperaturas.

	PICUAL		ARBEQUINA		HOJIBLANCA		CORNICABRA	
Acidez	k ( $\times 10^{-1}$ )	$r^2$						
50 °C	$9,38 \cdot 10^{-4}$	0,951	$1,45 \cdot 10^{-3}$	0,816	$2,62 \cdot 10^{-2}$	0,940	$3,14 \cdot 10^{-3}$	0,933
60 °C	$8,79 \cdot 10^{-4}$	0,872	$1,57 \cdot 10^{-3}$	0,854	$2,69 \cdot 10^{-2}$	0,950	$3,23 \cdot 10^{-2}$	0,949
75°C	$1,95 \cdot 10^{-2}$	0,871	$1,03 \cdot 10^{-2}$	0,958	$4,27 \cdot 10^{-2}$	0,920	$4,65 \cdot 10^{-2}$	0,951
<b>IP</b>								
50°C	$1,76 \cdot 10^{-1}$	0,992	$2,45 \cdot 10^{-1}$	0,949	$2,69 \cdot 10^{-1}$	0,869	$1,88 \cdot 10^{-1}$	0,825
60°C	$2,63 \cdot 10^{-1}$	0,975	$7,86 \cdot 10^{-1}$	0,909	$5,93 \cdot 10^{-1}$	0,829	$4,26 \cdot 10^{-1}$	0,951
75°C	$6,92 \cdot 10^{-1}$	0,834	$9,47 \cdot 10^{-1}$	0,944	$6,94 \cdot 10^{-1}$	0,891	$7,41 \cdot 10^{-1}$	0,800
<b><math>K_{232}</math></b>								
50°C	$1,93 \cdot 10^{-2}$	0,932	$2,32 \cdot 10^{-2}$	0,945	$3,26 \cdot 10^{-2}$	0,724	$3,40 \cdot 10^{-2}$	0,798
60°C	$3,00 \cdot 10^{-2}$	0,964	$2,60 \cdot 10^{-2}$	0,763	$2,55 \cdot 10^{-2}$	0,740	$2,60 \cdot 10^{-2}$	0,611
75°C	$3,98 \cdot 10^{-2}$	0,978	$2,50 \cdot 10^{-2}$	0,821	$3,35 \cdot 10^{-2}$	0,683	$3,30 \cdot 10^{-2}$	0,675
<b><math>K_{270}</math></b>								
50°C	$1,42 \cdot 10^{-3}$	0,834	$2,00 \cdot 10^{-3}$	0,632	$2,61 \cdot 10^{-3}$	0,730	$3,00 \cdot 10^{-3}$	0,786
60°C	$2,09 \cdot 10^{-3}$	0,862	$4,00 \cdot 10^{-3}$	0,861	$2,30 \cdot 10^{-3}$	0,837	$5,00 \cdot 10^{-3}$	0,990
75°C	$8,09 \cdot 10^{-3}$	0,814	$1,70 \cdot 10^{-2}$	0,963	$1,34 \cdot 10^{-2}$	0,947	$3,60 \cdot 10^{-2}$	0,962

Se observan bajos valores de la constante de velocidad para la oxidación hidrolítica (grado de acidez) pero dependientes de la variedad del AOVE y que determina el momento en el que se supera el límite legal (0,8 % de oleico) para perder esa categoría comercial. La variedad Picual presentó con diferencia los valores de k más bajos a todas las temperaturas oscilando entre  $9,38 \cdot 10^{-5}$  y  $1,95 \cdot 10^{-3}$  a temperaturas de 50°C y 75 °C respectivamente. Debido a estos bajos valores de la constante de velocidad (k), no se alcanza para ninguna de las temperaturas el valor límite legal, conservando según este criterio la categoría de AOVE. Similar evolución

experimentan las muestras de la variedad Arbequina pero con valores superiores dado que los valores de las constantes son más elevados.

Se evidencia un aumento en el valor de la  $k$  de velocidad a medida que se incrementó la temperatura de ensayo. Sin embargo, el mejor ajuste se obtuvo para los valores de grado de acidez, índice de peróxidos y para  $K_{232}$  y  $K_{270}$  de las variedades Arbequina y Picual en comparación con los mostrados por las variedades Hojiblanca y Cornicabra; ya que estas últimas presentaron contenidos superiores de compuestos indicadores de oxidación incipiente.[19]

En base a la ecuación de Arrhenius,  $\ln k = \ln A + E_a/RT$ , donde  $A$  [ $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ ] es la constante preexponencial,  $E_a$  [ $\text{KJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ] es la energía de activación,  $R$  [ $\text{KJ}\cdot\text{K}^{-1}\text{mol}^{-1}$ ] es la constante de los gases y  $T$ [K] es la temperatura absoluta. De la pendiente de la gráfica obtenida se calculó la energía de activación sabiendo que dicha pendiente se calculó como:  $m = -E_a/R$ . y la ordenada el valor de la constante preexponencial datos mostrados en la tabla 3.

**Tabla 3.-**Valores de la energía de activación  $E_a$  [ $\text{KJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ], constante preexponencial  $A$  [ $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ] y valor  $Q_{10}$  para los parámetros de calidad para cada variedad de AOVE.

