

#### **UNIVERSIDAD DE CHILE**

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas

Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química

# LEVANTAMIENTO Y PROCESAMIENTO DE INFORMACIÓN DE NUEVE VARIEDADES DE OLIVO CON POTENCIAL ECONÓMICO PARA EL MEJORAMIENTO DE LA OFERTA EXPORTABLE DE LA INDUSTRIA OLIVÍCOLA NACIONAL. SEGUNDA CONTRIBUCIÓN.

### Memoria para optar al Título de Ingeniero en Alimentos CLAUDIA ANDREA ZURITA SOTO

Profesor Patrocinante: Directores:

MSc. Nalda Romero Palacios Prof. MSc. Nalda Romero Palacios

Prof. MSc. Jaime Ortiz Viedma

Memoria financiada por Proyecto Innova-CORFO 11BPC-10039

Santiago, Chile

2013

#### **DEDICATORIA**

"Nadie está a salvo de las derrotas. Pero es mejor perder algunos combates en la lucha por nuestros sueños, que ser derrotado sin saber siquiera por qué se está luchando"

Paulo Coelho

A mis padres, por estar a mi lado en los momentos más difíciles y ser el pilar para cumplir mis sueños.

#### **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres por estar siempre a mi lado, darme la fuerza para levantarme en los momentos difíciles y entregarme su amor incondicional.

A Lalito por compartir cada alegría, por apoyarme en todo momento y por ser mi gran amor.

A la profesora Nalda Romero por darme la oportunidad de realizar esta memoria y por su constante dedicación y apoyo.

A mis amigas las IA, en especial a mis inseparables Carolina y Constanza por apoyarme, comprenderme y compartir estos casi siete años de formación universitaria, ya que sin su amistad nada hubiera sido igual.

A mi hermana que siempre ha estado presente entregándome su amor y por darme la alegría de ser tía de dos hermosos angelitos, Valeria y Mathias.

A Fernanda por su ayuda en este trabajo de investigación, por ser tan servicial y siempre tener una sonrisa que compartir.

Al Proyecto Innova-CORFO 11BPC-10039 "Levantamiento y procesamiento de información de nueve variedades de olivo con potencial económico para el mejoramiento de la oferta exportable de la industria olivícola nacional" por el financiamiento de esta memoria.

#### **ÍNDICE GENERAL**

			Página
DEDICA	TORIA.		ii
AGRAD	ECIMIE	NTOS	iii
ÍNDICE	GENER	AL	lv
ÍNDICE	DE TAB	LAS	Vii
ÍNDICE	DE FIG	URAS	Viii
ÍNDICE	DE ANE	XOS	lx
RESUM	EN		Χ
SUMMA	.RY		Xi
1. INT	RODUC	CIÓN	1
1.1.	Oríger	nes del aceite de oliva	1
1.2.	Proce	so de obtención del aceite de oliva	1
	1.2.1.	Recolección de la aceituna	1
	1.2.2.	Transporte de la aceituna a la almazara	2
	1.2.3.	Limpieza y lavado	2
	1.2.4.	Molienda y batido	3
	1.2.5.	Extracción	3
	1.2.6.	Filtrado	4
	1.2.7.	Envasado	4
1.3.	Tipos	de aceite de oliva y categorías de calidad	5
1.4.	Comp	osición química	6
1.5.	Anális	is de mercado del aceite de oliva en Chile y el mundo	9
	1.5.1.	Mercado internacional	9
	1.5.2.	Mercado nacional	10
1.6.	Varied	lades de olivo en Chile	14
1.7.	Carac	terísticas sobresalientes de nueve variedades de Olivo	
	cultiva	das en el Banco de Germoplasma de olivos del Centro	15
	Experi	mental Huasco	
	1.7.1.	Biancolilla	15
	172	Carrasqueña	16

		1.7.3.	Empeltre	16
		1.7.4.	Itrana	16
		1.7.5.	Kalamata	17
		1.7.6.	Koroneiki	17
		1.7.7.	Leccino	17
		1.7.8.	Liguria	18
		1.7.9.	Manzanilla Chilena	18
2.	HIPC	ÓTESIS		19
3.	OBJ	ETIVOS	5	20
	3.1.	Objetiv	o General	20
	3.2.	Objetiv	os Específicos	20
4.	MAT	ERIALE	ES Y MÉTODOS	21
	4.1.	Materia	ales	21
		4.1.1.	Materiales de laboratorio	21
		4.1.2.	Reactivos	21
		4.1.3.	Equipos	22
	4.2.	Metodo	ología	23
		4.2.1.	Muestreo	23
		4.2.2.	Extracción de los aceites	23
		4.2.3.	Determinación de acidez libre	24
		4.2.4.	Determinación de índice de peróxidos	25
		4.2.5.	Determinación de la extinción específica por absorción	0.5
			ultra-violeta	25
		4.2.6.	Caracterización del perfil de ácidos grasos	26
		4.2.7.	Determinación de la composición de los compuestos	00
			fenólicos	26
		4.2.8.	Determinación de la composición y el contenido en	07
			esteroles	27
		4.2.9.	Determinación de tocoferoles	28
		4.2.10	). Tratamiento estadístico de los datos químicos	29
5.	RES	ULTAD	os	30
	5.1.	Detern	ninación de parámetros de calidad	30

	5.1.1. Determinación de acidez libre	. 31
	5.1.2. Determinación de índice de peróxidos	. 32
	5.1.3. Determinación de la extinción específica por absorción	า 34
	ultra-violeta	
	5.2. Caracterización del perfil de ácidos grasos	. 35
	5.3. Determinación de la composición de los compuestos fenólicos	. 39
	5.4. Determinación de la composición de esteroles y alcoholes	s 47
	triterpénicos	
	5.5. Determinación de tocoferoles	. 51
6.	CONCLUSIONES	. 53
7.	REFERENCIAS	. 55
8.	ANEXOS	63

#### **ÍNDICE DE TABLAS**

		Página
Tabla 1:	Composición en triglicéridos	7
Tabla 2:	Composición porcentual de ácidos grasos en el aceite de oliva	7
Tabla 3:	Producción mundial de aceite de oliva en las temporadas	10
	2009/10, 2010/11 y 2011/12 (toneladas)	
Tabla 4:	Variedades del Banco de Germoplasma de olivos del Centro	15
	Experimental Huasco de INIA	
Tabla 5:	Parámetros de calidad de los aceites de oliva virgen extra en	30
	estudio	
Tabla 6:	Perfil de ácidos grasos expresados como porcentaje de	36
	ésteres metílicos	
Tabla 7:	Compuestos fenólicos identificados a las longitudes de onda	40
	de 280, 235 y 335 nm	
Tabla 8:	Valores medios de cada compuesto fenólico determinado para	42
	cada variedad de aceite de oliva virgen extra analizado	
Tabla 9:	Composición y contenido de esteroles de las nueve	48
	variedades de aceite de oliva virgen extra	
Tabla 10:	Concentración y porcentaje de tocoferoles de las nueve	51
	variedades de aceite de oliva virgen extra analizadas	

#### **ÍNDICE DE FIGURAS**

		Página
Figura 1:	Estimaciones y proyección de la superficie plantada de olivos en Chile	12
Figura 2:	Producción de aceite de oliva y consumo anual per cápita en el período 1997-2011	13
Figura 3:	Producción, exportación e importación de aceite de oliva en el período 1997-2011	14
Figura 4:	Contenido total de ácidos grasos monoinsaturados/contenido total de ácidos grasos poliinsaturados por variedad	38
Figura 5:	Cromatograma tipo de una muestra de aceite de oliva variedad 'Koroneiki' obtenidos a λex = 280 nm	41
Figura 6:	Concentración de derivados secoiridoides de las nueve variedades de aceite de oliva virgen extra en estudio (mg/kg de aceite)	43
Figura 7:	Hidrólisis y degradación de la oleuropeína	44

#### **ÍNDICE DE ANEXOS**

		Página
Anexo 1:	Índice de madurez	63
Anexo 2:	Cromatografía de gases para análisis de ácidos grasos	63
Anexo 3:	Determinación de la composición y contenido de esteroles	64
Anexo 4:	Determinación de la composición de tocoferoles	64
Anexo 5:	Criterios de calidad	65
Anexo 6:	Análisis estadístico acidez libre	66
Anexo 7:	Análisis estadísticos índice de peróxidos	66
Anexo 8:	Análisis estadístico coeficiente de extinción	67
Anexo 9:	Perfil de ácidos grasos	70
Anexo 10:	Análisis estadístico ácidos grasos	71
Anexo 11:	Determinación de la composición de compuestos	80
	fenólicos	
Anexo 12:	Análisis estadístico fenoles totales	82
Anexo 13:	Análisis estadístico esteroles	82
Anexo 14:	Análisis estadístico tocoferoles	86

#### RESUMEN

En la última década la olivicultura nacional ha experimentado un crecimiento del 630% en las plantaciones de olivos, las cuales están orientadas principalmente a la producción de olivas aceiteras. En el mundo existen alrededor de 1300 variedades de olivo, de las cuales en Chile sólo se cultivan masivamente unas 12 variedades. Dada la creciente demanda de los mercados internacionales, por productos de mejor calidad y bouquet se llevó a cabo este estudio, cuyo objetivo fue levantar y procesar información de nueve variedades de olivo con potencial económico procedentes del Banco de Germoplasma de Olivos del Centro Experimental Huasco de INIA. Las variedades estudiadas fueron 'Biancolilla', 'Carrasqueña', 'Empeltre', 'Itrana', 'Kalamata', 'Koroneiki', 'Leccino', 'Liguria' y 'Manzanilla Chilena'.

Se determinaron los parámetros de calidad (acidez libre, índice de peróxidos y extinción específica K) y los componentes bioactivos (composición de ácidos grasos, compuestos fenólicos, esteroles y tocoferoles). Las metodologías utilizadas fueron los procedimientos aprobados por las normas AOCS y el COI.

A partir de los parámetros de calidad se determinó que todos los aceites estudiados pertenecen a la categoría de aceites de oliva virgen extra de acuerdo a la normativa COI. La variedad 'Koroneiki' presentó el mayor contenido de ácido oleico (79,3%), 'Liguria' alcanzó la mayor concentración de ácido linoleico (13,4%), mientras que 'Biancolilla' y 'Empeltre' presentaron los mayores valores de ácido linolénico (0,8%). Por otro lado 'Kalamata' presentó la mayor concentración de fenoles totales (704 mg/kg de aceite), siendo los más abundantes los derivados secoiridoides. Por su parte 'Liguria' fue la variedad que presentó el mayor contenido de esteroles totales (2333 mg/kg de aceite), siendo el β-sitoesterol el esterol mayoritario (>94%). 'Liguria' presentó el mayor contenido de tocoferoles totales (321 mg/kg de aceite), resultando el α-tocoferol es el principal tocoferol (>180 mg/kg de aceite).

Esta memoria fue financiado por el proyecto INNOVA 11BPC-10039 apoyado por Corfo a través de InnovaChile.

#### SUMMARY

# SETTING UP AND PROCESSING INFORMATION FROM NINE OLIVE CULTIVARS WITH ECONOMIC POTENTIAL FOR THE IMPROVEMENT THE EXPORTABLE OFFER OF NATIONAL OLIVE INDUSTRY. SECOND CONTRIBUTION.

In the last decade the national olive growing has experienced a 630% growth in the olive groves, which are mainly oriented to the production of olive oil cans. In the world there are about 1300 varieties of olive, of which Chile is only about 12 varieties grown massively. Given the increasing demand of international markets for better quality products and bouquet conducted this study, which aimed to raise and process information from nine varieties of olive economic potential from the Olive Germplasm Bank of Guasco Experimental Center INIA. The varieties studied were 'Biancolilla', 'Carrasqueña', 'Empeltre', 'Itrana', 'Kalamata', 'Koroneiki', 'Leccino', 'Liguria' and 'Manzanilla Chilena'.

Were determined quality parameters (free acidity, peroxide value and specific extinction K) and bioactive components (fatty acid composition, phenolic compounds, sterols and tocopherols). The methodologies used were the procedures approved by the AOCS norms and the IOC.

From quality parameters was determined that all oils studied belong to the category of extra virgin olive oils according to IOC standards. The variety 'Koroneiki' had the highest oleic acid content (79.3%), 'Liguria' reached the highest concentration of linoleic acid (13.4%), while 'Biancolilla' and 'Empeltre' showed the highest values of linolenic acid (0.8%). On the other hand 'Kalamata' had the highest total phenol concentration (704 mg / kg of oil), the most abundant secoiridoids derivatives. Meanwhile 'Liguria' was the variety which had the highest total sterol content (2333 mg / kg of oil),  $\beta$ -sitosterol being the major sterol (> 94%). 'Liguria' had the highest total tocopherol content (321 mg / kg of oil), resulting in the  $\alpha$ -tocopherol is the major tocopherol (> 180 mg / kg of oil).

This memory was financed by the project INNOVA 11BPC-10039 supported by CORFO through InnovaChile.

#### 1. INTRODUCCIÓN

#### 1.1. Orígenes del aceite de oliva

El origen del olivo (Olea europaea L.) se sitúa en Medio Oriente hace unos 6.000 años, probablemente en la zona de Turkestán, propagándose luego hacia Occidente por la cuenca mediterránea. Palestina, Mesopotamia y Creta serían las primeras tierras donde se plantaron olivos para producir aceites (ChileOliva, 2012).

Con el descubrimiento de América y su posterior conquista, el cultivo del olivo fue llevado a México, Estados Unidos y Perú, desde donde se difundió hacia Chile y Argentina. El olivo llegó a Chile hacia fines del siglo XVI, desarrollándose inicialmente en el valle Central, para luego extenderse hasta el Valle del Limarí por el norte y el Río Bío por el sur, donde los diversos microclimas existentes permitieron la adaptación de diferentes variedades (ChileOliva, 2012).

En sus comienzos, la producción de aceite de oliva en Chile se desarrolló únicamente para el consumo familiar, recién en el año 1952 con la incorporación de tecnología italiana, se forma la industria olivícola nacional (ChileOliva, 2012).

#### 1.2. Proceso de obtención del aceite de oliva

El proceso de obtención del aceite de oliva consta de varias etapas, comenzando por la recolección de las aceitunas y finalizando con el envasado del producto.

#### 1.2.1. Recolección de la aceituna

La recolección del fruto es una de las etapas más importantes, ya que dependiendo de cómo se lleve a cabo ésta, resultará la calidad del aceite. Para obtener un aceite de calidad es necesario utilizar aceitunas que se encuentren sanas y en su grado óptimo de madurez (Di Giovacchino, 2003).

La recolección de las aceitunas que permanecen en el árbol se realiza manualmente, con vibradores o máquinas adaptadas a este tipo de cosecha. Aquellas aceitunas que se encuentran en el suelo se recogen a mano, con rodillos, barredoras, rastrillos u otras herramientas manuales o mediante aspiradores y sopladoras (Di Giovacchino, 2003).

#### 1.2.2. Transporte y almacenamiento de la aceituna

Una vez recolectadas las aceitunas son transportadas a la almazara para su molienda. El transporte de las aceitunas recolectadas de los olivos debe ser de manera separada de las recolectadas del suelo (Di Giovacchino, 2003).

Los métodos de transporte deben mantener intacta la integridad del fruto, siendo el mejor método el de la recogida en cajas de plástico con orificios especiales que permitan la ventilación y ayuden a dispersar el calor producido por la actividad catabólica del fruto (Di Giovacchino, 2003).

Para obtener un aceite de calidad, la aceituna debe procesarse en la almazara tan pronto como sea posible. La aceituna debe procesarse dentro de las primeras 24 a 48 horas siguientes a su recogida, para evitar el riesgo de alterar las características físicas, químicas u organolépticas del aceite (Di Giovacchino, 2003).

#### 1.2.3. Limpieza y lavado

La limpieza y el lavado permiten eliminar de las aceitunas materiales extraños que pudieran ser dañinos para la maquinaria o contaminar el producto, además el hecho de procesar sólo aceitunas limpias mejora la calidad del aceite. Este proceso se lleva a cabo mediante maquinarias equipadas con un potente aspirador, que elimina hojas y pequeñas ramas, y un tubo con circulación forzada de agua que permite lavar las aceitunas (Di Giovacchino, 2003).

#### 1.2.4. Molienda y batido

La molienda consiste en triturar y romper la aceituna entera (sin deshuesado previo), con el objeto de facilitar la salida y separación del aceite. Como resultado de la molienda se obtiene una pasta densa que pasa a la fase de amasado o batido. La molienda se realizaba tradicionalmente mediante un molino de rulos o empiedro, mientras que en la actualidad la molienda se realiza con distintos molinos mecánicos (de martillos o de discos dentados) (Oliveras, 2005).

El proceso de batido consiste en batir lenta y continuamente la pasta con lo que aumenta el porcentaje de aceite libre, logrando la coalescencia de las gotas de aceite, romper la emulsión aceite/agua y formar una fase oleosa continua (Di Giovacchino, 2003).

La temperatura de batido no debe sobrepasar los 30°C para que no se pierdan los compuestos aromáticos y no se aceleren los procesos de oxidación (Oliveras, 2005).

#### 1.2.5. Extracción

Posterior al batido, la pasta debe pasar por una última etapa para lograr la separación definitiva de sus tres componentes: orujo (sólidos), alpechín (agua de vegetación) y óleo, esta etapa se denomina extracción y es una de las fases vitales que determinará la calidad final del aceite (ChileOliva, 2012).

La extracción consiste en un centrifugado o decánter de la pasta que puede ser de dos o tres fases, dependiendo si se separa el aceite de los otros dos componentes juntos o los tres componentes por separado. El aceite resultante entra entonces a la centrífuga vertical, que elimina los últimos restos de agua (ChileOliva, 2012).

En el sistema tres fases se introduce un poco de agua templada (25-30°C) para incrementar la fase acuosa y facilitar la separación del aceite. Se consume más agua y se produce más alpechín. Tras la centrifugación se obtiene una fase oleosa, una fase acuosa o alpechín y una fase sólida denominada orujo. Con este sistema se obtienen altas producciones de aceites de calidad (Oliveras, 2005).

Cuando se realiza una separación de dos fases, la extracción del aceite de oliva se realiza sin adicionar agua, por lo que el volumen de la fase acuosa o alpechín es muy pequeño. Tras la centrifugación se obtiene una fase oleosa y una fase sólida. Con este sistema se obtiene un aceite de oliva virgen extra de mayor calidad y se disminuye el consumo de agua potable (Oliveras, 2005).

#### 1.2.6. Filtrado

Una vez obtenido el aceite de oliva, para eliminar cualquier elemento sólido que pueda haber quedado de las etapas anteriores, el aceite es filtrado para posteriormente ser almacenado en tanques metálicos o pozuelos (depósitos subterráneos) (ChileOliva, 2012).

Durante el almacenamiento del aceite se debe tener presente las principales causas de su deterioro: contacto con materiales inapropiados, contacto prolongado con impurezas acuosas y oxidación. Para evitar el deterioro del aceite se debe tener todo tipo de precauciones, como: el uso de contenedores fabricados con materiales inertes (cristal o acero inoxidable), cerrar dichos contenedores herméticamente y almacenarlos en la oscuridad (Di Giovacchino, 2003).

#### 1.2.7. Envasado

Los materiales más utilizados para envasar el aceite de oliva son el plástico PET, vidrio y lata. Es recomendable la utilización de envases opacos para impedir el paso de la luz que pudiera alterar la calidad del aceite (Gil y Ruiz, 2010).

#### 1.3. Tipos de aceite de oliva y categorías de calidad

El aceite de oliva es el aceite procedente únicamente del fruto del olivo, con exclusión de los aceites obtenidos mediante disolventes o por procedimientos de reesterificación y de toda mezcla con aceites de otra naturaleza (COI, 2012).

El aceite virgen de oliva es el zumo o jugo oleoso, extraído del fruto del olivo por medios mecánicos o físicos, en condiciones térmicas especiales que no conducen a la alteración del aceite, por procesos de lavado, molturación, batido, decantación, centrifugación y filtración (COI, 2012), permitiendo conservar valiosos compuestos polifenólicos que le otorgan un gran valor alimenticio y medicinal, en la prevención de enfermedades cardiovasculares, arteriosclerosis, reumatismo, artritis y otras dolencias, como también cosmético, además de un excelente gusto y aroma (Loyola et al, 2008).

Existen aceites de oliva vírgenes que son aptos para el consumo y otros que no. Dentro de aquellos que sí son aptos para el consumo se distinguen tres categorías que difieren entre sí en el porcentaje de acidez libre y posibles defectos organolépticos, éstas son: aceite de oliva virgen extra, aceite de oliva virgen y aceite de oliva corriente. El aceite de oliva virgen no apto para el consumo se denomina aceite de oliva virgen lampante (COI, 2012).

Aceite de oliva virgen extra: aceite de oliva virgen con una acidez libre máxima, en términos de ácido oleico, de 0,8 gramos por 100 gramos, y cuyas características organolépticas son irreprochables (COI, 2012).

Aceite de oliva virgen: aceite de oliva virgen con una acidez libre máxima, en términos de ácido oleico, de 2 gramos por 100 gramos, y cuyas características organolépticas son irreprochables (COI, 2012).

Aceite de oliva virgen común: aceite de oliva virgen con una acidez libre máxima, expresada en ácido oleico, de 3,3 gramos por 100 gramos (COI, 2012).

Aceite de oliva virgen lampante: aceite de oliva virgen con una acidez libre, en

términos de ácido oleico, superior a 3,3 gramos por 100 gramos, no apto para consumo

humano. Está destinado a industrias de refinado o a usos técnicos (COI, 2012).

Aceite de oliva refinado: aceite de oliva obtenido mediante refinado de aceite de oliva

virgen, con una acidez libre, expresada en ácido oleico, de no más de 0,3 gramos por

100 gramos (COI, 2012).

Aceite de oliva: aceite constituido por una mezcla de aceite de oliva refinado y aceites

de oliva vírgenes aptos para el consumo, con una acidez libre, expresada en ácido

oleico, de no más de 1 gramo por 100 gramos (COI, 2012).

