



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTILÁN

“ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS  
(OLEICO, LINOLEICO Y LINOLÉNICO) EN ACEITES DE OLIVA EXTRA  
VIRGEN DE VENTA EN EL MERCADO MEXICANO, POR  
CROMATOGRFÍA DE GASES”

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

***INGENIERA QUÍMICA***

P R E S E N T A:

**MARÍA MONSERRAT CHÁVEZ TORRES**

ASESORES:

DRA. ALMA LUISA REVILLA VÁZQUEZ

M EN C. PABLO HERNÁNDEZ MATAMOROS



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

El guerrero de la luz no siempre tiene fe.

Hay momentos en los que no cree absolutamente en nada. Y pregunta a su corazón: ¿Valdrá la pena tanto esfuerzo?”

Pero el corazón continúa callado. Y el guerrero debe decidir por sí mismo.

Entonces él busca un ejemplo. Y recuerda que Jesús pasó por algo semejante, para poder vivir la condición humana con toda su plenitud.

“Aparta de mí este cáliz”, dijo Jesús. También él perdió el ánimo y el valor, pero no se detuvo.

El guerrero de la luz continúa sin fe. Pero sigue adelante, y la fe terminará volviendo.

Paulo Coelho.

## AGRADECIMIENTOS

Dios, te agradezco de todo corazón el maravilloso regalo de la vida, el gran amor, la fortaleza y el valor que me brindas para continuar día a día, contra las adversidades. Porque eres mi luz, mi guía y mi sabio maestro, si me falta tu amor nada soy.

Gracias Mamita, por darme la vida, porque gracias a ti se lo que es el mas dulce y puro amor aquí en la tierra. Porque nunca dejaste de confiar en mí, por ser mi máximo apoyo en mis momentos de dolor, por compartir tantos momentos de felicidad, te amo. No solo eres mi mamá eres mi amiga, gracias por darme una gran lección, pues tu me enseñaste a no darme por vencida, a luchar por lo que quiero, a descubrir mi fuerza interna. Gracias por ser quien eres.

Papá gracias a ti aprendí muchas cosas que me han permitido valorar las cosas buenas de la vida.

Abuelitos, nunca los olvidare, se que no han dejado de existir, solo han vuelto a casa; siempre tendré en cuenta todas sus enseñanzas, estoy segura que siempre han estado conmigo, que son mis ángeles protectores.

Gracias Malaki por acompañarme en los momentos de alegría y tristeza, por demostrarme a través de las cosas sencillas que la vida es bella.

Tía Margarita, tío Santos, mil gracias por todo su apoyo y todos sus buenos deseos, tía Luz, tío Genaro les agradezco por todas las cosas que me han enseñado y por su apoyo.

A mis amigos, Elsa, Carlos, Salvador y Martín que son como mis hermanos, les agradezco enormemente por todos los momentos que hemos compartido, han sido y serán realmente memorables, gracias por compartir conmigo esta importante etapa, por demostrarme su capacidad de tolerar y respetar, los quiero mis chicos; Ale y Daniel gracias por su amistad sincera, por sus consejos y por acompañarme en los momentos complicados, son muy especiales para mi.

A Viri, Maggie, César, Keeper, Yanic, Siete y Miriam, mis amigos de la adolescencia, a su lado viví muchas cosas importantes, nunca los olvidaré.

Dr. Adolfo Eduardo Obaya Valdivia, le agradezco de forma muy especial, el haberme permitido realizar mi servicio social con usted, son invaluable todas las enseñanzas que me brindó.

Gracias a mis profesores: José Guadalupe López, Pedro Quistián, Jorge Martín Carrillo, Fernando Orozco, Ariel Bautista, María Elena Quiroz, Celestino Silva, Eligio Pastor Rivero, José Luis Tellez y Aarón Barrios, pues ustedes fueron los que sembraron en mí los deseos de adquirir más conocimientos y no solo eso me regalaron parte de su vida a través de sus enseñanzas.

Gracias a mis asesores: la Dra. Alma Luisa Revilla Vázquez y al M. en C. Pablo Hernández Matamoros, por los conocimientos y el tiempo que me brindaron durante la realización de este trabajo.

Dra. Guadalupe Pérez Caballero, mil gracias por su apoyo en la realización del análisis quimiométrico, pero sobre todo, por su paciencia y apoyo para la realización de este trabajo.

A mis sinodales: Q.F.B. Elia Granados Enríquez, Dr. Ricardo Paramont Hernández García y Q.F.B. Martha Angélica Villegas González, gracias por la amabilidad, el tiempo y apoyo para realizar las correcciones de este trabajo.

Gracias Ingeniero Alberto Hernández Rodríguez ya que sin su apoyo y sus consejos no hubiera sido posible realizar esta tesis.

Al Sr. Drausin Jiménez Celi por la elaboración de los embudos de separación especiales para este proyecto.

A DGAPA – UNAM por el apoyo otorgado al proyecto PAPIME PE - 207606

Gracias a la Universidad Nacional Autónoma de México, y de manera especial a la FES – Cuautitlán, por ser *mi alma mater*.

“Por mi raza hablará el espíritu”

Goya, goya cachun cachun rara, goya cachun cachun rara, goya UNIVERSIDAD.

## ÍNDICE

	PÁGINA
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS</b> .....	3
<b>3. MARCO TEÓRICO</b> .....	4
3.1 DEFINICIÓN DE ACEITE DE OLIVA. ....	4
3.2 ELABORACIÓN DEL ACEITE DE OLIVA. ....	4
3.2.1 ACEITUNAS.....	4
3.2.2 LA RECOLECCIÓN.....	5
3.2.3 MOLTURACIÓN.....	6
3.2.4 BATIDO.....	6
3.2.5 LA SEPARACIÓN.....	7
3.2.5.1 EXTRACCIÓN POR PRESIÓN.....	7
3.2.5.2 CENTRIFUGACIÓN.....	7
3.2.5.3 DECANTACIÓN.....	8
3.2.6 BODEGA DE ACEITE DE OLIVA.....	8
3.2.7 REFINADO DEL ACEITE DE OLIVA. ....	8
3.3 TIPOS DE ACEITE.....	9
3.4 COMPOSICIÓN DEL ACEITE DE OLIVA.....	10
3.5 PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS.....	11
3.6 USOS DEL ACEITE DE OLIVA.....	12
3.7 NORMA DE CALIDAD QUE RIGE LOS ACEITES DE OLIVA. ....	15
3.7.1 NORMA DEL CODEX PARA LOS ACEITES DE OLIVA EXTRA VIRGENES Y REFINADOS Y LOS ACEITES REFINADOS DE ORUJO DE ACEITUNA CODEX STAN 33-1981 (Rev. 2-203) .....	15
3.7.2 ETIQUETADO.....	17
3.8 FUNDAMENTOS DE CUANTIFICACIÓN POR CROMATOGRAFÍA.....	18
3.8.1 CROMATOGRAFÍA DE GASES. ....	18
3.8.1.1 DERIVATIZACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	19
3.8.1.2 COLUMNAS Y FASES ESTACIONARIAS. ....	20
3.8.1.3 GAS PORTADOR. ....	22
3.8.1.4 PROGRAMA DE TEMPERATURA. ....	22
3.8.1.5 INYECCIÓN DE LA MUESTRA. ....	23
3.8.1.6 DETECTORES. ....	24
3.8.1.7 DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS POR CROMATOGRAFÍA.....	26
<b>4. DESARROLLO EXPERIMENTAL</b> .....	28
4.1 EQUIPO.....	28
4.2 MATERIALES.....	28
4.2.1 REACTIVOS.....	28
4.2.2 ACEITES.....	30
4.3 DERIVATIZACIÓN DE LAS MUESTRAS. ....	30
4.4 INYECCIÓN DE ESTANDARES. ....	31
4.5 INYECCIÓN DE MUESTRAS. ....	31
4.6 CURVA DE CALIBRACIÓN. ....	31
4.6.1 ESTÁNDAR INTERNO. ....	31
4.6.2 SOLUCIÓN ESTÁNDAR.....	31

4.6.3 PROCESAMIENTO DE LOS DATOS PARA REALIZAR LA CURVA DE CALIBRACIÓN. ....	32
4.7 CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN LAS MUESTRAS PROBLEMA. ....	33
4.8 FORTIFICACIÓN. ....	33
<b>5. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS</b> .....	<b>34</b>
5.1 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS PARA EL ANALISIS DE LAS MUESTRA.....	34
5.2 ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO DE LAS MUESTRAS.....	36
5.3 CURVAS DE CALIBRACIÓN DE OLEATO, LINOLEATO Y LINOLENATO DE METILO..	36
5.4 CUANTIFICACIÓN Y COMPARACIÓN CON LA NORMA DEL CODEX ALIMENTARIUS, DE LOS ÁCIDOS GRASOS: OLÉICO, LINOLEICO Y LINOLENICO.	40
5.5 LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN. ....	41
5.5.1. CÁLCULO DE LOS LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN. ....	41
5.6 FORTIFICACIÓN.....	42
5.7 TRATAMIENTO DE LOS DATOS CON TÉCNICAS QUIMIOMÉTRICAS.....	44
<b>6. CONCLUSIONES.</b> .....	<b>50</b>
<b>7. REFERENCIAS</b> .....	<b>51</b>
<b>8. APENDICES</b> .....	<b>53</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Nombre de la tabla</b>	<b>Página</b>
TABLA 1	Comparación entre características de columnas empaquetadas y de columna capilares.	21
TABLA 2	Columnas recomendadas para varios tipos de muestras.	22
TABLA 3	Propiedades de detectores para cromatografía de gases.	25
TABLA 4	Aceites analizados y su origen.	30
TABLA 5	Concentraciones para las curvas de calibración de los FAMES.	31
TABLA 6	Preparación de los sistemas para la curva de calibración.	32
TABLA 7	Condiciones cromatograficas para la separación de los ácidos grasos.	34
TABLA 8	Tiempos de retención promedio de los estándares.	35
TABLA 9	Valores de resolución de compuestos adyacentes.	35
TABLA 10	Tiempos de retención promedio oleato de metilo, linoleato de metilo y linolenato de metilo.	36
TABLA 11	Relación de área en función de la concentración para el oleato de metilo.	37
TABLA 12	Relación de área en función de la concentración para el linoleato de metilo.	37
TABLA 13	Relación de área en función de la concentración para el linolenato de metilo.	38
TABLA 14	Valores del factor respuesta de los esterres metilicos a analizar con respecto al laureato de metilo.	39
TABLA 15	Concentraciones, porcentajes promedio de ácidos grasos en las muestras problemas y comparación de estos con la norma.	40
TABLA 16	Limites de detección y cuantificación para los ácidos: oleico, linoleico y linolénico.	41
TABLA 17	Promedios de los porcentajes de recuperación, para cada éster.	42
TABLA 18	Origen y codificación de los aceites de oliva extra virgen	45

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Nombre de la figura	Página
FIGURA 1	(a) aceitunas inmaduras, (b) aceitunas en estado óptimo para su recolección.	5
FIGURA 2	Esquema ejemplo de un cromatógrafo de gases.	18
FIGURA 3	Obtención de los ésteres metílicos, a partir del aceite de oliva mediante derivatización.	20
FIGURA 4	Esquema de inyector tipo split/splitless	23
FIGURA 5	Esquema con las partes que componen al FID	26
FIGURA 6	Cromatógrafo de Gases de la FES-C, nave 3000.	28
FIGURA 7	Programa de temperatura.	34
FIGURA 8	Cromatograma de los estándares laurato, oleato, linoleato y linolenato de metilo.	35
FIGURA 9	Curva de calibración de oleato de metilo realizada con la relación de áreas promedio.	37
FIGURA 10	Curva de calibración de linoleato de metilo realizada con la relación de áreas promedio.	38
FIGURA 11	Curva de calibración de linolenato de metilo realizada con la relación de áreas promedio.	39
FIGURA 12	Cromatograma del aceite Oli ML.	42
FIGURA 13	Cromatograma de la fortificación de oleato, linoleato y linolenato de metilo en el primer nivel	43
FIGURA 14	Cromatograma de la fortificación de oleato, linoleato y linolenato de metilo en el segundo nivel	43
FIGURA 15	Cromatograma de la fortificación de oleato, linoleato y linolenato de metilo en el tercer nivel	43
FIGURA 16	Gráfica de scores para el conjunto de todos los aceites de oliva con autoescalado en columnas, a partir de relación de áreas. (a) subespacio PC1-PC2 (b) subespacio PC1-PC2-PC3	46
FIGURA 17	Gráfica de scores para el conjunto de todos los aceites de oliva con centrado en media a partir de porcentaje de composición (a) subespacio PC1-PC2 (b) subespacio PC1-PC2-PC3	47
FIGURA 18	Gráfica de scores para el conjunto de todos los aceites de oliva europeos y un mexicano, con centrado en media a partir de porcentaje de composición (a) subespacio PC1-PC2 (b) subespacio PC1-PC2-PC3	48
FIGURA 19	Dendograma, para el conjunto de todos los aceites de oliva, por complete linkage-Manhattan distance a partir del porcentaje de composición de ácidos grasos.	49

## INTRODUCCIÓN.

Todo producto debe cumplir con ciertos parámetros de calidad por lo cual se debe realizar estricto control para verificar que reúnen los mismos. Por esta razón se determinó el porcentaje de ácido oleico, linoleico y linolénico en distintos tipos de aceites de oliva de denominación extra virgen, provenientes de distintos países: México, España e Italia, y se determinó si cumplen o no con la **Norma del codex para los aceites de oliva extra vírgenes y refinados y los aceites refinados de orujo de aceituna codex stan 33-1981 (rev. 2-203)**.

Los aceites de oliva, particularmente del tipo extra virgen, tradicionalmente se obtienen del fruto maduro del árbol del olivo (*Olea europea L.*) por medios mecánicos y sin uso de calor.

La aceituna se debe molturar el mismo día de su recolección, pues su contenido de agua provoca fermentación y oxidación del aceite, el tiempo de almacenamiento deteriora notablemente la calidad del producto final. En las almazaras las aceitunas se limpian y se lavan, clasificándolas por calidades o variedades para obtener los mejores aceites. El proceso de elaboración del aceite de oliva <sup>[1]</sup> consiste en las siguientes tres etapas:

### 1) LA MOLTURACIÓN

Se realiza con trituradores de martillo o muelas de piedra, que rompen los tejidos vegetales y liberan el aceite, formando una pasta homogénea.

### 2) EL PRENSADO

Esta pasta se somete a una presión en frío para sacar el aceite y el agua. El mejor aceite se extrae de la pasta en la primera prensada en frío.

### 3) LA SEPARACIÓN

Para separar el agua del aceite, los restos de agua se separan del aceite por decantación natural o mediante centrifugadoras verticales para evitar la alteración de las cualidades del aceite.

El aceite de oliva tiene una posición privilegiada entre los aceites comestibles, por su delicado sabor, estabilidad y beneficios para la salud. Se produce principalmente en países mediterráneos y se consume directamente sin purificación. Por ello, es caro y siempre se ha tratado de adulterar mezclándolo con aceites vegetales y de orujo, más baratos. Una investigación realizada en Estados Unidos en el año 1982, demostró que muchos aceites de oliva (de importación o producidos localmente), contenían una cantidad no declarada de aceite de orujo y aceites de semillas <sup>[2]</sup>. Estos hechos condujeron a la FDA (Food and Drug Administration), a establecer un programa de regulación para controlar el mercado. En 1988, técnicos de la FDA informaron que era necesario un mayor control de los países exportadores y la vigilancia en los Estados Unidos para eliminar los fraudes en el aceite de oliva <sup>[3]</sup>.

En las últimas dos décadas, se han hecho una gran cantidad de trabajos analíticos por investigadores, parte significativa de los cuales se ha incorporado a la legislación de la Comunidad Europea, a las normas del Codex Alimentarius y a las del Consejo Oleícola internacional. Las regulaciones existentes de la CEE (Comisión de regulación EC N0 2568/91), así como las mejoras analíticas y legislativas que se han producido recientemente, servirán para frenar las posibles adulteraciones del aceite de oliva. Hay que indicar que, en la actualidad, solo parecen posibles las adulteraciones más sofisticadas, que necesitan buenos equipos y conocimientos técnicos. La mayoría de los procesadores y envasadores tiene medios muy simples, que sólo sirven para adulteraciones obvias, que son fácilmente detectadas por métodos analíticos disponibles hoy en día [2].

Cabe destacar que, después de una exhaustiva investigación bibliográfica, no se encontraron reportados análisis comparativos de la calidad de aceites de oliva, provenientes de distintos países.

En este proyecto se llevó a cabo el estudio de diferentes aceites de oliva de denominación extra virgen, con la finalidad de identificar y cuantificar los tres principales ácidos grasos (oleico, linoleico y linolénico) presentes en 9 muestras de diferente procedencia geográfica, por el método de cromatografía de gases capilar, para determinar si cumplen o no con la norma anteriormente mencionada, se determinaron posibles adulteraciones en dos aceites mexicanos además de clasificarlos de acuerdo a su calidad.

## 2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS:

- **OBJETIVO GENERAL:**

Optimizar una metodología para separar, identificar y cuantificar los principales ácidos grasos insaturados presentes en diferentes marcas de aceite de oliva extra virgen por Cromatografía de Gases Capilar, de venta en el mercado mexicano, a fin de establecer si cumplen con la “Norma del codex para los aceites de oliva extra vírgenes y refinados y los aceites refinados de orujo de aceituna codex stan 33-1981 (rev. 2-203)”. Asimismo, a través de un análisis quimiométrico de los datos, averiguar posibles adulteraciones y grados de calidad.

- **OBJETIVOS PARTICULARES:**

1. Optimizar las condiciones de derivatización previamente establecidas <sup>[4]</sup>, para asegurar la formación de compuestos volátiles que permita su análisis por cromatografía de gases capilar.
2. Optimizar las condiciones cromatográficas que logren la separación de los analitos en estudio, a fin de lograr su identificación y cuantificación en muestras de aceite de oliva de denominación extra virgen que se distribuyen en el mercado mexicano.
3. Aplicar técnicas quimiométricas (componentes principales y análisis cluster) para mostrar posibles adulteraciones y establecer distintos grados de calidad de los mismos.

- **HIPÓTESIS:**

Con una correcta optimización de las condiciones experimentales, será posible lograr la identificación y cuantificación de ácido oleico, linoleico y linolénico, mediante el método de Cromatografía de Gases Capilar, con la finalidad de poder verificar si dichos resultados cumplen con lo establecido por la Norma reguladora. Además, mediante un análisis quimiométrico, será posible diferenciar los aceites de acuerdo a su calidad y detectar una posible adulteración.

### 3. MARCO TEÓRICO

#### 3.1 DEFINICIÓN DE ACEITE DE OLIVA.

El uso de aceites vegetales en la vida cotidiana, ya sea gastronómico como religioso, u otras aplicaciones habituales, acompañó a la humanidad desde tiempos inmemoriales, empleado como combustible en la iluminación de los templos religiosos. Se sospecha que las primeras plantaciones de olivos se han realizado en la extensa área que va desde Siria a Canaán (desde el V milenio a. C. Hasta comienzos del III milenio a. C.). Se cree que quizás naciera su uso con la agricultura, no obstante se conocen usos del árbol del olivo en el Paleolítico Superior (12.000 a. C.).

En Egipto, donde se empezó el cultivo del olivo hacia el 2000 a. C., se comenzó a usar el aceite de oliva con fines cosméticos. Ya los egipcios apuntaban a Isis como la diosa que enseñó el cultivo del olivo a los hombres. Los mismos egipcios empezaron a comercializar el aceite de oliva [2].

Éste es un aceite vegetal de uso principalmente culinario que se extrae del fruto recién recolectado del olivo (*Olea europaea L.*) denominada oliva o aceituna. Casi la tercera parte de la pulpa de la aceituna es aceite, es por esta razón que desde tiempos antiguos se ha extraído fácilmente su aceite con una simple presión ejercida por un primitivo molino (*almazara*). Su uso es fundamentalmente culinario, pero se ha empleado con propósitos cosméticos, así como cotidianos en las lámparas de aceite. La oliva o aceituna no se puede comer debido a la amargura de su sabor, este sabor se reduce en gran medida mediante la aplicación de diversos procesos de curado. Tan sólo un 2% de la producción mundial se realiza fuera del área del mediterráneo, mientras que España, Italia y Grecia acaparan las tres cuartas partes de la producción mundial [2].

La calidad del Aceite de Oliva depende de diversos factores entre los que se encuentran [3]:

- Aquellos factores que no pueden ser modificados como el tipo de suelo, la variedad de la aceituna, el clima de la zona, el grado de humedad, etc. Es importante vigilar el momento en el que tiene lugar el envero o momento en el que el fruto empieza a colorearse.
- El tiempo que transcurre desde la recolección hasta su prensado.
- Las características del envase elegido. Es muy importante que después de haber conseguido un excelente aceite este permanezca intacto hasta su consumo. Para ello es imprescindible proteger al aceite de la luz y el aire, evitando de esta forma su oxidación o enranciamiento, que conlleva la pérdida de importantes propiedades nutricionales atribuidas al Aceite de Oliva.

#### 3.2 ELABORACIÓN DEL ACEITE DE OLIVA.

##### 3.2.1 ACEITUNAS

La composición de las aceitunas en el momento de la recolección es muy variable, dependiendo de la variedad de éstas, del suelo, del clima y del cultivo. El fruto del olivo es una drupa y está formada por tres partes:

- 1. El epicarpo o cáscara, o sea la membrana externa, lisa, que cambia el color de verde a morado, a medida que el fruto madura, y es revestida por una sustancia cerosa protectora.
2. El mesocarpio o pulpa, que contiene la mayor cantidad de aceite.
3. El endocarpio o hueso, es decir la cáscara leñosa que encierra la semilla, dotado de pequeñas cantidades de aceite.

Todas las variedades de olivas producen excelentes aceites vírgenes, cada uno con sus características particulares, siempre y cuando las aceitunas estén sanas, se molturen el mismo día de la recolección y el aceite se almacene de forma apropiada [5].

### Procesos de maduración de la aceituna

Alrededor de mayo o junio se da la formación de pequeñas flores blancas y verdes agrupados en forma de racimo. La polinización la facilita el viento; existen variedades autoincompatibles (que no fecundan solas) que necesitan la presencia de otra variedad que tenga una época de floración que coincida de modo bastante preciso para que pueda realizarse la polinización cruzada. También existe una variedad autocompatible cuyas flores pueden ser fecundadas por el propio polen que producen. En los primeros meses veraniegos se forman los primeros frutos verdes. De finales de septiembre en adelante, según la variedad, los frutos maduran y se transforman en las clásicas drupas de color negro-morado. Los frutos de la aceituna no pueden ser consumidos tal cuál aparecen en el árbol: también las destinadas a la mesa son sometidas, después de la colección, a particulares tratos que las convierten en comestibles (salmuera) [5].

Una prolongada permanencia de la aceituna en la planta determina la progresiva disminución del oleico y el aumento del linoleico, en detrimento de las propiedades organolépticas y de estabilidad del producto.

### 3.2.2 LA RECOLECCIÓN

Las aceitunas deben recolectarse de los olivares a finales de otoño o comienzos de invierno y se escoge el instante en el que las aceitunas poseen su máximo nivel de ácidos grasos en la pulpa de la oliva.

Para obtener un aceite de calidad, es fundamental recolectar la aceituna en el momento óptimo de maduración, cuando la mayoría está cambiando de color (envero), apenas quedan aceitunas verdes y algunas están completamente maduras [6].

En la figura 1 se muestran la evolución de las aceitunas.



(a)



(b)

**FIGURA 1.** (a) Aceitunas inmaduras, (b) aceitunas en estado óptimo para su recolección.

Los métodos de recolección pueden diferir desde un vareado a mano, a una recolección con máquinas vibratorias agarradas al tronco de los olivares que inducen la caída de las aceitunas. Las aceitunas recolectadas deben estar lo más intactas posibles y deben ser prensadas lo antes posible para evitar la oxidación.

El método ideal de recolección es el ordeño, a mano o con rasquetas. Lo más importante es no dañar la aceituna y transportarla lo antes posible a la almazara, para que el fruto no se deteriore.

Las aceitunas se limpian y criban, eliminando residuos como hojas, tallos, tierra o pequeñas piedras. Posteriormente se lavan con agua fría para eliminar otras impurezas como polvo, barro y restos posibles de herbicidas. Finalmente se almacenan en pequeñas pilas a la espera de ser molidas.

Para obtener un aceite de calidad la aceituna debe procesarse en las 24 h siguientes a su recolección.

### 3.2.3 MOLTURACIÓN

Las aceitunas recolectadas se transportan a unas instalaciones en las que se extrae el aceite de oliva mediante prensado.

La molienda de la aceituna es el primer proceso al que se someten. Se trata de romper los frutos para que posteriormente puedan soltar el aceite que llevan dentro de sus células.

El proceso tradicional de molienda se realiza en un mortero o molino de rulo, donde se tritura para romper los tejidos en los que se encuentra el aceite. Respecto a los molinos, existen de muchos tipos, todos de invención siria o romana y cuyos nombres son: muela olearia, de cuñas, de palanca y de sangre. Este tipo de molienda está en desuso, son pocas las almazaras que aún lo poseen, y las pocas que lo tienen ya son movidos eléctricamente [6].

Estas prensas o molinos reciben el nombre específico de «almazaras» (la etimología proviene del árabe «*al-mas'sara*» que significa 'extraer', 'exprimir'). El proceso de prensado deja liberar un líquido no oleoso denominado desde la época de los romanos como *amurca*.

Actualmente la mayoría de las almazaras cuentan con molinos de martillos, normalmente de eje horizontal. En ellos, se va introduciendo la aceituna de forma automatizada y recibe el impacto de los martillos metálicos que giran a gran velocidad. El molino cuenta con una criba de un diámetro determinado; cuando las partículas lo alcanzan, pasan, si no, siguen dentro del molino hasta que lo hagan.

### 3.2.4 BATIDO

Una vez obtenida la pasta por molturación, esta se bate con el fin de sacar el aceite de las células y que este aceite vaya creando gotas de mayor tamaño por agregación. Las batidoras tienen unas palas o algún otro sistema que mueve de manera lenta pero continua la pasta en unos recipientes semicilíndricos. Cuando en el procedimiento ulterior se usan prensas para la extracción del aceite, la duración del batido es más corta y se limita a entre diez y veinte minutos [6].

Las batidoras tienen una camisa por la que se puede hacer circular agua caliente que a su vez calienta la masa batida y facilita la extracción del aceite. Se debe realizar a una temperatura no demasiado elevada.

### 3.2.5 LA SEPARACIÓN

#### 3.2.5.1 EXTRACCIÓN POR PRESIÓN

La pasta se somete a una presión en frío para sacar el aceite y el agua. El mejor aceite se extrae de la pasta en la primera prensada en frío.

Es el sistema tradicional, la pasta que resulta del batido se prensa, envolviéndola en capazos o capachos redondos de esparto entretejido, que actúan como desagües, filtrando los líquidos y reteniendo los sólidos. El líquido, transvasado mediante un canal en la base de la prensa denominado “*jamilera*” de una a otra tinaja, se decanta, por lo que libera al aceite de las sustancias que tenga en suspensión [6].

#### 3.2.5.2 CENTRIFUGACIÓN

Existe otro procedimiento en lugar del prensado y que actualmente es más utilizado a nivel industrial por resultar más eficiente y económico. En él, la pasta, una vez batida, se centrifuga, siempre sin añadir productos químicos ni calor. Gracias a la distinta densidad de los líquidos, los productos extraídos se separan en niveles, quedando en la parte más exterior de la centrifugadora los más pesados (agua y orujo) y, más hacia el centro, los menos pesados (aceite).

Se denominan sistemas continuos porque al contrario que el tradicional en el que la prensa tiene que parar para descargarse y cargarse de nuevo, en estos la obtención es continua, la centrifuga no para de ser alimentada por un extremo y por el contrario sale el aceite y los subproductos.

Dentro de este sistema de centrifugado se distingue:

- Uno más tradicional denominado de tres fases (aceite, alpechín y orujo). En este sistema a la mezcla obtenida del batido se le añade agua y posteriormente se centrifuga, obteniendo así: aceite, alpechín y orujo. El alpechín es el agua de vegetación que contenía la aceituna, más cierta cantidad añadida. Se separa del aceite por decantación o centrifugación. El orujo es la parte sólida, y está formada por huesos, pieles y pulpa de aceituna.
- Sistema de dos fases: En este sistema la mezcla obtenida del batido de la molienda se centrifuga directamente, en él los residuos sólidos y líquidos de la molienda salen juntos, formándose una pasta que se denomina alperujo. En este sistema de dos fases, el residuo es mucho más difícil de gestionar, porque tiene un 75% de agua y para deshidratarlo hay que aplicarle temperaturas muy altas, del orden de los 1.200 ° C. Por el contrario, es un proceso de obtención de aceite que utiliza mucha menos agua que el de tres fases.

