

Memoria de actividades del Instituto de la Grasa y sus Derivados durante 1992

1. LABOR INVESTIGADORA

1.1. Unidad Estructural de Investigación de Fisiología y Tecnología Post-Recolección.

1.1.1. Proyecto: *Influencia de factores agrícolas y técnicas de conservación en la fisiología y calidad de los frutos.*-ALI 91-0559.

(Albi Romero, M.A.; Castellano Orozco, J.M.; Gutiérrez Rosales, F.; Roca Ramírez, M.; García Martos, J.M.; Morilla Camacho, A.; Pérez Rubio, A.G.; Aldecoa Carrión, J.A.; Perdiguer Camacho, S.)

En lo referente a la investigación de naturaleza más básica del grupo, se han elaborado rectas de calibrado de las poliaminas de interés, por dansilación y HPLC, que se han usado en la determinación de los contenidos en diversas experiencias con tomates y fresas. Por otro lado, se han continuado los estudios sobre la síntesis y el metabolismo del ACC en aceituna y se han iniciado estudios con chirimoya.

En lo relativo a la investigación más aplicada se han desarrollado las siguientes experiencias:

1.-Estudio del comportamiento de distintas variedades de tomates para uso industrial y para consumo en fresco. De los cultivados por nosotros, destinados a uso industrial, los de la variedad Adventace fueron los más voluminosos, duros y menos ácidos, pero los menos ricos en zumo. De las dos variedades para consumo en fresco, Robin y Rambo, esta última fue la de mayor producción y sus tomates los más duros, más ácidos y con más azúcares.

2.-Estudio de los efectos de diferentes dosis de riego y de nitrógeno, así como de la aplicación foliar de calcio, en la producción, en las propiedades responsables de la calidad del tomate y del fresón, y en el mantenimiento de su calidad durante su conservación. En el tomate (v. Indalo) se encontró que un mayor riego daba más producción de frutos más duros, más rojos y con ligeramente menos azúcares, y que el tratamiento con calcio daba más producción de frutos menos rojos y con algo menos de azúcares. En el fresón (v. Chandler) las dosis más altas de nitrógeno y de calcio sólo se tradujeron en una mayor dureza y más azúcares, mientras que el riego más abun-

dante produjo más frutos, de mayor peso, menos ácidos y más pobres en azúcares.

3.-Estudio de la influencia de diversos factores relacionado con la manipulación y comercialización del fresón sobre la calidad del mismo. Se han estudiado los siguientes factores: Tiempo que la fresa permanece en el campo o en el almacén antes del envasado y pre-enfriamiento. Tipo de material de la barqueta, filmado o no. Tiempo que la fresa permanece expuesta a la venta, y temperatura durante dicha exposición. Se han estudiado: Pérdidas comerciales (porcentaje de fresas con 1/3 de daño). Propiedades fisicoquímicas (color, firmeza, pH del jugo, acidez y contenido en sólidos solubles o azúcares totales del mismo) y propiedades organolépticas (puntuación global y atributos individuales).

4.-Estudio de la conservación en frío de aceitunas de molino para evitar el deterioro del fruto y la consecuente pérdida de calidad del aceite (atrojado). Se ha hecho con la variedad Picual en contenedores de 60 Kg de capacidad y en tres condiciones de almacenamiento: 5°C y 95% de HR; 8°C y 95% HR, y temperatura ambiente (6-17°C) y 70% HR. Se tomaron muestras de 5 Kg a 0, 7, 14, 45 y 60 días para seguir la evolución de los frutos (pérdidas, color, firmeza, índice de maduración y humedad) y para extraer los aceites en los que se seguía la evolución de la calidad (acidez, peróxidos, coeficiente de absorción UV, estabilidad a la oxidación y valoración sensorial).

Las conclusiones de los estudios reseñados en los dos apartados anteriores, que por su extensión no tienen cabida en este resumen, son de gran interés.

1.1.2. Proyecto: *Estudio de los mecanismos reguladores de la maduración de los frutos.*-ALI 91-0421.

(Olías, J.M.; Vioque, B.; Fernández, J.C.; Ríos, J.J.; Tobar, A.; Roca, M.; Pérez, A.G.; Sanz, L.C.; Verdier, M., con la colaboración de Chamarro, J.; Alonso, J.M.)

1.1.2.1. Estudio de la actividad formadora de etileno.

Se ha determinado la actividad EFE «in vivo» en distintos frutos. En tomate y aceituna se ha establecido las condiciones óptimas de incubación de dicha actividad «in

vivo» y se ha seguido su evolución a lo largo del desarrollo y maduración de los frutos. De entre los distintos frutos utilizados, se ha seleccionado la pera blanquilla para los estudios «in vitro». Se ha extraído y caracterizado parcialmente el EFE de frutos de pera, la actividad enzimática en el homogeneizado está asociada a la fracción «pellet» y se solubiliza con tritón X-100. El sistema enzimático solubilizado requiere Fe^{2+} ascorbato, CO_2 y oxígeno. Se ha comprobado que la actividad EFE aislada representa la auténtica actividad del enzima en vivo.

1.1.2.2. Biosíntesis del ácido Jasmónico.

Partiendo de extractos enzimáticos crudos de cotiledones de girasol germinados en oscuridad, se han estudiado los metabolitos del 13-hidroperóxido del ácido linoléico, precursor específico del ácido jasmónico. En el conjunto de productos por HPLC se ha identificado, entre otros, el ácido fitodienoico, lo que demuestra la presencia del sistema enzimático hidroperóxido ciclasa, producto llave en la biosíntesis del ácido jasmónico. La actividad enzimática presente en el extracto crudo se ha conseguido estabilizar con EG, DTT y ME, con lo que se está procediendo a su purificación.

1.1.2.3. Metabolismo del ácido Jasmónico.

Para la realización de este objetivo se ha escogido como material vegetal planta de zanahorias, en los primeros ensayos hemos podido demostrar que su aplicación por suelo o foliarmente provoca aumento de la síntesis de beta-caroteno y parada de la floración. Con lo que se demuestra que el tratamiento permite la introducción del jasmónico en el tejido.

1.1.2.4. Purificación y caracterización del enzima alcohol aciltransferasa.

Se ha puesto de manifiesto que la presencia de esterasas en extractos enzimáticos de frutos hace imposible poder determinar si existe o no el enzima alcoholaciltransferasa, dado que la mencionada estearasa cataliza la reacción contraria. La digestión enzimática con peptinasas permite obtener células de las que por sonicación se consigue un extracto sin esterasas. Utilizando fresas en estado óptimo de maduración, por este procedimiento, seguido de fraccionamiento con sulfato amónico, filtración en gel S-300 y columna de intercambio iónico se ha conseguido purificar 29 veces el enzima alcohol aciltransferasa, su pH y temperatura óptimas son de 8,0 y 35°C respectivamente, su peso molecular estimado de 70 KDa. Actualmente se está caracterizando su especificidad a sustratos, lo que nos permitirá saber si es un enzima clave en la síntesis de los aromas propios de cada fruto.

1.1.2.5. Formación de cetodienos por isoenzimas de lipoxigenasa.

A partir de harina de semillas de judías y guisantes se

ha aislado y purificado un isoenzima de lipoxigenasa que produce en medio aeróbico hidroperóxidos y cetodienos simultáneamente. A partir del ácido linoleico se obtienen prácticamente las mismas proporciones de los isómeros en posición 13 y 9 de hidroperóxidos y cetodienos.

1.1.2.6. Efecto de la temperatura de manipulación y del material del envase en la vida útil del fresón.

Se ha estudiado la influencia del tipo de material de las cestillas y del sistema de filmación y el efecto de la temperatura de acondicionamiento sobre el periodo de vida útil comercial del fresón: en el estudio se han incluido cestillas de cartón, celulosa, polietileno-ter-ftalato, polipropileno y poliestireno.

1.1.3. Proyecto: *Modificaciones de la composición de ácidos grasos del aceite de semilla de girasol.*

(Mancha, M.; Garcés, R.; Fernández Martínez, J.M^a; Sarmiento, C.M.; Osorio, J.)

La actividad del grupo se orienta al estudio de los mecanismos de biosíntesis de lípidos en la semilla de girasol, su manipulación para conseguir aceites cuya composición de ácidos grasos sea adecuada para los diversos usos de la industria alimentaria. Continuando la labor realizada en años anteriores se ha terminado el análisis de la composición de ácidos grasos en semillas individuales de las generaciones M2 y M3 procedente de material mutagenizado. Utilizando un método desarrollado por nosotros se han analizado unas 20.000 semillas y se han detectado y confirmado seis mutantes con distintos niveles en el contenido de los ácidos palmítico y esteárico, superiores a los encontrados en el girasol normal. Así mismo, se han identificado otros mutantes con niveles altos de los ácidos oleico o linoleico, que será necesario confirmar. Se han ensayado técnicas de mutagénesis sobre el capítulo inmaduro, irradiando con electrones de alta energía o inyectando con etilmetanosulfonato. El análisis de las semillas resultantes indica que se producen cambios en la composición de ácidos grasos, que será necesario confirmar en generaciones sucesivas. Por otro lado, utilizando como material biológico las líneas de girasol tradicionales y una nueva línea comercial, de alto contenido en ácido oleico (80-90%), se están realizando estudios sobre la biosíntesis de los lípidos de reserva de la semilla y su regulación. Continuando los estudios sobre los mecanismos de desaturación del ácido oleico, se ha concluido el análisis de los polipéptidos microsomales de la semilla de girasol normal y alto oleico, así como de la semilla normal antes y después de la inducción por frío de la actividad oleato desaturasa. Las diferencias encontradas permiten identificar diversas proteínas que podrían jugar un importante papel como constituyentes del complejo oleato desaturasa. Como consecuencia de los estudios sobre inducción por frío del oleato desaturasa se ha podido demostrar que, en la semilla en formación, los triacilglicérols no constituyen

sólo un producto final, sin actividad metabólica hasta la germinación, sino que son capaces de suministrar ácido oleico para la desaturasa y recibir el linoleico producido en exceso.

