



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
VARIETADES DE OLIVO CON POTENCIAL ECONÓMICO PARA EL
MEJORAMIENTO DE LA OFERTA EXPORTABLE DE LA INDUSTRIA OLIVÍCOLA
NACIONAL. TERCERA CONTRIBUCIÓN**

**Memoria para optar al título de Ingeniero en Alimentos
CONSTANZA CECILIA SILVA ORTIZ**

Profesor Patrocinante
MSc. Nalda Romero Palacios

Directora de Memoria
MSc. Nalda Romero Palacios

Directora de Memoria
MSc. Karinna Estay Villalón

Santiago, Chile 2013

*A mi hermosa familia,
Enrique, Cecilia y hermanos.*

AGRADECIMIENTOS

Antes que a todos, quiero agradecer a mis padres, que con mucho esfuerzo y dedicación, me ofrecieron la mejor educación posible, además de su apoyo incondicional y amor absoluto.

A mis hermanos y padrinos por siempre estar pendientes de mí, apoyándome en todo y alegrándome la vida en este año que ha sido bastante difícil.

A mis queridas compañeras de carrera: Catalina, Pamela, Ivonne, Andrea, Melany, Claudia y en especial a Carolina Mellado y Claudia Zurita, que siempre juntas, logramos forjar una hermosa amistad y sobrellevar estos casi 7 años universitarios.

A mis amigos de Rancagua, en especial a Carla Mandiola y Maura Aranda, que siempre han estado en los buenos y malos momentos, dándome apoyo y contención.

A la profesora Nalda Romero, por toda la ayuda y apoyo prestado al momento de realizar los ensayos, resolver problemas, etc. También por su aporte de alegría y presión cuando fue necesario.

A Fernanda Escobar, técnico de apoyo de la investigación, pieza clave en todos esos largos días de laboratorio, donde su entrega profesional y afectiva, generó un grato ambiente de trabajo.

A la Universidad de Chile, por entregarme todas las herramientas, conocimiento y experiencias, necesarias para ser una gran profesional y una gran persona en el futuro.

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
TABLA DE CONTENIDOS.....	iv
ÍNDICE DE TABLAS.....	Vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
RESUMEN.....	X
SUMMARY.....	Xi
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Antecedentes generales.....	1
1.2. Proceso de producción del aceite de oliva.....	2
1.2.1. Recolección.....	2
1.2.2. Transporte y almacenamiento.....	2
1.2.3. Limpieza y lavado.....	3
1.2.4. Molienda.....	3
1.2.5. Batido.....	4
1.2.6. Extracción.....	4
1.2.7. Filtrado.....	5
1.2.8. Almacenamiento.....	6
1.3. Norma comercial de los aceites de oliva.....	6
1.4. Composición química y organoléptica.....	8
1.5. Mercado nacional e internacional.....	10
1.5.1. Mercado nacional.....	10
1.5.2. Mercado internacional.....	12
1.6. Exportaciones e importaciones.....	14
1.6.1. Exportaciones.....	14
1.6.2. Importaciones.....	16
1.7. Variedades de olivo en estudio procedentes del Banco de Germoplasma.....	18
1.7.1. Arbequina.....	18

1.7.2.	Arbequina I-18.....	18
1.7.3.	Arbusana.....	19
1.7.4.	Azapa o Sevillana.....	19
1.7.5.	Barnea.....	19
1.7.6.	Cerignola.....	20
1.7.7.	Coratina.....	20
1.7.8.	Frantoio.....	20
1.7.9.	Grappolo Limarí.....	20
1.8.	Beneficios para la salud.....	21
2.	HIPÓTESIS.....	24
3.	OBJETIVOS.....	25
3.1.	Objetivo General.....	25
3.2.	Objetivos Específicos.....	25
4.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
4.1.	Materiales.....	26
4.1.1.	Materiales de laboratorio.....	26
4.1.2.	Reactivos.....	26
4.1.3.	Equipos.....	27
4.2.	Metodología.....	29
4.2.1.	Muestreo.....	29
4.2.2.	Extracción de los aceites y almacenamiento.....	29
4.2.3.	Determinación de índice de peróxidos.....	30
4.2.4.	Determinación de acidez libre.....	31
4.2.5.	Determinación de la extinción específica por absorción ultra-violeta.....	31
4.2.6.	Caracterización del perfil de ácidos grasos.....	32
4.2.7.	Determinación de la composición y el contenido en esteroles.....	32
4.2.8.	Determinación de tocoferoles.....	33
4.2.9.	Determinación de la composición de los compuestos fenólicos.....	34
4.2.10.	Tratamiento estadístico de los datos químicos.....	35