En Chile existe desde el año 2001 la norma NCh 107 of 2001 que describe los

requisitos para el aceite de oliva. En ella se definen y distinguen cuatro tipos de aceite

de oliva: aceite de oliva virgen extra, aceite de oliva virgen, aceite de oliva refinado y

aceite de oliva común (FIA, 2003).

La norma chilena indica que, según su calidad, los cuatro tipos de aceite de

oliva se clasifican en las siguientes categorías:

Categoría extra: aceite de oliva virgen extra

Categoría I: aceite de oliva virgen

Categoría II: aceite de oliva común

Categoría III: aceite de oliva refinado (FIA, 2003).

1.4. Composición química

La composición química del aceite de oliva varía en función de diversos

factores como: variedad de olivo, grado de maduración, condiciones agronómicas y

características tecnológicas de producción (Lozano et al, 2010).

6

Desde el punto de vista bromatológico, la composición química se divide en dos fracciones, la fracción mayoritaria y la fracción minoritaria (Lozano et al, 2010).

La fracción mayoritaria se conoce como fracción saponificable, representa el 98% del peso total del aceite, está constituida principalmente por triglicéridos, componente principal del aceite de oliva, y en menor proporción por diglicéridos, monoglicéridos y ácidos grasos libres (Lozano et al, 2010).

Los principales triglicéridos que componen el aceite de oliva son OOO y POO, que representan el 62 y 30% del total de triglicéricos contenidos en el aceite, respectivamente (Lozano et al, 2010). Ver tabla 1.

Tabla 1. Composición en triglicéridos.

Triglicéridos	%
000	61,96
POO	29,35
OOL	4,05
SOO	1,82
POL	1,17
PPO/PLS	1,02
PLL/POLn	0,20
POS	0,16
OLL/OOLn	0,14
PPL/PSLn	0,05
LLL	0,01
PPPo	0,01

L: linoleico, O: oleico, Ln: linolénico, P: palmítico, S: esteárico y Po: palmitoleico. Fuente: Lozano et al, 2010.

Tabla 2. Composición porcentual de ácidos grasos en el aceite de oliva.

Ácido Graso	Nomenclatura	Aceite Oliva (%)
Mirístico	C14:0	0,2
Palmítico	C16:0	7,5-20,0
Palmitoleico	C16:1	0,3-3,5
Margárico	C17:0	0,3
Margaroleico	C17:1	0,3
Esteárico	C18:0	0,5-5,0
Oleico	C18:1	55,0-83,0
Linoleico	C18:2	3,5-21,0
Araquídico	C20:0	0,9
Linolénico	C18:3	0,6
Eicosenoico	C20:1	0,4
Behenico	C22:0	0,2
Lignocérico	C24:0	0,2

Fuente: Lozano et al, 2010.

El aceite de oliva virgen es especialmente rico en ácido oleico, con porcentajes que pueden variar entre 55 y 83%, le siguen en contenido el ácido palmítico cuyo rango varía de 7,5 a 20% y linoleico con una participación de un 3,5 a 21% (Ver tabla 2). Asimismo, contiene ácido linoleico y linolénico, éste último en muy pequeña proporción (Humanes, 1995).

La fracción minoritaria, denominada fracción insaponificable, equivale aproximadamente al 2% del peso total del aceite e incluye más de 230 compuestos químicos, se compone por hidrocarburos, alcoholes triterpénicos y alifáticos, esteroles, pigmentos, tocoferoles, compuestos fenólicos, sustancias volátiles, entre otros (Loyola et al, 2008).

Entre los hidrocarburos encontrados en el aceite de oliva destacan el escualeno y  $\beta$ -caroteno. El escualeno tiene carácter antioxidante y es precursor bioquímico de los esteroles, representa hasta el 90% de los hidrocarburos presentes en el aceite de oliva. El  $\beta$ -caroteno, precursor de la vitamina A, también presenta carácter antioxidante y está presente en una concentración que varía entre 0,3 y 4,7 mg/kg de aceite (Gil y Ruiz, 2010).

Los alcoholes triterpénicos presentes en el aceite de oliva se encuentran libres o esterificados con ácidos grasos, entre ellos destaca el eritrodiol y uvaol, comúnmente utilizados como parámetro de identidad en fraudes de mezclas con aceite de orujo (Lozano et al, 2010).

Los esteroles comprenden un amplio grupo de compuestos que presentan una estructura molecular análoga, que deriva del ciclopentanoperhidrofenantreno y que caracterizan a cada tipo de grasa o aceite. Los principales esteroles del aceite de oliva son el β-sitosterol y campesterol (Lozano et al, 2010).

Los tocoferoles juegan en los aceites una importante función como vitamina E y estabilizadores frente a la oxidación, siendo compuestos de gran importancia biológica. La forma mayoritaria es el α-tocoferol, representado entre el 90 y 95% de los

tocoferoles totales, la forma  $\gamma$ -tocoferol se encuentra por debajo de del 10%, mientras que las formas  $\beta$ -tocoferol y  $\delta$ -tocoferol se encuentran en cantidades trazas. El  $\alpha$ -tocoferol es el más activo biológicamente por su acción como vitamina E, mientras que el  $\gamma$ -tocoferol es más activo en su actividad antioxidante (Humanes, 1995).

La fracción fenólica del aceite de oliva consiste en una mezcla heterogénea de componentes, presentes en el mesocarpio de la aceituna, y que no están en ningún otro aceite vegetal (Lozano et al, 2010). De estos componentes cabe destacar el tirosol y el hidroxitirosol, el ácido cafeico, la oleoeuropeína y la luteolina, entre otros. Estos compuestos han sido identificados como los principales responsables de las propiedades antioxidantes de aceite de oliva virgen extra (Gil y Ruiz, 2010).

El color del aceite de oliva va desde verde oscuro a claro al dorado o amarillo. Los principales pigmentos del aceite de oliva son la clorofila, responsable del color verde, y los carotenoides, responsables del color amarillo. El contenido de estos pigmentos varía por influencia de distintos factores, como maduración del fruto y procesos de elaboración (Lozano et al, 2010).

#### 1.5. Análisis de mercado del aceite de oliva en Chile y el mundo.

#### 1.5.1. Mercado internacional

La superficie plantada con olivos es de más de 8 millones de hectáreas en el mundo, dicha plantación y la producción de aceite de oliva se concentra en la cuenca del Mediterráneo (ODEPA, 2012).

Como se observa en la tabla 3, la producción mundial de aceite de oliva es liderada por España, que representa más del 45%, seguida por Italia y Grecia, que alcanzan un 14,5 y 10%, respectivamente, en conjunto producen poco más de 2 millones de toneladas, cifra que representa aproximadamente el 70% de la producción mundial (ODEPA, 2012).

Tabla 3. Producción mundial de aceite de oliva en las temporadas 2009/10, 2010/11 y 2011/12 (toneladas).

Defe	2009	9/10 <sup>a</sup>	2010	)/11 <sup>b</sup>	2011	/12 <sup>c</sup>
País	Toneladas	%	Toneladas	%	Toneladas	%
España	1.401.500	47,13	1.389.600	45,79	1.347.400	43,19
Italia	430.000	14,46	440.000	14,50	440.000	14,10
Grecia	320.000	10,76	300.000	9,89	310.000	9,94
Portugal	62.500	2,10	62.900	2,07	71.800	2,30
Francia	5.700	0,19	5.600	0,18	5.200	0,17
Chipre	4.200	0,14	6.500	0,21	5.600	0,18
Eslovenia	700	0,02	700	0,02	700	0,02
Subtotal UE-27	2.224.600	74,81	2.205.300	72,67	2.180.700	69,89
Túnez	150.000	5,04	120.000	3,95	150.000	4,81
Siria	150.000	5,04	180.000	5,93	200.000	6,41
Turquía	147.000	4,94	160.000	5,27	180.000	5,77
Marruecos	140.000	4,71	130.000	4,28	120.000	3,85
Argelia	26.500	0,89	50.000	1,65	54.500	1,75
Argentina	17.000	0,57	16.000	0,53	15.000	0,48
Jordania	17.000	0,57	21.000	0,69	22.000	0,71
Libia	15.000	0,50	15.000	0,49	15.000	0,48
Chile	12.000	0,40	16.000	0,53	22.000	0,71
El Líbano	9.000	0,30	14.000	0,46	18.000	0,58
Albania	5.000	0,17	8.000	0,26	7.000	0,22
Croacia	5.000	0,17	5.000	0,16	5.000	0,16
Irán	4.000	0,13	2.500	0,08	6.000	0,19
Israel	3.500	0,12	9.500	0,31	7.500	0,24
Egipto	3.000	0,10	3.000	0,10	10.000	0,32
Montenegro	500	0,02	500	0,02	500	0,02
Otros	44.400	1,49	62.700	2,07	84.800	2,72
Subtotal sin Chile	736.900	24,78	813.200	26,80	917.300	29,40
Total	2.973.500	100,00	3.034.500	100,00	3.120.000	100,00

<sup>a</sup>Cifras finales, <sup>b</sup>cifras provisorias, <sup>c</sup>cifras estimadas.
Fuente: elaborado por Odepa con cifras del Consejo Oleícola Internacional (COI) de noviembre de 2011

#### 1.5.2. Mercado nacional

El cultivo del olivo en Chile se extiende desde la Región de Arica y Parinacota hasta la Región del Bío Bío. Desde el año 2003, la superficie plantada ha tenido una fuerte expansión, principalmente las variedades para la producción de aceite (ODEPA, 2012).

El significativo crecimiento que ha experimentado la producción de aceite de oliva se debe principalmente a tres grandes ventajas que presenta Chile: sus diversos microclimas, barreras fitosanitarias y altos estándares tecnológicos.

Los diversos microclimas existentes en Chile han permitido la adaptación de diferentes variedades de olivos. Existe un grupo de microclimas que presentan condiciones de temperatura y humedad semejantes a las de la cuenca del Mediterráneo, marcados por lluvia en invierno y sol en verano, entregando el agua necesaria para el desarrollo de la planta e impidiendo que las precipitaciones afecten la maduración de la fruta (ChileOliva, 2012).

Chile se encuentra protegido por barreras fitosanitarias naturales (montañas, ríos y mar), que alejan plagas y enfermedades que afectan la producción del olivo, por lo que el aceite chileno es producido bajo una mínima carga de agroquímicos, siendo uno de los pocos países que puede asegurar estar libre de la mosca del olivo (ChileOliva, 2012).

La industria olivícola chilena maneja las plantaciones a través de riego tecnificado, lo que permite aumentar los rendimientos casi al doble de los países europeos (12 a 13 toneladas por hectárea frente a 6,5 toneladas obtenidas en Europa), ya que permite aprovechar al máximo el terreno y las plantas, y por ende aumentar la eficiencia del negocio (ChileOliva, 2012).

En el año 2011 la superficie plantada con olivos para la extracción de aceite en Chile alcanzó las 25.000 hectáreas, proyectándose para el año 2015 que la superficie de olivos plantada alcance las 29.000 hectáreas y 33.000 hectáreas en el año 2020 (ChileOliva, 2012). Ver figura 1.

A nivel regional, la Región del Maule posee un 22% del total de la superficie plantada en el país con olivos para aceite, seguida de la Región de Atacama con un 21%, luego la Región del Libertador Bernardo O'Higgins y la Región de Coquimbo, con un 15 y 12% respectivamente (PROCHILE, 2010).

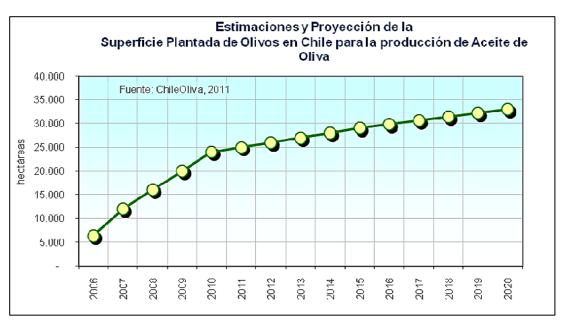


Figura 1. Estimaciones y proyección de la superficie plantada de olivos en Chile.

La zona centro sur del país es la que predomina en la producción nacional. Existen alrededor 36 plantas de proceso a lo largo del país, con más de 50 empresas productoras, distribuidas entre la Región de Atacama y la Región del Maulé (ODEPA, 2010).

En el año 2010 la producción de aceite de oliva en Chile alcanzó 12.000 toneladas (0,3% de la producción mundial). En 2011 la producción alcanzó alrededor de 19.000 toneladas, lo que refleja un aumento de 58% respecto al año anterior y un significativo crecimiento de 3.176% desde el año 2001 (ODEPA, 2012). Ver figura 2.

El consumo nacional de aceite de oliva, al igual que su producción, ha aumentado aceleradamente en los últimos años y se espera que lo haga aún más, debido principalmente a la promoción de sus características nutritivas y sensoriales, las que son cada día más difundidas entre la población (ODEPA, 2012). Ver figura 2.

El consumo per cápita en Chile alcanzó 568 gramos en 2010, ha llegado a 756 gramos (equivalente a 824 mL) en el año 2011 y se espera que llegue a 900 gramos

por habitante en 2013. En el período 2001-2011 se registra un incremento de 400% en la cantidad de aceite de oliva consumido (ODEPA, 2012).

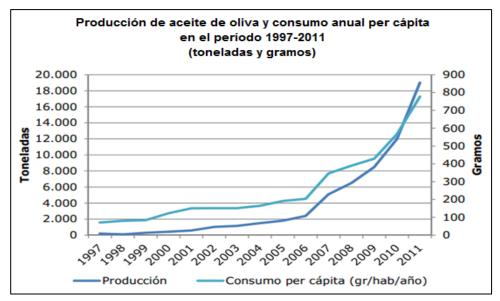


Figura 2. Producción de aceite de oliva y consumo anual per cápita en el período 1997-2011 Fuente: ODEPA, 2012.

Las exportaciones de aceite de oliva han aumentado significativamente los últimos años. En el período 2001-2011, las exportaciones han aumentado más de 2.000 veces, pasando de 4 toneladas en el año 2000 a más de 3.000 toneladas en 2010 y 6.650 toneladas en 2011 (ODEPA, 2012). Ver figura 3.

Estados Unidos, Italia, España, Brasil, Canadá, Colombia y México son los principales mercados de destino de las exportaciones de aceite de oliva del país (ODEPA, 2012).

Por otro lado, en los últimos años las importaciones de aceite de oliva han ido decreciendo a medida que ha aumentado la producción nacional. Ver figura 3. En el período 2001-2011 las importaciones han disminuido aproximadamente en un 30%, lo que se traduce en alrededor de 600 toneladas menos de aceite de oliva que las importadas en 2001 (ODEPA, 2012).

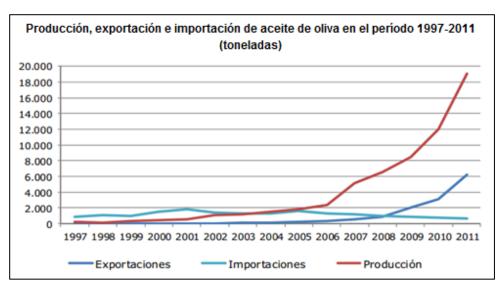


Figura 3. Producción, exportación e importación de aceite de oliva en el período 1997-2011. Fuente: ODEPA, 2012.

#### 1.6. Variedades de olivo en Chile

En el mundo existen alrededor de 1300 variedades de olivo. En Chile sólo se cultivan unas 12 variedades, éstas son: 'Arbequina', 'Arbusana', 'Coratina', 'Empeltre', 'Frantoio', 'Koroneiki', 'Leccino', y 'Picual', para la producción de aceite, y 'Kalamata', 'Manzanilla Chilena', 'Sevillana' y 'Manzanilla de Sevilla', para la producción de aceitunas de mesa (ChileOliva, 2012).

El proyecto INNOVA-CORFO 11BPC-10039 pretende levantar y procesar información de las variedades procedentes del Banco de Germoplasma de olivos del Centro Experimental Huasco del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), para posteriormente difundir aquellas variedades que provean las mejores características en composición química y aportes de componentes bioactivos para mejorar la oferta exportable de la industria olivícola nacional.

Tabla 4. Variedades del Banco de Germoplasma de olivos del Centro Experimental Huasco de INIA.

	Variedades del Banco de Germoplaama
1	Arbequina
2	Arbequina I-18
3	Arbusana
4	Barnea
5	Biancolilla
6	Bossana
7	Carrasqueña
8	Cerignola
9	Coratina
10	Empeltre
11	Frantoio
12	Grappolo Limarí
13	Itrana
14	Kalamata
15	Koroneiki
16	Leccino
17	Liguria
18	Manzanilla Chilena
19	Manzanilla de Sevilla
20	Naboli
21	Nocellara del Belice
22	Nociara
23	Picholine
24	Picual
25	Picuda
26	Sevillana

## 1.7. Características sobresalientes de nueve variedades de olivo cultivadas en el Banco de Germoplasma de olivos del Centro Experimental Huasco.

#### 1.7.1. 'Biancolilla'

De origen italiano, la variedad 'Biancolilla' se cultiva principalmente en el centro y oriente de Sicilia. Su productividad es media y su rendimiento graso es bajo. Se destina principalmente a aceite, el cual se caracteriza por su color claro. Esta variedad es tolerante al frío y resistente al repilo, sin embargo presenta susceptibilidad frente a la mosca del olivo (principal plaga del olivo, que provoca pérdida de peso y rendimiento, por la pulpa que se come la larva) y la tuberculosis (Sovena Group, 2012 y Viveros Provedo, 2010).

#### 1.7.2. 'Carrasqueña'

De origen español, esta variedad se cultiva en toda la zona centro y medio del valle del Ebro hasta Rioja. Su productividad es alta y el rendimiento graso medio-alto. Se destina a la producción de aceite y aceituna de mesa. Es resistente a sequía y medianamente resistente a repilo y a la mosca del olivo, pero susceptible a tuberculosis (producida por la bacteria Pseudomosnas savastonoi que penetra en el olivo a través de heridas, alterando el metabolismo celular provocando desajustes hormonales que desencadenan en una proliferación de células tumorales) (Viveros Provedo, 2010).

#### 1.7.3. 'Empeltre'

La variedad 'Empeltre' tiene su origen en España, su cultivo se extiende desde las provincias de Logroño y Teruel por el valle del Ebro hasta la provincia de Tarragona. Es muy apreciada por su productividad y por la excelente calidad y rendimiento de aceite. Para mesa es muy apreciada por su color negro natural. Su aceite es de color amarillo pálido en la mayoría de los casos, con olor afrutado apagado, su sabor es un tanto dulce y nunca presentan amargor ni picor, suelen dejar un sabor remanente a almendra. Empeltre es una variedad rústica, susceptible a las heladas invernales y sensible a repilo (enfermedad más grave de los olivos, causada por el hongo Spilocaea oleagina, se caracteriza por la aparición en el haz de la hoja de unas manchas circulares de tamaño y coloración variable a medida que transcurre el tiempo), tuberculosis y mosca del olivo (Asoliva, 2012, Sovena Group, 2012 y Viveros Provedo, 2010).

#### 1.7.4. 'Itrana'

De origen italiano, se cultiva en Lazio. 'Itrana' es una variedad rústica caracterizada por su rápido crecimiento y capacidad de enraizamiento elevada. Su productividad es elevada y alternante, con un rendimiento graso medio. Se destina principalmente a la preparación de aceitunas negras, con fácil separación pulpa-hueso

y para aceite. Es particularmente tolerante al frío y a las principales enfermedades criptogámicas (enfermedades causadas por un hongo u otro organismo filamentoso parásito), y susceptible a los ataques de la mosca del olivo (Sovena Group, 2012 y Viveros Provedo, 2010).

#### 1.7.5. 'Kalamata'

También conocida como 'Kalamón', es de origen griego y se cultiva principalmente en Messinia, Lakonia y Lamia. Es una variedad vigorosa de doble aptitud que no tolera el frío invernal. El rendimiento en aceite es medio y el producto es de excelente calidad, es muy apreciada para aderezo en negro al estilo "griego". Es medianamente susceptible a repilo y resistente a la tuberculosis y mosca del olivo (Barranco, 2008 y Viveros Provedo, 2010).

#### 1.7.6. 'Koroneiki'

Variedad proveniente de Grecia, representa cerca del 60% de la superficie oleícola de ese país, se cultiva principalmente en Regiones del Peloponeso, Creta y Egeo entre otras. Recientemente se ha extendido por España y resto del mundo. Se considera resistente a la sequía, pero susceptible al frío. Su producción es elevada y constante. Los frutos son de tamaño muy pequeño, 1,1 g aproximadamente, y presentan un elevado contenido en aceite que además es muy apreciado por sus características organolépticas, estabilidad y alto contenido en oleico. Es resistente a repilo y susceptible a tuberculosis (Barranco, 2008 y ChileOliva, 2012).

#### 1.7.7. 'Leccino'

'Leccino' es una variedad proveniente de Italia, se cultiva principalmente en Toscana y Umbría encontrándose actualmente difundida por todo el mundo. Es una variedad vigorosa, considerada rústica por su adaptación a diferentes condiciones de suelo y por su especial tolerancia al frío. Sus frutos de tamaño medio tienen una época de maduración muy precoz y presentan una baja resistencia al desprendimiento que

facilita su recogida. La productividad es elevada y constante y presenta un bajo contenido en aceite. Su aceite es bastante amargo y tiene un sabor muy verde. Se considera tolerante a repilo y tuberculosis (Barranco, 2008 y ChileOliva, 2012).

#### 1.7.8. 'Liguria'

Variedad de origen italiano que se encuentra en Chile, Argentina y Estados Unidos. Su producción se destina principalmente a la producción de aceite. Es de producción media (12 a 14 ton/ha) y su rendimiento graso es alto, aproximadamente 26%. Es moderadamente susceptible a ataques de repilo (INIA, 2001).