El grupo colabora con el del Dr. Fernández Martínez, J. M^a, del Instituto de Agricultura Sostenible (Córdoba).

1.1.4. Proyecto: *Regulación de la formación de triacilgliceroles en la aceituna*. ALI 88 0687.

(Sánchez García, J.; Cuvillo Palomino, M^a T.; Millán Rodríguez, F.)

Durante los últimos cinco meses de proyecto se ha actuado en dos líneas de investigación:

1.1.4.1. Caracterización de los productos hidrosolubles formados en incubaciones de trozos de pulpa de aceituna con bicarbonato marcado con ¹⁴C. La separación de los productos se llevó a cabo mediante cromatografía de intercambio iónico, encontrándose que la mayor parte del precursor se incorporaba en la fracción de azúcares (50-60%), encontrándose también cantidades notables de ácidos orgánicos (10-20%) y en aminoácidos (< 10%).

1.1.4.2. Purificación y caracterización de la fosfoenolpiruvato carboxilasa de pulpa de aceituna. El enzima ha sido purificado a homogeneidad, mostrando un peso molecular de 400.000 (electroforesis en gel). Las constantes de afinidad (Km) para los sustratos, fosfoenolpiruvato y bicarbonato, resultan ser 0'07 y 0'3 mM, respectivamente.

Borja, R.; Martín, A.; Olías, J.M.; Fiestas, J.A.; Durán, M.M.-Behaviour of sepiolite and bentonite as an immobilisation supports in the anaerobic degradation of phenolic compounds presents in olive mill wastewater.-Inquinamento XXXIV (1992) 114-117.

Dong, J.G.; Fernández-Maculet, J.C.; Yang, S.F.-Purification and characterization of L-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase from apple fruit.-Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **89** (1992) 9789-9793.

Fernández-Maculet, J.C.; Yang, S.F.-Extraction and partial characterization of the ethylene-forming enzyme from apple fruit.-Plant Physiol. **99** (1992) 751-754.

Garcés, R.; Sarmiento, C.; Mancha, M.-Temperature regulation of oleate desaturase in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds.-Planta **186** (1992) 416-467.

García, J.M.; Agar, I.T.; Streif, J.-Fat content and fatty acid composition in individual seeds of Pistacho varieties grown in Turkey.-Gartenbauwissenschaft **57** (3) (1992) 130-133.

García, J.M.; Mancha, M.-Evolución de la biosíntesis de lípidos durante la maduración de las variedades «Picual» y «Gordal».-Grasas y Aceites **43** (1992) 277-280.

Gutiérrez, F.; Garrido, J.; Gallardo, L.; Gandul, B.; Mínguez, M.-Action of chlorophylls on the stability of virgin olive oil.-J. Am. Oil Chemists'Soc. **69** (1992) 866-870.

Gutiérrez, F.; Perdiguero, S.-Estudio de la efectividad de las columnas de extracción de octadecilo C18 en la evaluación del amargor K(225) del aceite de oliva virgen. Error y esquema analítico del método de valoración.-Grasas y Aceites **43** (1992) 93-96.

Gutiérrez, F.; Perdiguero, S.; García, J.M.; Castellano, J.M.-Quality of oils from olives stored under controlled atmosphere.-J. Am. Oil Chemists'Soc. **69** (1992) 1215-1219.

Gutiérrez, F.; Perdiguero, S.; Gutiérrez, R.; Olías, J.M.-Evaluation of the bitter taste in virgin olive oil.-J. Am. Oil Chemists'Soc. **69** (1992) 394-395.

Olías, J.M.-Definition of extra-virgin olive oils. Olive Oil Quality.-Editado por Regione Toscana-giunta Regionale Firenze (1992) 131-137.

Olías, J.M.; Sanz, L.C.; Ríos, J.J.; Pérez, A.G.-Inhibitory effect of methyl jasmonate on the volatils ester-forming enzyme system in golden Delicious apples.-J. Agric. Food Chem. **40** (1992) 266-270.

Pérez, A.G.; Ríos, J.J.; Sanz, L.C.; Olías, J.M.-Aroma components and free amino acids in strawberry var. chandler during ripening.-J. Agric. Food Chem. **40** (1992) 2232-2235.

Pérez Camino, M.C.; García, J.M.; Castellano, J.M.-Polar compound concentrations in virgin oils from stored cultivar picual olive fruits.-J. Agric. Food Chem. **40** (1992) 2260-2262.

Sánchez, J.; Cuvillo, M^a T.; Harwood, J.L.-Glycerolipid biosynthesis by microsomal fractions from olive fruits.-Phytochemistry **31** (1992) 129-134.

Sánchez, J.; Harwood, J.L.-Fatty acid synthesis in soluble fractions from olive (*Olea europaea*) fruit.-J. Plant Physiol. **140** (1992) 402-408.

Sanz, L.C.; Pérez, A.G.; Olías, J.M.-Purification and catalytic properties of chickpea lipoxygenase.-Phytochemistry **31** (1992) 2967-2972.

Sanz, L.C.; Pérez, A.G.; Olías, J.M.-Physico-chemical properties of chickpea lipoxygenase.-Phytochemistry **31** (1992) 3381-3384.

Sanz, L.C.; Olías, J.M.; Pérez, A.G.-La lipoxygenasa en el reino vegetal. I. Propiedades.-Grasas y Aceites **43** (1992) 231-239.

Sanz, L.C.; Olías, J.M.; Pérez, A.G.-La lipoxygenasa en el reino vegetal. II. Funciones fisiológicas asignadas.-Grasas y Aceites **43** (1992) 287-290.

1.2. Unidad Estructural de Investigación de Caracterización y Calidad de Alimentos

1.2.1. Proyecto: *Componentes menores de los aceites vegetales comestibles en relación con la evaluación de la calidad*. ALI 91 0492.

(Cert Ventulá, A.; Albi Virella, T.; Lanzón Rey, A.; Navas Fernández, M.A.; León Camacho, M.)

Se ha estudiado el efecto de las distintas etapas del proceso de refinación de aceites (neutralización, decoloración con diferentes agentes, desodorización) y de diversos parámetros (temperatura, tiempo, concentración de tierras) sobre la formación de estigmasta-3,5-dieno, proponiéndose un método de detección de aceites vegetales refinados en aceite de oliva virgen que ha sido adoptado por el Consejo Oleícola Internacional. El método se basa en la detección del hidrocarburo anteriormente citado, que sólo está presente en los aceites refinados.

También se ha estudiado la formación de hidrocarburos esteroideos en los aceites vegetales proponiéndose un método para la detección de aceites de semillas refinados en aceites de oliva (vírgenes y refinados) y de orujo de oliva, basado en las diferentes proporciones de dichos hidrocarburos que muestran los aceites refinados según su origen. El método ha sido adoptado por el Consejo Oleícola Internacional para la detección de aceite de girasol de alto oleico desesterolizado en los distintos tipos de aceites de oliva y de orujo.

Se ha estudiado una fracción del insaponificable del aceite de oliva virgen con polaridad ligeramente inferior a la de los alcoholes triterpénicos, detectándose mediante hidrogenación, siliación, oxidación y espectrometría de masas un derivado hidroxilado del escualeno que se ha identificado como 2, 6, 10, 15, 19, 23-hexametil-tetracos-3, 6, 10, 14, 18, 22-hexaen-2-ol.

Se ha estudiado la aplicación de la cromatografía gaseosa con columnas capilares de fase estacionaria polar (65% fenil-metilsilicona) al análisis de triacilgliceroles presentes en la mucosa caecal de ratas de experimentación.

Se ha efectuado un estudio comparativo de análisis de triacilgliceroles en aceites vegetales utilizando la cromatografía de gases, la cromatografía líquida en fase inversa en régimen isocrático con detector de índice de refracción, con gradientes de disolventes y detector de luz difusa, y por cálculo teórico a partir de la composición en ácidos grasos suponiendo una distribución 1,3-random, 2-random. Se concluye que para resultados cuantitativos es preferible la HPLC con índice de refracción, que con gradiente y detector de luz difusa, se obtienen mejores separaciones; con la cromatografía gaseosa es necesario aplicar factores de respuesta para cada triacilglicerol y el cálculo teórico da buenos resultados para algunos aceites (oliva y girasol normal). El cálculo teórico también es útil para conocer los componentes mayoritarios de los picos cromatográficos.