5. RESULTADOS.....	36
5.1. Determinación de parámetros de calidad.....	36
5.1.1. Determinación de índice de peróxidos.....	36
5.1.2. Determinación de acidez libre.....	38
5.1.3. Determinación de la extinción específica por absorción ultra-violeta.....	40
5.2. Caracterización del perfil de ácidos grasos.....	42
5.3. Determinación de tocoferoles.....	48
5.4. Determinación de la composición de esteroides y alcoholes triterpénicos	50
5.5. Determinación de la composición de los compuestos fenólicos	59
6. CONCLUSIONES.....	68
7. REFERENCIAS.....	70
8. ANEXOS.....	74

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1: Producción Mundial Aceite de Oliva 2007-2012 en miles de toneladas.....	13
Tabla 2: Principales países de destino de exportaciones chilenas, 2013	16
Tabla 3: Participación de países origen, según volumen importado y valor CIF.....	17
Tabla 4: Índice de peróxidos (mEqO ₂ /Kg).....	37
Tabla 5: Porcentaje de acidez libre, expresado como ácido oleico.	39
Tabla 6: Coeficiente K a 232 y 270 nm de absorbancia y ΔK para cada variedad.....	41
Tabla 7: Concentración de tocoferoles de las nueve variedades de aceite de oliva virgen extra analizadas.....	43
Tabla 8: Concentración de tocoferoles de las nueve variedades de aceite de oliva virgen extra analizadas.....	49
Tabla 9: Composición y contenido de esteroides de las nueve variedades de aceite de oliva virgen extra.....	51
Tabla 10: Compuestos fenólicos identificados a las longitudes de onda de 280, 235 y 335 nm.....	60
Tabla 11: Valores medios de cada compuesto fenólico determinado para cada variedad de aceite de oliva virgen extra analizado.....	61

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1: Evolución superficie plantada para la producción de aceite 2005-2012.....	10
Figura 2: Distribución porcentual de la superficie de olivos plantada en Chile.....	11
Figura 3: Estimaciones y Proyección de la Superficie plantada de olivos en Chile.....	11
Figura 4: Evolución de la producción nacional, desde el año 2005 al 2012.....	12
Figura 5: Evolución del consumo per cápita aparente nacional de aceite de oliva 2005-2012.....	14
Figura 6: Porcentaje de exportaciones a granel y embotellado, en base a volumen 2012.....	15
Figura 7: Evolución de destinos de exportaciones 2008 – 2012.....	15
Figura 8: Evolución de las importaciones de Aceite de Oliva 2003-2012..	17
Figura 9: Formación de peróxidos.....	36
Figura 10: Gráfico promedio de índice de peróxidos por variedad.....	38
Figura 11: Gráfico promedio de Acidez libre por variedad.....	39
Figura 12: Contenido de ácido Palmítico y Palmitoleico para las nueve variedades.....	45
Figura 13: Contenido de ácido Esteárico y Oleico para las nueve variedades.....	46
Figura 14: Contenido de ácido Linoleico y Linolénico para las 9 variedades.....	47
Figura 15: Alfa, beta, gamma y delta tocoferol.....	48
Figura 16: Contenido de colesterol (%) en aceites analizados.....	52
Figura 17: Contenido de campesterol (%) en aceites analizados.....	53
Figura 18: Contenido de Estigmasterol (%) en aceites analizados.....	54
Figura 19: Contenido de β -sitosterol (%) en aceites analizados.....	55

Figura 20:	Contenido de D-7-estigmasterol (%) en aceites analizados.....	56
Figura 21:	Contenido de Esteroles Totales (mg/kg) en aceites analizados.....	57
Figura 22:	Contenido de Eritrodiol+Uvaol (%) en aceites analizados.....	59
Figura 23:	Cromatograma tipo de una muestra de aceite de oliva extra obtenidos a $\lambda = 280$ nm.....	60
Figura 24:	Hidrólisis y degradación los compuestos Secoiridoides principales.....	62
Figura 25:	Concentración de derivados secoiridoides de las nueve variedades de aceite de oliva virgen extra en estudio (mg/kg de aceite).....	65
Figura 26:	Gráfico de grupos de compuestos fenólicos y fenoles totales...	66
Figura 27:	Gráfico relación Antioxidantes V/S [AGMI/AGPI].....	67

RESUMEN

La producción de aceite de oliva en Chile presenta un dinamismo tal, que la ha hecho crecer significativamente en los últimos diez años. De este modo, espera posicionarse y destacar a nivel mundial sobre la base de características de calidad que lo diferencien de los aceites de oliva de países tradicionalmente productores. Al mismo tiempo, su consumo a nivel nacional ha aumentado aceleradamente y se espera que lo haga aún más.