#### 1.7.9. 'Manzanilla Chilena'

La 'Manzanilla Chilena' se distribuye principalmente en Copiapó, Huasco y Limarí. Su productividad es media y de igual forma su contenido graso. Es una variedad medianamente rústica, sensible a salinidad y sequía. Es susceptible al exceso de humedad (INIA, 2001).

#### 2. HIPÓTESIS

La identificación y cuantificación de la composición química y de los componentes bioactivos de las nueve variedades de aceites de oliva virgen extra en estudio, permite mostrar sus características sobresalientes de calidad y mejorar la oferta exportable de la industria olivícola nacional.

#### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo General

Levantar y procesar información de nueve variedades de olivo con potencial económico procedentes del Banco de Germoplasma de Olivos del Centro Experimental Huasco, para el mejoramiento de la oferta exportable de la industria olivícola Nacional.

#### 3.2. Objetivos Específicos

- **3.2.1.** Determinar la calidad de los aceites de oliva extra virgen monovarietales procedentes de nueve variedades del Banco de Germoplasma de Olivos del Centro Experimental Huasco.
- 3.2.2. Identificar y cuantificar la composición química y los componentes bioactivos de los aceites de oliva extra virgen monovarietales procedentes de nueve variedades del Banco de Germoplasma de Olivos del Centro Experimental Huasco.

#### 4. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 4.1. Materiales

#### 4.1.1. Materiales de Laboratorio

- Matraz de 10ml, 50ml, 100ml y matraz ámbar de 10ml.
- Probetas de 10ml, 100ml y 500ml.
- Bureta 50 ml graduada de 0 a 1 ml.
- Matraz erlenmeyer de 100 ml.
- Balón de 500ml.
- Tubos roscados de 5ml.
- Pipetas graduadas de 1ml, 2 ml, 5ml y 10ml.
- Micropipetas 200 μL, 1000 μL y 5ml, y microjeringa de 1 y 10 μL.
- Vasos precipitados de 5ml, 50ml y 100ml.
- Embudos de decantación de 500ml.
- Placas de cromatografía 20x20 cm.
- Matraz de corazón de 50 ml.
- Columna extracción diol SepPak Vac Diol 3cc (500mg).
- Cubeta cuarzo 1cm espesor.
- Pipetas Pasteur.

#### 4.1.2. Reactivos

- Metanol para análisis (Merck)
- Heptano para análisis (Merck).
- Hexano para cromatografía (Merck).
- Acetona para análisis (Merck).
- Agua para cromatografía y nanopure (Merck).
- Hidróxido de potasio (Merck).
- Isooctano para espectrofotometría (Merck).

- Sulfato de sodio anhidro (Merck).
- loduro de potasio (Merck).
- Solución ácido acético glacial: cloroformo (3:2).
- Solución NaOH 0,1 N.
- Propanol HPLC (Merck).
- Éter etílico y cloroformo para análisis (Merck).
- Estándar esteroles: 5α- colestan- 3β 0,2%.
- 2,7 Diclorofluoresceína (Merck).
- NaCl, KCl, NaOH, KOH (Merck).
- Dihidrogeno fosfato de sodio y potasio (Merck).
- Acetonitrilo para análisis (Merck).
- Acetato de etilo para análisis (Merck).
- Ácido ortofosfórico 97% pureza para análisis (Merck).
- Kit tocoferol α-β-γ-δ (Calbiochem) y kit fenoles (Sigma)

#### **4.1.3.** Equipos

- Baño ultrasónico FS30H Fisher Scientific.
- Cámara de vacío, Supelco.
- Bomba vacio modelo C55JXHRL4205, Emerson.
- Cromatógrafo de gases Hewlett Packard 5890 Serie II, columna Stabilwax-DB (0,25µm, 0,32 mm x 50m).
- Cromatógrafo de gases HP-5890 hewlett Packard model 5890, columna HP-30 (0,25 µm x 0,32 mm x 30 m)
- Agitador Vortex tubos Cenco-Instrument MIJ.B.V y Centrifuga Sorvall
- Espectofotómetro UV/Vis UV3, Unicam.
- Cromatógrafo liquida de alta resolución equipado con bomba Merck-Hitachi L-6200 con detector de fluorescencia Merck-Hitachi F-1050, columna LiChrocart Superspher Si-60 (5µm, 4,0 mm x 250 mm).

- Cromatógrafo liquida de alta resolución Waters equipado con bomba binaria 1525, detector arreglo de diodos 2998, horno 5CH autosampler 2707, columna Spherisorb ODS2 (5µm x 4,6 mm x 250 mm).
- HPLC Agilent 1200 acoplado al espectrómetro de masas de tipo electrospraytriple cuadrupolo API 3200.

#### 4.2. Metodología

Se determinaron los parámetros de calidad, composición química y componentes bioactivos de nueve variedades de aceite de oliva virgen extra, extraídos de olivos cultivados en el Banco de Germoplasma de Olivos del Centro Experimental Huasco, ubicado en el Valle del Huasco en la Región de Atacama.

Las variedades estudiadas fueron: 'Biancolilla', 'Carrasqueña', 'Empeltre', 'Itrana', 'Kalamata', 'Koroneiki', 'Leccino', 'Liguria' y 'Manzanilla Chilena.'

#### 4.2.1. Muestreo

El muestreo de las nueve variedades se realizó durante la temporada de cosecha de 2012 en el Banco de Germoplasma.

El Banco de Germoplasma posee 5 ejemplares por variedad, distribuidos completamente al azar, de los cuales se marcaron 3 árboles, cada árbol correspondiente a una unidad experimental. Se recolectaron mecánicamente con Olivium, 10 kg de aceitunas, de la zona media del árbol, con un estado de madurez entre 3 y 4, según índice de madurez definido por Hermoso et al, 2000 (Ver anexo 1).

#### 4.2.2. Extracción de los aceites

Los aceites de oliva de cada muestreo y por variedad fueron extraídos en el laboratorio de INIA en Vallenar con una máquina extractora de aceite modelo Frantoino, aplicando un proceso estandarizado. El sistema Frantoino reproduce el

proceso de trabajo de una almazara industrial de aceitunas a pequeña escala, conservando las características químicas y organolépticas del aceite extraído. Las muestras de aceitunas se trituraron en un molino de martillos obteniéndose una pasta que fue homogeneizada inmediatamente en una termobatidora, y posteriormente centrifugada a 3000-4000 r.p.m., para la obtención del aceite.

Se procesaron 10 kg de aceituna para cada variedad, utilizando parámetros estandarizados de extracción.

Los análisis se realizaron entre junio de 2012 y marzo de 2013 en el laboratorio de Química y Análisis de Alimentos y en el laboratorio CEPEDEQ, ambos de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile, ubicada en la ciudad de Santiago.

Los siguientes análisis se realizaron a las 3 muestras recibidas, de cada variedad, en duplicado:

#### 4.2.3. Determinación de acidez libre

La acidez libre es la medida de la cantidad de ácidos grasos libres presentes en una grasa alimentaria. Se determinó según el método convencional Cd 3d-63, que consiste en la disolución de la muestra en una mezcla de disolventes y valoración de los ácidos grasos libres con solución de hidróxido de sodio (AOCS, 1993). El resultado se expresa como porcentaje de ácido oleico según la siguiente ecuación:

% Acidez = 
$$\frac{V_{NaOH} * N_{NaOH} * 28,2}{P}$$

Donde::

V<sub>NaOh</sub> = Volumen (mL) gastados hasta lograr neutralización

N<sub>Naoh</sub> = Normalidad de la solución NaOH utilizada

P = Peso de muestra (g)

#### 4.2.4. Determinación de índice de peróxidos

El índice de peróxidos se determinó por valoración con solución de tiosulfato de sodio 0,01N, según condiciones descritas por el método CD 8b-90 (AOCS, 1993). Este método determina los peróxidos, expresados en términos de mEq de oxígeno por cada 1000 g de muestra, que producen la oxidación del yoduro de potasio (KI) bajo las condiciones de realización del método. El resultado se obtuvo según la siguiente fórmula:

índice de Peróxidos = 
$$\frac{(V_1 - V_0) (N) (1000)}{P}$$

Donde:

V<sub>0</sub> = ml de Tiosulfato de sodio usado para el blanco

V<sub>1</sub> = ml de Tiosulfato de sodio usado en la muestra

N = Normalidad del Tiosulfato de sodio

P = Peso de la muestra (g)

#### 4.2.5. Determinación de la extinción específica por absorción ultra-violeta

La extinción específica, expresada convencionalmente como K (coeficiente de extinción), se determinó a partir de los valores de absorción a distintas longitudes de onda (232, 266, 270 y 274 nm), según el método Ch 5-91, descrito por la AOCS (AOCS, 1993). Se empleó un espectofotómetro UV/Vis UV3, UNICAMP y las Extinciones Específicas se determinaron según la siguiente fórmula:

$$E_{1cm}^{1\%} = K_{\lambda} = \frac{A_{\lambda}}{c \times 1}$$

Donde:

 $K\lambda$  = extinción específica a la longitud de onda  $\lambda$  (232, 270nm)

Aλ = absorbancia medida a la longitud de onda λ

c = concentración de la solución expresada en g/100 ml

Además, utilizando el mismo procedimiento se determinó el coeficiente K para 266 y 274nm de longitud de onda, con el fin de definir ΔK, mediante el cálculo:

$$\Delta$$
K: K270 - ½ (K266 + K274)

# 4.2.6. Caracterización del perfil de ácidos grasos

La caracterización del perfil de ácidos grasos se determinó por cromatografía de gases mediante el método Ce 2-66 descrito por la AOCS (AOCS, 1993).

Los ésteres metílicos fueron preparados según la Norma COI/T.20/Doc.nº24 de 2001, por transesterificación en frío con una solución metanólica de hidróxido potásico (COI, 2001).

Se utilizó un GC Hewlett Packard 5890 Serie II, columna Stabilwax-DB (0,25µm, 0,32 mm x 50m) adosado a un computador con el software Clarity, para la transducción de señal del detector y procesamiento de datos. Las condiciones de temperatura fueron las siguientes: To del inyector y detector FID 220°C To horno inicial 160°C, 2 min., rampa 2°C/min., To final 220°C.

Los ácidos grasos se identifican según los tiempos de retención y comparación con estándares de ácidos grasos y la norma COI (Anexo 2). Los ácidos grasos se expresan como % de esteres metílicos.

## 4.2.7. Determinación de la composición de los compuestos fenólicos

La composición de los compuestos fenólicos se realizó por el método de Mateos y cols. (Mateos et al, 2001). La fracción polar del aceite se aísla por extracción en fase sólida con columna Sep-Pak diol Waters. La separación de los compuestos se realizó por cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa, empleando un HPLC Waters equipado con bomba binaria 1525, detector arreglo de diodos 2998, horno 5CH y autosampler 2707, con columna Spherisorb ODS2 (5µm, 250 mm x 4,6

mm) y conectado al software cromatográfico Empower Single System. Los compuestos fenólicos se identificaron empleando estándares Sigma por comparación de tiempos de retención y espectros UV. Además para aquellos compuestos en que no se disponía de estándares, se compararon tiempos de retención y espectros UV con datos de literatura. La identificación de los compuestos secoiridoides se realizó con información proporcionada por muestras identificadas por HPLC-MS-MS en el Laboratorio de Farmacología Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile (Ortuzar, 2013). Los cromatogramas fueron extraídos a 235, 280 y 335 nm. El análisis por HPLC, se realizó a 20 µL de muestra y/o estándar, a una temperatura de 20°C y utilizando como fase móvil A: ácido fosfórico 0,5%V/V y B: metanol/acetonitrilo 50/50% V/V, en modo gradiente, a un flujo 1 ml/min.

La concentración de cada fenol se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$Fenol\left(\frac{mg}{Kg}\right) = \frac{100 * P(PI) * \acute{A}rea(fenol) * Factor(fenol)}{\acute{A}rea(PI) * P(muestra)}$$

Siendo:

P (PI): peso (mg) del patrón; ácido p-hidroxifenilacético (phpa) para □=280 nm y ácido o-cumárico para □=335 nm

Área (fenol): área del fenol en cromatograma

Factor (fenol): factor de respuesta del fenol en relación al estándar interno

Área (PI): área del patrón interno en el cromatograma

P (muestra): peso de la muestra en gramos

# 4.2.8. Determinación de la composición y el contenido en esteroles

Se determinó según la norma COI/ T.20/ Doc. nº 10/Rev. 1, mediante extracción del insaponificable con éter etílico y una separación de la fracción por cromatografía de placas de gel de sílice básica. Los esteroles recuperados en el gel (por detección con luz UV), se derivatizan con mezcla de piridina:clorotrimetilsilano:hexametildisilano (9:1:3) y analizan por GC. Se utilizó un GC

Hewlett Packard modelo 5890, columna HP (30 m x 0,32 mm x 0,25 um), en condiciones de temperatura del inyector y detector de 320°C y temperatura del horno de 260°C. Los esteroles fueron identificados según los tiempos de retención de los compuestos y su comparación con estándares Sigma (Anexo 3). La cuantificación se realizó de acuerdo a la fórmula:

Esterol (mg/kg) = (Ax \* Ms \* 1000)/(As \* m)

En donde:

Ax = área del pico de esterol X en milivolts cuadrados

As = área del pico de α-colestanol en milivolts cuadrados

Ms = peso de α-colestanol añadidos, en miligramos

M = peso de muestra para determinación, en gramos

Considerando el área total de esteroles (suma de área), se calcula el porcentaje de presencia, de cada esterol, en el aceite de oliva.

Para calcular el porcentaje de Eritrodiol en el aceite de oliva se deben tomar los pics de Eritrodiol y Uvaol, y se aplica la siguiente fórmula:

Eritrodiol + uvaol % = 
$$\underline{(A1 + A2)*100}$$
  
A1 + A2 + A<sub>total</sub>

Donde:

A1 = área del pico del eritrodiol

A2 = área del pico del uvaol

Atotal: suma de las áreas de los esteroles presentes.

#### 4.2.9. Determinación de tocoferoles

Se determinó por el método Ce 8-89 descrito en la AOCS para aceites y grasas (AOCS, 1993), mediante análisis en cromatografía liquida de alta resolución. Se

utilizó un HPLC, compuesto por bomba Merck–Hitachi L-6200 con detector de fluorescencia Merck-Hitachi F-1050, acoplado a un computador con software Clarity y columna LiChrocart Superspher Si-60 (5  $\mu$ m, 4,0 mm x 250 mm), con fase móvil 2-Propanol en hexano (0,5:99,5), flujo 1ml/min. Para la identificación se utilizó un estándar de mezcla  $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ - $\delta$ -tocoferol Calbiochem (Anexo 4). Para la cuantificación de tocoferoles, se aplica la fórmula:

Tocoferol (mg/kg) =  $(a \times C \times V) / (A \times P)$ 

En donde:

a= Área del pico del tocoferol en la muestra

C= concentración del tocoferol en el estándar (µg/ml)

V= Volumen del matraz aforado (ml)

A= Área del pico del tocoferol en el estándar

P= Peso de la muestra (g)

# 4.2.10. Tratamiento estadístico de los datos químicos

Los datos de la composición química y de los componentes bioactivos obtenidos de los aceites de oliva virgen extra del Banco de Germoplasma fueron tratados estadísticamente, las diferencias entre los distintos aceites fueron analizadas mediante análisis de varianza (ANOVA) e intervalos de comparación múltiple de Fisher (LSD) al 95% de confianza (p<0,05) para establecer entre que variedades existen diferencias significativas. Se utilizó el software: Statgraphics Centurion 16.

## 5. Resultados y Discusiones

#### 5.1. Determinación de Parámetros de Calidad

Se determinaron los parámetros de calidad de nueve variedades de aceite de oliva virgen extra, obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla 5: Parámetros de calidad de los aceites de oliva virgen extra en estudio.

Variedad	Acidez Libre (% ácido oleico)	Índice de Peróxidos (mEq O <sub>2</sub> /kg aceite)	K <sub>270</sub>	ΔΚ	K <sub>232</sub>
Biancolilla	0,19±0,02 <sup>b</sup>	4,60±0,49 <sup>d</sup>	0,147±0,021 <sup>bc</sup>	0,008±0,002 <sup>c</sup>	0,626±0,058 <sup>abc</sup>
Carrasqueña	0,12±0,00 <sup>a</sup>	2,50±0,30 <sup>a</sup>	0,118±0,021 <sup>a</sup>	0,004±0,000 <sup>b</sup>	0,485±0,098 <sup>a</sup>
Empeltre	0,11±0,01 <sup>a</sup>	3,40±0,74 <sup>b</sup>	0,130±0,010 <sup>ab</sup>	0,003±0,000 <sup>b</sup>	0,511±0,205 <sup>ab</sup>
Itrana	0,09±0,01 <sup>a</sup>	3,60±0,15 <sup>b</sup>	0,164±0,010 <sup>cd</sup>	0,003±0,002 <sup>b</sup>	0,645±0,024 <sup>bcd</sup>
Kalamata	0,15±0,01 <sup>b</sup>	4,60±0,17 <sup>d</sup>	0,172±0,015 <sup>de</sup>	0,001±0,001 <sup>a</sup>	0,787±0,006 <sup>d</sup>
Koroneiki	0,21±0,06 <sup>b</sup>	3,60±0,21 <sup>b</sup>	0,182±0,015 <sup>e</sup>	0,009±0,003 <sup>c</sup>	0,718±0,049 <sup>cd</sup>
Leccino	0,08±0,01 <sup>a</sup>	3,37±0,17 <sup>b</sup>	0,156±0,006 <sup>cd</sup>	0,003±0,001 <sup>b</sup>	0,619±0,034 <sup>abc</sup>
Liguria	0,22±0,01 <sup>b</sup>	4,06±0,26 <sup>c</sup>	0,176±0,006 <sup>de</sup>	0,004±0,002 <sup>b</sup>	0,684±0,054 <sup>cd</sup>
Manzanilla Chilena	0,12±0,01 <sup>a</sup>	3,42±0,18 <sup>b</sup>	0,166±0,006 <sup>cde</sup>	0,002±0,001 <sup>ab</sup>	0,646±0,030 <sup>bcd</sup>

Promedio n=6. Letras distintas representan diferencias significativas (p≤0,05) entre variedades.

Todos los aceites de oliva en estudio presentaron parámetros de calidad de acuerdo con la clasificación de aceite de oliva virgen extra según el Consejo Oleícola Internacional, que establece una acidez libre menor o igual a 0,8% de ácido oleico, índice de peróxidos menor o igual a 20 mEq. de oxígeno por kg de aceite y valores máximos de 0,22, 0,01 y 2,50 para el coeficiente de extinción  $K_{270}$ ,  $\Delta K$  y  $K_{232}$  respectivamente (COI, 2010). Ver anexo 5.

#### 5.1.1. Determinación de acidez libre

Los aceites de oliva virgen extra analizados presentaron valores de acidez libre entre 0,08 y 0,22 % de ácido oleico.

Tomando en cuenta los bajos niveles de acidez libre obtenidos se puede decir que se utilizó una apropiada tecnología de cultivo, la cual implica buena condición del fruto al momento de su cosecha y buen estado de madurez (entre 3 y 4, según índice de madurez definido por Hermoso et al, 2000), no se presentaron problemas sanitarios, hubo un adecuado sistema de cosecha y un buen proceso de extracción de aceite (Troncoso et al, 2006).

Un índice de acidez muy bajo corresponde con un aceite de alta calidad, valores próximos a 0,1 indican un perfecto estado de la aceituna y una manipulación correcta de los frutos (Jiménez y Carpio, 2002).

Las variedades Leccino e Itrana presentaron los valores más bajos para este parámetro, 0,08 y 0,09 % de ácido oleico, respectivamente, mientras que Liguria y Koroneiki presentaron los valores más altos, 0,22 y 0,21 % de ácido oleico, respectivamente. Estos valores son similares e incluso menores que los consultados en bibliografía, como los de la variedad Leccino con una acidez de 0,10 % de ácido oleico (Lucchetti et al, 2011) y la variedad Koroneiki 0,52 % de ácido oleico (Allalout et al, 2009).

Se realizó un análisis de varianza para determinar la existencia de diferencias significativas entre las variedades de aceite en estudio, estableciéndose que sí existen diferencias significativas entre éstas (p<0,05) con un nivel del 95% de confianza. Se realizó una prueba de múltiples rangos según el método de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher para determinar qué variedades son significativamente diferentes de otras, identificándose dos grupos homogéneos. Ver anexo 6

.

Las enzimas lipolíticas que provocan la hidrólisis de los triglicéridos se activan durante la maduración del fruto, produciendo un aumento de la acidez libre. Por otro lado la cantidad de ácidos grasos libres dependerá del tiempo de almacenaje de las aceitunas previo a su procesamiento y de condiciones que pudieran causar daño a los frutos como la ruptura de células o ataque de microorganismos (Jiménez y Carpio, 2002).

Las diferencias significativas encontradas pueden deberse a que algunas variedades pudieron haber estado mayor tiempo en el patio de recepción antes de ser procesadas en la almazara, lo cual pudo haber provocado un ligero aumento en la acidez (Di Giovacchino, 2003). La diferencia de acidez libre que se presenta entre una variedad y otra, puede deberse también al estado de madurez del fruto al momento de la cosecha. Un estudio realizado por Dag et al (2011) en las variedades 'Barnea' y 'Souri', cultivadas en el Medio Oriente, encontró que un estado de madurez avanzado en la aceituna, produjo un aumento marcado de la acidez libre en la variedad 'Souri', en tanto que no afectó a la variedad 'Barnea', por lo que la diferencia también puede deberse a una característica propia de la variedad. El comportamiento descrito podría explicar las diferencias significativas encontradas entre las variedades, sin embargo los valores de acidez libre para todas las variedades son muy bajos, encontrándose todas aceptadas dentro de la categoría de aceite de oliva virgen extra.