Parámetros de Calidad	Variedad de AOVE	$E_a$ [ $\text{KJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ]	$A$ [ $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ]	$Q_{10}$
<b>Acidez</b>	Picual	118,783	$1,54\cdot 10^{13}$	3,60
	Arbequina	48,092	$2,39\cdot 10^8$	2,27
	Hojiblanca	18,854	$0,17\cdot 10$	1,22
	Cornicabra	15,189	$0,33\cdot 10$	1,18
<b>Índice de peróxidos</b>	Picual	51,836	$4,02\cdot 10^6$	1,74
	Arbequina	48,092	$1,87\cdot 10^6$	1,66
	Hojiblanca	33,750	$9,045\cdot 10^3$	1,43
	Cornicabra	50,256	$2,78\cdot 10^6$	1,71
<b><math>k_{232}</math></b>	Picual	26,481	$3,95\cdot 10^1$	1,26
	Arbequina	24,57	$1,67\cdot 10^2$	1,03
	Hojiblanca	28,69	$1,56\cdot 10^2$	1,02
	Cornicabra	80,01	$4,87\cdot 10^2$	1,00
<b><math>k_{270}</math></b>	Picual	66,390	$6,9\cdot 10^6$	2,04
	Arbequina	80,775	$2,17\cdot 10^9$	2,38
	Hojiblanca	64,402	$5,03\cdot 10^6$	2,00
	Cornicabra	94,983	$5,70\cdot 10^{11}$	2,77

Los valores de la Energía de activación ( $E_a$ ) para el índice de peróxidos (IP),  $K_{232}$  y  $K_{270}$  de este estudio están en consonancia con datos aportados con anterioridad para la oxidación de lípidos, donde el valor de la  $E_a$  oscila entre valores comprendidos entre 24-240 KJ/mol [20][21][22].

Del mismo modo, conociendo la constante de velocidad ( $k$ ) a dos o tres temperaturas elevadas, se puede extrapolar a una temperatura menor y predecir la constante de velocidad a la temperatura menor deseada.

Con la finalidad de establecer qué modelo matemático describe mejor la influencia de la temperatura sobre la constante de velocidad de las diferentes reacciones oxidativas se probaron los modelos Arrhenius, Lineal, Exponencial e Hiperbólico. La mayoría de las reacciones se ajustaron mejor a un modelo hiperbólico, modelo que seleccionamos para la determinación del valor de la constante de velocidad a 25 °C. En los anexos 6, 7, 8 y 9 se recogen los parámetros de regresión y ajuste al modelo hiperbólico para el gado de acidez, índice de peróxidos,  $K_{232}$  y  $K_{270}$  para las diferentes variedades de AOVE.

Aunque el aceite de oliva virgen puede consumirse durante años después de su extracción sin riesgo para la salud, sin embargo, tanto sus características sensoriales como nutricionales se ven significativamente afectadas por la oxidación y ésta, es la principal causa de su pérdida de calidad. Por tanto, desde el punto de vista comercial y económico es de gran importancia poder predecir la estabilidad o vida útil.

Elegido el modelo hiperbólico se determinó por extrapolación, el valor de la constante de velocidad ( $k$ ) para la temperatura de almacenamiento en condiciones ambientales (25 °C) El valor de  $k$  a 25 °C fue reemplazado en la ecuación 1 para la determinación del tiempo de vida útil. Igual procedimiento se sigue para la determinación de la vida útil a la temperatura de 50 °C, 60 °C y 75 °C. Los datos obtenidos se recogen en la tabla 4.

Para estimar la vida útil potencial con pruebas aceleradas de vida útil y a partir de los resultados obtenidos en este estudio y anteriores [10] se recomienda que el  $K_{232}$  y el  $K_{270}$  como los mejores índices para evaluar la evolución de la oxidación debido a (1) son buenos indicadores de productos de oxidación primaria y secundaria, (2) presentan una gran linealidad en su evolución haciendo posible calcular fácilmente el grado de oxidación y a partir de éste, el tiempo de vida útil, (3) se ha observado en estudios previos realizados por otros autores [10] que el  $K_{232}$  se correlacionan significativamente con la pérdida de ácidos grasos insaturado y finalmente (4) son parámetros de fácil determinación.

Sin embargo, el grado de acidez no se considera un buen índice para estimar la vida útil ya que se necesitan estudios muy largos para que las muestras superen el valor límite que le haría perder su categoría comercial.

Respecto al índice de peróxidos, los hidroperóxidos son compuestos intermediarios muy inestables que, a medida que se forman, se van transformando en compuestos más estables, por tanto los valores obtenidos pueden ser muy variables en función de la estabilidad y grado de oxidación del aceite.

**Tabla 4.**-Tiempo de vida útil (h) requerido para alcanzar el valor límite para el grado de acidez, índice de peróxidos,  $K_{232}$  y  $K_{270}$ .

Parámetros de Calidad	Temperatura	Picual	Arbequina	Hojiblanca	Cornicabra
<b>Índice de Peróxidos</b>	25 °C	1361	1120	348	197
	50 °C	787	571	225	137
	60 °C	532	178	219	133
	75 °C	202	148	138	93
<b>Acidez</b>	25 °C	14606	7633	684	572
	50 °C	5545	3500	390	319
	60 °C	5917	3242	177	141
	75 °C	267	493	151	81
<b><math>K_{232}</math></b>	25 °C	469	167	195	232
	50 °C	326	165	166	206
	60 °C	210	158	212	269
	75 °C	158	160	161	212
<b><math>K_{270}</math></b>	25 °C	902	632	314	253
	50 °C	493	350	153	133
	60 °C	335	175	174	80
	75 °C	87	41	30	11

En los datos de vida útil media recogidos en la tabla 4 se puede observar que éste es diferente según el criterio de calidad que empleemos para su determinación con independencia de la variedad del aceite considerado.

Con independencia del criterio utilizado, la variedad Picual y Arbequina son las que presentaron mayor tiempo de vida útil. Estos datos son consistente con los valores físico-químicos iniciales y por la inherente estabilidad oxidativa de cada variedad de AOVE.