Esta Investigación corresponde a un proyecto Innova Corfo que tiene como objetivo determinar la calidad de los aceites de oliva extra virgen monovarietal, procedente de nueve variedades del Banco de Germoplasma de Olivo del Centro Experimental Huasco. Para lo cual, se realizaron ensayos para determinar parámetros de calidad (acidez libre, índice de peróxidos y extinción específica por absorción ultravioleta) y parámetros químicos (ácidos grasos, compuestos fenólicos, esteroides y tocoferoles).

En el índice de peróxidos se obtuvo un promedio de 5,32 mEq/O₂ kg, donde la variedad 'Coratina' alcanzó el menor índice con 2,39 mEq/O₂ kg de aceite. En el ensayo de acidez libre 'Arbequina I-18' arrojó el menor resultado con 0,1% de ácido oleico (promedio de variedades 0,15%) y por último en espectrofotometría UV K₂₃₂ se obtuvo un rango de 1,9 a 3,1 quedando las variedades 'Grapolo Limarí' y 'Arbequina' sobre el valor de 2,5 (Normativa COI). En composición de ácidos grasos las nueve variedades presentaron un rango de ácido oleico de 63 a 80%, siendo la variedad 'Coratina' la que presentó el mayor contenido; la variedad 'Sevillana' destacó por su mayor contenido de ácido palmítico, palmitoleico y linoleico con 15,43%, 1,77% y 14,6%, respectivamente. En contenido de Tocoferoles la variedad 'Arbequina I-18' obtuvo el mayor contenido de α-tocoferol con 245 mg/kg de aceite; en esteroides la variedad 'Barnea' presentó la mayor concentración con 2.233 mg/kg y por último en composición fenólica total la variedad 'Frantoio' sobresale con 909 mg/kg de aceite, destacando el derivado aglicona del ligustrósido forma dialdehídica con 310 mg/kg de aceite.

SUMMARY

The olive oil production in Chile shows such dynamism that it has grown significantly in the last ten years. Thus, it hopes to position itself and stand out in a worldwide level, on the basis of quality characteristics that distinguishing it from traditionally producing olive oils countries.

At the same time, nationwide consumption has increased rapidly and is expected to do it even more due to a better understanding of the beneficial health attributes for individuals, which are becoming more widespread amongst the population.

This research corresponds to a CORFO Innova project that aims to determine the quality of monovarietal extra virgin olive oils from nine varieties of Experimental Center Huasco Olive Germplasm Bank. To which, tests were conducted to determine quality parameters (free acidity, peroxide value and specific extinction by ultraviolet absorption) and chemical parameters (fatty acids, phenolic compounds, sterols and tocopherols).

On the peroxide index an average of 5.32 mEq/O₂ kg was obtained, where the 'Coratina' variety reached the lowest rate with 2.39 kg of oil mEq/O₂. It has a free acidity test 'Arbequina I-18' showed the lowest result with 0.1% oleic acid (0.15% in average of varieties) and finally in K₂₃₂ UV spectrophotometry a range from 1.9 to 3.1 was obtained, being the 'Grapolo Limarí' and 'Arbequina' varieties above the of 2.5 value (Normative IOC).

In fatty acid composition, the nine varieties showed a range of oleic acid of 63 to 80%, being the 'Coratina' variety the one who showed the highest percentag. The 'Sevillana' variety showed higher palmitic, palmitoleic and linoleic acids with 15.43%, 1.77% and 14.6%, respectively. Content of tocopherols in the 'Arbequina I-18' variety had the highest α -tocopherol content with 245 mg / kg of oil, in sterols, the 'Barnea' variety had the highest concentration with 2.233 mg / kg and finally in the total phenolic composition, 'Frantoio' variety excels with 909 mg / kg of oil, highlighting the aglycone derivative ligstroside dialdehydic form with 310 mg / kg of oil.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. ANTECEDENTES GENERALES

Varias décadas atrás la mayoría de los cultivos de oliva se localizaban en la cuenca del mediterráneo y en los países vecinos, pero en una industria olivícola dinámica y cambiante, donde los sistemas de riego, plantación y cultivos son la clave, han llevado la difusión de esta práctica desde el Hemisferio Norte al Hemisferio Sur, en países tales como Australia, Argentina, Chile y Nueva Zelandia (Gracia-González y cols., 2010).