1.2.2. Proyecto: *Aceites y grasas de bajo contenido calórico: Caracterización, refinación y modificaciones*. ALI 91 0544.

(Dobarganes García, M^a C.; Pérez Camino, M^a C.; Márquez Ruiz, G.; Ruiz Méndez, M^a V.)

1.2.2.1. Síntesis de poliésteres y octaésteres de sacarosa y triglicéridos.

Se han utilizado dos procedimientos alternativos para la síntesis de octa y poliésteres de sacarosa:

a) Obtención de compuestos puros (monoácidos) por reacción entre sacarosa y haluros de acilo.

b) Obtención de mezclas de poliésteres mediante reacción entre sacarosa y ésteres metílicos de ácidos grasos en presencia de jabones potásicos como catalizador.

1.2.2.2. Estudio comparativo de la velocidad de oxidación de los poliésteres de sacarosa y triglicéridos de igual composición en ácidos grasos.

Para este apartado se han utilizado triglicéridos monoácidos y octaésteres monoácidos de sacarosa. El estudio incluye la determinación del periodo de inducción y la evaluación cuantitativa de los compuestos originados a diferentes periodos de tiempo.

1.2.2.3. Caracterización de los poliésteres de sacarosa y de sus mezclas con grasas y aceites.

a) Grado de esterificación de los poliésteres de sacarosa. Se ha realizado mediante la combinación de cromatografía en placa fina y detección por ionización de llama, con el sistema (IATROSCAN), así como mediante cromatografía líquida en fase inversa.

b) Cuantificación de las proporciones de poliésteres de sacarosa y aceites en mezclas mediante cromatografía de exclusión.

c) Análisis de los ácidos grasos esterificados en los triglicéridos y poliésteres de sacarosa cuando se encuentran en mezclas. Esta determinación ha sido realizada mediante una combinación de cromatografía de adsorción y gas líquido.

1.2.3. Proyecto: *Efecto de los aceites de girasol alto oleico y oliva virgen sobre el metabolismo lipídico en animales de experimentación y en humanos*. ALI 92 0881.

(Ruiz Gutiérrez, V.; Maestro Durán, R., con la colaboración de Villar Ortiz, J.; Gil Peralta, A.; Castillo Ferrando, J.R.; Montilla López, C.; García Muriana, F.J.)

El presente proyecto está encaminado a desarrollar los objetivos propuestos por el Programa Nacional de Tecnología de Alimentos con referencia al estudio de las características nutritivas de los alimentos, con especial atención a aquéllos cuyos constituyentes han sido modificados. Para ello se estudiará la influencia de dieta de aceites ricos en ácido oleico -El nuevo aceite de girasol alto oleico, frente a aceite de oliva virgen- sobre el metabolismo lipídico y la biogénesis membranaria en ratas, estudiando la composición de ácidos grasos, sistemas de desaturación, metabolismo y transporte de colesterol.

Paralelamente estudiaremos los efectos de estas dietas sobre personas sanas y enfermos con dos factores de riesgo principales en las enfermedades Cardiovasculares Hipertensión Arterial e Hipercolesterolemia.

1.2.4. Proyecto: *Interacción proteína-lípido (oxidado) carbohidrato*. ALI 91 0409.

(Hidalgo, F.J.; Zamora, R.; Millán, F.; Alaiz, M.; Hermosín, I.; Lassaletta, J. M^a; Girón, J.; Vioque, J.)

1.2.4.1. Estudio de la interacción entre epoxicetenos y aminas.

Se han aislado y caracterizado nuevos compuestos de interacción entre proteínas y lípidos peroxidados que no habían sido descritos con anterioridad. Se trata de 2-(1'-hidroxialquil)pirroles, que al polimerizar pueden jugar un papel importante en el oscurecimiento no enzimático de alimentos. Se ha propuesto un mecanismo para explicar la formación de pirroles durante el almacenamiento de los alimentos. Estos resultados han dado lugar a tres comunicaciones a Congresos Internacionales y a cuatro trabajos científicos.

1.2.4.2. Estudio de la interacción entre alquenes y aminas.

Se ha aislado y caracterizado el producto principal de la reacción entre 2octenal y N-CBZ-histidina: N-benciloxycarbonil-3-(1'-formilmetil-hexil)-L-histidina (un producto de la N-alquilación de la histidina a través de una reacción de

Michael); y los productos mayoritarios de la reacción entre 2-octenal y N-CBZ-lisina: básicamente sales de piridinio entre 1 molécula de lisina y 2 ó 3 de 2-octenal.

1.2.4.3. Oligómeros del malondialdehído.

Se ha profundizado en el estudio de la estructura y propiedades de los oligómeros de malondialdehído. Concretamente, la forma trimérica mayoritaria, que se obtiene en forma cristalina, ha sido estudiada por difracción de rayos X y ^{13}C -RMN en estado sólido (c.p.-m.a.s.). Estos resultados han aparecido en dos trabajos científicos.

1.2.4.4. Detección de pirrocarbaldéhído.

Se ha investigado la formación de 3-pirrocarbaldéhído 4-piridona en la reacción de oscurecimiento de la butilfructosamina en presencia de ácido linolénico peroxidado mediante cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas de alta resolución. Estos estudios han dado lugar a la propuesta de un método alternativo para la cuantificación de malondialdehído.

1.2.4.5. Estudios de biodisponibilidad y tránsito metabólico en ratas de diversos compuestos de interacción.

Se ha investigado la biodisponibilidad y tránsito metabólico de la N,N'-di-(4-metil-1,4-dihidropiridina-3,5 dicarbaldéhído) lisina, la N,N'-di-(2-propenal) lisina y una mezcla de N- α y N- ϵ (2-propenal)lisina, concluyéndose que presentan una biodisponibilidad nula o al menos muy reducida.

1.2.4.6. Aceites de Crucíferas.

Se han realizado estudios de caracterización de aceites de crucíferas del género *Coincya* (*Brassicaceae*). Se han recolectado diferentes taxones existentes de este género y se ha estudiado por GC/MS tanto su composición lipídica como en glucosinolatos, sugiriéndose los compuestos más interesantes a analizar desde un punto de vista taxonómico, y estudiando su variación con el ambiente y la distribución geográfica.

1.2.4.7. Estudio de las proteínas del garbanzo.

Se ha llevado a cabo la separación y caracterización de las albúminas y globulinas del garbanzo (*Cicer arietum*) mediante cromatografía en columna de filtración en gel y exclusión molecular, caracterizando las distintas subunidades obtenidas por electroforesis e isoelectroenfoque. Se ha iniciado el aislamiento y caracterización de las oleosinas del garbanzo.

1.2.4.8. Estudio del oscurecimiento no enzimático producido en hornos microondas.

Se han iniciado estudios comparativos tendentes a

valorar el papel que la radiación microonda puede jugar en el oscurecimiento no enzimático de alimentos, concluyéndose que la oxidación lipídica puede jugar un papel más importante que el generalmente aceptado.

1.2.5. Proyecto: *Sustitución del vapor directo por nitrógeno como gas de arrastre en la desodorización o destilación neutralizante de grasas comestibles*. ALI 91 0720.

(Graciani Constante, E.; Alba Mendoza, J.; Albi Virella, T.; Janer del Valle, M^a L.; Lanzón Rey, A.; Guinda Garín, A.; Ruiz Méndez, A.; León Camacho, M., con la colaboración de Bada Gancedo, J.C.).

Durante el presente año se ha terminado de adecuar las instalaciones de la Planta Piloto del Instituto para la realización de los ensayos de refinación física de aceite de girasol, y tal como estaba previsto se empezaron las pruebas diseñadas. Con este fin se prepararon, en dichas instalaciones, 3000 Kg de una mezcla homogénea de aceite de girasol, formada por 2.000 Kg de aceite neutro parcialmente decolorado en la planta en discontinuo de 200 Kg con 1000 Kg del mismo aceite crudo, desgomado y parcialmente decolorado en la citada planta piloto. Partes alícuotas del mismo se utilizaron en todos y cada uno de los ensayos previstos en el plan de experiencias diseñado; de tres variables independientes (temperatura a la cual se realiza la refinación, altura de la capa de aceite en el desodorizador y flujo del gas de arrastre), a cuatro niveles cada una. A cada uno de los aceites de las diferentes partidas obtenidas en los ensayos realizados, se les ha aplicado una normativa analítica adecuada para determinar la calidad del aceite obtenido y la eficacia de la operación de destilación neutralizante a la cual ha sido sometido. A falta de los últimos datos analíticos, se puede afirmar que, mediante el estudio estadístico apropiado, se obtiene información suficiente para establecer los criterios que se han de seguir en la aplicación industrial del nitrógeno como gas de arrastre en la refinación física del aceite de girasol. Por otra parte, y dada la información que se ha obtenido de los ensayos realizados, se pensó que era conveniente confirmar, mediante una nueva serie de ensayos, las hipótesis establecidas.

Se agradece a la firma ACEPROSA de Sevilla la colaboración prestada para la realización de estas experiencias, cediendo las cantidades de aceite de girasol que se han utilizado.