## 5.1.2. Determinación de índice de peróxidos

Los peróxidos se consideran como los primeros productos de la oxidación de las grasas, formándose, al menos durante las primeras etapas, paralelamente a la cantidad de oxígeno absorbido (Humanes, 1995). El índice de peróxidos define el estado de oxidación primaria y entrega un parámetro de tendencia al enranciamiento de un aceite (Troncoso et al, 2006).

Los aceites de oliva virgen extra en estudio presentaron índices de peróxidos entre 2,50 y 4,60 mEq O<sub>2</sub>/kg de aceite, lo que indica una oxidación primaria y tendencia al enranciamiento mínimas.

A partir del análisis de varianza realizado para el índice de peróxidos, se determinó la existencia de diferencias significativas entre las variedades de aceite estudiadas (p<0,05) con un nivel del 95% de confianza. La variedad Carrasqueña fue la que presentó el menor valor de Índice de peróxidos con 2,50 mEq O<sub>2</sub>/kg de aceite y las variedades Biancolilla y Kalamata fueron las que presentaron los mayores valores con 4,60 mEq O<sub>2</sub>/kg de aceite. La prueba de múltiples rangos (LSD) de Fisher arrojó la existencia de cuatro grupos homogéneos. Ver anexo 7.

Los valores consultados en bibliografía para el índice de peróxidos son en algunos casos muy similares a los resultados obtenidos en este estudio, como en la variedad Koroneiki que se encontraron valores cercanos a 3,20 mEq O<sub>2</sub>/kg de aceite (Allalout et al, 2009), en otros casos se encontraron valores totalmente distintos, por ejemplo para la variedad Leccino se encontraron valores cercanos a 13,00 mEq O<sub>2</sub>/kg de aceite (Lucchetti et al, 2011).

Las diferencias significativas en el índice de peróxidos pueden deberse a una serie de factores como son el grado de maduración de las aceitunas, heladas previas a la recolección, recolección de las aceitunas del suelo, el sistema de almacenamiento de las olivas y sistema de almacenamiento de los aceites. En el caso de las variedades analizadas la principal causa de estas diferencias puede ser el mayor tiempo transcurrido entre la recolección y la elaboración de algunos aceites, lo que podría haber elevado ligeramente el índice de peróxidos. De todas formas las 9 variedades presentan valores muy bajos, por lo que se encuentran dentro de la categoría de aceite virgen extra (Di Giovacchino, 2003).

Es posible que un aceite muy alterado tenga un bajo índice de peróxidos, dado que al avanzar el estado de oxidación desaparecen los peróxidos, dando lugar a otros productos. Por esta razón la información completa sobre el estado de oxidación se adquiere con la determinación del coeficiente de extinción  $K_{270}$  (Troncoso et al, 2006).

### 5.1.3. Determinación de la extinción específica por absorción ultra-violeta

La determinación del coeficiente de extinción es utilizado para reconocer el estado de conservación de los aceites y si éstos han sido refinados (Troncoso et al, 2006).  $K_{232}$  indica la oxidación inicial del aceite, mientras que  $K_{270}$  detecta un estado oxidativo más avanzado. Por otro lado  $\Delta K$  se utiliza fundamentalmente como criterio de pureza para detectar mezclas con aceites refinados (Jiménez y Carpio, 2002).

Los valores de  $K_{270}$  oscilaron entre 0,118 y 0,182, para  $\Delta K$  se obtuvo valores entre 0,001 y 0,009, mientras que  $K_{232}$  fluctuó entre 0,485 y 0,787. Debido a que estos valores son muy bajos se verifica, junto con los resultados de índice de peróxidos, que la alteración oxidativa en las variedades de aceite en estudio es mínima, puesto que el coeficiente de extinción aumenta a medida que la alteración oxidativa es mayor, hasta fases muy avanzadas.

Por otro lado los bajos valores de  $\Delta K$  permiten comprobar la pureza de los aceites estudiados, ya que dichos valores aumentan con la presencia de ácidos grasos distintos al del aceite de oliva (Troncoso et al, 2006).

Se realizó un análisis de varianza para  $K_{270}$ ,  $\Delta K$  y  $K_{232}$ , determinando la existencia de diferencias significativas entre las variedades (p<0,05) en los tres casos de coeficiente de extinción, con un nivel del 95% de confianza. La prueba de múltiples rangos según el método de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher arrojó la existencia de 5, 3 y 4 grupos homogéneos respectivamente. Ver anexo 8. La variedad 'Carrasqueña' fue la que presentó los menores valores de coeficientes de extinción, con valores de 0,118, 0,485 y 0,004 para  $K_{270}$ ,  $K_{232}$  y  $\Delta K$ , respectivamente.

Los valores consultados en bibliografía para los coeficientes de extinción específica son en algunos casos similares y en otros menores a los resultados obtenidos en este estudio, para la variedad Koroneiki se encontraron valores cercanos 0,200, 1,000 y 0,001 para  $K_{270}$ ,  $K_{232}$  y  $\Delta K$ , respectivamente (Allalout et al, 2009), en el

caso de la variedad Leccino se encontraron valores cercanos a 0,030, 0,700 y 0,002 para  $K_{270}$ ,  $K_{232}$  y  $\Delta K$ , respectivamente (Lucchetti et al, 2011).

Considerando los valores obtenidos de acidez, índice de peróxidos y coeficientes K (Tabla 5), indican que los aceites fueron extraídos en óptimas condiciones de calidad, aplicando criterios de buenas prácticas de elaboración.

### 5.2. Caracterización del perfil de ácidos grasos

Distintas investigaciones realizadas hasta ahora, principalmente por cromatografía de gases, demuestran que los ácidos grasos presentes en el aceite de oliva son: mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), palmitoleico (C16:1), heptadecanoico (C17:0), heptadecenoico (C17:1), esteárico (C18:0), oleico (C18:1), linoléico (C18:2), linolénico (C18:3), araquídico (C20:0), eicosenoico (C20:1), behénico (C22:0) y lignocérico (C24:0) (Troncoso et al, 2006).

El aceite de oliva se diferencia de otros aceites vegetales por su alto contenido en ácidos grasos monoinsaturados, que reducen el colesterol LDL y ayudan a prevenir enfermedades cardiovasculares (Lozano et al, 2012). El ácido graso monoinsaturado mayoritario en el aceite de oliva es el oleico, cuya concentración generalmente varía entre 55 y 83% (COI, 2010).

Mediante cromatografía de gases se determinó el perfil de ácidos grasos de las nueve variedades de aceite de oliva virgen extra en estudio (Ver anexo 9), identificándose y cuantificándose los ácidos grasos constituyentes de cada variedad, dicho perfil se resume en la tabla 6.

Tabla 6. Perfil de ácidos grasos expresados como porcentaje de ésteres metílicos.

Acidos Grasos		•				17 11.			Manzanilla	COI*
(%)	Biancolilla	Carrasqueña	Empeltre	Itrana	Kalamata	Koroneiki	Leccino	Liguria	Chilena	(%)
Mirístico C14:0	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	≤ 0,05
Palmítico C16:0	11,7±0,8 <sup>ab</sup>	11,6±0,5 <sup>a</sup>	13,1±0,4 <sup>d</sup>	12,3±0,7 <sup>bc</sup>	14,6±0,2 <sup>e</sup>	11,3±0,8 <sup>a</sup>	12,7±0,3 <sup>cd</sup>	12,7±0,6 <sup>cd</sup>	13,0±0,5 <sup>d</sup>	7,5-20,0
Margárico C17:0	0,1±0,0 <sup>a</sup>	Tr	0,1±0,0 <sup>a</sup>	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	≤ 0,3
Esteárico C18:0	1,7±0,1 <sup>a</sup>	3,1±0,1 <sup>e</sup>	1,9±0,1 <sup>b</sup>	1,8±0,1 <sup>a</sup>	2,3±0,0 <sup>d</sup>	$2,3\pm0,2^{d}$	2,1±0,1 <sup>c</sup>	2,1±0,2 <sup>c</sup>	2,1±0,1 <sup>bc</sup>	0,5-5,0
Araquídico C20:0	0,3±0,1 <sup>ab</sup>	0,4±0,1 <sup>c</sup>	$0,4\pm0,0^{c}$	0,3±0,0 <sup>a</sup>	0,3±0,0 <sup>a</sup>	0,4±0,1 <sup>bc</sup>	0,3±0,1 <sup>a</sup>	0,3±0,0 <sup>ab</sup>	0,3±0,0 <sup>ab</sup>	≤ 0,6
Behénico C22:0	0,1±0,0 <sup>b</sup>	0,1±0,0 <sup>b</sup>	0,1±0,0 <sup>b</sup>	$0,1\pm0,0^{b}$	0,1±0,0 <sup>b</sup>	0,1±0,0 <sup>b</sup>	0,1±0,1 <sup>a</sup>	0,1±0,0 <sup>b</sup>	0,1±0,0 <sup>b</sup>	≤ 0,2
Lignocérico C24:0	0,1±0,1 <sup>a</sup>	Tr	0,1±0,0 <sup>b</sup>	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	≤ 0,2
Total Saturados	14,0±0,6 <sup>a</sup>	15,2±0,4 <sup>c</sup>	15,7±0,2°	14,5±0,8 <sup>b</sup>	17,3±0,2 <sup>d</sup>	14,1±0,7 <sup>ab</sup>	15,2±0,2°	15,2±0,4 <sup>c</sup>	15,5±0,6°	
Palmitoleico C16:1	0,7±0,1 <sup>a</sup>	0,8±0,1 <sup>a</sup>	1,2±0,1 <sup>c</sup>	0,9±0,0 <sup>b</sup>	2,1±0,1 <sup>d</sup>	0,8±0,1 <sup>a</sup>	1,1±0,1 <sup>c</sup>	1,1±0,1 <sup>c</sup>	1,1±0,1 <sup>c</sup>	0005
C16:1 ω9 C16:1 ω7	0,1±0,0 <sup>a</sup> 0,6±0,1 <sup>a</sup>	0,1±0,0 <sup>a</sup> 0,7±0,1 <sup>a</sup>	0,1±0,0 <sup>a</sup> 1,1±0,1 <sup>a</sup>	0,1±0,0 <sup>a</sup> 0,8±0,0 <sup>b</sup>	0,1±0,0 <sup>a</sup> 2,0±0,1 <sup>e</sup>	0,1±0,0 <sup>a</sup> 0,7±0,1 <sup>a</sup>	0,1±0,0 <sup>a</sup> 1,0±0,1 <sup>cd</sup>	0,1±0,0 <sup>b</sup> 1,0±0,1 <sup>c</sup>	0,1±0,0 <sup>a</sup> 1,0±0,1 <sup>∞</sup>	0,3-3,5
Margaroleico C17:1	0,2±0,1°	0,1±0,0 <sup>ab</sup>	0,3±0,0 <sup>d</sup>	0,1±0,0 <sup>b</sup>	0,1±0,0 <sup>b</sup>	0,1±0,1 <sup>a</sup>	0,1±0,0 <sup>b</sup>	0,1±0,0 <sup>ab</sup>	0,1±0,1 <sup>ab</sup>	≤ 0,3
Oleico C18:1	73,6±1,2 <sup>b</sup>	77,8±0,8 <sup>d</sup>	74,3±0,8 <sup>b</sup>	76,8±0,5°	69,4±0,3 <sup>a</sup>	79,3±0,9 <sup>e</sup>	78,0±0,5 <sup>d</sup>	69,5±0,9 <sup>a</sup>	77,7±0,9 <sup>d</sup>	<b>55</b> 0 00 0
C18:1 ω9 C18:1 ω7	70,8±1,3° 2,8±0,1°	75,4±0,7 <sup>e</sup> 2,4±0,1 <sup>a</sup>	70,8±0,6 <sup>c</sup> 3,5±0,2 <sup>e</sup>	73,6±0,7 <sup>d</sup> 3,2±0,2 <sup>d</sup>	65,6±0,3 <sup>a</sup> 3,8±0,2 <sup>t</sup>	76,7±0,9 <sup>t</sup> 2,6±0,0 <sup>b</sup>	74,8±0,5 <sup>e</sup> 3,2±0,2 <sup>a</sup>	66,7±0,9 <sup>b</sup> 2,8±0,1 <sup>bc</sup>	74,5±0,6 <sup>e</sup> 3,2±0,2 <sup>a</sup>	55,0-83,0
Eicosenoico C20:1	0,4±0,1 <sup>e</sup>	0,2±0,0 <sup>b</sup>	0,3±0,1 <sup>e</sup>	0,3±0,1 <sup>d</sup>	0,2±0,1 <sup>a</sup>	0,3±0,1 <sup>cd</sup>	0,2±0,0 <sup>b</sup>	0,2±0,0 <sup>b</sup>	0,2±0,0 <sup>bc</sup>	≤ 0,4
Total Monoinsaturados	74,9±1,2 <sup>b</sup>	78,9±0,7 <sup>de</sup>	76,1±0,9°	78,1±0,5 <sup>d</sup>	71,8±0,3 <sup>a</sup>	80,5±0,8 <sup>f</sup>	79,4±0,4 <sup>e</sup>	70,9±0,8 <sup>a</sup>	79,1±0,9 <sup>e</sup>	
Linoleico C18:2	10,4±0,7 <sup>d</sup>	5,5±0,4 <sup>a</sup>	7,5±0,9 <sup>c</sup>	6,8±0,2 <sup>b</sup>	10,6±0,2 <sup>d</sup>	5,0±0,6 <sup>a</sup>	5,0±0,3 <sup>a</sup>	13,4±0,4 <sup>e</sup>	4,9±0,3 <sup>a</sup>	3,5-21,0
Linolénico C18:3	0,8±0,0 <sup>e</sup>	0,6±0,0°	0,8±0,0 <sup>e</sup>	0,7±0,0 <sup>d</sup>	0,5±0,0 <sup>a</sup>	0,6±0,1 <sup>bc</sup>	0,5±0,0 <sup>a</sup>	0,5±0,0 <sup>ab</sup>	0,5±0,0 <sup>a</sup>	≤ 1,0
Total Poliinsaturados	11,2±0,7 <sup>e</sup>	6,1±0,4 <sup>b</sup>	8,3±0,9 <sup>d</sup>	7,5±0,3°	11,1±0,2 <sup>e</sup>	5,6±0,5 ab	5,5±0,3 <sup>a</sup>	13,9±0,4 <sup>f</sup>	5,4±0,3 <sup>a</sup>	
Monoinsaturados/ Poliinsaturados	6,7	12,9	9,2	10,4	6,5	14,4	14,4	5,1	14,6	

<sup>\*:</sup> Límites establecidos por el COI que constituyen los criterios de pureza aplicable a los aceites de oliva. Tr: Traza (<0,1%). Promedio n=6. Letras distintas representan diferencias significativas (p≤0,05) entre variedades.

Como se puede ver en la tabla 6, el contenido de ácido oleico de las variedades de aceite analizadas fluctuó entre 69,4 y 79,3%, siendo 'Koroneiki', 'Leccino', 'Carrasqueña' y 'Manzanilla Chilena' las variedades con mayor contenido de este ácido graso, con valores superiores al 77%. Las variedades 'Kalamata' y 'Liguria' fueron las que presentaron los menores valores de ácido oleico con 69%. 'Biancolilla', 'Empeltre' e 'Itrana' presentaron valores intermedios con promedios entre 74 y 76%. En un estudio realizado a 16 variedades de aceite de oliva virgen del Banco de Germoplasma del Centro Experimental Huasco en 2008 se encontraron valores muy similares a los obtenidos en el presente estudio, las variedades 'Koroneiki', 'Leccino', 'Carrasqueña' y 'Manzanilla Chilena' presentaron valores de 78,8, 77,9, 77,5 y 76,3% (INIA, 2010). Por otro lado Allalout et al (2009) presentaron valores para la variedad 'Koroneiki' de 75,5% de ácido oleico y Cecci y Carelli (2007) mostraron valores de 75,2% de ácido oleico para la variedad 'Empeltre', valores que también resultan muy similares a los obtenidos en este estudio.

Los ácidos grasos saturados, se encuentran en concentraciones cercanas al 15%, aportadas principalmente por el ácido palmítico cuyo valor fluctuó entre 11,3 y 14,6%, y el ácido esteárico cuya concentración se encontró entre 1,7 y 3,1%. La variedad 'Kalamata' alcanzó la mayor concentración de ácidos grasos saturados con un 17,3%, mientras que 'Biancolilla', 'Koroneiki' e 'itrana' fueron las variedades que presentaron los menores valores de ácidos grasos saturados con valores cercanos al 14%. La variedad 'Kalamata' presentó la mayor concentración de ácido palmítico con un 14,6%, la Revista Tierra Adentro de INIA (2010) presentó un valor muy similar para esta variedad con un 13,2%. Por otro lado la variedad que alcanzó los mayores niveles de ácido esteárico fue 'Carrasqueña' con un 3,1% y al igual que para el ácido palmítico este resultado fue similar al consultado en literatura cuyo valor informado en la Revista Tierra Adentro de INIA (2010) fue igual a 3,0%.

En cuanto a los ácidos grasos poliinsaturados de los aceites analizados, como muestra la tabla 6, el linoleico fluctuó entre 5,0 y 13,4%, mientras que el linolénico se encontró entre 0,5 y 0,8%. Las variedades 'Kalamata' y 'Liguria' alcanzaron las mayores concentraciones de ácido linoleico con valores de 10,6 y 13,4%, mientras que

'Biancolilla' y 'Empeltre' presentaron los mayores niveles de ácido linolénico con un 0,8%. Al comparar estos resultados con bibliografía se encontraron valores similares a los obtenidos en este estudio, para 'Kalamata' y 'Liguria' se encontraron valores de 6,5 y 13,3% de ácido linoleico (INIA, 2010), mientras que para 'Empeltre' de encontraron valores entre 0,7 y 0,8% de ácido linolénico (Cecci y Carelli, 2007).

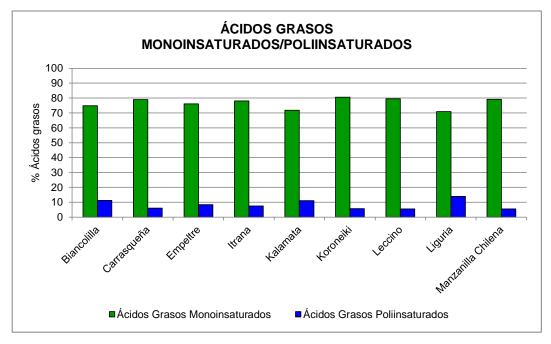


Figura 4. Contenido total de ácidos grasos monoinsaturados/contenido total de ácidos grasos poliinsaturados por variedad.

La figura 4 muestra que las variedades con mayor contenido de ácidos grasos monoinsaturados contienen menor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados. El alto cuociente obtenido de la relación ácido grasos monoinsaturados/poliinsaturados (>10) indicaría una mayor estabilidad oxidativa de los aceites de oliva virgen extra en estudio, como muestra la tabla 6 las variedades 'Carrasqueña', 'Koroneiki', 'Leccino' y 'Manzanilla Chilena' presentaron los cuocientes más altos para esta razón con valores entre 12,9 y 14,6%. Dicha estabilidad se explica debido a que al aumentar el grado de insaturación, la velocidad de oxidación aumenta progresivamente, por lo que los ácidos grasos poliinsaturados, como el linoleico, con dos dobles enlaces y el linolénico, con tres dobles enlaces, son más sensibles a la auto-oxidación que los ácidos grasos

monoinsaturados, como el oleico con un solo doble enlace, que presenta mayor resistencia a la oxidación. Además los aceites de oliva virgen con mayor porcentaje de ácido oleico presentan una mayor resistencia al enranciamiento (Ceci y Carelli, 2010).

La composición en ácidos grasos de las nueve variedades en estudio se encuentra dentro de los rangos establecidos por la normativa COI (COI, 2010). Ver Tabla 6.

Se realizó un análisis de varianza para cada ácido graso determinando la existencia de diferencias significativas entre las variedades en todos los casos (p<0,05) con un nivel del 95% de confianza, a excepción del ácido mirístico del cual sólo se encontraron trazas en todas las variedades (Ver anexo 10). En el caso de los ácidos grasos más representativos, oleico, palmítico, esteárico, linoleico y linolénico no se encontraron diferencias significativas entre las variedades 'Leccino' y 'Manzanilla Chilena'. Las diferencias significativas encontradas pueden atribuirse principalmente a la variedad genética de la aceituna (Troncoso et al, 2006).

## 5.3. Determinación de la composición de los compuestos fenólicos

Los fenoles se encuentran presentes en el mesocarpio de la aceituna, considerándose una parte importante del sistema químico de defensa del fruto. Tienen actividad antimicrobiana y brindan al fruto protección frente al daño oxidativo al limitar los efectos de la luz UV (Lozano et al, 2012).

Por otro lado los compuestos fenólicos son los principales responsables de las propiedades antioxidantes del aceite de oliva virgen extra y contribuyen a las propiedades organolépticas de los aceites (Lozano et al, 2012).

Se identificaron y cuantificaron 16 compuestos fenólicos, agrupados según su estructura química en fenoles simples, que incluyen ácidos fenólicos y alcoholes fenólicos, y fenoles complejos que incluyen derivados secoiridoides, lignanos y flavonoides. No todos los fenoles tienen la mejor respuesta a la misma longitud de

onda, por lo que se cuantificaron a 235, 280 y 335 nm (ver anexo 11). Como muestra la tabla 7 el ácido elenólico se cuantificó a una longitud de onda de 235 nm, por otro lado a 280 nm se cuantificaron los ácidos fenólicos, alcoholes fenólicos, oleuropeína, ligustrósido y lignanos, mientras que a una longitud de onda de 335 nm se cuantificaron los grupos flavonoides.

Tabla 7. Compuestos fenólicos identificados a las longitudes de onda de 280, 235 y 335 nm.