Los países del Hemisferio Sur no poseen olivos autóctonos, por lo cual importan las variedades desde los productores más antiguos, mayoritariamente España, Grecia, Italia e Israel, lo cual implica que las variedades autóctonas hoy en día compiten entre ellas en un exitoso mercado global, aunque dichos cultivos son producidos en diferentes lugares. Esta extenuante competitividad en el mercado ha llevado a los productores a especializarse y enfocar toda su atención en nuevas técnicas de autenticidad y trazabilidad de identificación geográfica para aceites de oliva vírgenes (Gracia-González y cols., 2010).

Como ya es sabido, el clima en combinación con diferentes altitudes y latitudes, genera en las plantaciones de olivos, una variación en la actividad enzimática y composición química de los aceites de oliva vírgenes. Los árboles (olivos) son traídos desde España a América, donde las plantaciones se posicionan en regiones geográficas con latitudes similares a las de la cuenca del mediterráneo, sin embargo, esto no indica que el producto final sea el mismo, ya que presentan composición química distinta, lo cual en algunos lugares del Hemisferio Sur, no satisface a entidades como a las COI (Consejo Oleícola Internacional) o más bien a los estándares del comercio actual. Además se puede trabajar con las más óptimas condiciones de trabajo y cosecha y aún así obtener un producto con calidad sensorial inferior (Gracia-González y cols., 2010).

Chile es un país emergente en la industria olivícola con una prometedora proyección, favorecido por la variedad climática y la disponibilidad de suelos. Este país caracterizado por ser una larga franja de tierra rodeada por el océano pacífico y la cordillera de los Andes, consta con quince regiones, en las cuales principalmente se plantan olivos en cinco de estas, desde la IV hasta la VII región (700 Km) (Gracia-González y cols., 2010).

1.2. PROCESO DE PRODUCCIÓN DEL ACEITE DE OLIVA

1.2.1. Recolección

La primera etapa del proceso de elaboración de aceites de oliva comienza con la recolección de la aceituna, siendo esta una etapa muy importante, ya que contribuye con la calidad final de aceite de oliva virgen extra. La calidad sensorial depende principalmente del grado de madurez del fruto y por lo tanto del momento óptimo de su recolección. Pueden ocurrir dos situaciones muy comunes que se dan en la recolección, la primera se da cuando la cosecha se realiza con el olivo sin madurar y cuando la aceituna no ha obtenido el color negro, lo cual implicará que el aceite de oliva tendrá un sabor herbáceo, amargo o picante dependiendo de la variedad. Por el contrario cuando la recogida se realiza al final del tiempo de cosecha, con la aceituna muy madura o sobremadura, el aceite se caracterizará por un sabor más dulce a fruto maduro (Aparicio R. y Harwood J., 2003).

1.2.2. Transporte y Almacenamiento

El transporte y almacenamiento de la aceituna luego de su cosecha debe realizarse en cajas de plástico especiales, con orificios que permitan la ventilación y ayuden a dispersar el calor producido por la actividad catabólica del fruto, éstas luego de la recolección deben ser procesadas lo antes posible, si esto no fuera posible y se tuviera que almacenar la cosecha, se recomienda almacenar el menor tiempo posible en lugar fresco, ventilado y protegido del exterior, siempre evitando capas gruesas de almacenamiento que provoquen el aplastamiento (Aparicio R. y Harwood J., 2003).

1.2.3. Limpieza y Lavado

La limpieza y el lavado son procesos necesarios para eliminar cualquier tipo de contaminante, como materiales extraños, ya sean vegetales o no vegetales, los cuales pueden ser dañinos para el producto o la maquinaria. (Aparicio R. y Harwood J., 2003). Para la limpieza el proceso está basado en la utilización de una corriente de aire. El fruto pasa por una criba en la que se eliminan las impurezas más ligeras, como: hojas, tallos, etc., sin embargo, no se eliminan otra serie de elementos: barro, piedras, hierros, etc. Es por tanto, fundamental realizar el proceso de lavado, cuando haya este tipo de suciedad. El medio fundamental que se utiliza es el agua, y se lleva a cabo por un mecanismo de agitación del agua con los frutos y dispositivos de separación entre ellos (CIFA cabra, 2005).

1.2.4. Molienda

En las frutas el aceite se encuentra distribuido en forma de pequeñas gotas en distintas partes de las células. El objetivo de la molienda y el posterior batido es que estas pequeñas gotas se unan formando gotas más grandes que se puedan separar del agua y de los sólidos. Existen dos tipos principales de molinos:

El primero es el molino de piedras, que tiene dos partes constitutivas: una batea que contiene la fruta y un conjunto de piedras que actúan como elemento de molturación. La ventaja de este sistema es que produce una pasta con la granulometría óptima para la extracción, reduciendo así la formación de emulsiones. Además no se necesita calentar la aceituna durante la molienda por lo que se generan menos cambios químicos o sensoriales del aceite. Como desventajas se consideran la lentitud del proceso y la necesidad de mayor cantidad de personal (CIFA cabra, 2005).