Dada la imposibilidad de realizar estas experiencias utilizando los eyectores de vapor existentes en la Planta Piloto del Instituto y pensando que esta técnica para realizar el vacío debe ser ensayada por el Instituto, cuando se utiliza el nitrógeno como gas de arrastre, se ha procedido a adquirir un nuevo equipo de vacío con eyectores, con la doble posibilidad de utilizar un eyector de cola o una bomba de anillo líquido. Se espera que durante el próximo año se puedan probar los mismos una vez instalados. Agradecemos a la firma «CARBUROS METALICOS, S.A.» la colaboración prestada para poder disponer de los mismos.

- Aparicio, R.; Gutiérrez, F.; Rodríguez Morales, J.-Relationship between flavour descriptors and overall grading of analytical Panels for virgin olive oil.-J. Sci. Food Agric. **58** (1992) 555-562.
- Alaiz, M.; Navarro, J.L.; Girón, J.; Vioque, E.-Amino acid analysis by high-performance liquid chromatography after derivatization with diethyl ethoxymethylenemalonate.-J. Chromatogr. **591** (1992) 181-186.
- Alaiz, M.; Navarro, J.L.; Girón, J.; Vioque, E.-Thin-layer chromatography of N-(2,2-dithioxy-carbonylvinyl)amino acid p-phenylazophenacyl esters.-J. Planar Chromatogr. **5** (1992) 143-146.
- Blasco, R. y Ruiz Gutiérrez, V.-Effect of fatty acid anilides on immune response of swiss mice.-Clin. Exp. Immunol. **89** (1992) 131-135.
- Dobarganes, M.C.-Comportamiento del aceite de oliva en los alimentos.- Investigación y control de la calidad en los alimentos (C.I.C.C.) **10** (1992) 19-28.
- Gómez Sánchez, A.; Lassaletta, J.M.; López Castro, A.; Diáñez, M^a D.; Estrada, M^a D.; Pérez Garrido, S.-Spectroscopic and X-ray crystallographic studies of the potassium salt of hexameric malondialdehyde.-Tetrahedron Lett. **33** (1992) 1361-1364.
- Gómez Sánchez, A.; Hermosin, I.; Maya, I.-Influence of malondialdehyde on the Maillard degradation of Amadori compounds.-Carbohydr. Res. **229** (1992) 307-322.
- Girón, J.; Alaiz, M.; Vioque, E.-High-performance liquid chromatographic determination of N-ε (2-propenyl)lysine in biological samples after derivatization with diethyl ethoxymethylenemalonate.-Anal. Biochem. **206** (1992) 155-160.
- Hermosin, I.; Ledl, F.; Gómez Sánchez, A.-Influence of oxidized lipids on the non-enzymatic browning reaction: interaction between linoleic acid and an Amadori compound.-Chem. Phys. Lipids **63** (1992) 265-270.
- Hidalgo, F.J.; Zamora, R.; Alaiz, M.-Modificaciones en las proteínas alimenticias por su interacción con lípidos peroxidados. II Mecanismos conocidos de la interacción lípido (oxidado)-proteína.-Grasas y Aceites **43** (1992) 31-38.
- Hidalgo, F.J.; Zamora, R.; Girón, J.-Modificaciones en las proteínas alimenticias por su interacción con lípidos peroxidados. III Consecuencias nutricionales y toxicológicas.-Grasas y Aceites **43** (1992) 97-100.
- Hidalgo, F.J.; Zamora, R.; Vioque, E.-Syntheses and reactions of methyl (Z)-9, 10-epoxy-13-oxo-(E)-11-octadecenoate and methyl (E)-9, 10-epoxy-13-oxo-(E)-11-octadecenoate.-Chem. Phys. Lipids **60** (1992) 225-233.
- Lanzón, A.; Albi, T.; Cert, A.-Componente del insaponificable del aceite de oliva con polaridad comprendida entre el escualeno y los alcoholes tri-terpénicos.-Grasas y Aceites **43** (1992) 271-276.
- Márquez-Ruiz, G.; Pérez Camino, M.C.; Dobarganes, M.C.-In vitro action of pancreatic lipase on complex glycerides from thermally oxidized oils.-Fat Sci. Technol. **94** (1992) 807-812.
- Márquez-Ruiz, G.; Pérez-Camino, M.C.; Dobarganes, M.C.-Digestibility of fatty acid monomers, dimers and polymers in the rat.-J. Am. Oil Chemists' Soc. **69** (1992) 930-934.
- Márquez-Ruiz, G.; Pérez-Camino, M.C.; Dobarganes, M.C.-Changes in endogenous lipid excretion in rats fed diets containing non-heated and thermally oxidized olive oils.-Scand. J. Gastroenterol. **27** (1992) 1069-1076.
- Márquez-Ruiz, G.; Pérez-Camino, M.C.; Ruiz-Gutiérrez, V.; Dobarganes, M.C.-Absorción de grasas termoxidadas. II Influencia del nivel de alteración y porcentaje de grasa en la dieta.-Grasas y Aceites **43** (1992) 198-203.
- Márquez-Ruiz, G.; Richter, B.D.; Scheeman, B.O.-Modification of triacylglycerides and apolipoprotein B in rats fed diets containing whole milk, skin milk and milk proteins.-J. Nutr. **122** (1992) 1840-1846.
- Morales, M.T.; Aparicio, R.; Gutiérrez, F.-Técnica de aislamiento y concentración de aceites vegetales.-Grasas y Aceites **43** (1992) 164-173.
- Muriana, F.J.G. y Ruiz Gutiérrez, V.-Effects of n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids ingestion on rat liver membrane-associated enzymes and fluidity.-J. Nutr. Biochem. **3** (1992) 659-663.
- Muriana, F.J.G.; Ruiz Gutiérrez, V.; Vázquez, C.M.-Influence of dietary cholesterol on polyunsaturated fatty acid composition fluidity and membrane-bound enzymes in liver microsomes of rats fed olive and fish oil.-Biochimie **74** (1992) 551-556.
- Muriana, F.J.G.; Ruiz Gutiérrez, V.; Vázquez, C.M.-Fatty acid composition and properties of the liver microsomal membrane of rat fed diets enriched with cholesterol.-J. Biochem. **112** (1992) 562-567.
- Pérez-Camino, M.C.; García, J.M.; Castellano, J.M.-Polar compound concentrations in virgin oils from stored cultivar picual olive fruits.-J. Agric. Food Chem. **40** (1992) 2260-2262.
- Ríos, J.J.; Pérez-Camino, M.C.; Márquez-Ruiz, G.; Dobarganes, M.C.-Comparison of oxidation of sucrose octaesters and triacylglycerols derived from olive oil.-Food Chem. **44** (1992) 357-362.
- Ríos, J.J.; Pérez-Camino, M.C.; Márquez-Ruiz, G.; Dobarganes, M.C.-Quantitation of oxidative monomers and dimers from monoacid sucrose octaesters.-Chemical Reactions In Food.-Editada por Velisek, J.-Praga (Checoslovaquia) (1992) 238-243.-ISBN 80-85120-41-0.
- Ríos, J.J.; Pérez-Camino, M.C.; Márquez-Ruiz, G.; Dobarganes, M.C.-Evaluation of oxidation compounds from monoacid sucrose octaesters.-Lipid Oxidation, Occurrence Detection And Prevention.-Editada por Lambertsen, G.-Bergen (Noruega) (1992).
- Robina, I.; Martín-Zamora, M.E.; Gómez-Guillén, M.; Lassaletta, J.M.; Cert, A.-W-Chlorination of derivatives of some 3-(pentitol-1-yl)pyrazoles.-J. Chem. Res. (5) (1992) 38-39.
- Ruiz Gutiérrez, V.; Cert, A.; Ríos, J.J.-Determination of phospholipid fatty acid and triacylglycerol composition of rat caecal mucosa.-J. Chromatogr. Biomed. Appl. **575** (1992) 1-6.
- Ruiz Gutiérrez, V.; Maestro, R.-Incorporación de los derivados grasos de anilina en los quilomicrones linfáticos.-Grasas y Aceites **43** (1992) 61-65.
- Ruiz Gutiérrez, V.; Montero, E.; Villar, J.-Determination of fatty acid and triacylglycerol composition of human adipose tissue.-J. Chromatogr. Sec. Biomed. **581** (1992) 171-178.
- Ruiz Gutiérrez, V.; Muriana, F.J.G.-Changes in fatty acid composition of rat serum induced by a free radicals generator.-Bull. Environ. Contam. Toxicol. **49** (2) (1992) 85-90.
- Ruiz Gutiérrez, V.; Muriana, F.J.G.-Effect of ingestion of thermally oxidized frying oil on desaturase activities and fluidity in rat liver microsomes.-J. Nutr. Biochem. **3** (1992) 75-79.
- Ruiz Gutiérrez, V.; Vázquez, C.M.; Quintero, F.J.-Lipid composition phospholipids profile and fatty acid of rat caecal mucosa.-Biochim. Biophys. Acta **1128** (1992) 199-204.
- Salgado, A.; Márquez Ruiz, G.; Dobarganes, M.C.-Influencia de la cantidad, calidad y tipo de grasa de la dieta sobre la composición y distribución de ácidos grasos del tejido adiposo de ratas.-Grasas y Aceites **43** (1992) 87-92.
- Zamora, R.; Hidalgo, F.J.-Browning and fluorescence development during microwave irradiation of lysine/(E)-4, 5-epoxy-(E)-2-heptenal model system.-J. Agric. Food Chem. **40** (1992) 2269-2273.