Compuesto	Código
Cromatograma a 280 nm	
Hidroxitirosol	1
Tirosol	2
Ácido vainíllico	3
Vainillina	4
Ácido para-cumarico	5
Decarboximetil aglicona de la oleuropeína, forma dialdehídica oxidada (DAO-1)	7
Decarboximetil aglicona de la oleuropeína, forma dialdehídica (DAO-2)	8
Aglicona de la oleuropeína, forma dialdehídica (DAO-3)	9
Decarboximetil aglicona del ligustrósido, forma dialdehídica (DAL-1)	10
Pinoresinol, 1acetoxi-pinoresinol	11
Aglicona del ligustrósido, forma dialdehídica (DAL-2)	12
Aglicona de la oleuropeína, forma aldehídica e hidroxílica (DAO-4)	14
Aglicona del ligustrósido, forma aldehídica e hidrxílica oxidada (DAL-3)	15, 16
Cromatograma a 235 nm	
Ácido elenólico	6
Cromatograma a 335 nm	
Luteolina	13
Apigenina	17
Metil luteolina	18

La Figura 5 muestra el cromatograma tipo obtenido para la variedad de aceite de oliva virgen extra 'Koroneiki', obtenido a una longitud de onda de 280 nm y con identificación de los compuestos fenólicos de acuerdo a la Tabla 7.

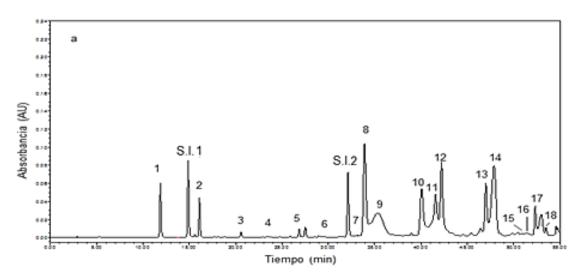


Figura 5. Cromatograma tipo de una muestra de aceite de oliva variedad 'Koroneiki' obtenidos a  $\lambda$ ex = 280 nm.

Los derivados secoiridoides son isómeros de la aglicona de oleuropeína y ligustrósido presentes en la aceituna que se generan durante la extracción del aceite de oliva por acción de enzimas endógenas del fruto (β-glucosidasa), dando lugar a las formas dialdehídicas de la aglicona de la oleuropeína y ligustrósido descarboximetilados (DAOD y DALD, respectivamente) junto con formas aldehídicas de la aglicona de la oleuropeína y ligustrósido (AAO y AAL, respectivamente) (Mateos et al, 2011).

Los derivados secoiridoides son los compuestos fenólicos más abundantes del aceite de oliva virgen, la tabla 8 muestra que en las variedades de aceite estudiadas se encontraron valores entre 33,9 y 500 mg/kg de aceite, siendo la variedad 'Kalamata' la que presentó la mayor concentración de estos compuestos. Baiano et al (2009) presentaron concentraciones de derivados secoiridoides cercanas a 235 mg/kg de aceite para la variedad 'Leccino', la cual en el estudio realizado a las variedades del Valle del Huasco presentó valores de 127 mg/kg de aceite, estas claras diferencias pueden explicarse por las distintas condiciones climáticas y factores agronómicos particulares de las zonas de cultivo.

Tabla 8. Valores medios de cada compuesto fenólico determinado para cada variedad de aceite de oliva virgen extra analizado.

Fenol	Biancolilla	Carrasqueña	Empeltre	Itrana	Kalamata	Koroneiki	Leccino	Liguria	Manzanilla Chilena
Ácido elenólico	151,1±12,3 <sup>d</sup>	91,4±10,8 <sup>bc</sup>	57,4±4,9 <sup>a</sup>	104,7±8,7 <sup>c</sup>	177,2±11,7 <sup>e</sup>	247,8±9,0 <sup>†</sup>	85,2±14,8 <sup>b</sup>	85,5±8,2 <sup>b</sup>	86,5±5,9 <sup>b</sup>
Hidroxitirosol	7,9±3,8 <sup>bc</sup>	0,4±0,1 <sup>a</sup>	2,2±0,6 <sup>a</sup>	8,8±7,3 <sup>c</sup>	2,3±0,2 <sup>a</sup>	10,2±2,3 <sup>c</sup>	2,9±1,3 <sup>a</sup>	1,7±0,5 <sup>a</sup>	3,7±1,2 <sup>ab</sup>
Tirosol	5,9±0,9 <sup>c</sup>	5,2±1,2 <sup>c</sup>	1,4±0,3 <sup>a</sup>	2,6±1,3 <sup>ab</sup>	$6,5\pm0,3^{c}$	6,5±2,4 <sup>c</sup>	4,7±3,6 <sup>bc</sup>	4,8±1,0 <sup>bc</sup>	4,9±0,2 <sup>bc</sup>
Ácido vainíllico	0,3±0,1 <sup>bc</sup>	$0,1\pm0,0^{a}$	0,3±0,0 <sup>abc</sup>	1,4±0,4 <sup>e</sup>	0,1±0,1 <sup>ab</sup>	0,7±0,1 <sup>d</sup>	0,5±0,1 <sup>cd</sup>	0,2±0,1 <sup>ab</sup>	0,6±0,1 <sup>a</sup>
Vainillina	Nd	Nd	0,3±0,1 <sup>b</sup>	$0,4\pm0,2^{c}$	0,1±0,1 <sup>a</sup>	Nd	0,1±0,1 <sup>a</sup>	Nd	0,3±0,1 <sup>b</sup>
Ácido para-cumárico	$0,4\pm0,2^{c}$	Nd	0,2±0,1 <sup>b</sup>	$0,1\pm0,0^{a}$	0,1±0,1 <sup>ab</sup>	0,1±0,1 <sup>ab</sup>	Nd	0,1±0,1 <sup>ab</sup>	Nd
Simples	165,6±14,7 <sup>d</sup>	97,1±12,1 <sup>b</sup>	61,7±5,1 <sup>a</sup>	118,1±3,0 <sup>c</sup>	186,3±12,1 <sup>e</sup>	265,3±8,3 <sup>t</sup>	93,4±13,2 <sup>b</sup>	92,4±9,0 <sup>b</sup>	96,0±6,8 <sup>b</sup>
Pinoresinol, 1acetoxi-pinoresinol	3,2±0,4 <sup>bc</sup>	1,4±0,7 <sup>a</sup>	4,6±1,6 <sup>cde</sup>	9,5±1,2 <sup>g</sup>	1,6±0,1 <sup>ab</sup>	6,0±1,1 <sup>ef</sup>	3,8±0,8 <sup>cd</sup>	7,0±1,8 <sup>f</sup>	4,8±1,3 <sup>de</sup>
Luteolina	5,5±1,5 <sup>ca</sup>	2,5±0,4 <sup>a</sup>	3,2±0,2 <sup>ab</sup>	3,8±0,3 <sup>abc</sup>	9,7±1,9 <sup>e</sup>	9,3±3,2 <sup>e</sup>	6,5±1,7 <sup>d</sup>	5,2±0,7 <sup>bcd</sup>	6,3±1,8 <sup>a</sup>
Apigenina	4,1±1,3 <sup>bc</sup>	5,3±1,1 <sup>bc</sup>	1,7±0,2 <sup>a</sup>	3,4±1,6 <sup>ab</sup>	5,7±0,4 <sup>c</sup>	6,2±2,7 <sup>c</sup>	4,9±1,3 <sup>bc</sup>	5,9±0,9 <sup>c</sup>	5,8±2,6 <sup>c</sup>
Metil luteolina	0,8±0,3 <sup>de</sup>	$0.7\pm0.2^{cd}$	0,5±0,1 <sup>bc</sup>	0,2±0,1 <sup>a</sup>	0,4±0,1 <sup>ab</sup>	1,1±0,3 <sup>e</sup>	0,2±0,1 <sup>a</sup>	0,4±0,1 <sup>ab</sup>	$0,3\pm0,2^{ab}$
Flavonoides y Lignanos	13,7±3,1 <sup>ab</sup>	10,0±2,3 <sup>a</sup>	10,0±1,4 <sup>a</sup>	16,9±1,1 <sup>b</sup>	17,4±2,0 <sup>bc</sup>	22,6±7,1 <sup>c</sup>	15,4±3,4 <sup>b</sup>	18,5±3,1 <sup>bc</sup>	17,3±4,9 <sup>b</sup>
DAO-2	0,2±0,1 <sup>a</sup>	1,0±0,1 <sup>a</sup>	0,3±0,1 <sup>a</sup>	2,7±0,9 <sup>a</sup>	108,9±10,8 <sup>d</sup>	1,9±0,3 <sup>a</sup>	31,3±17,1 <sup>b</sup>	27,9±2,5 <sup>b</sup>	64,1±4,8 <sup>c</sup>
DAO-3	9,4±4,8 <sup>ab</sup>	4,1±1,4 <sup>ab</sup>	38,1±6,9 <sup>d</sup>	27,6±18,1°	6,6±0,2 <sup>ab</sup>	11,8±3,1 <sup>b</sup>	2,0±1,1 <sup>a</sup>	3,7±0,6 <sup>ab</sup>	3,7±0,4 <sup>ab</sup>
DAO-4	Nd	Nd	Nd	$32,9\pm7,7^{bc}$	24,7±2,7 <sup>b</sup>	144,2±14,2 <sup>e</sup>	36,6±1,7 <sup>c</sup>	13,0±2,2 <sup>a</sup>	46,1±4,9 <sup>d</sup>
Derivados Oleuropeína	9,6±4,8 <sup>a</sup>	5,1±1,4 <sup>a</sup>	38,4±6,9 <sup>b</sup>	63,2±24,8 <sup>c</sup>	140,1±12,1 <sup>e</sup>	157,9±12,5 <sup>e</sup>	69,9±18,0 <sup>c</sup>	44,7±4,2 <sup>b</sup>	114,0±9,8 <sup>a</sup>
DAL-1	4,2±1,8 <sup>a</sup>	3,9±0,5 <sup>a</sup>	12,2±0,9 <sup>a</sup>	9,4±4,3 <sup>a</sup>	198,5±27,1 <sup>d</sup>	6,8±1,3 <sup>a</sup>	45,4±13,3 <sup>c</sup>	28,0±1,4 <sup>b</sup>	53,8±7,7 <sup>c</sup>
DAL-1 oxidada	1,0±0,6 <sup>a</sup>	1,4±0,7 <sup>ab</sup>	$3,5\pm0,5^{c}$	$2,7\pm0,6^{bc}$	23,8±2,3 <sup>e</sup>	6,0±1,5 <sup>d</sup>	$2,7\pm0,9^{bc}$	1,3±0,2 <sup>ab</sup>	3,0±0,7 <sup>c</sup>
DAL-2	73,5±9,0 <sup>e</sup>	23,6±5,5°	127,1±4,3 <sup>9</sup>	50,9±10,5 <sup>d</sup>	137,5±3,9 <sup>h</sup>	103,6±4,6 <sup>t</sup>	8,6±0,5 <sup>a</sup>	13,4±1,2 <sup>ab</sup>	19,1±3,8 <sup>bc</sup>
Derivados Ligustrósido	78,7±7,2 <sup>d</sup>	28,8±6,5 <sup>a</sup>	142,9±5,1 <sup>†</sup>	62,9±15,3 <sup>cd</sup>	359,8±28,7 <sup>9</sup>	116,3±5,3 <sup>e</sup>	56,7±13,4 <sup>bc</sup>	42,7±2,6 <sup>ab</sup>	75,8±11,9 <sup>a</sup>
Derivados Secoiridoides	88,3±4,5 <sup>b</sup>	33,9±5,2 <sup>a</sup>	181,3±9,9 <sup>d</sup>	126,1±18,3 <sup>c</sup>	500,0±39,0 <sup>f</sup>	274,2±10,8 <sup>e</sup>	126,5±27,9 <sup>c</sup>	87,4±6,1 <sup>b</sup>	189,8±21,7 <sup>d</sup>
Fenoles Totales	268 ± 13°	141 ± 15 <sup>a</sup>	253 ± 12 <sup>cd</sup>	261 ± 20 <sup>cd</sup>	$704 \pm 29^9$	$562 \pm 23^{\circ}$	$235 \pm 32^{\circ}$	198 ±14 <sup>b</sup>	$303 \pm 27^{e}$

Promedio expresado en mg/kg de aceite, n=4. Nd: No detectado. DAO-2: Decarboximetil aglicona de la oleuropeína, forma dialdehídica, DAO-3: Aglicona de la oleuropeína, forma dialdehídica, DAU-1: Decarboximetil aglicona del ligustrósido, forma dialdehídica, DAL-1 oxidada: Decarboximetil aglicona del ligustrósido, forma dialdehídica oxidada y DAL-2: Aglicona del ligustrósido, forma dialdehídica. Letras distintas representan diferencias significativas (p≤0,05) entre variedades.

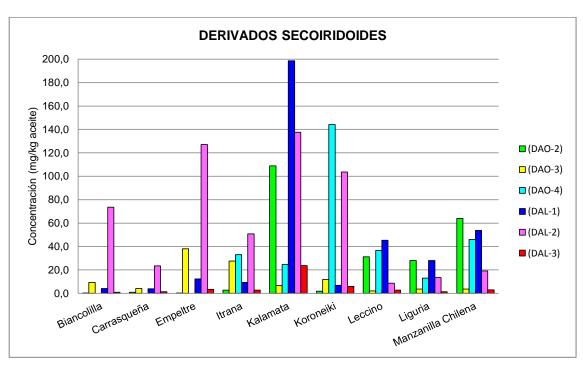


Figura 6. Concentración de derivados secoiridoides de las nueve variedades de aceite de oliva virgen extra en estudio (mg/kg de aceite).

La figura 6 muestra que la variedad 'Kalamata' presentó el mayor contenido de decarboximetil aglicona de la oleuropeína forma dialdehídica (DAO-2) con 109 mg/kg de aceite. Las variedades 'Empeltre' e 'Itrana' presentaron los mayores valores para aglicona de la oleuropeína forma dialdehídica (DAO-3), con 38,1 y 27,6 mg/kg de aceite, respectivamente. Por otro lado la variedad 'Koroneiki' obtuvo el mayor contenido de aglicona de la oleuropeína forma aldehídica e hidroxílica (DAO-4) con 144 mg/kg de aceite. Así 'Kalamata' y 'Koroneiki' se perfilan como las variedades con mayor contenido de derivados de oleuropeína con valores de 140 y 158 mg/kg de aceite, respectivamente.

Como muestra la figura 6, 'Kalamata' resultó ser la variedad con mayor contenido de decarboximetil aglicona del ligustrósido, forma dialdehídica (DAL-1), compuesto conocido también como oleocantal, con 199 mg/kg de aceite. El oleocantal se ha descrito con importantes funciones biológicas como actividad antiproliferativa de células cancerígenas, antiinflamatorio y antioxidante, se ha relacionado con un menor

riesgo de enfermedades cardiovasculares y enfermedad de Alzheimer (Han et al, 2013). Para decarboximetil aglicona del ligustrósido, forma dialdehídica oxidada (DAL-1 oxidada) la variedad 'Kalamata' presentó el mayor contenido con 23,8 mg/kg de aceite. De esta manera, 'Kalamata' se perfila como la variedad con mayor contenido de ligustrósido con 360 mg/kg derivados de de aceite. Las variedades 'Kalamata', 'Empeltre' y 'Koroneiki' presentaron los mayores valores de aglicona del ligustrósido forma dialdehídica (DAL-2) con 138, 127 y 104 mg/kg de aceite, respectivamente.

Desde el punto de vista organoléptico, la oleuropeína y el ligustrósido son los responsables del sabor amargo y picante del aceite de oliva, por lo que al someter a un análisis sensorial a las variedades 'Kalamata' y 'Koroneiki', estos atributos de sabor deberían ser destacados.

Figura 7. Hidrólisis y degradación de la oleuropeína.

Los fenoles simples hidroxitirosol y tirosol se originan por hidrólisis química o enzimática del grupo éster de los derivados secoiridoides (ver figura 7) y se encuentran en baja concentración en los aceites recién obtenidos, aumentando con el tiempo de conservación a expensas de la hidrólisis de los derivados secoiridoides (Mateos et al, 2011).

Como muestra la tabla 8, el contenido de fenoles simples de las variedades de aceite en estudio fluctuó entre 61,7 y 265,3 mg/kg de aceite, destacando el ácido elenólico, hidroxitirosol y tirosol. Las variedades 'Kalamata' y 'Koroneiki' alcanzaron las mayores concentraciones de fenoles simples, con 186 y 265 mg/kg de aceite respectivamente. 'Koroneiki' presentó el mayor contenido de ácido elenólico con 248 mg/kg de aceite. 'Itrana' y 'Koroneiki' obtuvieron los más altos valores de hidroxititosol con 8,8 y 10,2 mg/kg de aceite, respectivamente. Para el tirosol tanto 'Kalamata' como 'Koroneiki' alcanzaron una concentración de 6,5 mg/kg de aceite. Weissbein (2006) informó valores de hidroxitirosol para la variedad 'Kalamata' de 45,0 y 59,4 mg/kg de aceite, mientras que para 'Koroneiki' informó valores de 632 y 786 mg/kg de aceite. Weissbein (2006) además obtuvo valores de tirosol para 'Kalamata' de 57,2 y 75,0 mg/kg de aceite y para 'Koroneiki' 30,3 y 161,3 mg/kg de aceite. Los valores consultados en literatura son muy diferentes a los obtenidos en el presente estudio, por lo que se sigue afirmando que las diferencias existentes se deben a factores tanto agronómicos como a factores climáticos propios de las zonas de cultivo.

La tabla 8 muestra los ácidos fenólicos encontrados en los aceites analizados, estos fueron el ácido vainíllico y el ácido para-cumárico, con concentraciones que fluctuaron entre 0,12 y 1,43 y entre 0,02 y 0,41 mg/kg de aceite, respectivamente. 'Itrana' obtuvo el mayor contenido de ácido vainíllico y 'Biancolilla' el mayor contenido de ácido para-cumárico.

El compuesto fenólico vainillina presentó valores entre 0,02 y 0,40 mg/kg de aceite, siendo 'Itrana' la variedad que presentó el mayor contenido de este compuesto fenólico simple.

Pinoresinol y 1acetoxi-pinoresinol, son los principales lignanos del aceite de oliva virgen. Como puede verse en la tabla 8, la variedad 'Itrana' alcanzó la mayor concentración para estos compuestos fenólicos con 9,5 mg/kg de aceite. Un estudio realizado por Baiano et al (2009) en la localidad de Apulia (Italia) indicó valores para la variedad 'Leccino' de 8,9 mg/kg de aceite, por otro lado Del Carlo et al (2006) informaron valores de 3,5 y 3,6 mg/kg de aceite para esta misma variedad en la localidad de Rocca San Giovanni en Italia. Los valores presentados en este estudio fueron similares a los obtenidos por Del Carlo para esta variedad con concentraciones de 3,8 mg/kg de aceite y difirieron, a los de Baiano, evidenciando diferencias atribuidas a las variables agronómicas y climáticas de las zonas de cultivo.

Dentro de los flavonoides presentes en el aceite de oliva los más representativos son la apigenina y luteolina, la tabla 8 muestra que las variedades que alcanzaron los mayores contenidos de estos compuestos fenólicos fueron 'Kalamata' y 'Koroneiki', con valores de 5,7 y 6,2 mg/kg de aceite para apigenina y 9,7 y 9,3 mg/kg de aceite para luteolina, respectivamente. En el caso de la metil luteolina 'Koroneiki' alcanzó el mayor contenido con 1,1 mg/kg de aceite. Weissbein (2006) reportó para la variedad 'Kalamata' concentraciones de apigenina de 0,9 mg/kg de aceite, mientras que para 'Koroneiki' reportó valores de 4,2 y 9,5 mg/kg de aceite. Weissbein (2006) además informó valores de luteolina de 14,1 y 29,6 mg/kg de aceite para 'Kalamata' y 8,4 y 32,1 mg/kg de aceite para 'Koroneiki'. Nuevamente las diferencias entre las variedades en estudio y las consultadas en literatura son evidentes, por lo cual se atribuyen a factores agronómicos y climáticos particulares de cada zona de cultivo.

La concentración de fenoles totales en el aceite de oliva varía entre 50 y 200 mg/kg de aceite, alcanzando incluso valores de hasta 1500 mg/kg (Lozano et al, 2012). Como se puede ver en la tabla 8, las variedades de aceite en estudio alcanzaron concentraciones entre 141 y 704 mg/kg de aceite, siendo las variedades 'Koroneiki' y 'Kalamata' las que presentaron mayor concentración de fenoles totales con valores de 562 y 704 mg/kg de aceite, respectivamente. Las variedades 'Carrasqueña' y 'Liguria' fueron las que presentaron los menores contenidos de fenoles totales, inferiores a 200 mg/kg de aceite. Todos los aceites se encontraron en el rango reportado para el

contenido de fenoles totales. Allalout et al (2009) informaron un contenido de fenoles totales de 237 mg/kg de aceite para la variedad 'Koroneiki', por su parte Ceci y Carelli (2007) y Lucchetti et al (2011) informan valores incluso inferiores a 60 mg/kg de aceite para las variedades 'Empeltre' y 'Leccino', que en el presente estudio alcanzaron valores de 253 y 235 mg/kg de aceite, respectivamente. Weissbein (2006) informó valores de fenoles totales de 107 mg/kg de aceite para la variedad 'Kalamata' y de 144 mg/kg de aceite para 'Koroneiki. Estos valores consultados en literatura evidencian una clara diferencia con los aceites en estudio, lo cual se atribuye a variables climatológicas y agronómicas.

Los aceites de oliva virgen extra en estudio presentaron una amplia variación entre una variedad y otra, tanto al ser analizadas por grupos fenólicos como al analizar el contenido de fenoles totales (Ver anexo 12). El contenido de fenoles obedece a una serie de factores tanto de manejo agronómico, como a variables climáticas, sin embargo dada las características de este estudio donde las distintas variedades proceden de una misma localidad, Valle del Huasco, y con un mismo manejo agronómico, las diferencias atribuidas al contenido en fenoles se deberían principalmente a variables genéticas del fruto.