La segunda alternativa es el molino mecánico que tiene mayor velocidad de proceso y la molturación es continua. Requiere menos personal, sólo para verificar el ingreso de la materia prima y la liberación de la masa en las amasadoras. Se debe evitar una molturación excesiva, para que no se produzcan emulsiones. Asimismo un elevado incremento de la temperatura puede alterar químicamente el producto. En general los molinos están sobredimensionados respecto a las amasadoras. Se debe

regular el caudal de entrada de fruta al molino para evitar el atascamiento de las amasadoras (CIFA cabra, 2005).

1.2.5. Batido

La misión del batido es reunir las gotas líquidas dispersas en la pasta molida, en fases continuas afines, con el fin de facilitar y aumentar la separación sólido-líquido en las siguientes operaciones de elaboración (CIFA cabra, 2005).

Este proceso se debe realizar con batidoras de acero inoxidable semicilíndricas o semiesféricas que posee rotores verticales u horizontales y cuyos brazos rotatorios tienen paletas de acero inoxidable de distintas formas y tamaños. La pasta se calienta por la circulación de agua caliente dentro de un encamisado que rodea el cuerpo de la batidora, el tiempo de batido es de aproximadamente 20-30 minutos y la temperatura de la pasta no debe exceder de 22-25 °C (Aparicio R. y Harwood J., 2003).

1.2.6. Extracción

Posterior al batido, la pasta debe pasar por una última etapa para lograr la separación de las fases líquidas (aceite y alpechín) de la fase sólida (orujo), esta etapa se denomina extracción. La extracción es una de las fases vitales que determinará la calidad final del aceite. Puede realizarse de dos maneras: separación de dos fases (se separa el aceite de los otros dos componentes juntos) o separación de tres fases (se separa el aceite de los otros dos componentes por separado) (ChileOliva, 2012).

1.2.6.1. Extracción por prensado (separación de dos fases).

Una vez concluido el batido, los formadores de cargo moderno, extienden automáticamente la pasta en los carpachos (discos flotantes) que se apilan para el prensado. La extracción de aceite de oliva por el método de pilas se realiza comprimiendo los carpachos apilados en columnas, los cuales están ensartados en una aguja que da verticalidad a la columna y situados sobre una vagoneta construida generalmente de fundición y dotadas de grifos para dar salida al mosto oleoso. Esta columna se encuentra perforada lo que facilita y mejora la separación del mosto oleoso

y el orujo, ya que estas perforaciones permiten que la fase líquida fluya hacia fuera desde el centro de la torre de carpachos (Aparicio R. y Harwood J., 2003).

1.2.6.2. Extracción por centrifugación (separación de tres fases).

Con una centrifuga horizontal o decánter de tres fases, se procede a separar la fase sólida de la líquida, debido a la rotación a alta velocidad que acentúa la diferencia de pesos específicos de los líquidos no miscibles y la materia sólida, de esta forma el alpechín y el aceite de oliva se separan del orujo mediante los inyectores adecuados, por tanto la centrifugación permite la extracción del aceite de oliva mediante un proceso continuo, en cambio el sistema de prensas es discontinuo (Aparicio R. y Harwood J., 2003).

1.2.6.2. Extracción parcial

Otro método de extracción que ya casi no se emplea es por percolación o extracción parcial, el cual se basa en la distinta tensión superficial que existe entre el aceite y el alpechín, lo cual se ejemplifica cuando una cuchilla de acero se cubre preferentemente con aceite cuando se hunde en una pasta de aceitunas, al retirar la cuchilla el aceite se separa de las otras fases y gotea creando una corriente de mosto oleoso. El prototipo de los equipos que funcionan mediante este tipo de extracción, están constituidos por una malla de acero inoxidable semicilíndrica y muchas cuchillas pequeñas moviéndose a través de las hendiduras de la rejilla (Aparicio R. y Harwood J., 2003).

1.2.7. Filtrado

El aceite resultante entra entonces a la centrífuga vertical, que elimina los últimos restos de agua. En este momento el producto está en condiciones de ser consumido. Pero para eliminar cualquier elemento sólido que pueda haber quedado de las etapas anteriores, el aceite pasa a un sistema de filtrado, tras lo cual es almacenado en cubas de acero inoxidable para su posterior envasado (Chileoliva, 2012).

1.2.8. Almacenamiento

Los depósitos de aceite deben construirse con materiales totalmente impermeables e inatacables para que éste no penetre a su superficie, ya que el aceite absorbido se altera y compromete la utilización sucesiva del depósito. La bodega debe mantenerse a una temperatura casi constante, entre los 15° C y los 18°C, procurando tener la mínima luminosidad (Instituto omega 3).