1.3. Unidad Estructural de Investigación de Procesos Industriales y Medio Ambiente.

1.3.1. Proyecto: *Análisis de la centrifugación en el proceso de extracción del aceite de oliva*. INIA N° 9533.

(Alba, J.; Gutiérrez, F.; Maestro, R.; Ruiz, A.; León, M.; Hidalgo, F.).

El obtener aceites de calidad y conseguir buenos agotamientos en los subproductos, todo ello con capacidad de elaboración adecuada a la instalación, son objetivos básicos para la rentabilidad en el proceso de extracción del aceite de oliva.

Con este proyecto, se pretende analizar la influencia de las distintas variables que intervienen en la centrifugación (horizontal y vertical) en los objetivos antes señalados en función de la variedad y de la época de extracción.

El acometer este proyecto es debido a que la producción de aceite de oliva, en España, tiene una gran importancia, representando algo más del 6% de la producción final agrícola, cifra que a nivel de la comunidad autónoma andaluza, sobrepasa el 20%.

Tras nuestro ingreso en la Comunidad Económica

Europea, y sobre todo, tras la finalización del periodo «stand-still», que permite la entrada libre de aranceles de los aceites de semillas, hace prever una competencia todavía mayor de éstos frente al aceite de oliva. En estas condiciones el obtener aceites de calidad junto a razonables costes de elaboración y adecuados agotamientos, parece imprescindible si queremos que el olivar sobreviva como fuente de producción de grasas.

Por otra parte, el sistema tradicional de extracción por presión está siendo sustituido por el de centrifugación de la pasta, el llamado sistema continuo, estimándose que el 60-65% del aceite de oliva se obtiene por este procedimiento. La razón fundamental de este cambio tecnológico se ha basado en la menor necesidad de mano de obra que este sistema tiene frente a las prensas usadas tradicionalmente, junto con una mejor calidad media de los aceites obtenidos.

En este contexto parece importante conocer cómo influyen las distintas variables que intervienen en la centrifugación (horizontal y vertical) tanto desde el punto de vista de la calidad como de los agotamientos y la compatibilización de ambos objetivos con una capacidad óptima de elaboración.

En este segundo año de proyecto, se ha estudiado la influencia de la temperatura en distintas fases del proceso batido, separación sólido-líquido y separación líquido-líquido.

1.3.2. Equipo: *Aprovechamiento de subproductos y tratamiento de residuos.*

(Borja, R.; Alba, J.; Maestro, R.; Durán, M.M.; Luque, M.)

Durante este año se han desarrollado estudios de identificación de los compuestos fenólicos existentes en alpechines de distinta naturaleza (continuos y clásicos) y eliminación de los mismos, mediante la utilización de especies fúngicas y bacterianas puras, tales como *Geotrichum candidum*, *Aspergillus terreus* y *Azetobacter chroococcum*. Posteriormente se ha estudiado el efecto de la eliminación de la mayor parte de este tipo de compuestos, sobre el proceso de digestión anaerobia de este residuo, determinándose la influencia sobre la cinética, eficiencia de eliminación de materia orgánica, coeficientes de producción metánica y actividades metanogénicas de este proceso.

Sinultáneamente se han realizado ensayos para estudiar la influencia de la utilización de coadyuvantes tecnológicos (Olivex), empleados en el proceso de elaboración del aceite de oliva, sobre el proceso de depuración anaerobia tanto del alpechín natural obtenido de esta manera, como del previamente desfenolizado, mediante el uso de tratamientos similares a los anteriormente descritos.

También se han desarrollado estudios cinéticos comparativos del proceso de biometanización del alpechín en los intervalos mesofílico y termofílico de temperatura, determinándose velocidades máximas específicas de crecimiento bacteriano, constantes aparentes de velocidad, coefi-

cientes de producción metánica, velocidades volumétricas de utilización de sustrato, con obtención de los tiempos de retención hidráulicos óptimos en cada caso.

Por otra parte, se han realizado experimentos encaminados al estudio de la influencia de distintos medios soporte de las bacterias anaerobias, sobre los procesos de biometanización de distintas aguas residuales procedentes de industrias alimentarias, de alta y media carga orgánica. Entre ellas, caben destacar las aguas resultantes de industrias queseras, lácteas, vinazas procedentes de destilerías vínicas o de la obtención de alcohol a partir del azúcar de caña, mataderos, cerveceras, conserveras vegetales, fabricación de harinas de pescado, aderezo de aceitunas, o incluso los vertidos resultantes de algunas industrias farmacéuticas, como los procedentes de la elaboración de penicilina y antibióticos. Simultáneamente, se han realizado ensayos para la determinación de los parámetros macroenergéticos en algunos de estos sistemas, tales como velocidades específicas de eliminación de sustrato para el mantenimiento celular y coeficientes netos de producción de biomasa.

Borja Padilla, R.; Durán Barrantes, M^º M.; Luque González, M.-Depuración aerobia de los efluentes resultantes del proceso de biometanización del alpechín.-Grasas y Aceites **43** (1992) 20-25.

Borja Padilla, R.; Martín Martín, A.; Durán Barrantes, M^º M.-Estudio cinético del proceso de biometanización de alpechín de almazara clásica previamente sometido a tratamiento aerobio con *Geotrichum Candidum*.-Grasas y Aceites **43** (1992) 82-86.

Borja Padilla, R.; Alba Mendoza, J.; Durán Barrantes, M^º M.-Influencia de los coadyuvantes tecnológicos utilizados en el proceso de elaboración del aceite de oliva sobre la cinética del proceso de digestión anaerobia del alpechín.-Grasas y Aceites **43** (1992) 204-211.

Borja Padilla, R.; Alba Mendoza, J.; González Becerra, A.-Estudio cinético de la digestión anaerobia de alpechín, procedente de la extracción de aceite utilizando Olivex, previamente biotratado con *Geotrichum Candidum*.-Grasas y Aceites **43** (1992) 219-225.

Borja Padilla, R.; Durán Barrantes, M^º M.; Martín Martín, A.; Luque González, M.-Cinética del proceso de biometanización del agua residual de destilerías vínicas en bioreactores con microorganismos inmovilizados.-Tecnología del Agua **95** (1992) 27-37.

Borja Padilla, R.; Martín Martín, A.; Alonso, V.-Influence of microorganism support on the kinetics of anaerobic fermentation of condensation water from thermally concentrated olive mill wastewater.-Biodegradation **3** (1992) 93-103.

Borja Padilla, R.; Martín Martín, A.; Durán Barrantes, M^º M.; Luque González, M.-Estudio cinético de la depuración anaerobia de las aguas residuales de una industria quesera.-Rev. Esp. Cienc. Tecnol. Aliment. **32** (1992) 19-32.

Borja Padilla, R.; Martín Martín, A.; Maestro Durán, R.; Alba Mendoza, J.; Fiestas Ros de Ursinos, J.A.-Enhancement of the anaerobic digestion of olive mill wastewater by the removal of phenolic inhibitors.-Process Biochem. **27** (1992) 231-237.

Borja Padilla, R.; Martín Martín, A.; Olías, J.M.; Fiestas Ros de Ursinos, J.A.; Durán Barrantes, M^º M.-Uso di sepiolite e bentonite per la degradazione di composti fenolici negli scarichi di oleifici.-Inquinamento **34** (1992) 114-117.

Bustos, A.; Borja Padilla, R.; Fiestas Ros de Ursinos, J.A.-Experimental study of the recovery of algae cultures in effluents from the anaerobic biological treatment of urban wastewaters.-Resour. Conserv. Recycling **6** (1992) 293-302.

Bustos, A.; Fiestas Ros de Ursinos, J.A.; Borja Padilla, R.-Algal cultures with effluents from biological treatment of urban wastewater by anaerobiosis.-Resour. Conserv. Recycling **6** (1992) 303-314.

Bustos, A.; Fiestas Ros de Ursinos, J.A.; Longás, J.; Borja Padilla, R.-Post-trattamento con alghe di reflui urbani depurati anaerobicamente.-Ing. Ambientale **21** (1992) 189-193.

Bustos, A.; Fiestas Ros de Ursinos, J.A.; Longás, J.; Borja Padilla, R.-Anaerobic biological treatment of urban wastewater in fixed bed.-Ing. Ambientale 21 (1992) 272-275.

Maestrojuan, G.M.; Boone, J.E.; Mah, R.A.; Menaia, J.A.G.F.; Sachs, M.S.; Boone, D.R.-Taxonomy and halotolerance of mesophylic Methanosarcina strains, assignment of strains to species, and synonymy of Methanosarcina mazei and Methanosarcina frisia.-Int. J. Syst. Bacteriol. 42 (1992) 561-567.

1.4. Unidad Estructural de Investigación de Biotecnología de Alimentos.

1.4.1. Proyecto: *Estudios bioquímicos, microbiológicos y organolépticos de aceitunas de mesa y otros productos vegetales fermentados*. ALI 91 - 1166. CO3 01.