La pasta que resta es aún rica en aceite y se exprime de nuevo hasta tres veces más. Los residuos se conocen con el nombre de orujo. El aceite de la primera presión es el más valorado, y según se va

exprimiendo de nuevo se obtienen aceites de diferentes calidades. Para obtener un litro de aceite de primera extracción se necesitan unos cinco kilos de aceitunas. El consumo durante el primer año asegura que sus cualidades estén intactas. Estos aceites se conocen con el nombre genérico de aceite de oliva virgen [6].

Los restos sólidos (una especie de pasta) son conocidos como orujo, y los líquidos, denominados alpechín, procedentes de la extracción del aceite de oliva, son aprovechados como combustibles, siendo de alto poder calorífico o como abonos orgánicos.

### 3.2.5.3 DECANTACIÓN

En este proceso se separa la pasta de la aceituna en sus tres componentes: aceite, alpechín y orujo. La decantación se puede realizar a dos o tres fases.

Con la decantación a dos fases, los resultados obtenidos son por un lado, el aceite y por el otro el orujo y el alpechín, llamado alperujo. En este tipo de proceso no se requiere la adición de agua al decantador, con el consiguiente ahorro de agua potable y energía, y se obtiene por el contrario, un orujo muy húmedo y con características de viscosidad y falta de firmeza que lo hacen de difícil manipulación.

Con la decantación a tres fases, se obtiene por un lado el aceite y el alpechín, por el otro lado se obtiene el orujo con una humedad aproximada del 50 %. Con este procedimiento, el proceso exige la adición de agua caliente, pero, por contra, se obtiene un orujo seco y fácil de manipular.

El decantador centrífugo horizontal, consta de un recipiente cilíndrico y un tornillo sinfín de alimentación, con el eje hueco, que gira en su interior. Debido a la fuerza centrífuga, la masa se dirige a las paredes del bol y forma tres estratos de distintas densidades:

- orujo (residuos sólidos),
- aceite
- alpechín (agua).

El orujo se evacua por un tornillo sinfín, el aceite y el alpechín manan de orificios situados a distinto nivel, este proceso se llama decantación a tres fases [2].

### 3.2.6 BODEGA DE ACEITE DE OLIVA

Para conservar inalteradas las cualidades excepcionales del aceite de oliva, se debe almacenar en depósitos de acero inoxidable o trujales vitrificados, en oscuridad y tranquilidad, a temperaturas suaves y constantes.

Para evitar enranciamientos o enturbiamientos, los depósitos deben ser de un material inerte, opaco e impermeable y no deben absorber olores. Además la temperatura se mantendrá en torno a los 15 °C [7].

### 3.2.7 REFINADO DEL ACEITE DE OLIVA.

Es el proceso químico y físico al que se someten los aceites de oliva vírgenes que por sus características organolépticas y de acidez no son aptos para el consumo y los aceites de orujo de aceituna. Durante el refinado se realizan las siguientes operaciones [7]:

- Separación de mucílagos, que elimina las lecitinas y las gomas.
- Eliminación del color mediante carbón activo o bien por tierras absorbentes como la bentonita.
- Eliminación de la acidez por tratamientos con hidróxidos, operación denominada de saponificación, los jabones de estos ácidos grasos, obtenidos por adición de sosa, son fácilmente eliminables al ser insolubles en el aceite.
- Desodorización con tratamientos de agua a temperaturas de entre 160 y 180 °C al alto vacío, donde se eliminan determinados aldehídos.

Este proceso no se realiza en las almazaras si no en refinerías específicas.

### 3.3 TIPOS DE ACEITE

Existen cuatro categorías comerciales del aceite de oliva, que deben estar siempre indicadas en las etiquetas o botellas [8].

#### ACEITE DE OLIVA EXTRA VIRGEN.

Este tipo de aceite es de máxima calidad, se obtiene directamente de aceitunas en buen estado únicamente por procedimientos mecánicos, con un sabor y olor intachables y libres de defectos, no pudiendo sobrepasar su grado de acidez de 0,8 °. La puntuación organoléptica, dada por un panel de cata cualificado, debe ser igual o superior a 6,5 puntos [8].

#### ACEITE DE OLIVA VIRGEN.

Este aceite sigue los mismos parámetros de calidad que el aceite de oliva extra, en cuanto a los métodos de obtención. La diferencia es que no puede superar los 2° de acidez, y que la puntuación obtenida por un panel de cata cualificado debe ser igual o superior a 5,5 puntos. En otras palabras, los defectos deben ser prácticamente imperceptibles para el consumidor [8].

#### ACEITE DE OLIVA.

Es una mezcla de aceite de oliva refinado, que es el obtenido a partir del refinado de los aceites defectuosos, que no han alcanzado los parámetros de calidad anteriormente citados y de aceite de oliva virgen o extra virgen (entre un 10% y un 20%). Como se observa, ha perdido la palabra "virgen". Ello es debido a que en el proceso de elaboración del aceite refinado se utilizan otros procesos químicos y/o térmicos de limpieza de aromas, sabores y colores. El grado de acidez de este aceite de oliva no puede ser superior a 1,5° [2].

#### ACEITE DE ORUJO DE OLIVA.

Este tipo de aceite es el resultado del refinado, por medios químicos, de los orujos o morcas, procedentes de la molturación de la aceituna. La grasa vegetal obtenida se mezcla con una determinada proporción de aceite de oliva virgen, y la graduación final obtenida, en ácido oleico, no será superior a 1,5° [2].

Es aceite virgen defectuoso y que por tanto no se puede consumir directamente como los otros vírgenes. Su nombre le viene de la utilidad que se le dio en tiempos pasados como combustible para las lámparas o candiles. Hoy es el que se utiliza para ser refinado, proceso del que se obtiene el aceite de oliva refinado, no comercializable tal cual por su ausencia de sabor y color, pero que, mezclado con virgen o extra virgen (10% - 20%), es comercializable, denominándose aceite de oliva. Aunque no es considerado por muchos un auténtico zumo de aceituna ya que se ha sometido a distintos procesos distintos a los propios de la almazara. Por eso solo se puede considerar zumo de aceituna a los aceites vírgenes y extra vírgenes [2].

### 3.4 COMPOSICIÓN DEL ACEITE DE OLIVA

El aceite de aceituna está constituido por la mezcla de las varias fracciones, en cuánto obtenido por la molturación del fruto entero, que en el momento de la recolección y en el estado de justa maduración contiene en media acerca del 20-25% de aceite y 35-50% de agua; además contiene carbohidratos (celulosa, lignina, almidón y glucosa), proteínas, ácidos orgánicos, enzimas y constituyentes menores [8].

Las aceitunas poseen un glucósido que le proporciona un sabor amargo y que debe eliminarse mediante un macerado adecuado, en el caso del aceite de oliva este compuesto se elimina de forma natural durante el prensado en la almazara.

De los componentes químicos que posee el aceite son en su mayoría ácidos grasos, como son el ácido oleico, linoleico y linolénico; estos últimos son ácidos grasos esenciales, es decir, no pueden sintetizarse en el organismo, y deben obtenerse de la dieta.

Los ácidos grasos, se encuentran presentes en las grasas, raramente libres, y casi siempre esterificando al glicerol y eventualmente a otros alcoholes.

Normalmente se piensa que la calidad de los aceites de oliva la determina en gran medida su acidez, es decir se piensa que un aceite de 0,4° es mejor que uno de 0,8° por ejemplo. Esto, sólo, es cierto si se trata de aceites de oliva vírgenes.

La acidez de un aceite de oliva virgen nos da idea de como ha sido cultivada, recolectada, almacenada, transportada la aceituna, y como ha sido elaborado el aceite en la almazara. Cuanto mejor sea todo el proceso, menor será la acidez del aceite de oliva virgen obtenido.

En el "aceite de oliva" si se corresponde a mayor grado de acidez mayor sabor y aroma, ya que no hay que olvidar que este tipo de aceite es una mezcla de aceite de oliva refinado y de aceite de oliva virgen, el refinado es el de mayor proporción en la mezcla y suele ser de una acidez próxima a cero y al haber pasado por la refinería su sabor y olor es prácticamente inexistente, entonces, cuanto más se le añada a ese refinado aceite de oliva virgen su sabor y olor irá aumentando y su grado de acidez también.

El aceite de oliva posee una cantidad moderada de Vitamina E (principalmente  $\alpha$ -Tocoferol) y a pesar de poseer una baja cantidad de  $\gamma$ -Tocoferol el aceite de oliva es estable. Los componentes menores del aceite

no se eliminan debido a que rara vez es refinado: escualenos, esteroides, alcoholes triterpenoides, clorofila, carotenoides [9].

No obstante se pueden resumir que existen en el aceite de oliva tres grandes grupos de sustancias, a saber:

- **Fracción saponificable:** comprende el 98-99 % en el total de su peso. Está formada por los triglicéridos, ácidos grasos libres y fosfolípidos. Esta fracción está formada por los ácidos grasos esenciales: oleico (C18:1), linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3), además de otros ácidos grasos en concentración de trazas, como caféico, margárico, esteárico, etc.
- **Fracción insaponificable:** constituye el 1,5 % en el total de su peso. Comprende los hidrocarburos como el hexanal, responsable del gusto herbáceo de un aceite de aroma frutado, alcoholes, esteroides y tocoferoles.
- **Otros componentes menores:**
  - Polifenoles: relacionados con el sabor del aceite
  - Pigmentos clorofílicos y carotenoides: relacionados con el color que puede poseer el aceite.
  - Compuestos volátiles: responsables del aroma del aceite.

### 3.5 PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS

El estudio de las propiedades del aceite de oliva, así como del cultivo del olivo, se denominan olivicultura, siendo una rama de la elaiotecnica del griego *elaios* que significa *cultivo*, ciencia que estudia la extracción aceites vegetales como puede ser el mismo aceite de oliva, el aceite de girasol, el de cacahuate, palma, etc [7].

Los aceites de oliva extra virgen, virgen y lampante se clasifican según sus propiedades organolépticas, para ello deben alcanzar unas puntuaciones mínimas en los paneles de cata.

El color de los aceites de oliva vírgenes puede variar del dorado al verde oscuro, dependiendo de la variedad de aceituna empleada, pero ello no indica que su calidad sea mejor o menor.

En cuanto al sabor, hay una serie de atributos que los paneles de cata consideran positivos, y otros negativos, estos son [2]:

- **Atributos positivos:** Afrutado (que puede ser verde o maduro), amargo y picante.
- **Atributos negativos:** Atrojado/borras, moho-humedad, hongos y levadura, avinado-avinagrado/Ácido-agrio, metálico, rancio, cocido o quemado, heno-madera, basto, lubricante, alpechín, salmuera, esparto, tierra, gusano, pepino, madera húmeda.

Los atributos positivos deben guardar cierto equilibrio entre sí ya que si por ejemplo predominase mucho el picante tampoco sería considerado positivamente. El aceite de oliva (a secas) al ser en su gran mayoría aceite de oliva refinado, no se somete a catas por paneles ya que no posee ninguna propiedad organoléptica mínimamente comparable a cualquier aceite de oliva virgen o extra virgen. El poco sabor u olor que tiene un aceite de oliva (no virgen) procede de la pequeña cantidad de aceite de oliva virgen o extra virgen que lleva.

Los rasgos que perfilan las características sensoriales de los aceites vírgenes -fragancia, dulzor, regusto almendrado, sabor a manzanas, afrutamiento, frescura, etc. Revelan la complejidad de sensaciones olfativas y gustativas. La familia de los olivos, la composición del suelo en el que crecen, la orografía del terreno en el que se asientan, las circunstancias en las que han madurado las aceitunas, el cuidado con el que se ha realizado su recolección y molienda, incluida la climatología de cada campaña, influyen en el nivel de unos parámetros gustativos siempre cambiantes.

Los matices que perfilan las singularidades de los aceites vírgenes dependen, entre otros muchos factores, del punto de maduración de los frutos en el momento de su recolección.

El color y el aroma revelan, en una primera toma de contacto, la mayoría de sus secretos.

Su escala cromática se dispersa en un amplio abanico de transparencias revelando anticipadamente sus rasgos gustativos. Los reflejos oscuro-verdosos -característicos de los líquidos afrutados y tiernamente amargos- corresponden a aceitunas que aún no han completado su proceso de maduración, mientras que los destellos amarillo-dorados pertenecen a aceites dulces obtenidos de frutos de cosecha tardía.

Comúnmente, los rasgos gustativos de un aceite y su escala de transparencias cromáticas no guardan relación con su nivel de ácido oleico contenido en peróxidos, K-270, etc. datos que sólo definen un conjunto de variables analíticas pero no sensoriales. Al finalizar los procesos extractivos en las prensas o molinos, tan sólo los aceites vírgenes (zumo puro de oliva, sin mezclar ni refinar) que poseen un contenido en ácido oleico inferior al 1,5° (finos) se destinan al consumo inmediato; dentro de éstos, aquellos que no rebasan 1° ("extras") se consideran los más selectos: "el oro líquido" mencionado por Homero. Los que presentan una graduación comprendida entre 1,5° y 3° ("corrientes" o "semifinos"), e incluso los que superan este porcentaje ("lampantes"), se refinan mediante procedimientos físicos con objeto de que queden aptos para su comercialización posterior. El buen gourmet descubre inmediatamente su redondez y perfume. En base a criterios rigurosos puede afirmarse que no existen razones para que un aceite de mesa presente otros sabores que los emanados de las aceitunas de las que procede. La ciencia de la cata se ajusta a una sencilla técnica. Suele afirmarse que para realizar una buena degustación de aceite de oliva es suficiente llevarse a la boca una cucharada sopera, masticándolo lentamente durante unos minutos, de modo que todas las zonas sensibles de la lengua resulten impregnadas, rechazando mediante una aspiración lenta los vapores emitidos hacia la nariz <sup>[10]</sup>.

### 3.6 USOS DEL ACEITE DE OLIVA.

#### Usos alimenticios

Hoy en día el aceite de oliva forma parte de un cierto "arte de vivir". Su consumo, como el de otros productos "redescubiertos" por la época moderna, no se reduce a las zonas de origen del cultivo del olivo, sino que se ha convertido en uno de los signos de la cocina gourmet, que sabe dar a cada alimento su justo lugar en una alimentación inteligente y refinada <sup>[10]</sup>.

- En frío, se consume aderezando ensaladas, verduras, pescados, etc., puede utilizarse en menor cantidad puesto que su sabor y aroma son más intensos.

### **Ventajas**

- Al calentar el aceite de oliva se comprueba fácilmente como "crece", como aumenta su volumen y, por lo tanto, se necesita menos cantidad para cocinar o freír.
- Es más estable en comparación con otros aceites vegetales y se descompone de una manera más lenta.
- Impregna menos de grasa al alimento, y en consecuencia, el alimento frito en este aceite absorbe menos grasa, y por tanto es menos calórico.

### **Usos medicinales**

Las grasas (*lípidos*) son indispensables para el sostenimiento de la vida. Sus funciones de aporte energético al metabolismo se complementan además con otras funciones biológicas de gran importancia, tal y como: facilitadores del transporte y absorción de algunas vitaminas (denominadas liposolubles), precursor de algunas hormonas. La presencia de grasas favorece los sabores, haciendo que sean más apetecibles algunos alimentos. Se ha denominado al aceite de oliva como uno de los pilares de la llamada dieta mediterránea, debido al uso intensivo que de él se hace <sup>[9]</sup>.

- Existen numerosos tipos de cáncer relacionados con el tipo de dieta, algunos de los cuales parecen tener una relación directa con el tipo de grasa presente en ésta, como el cáncer de colon, mama y próstata. A este respecto el aceite de oliva resulta un elemento eficaz en la protección contra la aparición y evolución de ciertos tipos de tumores. Los motivos por los que el aceite de oliva resulta tan beneficioso son: su perfil en ácidos grasos (principalmente ácido oleico monoinsaturado y con cierta presencia de poliinsaturados) y su poderoso poder antioxidante <sup>[11]</sup>.

- El ácido oleico es un tipo de grasa monoinsaturada característica del aceite de oliva, este ejerce una acción beneficiosa para nuestros vasos sanguíneo y nuestro corazón, ya que aumenta el llamado "buen colesterol" (HDL-c) sanguíneo, contribuyendo a reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares <sup>[9]</sup>.

- En los diabéticos, el consumo de Aceite de Oliva Extra Virgen favorece la disminución de los niveles de glucemia, necesitando de esta forma menores dosis de insulina <sup>[12]</sup>.

- El Aceite de Oliva tiene una relación con la absorción de Calcio y Fósforo. La absorción de estos dos componentes en los huesos está relacionada con la cantidad y el tipo de grasa presentes en la dieta. Los ácidos oleico, linoleico y linolénico del aceite de oliva estimulan la absorción de calcio al contrario que los ácidos saturados de las grasas animales que tienen el efecto contrario. Por consiguiente repercute en el crecimiento y la mineralización de los huesos <sup>[10]</sup>.

- El consumo elevado de grasas poliinsaturadas presentes en aceites de semillas en alta concentración puede perjudicar ciertas funciones cerebrales. Existe una correlación entre el nivel de inteligencia y el índice de instauración en la dieta sobre todo en la vejez.

Las funciones cerebrales disminuyen cuando el ácido linoleico aporta más del 2 % de las calorías y el linolénico más del 0,5% [13].

Por su correcto perfil ácido y la cantidad de antioxidantes presentes en el Aceite de Oliva Extra Virgen no presenta estos problemas y resulta un aceite beneficioso en la dieta de personas ancianas.

- El Aceite de Oliva Extra Virgen posee un perfil ácido sumamente interesante, pues en relación con el aporte de los ácidos grasos esenciales, linoleico y linolénico, que son elementos que el organismo no puede sintetizar y que por tanto deben ser ingeridos con la dieta, se puede comentar lo siguiente: el Aceite de Oliva tiene suficiente linoleico y linolénico como para satisfacer estas necesidades, pero en una concentración no elevada con lo que se evitan todos los problemas derivados del consumo de alimentos ricos en ellos: oxidaciones, y formación de cálculos en el hígado [13].

- Las madres en estado de lactancia, alimentadas con Aceite de Oliva Extra Virgen, generan leche con las cantidades óptimas de ácidos grasos. Esto tiene como consecuencia que todos los efectos anteriormente descritos en relación a la presencia de oleico y su relación con los demás ácidos grasos también se producirán en el lactante [10].

- Las clorofilas tienen diversas funciones fisiológicas como su función antioxidante que producirá aquellos efectos que ya hemos visto anteriormente basados en esta propiedad. Pero además tienen otras propiedades como la capacidad de excitar el metabolismo, el crecimiento celular y estimular la hematopoyesis que es la formación de células sanguíneas [14].

- El caroteno o pro-vitamina A tiene importancia nutritiva como precursor de esta vitamina. Por otro lado también es un elemento antioxidante. Su presencia en aceite de oliva depende de factores como el cultivo y un buen manejo del sistema de extracción [14].

- El alfa tocoferol es la vitamina E. De ahí la importancia nutritiva de esta fracción presente en el Aceite de Oliva Extra Virgen. Se ha demostrado que en los casos en que concurre una relación menor se ocasiona la formación de endoperóxidos. Estos endoperóxidos aumentan el riesgo de trombosis, aterogénesis y también la formación de radicales libres que ocasionan procesos de envejecimiento celular y cáncer. El aceite de Oliva Extra Virgen presenta una relación adecuada y no presenta este problema [14].

- Los compuestos fenólicos forman parte de la fracción insaponificable o componentes menores del aceite de oliva, al igual que los pigmentos y tocoferoles anteriormente mencionados. Tienen importancia en las características organolépticas y además también tienen un efecto antioxidante [14].

- Recientemente se dio a conocer un nuevo efecto beneficioso para la salud generado por los compuestos polifenólicos presentes en el aceite de oliva extra virgen, en este caso, por una molécula de ácido elenólico unido a tirosol. Se demostró, simulando las circunstancias de una digestión en laboratorio, que los

compuestos polifenólicos estudiados resisten las condiciones ácidas del estómago, por lo que podrían ejercer este efecto bactericida *in situ*. Los investigadores analizaron los efectos del aceite de oliva extra virgen sobre tres cepas de *H.pylori* procedentes de colecciones de cultivos, así como otras cinco cepas procedentes de aislamientos de origen clínico, detectaron en el aceite una elevada actividad bactericida *in Vitro* frente a *H.pylori*, lo que permite albergar esperanzas de su beneficiosa incidencia *in vivo* [15].

### Usos religiosos

En algunos países del mediterráneo oriental el derramamiento de aceite de oliva sobre un altar era considerado como una solicitud de fecundidad a los dioses.

En la iglesia católica romana, el aceite de oliva extra virgen se usa en el bautismo, en la confirmación y en la unción de enfermos o extrema unción. Son los llamados santos óleos (el óleo y el crisma), bendecidos según un ritual propio.

En el Corán también se cita al aceite de oliva. En las *Menorah* (candelabros de siete brazos) los judíos prefieren usar aceite de oliva [2].

### Usos industriales

Alguna cantidad de la producción de aceite de oliva se dedica a la elaboración de jabones de alta calidad y subproductos del aceite de oliva emplean en el campo como un herbicida o pesticida natural [16].

## 3.7 NORMA DE CALIDAD QUE RIGE LOS ACEITES DE OLIVA.

El aceite de oliva es el único tipo de grasa, cuya autenticidad y calidad están reguladas legalmente.

Existen diferentes normas que rigen la calidad de los aceites de oliva. Dependiendo de cada país hay una cantidad determinada para todos sus componentes principales, además de tener un control sobre todo lo concerniente a estos aceites, proceso, etiquetado, etc.

Dentro de estas Normas está la Norma del codex para los aceites de oliva vírgenes, la cual se utilizó como base del estudio realizado.

### 3.7.1 NORMA DEL CODEX PARA LOS ACEITES DE OLIVA EXTRA VIRGENES Y REFINADOS Y LOS ACEITES REFINADOS DE ORUJO DE ACEITUNA CODEX STAN 33-1981 (Rev. 2-203) [17].

Art. 3. Características del aceite de oliva.

3.1 Características de identidad (en condiciones ecológicas normales)

Los límites de los factores esenciales de composición y calidad de los aceites de oliva vírgenes presentan valores mínimos y máximos muy espaciados entre sí, ya que tienen en cuenta las características del aceite de todos los países productores.

Todos los años, la publicación "Fichero Oleícola Nacional" de cada país productor publica las características y límites de los índices y valores físicos y químicos y de la composición en ácidos grasos de las diversas calidades de aceites de oliva vírgenes que se producen en cada zona olivarera, determinados al principio y al final de cada campaña olivarera.

Las muestras cuyos ácidos grasos determinados por CG no estén comprendidos dentro de los márgenes señalados se considerarán no conformes a la norma. Si se estima necesario podrán emplearse criterios facultativos adicionales para confirmar que la muestra se ajusta a la norma.

### 3.1 Composición de ácidos grasos determinada mediante CG (% m/m de ésteres de metilo):

Ácido	Número de carbonos : instauraciones	% peso
Láurico	C 12:0	no detectable
Mirístico	C 14:0	<0,1
Palmítico	C 16:0	7,5 - 20,0
Palmitoléico	C 16:1	0,3 - 3,5
Heptadecanoico	C 17:0	<0,5
Heptadecenoico	C 17:1	<0,6
Estearico	C 18:0	0,5 - 5,0
Oleico	C 18:1	55,0 - 83,0
Linoleico	C 18:2	3,5 - 21,0
Linolénico	C 18:3	<1,5
Araquídico	C 20:0	<0,8
Behénico	C 22:0	<0,3
Erúcico	C 22:1	no detectable
Lignocérico	C 24:0	<1,0

#### 3.1.2 Índices físicos y químicos

3.1.2.1 Densidad relativa (20°C/agua a 20°C)	
Aceite de oliva virgen)	
Aceite de oliva refinado)	0,910 - 0,916
Aceite refinado de orujo de aceituna)	
3.1.2.2 Índice de refracción ( $\eta^{20}$ )	
Aceite de oliva virgen)	1,4677 - 1,4705
Aceite de oliva refinado)	
Aceite refinado de orujo de aceituna)	1,4680 - 1,4707
3.1.2.3 Índice de saponificación (mg de KOH/g de aceite)	
Aceite de oliva virgen)	184 - 196
Aceite de oliva refinado)	
Aceite refinado de orujo de aceituna)	182 - 193
3.1.2.4 Índice de yodo (Wijs)	
Aceite de oliva virgen)	75 - 94
Aceite de oliva refinado)	
Aceite refinado de orujo de aceituna)	75 - 92
3.1.2.5 Materia insaponificable (empleando éter de petróleo)	
Aceite de oliva virgen)	No más de 15 g/kg
Aceite de oliva refinado)	

Aceite refinado de orujo de aceituna	No más de 30 g/kg
3.1.2.6 Índice de Bellier	
Aceite de oliva virgen	17 como máximo
Aceite de oliva refinado	
Aceite refinado de orujo de aceituna	No aplicable

### 3.7.2 ETIQUETADO

#### Art. 5. Indicaciones facultativas.

- “Primera presión en frío”: podrá figurar únicamente tratándose de aceites de oliva vírgenes o vírgenes extra obtenidos a menos de 27°C, mediante un primer prensado mecánico de la pasta de aceitunas, gracias a un sistema de extracción de tipo tradicional con prensas hidráulicas.
- “Extracción en frío”: podrá figurar únicamente tratándose de aceites de oliva vírgenes o vírgenes extra obtenidos a menos de 27°C mediante filtración o centrifugación de la pasta de aceitunas.
- Las indicaciones de las características organolépticas podrán figurar únicamente si se basan en los resultados de alguno de los métodos de análisis previstos en el Reglamento (CEE) 2568/91.
- Acidez o acidez máxima: podrá figurar únicamente si se acompaña de la indicación, en caracteres del mismo tamaño y en el mismo campo visual, del índice de peróxidos, del contenido de ceras y de la absorbencia en el ultravioleta, determinados de conformidad con el Reglamento (CEE) 2568/91.

**Artículo 7.** Se aplicarán las disposiciones de la Norma General para el Etiquetado de los Alimentos Preenvasados (Ref. CODEX STAN 1-1985 (Rev. 1-1991) [17].

#### 7.1 Nombre del producto

7.1.1 Todos los productos designados por "aceite de oliva" deberán ajustarse a las disposiciones de esta norma relativas al aceite de oliva virgen o al aceite de oliva refinado, o bien una mezcla de aceite de oliva virgen y aceite de oliva refinado.

7.1.2 Todos los productos designados por "aceite de oliva virgen" deberán ajustarse a las disposiciones para el aceite de oliva virgen.

7.1.3 Todos los productos designados por "aceite de oliva refinado" deberán ajustarse a las disposiciones para el aceite de oliva refinado.

7.1.4 Todos los productos designados por "aceite refinado de orujo de aceituna" deberán ajustarse a las disposiciones para el aceite refinado de orujo de aceituna.

7.1.5 El aceite refinado de orujo de aceituna no deberá describirse en ningún caso como aceite de oliva, indicando siempre que se trata de "aceite refinado de orujo de aceituna"

7.1.6 Las mezclas de aceites refinados de orujo de aceituna y aceites de oliva vírgenes deberán designarse por "aceite de orujo de aceituna".

La cromatografía es una técnica que permite separar, aislar e identificar los componentes de una mezcla de compuestos químicos, la muestra es distribuida entre dos fases, una estacionaria y otra móvil, de tal forma que cada uno de los compuestos de la mezcla es selectivamente retenido por la fase estacionaria en la cual las sustancias individuales exhiben diferencias en adsorción, partición, solubilidad, presión de vapor, tamaño de partícula o densidad de carga iónica. Una vez separadas las sustancias pueden ser identificadas y cuantificadas [18].

### 3.8.1 CROMATOGRAFÍA DE GASES.

La cromatografía de gases es una técnica de separación creada por James y Martin en 1952; en la cual la fase móvil es un gas. Puede tener una fase estacionaria sólida o líquida retenida en un soporte adsorbente (columnas empacadas), o en la pared interna de una columna tubular abierta (columnas capilares) [19].

Las separaciones en la fase estacionaria ocurren debido a los efectos de la partición o adsorción, que se basan en establecer un equilibrio entre la fase estacionaria y la fase móvil. La adsorción es el resultado de la interacción de grupos funcionales polares en el soluto con sitios de adsorción discretos en la superficie adsorbente como zeolitas (silicatos de aluminio), poropacks (poliestirenos entrecruzados) y masas moleculares.