1.3. NORMA COMERCIAL DE LOS ACEITES DE OLIVA

El consejo Oleícola Internacional (COI) es la organización intergubernamental responsable de la administración del acuerdo Internacional de Aceites de Oliva y Aceitunas de Mesa, que se ha negociado en las conferencias sobre productos alimentarios en las Naciones Unidas, siendo el aceite de oliva el único producto de grasas y aceites que posee su propio acuerdo internacional (COI, 2012).

El COI establece las políticas de comercialización y denominación de los productos como el aceite de oliva, aceite de orujo de oliva y aceitunas de mesa. También está encargado de implementar medidas internacionales para determinar la calidad de los productos en venta y para vigilar el comercio exterior (COI, 2012).

Por definición 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 Y ORGANOLÉPTICA

Los compuestos químicos del aceite de oliva pueden integrarse en dos grupos, en materia saponificable e insaponificable. La fracción saponificable (98-99%) está constituida por triglicéridos (ésteres de ácidos grasos y glicerina) y ácidos grasos libres. Entre los ácidos grasos más abundantes se encuentra el ácido monoinsaturado oleico y en menor proporción los ácidos poliinsaturados linoleico y linolénico. Los ácidos grasos saturados se encuentran en cantidades semejantes o menores a las de otros aceites vegetales (Oleocultura, 2012).

La norma comercial del COI y la norma alimentaria del Codex Alimentarius, han fijado los porcentajes máximos y mínimos de cada ácido graso en el aceite de oliva y de orujo de oliva. El aceite de oliva está compuesto principalmente por ácidos grasos monoinsaturado con un 72%, para ácidos grasos poliinsaturados un 14% y para los ácidos grasos saturados un 14% (COI, 2012).

En menor proporción se encuentra la fracción insaponificable, integrada fundamentalmente por terpenos y compuestos esteroídicos. En total representa un porcentaje menor o igual al 1,5% de su composición total, aunque posee una gran importancia desde el punto de vista de su valor biológico. Entre los terpenos se encuentra el escualeno. Los carotenos suponen de 0,5 a 10 mg./kg y constituyen el

factor provitamina A del aceite, siendo responsables, junto a la clorofila de la coloración verde-amarilla de éste. El contenido en clorofilas oscila entre 0 y 9,7 ppm, por lo que el aceite es muy sensible a la luz. El contenido en alfa-tocoferol representa el 90-95% de los tocoferoles totales y es el más activo, por su acción como vitamina E. Entre los esteroides destaca el beta-sitosterol que representa el 93%, variando su contenido en función del grado de maduración de la aceituna y su contenido en aceite. Este último componente interfiere competitivamente en la absorción intestinal del colesterol (Oleocultura, 2012).

Otros componentes del aceite de oliva cuya presencia ofrece ventaja, son los compuestos fenólicos que influyen en su calidad, especialmente en la estabilidad frente a la autooxidación y en sus propiedades organolépticas. Su contenido es variable (entre 50 y 500 mg./kg., expresado en ácido caféico) dependiendo de la variedad, grado de maduración, técnica de elaboración del aceite y manejo de la aceituna. Durante el proceso de refinamiento se pierde la mayor parte. Por último, existen numerosos compuestos volátiles responsables del aroma especial que tiene este aceite (alcoholes, cetonas, ésteres, etc.) (Oleocultura, 2012).

Se debe tener en cuenta que diversos estudios demuestran que el contenido y composición de ácidos grasos en los frutos de olivo, están determinados genéticamente y varían ampliamente con las variedades. También se ha demostrado que las características químicas de los aceites varían en función de la zona de cultivo, principalmente debido a las condiciones edafoclimáticas. La altitud en la que está establecido el olivar afecta la calidad del aceite y principalmente su composición, el hecho de que la relación ácidos grasos insaturados/saturados cambie con la altitud tiene importancia, tanto para el tiempo de vida útil del aceite como para su calidad sensorial. Aceites procedentes de olivos cultivados en mayores altitudes presentan mayor estabilidad oxidativa, comparada con aceites producidos en zonas bajas. El efecto de la altitud sobre la composición de ácidos grasos se relaciona con la temperatura, ya que al disminuir ésta se incrementa el contenido de ácidos grasos insaturados en los aceites (INIA, 2006).