(Garrido Fernández, A.; Durán, M^a C.; Castro, A.; Rejano, L.; Jiménez, R.; García, P.; Montañó, A.; Sánchez, A.H.; Brenes, M.; Ruiz Barba, J.L.; Coronil, T.)

Se ha investigado la fermentación de aceitunas Hojiblanca y Cacerseñas colocadas directamente en salmuera, utilizando diversos momentos de inoculación y concentraciones de sal diferentes. Únicamente se desarrollan bacterias lácticas cuando la adición de los cultivos se efectúa a partir de las 24 h y no hay sal en la solución.

La flora espontánea ha estado formada por levaduras durante todo este periodo de conservación, perteneciendo el 50% de las cepas aisladas a *Hansenula minuta* en la variedad Cacerseña y *Pichia membranaefaciens* (45%) y *P. fermentans* (40%) en la Hojiblanca.

La preparación de pepinillos utilizando soluciones acidificadas ha mostrado que a pesar de ello no se inhibe la fermentación con *Lactobacillus plantarum* (ni de cocus lácticos espontáneos). También se ha observado durante toda esta fase la presencia de levaduras, especialmente *Pichia membranaefaciens*.

Igualmente se ha llevado a cabo el estudio del proceso fermentativo de alcaparrones en muy diversas condiciones (concentración de NaCl, capacidades amortiguadoras, etc.) e identificando los microorganismos responsables.

Por lo que se refiere a la investigación del nuevo tipo de alteración de «alambrado», se han estudiado los factores que influyen en su aparición. En este sentido, se ha confirmado la posibilidad de preparar recipientes para el estudio de los cambios bioquímicos durante el proceso y de los efectos de los diferentes microorganismos.

De especial interés está resultando el trabajo sobre la producción de bacteriocinas por cepas de lactobacilos aislados de salmueras de aceitunas. Se ha encontrado una cepa muy activa que excreta un complejo gluco-lipo-protéico que es activo frente a una extensa gama de competidores de *L. plantarum* y de bacterias implicadas en el deterioro del producto. Sus características le hacen bastante estable y puede ser de gran interés para el desarrollo de cultivos iniciadores e incluso para la conservación de otros alimentos tales como ensaladas, platos precocinados, etc.

Los estudios para la mejora de la calidad se han orientado hacia el tipo negras por oxidación en medio alcalino, identificándose los compuestos responsables de la forma-

ción del color negro, estudiándose la cinética de su oxidación y algunas variables que afectan de forma importante su aparición. La aplicación de estos resultados al proceso de fabricación puede llevar al diseño de un sistema mucho más rápido y con producción de un menor volumen de vertidos.

Finalmente, se está realizando la selección de jueces para la formación de un panel analítico. Su uso para aceitunas de mesa será de gran repercusión para la mejora de la calidad, ya que son muy escasos los trabajos que sobre control de las características organolépticas se han efectuado hasta la fecha y son, sin embargo, uno de los principales atributos que el público consumidor más aprecia de las mismas.

1.4.2. Proyecto: *Modificaciones químicas y bioquímicas de pigmentos durante la maduración, postrecolección y procesado de vegetales: Incidencia en la calidad y valor nutritivo del producto acabado*. ALI 091 - 1166. CO3 - 02.

(Mínguez Mosquera, M^a I.; Garrido Fernández, J.; Gandul Rojas, B.; Gallardo Guerrero, L.; Jarén, M.; Galán, M.; Hornero Méndez, D.)

Se ha puesto a punto el método de extracción y medida de actividad de clorofilasa en aceitunas y pimientos, empleando para la separación y detección de los productos de la reacción la técnica HPLC. Así mismo, se han investigado las condiciones óptimas de activación de dicha enzima tanto en el fruto del olivo como en el extracto enzimático procedente del precipitado protéico de ambos frutos.

Mediante el control por HPLC se ha seguido la evolución cualitativa y cuantitativa de pigmentos clorofílicos y carotenoides durante el proceso de fermentación de aceitunas verdes de mesa. Se ha comprobado en situación modelo que el tratamiento alcalino previo a la fermentación no propicia la desesterificación de clorofilas, siendo por lo tanto el origen de la formación de clorofilidas exclusivamente enzimático, y su formación se restringe a los primeros días de la colocación de los frutos en salmuera.

La evolución de pigmentos durante dicho proceso ha permitido conocer tanto la transformación ocurrida en la estructura de pigmento como su origen, habiéndose establecido la cinética de degradación de clorofilas y carotenoides ocurrida.

En la alteración «mancha verde» parece estar implicado el cobre del propio fruto, que se une a intermediarios biosintéticos clorofílicos. Paralelamente, se ha puesto a punto la técnica de extracción de carotenoproteína, habiéndose aislado una azul de *Panaceus sapronicus* cuyo grupo protéico lo constituye el carotenoide identificado como astaxanteno.

En el pimiento, se ha seguido la oxidación de pigmentos durante el proceso de obtención del pimentón. Experiencias en condiciones modelo sobre termo y fotooxidación de carotenoides evidencian que los más oxigenados son los más estables y el medio de reacción es determinante en la cinética de degradación.

El estudio de evolución de actividad lipoxigenasa en distintas variedades de pimiento, durante los estados de

maduración, ponen de manifiesto que el número de recolecciones anteriores que ha sufrido la planta marca notorias diferencias en las tasas de actividad encontradas. Durante el secado existe una pérdida progresiva de actividad lipoxigenasa.

1.4.3. Proyecto: *Cambios en polisacáridos estructurales de la pared celular en productos vegetales durante su almacenamiento y procesado*. ALI 091 - 1166. C03 - 03.

(Heredia, A.; Vioque, B.; Ruiz-Gutiérrez, V.; Villanueva, M^a J.; Redondo, A.; Rejano, L.; Guillén, R.; Fernández-Bolaños, J.; Jiménez, A.; Rodríguez, D.; Sánchez, C.)

Se ha realizado un notable avance en el estudio de enzimas intraparietales, habiéndose llegado a establecer un sistema de aislamiento de pared que ha permitido mantener los enzimas con su propia actividad y se ha conseguido un sistema perfectamente reproducible de determinación enzimática «in situ», sin necesidad de realizar extracción previa. Se ha encontrado actividad de diversos enzimas hidrolíticos enlazados a la pared y se ha seguido su evolución a lo largo de la maduración del fruto. Se ha iniciado el estudio de la acción de reguladores hormonales. Se encuentra en fase de desarrollo el estudio de polisacáridos de pared celular, aislamiento y caracterización de xilanas y xiloglucanos durante la maduración de aceitunas y las modificaciones que experimentan durante el procesado del fruto. Por cromatografía de intercambio iónico se han determinado sus pesos moleculares y por cromatografía gaseosa su composición glicosídica (las fracciones ácidas se han transformado en acetatos de aldol y las neutras en trimetilsilil derivados). Se caracterizan las hemicelulosas A que resultan estar constituidas por una xilana muy pura. En las hemicelulosas B se aísla una fracción que parece ser que se trata de un xiloglucano con gran número de ramificaciones, formadas por cadenas de distinta longitud de arabinanas ácidas.

De acuerdo con el plan proyectado, se estudian algunas propiedades físicas de la fibra de este fruto, como fase previa a experiencias de digestibilidad, y se determina la capacidad de retención de iones metálicos, por absorción atómica.

En relación con el espárrago, se ha seguido la evolución de su pared mediante las modificaciones que experimenta la fibra a lo largo de su ciclo vegetativo y, paralelamente, se han identificado los enzimas hidrolíticos más significativos.

De nuestros trabajos en coordinación con el Prof. Albersheim (Complex Carbohydrate Research Center, Uni. Georgia), con el objetivo de determinar si los polímeros hemicelulósicos xiloglucanos varían en tejidos diferentes de una misma planta y con el método de extracción de los mismos, se ha procedido a preparar pared celular de distintos tejidos cultivados tanto en la oscuridad como en la luz y a su extracción por vía enzimática y química.

Brenes Balbuena, M.; García, P.; Garrido Fernández, A.-Phenolic compounds related to the black colour formed during the elaboration of ripe olives.-J. Agric. Food Chem. **40** (1992) 1192-1196.