El sistema de cromatografía de gases consiste en varios módulos básicos ensamblados para: 1) proporcionar un gasto o flujo constante del gas transportador (fase móvil), 2) permitir la introducción de vapores de la muestra en la corriente de gas que fluye, 3) contener la longitud apropiada de fase estacionaria, 4) mantener la columna a la temperatura apropiada (o la secuencia del programa de temperatura), 5) detectar los componentes de la muestra conforme eluyen de la columna, y 6) proveer una señal legible proporcional en magnitud a la cantidad de cada componente [20].

Los módulos del instrumento se muestran esquemáticamente en la Fig 2.

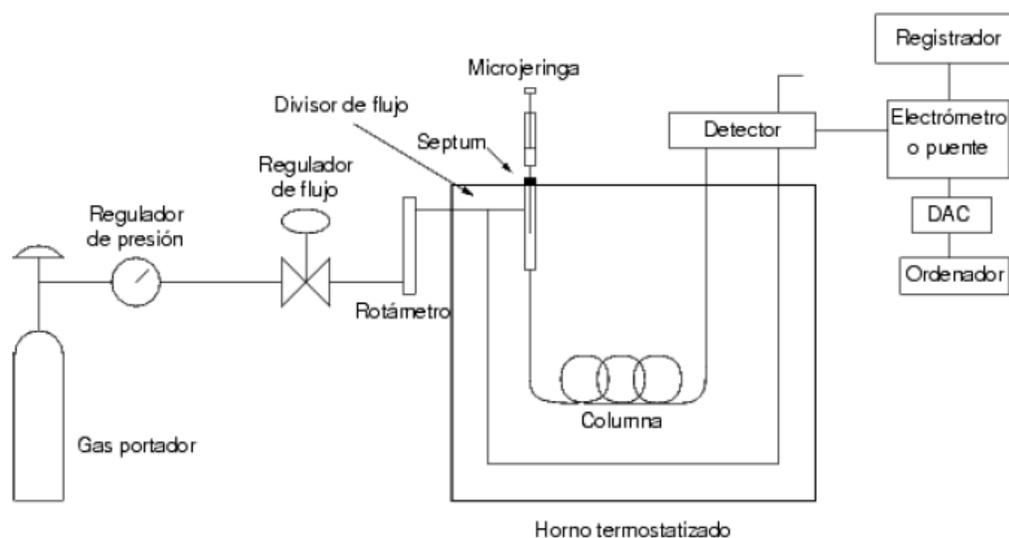


FIGURA 2.- Esquema ejemplo de un cromatógrafo de gases.

La cromatografía de gases se puede clasificar primero por el tipo de columna utilizada, y después por la fase estacionaria.

En una columna empaquetada de GC, la fase estacionaria está constituida por partículas empaquetadas dentro de una columna de vidrio o de acero inoxidable con diámetro interno (di) normalmente entre 2 y 4 mm. La fase estacionaria puede consistir en varios sólidos porosos por sí solos (**cromatografía de gas-sólido "GSC"**), donde la retención de los analitos se debe al equilibrio proporcionado por la adsorción y desorción sobre la superficie del sólido. Otra opción es recubrir las partículas de la fase estacionaria con cierto número de líquidos con un alto punto de ebullición (**cromatografía de gas-líquido "GSL"**). La separación de los analitos depende de las diferentes fracciones de tiempo en las que se mantienen disueltos en la fase estacionaria líquida. Los componentes más solubles se retienen durante más tiempo, dado que pasan menos tiempo viajando con el gas portador [21].

### 3.8.1.1 DERIVATIZACIÓN DE LAS MUESTRAS.

Los componentes que son inyectados al cromatógrafo de gases deben pasar a estado gaseoso (si es que no son un gas), los componentes de la muestra al vaporizarse pueden ser acarreados por la fase móvil gaseosa, por lo tanto el requerimiento básico de los componentes que son analizados por cromatografía de gases es que sean volátiles, y además los componentes de la muestra tienen que ser termoestables a la temperatura de trabajo a la cual se lleve a cabo el análisis. Es por las razones anteriores que se emplea la derivatización, además de mejorar el comportamiento cromatográfico o la detectabilidad del analito.

La baja volatilidad de un compuesto puede ser debida al tamaño de las moléculas y a las grandes fuerzas de dispersión resultantes. En moléculas pequeñas la baja volatilidad puede ser resultado de las fuertes atracciones intermoleculares entre grupos polares, por lo que el enmascaramiento de los grupos polares al derivatizar produce un dramático incremento en la volatilidad.

En otros casos, la excesiva volatilidad es un problema (como en el caso de las aminas de muy bajo peso molecular) entonces la derivatización química puede ser usada para producir derivados menos volátiles y minimizar pérdidas por la manipulación y de esta manera ayudar a separar las muestras del solvente mediante cromatografía de gases [22].

También algunos compuestos volátiles muy sensibles sufren descomposición térmica en el cromatógrafo de gases, por lo que la derivatización puede ser usada para formar compuestos más estables y de esta manera mejorar el comportamiento cromatográfico.

Los picos asimétricos en un cromatograma pueden ser el resultado de efectos de adsorción en la columna, las muestras polares tienden a adsorberse en las superficies de las paredes de la columna y del soporte sólido. La reducción de estos efectos de adsorción se encuentra en gran proporción en la aplicación de derivatización en el análisis cromatográfico. En compuestos cercanos difíciles de separar, se puede mejorar la separación mediante el uso del derivado apropiado.

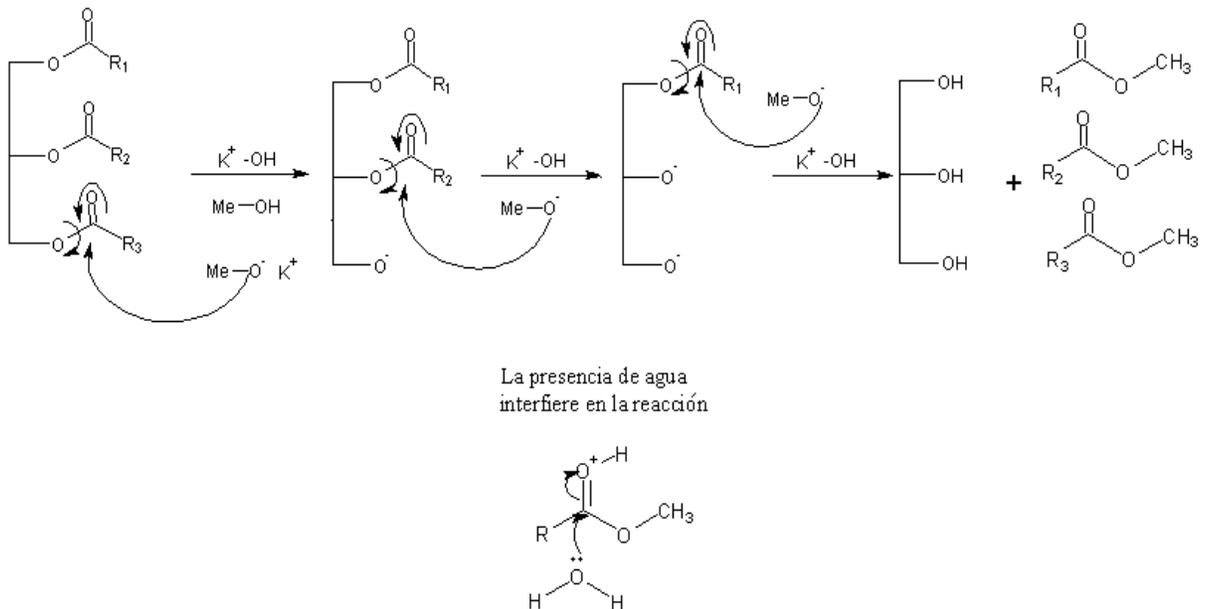
## DERIVATIZACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS PRESENTES EN EL ACEITE DE OLIVA

Los ácidos grasos insaturados presentes en su mayoría en el aceite de oliva no se pueden cuantificar directamente ya que no son estables a altas temperaturas por lo que hay que derivatizarlos para que cumplan con las características requeridas para su análisis por cromatografía de gases, sin embargo existen reacciones químicas de derivatización, que permiten la transformación de las muestras en compuestos aptos para ser analizados; un ejemplo claro es cuando un ácido graso se convierten en su derivado metil éster "FAMES" (Fatty acid methyl esters.)<sup>[23]</sup>.

La fracción saponificable del aceite de oliva está constituida por una mezcla de triglicéridos. Esta fracción se llama así porque, al reaccionar con sustancias alcalinas como el hidróxido de sodio (NaOH) da lugar a la reacción de saponificación, obteniendo glicerol y los ésteres metílicos de los ácidos grasos insaturados <sup>[24]</sup>.

En la fig. 3 se muestra el proceso de derivatización.

El ácido oleico y linoleico predominantemente se encuentran esterificados en posición 2 del glicerol; esto es importante para los objetivos analíticos <sup>[25]</sup>.



**FIGURA 3.** Obtención de los ésteres metílicos, a partir del aceite de oliva mediante derivatización.

### 3.8.1.2 COLUMNAS Y FASES ESTACIONARIAS.

Las columnas capilares poseen diámetros internos menores a 1mm, y sus paredes interiores suelen estar recubiertas de una película de fase estacionaria. Las columnas con un diámetro interno de 530  $\mu\text{m}$  se denominan normalmente **megabore**, y más pequeñas, con di 100  $\mu\text{m}$ , se denominan **microbore**. La razón principal por la que la cromatografía capilar está sustituyendo a la cromatografía empacitada es porque la eficiencia cromatográfica típica puede llegar hasta 200 000 platos teóricos, comparado con los 10 000 o menos de las columnas empacitadas. Dado que el número de platos teóricos significa mejor resolución, las

columnas capilares pueden utilizarse para separar componentes rápidamente, lo que permite realizar más ensayos en cada instrumento. Esto es, se aumenta el rendimiento en el análisis de muestras [26].

Las columnas capilares se clasifican entre ellas según se inmovilice la fase estacionaria dentro de la columna. Cuando la fase estacionaria consiste en una película de material recubriendo la superficie interior de la columna, se dice que la columna es una **WCOT** (columna abierta de pared recubierta). Para aumentar la capacidad de la columna puede incrementarse la superficie situando material de empaquetamiento en la pared. Actualmente existen dos métodos para realizar esto: Una columna SCOT (columna abierta de soporte recubierto) posee partículas de soporte en su pared: éstas son realmente las que se recubren con la fase líquida.

Una columna PLOT (columna abierta de capa porosa) tiene una fina capa de un polímero poroso depositado en su superficie interna. Tanto las columnas WCOT como las SCOT son columnas para la cromatografía de gas-líquido. Las columnas SCOT se emplean más extensamente que las WCOT por su mayor capacidad. Las columnas PLOT se utilizan en cromatografía de gas-sólido [27, 28].

En la tabla 1 se muestra una comparación de diámetros, longitudes y algunas características analíticas para columnas empaquetadas y capilares. Para columnas empaquetadas, los diámetros de partícula se expresan en función del tamaño de malla del empaquetado. Estos números definen el tamaño de hueco en un tamiz convencional para sólidos pulverizados.

Cuanto más alto es el número, más densa la malla y menor el diámetro de la partícula del empaquetamiento. Tanto en cromatografía gas-sólido como en cromatografía gas-líquido en columnas empaquetadas, la capacidad de la columna y los tiempos de retención del analito aumentan a medida que disminuye el tamaño de partícula. Esta proporción inversa ocurre porque el área por unidad de peso se incrementa con la disminución del tamaño de partícula.

**TABLA 1-** Comparación entre características de columnas empaquetadas y de columna capilares.

	<b>Empaquetada</b>	<b>WCOT y SCOT</b>	<b>PLOT</b>
<b>Diámetro interno de la columna</b>	3-6 mm	0.10-0.53 mm	0.32-0.53 mm
<b>Longitud de columna</b>	1.3 m	30-50 m	30-50 m
<b>Diámetro de partícula (<math>d_p</math>)</b>	120-185 $\mu$ m	-	-
<b>Espesor de recubrimiento</b>	-	0.1-0.5 $\mu$ m	12-25 $\mu$ m
<b>Platos teóricos/m</b>	1000-5000	1000-8000	1000-8000
<b>Número total típico de platos teóricos (N)</b>	1000-5000	25 000-200 000	250 00-200 000
<b>Capacidad total (<math>\mu</math>g/componente)</b>	100	0.05-5	0.05-5
<b>Superficie de la fase estacionaria (<math>m^2</math>)</b>	0.2	$10^{-6}$ - $10^{-7}$	$10^{-6}$ - $10^{-7}$
<b>Caudal (mL/min)</b>	20-100	0.5-5	05-10
<b>Flujo lineal (cm/s)</b>	10-50	20-50	50-100

Las fases estacionarias más comúnmente utilizadas para cierto tipo de compuesto se muestran en la tabla 2.

**TABLA 2.-** Columnas recomendadas para varios tipos de muestras.

<b>Tipos de Compuestos</b>	<b>Fases estacionarias más comunes</b>	
<b>Gases</b>	Tamices moleculares	<b>GSC</b>
<b>Gases ligeros</b>	Polímeros porosos	<b>GSC</b>
<b>Líquidos no polares</b>	Metilsiloxanos	<b>GLC</b>
<b>PCB's, muestras petroquímicas</b>	Polisiloxanos-carboranos	<b>GLC</b>
<b>Herbicidas/ pesticidas, farmacéuticos</b>	Fenil polisifenilsiloxanos	<b>GLC</b>
<b>Azúcares</b>	Cianopropilfenil metilsiloxanos	<b>GLC</b>
<b>Ácidos grasos, alcoholes</b>	Polietilenglicoles	<b>GLC</b>
<b>Alcoholes, aminas</b>	Fenilmetilsiloxanos (>50% fenil)	<b>GLC</b>

GSC.- Cromatografía gas-sólido, GLC.-Cromatografía gas-líquido

### 3.8.1.3 GAS PORTADOR.

El funcionamiento de la columna y del detector depende de la naturaleza del gas portador. El gas de acarreo, portador o fase móvil, es el que transporta a los compuestos a través de la columna. Este debe ser químicamente inerte, puro (>99%), seco y se aconseja colocar un filtro de carbón activo y una trampa para humedad antes de la entrada del gas al instrumento.

El tipo de gas acarreador depende de la velocidad requerida para el análisis y el tipo de detector a emplear. Los más utilizados son helio, nitrógeno, hidrógeno o una mezcla argón con 5 % de metano. El H<sub>2</sub> y el He dan mejor resolución (menor altura de plato) que el N<sub>2</sub> a caudales altos, por que los solutos se difunden más rápidamente en H<sub>2</sub> y en He que en N<sub>2</sub>. Cuanto más rápidamente se difunde un soluto entre las fases, menor es el término de transferencia de masa. Con ciertos tipos de columnas y detectores, se requiere el uso de un gas de complemento en el detector ("make-up"). El "make-up", es un gas de arrastre adicionado al efluente de la columna antes de que pase al detector.

El sistema del gas portador, por lo general contiene uno o varios tamices con el objeto de eliminar humedad, hidrocarburos y oxígeno. Los caudales utilizados en las columnas empacadas oscila entre 25 y 90 mL/min y de 1 a 2 mL/min en las capilares [22].

### 3.8.1.4 PROGRAMA DE TEMPERATURA.

La temperatura de la columna es una variable importante que para un trabajo preciso ha de regularse a las décimas de grado, pues de esta depende la separación ya que al aumentar la presión de vapor de los solutos se disminuyen los tiempos de retención de los componentes que se eluyen al final.

Por ello la columna normalmente se introduce dentro de un horno termostatzado. La temperatura óptima de la columna depende del punto de ebullición de la muestra y del grado de separación requerido.

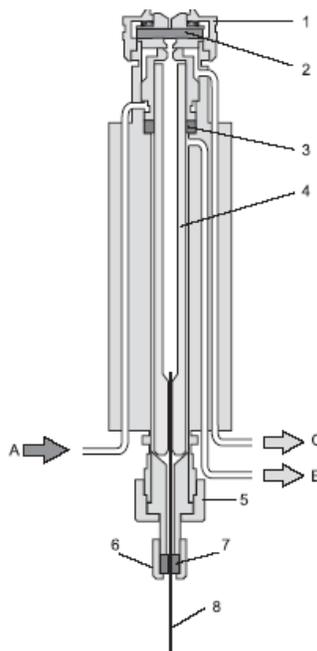
En la práctica, con una temperatura igual o ligeramente superior al punto de ebullición promedio de la muestra, se obtienen tiempos de elución razonables (2 a 30 min). Para muestras con un amplio intervalo de ebullición, a menudo es conveniente emplear una programación de temperatura, con lo que se aumenta la temperatura de la columna de forma continua y por etapas, al mismo tiempo que tiene lugar la separación. Para la programación de temperatura es deseable disponer de un intervalo de velocidades de programación desde 0.1 hasta 50°C/min. Debe ser posible sostener la temperatura en cualquier momento dentro del programa durante un tiempo. En algunos casos se puede usar la programación de presión en lugar de la temperatura para reducir los tiempos de retención de los componentes que se eluyen tarde. Al acabar una separación cromatográfica se puede reducir rápidamente la presión a su valor inicial antes de la siguiente [25].

### 3.8.1.5 INYECCIÓN DE LA MUESTRA.

Existen diferentes tipos de inyección en cromatografía de gases como puede ser: Inyección con división, inyección sin división e inyección on-column.

#### INYECCIÓN CON DIVISIÓN

Si los analitos que interesan constituyen >0.1% de la muestra, es preferible una inyección con división (*Split injection*) para introducir la muestra en la columna. En trabajos en que se requiere gran resolución los mejores resultados se obtienen con la mínima cantidad de muestra ( $1 \mu\text{l} \leq$ ) que pueda detectarse bien. La temperatura del inyector se mantiene alta, por ejemplo a unos 250°C, para facilitar la evaporación [26].



- |                      |                              |
|----------------------|------------------------------|
| 1. Porta-septum      | 7. Ferrulla de grafito       |
| 2. Septum            | 8. Columna capilar           |
| 3. Junta de grafito  | A. Entrada del gas portador  |
| 4. Inserto de vidrio | B. Línea de split            |
| 5. Tuerca            | C. Línea de purga del septum |

FIGURA 4.- Esquema de inyector tipo split/splitless

## INYECCIÓN SIN DIVISIÓN

La inyección sin división es apropiada para análisis de analitos que constituyen menos de 0.01% de la muestra. El tubo interior (guía) es un tubo recto vacío, sin cámara de mezcla. Se inyecta dentro de la guía un volumen grande (2  $\mu$ l) de disolución diluida en un disolvente de bajo punto de ebullición, con la válvula de escape cerrada. La temperatura del inyector en la inyección sin división es menor de 220°C que en la inyección con división, porque la muestra pasa mucho más tiempo en el inyector y se debe evitar que se descomponga térmicamente la muestra [22].

## INYECCIÓN ON-COLUMN

En este tipo de inyección, la muestra ingresa directamente en la columna y la vaporización ocurre después de la inyección. Este tipo de inyección requiere una microjeringa muy especial, la aguja (de acero o silicón) tiene un diámetro aproximado de 0.15 mm y penetra en la columna o la precolumna, guardando 4°C antes de aumentarla a la temperatura de operación. Este acercamiento, el cual es muy difícil de realizar sin la ayuda de un automuestrador, es muy usado para compuestos térmicamente inestables (utilizados en bioquímica) y es conocido por no discriminar compuestos de diferentes volatilidades [22].

### 3.8.1.6 DETECTORES.

Un detector ideal tiene las siguientes características:

1. Adecuada sensibilidad. Lo que constituye una adecuada sensibilidad no se puede evaluar de forma cuantitativa. Por ejemplo, las sensibilidades de los detectores que se van a describir difieren por un factor de  $10^7$ . Aunque todos se utilizan extensamente y son adecuados en ciertos casos; sin embargo, en algunas aplicaciones los menos sensibles no resultan convenientes. En general, las sensibilidades de los detectores actuales se encuentran en el intervalo de  $10^{-8}$  a  $10^{-15}$  g de analito/s.
2. Buena estabilidad y reproducibilidad.
3. Una respuesta lineal para los analitos que se extienda a varios órdenes de magnitud.
4. Un intervalo de temperaturas de trabajo comprendido desde la temperatura ambiente hasta al menos 400°C.
5. Un tiempo de respuesta corto que lo haga independiente del caudal.
6. Alta fiabilidad y manejo sencillo. Hasta el punto de estar a prueba de la impericia de operadores inexpertos.
7. Respuesta semejante para todos los analitos, o por el contrario, una respuesta selectiva y altamente predecible para una o más clases de analitos.
8. Que no descomponga la muestra.

Sin embargo no hay detector que reúna todas esas características, y tampoco parece probable que pueda llegar a diseñarse nunca.

Existe una gran variedad de detectores que indican los cambios de la composición del eluato de una cromatografía de gases. En la tabla 3 se muestran los más utilizados, con un breve resumen de sus ventajas. Las ventajas de estos detectores incluyen su límite de detección y el intervalo de linealidad. Los detectores más sensibles han permitido el desarrollo de métodos de análisis de trazas y ultratrazas. La cromatografía de gases puede usarse para cuantificar niveles de mg/L, requiriendo tan solo  $10^{-10}$  g de cada componente. El límite de detección se expresa en masa por segundo en vez de usar gramos o moles [28].

**TABLA 3.-** Propiedades de detectores para cromatografía de gases.

TIPO	Límite de detección aproximado (gs <sup>-1</sup> )	Intervalo lineal aproximado	Comentarios
Conductividad térmica (TCD)	$10^{-5}$ - $10^{-6}$	$10^3$ - $10^4$	Detector universal Mide cambios en la conducción de calor
Ionización de llama (flama) (FID)	$10^{-12}$	$10^6$ - $10^7$	Detector universal. Mide corrientes iónicas de pirolisis
Captura electrónica (EC o ECD)	$10^{-14}$	$10^2$ - $10^3$	Detector selectivo para compuestos que contienen átomos con elevada afinidad electrónica
Fotométrico de llama (FPD)	$10^{-13}$	$10^2$	Detector selectivo para compuestos que contienen S o P
Nitrógeno-fósforo	$10^{-8}$ - $10^{-14}$	$10^5$ - $10^7$	Selectivo para compuestos que contienen N o P
Fotoionización (PID)	$10^{-8}$ - $10^{-12}$	$10^5$	Detector universal (alguna selectividad debida al gas de la lámpara)
Detector Hall	$10^{-11}$	$10^5$	Detector específico para compuestos que contienen halógeno, S o N
Espectrómetro de masas (MS)	$10^{-12}$	a	Detector universal
Detector de infrarrojo de transformada de Fourier (FTIR)	$10^{-10}$	$10^2$	Moléculas polares

a. Varía, dependiendo del tipo de espectrómetro de masas así como de los tipos de compuestos analizados.

En el presente trabajo se utilizó un detector tipo FID, por lo que a continuación se hace énfasis en sus características.

### DETECTOR DE IONIZACIÓN DE FLAMA (FID)

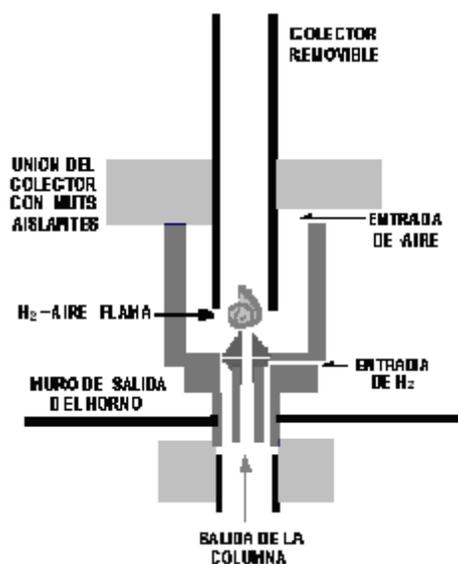
El detector de ionización de llama (FID) es uno de los detectores más extensamente utilizado y, por lo general, uno de los más aplicables. En un quemador, el efluente de la columna se mezcla con hidrógeno y con aire para luego encenderse eléctricamente.

La mayoría de los compuestos orgánicos, cuando se pirolizan a la temperatura de una llama de hidrógeno/aire, producen iones y electrones que pueden conducir la electricidad a través de la llama. Entre el extremo del quemador y un electrodo colector situado por encima de la llama, se aplica una diferencia de

potencial de unos pocos cientos de voltios, y para la medición de la corriente que resulta (de unos  $10^{-12}$ A) se utiliza un amplificador operacional de alta impedancia.

La ionización en la llama de los compuestos que contienen carbono no es un proceso bien establecido, aunque se observa que el número de iones que se produce es aproximadamente igual al de átomos de carbono transformados en la llama. El detector de ionización de llama debido a que es un detector que responde al número de átomos de carbono que entra en el detector por unidad de tiempo, es un detector *sensible* a la masa, más que un sistema sensible a la concentración. En consecuencia, este detector tiene la ventaja de que los cambios en el caudal de la fase móvil tienen poco efecto sobre la respuesta del detector.

Grupos funcionales, tales como carbonilo, alcohol, halógeno y amina, originan en la llama pocos iones o prácticamente ninguno. Además, el detector es insensible a los gases no combustibles como  $H_2O$ ,  $CO_2$ ,  $SO_2$ , y  $NO_x$ . Esas propiedades hacen del detector de ionización de llama uno de los detectores generales más utilizado para el análisis de la mayoría de compuestos orgánicos, incluyendo aquellos que están contaminados con agua y con óxidos de nitrógeno y de azufre.



**FIGURA 5.-** Esquema con las partes que componen al FID

El detector de ionización de llama posee una elevada sensibilidad (del orden de  $10^{-13}$  g/s), un gran intervalo lineal de respuesta (de  $10^7$ ), y un bajo ruido. Por lo general, es resistente y fácil de utilizar [28]. En la figura 5 se muestra el esquema de las partes de un detector de flama FID.

### 3.8.1.7 DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS POR CROMATOGRAFÍA

Los cromatogramas se utilizan a menudo como criterio de pureza de compuestos orgánicos. Los contaminantes, si están presentes, se manifiestan por la aparición de picos adicionales; las áreas de estos picos proporcionan una estimación aproximada del grado de contaminación.

No obstante, una parte importante en la determinación cromatográfica de un compuesto es la obtención de la curva de calibración. La curva de calibración se obtiene al representar gráficamente el área bajo la curva obtenida en función de la concentración conocida.

Como es deseable, la gráfica debe tender a una línea recta. Sin embargo, debido a los errores indeterminados en el proceso de medida, no todos los datos tienen un comportamiento lineal a causa del error indeterminado. La relación matemática que describe esta suposición se denomina regresión lineal por mínimos cuadrados y se representa como:  $Y = mx + b$ , donde  $b$  es la ordenada en el origen (el valor de  $Y$  cuando  $x$  es cero) y  $m$  es la pendiente de la recta. La determinación de la concentración del analito de interés se realiza a través de la interpolación de la señal de éste en la curva de calibración.

En cromatografía las condiciones varían en un mínimo en cada experimento; sin embargo, el volumen en la inyección es la principal fuente de error en los análisis por CG. La adición de un estándar interno (método de estándar interno) permite compensar este tipo de errores debido a que el uso de este estándar interno tiende a reducir las imprecisiones que surgen por introducción de la muestra puesto que se grafica un cociente de áreas, logrando máxima precisión, ya que se minimizan las incertidumbres en inyecciones manuales de la muestra [28].

En este procedimiento se introduce una cantidad cuidadosamente medida de un estándar interno en cada muestra y se usa como parámetro analítico la proporción del área del pico del analito (o su altura) sobre el área del pico de estándar interno (o su altura). Para que este método tenga éxito, es necesario que el pico del patrón interno este bien separado de los picos de los demás componentes de la muestra. Sin embargo, debe ser cercano al pico del analito, y no debe formar parte de la muestra que se analiza.



## 4. DESARROLLO EXPERIMENTAL.

### 4.1 EQUIPO

Cromatógrafo de Gases Trace GC 2000 SERIES *Termo Quest CE Instruments Finnigan* equipado con detector de ionización de llama (FID)

La figura 6 muestra una fotografía del equipo usado durante la experimentación de este proyecto.



FIGURA 6.-Cromatógrafo de Gases de la FES-C, nave 3000.