1.5. MERCADO NACIONAL E INTERNACIONAL

1.5.1. Mercado Nacional

Los productores nacionales han establecido el negocio desde sus inicios enfocados en producir sólo aceite de oliva de la mejor calidad, es decir virgen extra. Esto con la finalidad de diferenciarse y destacar, en un escenario en que compiten con países productores como España e Italia que cuenta con un gran volumen de producción y tradición. Chile tiene la particularidad que a diferencia de estos países, el 90% de su producción corresponde a aceite de oliva extra virgen y es así como se han obtenido destacados reconocimientos en concursos internacionales (Chile Oliva, 2013).

Los empresarios han aprovechado las ventajas que presenta Chile para el desarrollo del cultivo del olivo, implementando nuevas tecnologías para hacer más eficiente el proceso productivo y optimizando los recursos naturales con los que se cuenta (Chile Oliva, 2013).

La superficie nacional de plantaciones de olivos para aceite de oliva ha experimentado un incremento considerable en los últimos años, desde el año 2005 a la fecha el aumento ha sido de un 420%. Para el año 2012 se estima que el aumento fue de alrededor de un 4% con respecto al año anterior, alcanzando las 25.000 hectáreas aproximadamente (Chile Oliva, 2013).

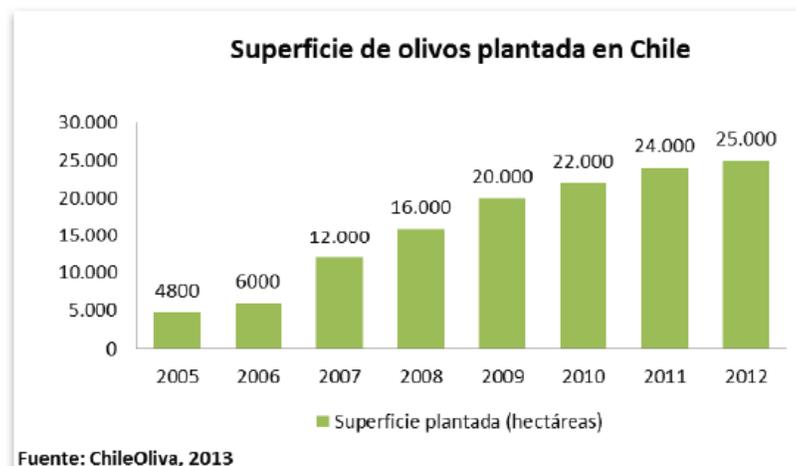


Figura 1: Evolución superficie plantada para la producción de aceite 2005-2012.

La superficie plantada se distribuye principalmente entre la III y VII región, concentrándose mayoritariamente en la VI, VII y IV región, representando el 24%, 23% y 21% respectivamente. La cuarta zona más plantada es la RM región con un 18% de la superficie total (Chile Oliva, 2013).

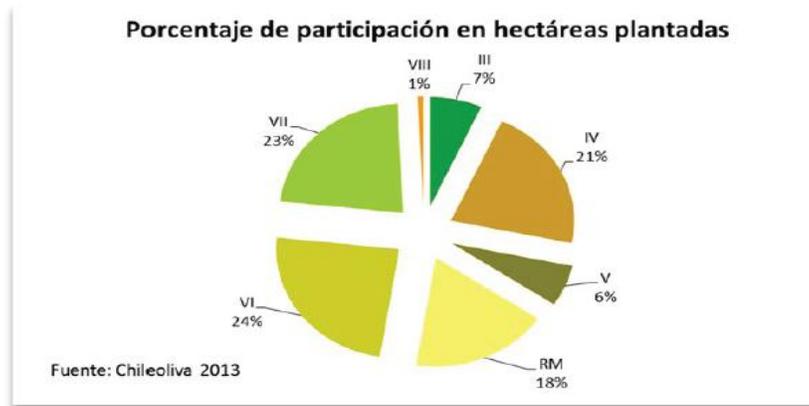


Figura 2: Distribución porcentual de la superficie de olivos plantada en Chile.

La tendencia que ha presentado la industria nacional y el potencial que tiene Chile en superficie y condiciones edafoclimáticas aptas para el cultivo del olivo, hacen que se proyecte para el año 2020 una superficie de 32.000 hectáreas plantadas de olivos para aceite de oliva (Chile Oliva, 2013).



Figura 3: Figura N° 3: Estimaciones y Proyección de la Superficie plantada de olivos en Chile. Fuente: Elaborado por CHILEOLIVA 2013.

La producción nacional de aceite de oliva ha aumentado a través de los años, esto gracias al aumento en la superficie plantada y a la continua entrada en producción de los huertos establecidos. Desde el año 2005 al 2012 la producción ha presentado una tasa promedio anual de crecimiento del 45% (Chile Oliva, 2013).