- Castro, A.; Garrido Fernández, A.-Fermentation of table olives by lactic acid bacteria. Perspectives. En «Lactic acid bacteria».-Editada por George Novel and Jean-François Le Querler. Caen (1992) 262-273.
- Fernández González, J.; Garrido Fernández, A.; García García, P.; Brenes Balbuena, M.; Durán Quintana, M^a C.-Características del proceso fermentativo durante la conservación de aceitunas de la variedad hojiblanca destinadas a la elaboración tipo negras.-Grasas y Aceites **43** (1992) 212-218.
- Fernández-Bolaños, J.; Heredia, A.; Guillén, R.; Castro, A.; Durán, M^a C.-Evolution of endoglucanase activity in olives during ripening and storage and its relationship with cellulolytic microorganisms.-Z. Lebensm. Unters. Forsch. **195** (1992) 451-454.
- García García, P.; Brenes Balbuena, M.; Garrido Fernández, A.-A rapid indirect method for estimating the sodium content of table olives.-Analyst **117** (1992) 173-176.
- García García, P.; Brenes Balbuena, M.; Vattan, T.; Garrido Fernández, A.-Kinetic study at different pH values of the oxidation process to produce ripe olives.-J. Sci. Food Agric. **60** (1992) 327-331.
- García García, P.; Durán Quintana, M^a C.; Brenes Balbuena, M.; Garrido Fernández, A.-Lactic fermentation during the storage of oleofina cultivar untreated green table olives.-J. Appl. Bacteriol. **73** (1992) 324-340.
- Garrido Fernández, A.-La investigación sobre aceitunas de mesa: logros y perspectivas.-Ibérica (1992) 93-96.
- Garrido Fernández, A.-Tratamientos de salmueras de la industria de vegetales fermentados.-Aliment. Equipos Tecnol. (1992) 128-130.
- Garrido Fernández, A.; García García, P.; Brenes Balbuena, M.-The recycling of table brine using ultrafiltration and activated carbon adsorption.-J. Food Eng. **17** (1992) 291-303.
- Garrido Fernández, A.; Heredia, A.; Mínguez, M^a I.; Rejano, L.; García, P.; Castro, A.; Jiménez, R.-Manual de elaboración de aceitunas de mesa.-Editado por FAO (1992). Roma.
- Guillén, R.; Heredia, A.; Felizón, B.; Jiménez, A.; Montaña, A.; Fernández-Bolaños, J.-Fibre fractions carbohydrates in olea europaea (Manzanilla and Gordal Var.).-Food Chem. **44** (1992) 173-178.
- Gutiérrez Rosales, F.; Garrido Fernández, J.; Gallardo Guerrero, L.; Gandul Rojas, B.; Mínguez Mosquera, M^a I.-Action of chlorophylls on the stability of virgin olive oil.-J. Am. Oil Chemist's Soc. **69** (1992) 866-871.
- Heredia, A.; Guillén, R.; Jiménez, A.; Fernández-Bolaños, J.-Olive fruit glycosides: factor affecting their extraction.-Z. Lebensm. Unters. Forsch. **194** (1992) 561-565.
- Mínguez Mosquera, M^a I.; Jarén Galán, M.; Gandul Rojas, B.-Pigments in the algal biomass from aerobic waste water depuration ponds.-Water Air Soil Pollut. **65** (1992) 195-213.
- Mínguez Mosquera, M^a I.; Jarén Galán, M.; Garrido Fernández, A.-Color quality in paprika.-J. Agric. Food Chem. **40** (1992) 2384-2388.
- Mínguez Mosquera, M^a I.; Gandul Rojas, B.; Gallardo Guerrero, L.-Rapid method of quantitative of chlorophylls and carotenoids in virgin olive oil by high performance liquid chromatography.-J. Agric. Food Chem. **40** (1992) 60-63.
- Mínguez Mosquera, M^a I.; Jarén Galán, M.; Gandul Rojas, B.; Fiestas Ros de Ursinos, J.-Chlorophyll and carotenoid composition of the algal flora developed under immobilized conditions. Influence of the support.-Biomass Bioenergy **1** (1992) 347-353.
- Montaña, A.; Castro, A.; Rejano, L.; Sánchez, A.H.-Analysis of zapatera olives by gas and high-performance liquid chromatography.-J. Chromatogr. **594** (1992) 259-267.
- Rodríguez, R.; Redondo, A.; Villanueva, M.J.-Study of dietary fibre content in cucumber by gravimetric and spectrophotometric methods.-Food Chem. **43** (1992) 295-298.
- Rodríguez, M.D.; Villanueva, M.J.; Redondo, A.-Determinación de sustancias pécicas en nabo por dos métodos espectrofotométricos: m-hidroxifenilfenol y 3,5-dimetilfenol.-Alimentaria **238** (1992) 79-84.
- Ruiz Barba, J.L.; Brenes Balbuena, M.; Jiménez Díaz, R.; García García, P.; Garrido Fernández, A.-Inhibition of lactobacillus plantarum by polyphenols extracted from two different kinds of olive brine.-J. Appl. Bacteriol. **73** (1992) 502-505.
- Sánchez, A.H.; Castro, A.; Rejano, L.-Controlled fermentation of caperberries.-J. Food Sci. **57** (1992) 675-678.
- Sánchez, C.; Heredia, A.; Guillén, R.; Jiménez, A.; Fernández-Bolaños, J.-Composición del espárrago blanco (*asparagus officinalis* L). Modificaciones durante su procesado.-Alimentaria **238** (1992) 41-47.

2. OTRAS ACTIVIDADES

2.1. Servicio de Información y Publicaciones.

(López, A.; García, C.; Nieto, A.; Sánchez, M^a T.)

En este Servicio se atienden de manera tradicional y a lo largo de todo el año un gran número de consultas bibliográficas solicitadas por industrias, investigadores y centros de investigación. De igual forma, se atienden en el campo de la fotodocumentación las numerosas peticiones que se reciben en el mismo.

2.1.1. Revista: «Grasas y Aceites».

La revista internacional Grasas y Aceites es una publicación bimestral de información científica y técnica editada por el Instituto de la Grasa y sus Derivados (CSIC). En el presente año de 1992 han aparecido los siguientes fascículos:

Vol. 43 (1992) Fasc. 1, con 6 trabajos de investigación y 2 de información. Total, 60 páginas.

Vol. 43 (1992) Fasc. 2, con 6 trabajos de investigación y 2 de información. Total, 58 páginas.

Vol. 43 (1992) Fasc. 3, con 8 trabajos de investigación y 1 de información. Total, 73 páginas.

Vol. 43 (1992) Fasc. 4, con 6 trabajos de investigación y 1 de información. Total, 65 páginas.

Vol. 43 (1992) Fasc. 5, con 5 trabajos de investigación y 2 de información. Total, 53 páginas.

Vol. 43 (1992) Fasc. 6, con 7 trabajos de investigación y 2 de información. Total, 82 páginas.

La revista contiene, además, los apartados: «Notiario», «Bibliografía de Revistas», «Patentes» y «Libros». El apartado «Bibliografía de Revistas» ha publicado 477 citas bibliográficas.

2.1.2. Biblioteca.

Como en años anteriores, en el Servicio se han recibido un buen número de nuevos libros que aumentan el catálogo que la Biblioteca del Instituto pone a disposición de todas aquellas personas que acuden a la misma en demanda de información científica y se han continuado tareas que se estaban realizando el pasado año de 1991: El proyecto piloto de la Unidad de Coordinación de Bibliotecas del C.S.I.C. y el trabajo de informatización de sus propios fondos.

2.2. Enseñanza.

2.2.1. Tesis doctorales.

Estudio estructural y de biodisponibilidad de los compuestos de reacción entre lisina y aldehídos procedentes de oxidación lipídica. Universidad de Sevilla. Facultad de

Ciencias Biológicas. Por Girón Calle, J. Dirigida por Dr. Vioque Pizarro, E., y Dra. Ruiz Gutiérrez, V.

Degradación de clorofilas y carotenoides durante la elaboración de aceitunas verdes de mesa. Universidad de Sevilla. Por Gandul Rojas, B. Dirigida por Dra. Mínguez Mosquera, M^a I.

2.2.2. Tesinas de Licenciatura.

Estudio de la composición lipídica de *Ruvettus pretiosus*, Universidad de Sevilla. Facultad de Farmacia. Por Pérez Zarco, M^a C. Dirigida por Dra. Ruiz Gutiérrez, V.

2.2.3. Trabajos fin de carrera.

Estudios de producción y calidad de diversas variedades de tomate industrial. E.U.I.T. Agrícola. U. Sevilla. Por Burgos González. Dirigida por Drs. Roca, R.; y Albi, M.A.

2.2.4. Cursos.

2.2.4.1. XXII Curso de especialización en Grasas.

De acuerdo con la legislación vigente, y continuando con el programa comenzado en octubre del año anterior, se continuaron impartiendo las enseñanzas correspondientes a este Curso, hasta el mes de junio. Durante el desarrollo del mismo, intervinieron en la exposición de los numerosos temas correspondientes a «Extracción de Grasas de Semillas y de Orujo de Aceitunas» y a «Transformación de Grasas Comestibles e Industriales» acreditados profesionales de la industria de grasas, así como profesores de la Universidad de Sevilla.

2.2.4.2. Elaboración de aceitunas de mesa.

Como en años anteriores, durante el presente, y en las instalaciones del Instituto de la Grasa y sus Derivados, se impartieron las clases correspondientes a este Curso por parte del personal de la Unidad Estructural de Biotecnología.

2.2.4.3. Aceites y grasas vegetales (Master en Ciencia e Ingeniería de Alimentos). Universidad Politécnica de Valencia.

2.2.4.4. Química y bioquímica de alimentos. U. de Sevilla. Programa de 3er Ciclo. Coordinado por el Dr. Garrido Fernández, A., en él participaron una veintena de investigadores del Instituto.

2.2.4.5. Curso Internacional de química y análisis de materias grasas.

Impartido en el Departamento de Ciencia de los alimentos y tecnología química Universidad de Chile, Santiago de Chile, por el Dr. Enrique Graciani Constante gracias a un programa de cooperación con Hispanoamérica.