#### • Columna cromatográfica

Columna: CARBOWAX 20M

Dimensiones:

30 m de Longitud

DI = 0.25 mm,

0.5  $\mu\text{m}$  de espesor de la película.

### 4.2 MATERIALES:

#### 4.2.1 REACTIVOS

Estándares cromatográficos:

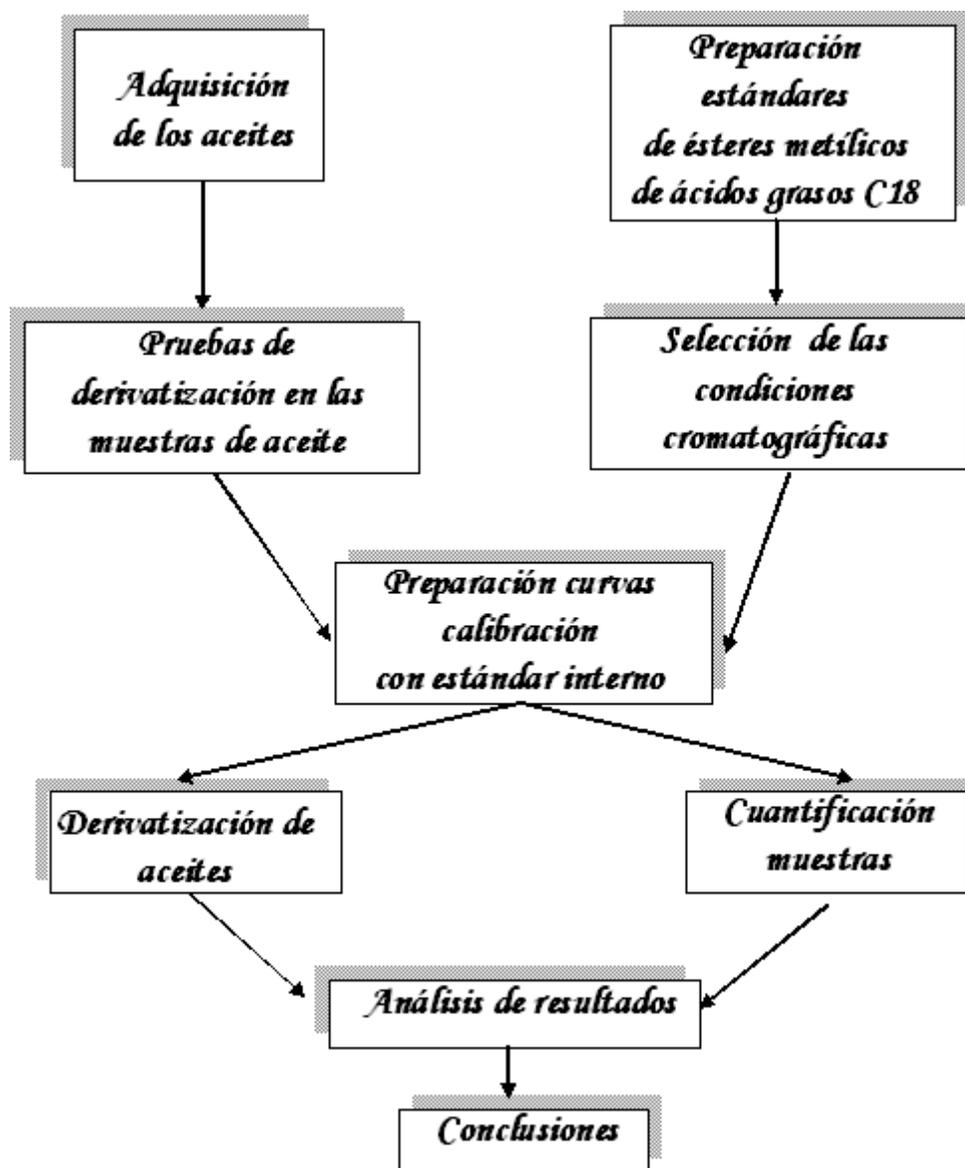
Laurato de metilo (pureza 99.5%), oleato de metilo (pureza 99%), linoleato de metilo (pureza 98.5%), Linolenato de metilo (pureza 99%); [Estándares para Cromatografía de Gases, SIGMA-ALDRICH].

n-Hexano para HPLC [ Prolabo]

Hidróxido de potasio, alcohol metílico, bicarbonato de sodio (pureza 99.7%), ácido clorhídrico (pureza 37%), sulfato de sodio anhidro (pureza 98.52%); [Baker].

Agua desionizada

## DIAGRAMA DE FLUJO



#### 4.2.2 ACEITES

La tabla 4 muestra los aceites que fueron analizados y su correspondiente origen.

**TABLA 4.- Aceites analizados y su origen.**

MARCAS	ORIGEN	MARCAS	ORIGEN	MARCAS	ORIGEN
Oli ML	MEXICANO	Ibarra	ESPAÑOL	Filippo Berio	ITALIANO
L.A. Cetto	MEXICANO	Hojiblanca	ESPAÑOL	Condi	ITALIANO
Oli Oliva	MEXICANO	Borges	ESPAÑOL	Carapelli Firenze	ITALIANO

#### 4.3 DERIVATIZACIÓN DE LAS MUESTRAS.

Se probaron dos métodos de derivatización de las muestras. El primero resultó ser muy sencillo; sin embargo las muestras obtenidas por este procedimiento no son estables, pues no se garantiza una reacción completa y no es por lo tanto una técnica confiable para realizar una cuantificación. Mientras que el segundo método permite realizar una reacción más eficiente, con productos estables. No obstante se hace mención del primer método, pues si permite la identificación de los ácidos grasos.

##### **Método uno** <sup>[29]</sup>.

- Se tomaron aproximadamente dos gotas de aceite de oliva y fueron disueltas en seis gotas de una solución de KOH en metanol 2 N, a la cual se le agregaron 2 ml de n-hexano.
- La mezcla se agito vigorosamente con ayuda de un vortex, durante 2 min.
- Se agregó sulfato de sodio para eliminar restos de agua, la mezcla se agitó durante dos minutos más.
- Se inyectaron 0.4  $\mu$ L al cromatógrafo de gases.

##### **Método dos** <sup>[4]</sup>.

- En un vial se pesaron aproximadamente 40 mg de aceite, para cuantificar ácido oleico y 125 para linoleico.
- Se agregó 1 mL de KOH al 10% en metanol. Se tapó con teflón y se coloca en la estufa durante una hora a 80°C.
- Se dejó enfriar y se agregaron 1 mL de HCl al 10% en metanol
- El vial se tapó con teflón y se calentó en la estufa durante una hora a 80°C.
- Se dejó enfriar y se agregaron 2 mL de agua, después se agregó poco a poco bicarbonato de sodio al 5% hasta neutralizar (conseguirlo con la ayuda de papel pH), agitando suavemente para evitar que se derrame (Vol. aproximado 3 mL).
- A la mezcla anterior se agregaron 1.5 mL de n-hexano, se agitaron las dos fases con un vortex de 5 a 10 min. y se dejó reposar.
- Se separó la fase de n-hexano, y se colocó la fase orgánica en un matraz volumétrico de 5 mL al que previamente se le adicionó 1 ml de solución de estándar interno (Laureato de metilo).

h. Se agregaron nuevamente 1.5 ml a la fase acuosa y se agitó de 5 a 10 min, se dejó reposar y se separó la fase orgánica, que fue colocada junto con la de la extracción anterior.

Finalmente se llevó al aforo con n-hexano; y se transvasó a un vial. Los viales se sellaron con teflón y se mantuvieron en refrigeración hasta el momento de la inyección.

h. Se inyectaron 0.2  $\mu$ L en el cromatógrafo de gases.

#### 4.4 INYECCIÓN DE ESTANDARES.

A fin de verificar la pureza y determinar los tiempos de los tiempos de retención de los ácidos grasos que comúnmente contienen los aceites de oliva; se inyectan en forma individual y por triplicado 0.2  $\mu$ L de una solución preparada con 20 mg de cada uno de los estándares puros y aforados en 5 ml. Posteriormente estos tiempos fueron utilizados para la identificación de los ácidos grasos de los aceites analizados.

#### 4.5 INYECCIÓN DE MUESTRAS.

Se inyectaron por triplicado ( $n = 3$ ) cada una de las muestras derivatizadas de aceites, a las mismas condiciones que los estándares, para corroborar los compuestos que contenían, por la comparación de los tiempos de retención reportados en las muestras problema con los de los estándares.

#### 4.6 CURVA DE CALIBRACIÓN.

##### 4.6.1 ESTÁNDAR INTERNO.

Se eligió el laureato de metilo como estándar interno debido a que no se encuentra presente en las muestras analizadas.

La solución de estándar interno se preparó a una concentración de 3.037934 mg/mL, para ello se tomaron 763.3  $\mu$ L del estándar interno (laureato de metilo) y se aforaron en 50 mL.

##### 4.6.2 SOLUCIÓN ESTÁNDAR.

Se pesan 141 mg de estándar de éster metílico de ácido oleico, 142 mg de estándar de éster metílico de ácido linoleico y 141 mg de estándar de éster metílico de ácido linolénico y se aforan a 5 mL con n-hexano.

Las concentraciones a las que se llevaron a cabo las curvas de calibración se muestran en la tabla 5.

**TABLA 5.-** Concentraciones para las curvas de calibración de los FAMES.

Sistema	Oleato de metilo	Linoleato de metilo	Linolenato de metilo
1	0.05	0.05	0.05
2	1.68	1.68	1.68
3	3.35	3.36	3.35
4	5.03	5.04	5.03
5	6.70	6.71	6.70

Todos los FAMES se aforan en un matraz de 5mL, posteriormente se tomaron los microlitros necesarios para lograr la concentración especificada y se llevaron a un aforo de 5 mL.

A cada sistema se le agregó 1 mL de solución del estándar Interno. Se incorporó completamente al sistema y posteriormente se inyectó por triplicado.

**TABLA 6.-** Preparación de los sistemas para la curva de calibración.

SISTEMA	Compuesto	SOLUCIÓN A INYECTAR			
		Conc. (mg/mL)	aforo requerido	µL de stock tomados.	Conc. Real (mg/mL)
1	Oleato de metilo	0.05	5	9	0.048
2		1.67	5	300	1.613
3		3.35	5	600	3.227
4		5.02	5	900	4.840
5		6.7	5	1200	6.453
6		8.3	5	1500	8.067
1	Linoleato de metilo	0.05	5	9	0.051
2		1.67	5	300	1.686
3		3.35	5	600	3.371
4		5.02	5	900	5.057
5		6.7	5	1200	6.742
6		8.3	5	1500	8.428
1	Linolenato de metilo	0.05	5	9	0.051
2		1.67	5	300	1.692
3		3.35	5	600	3.383
4		5.02	5	900	5.075
5		6.7	5	1200	6.767
6		8.3	5	1500	8.459

#### 4.6.3 PROCESAMIENTO DE LOS DATOS PARA REALIZAR LA CURVA DE CALIBRACIÓN.

Para realizar la curva de calibración de los diferentes ésteres se realizó el siguiente procedimiento:

1. Se obtuvieron las áreas de cada alcohol ( $A_{\text{metil éster}}$ ), de los cromatogramas dependiendo del tiempo de retención.
2. Se obtuvo el área del estándar interno ( $A_{e.i.}$ ), del mismo cromatograma.
3. Se obtuvo la relación de áreas ( $A_{\text{metil éster}} / A_{e.i.}$ ), para cada una de las corridas.
4. Se calculó el promedio de la relación de áreas.
5. Se obtuvieron las concentraciones reales para cada sistema, de cada éster metílico.
6. Se ordenaron los datos de la relación de áreas de acuerdo al sistema, con su respectiva concentración. Para cada metil éster.



7. Se graficaron dichos datos, teniendo en el eje de las Y la relación de áreas y en el eje de las X la concentración del alcohol.
8. Se obtuvo la regresión lineal por el método de mínimos cuadrados, con su respectiva ecuación y correlación lineal (la cual fue mayor a 0.99 para los tres ésteres).

#### **4.7 CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN LAS MUESTRAS PROBLEMA.**

Una vez que se obtuvo la curva de calibración se procedió a realizar la cuantificación de los tres ácidos grasos más importantes, presentes en los aceites de oliva.

Para ello se realizaron, cinco derivatizaciones por aceite, dichas muestras se inyectaron por triplicado al cromatógrafo (0.2  $\mu$ L).

Una vez que se inyectaron las muestras se procesaron los datos obtenidos. Para ello se tomaron las áreas de los cromatogramas para cada éster metílico y estándar interno.

Al igual que en la curva de calibración se obtuvo la relación de áreas de cada éster metílico (oleico, linoleico y linolénico) y el estándar interno, y se interpoló en la curva de calibración respectiva del éster metílico que se desea cuantificar, para obtener su concentración.

Dado que la estequiometría de la reacción de derivatización es uno a uno, al cuantificar los ésteres metílicos, se obtiene de forma directa la concentración de los ácidos grasos.

#### **4.8 FORTIFICACIÓN.**

Dado que no se posee un placebo para las muestras comerciales, para determinar el porcentaje de recobro, se realizó la fortificación de las muestras obtenidas de la derivatización, para esto se eligió el aceite "Oli ML", fue el que presentó una menor cantidad de ácidos grasos en comparación con los otros aceites analizados y permitió llevar la muestra a tres niveles de fortificación,

Para este análisis se derivatizaron 40 mg de aceite, posteriormente se agregan los estándares de los ésteres metílicos: oleico, linoleico y linolénico; con el fin de obtener la concentración más próxima a los puntos 2, 3 y 4 de la curva de calibración. Cada una de las muestras se inyectan por triplicado.



## 5. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

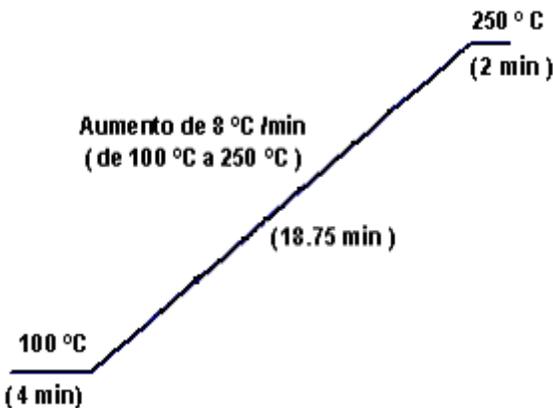
### 5.1 CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS PARA EL ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS

Las condiciones óptimas para la separación de los ácidos grasos  $C_{18}$  por cromatografía de gases se muestran en la Tabla 7.

**TABLA 7.-** Condiciones cromatográficas para la separación de los ácidos grasos.

Parametro	Especificación
Split	50 %
Temperatura base del inyector	250 °C
Temperatura del detector (FID)	250 °C
Flujo del gas portador (nitrógeno)	2 mL / min
Flujo del hidrógeno	35 mL / min
Flujo del aire	350 mL / min
Flujo del gas de make-up (nitrógeno)	30 mL / min

La temperatura inicial es de 100 °C sostenida durante 4 min, posteriormente se comienza a incrementar la temperatura a razón de 8 °C/min hasta llegar a una temperatura de 250 °C, finalmente se sostiene la temperatura de 250 °C durante 2 min.



**FIGURA 7.-** Programa de temperatura.

Bajo estas condiciones, se inyectaron los ésteres metílicos de los ácidos grasos  $C_{18}$  (oleico, linoleico y linolénico) y el láurico, para dichos estándares se obtiene un pico cromatográfico con perfil gaussiano y con el tiempo de retención característico.

En la figura 8 exhibe el cromatograma que muestra la separación de esta mezcla que presenta cuatro picos, ya que al ser el disolvente el n-hexano y al estar presente en todos los cromatogramas, se ignora en discusiones posteriores.



**FIGURA 8.** Cromatograma de los estándares laurato, oleato, linoleato y linolenato de metilo.

Una vez que se han inyectado por triplicado los estándares se obtienen los tiempos de retención de cada uno de ellos. En la tabla 8 se muestran los tiempos de retención promedio de las inyecciones de cada estándar.

**TABLA 8.-** Tiempos de retención promedio de los estándares.

COMPUESTO	TIEMPO DE RETENCIÓN (min)
Laurato de metilo	13.73
Oleato de metilo	21.62
Linoleato de metilo	22.17
Linolenato de metilo	22.92

Se realizó la identificación de los componentes de los aceites a través de la comparación de los tiempos de retención con los de los estándares.

El orden de elución para los ésteres (figura 7) es: láurico, oleico, linoleico y linolénico. Las señales muestran para cada compuesto un comportamiento gaussiano, bien definido y con una resolución aceptable entre compuestos adyacentes. Para verificar que la separación es buena, se calculó la  $R_s$  entre los picos adyacentes la cual se reporta de la tabla 9.

**TABLA 9.** Valores de resolución de compuestos adyacentes.

Par de ésteres	Resolución
Láurico / oleico	35.887
Oleico / linoleico	2.179
Linoleico / linolénico	3.380

La tabla 9 muestra las resoluciones de los compuestos adyacentes todos los casos presentan una  $R_s > 1.5$ , por lo tanto se concluye que los compuestos están bien separados o resueltos en la columna a las condiciones cromatográficas seleccionadas.

### 5.2 ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO DE LAS MUESTRAS.

En la tabla 9 se presentan los tiempos de retención promedio y su respectiva desviación estándar de las muestras comerciales para los ésteres: laureato, oleato, linoleato y linolenato de metilo. El comparar estos tiempos con los obtenidos para los estándares, se identificó a los componentes presentes en cada aceite.

**TABLA 10.-** Tiempos de retención promedio oleato de metilo, linoleato de metilo y linolenato de metilo.

NOMBRE DEL ACEITE	COMPONENTE, TIEMPO DE RETENCIÓN Y DESVIACIÓN					
	OLEATO		LINOLEATO		LINOLENATO	
	$t_{rp}$	desv.	$t_{rp}$	desv.	$t_{rp}$	desv.
L.A. CETTO	21.61	0.003	22.14	0.005	22.84	0.007
OLI ML	21.58	0.006	21.58	0.006	22.84	0.006
OLI OLIVA	21.58	0.004	22.13	0.004	22.84	0.003
IBARRA	21.60	0.004	22.11	0.005	N.P.	N.P.
HOJIBLANCA	21.61	0.006	22.10	0.006	22.83	0.007
BORGES	21.59	0.007	22.09	0.007	22.82	0.009
FILIPPO BERIO	21.57	0.007	13.70	0.005	N.P.	N.P.
CONDÍ	21.56	0.003	22.07	0.004	N.P.	N.P.
CARAPELLI FIRENZE	21.56	0.003	22.07	0.004	N.P.	N.P.

$t_{rp}$ . Tiempo de retención promedio    desv . Desviación estándar N.P. No presente

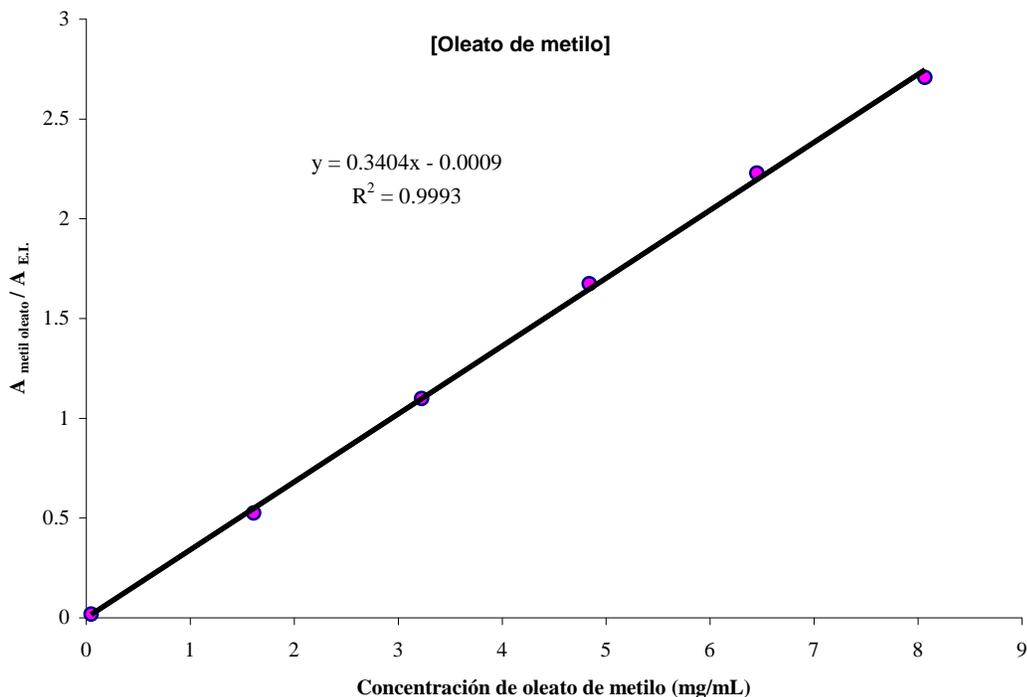
Puede observarse que los tres aceites en italianos y un español, no se reporta la presencia de ácido linolénico lo cual puede ser un posible marcador de la calidad de los aceites debido a su origen ya que los mexicanos si lo poseen.

### 5.3 CURVAS DE CALIBRACIÓN DE OLEATO, LINOLEATO Y LINOLENATO DE METILO

Las curvas de calibración se realizaron según el procedimiento expuesto en la sección 5.6.3, para cuantificar la concentración de estos compuestos en las muestras estudiadas. En las tablas 10, 11 y 12 se muestran los promedios de la relación de áreas con la respectiva concentración de cada sistema para cada éster metílico, respectivamente, con los cuales se construyeron las curvas de calibración.

**TABLA 11.-** Relación de área en función de la concentración para el oleato de metilo.

SISTEMA	[Oleato de metilo]	Aa/Ae.i. promedio
1	0.05	0.02
2	1.61	0.53
3	3.23	1.10
4	4.84	1.67
5	6.45	2.23
6	8.07	2.71



**FIGURA 9.-** Curva de calibración de oleato de metilo realizada con la relación de áreas promedio.

**TABLA 12.-** Relación de área en función de la concentración para el linoleato de metilo.

SISTEMA	[Linolenato de metilo]	Aa/Ae.i. promedio
1	0.05	0.02
2	1.69	0.53
3	3.37	1.10
4	5.06	1.69
5	6.74	2.25
6	8.43	2.74

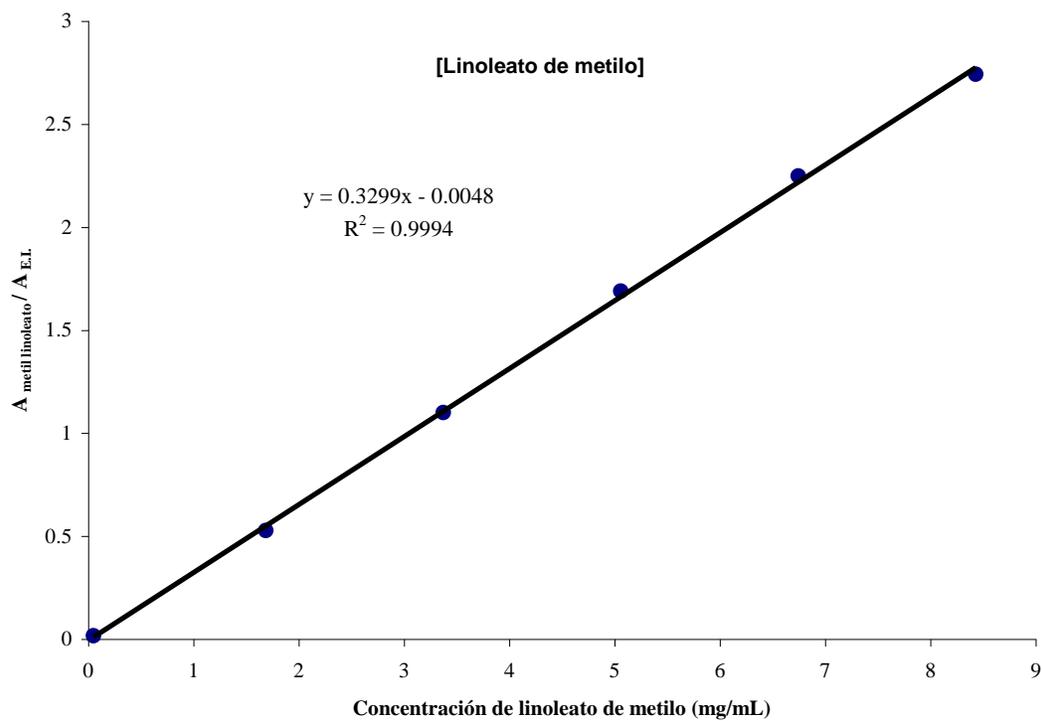
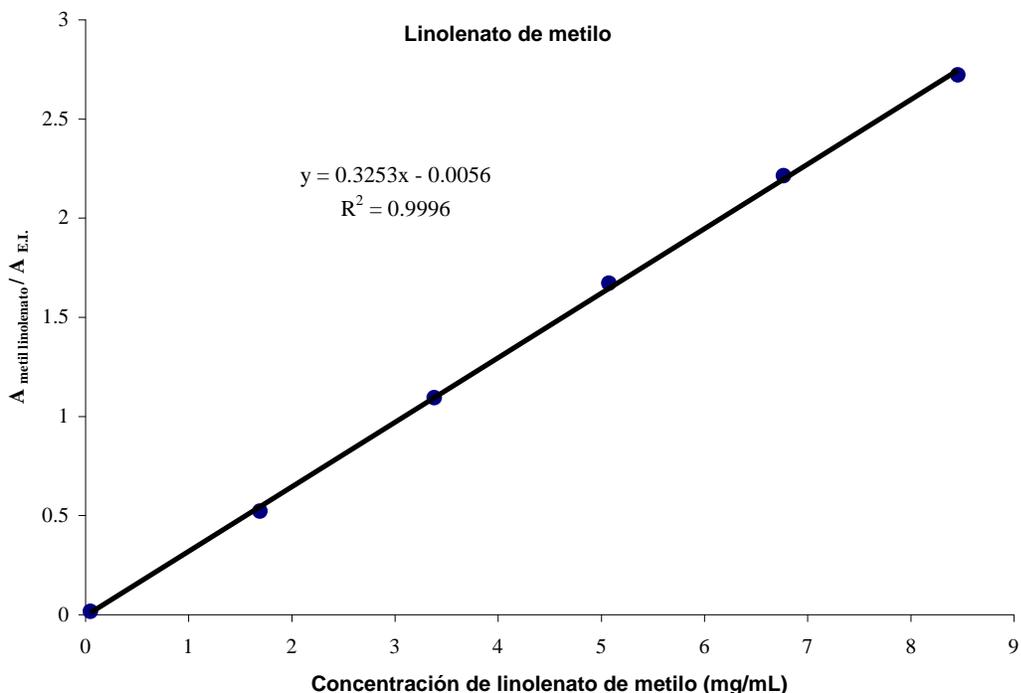


FIGURA 10.- Curva de calibración de linoleato de metilo realizada con la relación de áreas promedio.

TABLA 13.- Relación de área en función de la concentración para el linolenato de metilo.

SISTEMA	[Linolenato de metilo]	Aa/Ae.i. promedio
1	0.05	0.02
2	1.69	0.52
3	3.38	1.09
4	5.08	1.67
5	6.77	2.21
6	8.46	2.72



**FIGURA 11.-** Curva de calibración de linolenato de metilo realizada con la relación de áreas promedio.

En las gráficas se observa 8, 9 y 10, se observa que existe una correlación acertada al aplicar el método lineal ( $R^2 > 0.99$ ) con una ordenada al origen cercana a cero.

Los valores de los factores de respuesta fueron calculados de acuerdo con la ecuación:

$$\frac{\text{Área ácido}}{\text{Área E.I.}} = F \frac{\text{Concentración ácido}}{\text{Concentración E.I.}}$$

**TABLA 14.** Valores del factor respuesta de los ésteres metílicos a analizar con respecto al laureato de metilo.

Ester metílico	Factor respuesta
Oleico	1.037
Linoleico	1.003
Linolénico	0.984

El factor respuesta relaciona la respuesta relativa del detector al analito y al estándar interno.

Los datos de la tabla 14 reportan el factor respuesta con respecto al metil éster del ácido láurico, e indican como responde el detector a cada uno de ellos, se observa que la respuesta disminuye conforme aumenta el número de insaturaciones, es decir a medida que aumentan las dobles ligaduras en los ésteres metílicos el detector responde con una intensidad menor con respecto del laureato de metilo, que es el estándar interno.