## 5.4. Determinación de la composición de esteroles y alcoholes triterpénicos

El contenido de esteroles proporciona gran información sobre la identidad de los aceites vegetales. Medir el contenido de esteroles es el análisis más fiable para detectar fraudes en el aceite de oliva. Además medir el contenido de eritrodiol más uvaol se utiliza como criterio de pureza para detectar aceites de orujo en el aceite de oliva (Jiménez et al, 2002).

Tabla 9. Composición y contenido de esteroles de las nueve variedades de aceite de oliva virgen extra.

Variedad	Colesterol (%)	Brasicasterol (%)	Campesterol (%)	Estigmasterol (%)	β-Sitosterol (%)	Delta-7- estigmastenol (%)	Esteroles totales (mg/kg)	Eritrodiol y uvaol (%)
Biancolilla	0,3±0,1 <sup>b</sup>	0,1±0,0 a	3,7±0,0 bc	0,3±0,0 <sup>ab</sup>	95,3±0,0 <sup>ab</sup>	0,2±0,0 ab	1750±131 <sup>d</sup>	4,3±0,1 <sup>e</sup>
Carrasqueña	0,2±0,1 <sup>a</sup>	0,1±0,0 a	3,8±0,1 <sup>bc</sup>	0,6±0,1 <sup>d</sup>	94,9±0,1 a	0,4±0,1 <sup>c</sup>	1172±190 <sup>a</sup>	1,7±0,1 <sup>d</sup>
Empeltre	0,2±0,0 <sup>a</sup>	0,1±0,0 a	3,5±0,2 <sup>abc</sup>	0,5±0,2 bcd	95,5±0,5 ab	0,3±0,1 bc	1697±147 cd	4,3±0,2 <sup>e</sup>
Itrana	0,3±0,1 <sup>b</sup>	0,1±0,0 a	3,6±0,2 bc	0,5±0,1 <sup>cd</sup>	95,2±0,3 <sup>a</sup>	0,3±0,1 bc	1551±106 <sup>bcd</sup>	0,6±0,1 a
Kalamata	0,4±0,1 <sup>b</sup>	0,1±0,0 a	3,1±0,1 <sup>ab</sup>	0,4±0,1 <sup>bcd</sup>	95,8±0,1 <sup>b</sup>	0,3±0,1 ab	1324±44 <sup>ab</sup>	0,8±0,3 <sup>ab</sup>
Koroneiki	0,3±0,1 <sup>b</sup>	0,1±0,0 a	3,9±1,3 <sup>c</sup>	0,2±0,1 <sup>a</sup>	95,3±1,3 ab	0,1±0,1 <sup>a</sup>	1428±92 <sup>abc</sup>	1,1±0,3 <sup>bc</sup>
Leccino	0,3±0,1 <sup>b</sup>	0,1±0,0 a	2,9±0,1 <sup>a</sup>	0,5±0,0 bcd	96±0,0 <sup>b</sup>	0,2±0,0 <sup>ab</sup>	1578±181 bcd	1,2±0,2 <sup>c</sup>
Liguria	0,3±0,1 <sup>b</sup>	0,1±0,0 a	3,1±0,1 ab	0,3±0,1 <sup>abc</sup>	96,1±0,0 <sup>b</sup>	0,1±0,1 a	2333±145 <sup>e</sup>	$0,6\pm0,2^{a}$
Manzanilla Chilena	0,2±0,1 <sup>a</sup>	0,1±0,0 <sup>a</sup>	3,5±0,2 abc	0,4±0,3 bcd	95,5±0,4 <sup>ab</sup>	0,3±0,3 <sup>bc</sup>	1710±277 <sup>cd</sup>	4,3±0,2 <sup>e</sup>
Límite COI*	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4	< campesterol	≥ 93	≤ 0,5	≥ 1000	≤ 4,5

\*: Límites establecidos por el COI. Promedio n=3. Letras distintas representan diferencias significativas (p≤0,05) entre variedades.

Como muestra la tabla 9, el contenido total de esteroles de los aceites de oliva en estudio fluctuó entre 1172 y 2333 mg/kg de aceite, las variedades que presentaron mayor contenido de esteroles totales fueron 'Liguria', 'Biancolilla', 'Manzanilla Chilena' y 'Empeltre', con valores de 2333, 1750, 1710 y 1697 mg/kg de aceite, respectivamente. En un estudio realizado en Argentina, Ceci y Carelli (2007) reportaron un contenido de esteroles totales promedio de 1672 mg/kg de aceite para la variedad 'Empeltre', dicho valor resulta muy similar al contenido obtenido en el presente estudio.

Como se puede ver en la tabla 9, el β-sitoesterol responsable en parte de los efectos cardioprotectores del aceite de oliva, es el esterol mayoritario alcanzando valores superiores al 94% en todas las variedades de aceite analizadas. Las variedades 'Liguria', 'Leccino' y 'Kalamata' alcanzaron los mayores porcentajes de β-sitoesterol, con valores de 96,1, 96,0 y 95,8%, respectivamente. Se presentaron diferencias significativas entre las variedades detectándose dos grupos homogéneos (Ver anexo 13), estas diferencias pueden atribuirse a características particulares de cada variedad. Giuffrè y Louadj (2013) presentaron valores de 82,5% para la variedad 'Leccino', valor bastante lejos del porcentaje obtenido en este estudio, por lo que estas diferencias pueden atribuirse a factores climáticos y agronómicos de las zonas de cultivo.

El contenido de campesterol fluctuó entre 2,9 y 3,9%, siendo las variedades 'Koroneiki' y 'Carrasqueña', las que presentaron los más altos porcentajes, con valores de 3,9 y 3,8%. Weissbein (2006) reportó un 0,4% de campesterol para la variedad 'Koroneiki', por otro lado Sánchez (2002) reportó un contenido de campesterol de 2,6% para la variedad 'Carrasqueña'. Las diferencias entre los resultados obtenidos en este estudio y los consultados en literatura son evidentes y pueden atribuirse a las variables agronómicas y climatológicas típicas de las zonas de cultivo.

El contenido de estigmasterol fluctuó entre 0,2 y 0,6%, la variedad 'Carrasqueña' presentó el más alto porcentaje de este esterol. Sánchez (2002) reportó un contenido de 1,1% de estigmasterol para la variedad 'Carrasqueña', estableciéndose una amplia diferencia con los resultados del presente estudio.

El Δ7-estigmastenol fluctuó entre 0,1 y 0,4%, alcanzando 'Carrasqueña' el mayor porcentaje de este esterol. Sánchez (2002) mostró valores de 0,1% de este esterol para la variedad 'Carrasqueña'.

El contenido de brasicasterol no presentó diferencias significativas entre las variedades de aceite de oliva virgen extra en estudio, presentando todas un 0,1%. Weissbein (2006) presentó valores de brasicasterol de 0,01% para las variedades 'Koroneiki' y 'Leccino', muy inferiores a los obtenidos en este estudio.

El colesterol, principal esterol animal, se presenta en muy bajas concentraciones en el aceite de oliva, como puede verse en la tabla 9, el contenido de colesterol en los aceites de oliva virgen extra en estudio no supera el 0,4%. Giuffre (2013) presentó valores de 0,2% para 'Itrana' y 'Leccino', valores muy similares a los obtenidos en los aceites analizados.

El eritrodiol y el uvaol son los alcoholes triterpénicos pentacíclicos más abundantes en el aceite de oliva, en forma general se han establecido valores de 10 a 200 mg/kg de aceite (Lozano et al, 2012). En las variedades de aceite de oliva virgen extra analizadas el valor de eritrodiol más uvaol estuvo comprendido en un rango de 0,6 y 4,3% de los esteroles totales, equivalente a un rango entre 9 y 75 mg/kg de aceite, por lo que se encuentran dentro del límite COI que establece un contenido de eritrodiol más uvaol menor o igual a 4,5% (Ver tabla 9). 'Biancolilla', 'Empeltre' y 'Manzanilla Chilena' presentaron el mayor contenido de eritrodiol más uvaol, con un 4,3%.

Todos los aceites analizados presentaron valores de acuerdo a la normativa COI (Ver tabla 9).

Se realizó un análisis de varianza para esteroles totales, eritrodiol más uvaol y para cada esterol, determinando la existencia de diferencias significativas entre las variedades de aceite (p<0,05) con un nivel del 95% de confianza en todos los casos a excepción del brasicasterol. No se presentaron diferencias significativas entre 'Biancolilla', 'Carrasqueña', 'Empeltre', 'Itrana', 'Kalamata', 'Liguria' y 'Manzanilla

Chilena', para campesterol. Para β-sitoesterol no se encontraron diferencias significativas entre 'Kalamata', 'Leccino' y 'Liguria'. Por otro lado para eritrodiol y uvaol 'Carrasqueña' presentó diferencias significativas con todas las variedades en estudio. Para fenoles totales, 'Liguria' presentó diferencias significativas con todas las variedades. Estas diferencias se deben principalmente a las características particulares de la variedad genética del fruto.

#### 5.5. Determinación de tocoferoles

Los tocoferoles son compuestos de gran importancia en el aceite de oliva virgen, ya que le brindan estabilidad al aceite y tienen un papel beneficioso como antioxidantes (Lozano et al, 2012).

Según literatura consultada el  $\alpha$ -tocoferol representa aproximadamente el 90 a 95% de los tocoferoles totales, las formas  $\beta$  y  $\gamma$  se encuentran por debajo del 10% y la forma  $\delta$  se encuentra en proporciones muy bajas, informando algunos autores que esta última forma no está presente en el aceite de oliva (Lozano et al, 2012).

Tabla 10. Concentración y porcentaje de tocoferoles de las nueve variedades de aceite de oliva virgen extra analizadas.

Variedad	α-Tocoferol (mg/kg)	γ-Tocoferol (mg/kg)	Tocoferoles Totales (mg/kg)
Biancolilla	189±23,6 <sup>a</sup>	Tr	194±23,6 <sup>a</sup>
Carrasqueña	199±15,9 <sup>a</sup>	Tr	202±15,8 <sup>a</sup>
Empeltre	211±16,8 <sup>ab</sup>	Tr	211±16,8 <sup>ab</sup>
Itrana	204±1,7 <sup>ab</sup>	Tr	204±1,7 <sup>a</sup>
Kalamata	211±1,2 <sup>ab</sup>	11,3±0,3 <sup>c</sup>	222±1,7 <sup>ab</sup>
Koroneiki	182±9,5 <sup>a</sup>	Tr	182±9,5 <sup>a</sup>
Leccino	246±10,4 <sup>b</sup>	Tr	251±9,8 <sup>b</sup>
Liguria	303±63,4°	17,5±3,1 <sup>d</sup>	321±64,9 <sup>c</sup>
Manzanilla Chilena	246±28,6 <sup>b</sup>	Tr	253±28,8 <sup>b</sup>

Promedio n=6. Letras distintas representan diferencias significativas (p≤0,05) entre variedades.

Tr: < 10 mg/kg de aceite

El contendido de tocoferoles varía entre 5 a 300 mg/kg de aceite, alcanzando en algunos casos valores de 400 mg/kg de aceite, dependiendo de la variedad de aceituna (Lozano et al, 2012). La tabla 10, refleja el contenido de tocoferoles de los

aceites de oliva virgen extra en estudio, las nueve variedades se encontraron dentro del rango reportado, con valores entre 182 y 321 mg/kg de aceite. Las variedades 'Liguria', 'Manzanilla Chilena' y 'Leccino', alcanzaron los niveles más altos de contenido de tocoferoles totales con 321, 253 y 251 mg/kg de aceite.

Como muestra la tabla 10, el α-tocoferol, principal homólogo de las formas de vitamina E, fluctuó entre 182 y 303 mg/kg de aceite. 'Liguria obtuvo el mayor contenido de α-tocoferol con 303 mg/kg de aceite, seguida de 'Mananilla Chilena' y 'Leccino' con 246 mg/kg de aceite. Weissbein (2006) reportó valores muy inferiores a los de este estudio para la variedad 'Leccino', con 147 mg/kg de aceite, dicha diferencia puede atribuirse a factores agronómicos y climáticos típicos de la zona de cultivo.

'Liguria' y 'Kalamata' presentaron los mayores contenidos de γ-tocoferol, con 17,5 y 11,3 mg/kg de aceite, obteniendo el resto de las variedades sólo trazas de este tocoferol.

Se analizó estadísticamente el contenido de α-tocoferol y tocoferoles totales y se determinó la existencia de diferencias significativas entre las variedades en estudio (p<0,05), en ambos casos, con un nivel del 95% de confianza (Ver anexo 14). La variedad 'Liguria' presentó diferencias significativas con todas las variedades analizadas. Las diferencias se debe principalmente a que el contenido de tocoferoles se encuentra influenciado principalmente por la variedad de olivo y, en menor grado, por el estado de madurez del fruto (Lozanoo et al, 2010).

La susceptibilidad del aceite oliva a la oxidación está determinada por dos factores: la composición de ácidos grasos y la concentración de componentes anti y pro-oxidantes. Un aceite con mayor contenido de ácido oleico, menor contenido de ácidos grasos poliinsaturados (linolénico y linoleico) y mayor concentración de fenoles y tocoferoles, presentará mayor estababilidad frente a la autooxidación (Ceci y Carelli, 2010). Se espera que las variedades 'Koroneiki' presente mayor estabilidad oxidativa, debido a que presenta un alto nivel de ácido oleico y bajos niveles de ácido linoleico y linolénico, además de su elevada concentración de fenoles totales y α-tocoferol.

#### 6. CONCLUSIONES

- Las nueve variedades de aceite de oliva estudiadas se clasifican dentro de la categoría virgen extra y presentan una excelente calidad, de acuerdo con los valores obtenidos de los parámetros analíticos.
- Las nueve variedades de aceite presentaron un alto contenido de ácidos grasos monoinsaturados, especialmente de ácido oleico, el cual resulta esencial para evitar la oxidación de lipoproteínas, permitiendo reducir los niveles de colesterol LDL y aumentar el colesterol HDL, resultando beneficiosos contra enfermedades cardíacas. 'Koroneiki', 'Leccino', 'Carrasqueña' y 'Manzanilla Chilena' presentaron el mayor contenido de este ácido graso, con valores superiores al 77%.
- Las variedades 'Koroneiki' y 'Kalamata' presentaron las mayores concentraciones de fenoles totales con valores de 562 y 704 mg/kg de aceite, respectivamente. La variedad `Kalamata' destaca por su alto contenido en Oleocantal, compuesto con propiedades antiproliferativas, intiinflamatoria y antioxidantes.
- Las variedades 'Liguria', 'Biancolilla', 'Manzanilla Chilena' y 'Empeltre' presentaron el mayor contenido de esteroles totales, con valores de 2333, 1750, 1710 y 1697 mg/kg de aceite, respectivamente. El β-sitoesterol es el esterol mayoritario del aceite de oliva virgen, alcanzando valores superiores al 94% en todas las variedades de aceite analizadas.
- Las variedades 'Liguria', 'Manzanilla Chilena' y 'Leccino', alcanzaron los niveles más altos de contenido de tocoferoles totales con 321, 253 y 251 mg/kg de aceite. El α-tocoferol es el tocoferol mayoritario del aceite de oliva, presentándose en una proporción de 95 a 100%.
- Los aceites de oliva virgen extra en estudio presentaron un elevado contenido de fenoles y tocoferoles, compuestos que brindan estabilidad a los aceites y contribuyen a su poder antioxidante. Estos compuestos además resultan

beneficiosos para la salud, ya que ayudan a prevenir enfermedades cardiovasculares, y en el caso de los fenoles ayudan a proteger de la hipertensión gracias a su poder vasodilatador.

 Se logró obtener información acerca de la calidad y composición de cada variedad de aceite de oliva virgen extra estudiada, por lo que es posible difundir aquellas variedades que provean las mejores características en composición química y aportes de componentes bioactivos para mejorar la oferta exportable de la industria olivícola nacional.

#### 7. REFERENCIAS

- Allalouts A., Krichène D., Methenni K., Taamalli A., Oueslati I., Daoud D. y Zarrouk M. 2009. Characterization of virgin olive oil from super intensive Spanish and greek varieties grown in northern Tunisia. [en línea] <a href="https://www.elsivier.com/locate/scihorti">www.elsivier.com/locate/scihorti</a> [consulta: 10 julio 2013]
- AOCS. 1993. Método de análisis para determinación de índice de acidez en aceites vegetales, method Cd 3d-63, Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemistry Society, 3th Edition.
- AOCS. 1993. Índice de peróxidos, método Cd 8b-90, Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemistry Society, 3th Edition.
- AOCS. 1993. Determinación de la extinción específica por absorción ultra-violeta, método Ch 5-91, Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemistry Society, 3th Edition.
- AOCS. 1993. Determinación de la composición de ácidos grasos, método Ce 2-66, Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemistry Society, 3th Edition.
- AOCS. 1993. Determination of tocopherols and tocotrienols in vegetable oils and fats by HPLC, método Ce 8-89, Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemistry Society, 3th Edition.
- Asoliva. 2012. Empeltre. [en línea] <a href="http://www.asoliva.com/aceite\_espanol/variedad.htm">http://www.asoliva.com/aceite\_espanol/variedad.htm</a>> [consulta: 08 junio 2012].
- Baiano A., Gambacorta G., Terracone C., Previtali M. A., Lamacchia C. y La Notte E. 2009. Changes in Phenolic Content and Antioxidant Activity of Italian Extra-Virgin Olive Oils during Storage [en línea] Journal of Food Science Vol. 74,

- Issue 2 March <a href="http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1750-3841.2009.01072.x/full">http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1750-3841.2009.01072.x/full</a> [consulta: 10 julio 2013]
- Barranco D. 2008. Variedades y patrones. En: Barranco, D., Fernández-Escobar, R. y Rallo, L. El cultivo del olivo. 6ª edición. España, Editorial Mundi-Prensa. pp. 73-91.
- Ceci L. y Carelli A. 2007. Characterization of monovarietal argentinian olive from new productive zones. [en línea] JAOCS, Journal of the America Oil Chemist's Society < http://www.deepdyve.com/lp/springer-journals/characterization-of-monovarietal-argentinian-olive-oils-from-new-j7c0v0XdSc> [consulta: 15 julio 2013]
- Ceci L. y Carelli A. 2010. Relation between oxidative stability and composition in Argentinian olive oils. [en línea] JAOCS, Journal of the America Oil Chemist's Society < http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11746-010-1598-6#page-1> [consulta: 15 julio 2013]
- ChileOliva. 2011. Informe anual del mercado nacional de aceite de oliva 2010.

  [en línea]

  <a href="http://www.chileoliva.cl/files/INFORME%20ANUAL%20DEL%20MERCADO%20">http://www.chileoliva.cl/files/INFORME%20ANUAL%20DEL%20MERCADO%20">http://www.chileoliva.cl/files/INFORME%20ANUAL%20DEL%20MERCADO%20">http://www.chileoliva.cl/files/INFORME%20ANUAL%20DEL%20MERCADO%20">http://www.chileoliva.cl/files/INFORME%20ANUAL%20DEL%20MERCADO%20">http://www.chileoliva.cl/files/INFORME%20ANUAL%20DEL%20MERCADO%20">http://www.chileoliva.cl/files/INFORME%20ANUAL%20DEL%20MERCADO%20">http://www.chileoliva.cl/files/INFORME%20ANUAL%20DEL%20MERCADO%20">http://www.chileoliva.cl/files/INFORME%20ANUAL%20DEL%20MERCADO%20">http://www.chileoliva.cl/files/INFORME%20ANUAL%20DEL%20MERCADO%20">http://www.chileoliva.cl/files/INFORME%20ANUAL%20DEL%20MERCADO%20">http://www.chileoliva.cl/files/INFORME%20ANUAL%20DEL%20MERCADO%20">http://www.chileoliva.cl/files/INFORME%20ANUAL%20DEL%20MERCADO%20">http://www.chileoliva.cl/files/INFORME%20ANUAL%20DEL%20MERCADO%20">http://www.chileoliva.cl/files/INFORME%20ANUAL%20DEL%20MERCADO%20">http://www.chileoliva.cl/files/INFORME%20ANUAL%20DEL%20MERCADO%20">http://www.chileoliva.cl/files/INFORME%20ANUAL%20DEL%20MERCADO%20">http://www.chileoliva.cl/files/INFORME%20ANUAL%20DEL%20MERCADO%20">http://www.chileoliva.cl/files/INFORME%20ANUAL%20DEL%20MERCADO%20">http://www.chileoliva.cl/files/INFORME%20ANUAL%20DEL%20MERCADO%20">http://www.chileoliva.cl/files/INFORME%20ANUAL%20DEL%20MERCADO%20">http://www.chileoliva.cl/files/INFORME%20ANUAL%20
- ChileOliva. 2012. Todo sobre el aceite de oliva: sus orígenes en el mundo. [en línea]
  <a href="http://www.chileoliva.cl/index.php?option=com\_content&view=article&id=62&Itemid=69&lang=es">http://www.chileoliva.cl/index.php?option=com\_content&view=article&id=62&Itemid=69&lang=es</a> [consulta: 04 junio 2012].
- ChileOliva. 2012. Todo sobre el aceite de oliva: la Oliva en Chile. [en línea] <a href="http://www.chileoliva.cl/index.php?option=com\_content&view=article&id=62&Itemid=69&Iang=es">http://www.chileoliva.cl/index.php?option=com\_content&view=article&id=62&Itemid=69&Iang=es</a> [consulta: 09 junio 2012].