Dado que la oxidación hidrolítica responsable de la elevación de la acidez de los aceites se ve menos afectada por la temperatura, lo que se evidencia por presentar menores valores de la constante de velocidad (k) respecto a los demás parámetros indicadores de oxidación, los valores de vida útil que podemos estimar a partir de este criterio son mayores.

El aceite de la variedad Picual es el aceite con un tiempo de vida útil mayor. Según la acidez libre el tiempo de vida útil de este aceite a 25 °C sería de 14606 horas ó 20 meses. Sin embargo, si atendemos al índice de peróxidos, su vida útil a 25°C sería de 1361 horas, lo que corresponde a aproximadamente 2 meses. Si atendiéramos a la espectrofotometría-UV,  $K_{232}$  y  $K_{270}$ , obtendríamos 469 y 902 horas, 19 y 37 días respectivamente, manteniéndolo a 25 °C.

Estos datos se corresponden con estudios realizados anteriormente [7] que indican que el aceite de oliva de variedad Picual es muy estable térmicamente debido a su contenido en polifenoles.

La variedad Arbequina tiene una estabilidad térmica intermedia si la comparamos con el resto de variedades, atendiendo al índice de acidez su vida comercial sería de 10 meses a una temperatura de almacenamiento de 25 °C, 45 días según el índice de peróxidos. Según los valores de  $K_{232}$  y  $K_{270}$ , la vida útil estimada se reduciría a 7 y 26 días.

La variedad Hojiblanca y la variedad Cornicabra, tendrían una vida útil muy similar de 28 y 24 días respectivamente si consideramos la evolución de la acidez durante su almacenamiento y de 14 y 8 días según la evolución del índice de peróxidos. Estas dos variedades de AOVE presentaron en los controles iniciales los valores mayores de índice de peróxidos y  $K_{232}$ .

Los tiempos de vida útil encontrados en nuestro estudio para AOVE de la variedad Cornicabra son más bajos que los encontrados por [10], encontrando similitud con los aportados [11] para AOVE de la misma variedad al cual se le eliminó por cromatografía de adsorción todos los componentes pro y antioxidantes.

La relación entre la temperatura y el tiempo requerido para superar el límite legal para un determinado parámetro se ajusta a una ecuación potencial [16][17] y no a una exponencial como habían sugerido otros autores para el aceite de oliva [23].

Donde  $t = a \cdot T^b$  donde  $t$  es el tiempo en horas,  $T$  (°C),  $a$  y  $b$  son respectivamente la constante de regresión y el coeficiente. Para linealizar la gráfica tomamos logaritmos neperianos y obtenemos una expresión del tipo  $\ln t = \ln a + b \ln T$ . Dichas gráficas se muestran a continuación (Fig 1).