#### 5.4 CUANTIFICACIÓN Y COMPARACIÓN CON LA NORMA DEL CODEX ALIMENTARIUS, DE LOS ÁCIDOS GRASOS: OLEICO, LINOLEICO Y LINOLÉNICO.

La cuantificación de ácidos grasos se realizó con el procedimiento descrito en la sección 4.7

En la tabla 15, se muestran las concentraciones de ácidos grasos insaturados y la comparación con la Norma del codex para los aceites de oliva extra vírgenes y refinados y los aceites refinados de orujo de aceituna codex stan 33-1981 (rev. 2-203).

**TABLA 15.-** Concentraciones, porcentajes promedio de ácidos grasos en las muestras problemas y comparación de estos con la norma.

Marca de aceite	Origen	Ácido graso	mg de ácido graso por ml solución	% en peso de ácido graso en el aceite	Norma del codex alimentarius
Oli ML	Mexicano	Oleico	1.73	21.34	no cumple
		Linoleico	2.78	34.31	no cumple
		Linolénico	0.31	3.81	no cumple
L.A. Cetto	Mexicano	Oleico	5.68	64.24	si cumple
		Linoleico	1.98	7.55	si cumple
		Linolénico	0.14	0.55	si cumple
Oli Oliva	Mexicano	Oleico	2.12	24.98	no cumple
		Linoleico	2.63	30.72	no cumple
		Linolénico	0.08	0.95	si cumple
Ibarra	Español	Oleico	4.95	55.64	si cumple
		Linoleico	0.50	5.60	si cumple
Hojiblanca	Español	Oleico	5.66	62.41	si cumple
		Linoleico	0.42	4.61	si cumple
		Linolénico	0.06	0.66	si cumple
Borges	Español	Oleico	6.22	67.35	si cumple
		Linoleico	0.50	5.36	si cumple
		Linolénico	0.06	0.67	si cumple
Filippo Berio	Italiano	Oleico	5.87	71.02	si cumple
		Linoleico	0.50	6.08	si cumple
Condí	Italiano	Oleico	5.37	60.67	si cumple
		Linoleico	0.36	4.08	si cumple
Carapelli Firenze	Italiano	Oleico	5.38	62.45	si cumple
		Linoleico	0.35	4.07	si cumple

Norma del codex alimentarius: Ácido oleico 55.0 – 83.0 %, ácido linoleico 3.5 – 21.0 %, ácido linolénico <1.5 %

En la tabla 15 podemos observar que los aceites de origen italiano y español presentan altos porcentajes de ácido oleico, seguido por el aceite mexicano L.A. Cetto seguido por los dos aceites mexicanos restantes, mientras que para el ácido linoleico, el mayor porcentaje de éste, se presenta en los dos aceites mexicanos Oli

ML y Oli oliva. Por otra parte los aceites italianos carecen de la presencia de ácido linolénico seguidos por los españoles, mientras que los mexicanos tiene una gran cantidad de ácido linolénico.

Cabe hacer notar que los aceites con un mayor contenido de ácido linolénico no cumplen con la norma al ser deficientes de ácido oleico mientras que los que lo contienen en menor proporción o bien carecen de éste, cumplen perfectamente con la norma de calidad. Lo cual puede ser causado por una adulteración o por la influencia del tratamiento de las aceitunas al ser recolectadas y su procesamiento.

## 5.5 LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN.

### 5.5.1. CÁLCULO DE LOS LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN.

El límite de detección es la cantidad mínima detectable aunque no necesariamente cuantificable de un analito en una muestra y se calcula con la siguiente ecuación:

$$y - y_B = 3s_B$$

en donde

$y$  = límite de detección

$y_B$  = ordenada al origen de cada una de las curvas

$s_B = s_{y/x}$  = desviación estándar

La desviación estándar ( $s_{y/x}$ ) se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2}}$$

en donde

$y_i$  = son los puntos sobre la recta

$\hat{y}_i$  = son los valores ajustados a partir de la ecuación de regresión.

$n$  = es el número de mediciones o puntos realizados<sup>[30]</sup>.

El límite de cuantificación (L.C.) es la mínima concentración de un analito en una muestra que puede ser determinada con una precisión y exactitud aceptable. El límite de cuantificación se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$L.C. = y_B + 10s_B$$

**TABLA 16.-** Límites de detección y cuantificación para los ácidos: oleico, linoleico y linolénico.

Ácido Graso	Límite de detección	Límite de cuantificación
-------------	---------------------	--------------------------

	(mg/mL)	(mg/mL)
Oleico	0.082	0.272
Linoleico	0.189	0.62
Linolénico	0.069	0.217

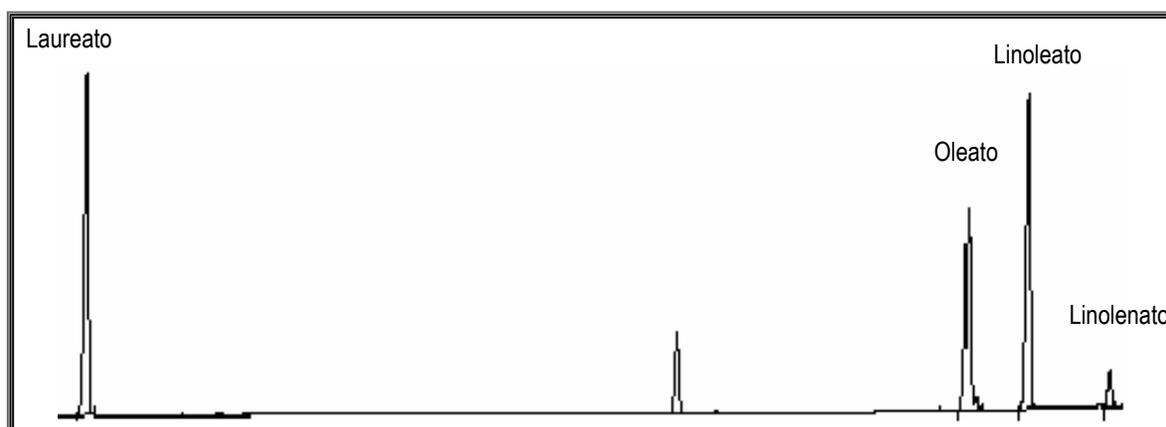
### 5.7 FORTIFICACIÓN

La fortificación de muestras se realizó con el procedimiento descrito en la sección 5.8, en la tabla 17 se muestran los promedios de los porcentajes de recuperación de cada éster metílico.

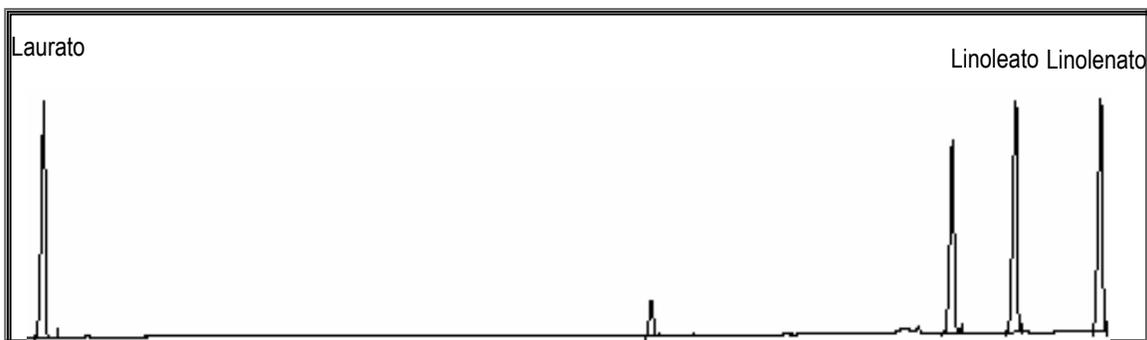
**TABLA 17.-** Promedios de los porcentajes de recuperación, para cada éster.

Punto de aproximación a la curva de calibración	Ácido graso	% de recobro
2	Oleico	99.51
	Linoleico	98.93
	Linolénico	99.46
3	Oleico	99.76
	Linoleico	99.26
	Linolénico	99.22
4	Oleico	99.21
	Linoleico	99.58
	Linolénico	100.19

En figura 12 se muestra el cromatograma característico del aceite Oli ML. Posteriormente se presentan en la figuras 13, 14 y 15 los tres niveles de fortificación para determinar el porcentaje de recuperación.



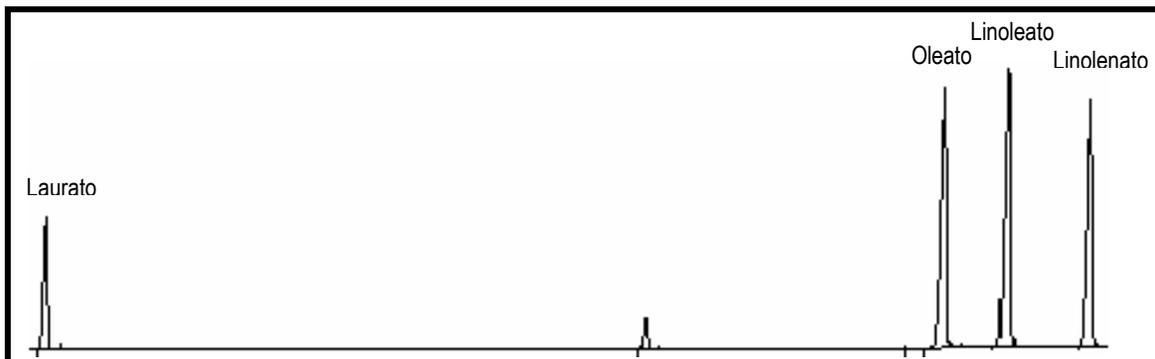
**FIGURA. 12** Cromatograma del aceite Oli ML.



**FIGURA. 13** Cromatograma de la fortificación de oleato, linoleato y linolenato de metilo en el primer nivel.



**FIGURA. 14** Cromatograma de la fortificación de oleato, linoleato y linolenato de metilo en el segundo nivel.



**FIGURA. 15** Cromatograma de la fortificación de oleato, linoleato y linolenato de metilo en el tercer nivel.

Puede notarse en la tabla 17 que los porcentajes de recobro son bastante buenos, esto es reflejo de que la reacción de derivatización y la extracción, se realizaron de manera eficiente y que los derivados generados en la muestra se están determinando sin pérdidas significativas durante la inyección.

## 5.8 TRATAMIENTO DE LOS DATOS CON TÉCNICAS QUIMIOMÉTRICAS

La calidad de un aceite de oliva depende en gran medida de la variedad de las aceitunas, su procedencia geográfica, así como de los pasos y cuidados en la producción de aceites de oliva. Todo esto en su conjunto da lugar a la obtención de aceites de oliva con diferente calidad y propiedades organolépticas. Por otra parte, hoy en día son más frecuentes las adulteraciones de estos tipos de aceite, debido a su alto valor comercial que presentan en el mercado a nivel mundial [31].

El aceite de oliva comparte algunas propiedades características de todos los aceites vegetales, sin embargo una de las propiedades que lo distingue radica en su alto contenido de ácido oleico, por lo que la determinación del contenido de este ácido graso es un parámetro de calidad que puede revelar: el origen del aceite, un mal proceso de elaboración o bien una adulteración [2]. Sin embargo el porcentaje de los ácidos linoleico y linolénico también son índices de calidad de un aceite de oliva pues un valor de linoléico mayor al 21% indica la presencia de aceite de cacahuete, algodón, girasol, maíz, y ajonjolí; mientras que un porcentaje de ácido linolénico por encima de 1.5 % indica que puede tratarse de un aceite adulterado con soya o bien que el proceso de elaboración del aceite no haya sido antes de las 24 horas de la recolección de las aceitunas, pues el procesamiento tardío de las aceitunas aumenta la cantidad de ácido linolénico y disminuye los porcentajes de oleico y linoleico [32].

Con el objeto de diferenciar aceites de oliva de diverso origen, se usaron dos técnicas no supervisadas de reconocimiento de pautas: componentes principales y análisis cluster. Para desarrollar los modelos, se usaron los datos cromatográficos correspondientes a la determinación de los ácidos grasos: oléico, linoléico y linolénico, obtenidos por CG-FID usando laurato de metilo como estándar interno. Con el fin de encontrar los mejores modelos, se probaron datos de las áreas de los picos, relación de áreas, logaritmo de áreas, alturas, concentraciones y porcentaje de composición. Se realizaron los análisis de 9 tipos de aceite de oliva de diferente origen, los cuales fueron derivatizados por quintuplicado y posteriormente inyectados 3 veces.

La quimiometría es la aplicación de métodos estadísticos y matemáticos a los problemas químicos con el objetivo de extraer la máxima y más útil información de los mismos. La definición exacta de quimiometría según la ICS (Internacional Chemometrics Society) es la “ciencia que permite relacionar las medidas realizadas en un sistema químico o proceso con el estado del mismo mediante la aplicación de métodos matemáticos o estadísticos”.

### ***Componentes principales***

El Análisis de Componentes Principales (PCA) es un procedimiento matemático que reduce la dimensionalidad de un conjunto de datos y extrae información para clasificar las muestras por medio de la definición de constructores matemáticos llamados componentes principales, PCs. Estos componentes son variables no correlacionados y se obtienen en orden decreciente de importancia en forma tal que, la primera explique la máxima variabilidad de los datos tanto como sea posible. Cada componente subsecuente toma en cuenta la variabilidad restante, es decir, una menor variabilidad (información). Así, sólo se requiere un número reducido de componentes para estudiar las principales pautas de los datos. Cabe hacer notar que la interpretación de los componentes principales incluye el estudio tanto de las variables (que usan 'loadings') como de las muestras (por medio de los 'scores').

### **Análisis Cluster (CA)**

CA es una herramienta exploratoria multivariada usada para revelar relaciones entre las muestras. Esta técnica permite encontrar grupos de muestras (alternativamente, variables). Por lo que un cluster es un grupo de muestras más o menos homogéneas (similares) las cuales, a su vez, pueden ser diferenciadas de otros grupos de muestras. La "homogeneidad" o, dicho de otra manera, la similitud entre las muestras depende de la distancia (a menor distancia, mayor similitud).

### **Análisis de los datos cromatográficos por PCA**

Los PCA se llevaron a cabo con los nueve aceites de oliva (calidad extra virgen) de diferente origen (ver tabla 18). Se estudiaron dos conjuntos de datos: i) los 6 aceites de origen europeo (españoles: Ibarra, Hojiblanca y Borges, italianos: Filippo Berio, Condí y Carapelli Firenze) y los 3 de origen mexicano (L.A. Cetto, Oli ML y Oli Oliva). ii) los 6 aceites de origen europeo y un mexicano. El software usado fue GenEx®(MultiD Analysis AB, Göterborg, Suecia).

El origen y la codificación usada en el presente trabajo se muestra en la tabla 18.

**TABLA 18.- Origen y codificación de los aceites de oliva extra virgen**

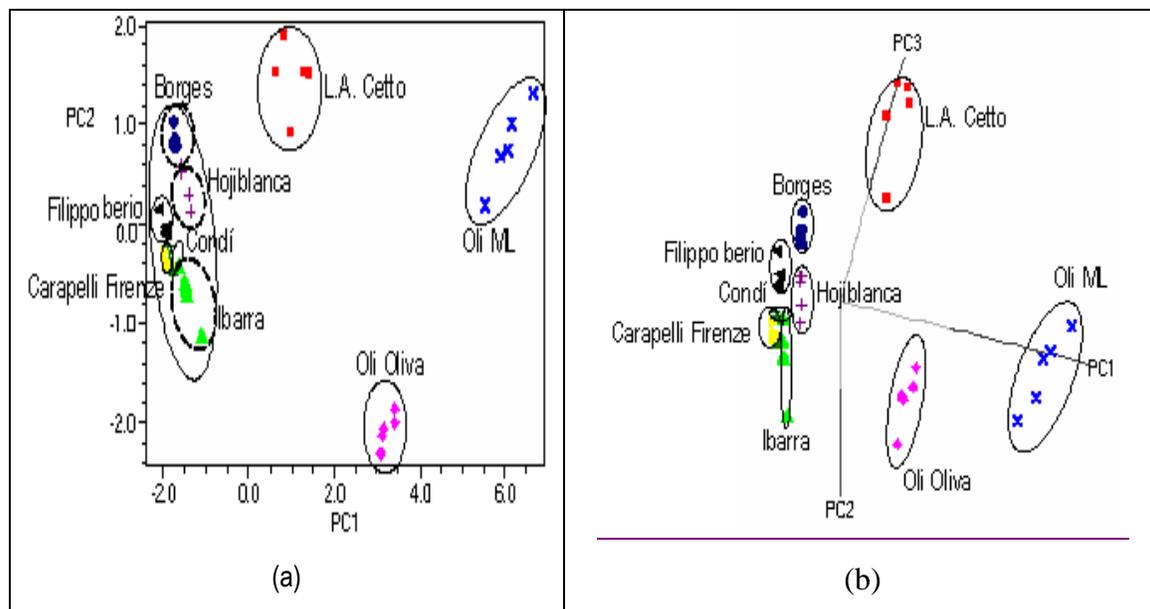
Marca de aceite	Origen	Nombre codificado	Marca codificada
L.A. Cetto	Mexicano	L	
Oli ML	Mexicano	O	
Oli Oliva	Mexicano	OO	
Ibarra	Español	I	
Hojiblanca	Español	H	
Borges	Español	B	
Filippo berio	Italiano	F	
Condí	Italiano	C	
Carapelli Firenze	Italiano	CF	

Los PCAs realizados sobre los todos los aceites, mostraron una diferenciación según su origen, aunque no totalmente satisfactoria. Los mejores PCA, se obtuvieron empleando las relaciones de áreas con autoescalado y por ciento en peso con centrado en la media.

### **Análisis de todos los aceites**

Las figura 16 muestra las gráficas de escores obtenidas a partir de los datos de relación de áreas y usando autoescalado, en la cual se observa una clara diferenciación entre los aceites de origen europeo y los de origen mexicano. Específicamente, aparecen cuatro grupos a lo largo de PC1 (Fig. 16 (a)). Un grupo constituido por los aceites de origen europeo y tres grupos correspondientes a los aceites de origen mexicano. Estos últimos, a su vez, se diferencian entre sí, de acuerdo a su marca, siendo el LA Cetto el más parecido a los europeos. Por otra parte, con respecto a los aceites de origen europeo, se pueden apreciar dos subgrupos. Un subgrupo de dos españoles (Borges y Hojiblanca) y otro conformado por dos italianos y un español (Carapelli Firenze, Condi e Ibarra, respectivamente). Tres PCs explican el x % de la varianza inicial (92.99 % PC1, 6.79 %PC2, 0.09 %PC3). Los dos mexicanos es posible que deban su diferencia a su menor contenido de ácido oleico con respecto a los demás y esto probablemente signifique una adulteración.

En la figura 16 (b) se puede observar nuevamente los cuatro subgrupos identificados el la figura 16 (a), donde se hace evidente la separación de los aceites de origen europeo con respecto de los mexicanos.



**Figura 16. Gráfica de scores para el conjunto de todos los aceites de oliva con autoescalado en columnas, a partir de relación de áreas.**

(a) subespacio PC1-PC2 (b) subespacio PC1-PC2-PC3

La figura 17 presenta la gráfica de escores obtenida a partir de los datos de porcentaje en peso con centrado en la media. Tres PCs explican el 99.75 % de la varianza inicial (98.08 % PC1, 1.68 % PC2, 0.01 % PC3). En la figura 17 se aprecian dos grupos bien definidos a lo largo de PC1. El primero está constituido por todos los aceites europeos y un mexicano (L.A. Cetto), mientras que el segundo grupo está integrado por dos mexicanos (Oli Oliva y Oli ML). En el primero los valores de PC1 son negativos y en el segundo a valores de PC1 positivos. Al parecer PC1 clasifica a los aceites de acuerdo al contenido de ácido linoleico, ya que el primer grupo contiene un porcentaje significativamente menor (4-5.5%), mientras que el segundo grupo posee un alto contenido de linoleico (33-34%). Este alto e inusual contenido de linoleico en los aceites Oli Oliva y Oli ML podría ser indicativo de una adulteración con aceites como cacahuete, algodón, girasol, maíz y ajonjolí. Cabe señalar que estos dos aceites no cumplieron con la norma Codex Alimentarius. La composición de ácido oleico resultó más baja y muy alta en linoleico; sin embargo el incumplimiento de la norma también se detectó en un inadecuado etiquetado, ya que no se indica el lugar de elaboración de los aceites mexicanos anteriormente mencionados.

Con respecto a PC2, en el primer grupo los aceites se ordenan según su contenido de ácido oleico, es decir, se observa que a escores de PC2 más grandes, el contenido de ácido oleico es mayor. Así, el Filippo Berio posee el mayor contenido de este ácido y por tanto es el de mejor calidad., mientras que el Ibarra presenta el menor contenido de éste, por lo que es el de menor calidad.

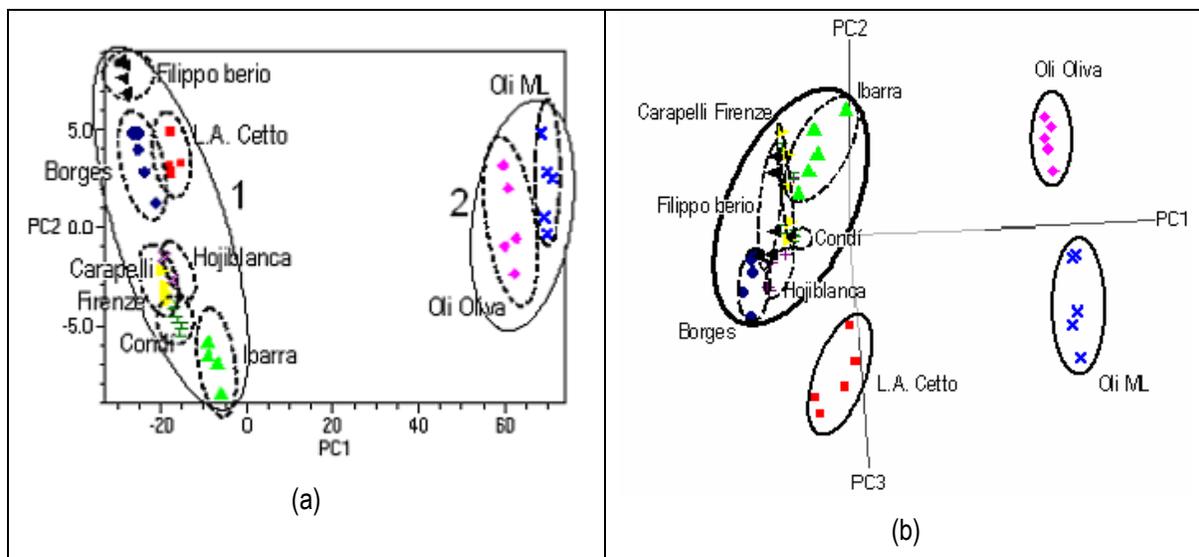
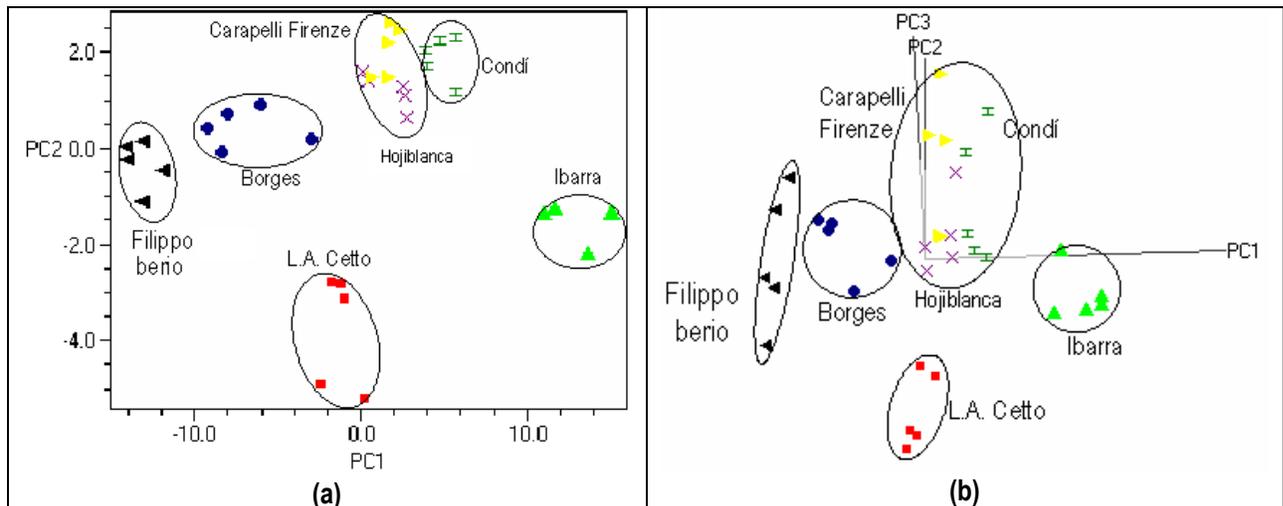


Figura 17. Gráfica de scores para el conjunto de todos los aceites de oliva con centrado en media a partir de porcentaje de composición

(a) subespacio PC1-PC2 (b) subespacio PC1-PC2-PC3

### Análisis de los aceites europeos y un mexicano

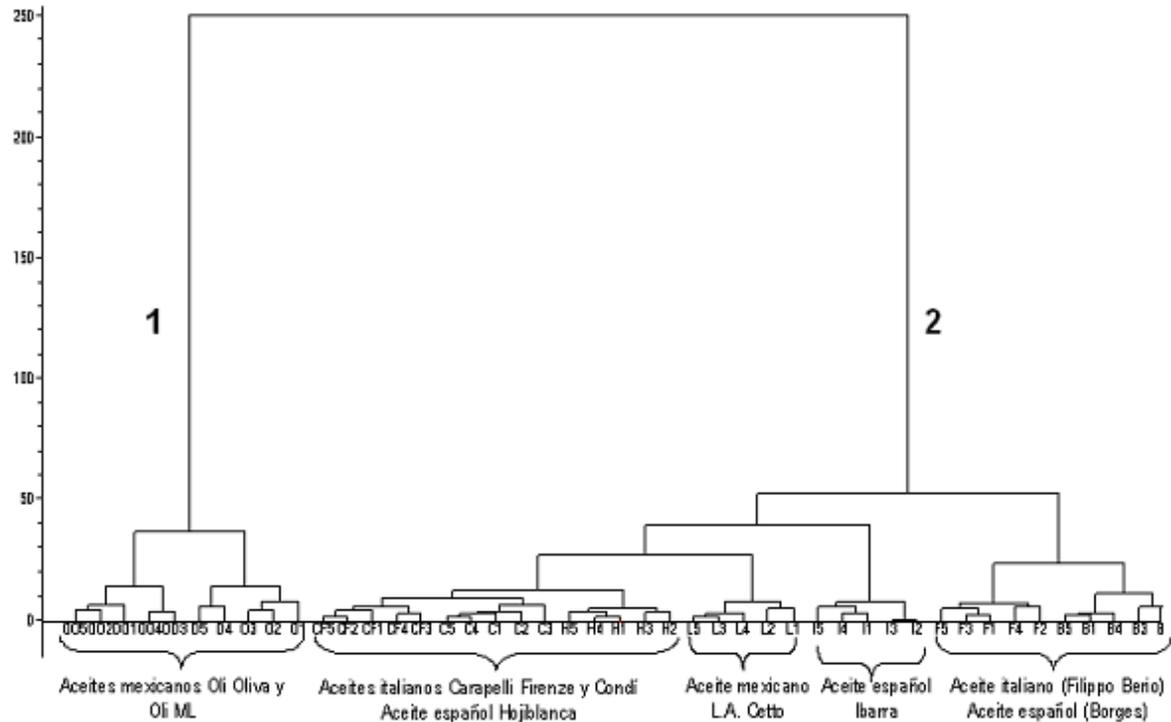
La figura 18 presenta la gráfica de escores a partir de los datos de por ciento en peso con centrado en la media, para los aceites europeos y el mexicano L.A. Cetto. Tres PCs explican el 98.55 % de la varianza inicial (91.27 % PC1, 5.75 % PC2, 1.53 % PC3). Se observa que PC1 ordena a los aceites por su contenido de ácido oléico, desde el Filippo berio hasta el Ibarra. En este caso, a valores menores de PC1, mayor calidad. Cabe resaltar que los dos aceites, el italiano Carapelli firenze y el español Hojiblanca se solapan, ya que su contenido de ácido oleico es muy similar (62.45 y 62.41 respectivamente).