- ChileOliva. 2012. Todo sobre el aceite de oliva: proceso de obtencion. [en línea] <a href="http://www.chileoliva.cl/index.php?option=com\_content&view=article&id=65&ltemid=71&lang=es">http://www.chileoliva.cl/index.php?option=com\_content&view=article&id=65&ltemid=71&lang=es</a> [consulta: 09 junio 2012].
- COI. 2012. Denominaciones y Definiciones de los Aceites de Oliva. [en línea] <a href="http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/83-designations-and-definitions-of-olive-oils">http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/83-designations-and-definitions-of-olive-oils</a> [consulta: 03 julio, 2012].
- COI. 2010. Norma COI/T.15/NC n º 3/Rev. 05 de noviembre 2010. [en línea] <a href="http://www.internationaloliveoil.org/documents/viewfile/3617-normaesp">http://www.internationaloliveoil.org/documents/viewfile/3617-normaesp</a> [consulta: 20 abril 2013].
- COI. 2001. Preparación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos del aceite de oliva y el aceite de orujo de oliva. Norma COI/T.20/Doc. nº 24, 2001.
- COI. 2001. Determinación de la composición y del contenido en esteroles mediante cromatografía de gases con columna capilar. Norma COI/ T.20/ Doc. nº 10/Rev. 1, 2001.
- Dag A, Kerem Z, Yogev N, Zipori I, Lavee S y Ben-David E (2011). "Influence of time of harvest and maturity index on olive oil yield and quality". Scientia Horticulturae, Vol 127, páginas 358–366.
- Del Carlo M (2006). Characterization of extra olive oil obtained from different cultivars. Revista Pomología Croatica, Vol 12 Nº1, páginas 29-41.
- Di Giovacchino L. 2003. Aspectos tecnológicos. En: Aparicio R. y Harwood J. Manual del aceite de oliva. España, Ediciones Mundi-Prensa. pp 33-68.
- FIA. 2003. Estrategia comercial para el aceite de oliva chileno. [en línea] <a href="http://www.fia.cl/difus/boletin/bololiv/bonoviembre2003.PDF">http://www.fia.cl/difus/boletin/bololiv/bonoviembre2003.PDF</a> [consulta: 12 julio 2012].

- Gil Á. y López M. 2010. Tratado de nutrición, tomo II. Composición y calidad nutritiva de los alimentos. 2ª edición. España, Editorial Médica Panamericana. pp. 258-263.
- Giuffre A y Louadi L (2012). "Influence of crop season and cultivar son the sterol composition of olive oil in the región of Calabri (Italy)". Revista Ciencias de la alimentación Checa, Vol 31, Nº31, páginas 256-263.
- Han et al. 2013. Uso del oleocantal principal irritante en aceite de oliva, así como compuestos estructural y funcionalmente similares. [en línea] <a href="http://patentados.com/patente/uso-oleocantal-principal-irritante-aceite-oliva-asi/">http://patentados.com/patente/uso-oleocantal-principal-irritante-aceite-oliva-asi/</a> [consulta: 20 julio 2013]
- Hermoso, M., Uceda, M., Frias, L. y Beltran, G. 2000. Maduración en el cultivo del olivo. En: Barranco, D., Fernández-Escobar, R. y Rallo, L. El cultivo del olivo. 6ª edición. España, Editorial Mundi-Prensa. pp 153-166.
- Humanes J. 1995. Técnicas de cultivo y calidad del aceite de oliva. En: Porras, A., Cabrera, J. y Soriano, M. Olivicultura y elaiotecnia. España, Servicio de Publicaciones de la Universidad de Castilla-La Mancha. pp 280 285.
- INIA. 2001. Variedades y portainjertos. Descripción de variedades tradicionales. Liguria. [en línea] <a href="http://www.inia.cl/medios/biblioteca/boletines/NR30542.pdf">http://www.inia.cl/medios/biblioteca/boletines/NR30542.pdf</a> [consulta: 08 junio 2012].
- INIA. 2001. Variedades y portainjertos. Descripción de variedades tradicionales.

  Manzanilla Chilena. [en línea]
  <a href="http://www.inia.cl/medios/biblioteca/boletines/NR30542.pdf">http://www.inia.cl/medios/biblioteca/boletines/NR30542.pdf</a>> [consulta: 07 junio 2012].
- INIA. 2010. Comportamiento productivo e industrial de variedades de olivo de interés. [en línea] Revista Tierra Adentro, Instituto de Investigaciones

- Agropecuarias. N° 91. < http://www.inia.cl/wp-content/uploads/revista\_tierra\_adentro/TA91.pdf> [consulta: 13 julio 2013]
- Jiménez B. y Carpio A. 2002. La cata de aceite: aceite de oliva virgen, propiedades organolépticas y análisis sensorial. [en línea] <a href="http://www.besana.es/sites/default/files/la\_cata\_de\_aceites\_baja\_0.pdf">http://www.besana.es/sites/default/files/la\_cata\_de\_aceites\_baja\_0.pdf</a> [consulta: 15 mayo 2013]
- Loyola N., López R. y Acuña C. 2008. Evaluación sensorial y analítica de la calidad de aceites de oliva extra virgen. Chile, Universidad Católica del Maule, Departamento de Ciencias Agrarias. Revista Idesia, Vol 26.
- Lozano J., Segura A. y Fernández A. 2010. Composición química del aceite de oliva. En: Fernández A. y Segura A. El Aceite de Oliva Virgen: Tesoro de Andalucía. España. pp. 195-224.
- Lucchetti S., Argiolas A. y Pastore G. 2011. Chemical and physical changes occurring in extra virgin olive oil used as a covering médium for vegetable preserves. [en línea] Italian Journal of Food Science. Vol. 23, Issue 4 October < http://connection.ebscohost.com/c/articles/75286101/chemical-physical-changes-occurring-extra-virgin-olive-oil-used-as-covering-medium-vegetable-preserves> [consulta: 10 julio 2013]
- Mateos R., Espartero J., Trujillo M., Rios J., Leon-Camacho M. Alcudia Felipe and Cert A. 2001. Determination of phenols, flavones, and lignans in virgen olive oils by solid phase extraction and high performance liquid chromatography with diode array ultraviolet detection. J. Agric. Food Chem. pp 49, 2185-2192.
- ODEPA. 2010. Aceite de Oliva en Chile. [en línea] <a href="http://www.odepa.gob.cl/odepaweb/publicaciones/doc/2394.pdf">http://www.odepa.gob.cl/odepaweb/publicaciones/doc/2394.pdf</a> [consulta: 17 junio 2012]

- ODEPA. 2012. Aceite de Oliva. [en línea] <a href="http://www.odepa.gob.cl/odepaweb/publicaciones/doc/4878.pdf">http://www.odepa.gob.cl/odepaweb/publicaciones/doc/4878.pdf</a> [consulta: 17 junio 2012]
- ODEPA. 2011. Dinámica Productiva y Comercial. [en línea] <a href="http://www.odepa.gob.cl//odepaweb/publicaciones/doc/4292.pdf;jsessionid=9EBE0FC001F3DABCD2A09822A3EE4A07">http://www.odepa.gob.cl//odepaweb/publicaciones/doc/4292.pdf;jsessionid=9EBE0FC001F3DABCD2A09822A3EE4A07</a> [consulta: 16 junio 2012].
- ODEPA. 2012. Actualización del catastro de la agroindustria hortofrutícola chilena. [En línea]<a href="http://www.odepa.gob.cl/odepaweb/servicios-informacion/publica/Catastro\_Agroindustrial\_Informe\_final.pdf">http://www.odepa.gob.cl/odepaweb/servicios-informacion/publica/Catastro\_Agroindustrial\_Informe\_final.pdf</a> [consulta: 12 julio 2012].
- Oliveras M. 2005. Calidad del aceite de oliva virgen extra. Antioxidantes y función biológica. Tesis Doctoral (Doctor en Farmacia). España, Universidad de Granada, Facultad de Farmacia pp. 14-17.
- Ortuzar M 2013. Influencia de la latitud y variedad de cultivo en la evolución de los compuestos responsables del flavor (fenoles y volátiles) en aceites de oliva extra virgen. Memoria para optar al título de Ingeniera en Alimentos. Santiago, Universidad de Chile.
- PROCHILE. 2010. Aceite de olive. Zonas productoras. [en línea] <a href="http://test.prochile.cl/importadores/oferta-exportable/agr%C3%ADcola-y-alimento/aceite-de-oliva">http://test.prochile.cl/importadores/oferta-exportable/agr%C3%ADcola-y-alimento/aceite-de-oliva</a>> [consulta: 12 julio 2012].
- Sánchez J., Bueno E., Montaño A. y Martínez M. 2002. Contenido en esteroles de siete variedades de aceituna producidas en la región extremeña [en línea] < http://www.expoliva.com/expoliva2003/simposium/comunicaciones/Tec-01-Texto.pdf> [Consulta: 17 julio 2013].

Sovena Group. 2012. Tipos de Aceitunas. España. [en línea] <a href="http://www.sovenagroup.com/es/group/produtos/azeite/tipos/espanha">http://www.sovenagroup.com/es/group/produtos/azeite/tipos/espanha> [consulta: 08 Junio 2012]. Sovena Group. 2012. **Tipos** Aceitunas. Italia. de [en líneal <a href="http://www.sovenagroup.com/es/group/produtos/azeite/tipos/italia">http://www.sovenagroup.com/es/group/produtos/azeite/tipos/italia</a> [consulta: 08] junio 2012]. Troncoso, H., Jamett, F., Benavidez, A. y Astorga, M. 2006. Caracterización química de aceites de oliva producidos en zonas de la Región de Coquimbo. Boletín INIA 153. Instituto de Investigaciones Agropecuarias Intihuasi, La Serena, Chile. 30p. Provedo. 2010. Viveros Biancolilla. [en línea] <a href="http://www.variedadesdeolivo.com/vivero">http://www.variedadesdeolivo.com/vivero</a> planta de olivo/999/biancolilla/> [consulta: 08 junio 2012]. Viveros Provedo. 2010. Carrasqueña. línea] [en <a href="http://www.variedadesdeolivo.com/vivero\_planta\_de\_olivo/159/carrasquena/">http://www.variedadesdeolivo.com/vivero\_planta\_de\_olivo/159/carrasquena/</a> [consulta: 08 junio 2012]. Viveros Provedo. 2010. Empeltre. línea] [en <a href="http://www.variedadesdeolivo.com/vivero\_planta\_de\_olivo/231/empeltre/">http://www.variedadesdeolivo.com/vivero\_planta\_de\_olivo/231/empeltre/</a> [consulta: 08 junio 2012]. Viveros Provedo. 2010. Itrana. [en línea] <a href="http://www.variedadesdeolivo.com/vivero\_planta\_de\_olivo/1131/itrana/">http://www.variedadesdeolivo.com/vivero\_planta\_de\_olivo/1131/itrana/</a> [consulta: 08 junio 2012]. 2010. Viveros Provedo. Kalamon. línea] [en

<a href="http://www.variedadesdeolivo.com/vivero\_planta\_de\_olivo/829/kalamon/">http://www.variedadesdeolivo.com/vivero\_planta\_de\_olivo/829/kalamon/</a>

[consulta: 07 junio de 2012].

Weissbein S (2006). "Characterization of new olive varieties response to irrigation with saline water in the ramat negev area". Departamento de Bioquimica, Universidad Ben-Gurion del Negev, Israel.

### 8. ANEXOS

### Anexo 1: Índice de madurez

Clase 0: Piel verde intenso.

Clase 1: Piel verde amarillento.

Clase 2: Piel verde con manchas rojizas en menos de la mitad del fruto. Inicio de envero.

Clase 3: Piel rojiza o morada en más de la mitad del fruto. Final de envero.

Clase 4: Piel negro y pulpa blanca.

Clase 5: Piel negra y pulpa morada sin llegar a la mitad de la pulpa.

Clase 6: Piel negra y pulpa morada sin llegar al hueso

Clase 7: Piel negra y pulpa morada totalmente hasta el hueso.

Siendo A, B, C, D, E, F, G, H, el número de frutos de las clases: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, respectivamente el índice de madurez se obtiene por la fórmula:

I.M. = 
$$\underline{A*0} + \underline{B*1} + \underline{C*2} + \underline{D*3} + \underline{E*4} + \underline{F*5} + \underline{G*6} + \underline{H*7}$$
 (Hermoso et al, 2008)

Anexo 2: Cromatografía de gases para análisis de ácidos grasos

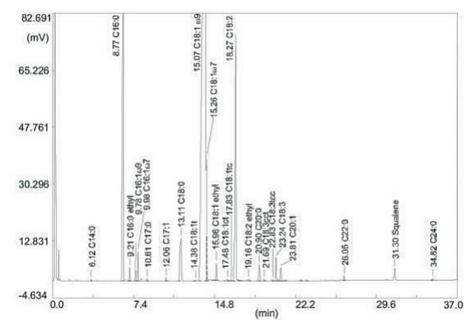


Figura 8. Perfil cromatográfico de un aceite de oliva virgen con el método de metilación en frío. Los picos cromatográficos corresponden a los esteres metílicos, excepto aquellos que se indica otra cosa.

Anexo 3: Determinación de la composición y contenido de esteroles y alcoholes triterpénicos

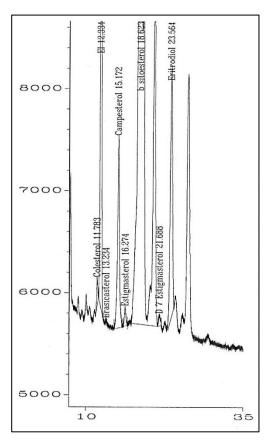


Figura 9. Cromatograma esteroles de un aceite de oliva virgen extra.

Anexo 4: Determinación de la composición de tocoferoles

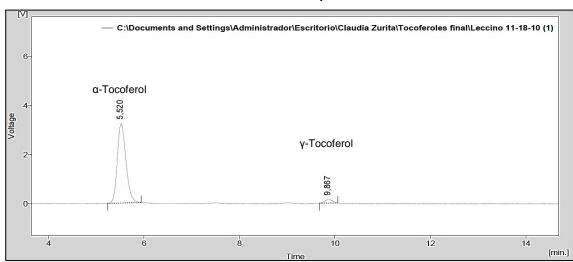


Figura 10. Cromatograma de un aceite de oliva virgen extra de la variedad Leccino.

## Anexo 5: Criterios de Calidad

Tabla 11. Criterios de calidad

	Aceite de oliva	Aceite de	Aceite de	Aceite de
	virgen extra	oliva virgen	oliva refinado	orujo de oliva
Características organolépticas	_	_		-
<u></u>				
-olor y sabor			aceptable	bueno
-olor y sabor				
(sobre una escala continua)				
	Me = 0	0 < Me ≤ 3,5		
mediana del defecto	Me > 0	Me > 0		
mediana del frutado				
-color			amarillo claro	claro, amarillo a verde
-aspecto a 20°C			Manual dia	Mara and all a
durante 24 horas			límpido	límpido
Acidez libre				
%m/m	≤ 0,8	≤ 2,0	≤ 0,3	≤ 1,0
expresada en ácido oleico				
<u>Índice de peróxidos</u>				
en meq. de oxígeno	≤ 20	≤ 20	≤5	≤ 15
de los peróxidos por kg de aceite	3 20	3 20	33	3 13
Absorbancia en UV K <sub>1cm</sub> 1%				
270 nm(ciclohexano)/268 nm	≤ 0,22	≤ 0,25	≤ 1,10	≤ 1,70
(isoctano)	≤ 0,01	≤ 0,01	≤ 0,16	≤ 0,18
-ΔK	≤ 2,50**	≤ 2,60**		_ 5,_5
-232 nm	,	,		
Contenido en agua y en materias				
<u>volátiles</u>	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,1	≤ 0,1
%m/m				
Contenido de impurezas insolubles en	<b>401</b>	<01	< 0.0F	< 0.05
el éter de petróleo %m/m	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,05	≤ 0,05
Trazas metálicas				
mg/kg	≤ 3,0	≤ 3,0	≤ 3,0	≤ 3,0
hierro	≤ 3,0 ≤ 0,1	≤ 3,0 ≤ 0,1	≤ 3,0 ≤ 0,1	≤ 3,0 ≤ 0,1
cobre		_ 5,1	_ 5,1	_ 5,1
	-∑FAME + FAEE ≤			
4	75 mg/kg			
Ésteres metílicos de ácidos grasos	-∑FAME + FAEE >			
(FAME, por sus siglas en inglés) y	75 mg/kg			
ésteres etílicos de ácidos grasos (FAEE,	γ ≤ 150 mg/kg			
por sus siglas en inglés)	γ relacón			
	FAEE/FAME ≤ 1.5			
++ l:				

<sup>\*\*</sup> Los socios comerciales del país en que se venda al por menor podrán exigir que se respeten estos límites cuando el aceite se ponga a disposición del consumidor final.

Fuente: COI/T.15/NC n°3/Rev. 5.

#### Anexo 6: Análisis estadístico acidez libre

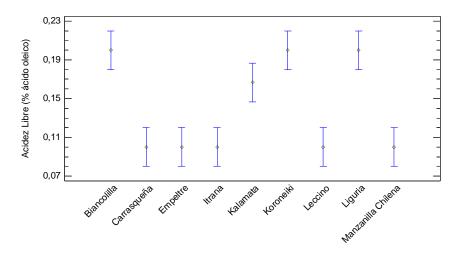
Tabla 12. ANOVA para acidez libre por variedad.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,117037	8	0,0146296	12,34	0,0000
Intra grupos	0,0533333	45	0,00118519		
Total (Corr.)	0,17037	53			

Tabla13. Pruebas de múltiple rangos para acidez libre por variedad, según método 95,0 % LSD.

Variedad	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Leccino	6	0,1	X
Itrana	6	0,1	X
Carrasqueña	6	0,1	X
Manzanilla Chilena	6	0,1	X
Empeltre	6	0,1	X
Kalamata	6	0,166667	X
Koroneiki	6	0,2	X
Liguria	6	0,2	X
Biancolilla	6	0,2	X

Medias y 95,0% de Fisher LSD



Anexo 7: Análisis estadístico índice de peróxidos

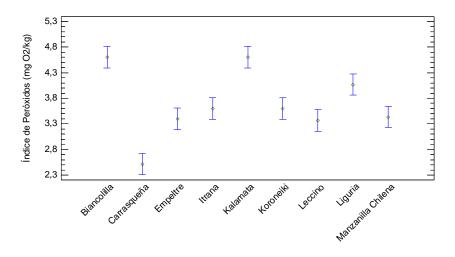
Tabla 14. ANOVA para índice de peróxidos por variedad.

Fuente	Suma de Cuadrados	G	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	20,6726	8	2,58407	20,23	0,0000
Intra grupos	5,74833	45	0,127741		
Total (Corr.)	26,4209	53			

Tabla 15. Pruebas de múltiple rangos para índice de peróxidos por variedad, según método 95,0 % LSD.

	_		
Muestra	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Carrasqueña	6	2,51667	X
Leccino	6	3,36667	X
Empeltre	6	3,4	X
Manzanilla Chilena	6	3,43333	X
Koroneiki	6	3,6	X
Itrana	6	3,6	X
Liguria	6	4,06667	X
Biancolilla	6	4,6	X
Kalamata	6	4,6	X

Medias y 95,0% de Fisher LSD



Anexo 8: Análisis estadístico coeficiente de extinción

Tabla16. ANOVA para K<sub>270</sub> por Muestra.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,0111852	8	0,00139815	7,70	0,0002
Intra grupos	0,00326667	18	0,000181481		
Total (Corr.)	0,0144519	26			

Tabla17. Pruebas de múltiple rangos para  $K_{270}$  por variedad, según método 95,0 % LSD.

Muestra	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Carrasqueña	3	0,116667	X
Empeltre	3	0,13	XX
Biancolilla	3	0,146667	XX
Leccino	3	0,156667	XX
Itrana	3	0,16	XX

Manzanilla Chilena	3	0,163333	XXX
Kalamata	3	0,173333	XX
Liguria	3	0,173333	XX
Koroneiki	3	0,183333	X

Medias y 95,0% de Fisher LSD

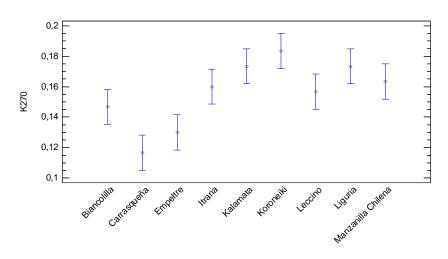
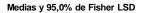


Tabla 18. ANOVA para Delta K por Muestra.

Fuente	Suma de Cuadrados	ō	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,00017497	8	0,0000218712	10,39	0,0000
Intra grupos	0.0000379	18	0,00000210556		

Tabla 19. Pruebas de Múltiple Rangos para Delta K por Muestra, según método 95,0 % LSD.

Casos	Media	Grupos Homogéneos
3	0,000633333	X
3	0,002	XX
3	0,00313333	X
3	0,00326667	X
3	0,00326667	X
3	0,00366667	X
3	0,0039	X
3	0,0084	X
3	0,00866667	X
	3 3 3 3 3 3 3 3	3 0,002 3 0,00313333 3 0,00326667 3 0,00326667 3 0,00366667 3 0,0039 3 0,0084



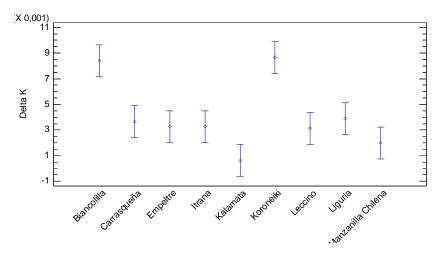


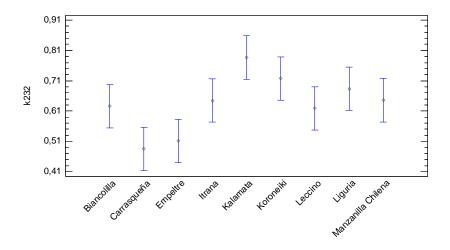
Tabla 20. ANOVA para K<sub>232</sub> por Variedad

Fuente	Suma de Cuadrados	G	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,211977	8	0,0264972	3,80	0,0089
Intra grupos	0,125565	18	0,00697585		
Total (Corr.)	0,337543	26			

Tabla 21. Pruebas de Múltiple Rangos para K<sub>232</sub> por Variedad, según método 95,0 % LSD

Variedad	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Carrasqueña	3	0,485	X
Empeltre	3	0,511333	XX
Leccino	3	0,618667	XXX
Biancolilla	3	0,626	XXX
Itrana	3	0,644667	XXX
Manzanilla Chilena	3	0,646	XXX
Liguria	3	0,683667	XX
Koroneiki	3	0,717667	XX
Kalamata	3	0,787	X

## Medias y 95,0% de Fisher LSD



Anexo 9: Perfil de ácidos grasos

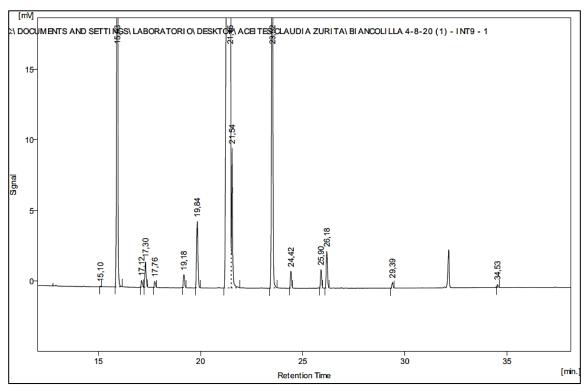


Figura 11. Perfil de ácidos grasos de una variedad 'Biancolilla'.