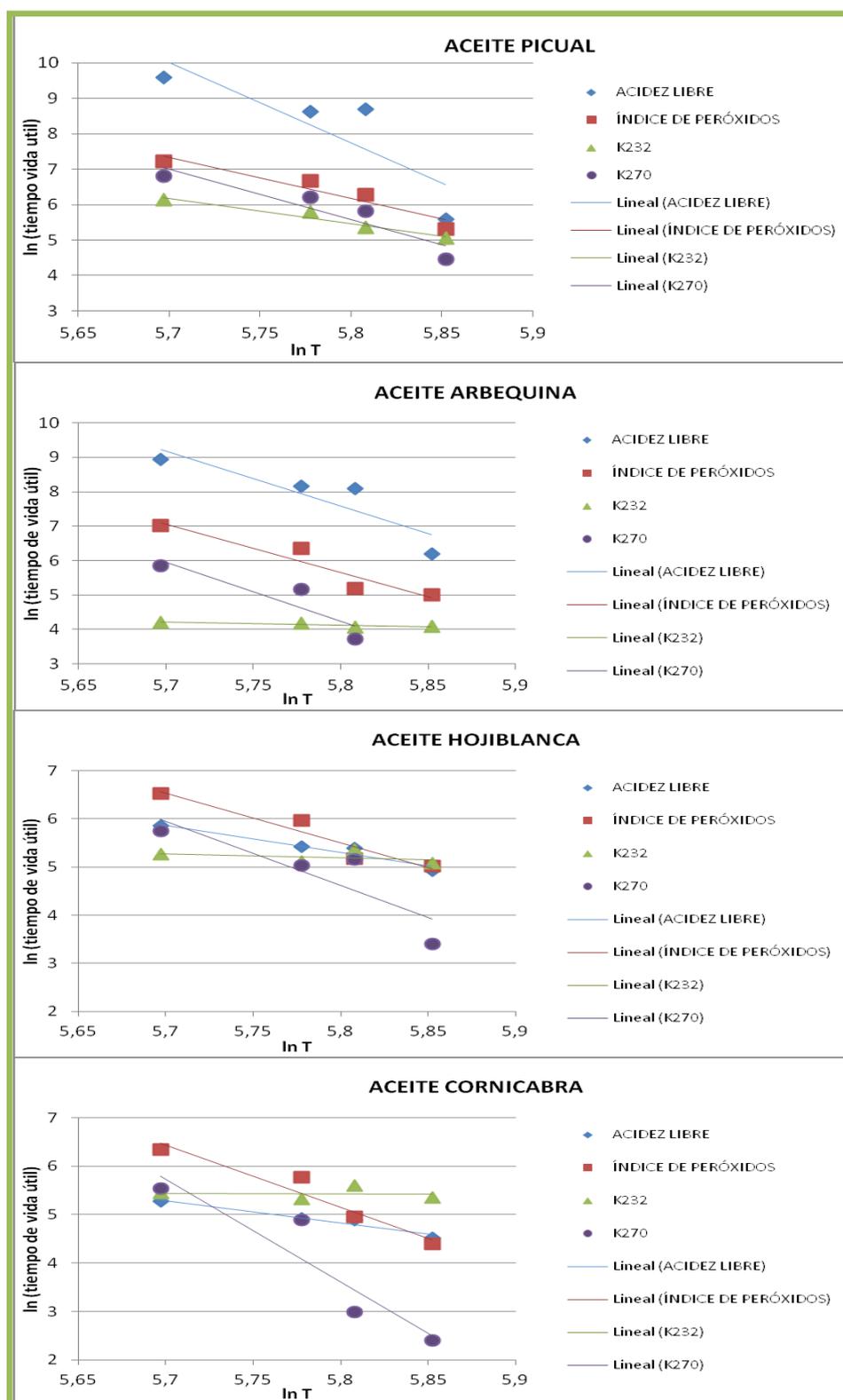


Figura 2.- Efecto de la temperatura sobre el tiempo requerido para alcanzar el valor límite para el grado de acidez, índice de peróxidos,  $K_{232}$  y  $K_{270}$  para las diferentes variedades de aceites de oliva virgen

A partir de la pendiente de cada una de las líneas de tendencia podemos calcular el valor del factor  $Q_{10}$  ya que  $b = \ln Q_{10}/10$ . Los datos para cada reacción aparecen recogidos en la tabla 3.

Los factores  $Q_{10}$  obtenido de forma experimental para cada factor indicador de oxidación fueron muy similares entre las diferentes variedades de aceites. Con valores medios de  $(1,64 \pm 0,14)$  para el índice de peróxidos,  $(1,08 \pm 0,12)$  y  $(2,30 \pm 0,36)$  para  $K_{232}$  y  $K_{270}$  respectivamente.

## Conclusiones

1. El mejor ajuste lineal para las variables de calidad estudiadas (Índice de Acidez y el Índice de Peróxido  $K_{232}$  y  $K_{270}$ ), se observó para una cinética de reacción de orden pseudo-cero.
2. La vida útil del aceite de oliva virgen extra va a depender de su composición, tanto de su fracción saponificable como insaponificable, y de los parámetros físico-químicos que definen su calidad comercial.
3. Se evidenció una dependencia entre la constante de velocidad ( $k$ ) y la temperatura para todos los parámetros de calidad, de los cuatro modelos propuestos dicha influencia se ajustó mejor al modelo Hiperbólico.
4. La estabilidad oxidativa de los aceites de oliva virgen va a depender de su composición inherente a la variedad de la aceituna pero también de sus estado oxidativo en el momento de ser envasada.
5. El aceite de oliva virgen extra de la variedad Picual es el más estable, presentando mayores valores de vida útil con independencia del criterio de deterioro elegido para estimarla.
6. Para estimar la vida útil potencial con pruebas aceleradas de vida útil se consideran el valor de  $K_{232}$  y el  $K_{270}$  como los mejores índice para evaluar la evolución de la oxidación.
7. El tiempo requerido para superar el límite máximo permitido por la legislación europea para la categoría de aceite de oliva virgen extra se correlaciona con la temperatura de forma potencial, por lo que se pueden diseñar pruebas de vida útil a partir de las cuales se puede estimar la vida útil a las temperaturas habituales de almacenamiento.

## Propuestas

A la luz de los resultados y conclusiones obtenidas se debería realizar un estudio de vida útil en tiempo real para confirmar los tiempos de vida útil calculados a partir de las pruebas aceleradas.

## Agradecimientos

Quiero agradecer la realización de mi trabajo de fin de Máster a mi tutora, Montse, porque sin su dedicación y apoyo no lo habría podido terminar. También quiero agradecerlo a mi madre, María Luisa, ya que siempre me animó a dedicarle el tiempo necesario.