**Figura 18. Gráfica de escores para el conjunto de todos los aceites de oliva europeos y un mexicano, con centrado en media a partir de porciento de composición**  
(a) subespacio PC1-PC2 (b) subespacio PC1-PC2-PC3

### **Análisis de los datos cromatográficos por Análisis Cluster**

Se realizó un análisis cluster para confirmar los resultados obtenidos por PCA. El dendrograma obtenido con método complete linkage y distancia Manhattan, (figura 19) diferencia dos series, al igual que en PCA: el grupo 1 de aceites mexicanos con una posible adulteración y el grupo 2 que contiene a los europeos y el mexicano L.A. cetto. Es notorio que el grupo 2, contiene otra ramificación que engloba a tres aceites, los dos italianos Carapelli firenze, Condi y el español, Hojiblanca. Éstos poseen un contenido muy similar de ácidos oleico y linoleico. Otra subgrupo es el conformado por la serie de los aceites Filippo berio (italiano) y Borges (español), los cuales poseen el mayor contenido de ácido oleico y el menor de ácido linoleico. Este mismo comportamiento también se observó PCA.



**Figura 19.** Dendrograma, para el conjunto de todos los aceites de oliva, por complete linkage-Manhattan distance a partir del porciento de composición de ácidos grasos.

Mediante el análisis anterior puede observarse que el origen de los aceites influye de forma considerable en la calidad éstos. Cabe resaltar que el aceite mexicano LA Cetto, proveniente de Tijuana B.C que posee clima mediterráneo, compite con la calidad de los aceites europeos de grado extra virgen. Este aceite está dentro de los tres primeros aceites con alto contenido de ácido oleico.

Finalmente, no fue posible discernir sobre el origen de los europeos y el mexicano LA Cetto, a partir del perfil ácido determinado en esta tesis.

## 6. CONCLUSIONES.

- Se logró separar, identificar y cuantificar a los principales ácidos grasos insaturados presentes en distintos aceites de oliva de denominación extra virgen mediante la optimización de las condiciones experimentales, por el método de curva de calibración empleando un patrón interno.
- Se constató que, a excepción de los aceites mexicanos Oli Oliva y Oli ML, todos los demás cumplen con los parámetros de porcentaje estipulados por la norma del Codex Alimentarius. Es posible que estos aceites hayan sido adulterados con otros tipos de aceite de menor costo.
- Fue posible verificar la calidad “grado extra virgen” de los aceites de oliva analizados, mediante la comparación de su contenido de ácidos grasos con la norma. De esta forma se constató que los europeos y el mexicano LA Cetto, si pueden ser denominados aceites de oliva extra virgen.
- La combinación del análisis cromatográfico y las técnicas quimiométricas, análisis de componentes principales y análisis cluster, permitió diferenciar los aceites con posible adulteración. Asimismo, se logró ordenar a los aceites de acuerdo a su grado de calidad en función de su contenido de ácido oleico.
- Con los datos experimentales recabados hasta ahora, no ha sido posible discernir sobre el origen geográfico de los aceites de oliva.

## 7. REFERENCIAS

- [1] Kiritsakis A. K., American Oil Chemists' Society. (1991)
- [2] Boskou Dimitrios, Olive Oil Chemistry and Technology, 2a edición, AOCS PRESS, 2000, p.p. 7-10, 21, 117, 174, 243-246.
- [3] El Antari, A., Hilal, A., Boulouha, B., & El Moudni, A. (2000). Estudio de la influencia de la variedad, los factores ambientales y la técnicas de cultivo en las características de los frutos y la composición química del aceite de oliva virgen extra de Maruecos. *Olivae*, 80, 29–36. Firestone, D., y J.L. Summers, Detection of Adulterated and Misbranded Olive Oil Products. 1985, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 62: 1558
- [4] Nava Granados Beatriz, "Métodos de separación para el análisis químico y desarrollo tecnológico: caracterización de ácidos grasos en aceite de oliva por cromatografía de gases", *Facultad de estudios Superiores Cuautitlán- UNAM*, 2008. Servicio Social.
- [5] Manai, H., González, L. G., Haddada, F., Sánchez-Casas, J., Bueno, E. O., & Zarrouk, M. (2007). Características sensoriales de aceites de oliva virgen procedentes de cultivares tunecinos monovarietales e híbridos con variedades europeas. *Grasas Y Aceites*, 58(2), 163–169.
- [6] Steven Sibbett (2004). G. Steven Sibbett; Louise Ferguson (ed.). *Olive Production Manual*, 2ª edición (en inglés), Agriculture & Natural Resources, p.p.365-371
- [7] EEC (2003). Characteristics of olive and olive pomace oils and their analytical methods. EEC Regulation 1989/2003. Official Journal of the European Communities, 295, 57–66.
- [8] Gracia, M. S. (2001). Composición química de distintas calidades de aceites de oliva virgen de la variedad «Empetre» en el bajo Aragón. *Grasas y Aceites*, 52(1), 52–58.
- [9] J. Gracian, Y. Martel, *Grasas Aceites* 20 (1969) 231.
- [10] <http://www.spanish-gourmet.com/aceite/aceite6.html>
- [11] Stephanie A. Smith-Warner, Jeanine Genkinger, Edward Giovannucci "Fruit and Vegetable Consumption and Cancer" *Nutritional Oncology (Second Edition)*, 2006, Pages 97-173
- [12] [http://interweb.mapa.es/pwAgenciaAO/InfSectorEntidades.aao?pentidad=10&opcion\\_seleccionada=2800&control\\_acceso=S&idioma=ESP](http://interweb.mapa.es/pwAgenciaAO/InfSectorEntidades.aao?pentidad=10&opcion_seleccionada=2800&control_acceso=S&idioma=ESP)
- [13] Gordon. M. H., "Effect of Sterols on the Oxidative Deterioration of Heated Oils", Londres, 1986, Interaction of Food Components, Elsevier Applied Science Publishers, p.p.86-98
- [14] Abaza L, Taamalli W, Ben Temime S, Daoud D & Zarrouk, M. (2005). Natural antioxidant composition as correlated to stability of some Tunisian virgin olive oils. *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grass*, LXXXII, 12–17.
- [15] Aurelia N. Sudjana, Carla D'Orazio, Vanessa Ryan, Nooshin Rasool, Justin Ng, Nabilah Islam, Thomas V. Riley, Katherine A. Hammer "Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive)" *International Journal of Antimicrobial Agents*, Volume 33, Issue 5, May 2009, Pages 461-463



- [16] Valenzuela, A., Sanhueza, J., Nieto, S., Petersen, G., & Tavella, M. (2003). *Grasas y Aceites*, 53(13), 568
- [17] Comisión of the Codex Alimentarius, Revised Norm for Olive Oil, 191 1993/15 FO
- [18] Fitzgerald G., James K. J., MacNamara K., Stack M. A. *Journal of Chromatography A*, 896, 2000, p.p. 351-359.
- [19] Eunha Hoh, Katerina Mastovska, (*Abril 2008*) Large volume injection techniques in capillary gas chromatography, *Journal of Chromatography A, Volumen 1186, , Pages 2-15*
- [20] <http://www.chem.vt.edu/chem-ed/ms/ms-intro.html>
- [21] Willett John, *Gas Chromatography* 1a edición, London, ACOL, 1938, p.p. 257-264.
- [22] Harris. C. Daniel. *Análisis Químico Cuantitativo*. Editorial Reverté. 5a Edición, México, 2001, p.p.654-672
- [23] Aparicio, R., & Aparicio-Ruiz, R. (2000). Authentication of vegetable oils by chromatographic techniques. *Journal of Chromatography A*, 881, 93–104.
- [24] Andrikopoulos, N. K., Giannakis, I. G., & Tzamtzis, V. (2001). Analysis of olive oil and seed oil triglycerides by capillary gas chromatography as a tool for the detection of the adulteration of olive oil. *Journal of Chromatographic Science*, 39, 137–145.
- [25] W.W. Christie, *Gas Chromatography and Lipids, A Practical Guide*, The Oily Press Ltd., Ayr, Scotland, 1989.
- [26] Heftmann Erich, *A laboratory Handbook of Chromatography and Electrophoretic Methods*, 3a edición, Van Nostrand Reinhold Company, 1986, p.p.
- [27] Rubinson Kenneth A. et.al, *Análisis instrumental*. Pearson Prentice Hall. 1a Edición, España, p.p.680-701
- [28] Skoog A. Douglas, et.al. *Fundamentos de Química Analítica*. Thomson.8a Edición, México, 2001, p.p. 959-981
- [29] Frega, N., Bocci, F. (2001). *L'analisi rapida dell'olio di oliva*, Italia, Laboratorio 2000, Volumen 3 p. 28.
- [30] Miller J.C., et.al. *Estadística Para Química Analítica*. Addison-Wesley Iberoamerica. 2a Edición, E.U.A, 1993, p.p.96-106



## 8. APENDICES

# FICHAS TÉCNICAS Y DATOS EXPERIMENTALES



# FICHAS TÉCNICAS



Ácido clorhídrico [30].	
Formula lineal:	HCl
Peso molecular (g/mol):	36.46
Propiedades	
Densidad de vapor:	1.3 (vs aire)
Presión de vapor:	3.23 psi ( 21.1 °C)
Ensayo:	36.5-38.0%
Densidad	1.2 g/mL at 25 °C(lit.)
Seguridad:	
Medidas preventivas relativas a personas:	Llevar puesto equipo de protección. Mantener alejadas las personas sin protección. Al haber vapores/polvo/aerosol, utilizar protección respiratoria.
Medidas para la protección del medio ambiente:	Evitar que penetre en la canalización/aguas de superficie/agua subterráneas.

Alcohol metílico	
Sinónimo:	Metanol, carbinol.
Formula lineal:	CH <sub>3</sub> OH
Peso molecular (g/mol):	32.04
Propiedades	
Densidad de vapor:	1.11 (vs aire)
Presión de vapor:	97.68 mmHg ( 20 °C)
Temperatura de autoignición:	725 °F
Punto de ebullición:	64.7 °C
Punto de congelación:	-98 °C
Densidad	0.791 g/mL at 25 °C
Seguridad:	Protección para ojos, cara y manos
Equipo de protección personal:	T Tóxico
Denominación del peligro:	F Fácilmente inflamable
Instrucciones generales:	Quitarse de inmediato toda prenda contaminada con el producto. Antes de retirar la protección respiratoria quitar la ropa contaminada. En caso de respiración irregular o apnea (detención de la respiración), proceda a aplicar respiración artificial. Mantener el depósito cerrado herméticamente.
Manipulación:	Asegurar suficiente ventilación/aspiración en el sitio de trabajo. Abrir y manejar el recipiente con cuidado. Trasvasar y manejar el producto solamente en un sistema cerrado o con aspiración.

Bicarbonato de sodio
$\text{HO}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{ONa}$



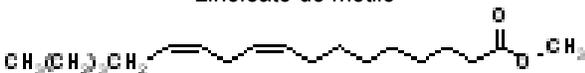
Formula lineal: Peso molecular (g/mol):	NaHCO <sub>3</sub> 84.01
Propiedades pKa (25 °C)	(1) 6.37, (2) 10.25 (ácido carbónico)
Seguridad: Equipo de protección personal	Protección para ojos, cara y manos

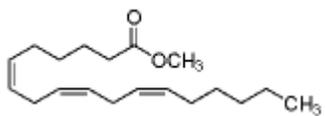
Hidróxido de potasio	
Sinónimo: Formula lineal: Peso molecular (g/mol):	Potasa cáustica KOH 56.11
Propiedades Presión de vapor: Ensayo: Solubilidad: valor pH: Trazas de aniones: Trazas de cationes:	1 mmHg ( 719 °C) ≥85% H <sub>2</sub> O: 1 M at 20 °C, 10 g/l) en 20 °C >13 cloruros (Cl <sup>-</sup> ): <0.01% sulfatos (SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ): <0.003% Al: <0.0005% Ca: <0.0005% Cu: <0.0005% Fe: <0.0005% Mg: <0.0005% NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> : <0.05% Na: <0.05% Pb: <0.001% Zn: <0.0005%
Seguridad: Medidas preventivas relativas a personas:  Medidas para la protección del medio ambiente:	Llevar puesto equipo de protección. Mantener alejadas las personas sin protección. Al haber vapores/polvo/aerosol, utilizar protección respiratoria. Evitar que penetre en la canalización/aguas de superficie/agua subterráneas.

Laurato de metilo	
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_3$	
Sinónimo: Formula lineal: Peso molecular (g/mol):	Metil dodecanoato, metil éster del ácido láurico. CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> COOCH <sub>3</sub> 214.34



Propiedades	Ensayo: $\geq 99.5\%$ (GC) Índice de refracción: $n_{20/D} 1.431$ Punto de ebullición: $261-262\text{ }^{\circ}\text{C}$ Punto de congelación: $4.5-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ Densidad: $0.869\text{ g/mL at } 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ Punto de flash: $>113\text{ }^{\circ}\text{C}$
Seguridad Equipo de protección personal	Protección para ojos, cara y manos

Linoleato de metilo 	
Sinónimo:	Metil linoleato, metil éster del ácido linoleico, Metil <i>cis,cis</i> -9,12-octadecadienoato
Formula lineal:	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3(\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH})_2(\text{CH}_2)_7\text{CO}_2\text{CH}_3$
Peso molecular (g/mol):	294.47
Propiedades	Ensayo: $\geq 98.5\%$ (GC) Índice de refracción: $n_{20/D} 1.462$ Punto de ebullición: $192\text{ }^{\circ}\text{C}/4\text{ mmHg}$ Punto de congelación: $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ Densidad: $0.889\text{ g/mL a } 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ Almacenamiento: $2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ Punto de flash: $113\text{ }^{\circ}\text{C}$
Seguridad Equipo de protección personal	Protección para ojos, cara y manos

Linolenato de metilo 	
Sinónimo:	Metil linolenato, $\gamma$ -metil éster del ácido linolénico, $\omega$ -6 metil éster del ácido linolénico, metil éster del ácido 6,9,12-Octadecatrienoico, Fame 18:3n-6, Metil (Z,Z,Z)-6,9,12-octadecatrienoato
Formula lineal:	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3(\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH})_3(\text{CH}_2)_4\text{CO}_2\text{CH}_3$
Peso molecular (g/mol):	292.46
Propiedades	Ensayo: $\geq 98.5\%$ (GC) Índice de refracción: $n_{20/D} 1.476$



Punto de ebullición:	162 °C/0.5 mmHg
Densidad:	0.889 g/mL a 25 °C
Almacenamiento:	-20°C
Punto de flash:	62 °C
Seguridad Equipo de protección personal	Protección para ojos, cara y manos

n-Hexano	
Sinónimo:	Hexano
Formula lineal:	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> CH <sub>3</sub>
Peso molecular (g/mol):	86.18
Propiedades	
Densidad de vapor:	~3 (vs aire)
Presión de vapor:	256 mmHg ( 37.7 °C)
Ensayo:	≥95%
Temperatura de autoignición:	453 °F
Punto de ebullición:	69 °C
Punto de congelación:	-95 °
Densidad:	0.659 g/mL at 25 °C
Punto flash:	-26 °C
Absorción UV:	λ: 195 nm A <sub>max</sub> : 1.00 λ: 200 nm A <sub>max</sub> : 0.50 λ: 210 nm A <sub>max</sub> : 0.20 λ: 220 nm A <sub>max</sub> : 0.05 λ: 250 nm A <sub>max</sub> : 0.01 λ: 280-400 nm A <sub>max</sub> : 0.005
Seguridad: Equipo de protección personal	Protección para ojos, cara y manos

Oleato de metilo	
Sinónimo:	Metil oleato, metil <i>cis</i> -9-octadecenoato, metil éster del ácido oleico
Formula lineal:	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> CO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
Peso molecular (g/mol):	296.49
Propiedades	
Presión de vapor:	10 mmHg ( 205 °C)
Ensayo:	≥99.0% (GC)
Índice de refracción:	<i>n</i> 20/D 1.452
Densidad:	0.874 g/mL a 20 °C
Almacenamiento:	2-8°C
Punto de flash:	113 °C
Seguridad Equipo de protección personal	Protección para ojos, cara y manos



--	--

Sulfato de sodio anhidro	
Formula lineal:	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
Peso molecular (g/mol):	142.04
Propiedades	<p style="text-align: right;">Forma: (Polvo cristalino)</p> <p style="text-align: right;">Punto de fusión: 884 ° C</p> <p style="text-align: right;">Inflamabilidad: La sustancia no es inflamable.</p>
Seguridad:	
Reacciones peligrosas:	No se conocen reacciones peligrosas.
En la piel y ojos:	No produce irritaciones por lo general, no es peligroso para el agua
Indicaciones generales:	Se pueden depositar pequeñas cantidades junto con la basura doméstica.



# DATOS EXPERIMENTALES



**TABLA 1 A. Valores de áreas para la curva de calibración, para el ácido oleico.**

Sistema	[Oleico] mg/mL	FAMES	A1	A2	A3	A <sub>1</sub> /Ae.i. <sub>1</sub>	A <sub>2</sub> /Ae.i. <sub>2</sub>	A <sub>3</sub> /Ae.i. <sub>3</sub>	Desviación estándar	Promedio	C.V.	Factor respuesta
1	0.04840	Oleico	682626	722457	724023	0.02	0.02	0.02	0.00	0.02	0.56	1.08
		E.I.	39613014	41675241	42233984							
2	1.61330	Oleico	17390102	21769546	21010070	0.51	0.53	0.53	0.01	0.52	1.67	0.99
		E.I.	33797230	41073138	39686728							
3	3.22661	Oleico	39916103	43573484	40651054	1.09	1.09	1.11	0.01	1.10	1.15	1.03
		E.I.	36651127	39889676	36543903							
4	4.83991	Oleico	60951357	70094497	65708433	1.68	1.66	1.68	0.01	1.67	0.62	1.05
		E.I.	36268092	42177252	39126029							
5	6.45322	Oleico	69047913	84570654	77642748	2.28	2.20	2.20	0.04	2.23	1.94	1.05
		E.I.	30315619	38399145	35242670							
6	8.06652	Oleico	97201876	132548377	101398063	2.72	2.73	2.68	0.03	2.71	1.07	1.02
		E.I.	35781804	48512206	37887384							



**TABLA 1 B. Valores de areas para la curva de calibración, para el ácido linoleico.**

Sistema	[Linoléico] mg/ml	FAMES	A1	A2	A3	A <sub>1</sub> /Ae.i. <sub>1</sub>	A <sub>2</sub> /Ae.i. <sub>2</sub>	A <sub>3</sub> /Ae.i. <sub>3</sub>	Desviación estándar	Promedio	C.V.	Factor respuesta
1	0.0483991	Linoleico	658904	714110	711953	0.02	0.02	0.02	0.00	0.02	1.49	1.06
		E.I.	39613014	41675241	42233984							
2	1.685532	Linoleico	17477488	21866902	21249093	0.52	0.53	0.54	0.01	0.53	1.86	0.95
		E.I.	33797230	41073138	39686728							
3	3.371064	Linoleico	40204205	43899836	40363808	1.10	1.10	1.10	0.00	1.10	0.35	0.99
		E.I.	36651127	39889676	36543903							
4	5.056596	Linoleico	60832685	70923842	66911166	1.68	1.68	1.71	0.02	1.69	1.06	1.02
		E.I.	36268092	42177252	39126029							
5	6.742128	Linoleico	69435596	85622490	78448611	2.29	2.23	2.23	0.04	2.25	1.61	1.01
		E.I.	30315619	38399145	35242670							
6	8.42766	Linoleico	98202261	133444284	103566670	2.74	2.75	2.73	0.01	2.74	0.32	0.99
		E.I.	35781804	48512206	37887384							



**TABLA 1 C. Valores de áreas para la curva de calibración, para el ácido linolenico.**

Sistema	[Linolénico]	FAMES	A1	A2	A3	$A_1/Ae.i.1$	$A_2/Ae.i.2$	$A_3/Ae.i.3$	Desviación	Promedio	C.V.	Factor respuesta
1	0.0483991	Linolenico	634057	670287	696672	0.02	0.02	0.02	0.00	0.02	1.62	1.02
		E.I.	39613014	41675241	42233984							
2	1.691712	Linolenico	17219531	21399346	21200868	0.51	0.52	0.53	0.01	0.52	2.37	0.94
		E.I.	33797230	41073138	39686728							
3	3.383424	Linolenico	40089449	43125141	40381175	1.09	1.08	1.11	0.01	1.09	1.09	0.98
		E.I.	36651127	39889676	36543903							
4	5.075136	Linolenico	60730112	70027664	65666909	1.67	1.66	1.68	0.01	1.67	0.57	1.00
		E.I.	36268092	42177252	39126029							
5	6.766848	Linolenico	68688361	84654855	76494118	2.27	2.20	2.17	0.05	2.21	2.18	0.99
		E.I.	30315619	38399145	35242670							
6	8.45856	Linolenico	97359531	132497261	102865167	2.72	2.73	2.72	0.01	2.72	0.30	0.98
		E.I.	35781804	48512206	37887384							

**TABLA 2 A tiempos de retención para la curva de calibración, para el ácido láurico.**

Sistema	T <sub>R1</sub> (min)	T <sub>R2</sub> (min)	T <sub>R3</sub> (min)	Desviación	Promedio	C.V.
1	13.747	13.755	13.738	0.01	13.75	0.06
2	13.742	13.752	13.745	0.01	13.75	0.04
3	13.75	13.742	13.745	0.00	13.75	0.03
4	13.715	13.737	13.737	0.01	13.73	0.09
5	13.738	13.72	13.732	0.01	13.73	0.07
6	13.715	13.743	13.736	0.01	13.73	0.11

**TABLA 2 B. Valores de tiempos de retención para la curva de calibración, para el ácido oleico.**

Sistema	T <sub>R1</sub> (min)	T <sub>R2</sub> (min)	T <sub>R3</sub> (min)	Desviación	Promedio	C.V.
1	21.602	21.608	21.593	0.01	21.60	0.03
2	21.618	21.625	21.613	0.01	21.62	0.03
3	21.635	21.628	21.632	0.00	21.63	0.02
4	21.608	21.628	21.627	0.01	21.62	0.05
5	21.64	21.627	21.63	0.01	21.63	0.03
6	21.61	21.597	21.654	0.03	21.62	0.14

**TABLA 2 C. Valores de tiempos de retención para la curva de calibración, para el ácido linoleico.**

Sistema	T <sub>R1</sub> (min)	T <sub>R2</sub> (min)	T <sub>R3</sub> (min)	Desviación	Promedio	C.V.
1	22.15	22.157	22.142	0.008	22.15	0.03
2	22.162	22.172	22.163	0.006	22.17	0.02
3	22.183	22.178	22.18	0.003	22.18	0.01
4	22.155	22.173	22.173	0.010	22.17	0.05
5	22.185	22.172	22.178	0.007	22.18	0.03
6	22.19	22.184	22.1887	0.003	22.19	0.01

**TABLA 2 D. Valores de tiempos de retención para la curva de calibración, para el ácido linolénico.**

Sistema	T <sub>R1</sub> (min)	T <sub>R2</sub> (min)	T <sub>R3</sub> (min)	Desviación	Promedio	C.V.
1	22.883	22.89	22.878	0.006	22.88	0.03
2	22.898	22.907	22.897	0.006	22.90	0.02
3	22.92	22.912	22.913	0.004	22.92	0.02
4	22.888	22.908	22.908	0.012	22.90	0.05
5	22.92	22.903	22.913	0.009	22.91	0.04
6	22.896	22.91	22.921	0.013	22.91	0.05

**TABLA 3 A. Valores de áreas en muestras de aceite extra virgen L.A. Cetto, para el ácido oleico.**

Ácido graso	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A1/Aei	A2/Aei	A3/Aei	Desviación estándar	Promedio	C.V.	[Oleico] (mg/mL)	Aceite (mg)	% de oleico
Oleico	79912069	81011094	72017824	1.924	1.966	1.945	0.021	1.945	1.064	5.716	44.300	64.515
EI	41527549	41212427	37036523									
Oleico	72554440	73766186	67523103	1.842	1.926	1.929	0.049	1.899	2.585	5.582	43.100	64.753
EI	39379262	38304126	35002556									
Oleico	68252600	65890905	64326121	1.786	1.711	1.735	0.038	1.744	2.182	5.126	40.100	63.913
EI	38222817	38507059	37075757									
Oleico	74133125	81380574	76616839	2.071	2.054	2.085	0.015	2.070	0.747	6.083	47.700	63.767
EI	35798516	39621700	36749974									
Oleico	80634536	76168749	69465795	2.034	2.000	1.986	0.025	2.007	1.230	5.898	45.900	64.254
EI	39638747	38075535	34975288									

**TABLA 3 B. Valores de áreas en muestras de aceite extra virgen L.A. Cetto, para el ácido linoleico.**

Ácido graso	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A1/Aei	A2/Aei	A3/Aei	Desviación estándar	Promedio	C.V.	[Oleico] (mg/mL)	Aceite (mg)	% de oleico
Linoleico	35867403	37079330	37211207	0.742	0.725	0.737	0.009	0.735	1.234	2.242	136.400	8.217
EI	48322188	51169720	50478486									
Linoleico	35651257	38752079	35766174	0.708	0.726	0.715	0.009	0.716	1.210	2.186	136.000	8.038
EI	50331990	53409273	49995110									
Linoleico	63891803	63244878	70358318	0.574	0.558	0.565	0.008	0.566	1.353	1.729	120.000	7.204
EI	111379082	113257618	124604617									
Linoleico	95283092	82517365	68107378	0.637	0.633	0.618	0.010	0.629	1.605	1.922	134.800	7.131
EI	149562330	130325011	110214057									
Linoleico	64635722	66024459	70044934	0.587	0.597	0.595	0.005	0.593	0.846	1.812	126.300	7.173
EI	110059619	110619277	117790756									



**TABLA 3 C. Valores de áreas en muestras de aceite extra virgen L.A. Cetto, para el ácido linolénico.**

Ácido graso	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A1/Aei	A2/Aei	A3/Aei	Desviación estándar	Promedio	C.V.	[Oleico] (mg/mL)	Aceite (mg)	% de oleico
Linolénico	2049106	2187249	2137004	0.042	0.043	0.042	0.000	0.042	0.516	0.148	136.400	0.542
EI	48322188	51169720	50478486									
Linolénico	2260165	2360219	2152967	0.045	0.044	0.043	0.001	0.044	2.108	0.153	136.000	0.561
EI	50331990	53409273	49995110									
Linolénico	4245923	4220297	4635921	0.038	0.037	0.037	0.001	0.038	1.367	0.133	120.000	0.552
EI	111379082	113257618	124604617									
Linolénico	6596913	5768636	4805262	0.044	0.044	0.044	0.000	0.044	0.790	0.152	134.800	0.565
EI	149562330	130325011	110214057									
Linolénico	4203684	4278202	4558736	0.038	0.039	0.039	0.000	0.039	0.741	0.136	126.300	0.537
EI	110059619	110619277	117790756									



**TABLA 3 D. Valores de tiempos de retención en muestras de aceite extra virgen L.A. Cetto.**

Ácido graso	Tr <sub>1</sub> (min)	Tr <sub>2</sub> (min)	Tr <sub>3</sub> (min)	Desviación estándar	Promedio	C.V.
Oleico	21.620	21.612	21.613	0.004	21.615	0.020
Linoleico	22.130	22.145	22.123	0.011	22.133	0.051
Linolénico	22.848	22.855	22.853	0.004	22.852	0.016
EI	13.728	13.727	13.728	0.001	13.728	0.004
Oleico	21.598	21.605	21.605	0.004	21.603	0.019
Linoleico	22.132	22.135	22.123	0.006	22.130	0.028
Linolénico	22.814	22.842	22.845	0.017	22.834	0.075
EI	13.708	13.720	13.717	0.006	13.715	0.046
Oleico	21.602	21.605	21.605	0.002	21.604	0.008
Linoleico	22.150	22.150	22.148	0.001	22.149	0.005
Linolénico	22.825	22.840	22.847	0.011	22.837	0.049
EI	13.720	13.725	13.727	0.004	13.724	0.026
Oleico	21.608	21.615	21.610	0.004	21.611	0.017
Linoleico	22.152	22.152	22.147	0.003	22.150	0.013
Linolénico	22.845	22.852	22.847	0.004	22.848	0.016
EI	13.728	13.732	13.728	0.002	13.729	0.017
Oleico	21.608	21.610	21.608	0.001	21.609	0.005
Linoleico	22.151	22.150	22.148	0.002	22.150	0.007
Linolénico	22.845	22.848	22.845	0.002	22.846	0.008
EI	13.728	13.727	13.725	0.002	13.727	0.011