Anexo 10: Análisis estadístico ácidos grasos

Tabla 22. ANOVA para Ácido Palmítico C16:0 por Variedad

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	46,96	8	5,87	18,40	0,0000
Intra grupos	14,355	45	0,319		
Total (Corr.)	61,315	53			

Tabla 23. Pruebas de Múltiple Rangos para Ácido Palmítico C16:0 por Variedad, según método 95,0% LSD

Variedad	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Koroneiki	6	11,3333	X
Carrasqueña	6	11,6167	X
Biancolilla	6	11,65	XX
Itrana	6	12,3	XX
Liguria	6	12,6833	XX
Leccino	6	12,7167	XX
Manzanilla Chilena	6	12,9833	X
Empeltre	6	13,1	X
Kalamata	6	14,5667	X

Medias y 95,0% de Fisher LSD

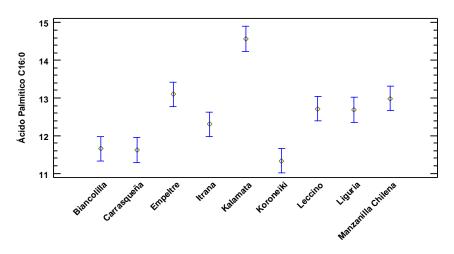


Tabla 24. ANOVA para Palmitoleico C16:1 por Variedad

	Table 2 11 / 11 to 1 / 1 para 1 animiologo o 1011 por Tarioada					
Fuente	Suma de Cuadrados	ō	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P	
Entre grupos	8,07	8	1,00875	132,21	0,0000	
Intra grupos	0,343333	45	0,00762963			
Total (Corr.)	8,41333	53				

Tabla 25. Pruebas de Múltiple Rangos para Palmitoleico C16:1 por Variedad, según método 95,0% LSD

Variedad	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Biancolilla	6	0,7	X
Carrasqueña	6	0,75	X
Koroneiki	6	0,75	X
Itrana	6	0,916667	X
Liguria	6	1,1	X
Leccino	6	1,11667	X
Manzanilla Chilena	6	1,13333	X
Empeltre	6	1,18333	X
Kalamata	6	2,05	X

Medias y 95,0% de Fisher LSD

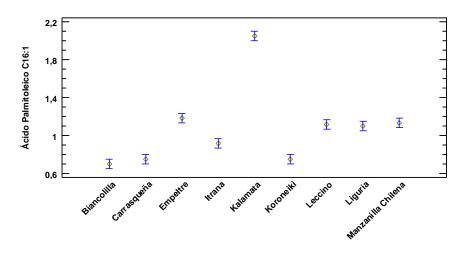


Tabla 26. ANOVA para C16:1 w7 por Variedad

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	8,06704	8	1,00838	145,59	0,0000
Intra grupos	0,311667	45	0,00692593		
Total (Corr.)	8,3787	53			

Tabla 27. Pruebas de Múltiple Rangos para C16:1 w7 por Variedad, según método 95,0 % LSD.

Variedad	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Biancolilla	6	0,6	X
Carrasqueña	6	0,65	X
Koroneiki	6	0,65	X
Itrana	6	0,816667	X
Liguria	6	0,983333	X
Leccino	6	1,01667	XX
Manzanilla Chilena	6	1,03333	XX
Empeltre	6	1,08333	X
Kalamata	6	1,95	X

Medias y 95,0% de Fisher LSD

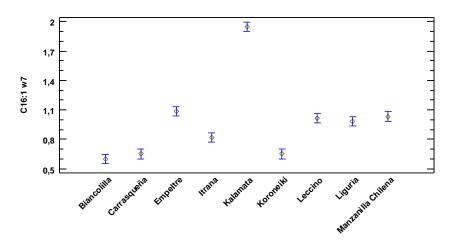


Tabla 28. ANOVA para C16:1 w9 por Variedad

Fuente	Suma de Cuadrados	ច	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,00148148	8	0,000185185	1,00	0,4494
Intra grupos	0,00833333	45	0,000185185		
Total (Corr.)	0,00981481	53			

Tabla 29. Pruebas de Múltiple Rangos para C16:1 w9 por Variedad, según método 95,0 % LSD.

Variedad	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Biancolilla	6	0,1	X
Empeltre	6	0,1	X
Carrasqueña	6	0,1	X
Kalamata	6	0,1	X
Koroneiki	6	0,1	X
Leccino	6	0,1	X
Itrana	6	0,1	X
Manzanilla Chilena	6	0,1	X
Liguria	6	0,116667	X

Medias y 95,0% de Fisher LSD

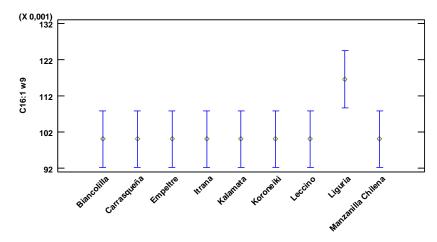


Tabla 30. ANOVA para Ácido Esteárico C18:0 por Variedad

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	8,18704	8	1,02338	81,75	0,0000
Intra grupos	0,563333	45	0,0125185		
Total (Corr.)	8,75037	53			

Tabla 31. Pruebas de Múltiple Rangos para Ácido Esteárico C18:0 por Variedad, según método 95,0% LSD.

Variedad	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Biancolilla	6	1,65	X
Itrana	6	1,76667	X
Empeltre	6	1,93333	X
Manzanilla Chilena	6	2,05	XX
Leccino	6	2,08333	X
Liguria	6	2,13333	X
Kalamata	6	2,28333	X
Koroneiki	6	2,28333	X
Carrasqueña	6	3,08333	X

Medias y 95,0% de Fisher LSD

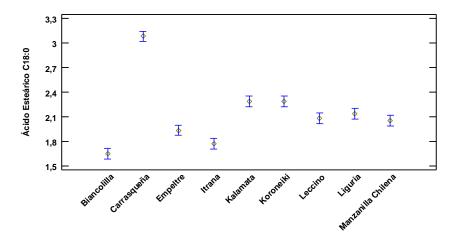


Tabla 32. ANOVA para Oleico C18:1 por Variedad

Fuente	Suma de Cuadrados	G	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	656,55	8	82,0687	132,57	0,0000
Intra grupos	27,8583	45	0,619074		
Total (Corr.)	684.408	53			

Tabla 33. Pruebas de Múltiple Rangos para Oleico C18:1 por Variedad, según método 95,0% LSD

Variedad	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Kalamata	6	69,3833	X
Liguria	6	69,4833	X
Biancolilla	6	73,6333	X
Empeltre	6	74,2167	X
Itrana	6	76,75	X
Manzanilla Chilena	6	77,6833	X
Carrasqueña	6	77,75	X
Leccino	6	77,9167	X
Koroneiki	6	79,3333	X

Medias y 95,0% de Fisher LSD

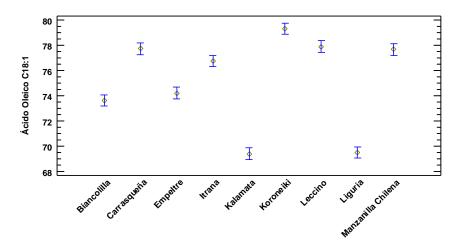


Tabla 34. ANOVA para C18:1 w7 (%) por Muestra

Fuente	Suma de Cuadrados	ō	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	9,88333	8	1,23542	51,00	0,0000
Intra grupos	1,09	45	0,0242222		
Total (Corr.)	10.9733	53			

Tabla 35. Pruebas de Múltiple Rangos para C18:1 w7 (%) por Muestra, según método 95,0% LSD.

Muestra	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Carrasqueña	6	2,36667	X
Koroneiki	6	2,6	X
Liguria	6	2,75	XX
Biancolilla	6	2,83333	X
Leccino	6	3,16667	X
Itrana	6	3,18333	X
Manzanilla Chilena	6	3,2	X
Empeltre	6	3,46667	X
Kalamata	6	3,83333	X

Medias y 95,0% de Fisher LSD

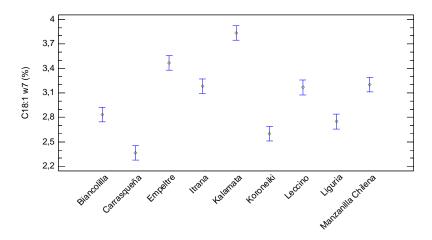


Tabla 36. ANOVA para C18:1 w9 (%) por Muestra

Fuente	Suma de Cuadrados	G	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	733,893	8	91,7367	150,43	0,0000
Intra grupos	27,4417	45	0,609815		
Total (Corr.)	761,335	53			

Tabla 37. Pruebas de Múltiple Rangos para C18:1 w9 (%) por Muestra, según método 95,0% LSD

Muestra	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Kalamata	6	65,55	X
Liguria	6	66,7333	X
Empeltre	6	70,75	X
Biancolilla	6	70,8	X
Itrana	6	73,5667	X
Manzanilla Chilena	6	74,4833	X
Leccino	6	74,75	X
Carrasqueña	6	75,3833	X
Koroneiki	6	76,7333	X

### Medias y 95,0% de Fisher LSD

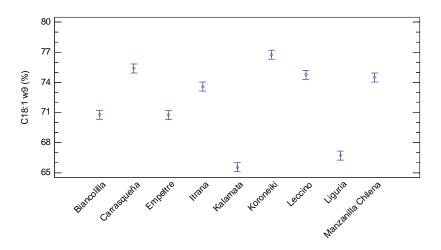


Tabla 38. ANOVA para Ácido Linoleico C18:2 por Variedad

		-			
Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	454,048	8	56,756	228,55	0,0000
Intra grupos	11,175	45	0,248333		
Total (Corr.)	465,223	53			

Tabla 39. Pruebas de Múltiple Rangos para Ácido Linoleico C18:2 por Variedad, según método 95,0% LSD

30,0 /0 LOD			
Variedad	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Manzanilla Chilena	6	4,91667	X
Leccino	6	5,0	X
Koroneiki	6	5,01667	X
Carrasqueña	6	5,48333	X
Itrana	6	6,78333	X
Empeltre	6	7,45	X
Biancolilla	6	10,3667	X
Kalamata	6	10,6	X
Liguria	6	13,3667	X

Medias y 95,0% de Fisher LSD

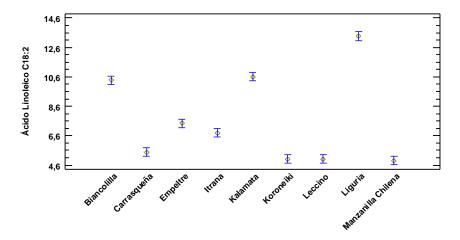


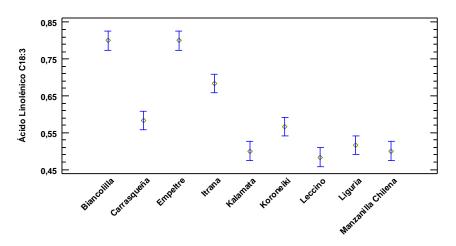
Tabla 40. ANOVA para Ácido Linolénico C18:3 por Variedad

Fuente	Suma de Cuadrados	ō	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,772593	8	0,0965741	50,14	0,0000
Intra grupos	0,0866667	45	0,00192593		
Total (Corr.)	0,859259	53			

Tabla 41. Pruebas de Múltiple Rangos para Ácido Linolénico C18:3 por Variedad, según método 95,0% LSD

Variedad	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Leccino	6	0,483333	X
Manzanilla Chilena	6	0,5	X
Kalamata	6	0,5	X
Liguria	6	0,516667	XX
Koroneiki	6	0,566667	XX
Carrasqueña	6	0,583333	X
Itrana	6	0,683333	X
Empeltre	6	0,8	X
Biancolilla	6	0,8	X

## Medias y 95,0% de Fisher LSD



Anexo 11: Determinación de la composición de compuestos fenólicos

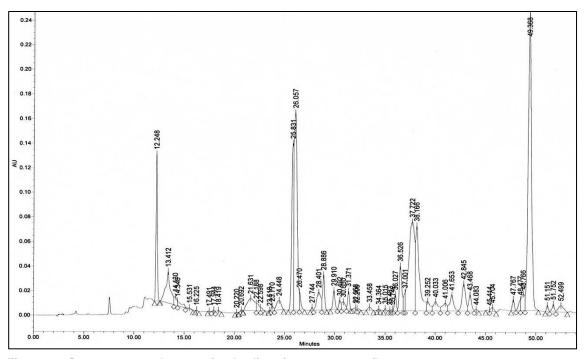


Figura 12. Cromatograma de un aceite de oliva virgen extra a 235 nm.

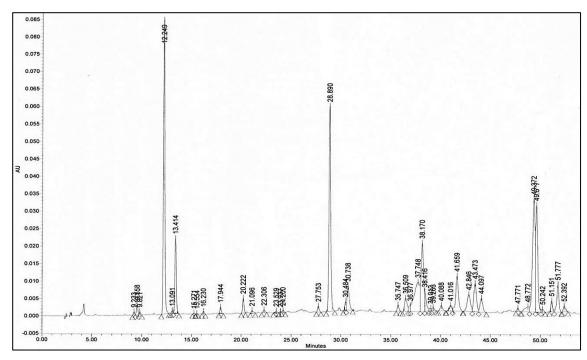


Figura 13. Cromatograma de un aceite de oliva virgen extra a 280 nm.

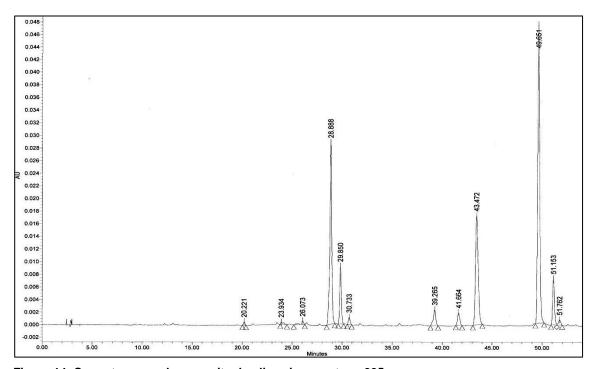


Figura 14. Cromatograma de un aceite de oliva virgen extra a 335 nm.

Anexo 12: Análisis estadístico fenoles totales

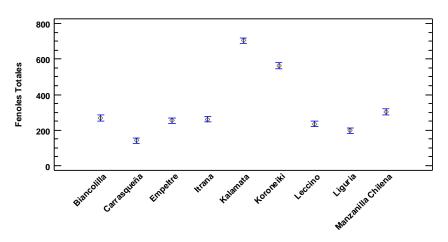
Tabla 42. ANOVA para Fenoles Totales por Variedad

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1,08234E6	8	135293,	286,84	0,0000
Intra grupos	12735,0	27	471,667		
Total (Corr.)	1.09508E6	35			

Tabla 43. Pruebas de Múltiple Rangos para Fenoles Totales por Variedad, según método 95,0% LSD

Variedad	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Carrasqueña	4	141,0	X
Liguria	4	198,25	X
Leccino	4	235,25	X
Empeltre	4	253,0	XX
Itrana	4	261,0	XX
Biancolilla	4	267,5	X
Manzanilla Chilena	4	303,25	X
Koroneiki	4	562,25	X
Kalamata	4	703,5	X

Medias y 95,0% de Fisher LSD



Anexo 13: Análisis Estadístico Esteroles

Tabla 44. ANOVA para Campesterol (%) por Variedad

rubia 44.74.40 17. para camposici ci (70) por variouau					
Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	3,4	8	0,425	2,18	0,0808
Intra grupos	3,50667	18	0,194815		
Total (Corr.)	6,90667	26			

Tabla 45. Pruebas de Múltiple Rangos para Campesterol (%) por Variedad, según método 95,0% LSD

Variedad	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Leccino	3	2,83333	X
Kalamata	3	3,06667	XX
Liguria	3	3,06667	XX
Empeltre	3	3,43333	XXX
Manzanilla Chilena	3	3,46667	XXX
Biancolilla	3	3,7	XX
Itrana	3	3,76667	XX
Carrasqueña	3	3,8	XX
Koroneiki	3	3,86667	X

Medias y 95,0% de Fisher LSD

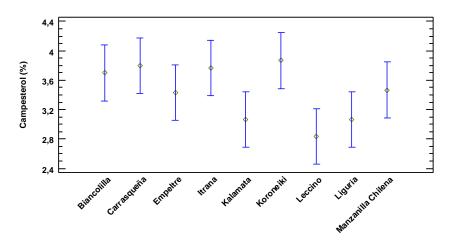


Tabla 46. ANOVA para Beta-Sitosterol (%) por Variedad

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	4,7	8	0,5875	2,46	0,0538
Intra grupos	4,3	18	0,238889		
Total (Corr.)	9,0	26			

Tabla 47. Pruebas de Múltiple Rangos para Beta-Sitosterol (%) por Variedad, según método 95,0% LSD

Variedad	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Carrasqueña	3	94,8333	X
Itrana	3	94,9	X
Biancolilla	3	95,3	XX
Koroneiki	3	95,3333	XX
Manzanilla Chilena	3	95,4333	XX
Empeltre	3	95,5	XX

Kalamata	3	95,8	X
Leccino	3	96,0	X
Liguria	3	96,1	X

Medias y 95,0% de Fisher LSD

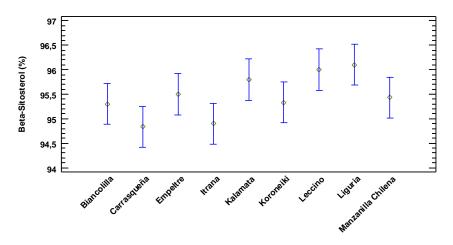


Tabla 48. ANOVA para Esteroles Totales (mg/kg) por Variedad

Fuente	Suma de Cuadrados	ō	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2,62427E6	8	328033,	12,54	0,0000
Intra grupos	470919,	18	26162,2		
Total (Corr.)	3,09519E6	26			

Tabla 49. Pruebas de Múltiple Rangos para Esteroles Totales (mg/kg) por Variedad, según método 95,0% LSD

Variedad	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Carrasqueña	3	1171,67	X
Kalamata	3	1323,67	XX
Koroneiki	3	1428,0	XXX
Itrana	3	1536,33	XXX
Leccino	3	1578,33	XXX
Manzanilla Chilena	3	1634,33	XX
Empeltre	3	1696,67	XX
Biancolilla	3	1786,67	X
Liguria	3	2332,33	X

Medias y 95,0% de Fisher LSD

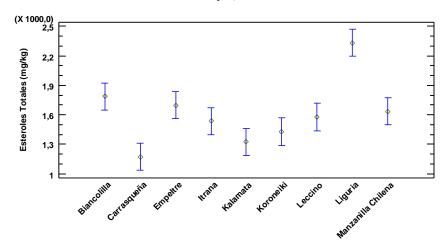


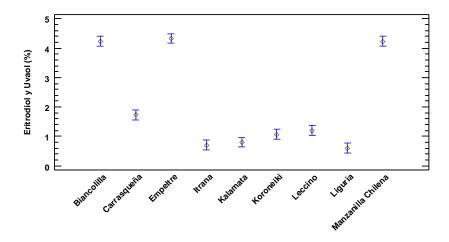
Tabla 50. ANOVA para Eritrodiol y Uvaol (%) por Variedad

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	66,0067	8	8,25083	220,57	0,0000
Intra grupos	0,673333	18	0,0374074		
Total (Corr.)	66,68	26			

Tabla 51. Pruebas de Múltiple Rangos para Eritrodiol y Uvaol (%) por Variedad, según método 95,0% LSD

Casos	Media	Grupos Homogéneos
3	0,6	X
3	0,7	X
3	0,8	XX
3	1,06667	XX
3	1,2	X
3	1,73333	X
3	4,23333	X
3	4,23333	X
3	4,33333	X
	3 3 3 3 3 3 3 3	3 0,7 3 0,8 3 1,06667 3 1,2 3 1,73333 3 4,23333 3 4,23333

Medias y 95,0% de Fisher LSD



Anexo 9: Análisis estadístico tocoferoles

Tabla 52. ANOVA para Alfa Tocoferol (mg/kg) por Muestra

Fuente	Suma de Cuadrados	G	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	34316,3	8	4289,54	6,30	0,0006
Intra grupos	12260,7	18	681,148		
Total (Corr.)	46577,0	26			

Tabla 53. Pruebas de Múltiple Rangos para Alfa Tocoferol (mg/kg) por Muestra. Según método 95,0% LSD

Muestra	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Koroneiki	3	182,333	X
Biancolilla	3	189,0	X
Carrasqueña	3	198,333	X
Itrana	3	204,0	XX
Empeltre	3	210,667	XX
Kalamata	3	210,667	XX
Leccino	3	245,333	X
Manzanilla Chilena	3	246,333	X
Liguria	3	302,667	X

# Medias y 95,0% de Fisher LSD