## Bibliografía

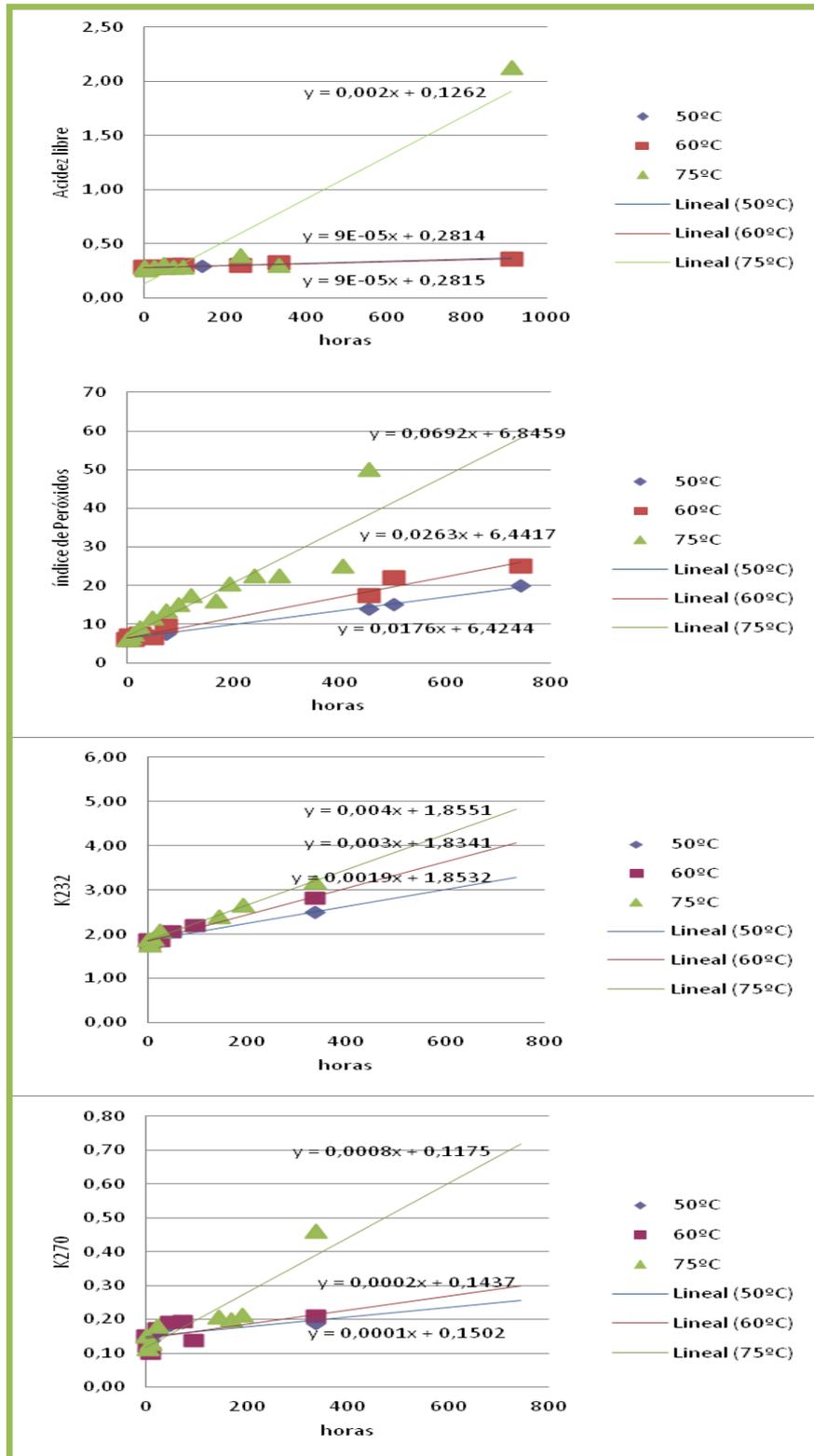
- [1] FAO/STAT, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Statistics Division.
- [2] Reglamento (CEE) nº 2568/91 del 11 de julio de 1991, relativo a las características de los aceites de oliva y de los aceites de orujo de oliva y sobre sus métodos de análisis.
- [3] Reglamento de ejecución (UE) nº 1348/2013 de 16 de diciembre de 2013 que modifica al Reglamento nº 2568/91.
- [4] COI 2013. Norma comercial aplicable a los aceites de oliva y los aceites de orujo de oliva. Consejo Oleícola Internacional, COI/T.15/NC nº3/Rev.7.
- [5] Beltran, G., Rio, CD., Sanchez, S., Martinez, L. (2004). Influence of harvest data and crop yield on fatty acid composition of virgin olive oils from cv. picual". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**: 3434-3440.
- [6] Duran, R. M. (1990). Relationship between composition and ripening of the olive and the quality of the oil. *Acta Horticulturae*, **286** : 441-451.
- [7] Gutiérrez, M., Jiménez, B., Ruiz, A. and Albi, A. (1999). Effect of Olive Ripeness on the Oxidative Stability of Virgin Olive Oil Extracted from the Varieties Picual and Hojiblanca and on the different Components Involved. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47** (1): 121-127.
- [8] Reglamento CEE 1989/2003 de la Comisión de 6 de noviembre de 2003 que modifica el Reglamento (CEE) 2568/91, relativo a las características de los aceites de oliva y de los aceites de orujo de oliva y sobre sus métodos de análisis.
- [9] Reglamento CEE nº 2568/91 de la Comisión, de 11 de julio de 1991, relativo a las características de los aceites de oliva y de los aceites de orujo de oliva y sobre sus métodos de análisis; y sus posteriores modificaciones.
- [10] Consejo Oleícola Internacional (COI). Resolución RES-4/75-IV/96 del 20 de noviembre de 1996.
- [11] Cabeza, E. (2008). Aplicación de la Microbiología Predictiva en la determinación de la vida útil de los alimentos. Departamento de Microbiología. Universidad de Pamplona. Pamplona, Colombia. 22 p.
- [12] Salinas-Hernández, R., et al. (2007). Modelación del deterioro de productos Vegetales frescos cortados. *Universidad y Ciencia* 23 (2): 183-196.
- [13] Dominic Man. (2004) .Caducidad de los Alimentos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España.
- [14] Salvador, M.D. , Aranda, F., Gómez-Alonso, S., Fregapane, G. (2001). Cornicabra virgin olive oil: a study of five crop seasons. Composition, quality and oxidative stability. *Food Chemistry*, **74**: 267-274.
- [15] Morelló, J.R., Motilva, M. J., Tovar M. J. and Romero M. P. (2004). Changes in commercial virgin olive oil (cv Arbequina) during storage, with special emphasis on the phenolic fraction. *Food Chemistry*, **85**: 357-364.
- [16] Mancebo-Campos, V., Fregapane, G. & Salvador, M.D. (2008). Kinetic study for the development of an accelerated oxidative stability test to estimate virgin olive oil potential shelf life. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **110**: 969-976.
- [17] Gómez-Alonso S, Mancebo-Campos V, Salvador MD, Fregapane G. (2004). Oxidation kinetics in olive oil triacylglycerols under accelerated shelf-life testing (25-75°C). *European Journal of Lipid Science and Technology*, **106**(6): 369-375.