**TABLA 4 A. Valores de areas en muestras de aceite extra virgen Oli ML, para el ácido oleico.**

Ácido graso	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A1/Aei	A2/Aei	A3/Aei	Desviación	Promedio	C.V.	[Oleico] (mg/mL)	Aceite (mg)	% de oleico
Oleico	35015609	26523434	30273041	0.644	0.618	0.632	0.013	0.631	2.054	1.857	40.500	22.922
EI	54405779	42937191	47899786									
Oleico	26234449	28103894	25747385	0.604	0.613	0.591	0.011	0.602	1.832	1.772	41.300	21.455
EI	43467994	45865125	43582678									
Oleico	28206102	26914857	37387307	0.625	0.628	0.611	0.009	0.621	1.462	1.828	43.800	20.866
EI	45139866	42853715	61193013									
Oleico	29436912	27451120	27737937	0.546	0.564	0.570	0.013	0.560	2.298	1.648	39.000	21.123
EI	53963053	48665994	48644251									
Oleico	23886332	23495678	22352408	0.531	0.523	0.523	0.005	0.526	0.861	1.547	38.000	20.357
EI	44986896	44928498	42713892									

**TABLA 4 B. Valores de areas en muestras de aceite extra virgen Oli ML, para el ácido linoleico.**

Ácido graso	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A1/Aei	A2/Aei	A3/Aei	Desviación	Promedio	C.V.	[Oleico] (mg/mL)	Aceite (mg)	% de oleico
Linoleico	50764282	40122874	44917652	0.933	0.934	0.938	0.003	0.935	0.304	2.849	40.500	35.171
EI	54405779	42970709	47872099									
Linoleico	40741343	44656871	40095024	0.937	0.974	0.920	0.027	0.944	2.904	2.875	41.300	34.805
EI	43467994	45865125	43582678									
Linoleico	46111509	43173619	60424874	1.022	1.007	0.987	0.017	1.005	1.703	3.062	43.800	34.959
EI	45139866	42853715	61193013									
Linoleico	45034256	41826171	42194162	0.835	0.859	0.867	0.017	0.854	2.008	2.603	39.000	33.367
EI	53963053	48665994	48644251									
Linoleico	37977757	37018563	34987047	0.844	0.824	0.819	0.013	0.829	1.606	2.528	38.000	33.259
EI	44986896	44928498	42713892									



**TABLA 4 C. Valores de areas en muestras de aceite extra virgen L.A. Cetto, para el ácido linolénico.**

Ácido graso	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A1/Aei	A2/Aei	A3/Aei	Desviación	Promedio	C.V.	[Oleico] (mg/mL)	Aceite (mg)	% de oleico
Linolénico	5309122	4232908	4684060	0.098	0.099	0.098	0.0005	0.098	0.486	0.318	40.500	3.931
EI	54405779	42970709	47872099									
Linolénico	4105313	4356563	3929921	0.094	0.095	0.090	0.003	0.093	2.830	0.304	41.300	3.677
EI	43467994	45865125	43582678									
Linolénico	4743235	4549280	6536969	0.105	0.106	0.107	0.001	0.106	0.831	0.343	43.800	3.917
EI	45139866	42853715	61193013									
Linolénico	4940572	4604525	4614232	0.092	0.095	0.095	0.002	0.094	1.965	0.305	39.000	3.913
EI	53963053	48665994	48644251									
Linolénico	3863586	3788166	3486696	0.086	0.084	0.082	0.002	0.084	2.563	0.275	38.000	3.622
EI	44986896	44928498	42713892									



**TABLA 4 D. Valores de tiempos de retención en muestras de aceite extra virgen Oli ML**

Ácido graso	Tr <sub>1</sub> (min)	Tr <sub>2</sub> (min)	Tr <sub>3</sub> (min)	Desviación	Promedio	C.V.
Oleico	21.568	21.577	21.582	0.007	21.576	0.033
Linoleico	22.128	22.133	22.131	0.003	22.131	0.011
Linolénico	22.833	22.843	22.847	0.007	22.841	0.032
EI	13.713	13.722	13.725	0.006	13.720	0.046
Oleico	21.578	21.583	21.583	0.003	21.581	0.013
Linoleico	22.135	22.138	22.142	0.004	22.138	0.016
Linolénico	22.845	22.847	22.85	0.003	22.847	0.011
EI	13.723	13.727	13.727	0.002	13.726	0.017
Oleico	21.592	21.585	21.563	0.015	21.580	0.070
Linoleico	22.148	22.143	22.123	0.013	22.138	0.060
Linolénico	22.857	22.852	22.823	0.018	22.844	0.080
EI	13.733	13.725	13.708	0.013	13.722	0.093
Oleico	21.57	21.572	21.572	0.001	21.571	0.005
Linoleico	22.127	22.127	22.128	0.001	22.127	0.003
Linolénico	22.835	22.835	22.838	0.002	22.836	0.008
EI	13.718	13.718	13.717	0.001	13.718	0.004
Oleico	21.57	21.573	21.568	0.003	21.570	0.012
Linoleico	22.127	22.128	22.125	0.002	22.127	0.007
Linolénico	22.838	22.842	22.837	0.003	22.839	0.012
EI	13.72	13.722	13.718	0.002	13.720	0.015

**TABLA 5 A. Valores de áreas en muestras de aceite extra virgen Oli Oliva, para el ácido oleico.**

Ácido graso	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A1/Aei	A2/Aei	A3/Aei	Desviación	Promedio	C.V.	[Oleico] (mg/mL)	Aceite (mg)	% de oleico
Oleico	36158446	36456369	36304902	0.732	0.736	0.742	0.005	0.737	0.665	2.168	43.1	25.149
EI	49367840	49500156	48916586									
Oleico	29417590	27771168	29669478	0.648	0.641	0.635	0.006	0.641	0.968	1.887	40	23.588
EI	45414019	43311940	46697491									
Oleico	35964881	32861649	35489516	0.761	0.748	0.789	0.021	0.766	2.733	2.252	44	25.587
EI	47288920	43955872	45007220									
Oleico	38964237	41705908	38136920	0.716	0.747	0.757	0.021	0.740	2.892	2.176	41	26.538
EI	54436193	55829738	50397974									
Oleico	35937890	35586723	31225734	0.716	0.740	0.702	0.019	0.719	2.668	2.115	44	24.035
EI	50206611	48112053	44499017									

**TABLA 5 B. Valores de áreas en muestras de aceite extra virgen Oli Oliva, para el ácido linoleico.**

Ácido graso	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A1/Aei	A2/Aei	A3/Aei	Desviación	Promedio	C.V.	[Oleico] (mg/mL)	Aceite (mg)	% de oleico
Linoleico	41526234	42275443	41580590	0.841	0.854	0.850	0.007	0.848	0.777	2.586	43.1	30.003
EI	49367840	49500156	48916586									
Linoleico	36130234	34242022	36499494	0.796	0.791	0.782	0.007	0.789	0.896	2.407	40	30.087
EI	45414019	43311940	46697491									
Linoleico	42493748	41086951	41309157	0.899	0.935	0.918	0.018	0.917	1.971	2.794	44.9	31.117
EI	47288920	43955872	45007220									
Linoleico	44856354	48360305	43214951	0.859	0.866	0.857	0.005	0.861	0.551	2.624	41	31.997
EI	52241985	55829738	50397974									
Linoleico	45517735	44040857	38413125	0.907	0.915	0.871	0.023	0.898	2.600	2.736	45	30.398
EI	50206611	48112053	44088238									



**TABLA 5 C. Valores de areas en muestras de aceite extra virgen Oli Oliva, para el ácido linolénico.**

Ácido graso	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A1/Aei	A2/Aei	A3/Aei	Desviación	Promedio	C.V.	[Oleico] (mg/mL)	Aceite (mg)	% de oleico
Linolénico	1007376	1001675	984400	0.020	0.020	0.020	0.000	0.020	0.700	0.079	43.1	0.922
EI	49367840	49500156	48916586									
Linolénico	857832	840577	872495	0.019	0.019	0.019	0.000	0.019	1.963	0.076	40	0.945
EI	45414019	43311940	46697491									
Linolénico	1126001	1011424	1074645	0.024	0.023	0.024	0.000	0.024	2.048	0.090	44.9	0.998
EI	47288920	43955872	45007220									
Linolénico	947802	1057086	965459	0.018	0.019	0.019	0.001	0.019	2.844	0.075	41	0.913
EI	52241985	55829738	50397974									
Linolénico	1141834	1099417	973608	0.023	0.023	0.022	0.000	0.023	1.842	0.087	45	0.962
EI	50206611	48112053	44088238									



**TABLA 5 D. Valores de tiempos de retención en muestras de aceite extra virgen Oli Oliva.**

Ácido graso	Tr <sub>1</sub> (min)	Tr <sub>2</sub> (min)	Tr <sub>3</sub> (min)	Desviación	Promedio	C.V.
Oleico	21.587	21.582	21.582	0.003	21.584	0.013
Linoleico	22.135	22.133	22.135	0.001	22.134	0.005
Linolénico	22.842	22.84	22.842	0.001	22.841	0.005
EI	13.723	13.725	13.728	0.003	13.725	0.018
Oleico	21.578	21.578	21.58	0.001	21.579	0.005
Linoleico	22.132	22.132	22.133	0.001	22.132	0.003
Linolénico	22.84	22.84	22.842	0.001	22.841	0.005
EI	13.723	13.725	13.727	0.002	13.725	0.015
Oleico	21.588	21.583	21.583	0.003	21.585	0.013
Linoleico	22.138	22.137	22.132	0.003	22.136	0.015
Linolénico	22.847	22.843	22.84	0.004	22.843	0.015
EI	13.728	13.727	13.725	0.002	13.727	0.011
Oleico	21.56	21.575	21.578	0.010	21.571	0.045
Linoleico	22.107	22.125	22.128	0.011	22.120	0.051
Linolénico	22.813	22.823	22.832	0.010	22.823	0.042
EI	13.702	13.712	13.715	0.007	13.710	0.050
Oleico	21.575	21.578	21.577	0.002	21.577	0.007
Linoleico	22.13	22.127	22.128	0.002	22.128	0.007
Linolénico	22.833	22.835	22.835	0.001	22.834	0.005
EI	13.717	13.717	13.718	0.001	13.717	0.004

**TABLA 6 A. Valores de areas en muestras de aceite extra virgen Ibarra, para el ácido oleico.**

Ácido graso	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A1/Aei	A2/Aei	A3/Aei	Desviación	Promedio	C.V.	[Oleico] (mg/mL)	Aceite (mg)	% de oleico
Oleico	90583294	82797913	90511630	1.827	1.802	1.810	0.013	1.813	0.717	5.329	46.8	56.937
EI	49570733	45952917	49994012									
Oleico	78630392	78178337	79395888	1.670	1.707	1.673	0.021	1.684	1.224	4.949	45.3	54.620
EI	47073204	45789736	47456625									
Oleico	75149292	78666979	78915668	1.731	1.761	1.725	0.019	1.739	1.108	5.112	46.8	54.613
EI	43401399	44669994	45750767									
Oleico	109548890	93257484	80240148	1.668	1.716	1.701	0.025	1.695	1.446	4.983	44	56.620
EI	65671974	54349030	47159076									
Oleico	57075903	67689314	56596957	1.498	1.463	1.506	0.023	1.489	1.542	4.377	39.5	55.400
EI	38110614	46271922	37576131									

**TABLA 6 B. Valores de areas en muestras de aceite extra virgen Ibarra, para el ácido linoleico.**

Ácido graso	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A1/Aei	A2/Aei	A3/Aei	Desviación	Promedio	C.V.	[Oleico] (mg/mL)	Aceite (mg)	% de oleico
Linoleico	8586545	7895966	8485842	0.173	0.172	0.170	0.002	0.172	1.021	0.535	46.8	5.712
EI	49570733	45952917	49994012									
Linoleico	7532811	7400480	7258037	0.160	0.162	0.153	0.005	0.158	2.920	0.494	45.3	5.453
EI	47073204	45789736	47456625									
Linoleico	7148046	7421333	7328440	0.165	0.166	0.160	0.003	0.164	1.898	0.511	46.8	5.456
EI	43401399	44669994	45750767									
Linoleico	10222096	8180874	7113271	0.156	0.151	0.151	0.003	0.152	1.888	0.476	44	5.413
EI	65671974	54349030	47159076									
Linoleico	5881201	6931103	5621760	0.154	0.150	0.150	0.003	0.151	1.764	0.473	39.5	5.987
EI	38110614	46271922	37576131									

**TABLA 6 C. Valores de tiempos de retención en muestras de aceite extra virgen Ibarra.**

Ácido graso	Tr <sub>1</sub> (min)	Tr <sub>2</sub> (min)	Tr <sub>3</sub> (min)	Desviación	Promedio	C.V.
Oleico	21.608	21.605	21.607	0.002	21.607	0.007
Linoleico	22.112	22.112	22.11	0.001	22.111	0.005
EI	13.723	13.72	13.722	0.002	13.722	0.011
Oleico	21.607	21.603	21.61	0.004	21.607	0.016
Linoleico	22.11	22.112	22.115	0.003	22.112	0.011
EI	13.723	13.72	13.722	0.002	13.722	0.011
Oleico	21.613	21.6	21.6	0.008	21.604	0.035
Linoleico	22.118	22.105	22.107	0.007	22.110	0.032
EI	13.723	13.717	13.718	0.003	13.719	0.023
Oleico	21.583	21.595	21.592	0.006	21.590	0.029
Linoleico	22.082	22.095	22.098	0.009	22.092	0.038
EI	13.705	13.712	13.712	0.004	13.710	0.029
Oleico	21.61	21.615	21.613	0.003	21.613	0.012
Linoleico	22.125	22.128	22.132	0.004	22.128	0.016
EI	13.733	13.738	13.738	0.003	13.736	0.021

**TABLA 7 A. Valores de areas en muestras de aceite extra virgen Hojiblanca, para el ácido oleico.**

Ácido graso	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A1/Aei	A2/Aei	A3/Aei	Desviación	Promedio	C.V.	[Oleico] (mg/mL)	Aceite (mg)	% de oleico
Oleico	102634228	100371293	93368585	1.978	1.978	1.938	0.023	1.965	1.183	5.775	46.6	61.963
EI	51881887	50734282	48176937									
Oleico	95519586	92477191	294966716	2.005	2.001	1.936	0.039	1.981	1.945	5.821	46.1	63.138
EI	47638860	46222688	152338989									
Oleico	203217291	179599207	186590091	2.033	1.961	1.963	0.041	1.986	2.045	5.836	46.1	63.296
EI	99983764	91589088	95029993									
Oleico	102768202	104727091	106316404	1.903	1.868	1.850	0.027	1.874	1.444	5.507	44.5	61.879
EI	53994231	56072075	57462057									
Oleico	93136520	89040697	97446248	1.790	1.838	1.822	0.024	1.817	1.344	5.339	43.2	61.796
EI	52031508	48443727	53494392									

**TABLA 7 B. Valores de areas en muestras de aceite extra virgen Hojiblanca, para el ácido linoleico.**

Ácido graso	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A1/Aei	A2/Aei	A3/Aei	Desviación	Promedio	C.V.	[Oleico] (mg/mL)	Aceite (mg)	% de oleico
Linoleico	6889566	6747781	6553963	0.133	0.133	0.136	0.002	0.134	1.356	0.421	46.6	4.513
EI	51881887	50734282	48176937									
Linoleico	6637720	6338139	20398181	0.139	0.137	0.134	0.003	0.137	1.998	0.429	46.1	4.655
EI	47638860	46222688	152338989									
Linoleico	13165835	12288879	12756564	0.132	0.134	0.134	0.001	0.133	1.094	0.419	46.1	4.542
EI	99983764	91589088	95029993									
Linoleico	7191259	7375525	7669683	0.133	0.132	0.133	0.001	0.133	0.788	0.417	44.5	4.684
EI	53994231	56072075	57462057									
Linoleico	6472174	6273229	6871280	0.124	0.129	0.128	0.003	0.127	2.116	0.401	43.2	4.640
EI	52031508	48443727	53494392									



**TABLA 7 C. Valores de areas en muestras de aceite extra virgen Hojiblanca, para el ácido linolénico.**

Ácido graso	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A1/Aei	A2/Aei	A3/Aei	Desviación	Promedio	C.V.	[Oleico] (mg/mL)	Aceite (mg)	% de oleico
Linolénico	732076	695912	688692	0.014	0.014	0.014	0.000	0.014	2.104	0.060	46.6	0.648
EI	51881887	50734282	48176937									
Linolénico	702379	692860	2178702	0.015	0.015	0.014	0.000	0.015	2.375	0.062	46.1	0.676
EI	47638860	46222688	152338989									
Linolénico	1379815	1288938	1267452	0.014	0.014	0.013	0.000	0.014	2.707	0.059	46.1	0.645
EI	99983764	91589088	95029993									
Linolénico	749197	779976	778517	0.014	0.014	0.014	0.000	0.014	1.449	0.060	44.5	0.669
EI	53994231	56072075	57462057									
Linolénico	648117	621232	676218	0.012	0.013	0.013	0.000	0.013	1.454	0.056	43.2	0.649
EI	52031508	48443727	53494392									



**TABLA 7 D. Valores de tiempos de retención en muestras de aceite extra virgen Hojiblanca.**

Ácido graso	Tr <sub>1</sub> (min)	Tr <sub>2</sub> (min)	Tr <sub>3</sub> (min)	Desviación	Promedio	C.V.
Oleico	21.603	21.603	21.603	0.000	21.603	0.000
Linoleico	22.1	22.131	22.105	0.017	22.112	0.075
Linolénico	22.827	22.84	22.832	0.007	22.833	0.029
EI	13.715	13.718	13.72	0.003	13.718	0.018
Oleico	21.602	21.603	21.64	0.022	21.615	0.100
Linoleico	22.105	22.103	22.098	0.004	22.102	0.016
Linolénico	22.83	22.83	22.81	0.012	22.823	0.051
EI	13.717	13.715	13.735	0.011	13.722	0.080
Oleico	21.63	21.622	21.627	0.004	21.626	0.019
Linoleico	22.103	22.103	22.107	0.002	22.104	0.010
Linolénico	22.82	22.825	22.828	0.004	22.824	0.018
EI	13.73	13.728	13.73	0.001	13.729	0.008
Oleico	21.6	21.605	21.603	0.003	21.603	0.012
Linoleico	22.098	22.103	22.102	0.003	22.101	0.012
Linolénico	22.825	22.828	22.83	0.003	22.828	0.011
EI	13.713	13.713	13.713	0.000	13.713	0.000
Oleico	21.598	21.598	21.605	0.004	21.600	0.019
Linoleico	22.098	22.102	22.107	0.005	22.102	0.020
Linolénico	22.81	22.827	22.82	0.009	22.819	0.037
EI	13.712	13.713	13.718	0.003	13.714	0.023

**TABLA 8 A. Valores de areas en muestras de aceite extra virgen Borges.**

Ácido graso	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A1/Aei	A2/Aei	A3/Aei	Desviación	Promedio	C.V.	[Oleico] (mg/mL)	Aceite (mg)	% de oleico
Oleico	104745158	116996155	104751859	2.079	2.076	2.083	0.004	2.080	0.174	6.112	44.5	68.673
EI	50372723	56354953	50281926									
Oleico	102247413	102760467	103594147	2.141	2.119	2.072	0.035	2.111	1.669	6.204	46.4	66.851
EI	47747722	48498508	49989155									
Oleico	107404058	104868722	92917798	2.160	2.214	2.147	0.036	2.174	1.642	6.388	49.1	65.051
EI	49735480	47363184	43276701									
Oleico	99322391	92448705	106305428	2.127	2.064	2.110	0.033	2.101	1.552	6.174	45.4	67.990
EI	46686035	44784598	50383409									
Oleico	101089844	116996155	91977276	2.126	2.087	2.133	0.025	2.115	1.179	6.217	45.6	68.166
EI	47555481	56064239	43115366									

**TABLA 8 B. Valores de areas en muestras de aceite extra virgen Borges.**

Ácido graso	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A1/Aei	A2/Aei	A3/Aei	Desviación	Promedio	C.V.	[Oleico] (mg/mL)	Aceite (mg)	% de oleico
Linoleico	7889764	8483673	7701560	0.157	0.151	0.153	0.003	0.153	1.990	0.480	44.5	5.390
EI	50372723	56354953	50281926									
Linoleico	7424168	7693191	7535291	0.155	0.159	0.151	0.004	0.155	2.563	0.484	46.4	5.218
EI	47747722	48498508	49989155									
Linoleico	8359912	7952615	7174396	0.168	0.168	0.166	0.001	0.167	0.767	0.522	49.1	5.311
EI	49735480	47363184	43276701									
Linoleico	7163596	6719860	7699796	0.153	0.150	0.153	0.002	0.152	1.188	0.476	45.4	5.238
EI	46686035	44784598	50383409									
Linoleico	7702031	9433233	7116189	0.162	0.168	0.165	0.003	0.165	1.908	0.515	45.6	5.647
EI	47555481	56064239	43115366									



**TABLA 8 C. Valores de areas en muestras de aceite extra virgen Borges.**

Ácido graso	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A1/Aei	A2/Aei	A3/Aei	Desviación	Promedio	C.V.	[Oleico] (mg/mL)	Aceite (mg)	% de oleico
Linolénico	750374	801816	733063	0.015	0.014	0.015	0.000	0.015	2.295	0.062	44.5	0.697
EI	50372723	56354953	50281926									
Linolénico	693436	697265	701631	0.015	0.014	0.014	0.000	0.014	1.747	0.061	46.4	0.660
EI	47747722	48498508	49989155									
Linolénico	797444	745773	696276	0.016	0.016	0.016	0.000	0.016	1.155	0.066	49.1	0.675
EI	49735480	47363184	43276701									
Linolénico	643137	622158	674366	0.014	0.014	0.013	0.000	0.014	1.943	0.059	45.4	0.653
EI	46686035	44784598	50383409									
Linolénico	692508	800594	644183	0.015	0.014	0.015	0.000	0.015	2.273	0.062	45.6	0.681
EI	47555481	56064239	43115366									



**TABLA 8 D. Valores de tiempos de retención en muestras de aceite extra virgen Borges.**

Ácido graso	Tr <sub>1</sub> (min)	Tr <sub>2</sub> (min)	Tr <sub>3</sub> (min)	Desviación	Promedio	C.V.
Oleico	21.575	21.59	21.597	0.011	21.587	0.052
Linoleico	22.07	22.083	22.095	0.013	22.083	0.057
Linolénico	22.84	22.808	22.83	0.016	22.826	0.072
EI	13.682	13.698	13.7	0.010	13.693	0.072
Oleico	21.6	21.602	21.582	0.011	21.595	0.051
Linoleico	22.1	22.098	22.092	0.004	22.097	0.019
Linolénico	22.825	22.823	22.817	0.004	22.822	0.018
EI	13.708	13.708	13.705	0.002	13.707	0.013
Oleico	21.602	21.593	21.592	0.006	21.596	0.026
Linoleico	22.098	22.092	22.092	0.003	22.094	0.016
Linolénico	22.832	22.817	22.818	0.008	22.822	0.037
EI	13.708	13.707	13.703	0.003	13.706	0.019
Oleico	21.595	21.592	21.588	0.004	21.592	0.016
Linoleico	22.092	22.092	22.085	0.004	22.090	0.018
Linolénico	22.828	22.82	22.812	0.008	22.820	0.035
EI	13.697	13.698	13.698	0.001	13.698	0.004
Oleico	21.6	21.59	21.592	0.005	21.594	0.025
Linoleico	22.1	22.083	22.092	0.009	22.092	0.038
Linolénico	22.825	22.808	22.818	0.009	22.817	0.037
EI	13.708	13.698	13.703	0.005	13.703	0.036

**TABLA 9 A. Valores de areas en muestras de aceite extra virgen Filippo berio, para el ácido oleico.**

Ácido graso	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A1/Aei	A2/Aei	A3/Aei	Desviación	Promedio	C.V.	[Oleico] (mg/mL)	Aceite (mg)	% de oleico
Oleico	86285746	86176380	83654514	2.097	2.074	2.059	0.019	2.076	0.936	6.103	43	70.962
EI	41144887	41555902	40638038									
Oleico	87701060	95259943	91056867	1.979	1.956	2.029	0.037	1.988	1.882	5.843	41.2	70.908
EI	44322079	48699292	44873938									
Oleico	86613833	86468586	85503918	2.001	1.944	1.968	0.028	1.971	1.443	5.793	40.5	71.514
EI	43293854	44482103	43442566									
Oleico	75422549	87695971	96026661	1.917	1.982	1.981	0.037	1.960	1.907	5.760	41	70.247
EI	39349134	44241842	48480304									
Oleico	87059050	91426070	82684960	2.004	2.029	1.948	0.041	1.993	2.080	5.859	41	71.450
EI	43448885	45062260	42449248									

**TABLA 9 B. Valores de areas en muestras de aceite extra virgen Filippo Berio, para el ácido linoleico.**

Ácido graso	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A1/Aei	A2/Aei	A3/Aei	Desviación	Promedio	C.V.	[Oleico] (mg/mL)	Aceite (mg)	% de oleico
Linoleico	6711682	6792202	6662876	0.163	0.163	0.164	0.000	0.164	0.257	0.510	43	5.932
EI	41144887	41555902	40638038									
Linoleico	7397053	8174670	7475720	0.167	0.168	0.167	0.001	0.167	0.396	0.521	41.2	6.324
EI	44322079	48699292	44873938									
Linoleico	6715192	6997760	6791833	0.155	0.157	0.156	0.001	0.156	0.708	0.488	40.5	6.027
EI	43293854	44482103	43442566									
Linoleico	5975770	6837314	7411650	0.152	0.155	0.153	0.001	0.153	0.883	0.479	41	5.837
EI	39349134	44241842	48480304									
Linoleico	7049143	7321778	7172086	0.162	0.162	0.169	0.004	0.165	2.315	0.513	41	6.261
EI	43448885	45062260	42449248									



**TABLA 9 C. Valores de tiempos de retención en muestras de aceite extra virgen Filippo berio.**

Ácido graso	Tr <sub>1</sub> (min)	Tr <sub>2</sub> (min)	Tr <sub>3</sub> (min)	Desviación	Promedio	C.V.
Oleico	21.598	21.605	21.602	0.00351188	21.6016667	0.01625747
Linoleico	22.088	22.088	22.085	0.00173205	22.087	0.00784195
EI	13.738	13.743	13.748	0.005	13.743	0.03638216
Oleico	21.528	21.567	21.567	0.02251666	21.554	0.10446627
Linoleico	22.07	22.075	22.072	0.00251661	22.0723333	0.01140166
EI	13.677	13.705	13.705	0.01616581	13.6956667	0.11803593
Oleico	21.573	21.572	21.578	0.00321455	21.5743333	0.01489988
Linoleico	22.072	22.075	22.08	0.00404145	22.0756667	0.01830727
EI	13.688	13.688	13.69	0.0011547	13.6886667	0.00843545
Oleico	21.565	21.573	21.575	0.0052915	21.571	0.02453063
Linoleico	22.07	22.075	22.073	0.00251661	22.0726667	0.01140148
EI	13.685	13.687	13.688	0.00152753	13.6866667	0.01116068
Oleico	21.563	21.567	21.567	0.0023094	21.5656667	0.01070869
Linoleico	22.063	22.067	22.068	0.00264575	22.066	0.01199017
EI	13.68	13.683	13.683	0.00173205	13.682	0.01265934

**TABLA 10 A. Valores de areas en muestras de aceite extra virgen Condí, para el ácido oleico.**

Ácido graso	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A1/Aei	A2/Aei	A3/Aei	Desviación	Promedio	C.V.	[Oleico] (mg/mL)	Aceite (mg)	% de oleico
Oleico	90434633	80977868	80977868	1.803	1.791	1.791	0.007	1.795	0.412	5.276	43.1	61.202
EI	50145149	45222876	45222876									
Oleico	78602150	81898516	97689655	1.832	1.832	1.741	0.052	1.802	2.909	5.295	44	60.171
EI	42908068	44710875	56110291									
Oleico	73639682	72551541	79176881	1.865	1.869	1.912	0.026	1.882	1.396	5.531	46	60.124
EI	39491272	38816891	41405526									
Oleico	88886616	73212406	81280822	1.898	1.868	1.837	0.030	1.868	1.624	5.489	44.9	61.129
EI	46834022	39195127	44240296									
Oleico	71904022	80821203	97132849	1.830	1.806	1.745	0.044	1.794	2.456	5.272	43.4	60.737
EI	39285514	44752712	55670283									