2.2.4.6. Técnicas de Laboratorio.

Curso dictado dentro del «Plan de Formación Interna» del CSIC. En el mismo han intervenido numerosos profesores de este Instituto, en colaboración con los correspondientes a los Institutos de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla y de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis y con la Estación Biológica de Doñana. Curso que tuvo su comienzo durante el último trimestre del año anterior. El Curso tuvo lugar en Sevilla.

2.2.4.7. El personal científico del Instituto ha impartido conferencias y ponencias científicas en diversos cursos organizados por otros centros docentes u otras organizaciones públicas.

Curso internacional de Elaiotécnica y Aderezo de aceitunas (colaboración). Córdoba. Estación Experimental.

Colaboración con E.U. de Ing. Técnica Agrícola.

2.2.4.8. Durante el presente año, en el Seminario organizado en el Instituto por el Dr. Juan Sánchez García, han presentado ponencias tanto compañeros del Instituto como los siguientes profesores que han visitado al mismo:

Prof. Enrique Cerdá Olmedo. U. de Sevilla. «Carotenos y Giberálinas».

Prof. Francisco Javier Cejudo. U. de Sevilla. «Regulación génica de la germinación del trigo».

Prof. Mitsuhiro Yamada. Hokkaido Tokai U. de Sapporo, Japón. «Structure gene expression and intracellular behavior of castor bean nonspecific lipid transfer proteins».

Prof. Amalia Carelli. U. de Bahía Blanca, Argentina. «Análisis de triglicéridos en aceites vegetales».

Prof. Ramón Serrano. U. Politécnica de Valencia. «Nuevos genes de resistencia a salinidad».

Prof. Alicia Chaves, Cidca. U. Nacional de la Plata, Argentina. «Bioquímica de la maduración de fresas».

2.3. Participación en congresos, seminarios, mesas redondas y otras reuniones de carácter científico.

Conference of Taxonomy and Automated Identification. Praga (Checoslovaquia). 1 Poster.

Second World Congress of Stroke. Washington (USA). 1 Poster.

14th Scientific Meeting of the International Society of Hypertension. Madrid. 1 Poster.

II Congreso Iberoamericano de Geriátría y Gerontología. Sevilla. 1 Comunicación.

La Calidad del Fresón. AGROSTA'92. Huelva. 2 Comunicaciones.

International Symposium on Cellular and Molecular Aspects of Biosynthesis and Action of the Plant Hormone Ethylene. Agen (Francia). 2 Comunicaciones.

III Simposio «Metabolismo y Modo de Acción». S.E. de Fisiología Vegetal. Murcia.

International Congress of Olive Oil Quality. Firenze (Italia). 3 Comunicaciones.

International Conference on the Biochemistry of Lipids. Lyon (Francia). 1 Poster.

COSEMI-93. Karlsruhe (Alemania). 1 Comunicación.

Topics in Dietary Fibre Research. Roma (Italia). 3 Poster.

Sixth Cell Wall Meeting. Nijmegen (Holanda). 1 Comunicación. 1 Poster.

International Congress on Food Technology and Development. Murcia. 1 Poster.

Food Science and Technology: Industry and Distribution. Burgos. 5 Poster.

Berm-5. Aachen (Alemania). 1 Poster.

VIII Reunión Científica del «Grupo de Microbiología de Alimentos». Cáceres. 1 Comunicación.

10th International Symposium on the Metabolism, Structure and Utilization of Plant Lipids. Jerba (Túnez). 2 Comunicaciones y 2 Poster.

II Forum Internacional del Aceite. Reus. 3 Comunicaciones.

XXI Reunión del Grupo de Cromatografía y Técnicas Afines. Granada. 1 Comunicación.

II Symposium on Chemical Reactions in Food. Praga (Checoslovaquia). 1 Poster y 1 Comunicación.

20th ISF World Congress and 83rd American Oil Chemists' Society. Annual Meeting. Toronto (Canadá). 1 Poster y 2 Comunicaciones.

Lipidforum: Lipid Oxidation-Occurrence, Detection and Prevention. Copenhague (Dinamarca). 1 Poster.

IX Reunión de la S.E.F.V. y II Congreso Hispano-Luso de Fisiología Vegetal. Madrid.

International Workshop on Modified Atmosphere Packaging. Cost 94: The Post-Harvest Treatment of Fruit and Vegetables. Estambul (Turquía).

II Congreso Internacional de Química de la ANQUE. Ciencia y Tecnología de los Alimentos: Industria Alimentaria y Distribución. Burgos. 4 Poster y 2 Comunicaciones.

33rd International Conference on the Biochemistry of Lipids. Lyon (Francia). 1 Poster.

1ère. Conference Européenne sur les Proteagineux. Angers (Francia). 1 Comunicación.

Thir FAO/: Workshop on Biotechnologies for Pollution Control and Energy. Braunschweig (Alemania). 1 Poster.

I Congreso Hispano-Luso de Biotecnología. Santiago de Compostela. 1 Comunicación.

2.4. Cooperaciones científicas y conciertos con otros Centros e Instituciones Públicas y Privadas.

El personal científico del Instituto ha mantenido colaboración en distinto grado con las siguientes Instituciones:

Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología

de Alimentos. U. Nacional de la Plata. CONICET (R. de Argentina).

CEE. Grupo de Expertos Químicos en Materias Grasas. Bruselas.

Meeting of Unilever. Málaga.

Consejo Oleícola Internacional.

Reunión de Trabajo. «Ripening and Senescence». COST 94. «The Post-Harvest Treatment of Fruit and Vegetables». Karlsruhe (Alemania).

Reunión de Trabajo. «International Workshop on Modified Atmosphere Packaging». COST 94. «The Post-Harvest Treatment of Fruit and Vegetables». Estambul (Turquía).

Comisión Normalizadora de Análisis Sensorial. AENOR.

Centre de Recherches sur Macromolécules Végétales. Francia.

CEE. Programa BCR: Detailed Method to Study Total Dietary Fibre in Complex Food. Bruselas.

Complex Carbohydrate Research Center (University of Georgia). Georgia. USA.

University of California, Davis. USA.

CEE. Programa FLAIR: sobre Probióticos. Universidad «Santo Cuoro». Italia.

CEE. Programa Bridge. Biotechnology Centre (Grandfield). Inglaterra.

Acción Concertada sobre Elaboración de Aceitunas de Mesa y Aceite de Oliva. Institut Agronomique et Veterinaire Hassan II. Marruecos.

Formación Panel Analítico para las Aceitunas de Mesa. INCIT. Portugal.

Laboratorio del Dr. Murphy, J. Cambridge Laboratory John Innes Center. Inglaterra.

Universidad de Bahía Blanca. Argentina.

Instituto de Tecnología de Carnes. (INTA) Castelar. Argentina.

Departamento Ciencias de los Alimentos y Tecnología Química. Universidad de Chile. Santiago de Chile.

CEE. Agriculture and Agro-Industry Program. Chania (Grecia).

Jornadas sobre las Aceitunas de Mesa Extremeñas. Almendralejo.

Institut für Lebensmittelchemie und Analytische Chemie der Universität Stüttgar. Stüttgar (Alemania).

Hormel Institute. Austin Minnesota (USA).

Departamentos de Ingeniería Química y Química Inorgánica de la Facultad de Ciencias de Córdoba.

Departamentos de Microbiología e Ingeniería Química

de las Facultades de Farmacia y Ciencias. Universidad de Granada.

Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC).

Centro de Investigaciones del Agua (CSIC).

Centro de Estudios Medioambientales (CSIC).

Institut für Technologie de Braunschweig (Alemania).

Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC). Departamento de Contaminación Ambiental de La Habana (Cuba).

Environmental Technology Centre. «Department of Chemical Engineering» de la «University of Manchester. Institute of Science and Technology (UMIST)» de Manchester (Reino Unido).

Universidad Gent. Faculteit Wetenschappen. Laboratorium voor Microbiologie en Microbiele Genetica. Bélgica.

2.5. Relaciones con los Sectores Industriales Afines a las Actividades del Instituto.

2.5.1. Como es tradicional, las Distintas Unidades Estructurales han mantenido relaciones de colaboración con los sectores industriales que le son afines, lo que ha supuesto la prestación de una serie de Servicios, la emisión de un conjunto de informes y la realización de contratos y convenios de investigación.

2.5.2. El servicio de Análisis al exterior de la Unidad de Caracterización y Calidad de Alimentos, ha emitido 578 informes analíticos, ha realizado 20 informes técnicos y en el mismo, para realizar prácticas destinadas a reciclaje o formación de expertos en distintas metodías analíticas específicas, han realizado distintas estadías seis titulados superiores relacionados con las Industrias del Sector.

2.5.3. Empresas con las que se han firmado los principales contratos y convenios de investigación:

ACEMESA.

HISPANIC. Barcelona.

COMARO, S.A. y CASAS DEL MONTE.

Carburos Metálicos, S.A.

Gist-Brocades.

Fuentes-Cardona.

Novo Nordisk Ferment AG.

Cía. Española de Penicilina y Antibióticos, S.A. (CEPA). Aranjuez.

Asociación de Investigación y Cooperación Industrial de Andalucía y E.S. Ing. Industriales.

E. Graciani