- [18] Calligaris, S., Sovrano, S., Manzocco, L., Nicoli, M. C. (2006). Influence of crystallization on the oxidative stability of extra virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**: 529–535.
- [19] Labuza, T., Schmidl, M. (1985). Accelerated shelf life testing of foods. *Food Technology*, **39**(9):57-62.
- [20] Frankel, E. N. (1993). Formation of headspace volatiles by thermal decomposition of oxidized fish oil vs. oxidized vegetable oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **70**: 767–776.
- [21] Frankel, E.N. (1998). *Lipid Oxidation*. Ed. E.N. Frankel, The Oily Press, Dundee (UK), pp 99–114.
- [22] Tan, C. P., Che Man, Y. B., Selemat, J., Yusoff, M. S. A. (2001). Application of Arrhenius kinetics to evaluate oxidative stability in vegetable oils by isothermal differential scanning calorimetry. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **78**: 1133–1137.
- [23] Kaya, A., Tekin, A. R., Öner, M. D. (1993). Oxidative stability of sunflower and olive oils: Comparison between a modified active oxygen method and long term storage. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, **26**: 464–468.

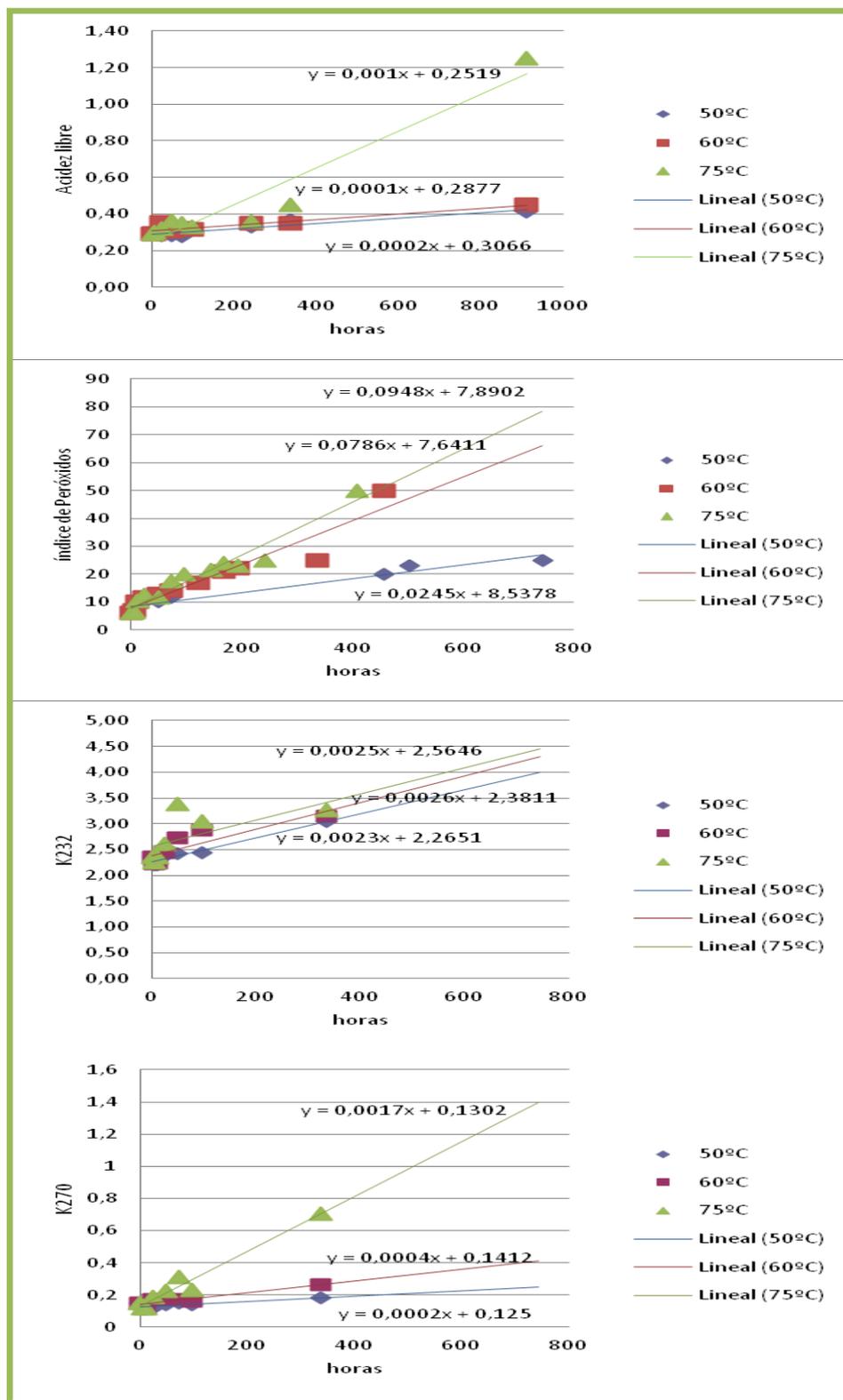
**Anexos****Anexo 1.-Controles de toma de muestra (h) para la diferentes variedades de aceite**

Toma de muestra	Tiempo en horas (h)	PICUAL	ARBEQUINA	HOJIBLANCA	CORNICABRA
<b>CONTROL</b>	0	X	X	X	X
<b>1</b>	5	X	X		
<b>2</b>	10	X	X		
<b>3</b>	24	X	X		
<b>4</b>	48	X	X	X	X
<b>5</b>	72	X	X	X	X
<b>6</b>	96	X	X	X	X
<b>7</b>	120	X	X	X	X
<b>8</b>	144	X	X		
<b>9</b>	168	X	X	X	X
<b>10</b>	192	X	X		
<b>11</b>	240	X	X	X	X
<b>12</b>	288	X	X	X	X
<b>13</b>	336	X	X	X	X
<b>14</b>	408	X	X		
<b>15</b>	456	X	X	X	X
<b>16</b>	504	X	X		
<b>17</b>	744	X	X		
<b>18</b>	912	X	X		