**TABLA 10 B. Valores de areas en muestras de aceite extra virgen Condí, para el ácido linoleico.**

Ácido graso	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A1/Aei	A2/Aei	A3/Aei	Desviación	Promedio	C.V.	[Oleico] (mg/mL)	Aceite (mg)	% de oleico
Linoleico	5336840	4876956	4887531	0.106	0.108	0.108	0.001	0.107	0.830	0.340	43.1	3.947
EI	50145149	45222876	45222876									
Linoleico	4819340	4996914	5945435	0.112	0.112	0.110	0.001	0.111	1.122	0.352	44	4.000
EI	42908068	44710875	54083783									
Linoleico	4794439	4730536	5060679	0.121	0.122	0.122	0.000	0.122	0.336	0.384	46	4.172
EI	39491272	38816891	41405526									
Linoleico	5621656	4856086	5590601	0.120	0.124	0.126	0.003	0.123	2.587	0.389	44.9	4.329
EI	46834022	39195127	44240296									
Linoleico	4519783	5003104	6022550	0.115	0.112	0.109	0.003	0.112	2.519	0.354	43.4	4.082
EI	39285514	44752712	55037528									



**TABLA 10 C. Valores de tiempos de retención en muestras de aceite extra virgen Condi.**

Ácido graso	Tr <sub>1</sub> (min)	Tr <sub>2</sub> (min)	Tr <sub>3</sub> (min)	Desviación	Promedio	C.V.
Oleico	21.568	21.565	21.567	0.002	21.567	0.007
Linoleico	22.080	22.067	22.070	0.007	22.072	0.031
EI	13.680	13.678	13.682	0.002	13.680	0.015
Oleico	21.568	21.563	21.563	0.003	21.565	0.013
Linoleico	22.070	22.067	22.058	0.006	22.065	0.028
EI	13.687	13.685	13.675	0.006	13.682	0.047
Oleico	21.565	21.563	21.568	0.003	21.565	0.012
Linoleico	22.072	22.072	22.072	0.000	22.072	0.000
EI	13.678	13.682	13.682	0.002	13.681	0.017
Oleico	21.567	21.557	21.558	0.006	21.561	0.026
Linoleico	22.065	22.063	22.063	0.001	22.064	0.005
EI	13.683	13.680	13.680	0.002	13.681	0.013
Oleico	21.565	21.565	21.563	0.001	21.564	0.005
Linoleico	22.072	22.067	22.058	0.007	22.066	0.032
EI	13.678	13.678	13.675	0.002	13.677	0.013

**TABLA 11 A. Valores de areas en muestras de aceite extra virgen Carapelli firenze, para el ácido oleico.**

Ácido graso	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A1/Aei	A2/Aei	A3/Aei	Desviación	Promedio	C.V.	[Oleico] (mg/mL)	Aceite (mg)	% de oleico
Oleico	72491180	80429085	78975603	1.847	1.802	1.826	0.022	1.825	1.211	5.363	43.2	62.076
EI	39258132	44625065	43262120									
Oleico	87337904	80947026	97795101	1.867	1.818	1.777	0.045	1.821	2.478	5.351	42.9	62.365
EI	46780200	44531395	55037528									
Oleico	90291452	70863291	80777465	1.806	1.828	1.830	0.013	1.821	0.739	5.352	42.5	62.970
EI	50007908	38762780	44151754									
Oleico	79021453	82807834	77536976	1.849	1.856	1.913	0.035	1.872	1.872	5.503	44.1	62.391
EI	42746402	44623104	40541265									
Oleico	72141444	72766611	97817831	1.832	1.833	1.764	0.039	1.810	2.182	5.320	42.6	62.437
EI	39377884	39690284	55442838									

**TABLA 11 B. Valores de areas en muestras de aceite extra virgen Carapelli firenze, para el ácido linoleico.**

Ácido graso	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	A1/Aei	A2/Aei	A3/Aei	Desviación	Promedio	C.V.	[Oleico] (mg/mL)	Aceite (mg)	% de oleico
Linoleico	4066627	4651765	4445586	0.104	0.104	0.103	0.001	0.104	0.717	0.328	43.2	3.801
EI	39258132	44625065	43262120									
Linoleico	5138519	4816769	5922052	0.110	0.108	0.108	0.001	0.109	1.075	0.344	42.9	4.004
EI	46780200	44531395	55037528									
Linoleico	5876605	4399517	5106635	0.118	0.113	0.116	0.002	0.116	1.739	0.365	42.5	4.292
EI	50007908	38762780	44151754									
Linoleico	4826369	5082486	4713516	0.113	0.114	0.116	0.002	0.114	1.509	0.361	44.1	4.095
EI	42746402	44623104	40541265									
Linoleico	4532980	4469773	5953967	0.115	0.113	0.110	0.003	0.113	2.232	0.356	42.6	4.177
EI	39377884	39690284	54083783									



**TABLA 10 C. Valores de tiempos de retención en muestras de aceite extra virgen Carapelli firenze.**

Ácido graso	Tr <sub>1</sub> (min)	Tr <sub>2</sub> (min)	Tr <sub>3</sub> (min)	Desviación	Promedio	C.V.
Oleico	21.565	21.565	21.567	0.001	21.566	0.005
Linoleico	22.072	22.067	22.070	0.003	22.070	0.011
EI	13.678	13.678	13.682	0.002	13.679	0.017
Oleico	21.567	21.565	21.563	0.002	21.565	0.009
Linoleico	22.065	22.067	22.058	0.005	22.063	0.021
EI	13.683	13.678	13.675	0.004	13.679	0.030
Oleico	21.568	21.563	21.558	0.005	21.563	0.023
Linoleico	22.071	22.072	22.063	0.005	22.069	0.022
EI	13.680	13.682	13.680	0.001	13.681	0.008
Oleico	21.565	21.563	21.568	0.003	21.565	0.012
Linoleico	22.070	22.067	22.072	0.003	22.070	0.011
EI	13.687	13.685	13.682	0.003	13.685	0.018
Oleico	21.565	21.557	21.563	0.004	21.562	0.019
Linoleico	22.072	22.063	22.058	0.007	22.064	0.032
EI	13.678	13.680	13.675	0.003	13.678	0.018



**TABLA 11 A. Datos del ácido oleico, obtenidos de la fortificación del aceite Oli ML.**

Nivel	Ácido graso	A1	A2	A3	A1/Aei	A2/Aei	A3/Aei	Desviación	Promedio	C.V.	Aceite (mg)	% de recobro
1	Oleico	35256573	37460865	37139242	0.8956	0.9032	0.9210	0.0130	0.9066	1.4373	36.4	99.5135
	EI	39366738	41474554	40325375								
2	Oleico	63720439	66374079	61566963	1.6255	1.6621	1.6576	0.0200	1.6484	1.2135	35.3	99.7618
	EI	39201493	39932734	37141740								
3	Oleico	105033842	102020625	99751655	2.5869	2.7356	2.6595	0.0743	2.6607	2.7939	41.1	99.2137
	EI	41712691	38323490	38492213								

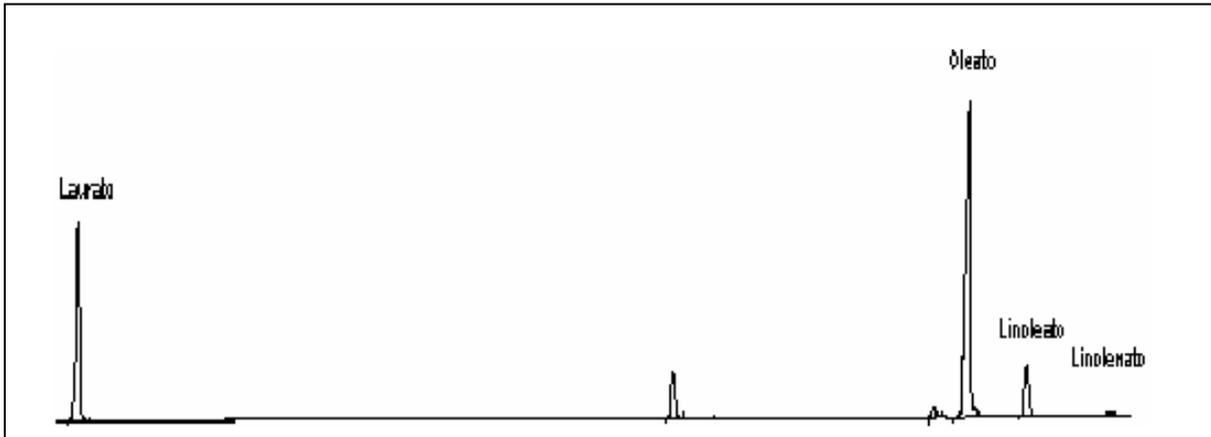
**TABLA 11 B. Datos del ácido linoleico, obtenidos de la fortificación del aceite Oli ML.**

Nivel	Ácido graso	A1	A2	A3	A1/Aei	A2/Aei	A3/Aei	Desviación	Promedio	C.V.	Aceite (mg)	% de recobro
1	Linoleico	40409852	43520213	42317116	1.0265	1.0493	1.0494	0.0132	1.0417	1.2670	36.4	98.9314
	EI	39366738	41474554	40325375								
2	Linoleico	61744270	61735942	58860251	1.5750	1.5460	1.5847	0.0202	1.5686	1.2855	35.3	99.2625
	EI	39201493	39932734	37141740								
3	Linoleico	107908354	104837876	102370511	2.5869	2.7356	2.6595	0.0743	2.6607	2.7939	41.1	99.58
	EI	41712691	38323490	38492213								

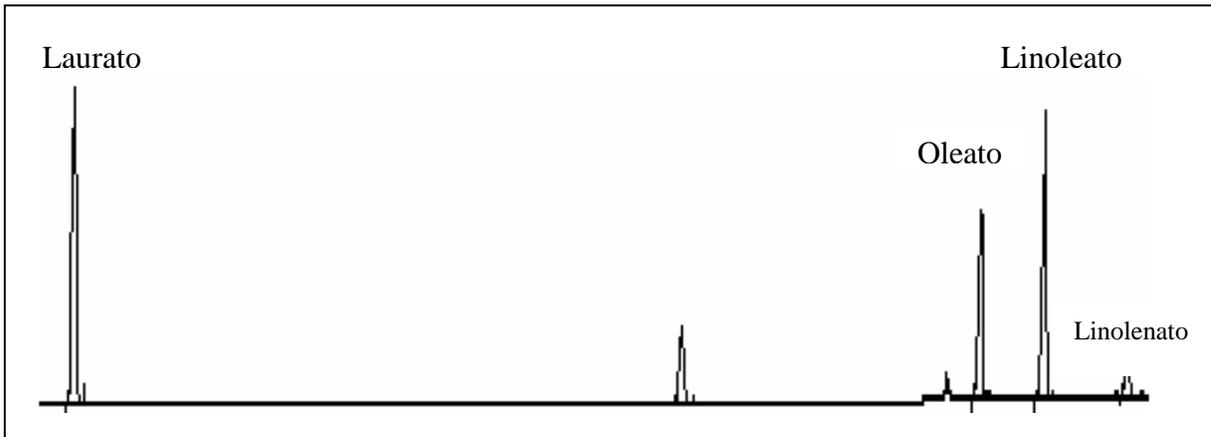


**TABLA 11 C. Datos del ácido linolénico, obtenidos de la fortificación del aceite Oli ML.**

Nivel	Ácido graso	A1	A2	A3	A1/Aei	A2/Aei	A3/Aei	Desviación	Promedio	C.V.	Aceite (mg)	% de recobro
1	Linolénico	41052885	44064843	43499948	1.0428	1.0625	1.0787	0.0180	1.0613	1.6934	36.4	99.4546
	El	39366738	41474554	40325375								
2	Linolénico	63909937	64492586	60726027	1.6303	1.6150	1.6350	0.0104	1.6268	0.6413	35.3	99.2153
	El	39201493	39932734	37141740								
3	Linolénico	92358296	89611476	87141543	2.2142	2.3383	2.2639	0.0625	2.2721	2.7497	41.1	100.1876
	El	41712691	38323490	38492213								



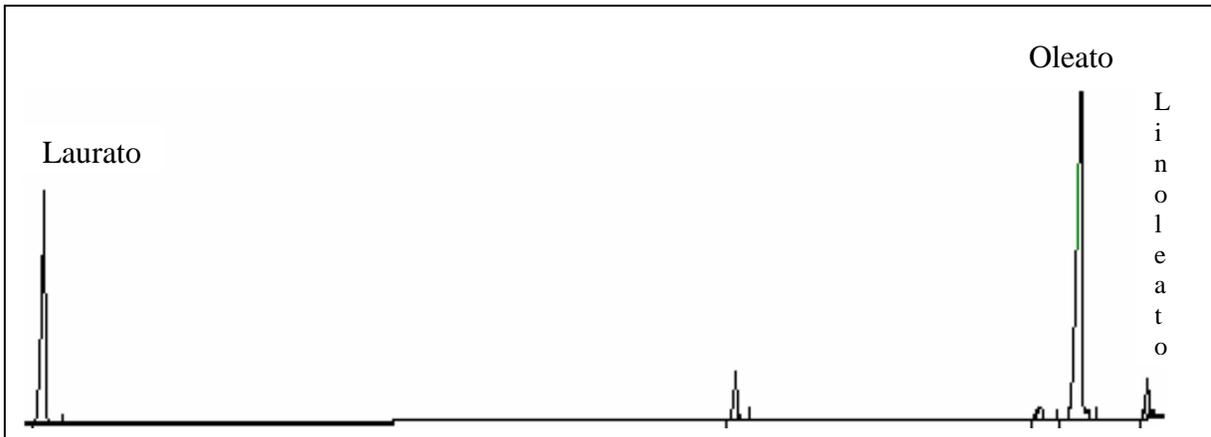
CROMATOGRAMA 1: Aceite mexicano L.A.  
Cetto



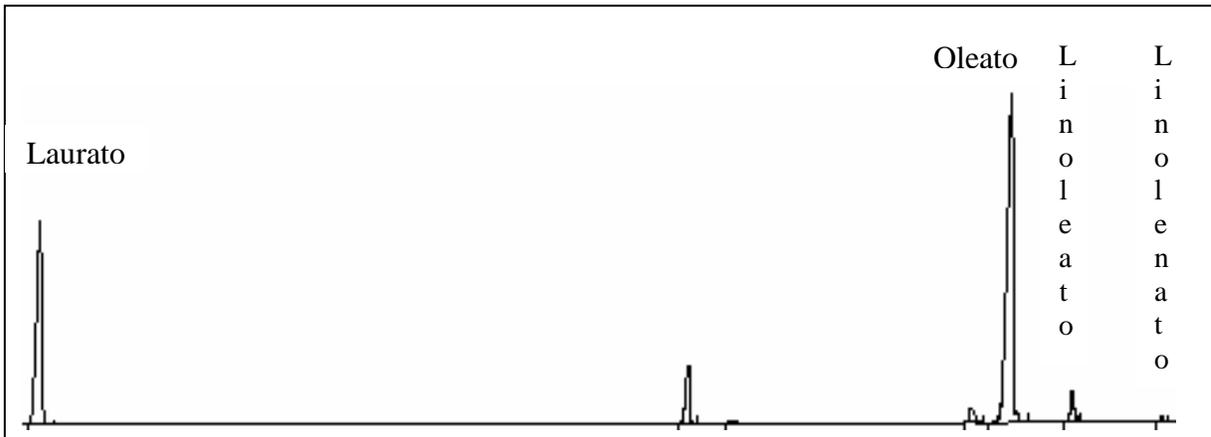
CROMATOGRAMA 2: Aceite mexicano Oli ML



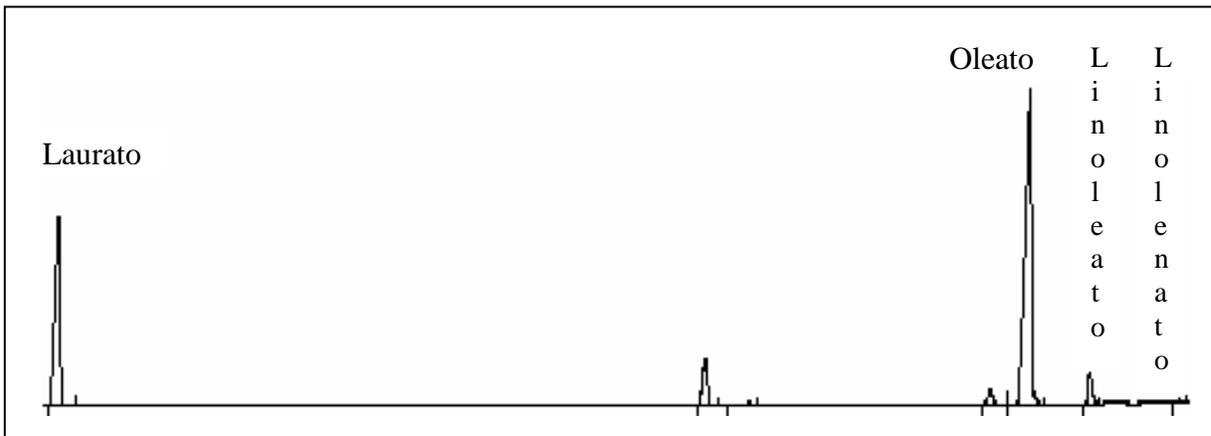
CROMATOGRAMA 3: Aceite mexicano Oli Oliva.



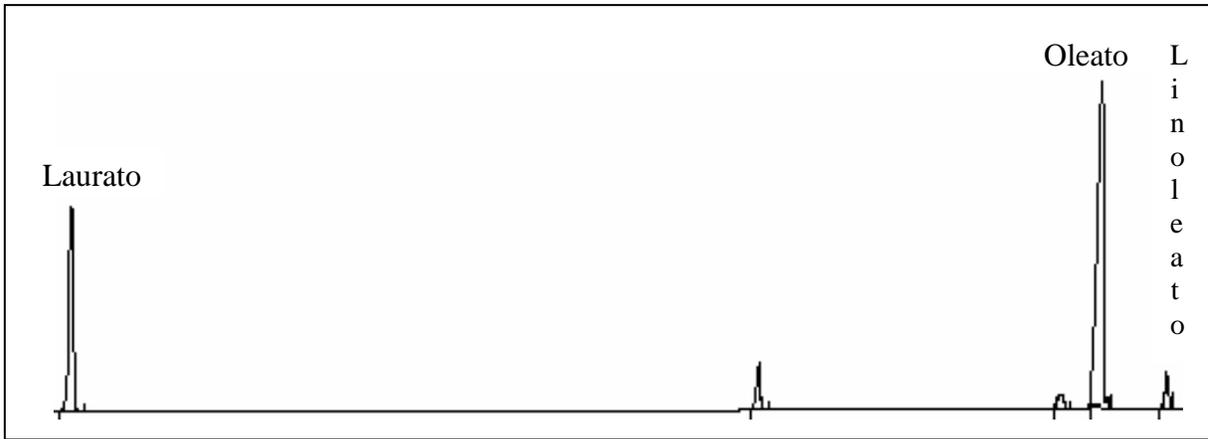
CROMATOGRAMA 4: Aceite español Ibarra.



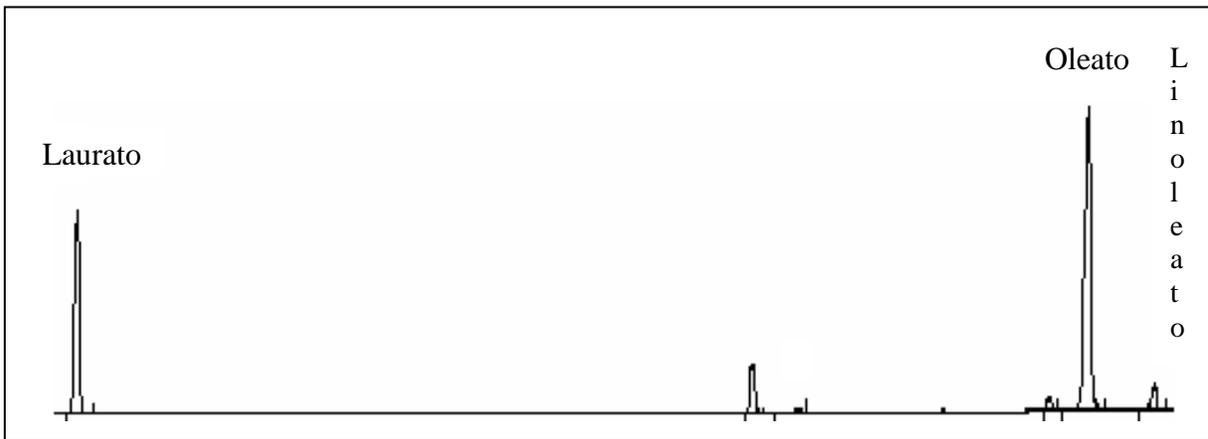
CROMATOGRAMA 5: Aceite de oliva español Hojiblanca.



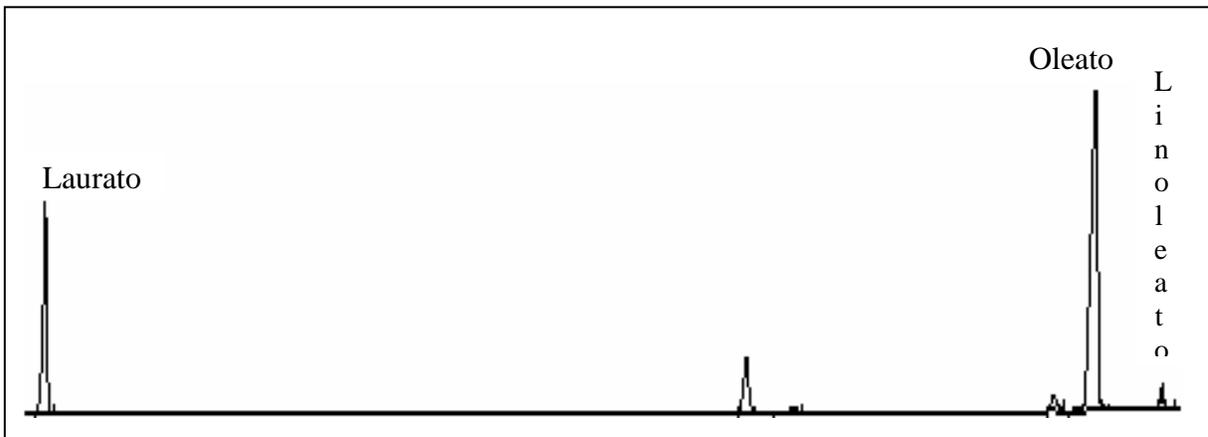
CROMATOGRAMA 6: Aceite de oliva español Borges.



CROMATOGRAMA 7: Aceite italiano Filippo Berio.



CROMATOGRAMA 8: Aceite italiano Filippo Berio.



CROMATOGRAMA 9: Aceite italiano Carapelli Firenze.

## 7. REFERENCIAS

- [1] Kiritsakis A. K., American Oil Chemists' Society. (1991)
- [2] Boskou Dimitrios, Olive Oil Chemistry and Technology, 2a edición, AOCS PRESS, 2000, p.p. 7-10, 21, 117, 174, 243-246.
- [3] El Antari, A., Hilal, A., Boulouha, B., & El Moudni, A. (2000). Estudio de la influencia de la variedad, los factores ambientales y la técnicas de cultivo en las características de los frutos y la composición química del aceite de oliva virgen extra de Maruecos. *Olivae*, 80, 29–36. Firestone, D., y J.L. Summers, Detection of Adulterated and Misbranded Olive Oil Products. 1985, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 62: 1558
- [4] Nava Granados Beatriz, "Métodos de separación para el análisis químico y desarrollo tecnológico: caracterización de ácidos grasos en aceite de oliva por cromatografía de gases", *Facultad de estudios Superiores Cuautitlán- UNAM*, 2008. Servicio Social.
- [5] Manai, H., González, L. G., Haddada, F., Sánchez-Casas, J., Bueno, E. O., & Zarrouk, M. (2007). Características sensoriales de aceites de oliva virgen procedentes de cultivares tunecinos monovarietales e híbridos con variedades europeas. *Grasas Y Aceites*, 58(2), 163–169.
- [6] Steven Sibbett (2004). G. Steven Sibbett; Louise Ferguson (ed.). *Olive Production Manual*, 2ª edición (en inglés), Agriculture & Natural Resources, p.p.365-371
- [7] EEC (2003). Characteristics of olive and olive pomace oils and their analytical methods. EEC Regulation 1989/2003. *Official Journal of the European Communities*, 295, 57–66.
- [8] Gracia, M. S. (2001). Composición química de distintas calidades de aceites de oliva virgen de la variedad «Empetre» en el bajo Aragón. *Grasas y Aceites*, 52(1), 52–58.
- [9] J. Gracian, Y. Martel, *Grasas Aceites* 20 (1969) 231.
- [10] <http://www.spanish-gourmet.com/aceite/aceite6.html>
- [11] Stephanie A. Smith-Warner, Jeanine Genkinger, Edward Giovannucci "Fruit and Vegetable Consumption and Cancer" *Nutritional Oncology (Second Edition)*, 2006, Pages 97-173
- [12] [http://interweb.mapa.es/pwAgenciaAO/InfSectorEntidades.aao?pentidad=10&opcion\\_seleccionada=2800&control\\_acceso=S&idioma=ESP](http://interweb.mapa.es/pwAgenciaAO/InfSectorEntidades.aao?pentidad=10&opcion_seleccionada=2800&control_acceso=S&idioma=ESP)
- [13] Gordon. M. H., "Effect of Sterols on the Oxidative Deterioration of Heated Oils", Londres, 1986, Interaction of Food Components, Elsevier Applied Science Publishers, p.p.86-98
- [14] Abaza L, Taamalli W, Ben Temime S, Daoud D & Zarrouk, M. (2005). Natural antioxidant composition as correlated to stability of some Tunisian virgin olive oils. *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grass*, LXXXII, 12–17.
- [15] Aurelia N. Sudjana, Carla D'Orazio, Vanessa Ryan, Nooshin Rasool, Justin Ng, Nabilah Islam, Thomas V. Riley, Katherine A. Hammer "Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive)" *International Journal of Antimicrobial Agents*, Volume 33, Issue 5, May 2009, Pages 461-463



- [16] Valenzuela, A., Sanhueza, J., Nieto, S., Petersen, G., & Tavella, M. (2003). *Grasas y Aceites*, 53(13), 568
- [17] Comisión of the Codex Alimentarius, Revised Norm for Olive Oil, 191 1993/15 FO
- [18] Fitzgerald G., James K. J., MacNamara K., Stack M. A. *Journal of Chromatography A*, 896, 2000, p.p. 351-359.
- [19] Eunha Hoh, Katerina Mastovska, (*Abril 2008*) Large volume injection techniques in capillary gas chromatography, *Journal of Chromatography A, Volumen 1186, , Pages 2-15*
- [20] <http://www.chem.vt.edu/chem-ed/ms/ms-intro.html>
- [21] Willett John, *Gas Chromatography* 1a edición, London, ACOL, 1938, p.p. 257-264.
- [22] Harris. C. Daniel. *Análisis Químico Cuantitativo*. Editorial Reverté. 5a Edición, México, 2001, p.p.654-672
- [23] Aparicio, R., & Aparicio-Ruiz, R. (2000). Authentication of vegetable oils by chromatographic techniques. *Journal of Chromatography A*, 881, 93–104.
- [24] Andrikopoulos, N. K., Giannakis, I. G., & Tzamtzis, V. (2001). Analysis of olive oil and seed oil triglycerides by capillary gas chromatography as a tool for the detection of the adulteration of olive oil. *Journal of Chromatographic Science*, 39, 137–145.
- [25] W.W. Christie, *Gas Chromatography and Lipids, A Practical Guide*, The Oily Press Ltd., Ayr, Scotland, 1989.
- [26] Heftmann Erich, *A laboratory Handbook of Chromatography and Electrophoretic Methods*, 3a edición, Van Nostrand Reinhold Company, 1986, p.p.
- [27] Rubinson Kenneth A. et.al, *Análisis instrumental*. Pearson Prentice Hall. 1a Edición, España, p.p.680-701
- [28] Skoog A. Douglas, et.al. *Fundamentos de Química Analítica*. Thomson.8a Edición, México, 2001, p.p. 959-981
- [29] Frega, N., Bocci, F. (2001). *L'analisi rapida dell'olio di oliva*, Italia, Laboratorio 2000, Volumen 3 p. 28.
- [30] Miller J.C., et.al. *Estadística Para Química Analítica*. Addison-Wesley Iberoamerica. 2a Edición, E.U.A, 1993, p.p.96-106