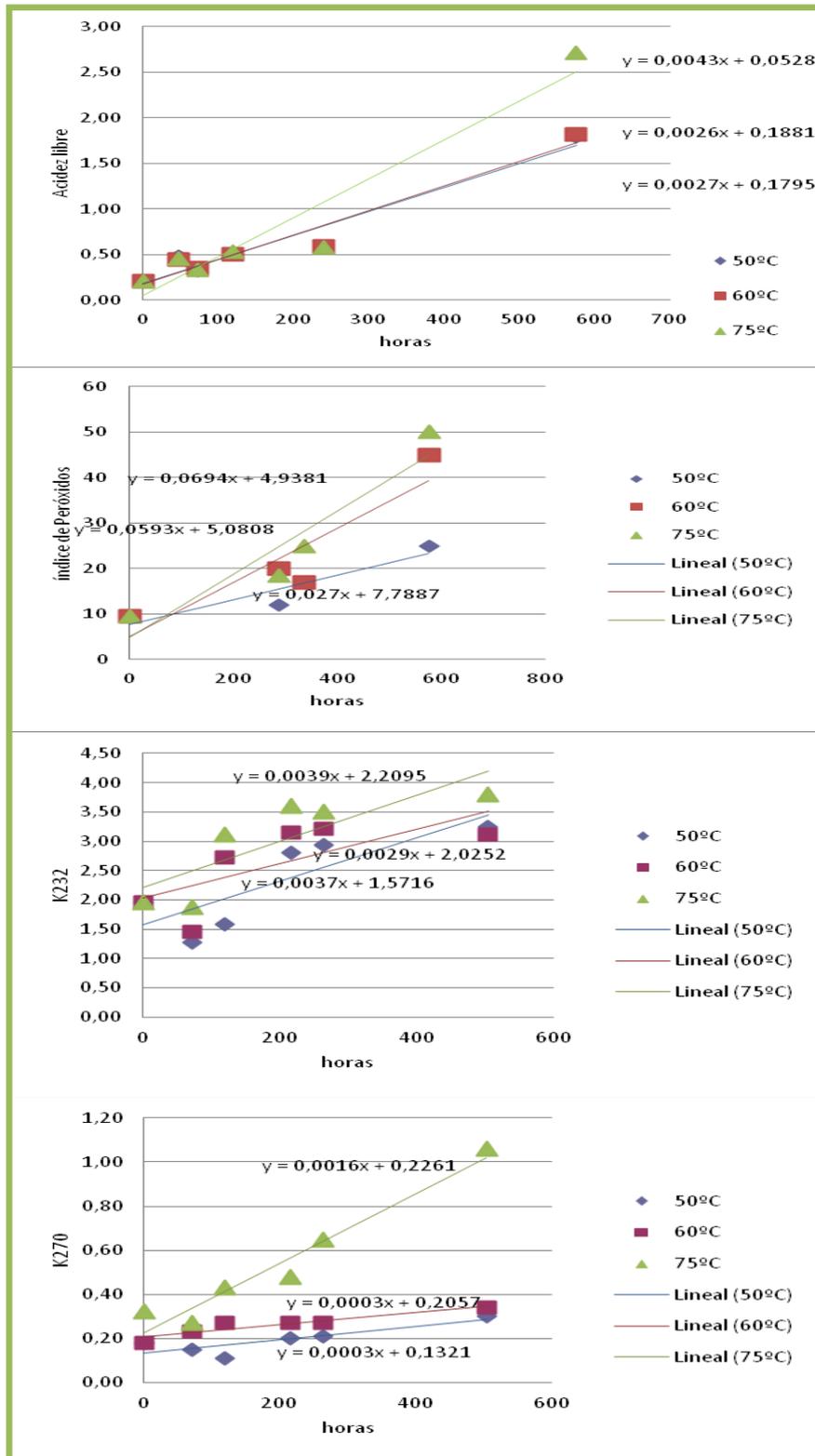
**Anexo 2.-** Evolución de los índices de oxidación durante el periodo de conservación a 50 °C, 60 °C y 75 °C para el aceite de oliva virgen extra de la variedad Picual



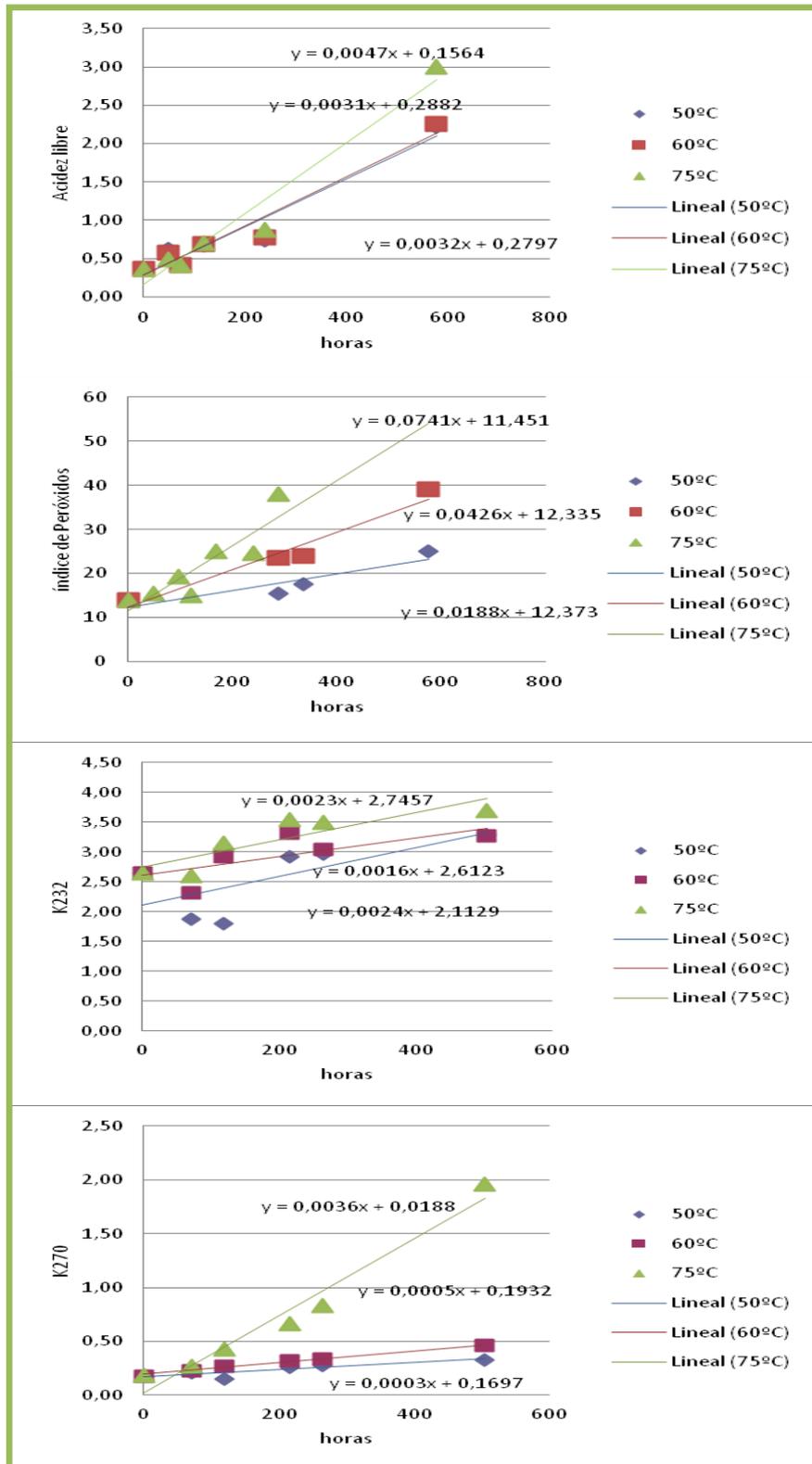
Anexo 3.- Evolución de los índices de oxidación durante el periodo de conservación a 50 °C, 60 °C y 75 °C para el aceite de oliva virgen extra de la variedad Arbequina



**Anexo 4.-** Evolución de los índices de oxidación durante el periodo de conservación a 50 °C, 60 °C y 75 °C para el aceite de oliva virgen extra de la variedad Hojiblanca



**Anexo 5.-** Evolución de los índices de oxidación durante el periodo de conservación a 50 °C, 60 °C y 75 °C para el aceite de oliva virgen extra de la variedad Cornicabra.



**Anexo 6.** Parámetros de regresión y ajuste al modelo hiperbólico de los parámetros de calidad considerados de la acidez libre.

VARIEDAD	MODELO	PARÁMETRO	VALORES
ARBEQUINA	Hiperbólico	a b r <sup>2</sup>	86937 -245,64 0,813
PICUAL	Hiperbólico	a b r <sup>2</sup>	151806 -431,14 0,797
HOJIBLANCA	Hiperbólico	a b r <sup>2</sup>	2376,4 -6,1179 0,882
CORNICABRA	Hiperbólico	a b r <sup>2</sup>	-4,29 1718 0,892

**Anexo 7.** Parámetros de regresión y ajuste al modelo hiperbólico de los parámetros de calidad considerados de Índice de Peróxidos.

VARIEDAD	MODELO	PARÁMETRO	VALORES
ARBEQUINA	Hiperbólico	a b r <sup>2</sup>	398,10 -1,12 0,705
PICUAL	Hiperbólico	a b r <sup>2</sup>	592,25 -1,66 0,998
HOJIBLANCA	Hiperbólico	a b r <sup>2</sup>	306,96 -0,8491 0,7358
CORNICABRA	Hiperbólico	a b r <sup>2</sup>	-537,08 -1,515 0,8523

**Anexo 8.** Parámetros de regresión y ajuste al modelo hiperbólico de los parámetros de calidad considerados de K232.

VARIEDAD	MODELO	PARÁMETRO	VALORES
ARBEQUINA	Hiperbólico	a	760,77
		b	-1,06
		r <sup>2</sup>	0,960
PICUAL	Hiperbólico	a	3802,7
		b	-10,264
		r <sup>2</sup>	0,8928
HOJIBLANCA	Hiperbólico	a	600,23
		b	-0,8
		r <sup>2</sup>	0,937
CORNICABRA	Hiperbólico	a	361,07
		b	-0,101
		r <sup>2</sup>	0,896

**Anexo 9.** Parámetros de regresión y ajuste al modelo hiperbólico de los parámetros de calidad considerados de K270.

	MODELO	PARÁMETRO	VALORES
ARBEQUINA	Hiperbólico	a	60460
		b	-172,6
		r <sup>2</sup>	0,9637
PICUAL	Hiperbólico	a	82194
		b	-232,59
		r <sup>2</sup>	0,9998
HOJIBLANCA	Hiperbólico	a	47358
		b	-132,62
		r <sup>2</sup>	0,7342
CORNICABRA	Hiperbólico	a	42578
		b	-121,64
		r <sup>2</sup>	0,9983