Para el año 2012 se estima que la producción nacional aumentó cerca del 35% con respecto al año anterior, alcanzando un volumen de producción de 21.600 toneladas, respecto a las 16.000 toneladas producidas durante el año 2011 (Chile Oliva, 2013).

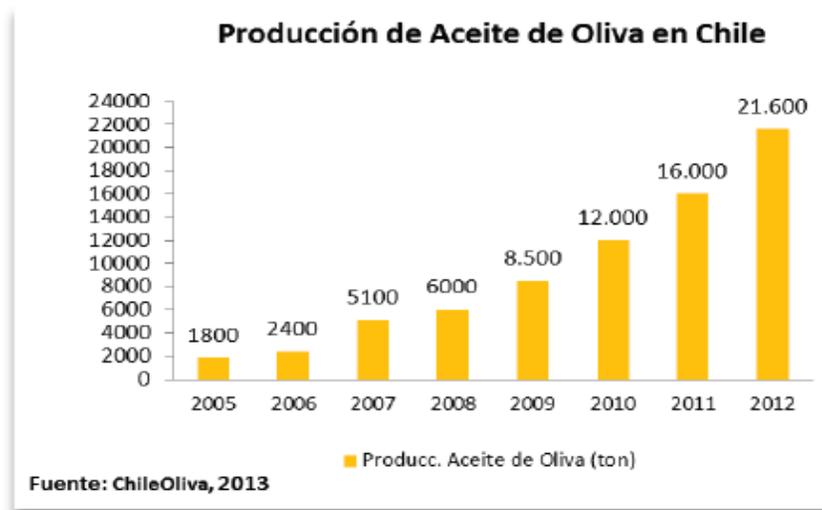


Figura N° 4: Evolución de la producción nacional, desde el año 2005 al 2012.

Cabe destacar que del total de la producción nacional el 90% es aceite de oliva extra virgen, es decir la mejor calidad. Esto gracias a que los empresarios olivícolas, han logrado manejar sus almazaras eficientemente capacitando a sus equipos profesionales mediante viajes al extranjero y contratación de asesores especializados, capturando tecnologías de países con tradición e investigación avanzada en aceite de oliva (España y Italia) (Chile Oliva, 2013).

I.5.1. Mercado Internacional

En cuanto a la producción mundial, según el COI 2013 (Consejo Oleícola Internacional), para la temporada 2011-2012 se presentó un incremento de un 10,8%

con respecto a la temporada 2010-2011, alcanzando las 3.408.500 toneladas de aceite. De la producción 2011-2012, la Comunidad Europea representa más del 71% del volumen mundial, destacándose dentro de ella España que representa un 47,3%, Italia y Grecia con un 13,2% y un 8,7% de la producción mundial, respectivamente. En este contexto Chile representa el 0,6% de la producción mundial en la temporada 2011-2012 y el 0,4% si promediamos la participación en los últimos 5 años (Chile Oliva, 2013).

Tabla 1: Producción Mundial Aceite de Oliva 2007-2012 en miles de toneladas.

Temporada	2007/08	2008/09	2009/2010	2010/2011	2011/2012	Promedio % Participación 2007-2012	% Participación 2011/2012
Mundo	2.713,0	2.669,5	2.973,5	3.075,0	3.408,5	100,0	100,0
CE	2.118,5	1.939,0	2.224,5	2.209,1	2.444,0	73,7	71,7
Desglose Producción Mundo							
España	1.236,1	1.030,0	1.401,5	1.391,9	1.613,4	45,0	47,3
Italia	510,0	540,0	430,0	440,0	450,0	16,0	13,2
Grecia	327,2	305,0	320,0	301,0	295,0	10,4	8,7
Túnez	170,0	160,0	150,0	120,0	180,0	5,3	5,3
Turquía	72,0	130,0	147,0	160,0	191,0	4,7	5,6
Siria	100,0	130,0	150,0	180,0	198,0	5,1	5,8
Argentina	27,0	23,0	17,0	20,0	32,0	0,8	0,9
Australia	12,0	15,0	18,0	18,0	19,0	0,6	0,6
Chile	6,5	8,5	12,0	16,0	21,6	0,4	0,6
Otros	252,2	328,0	328,0	428,1	408,5	11,7	12,0

Fuente: Consejo Oleícola Internacional, 2013 y ChileOliva

Cabe señalar que para la temporada 2012-2013 España disminuyó en un 60% su producción, llegando a tan sólo las 560.000 toneladas, esto provoca una disminución en la oferta de aceite de oliva a nivel mundial, dado que España representa el 47% de la producción mundial (COI, 2012).

El Consumo nacional de aceite de oliva ha seguido la misma tendencia, es decir ha aumentado a través de los años. Esto gracias a la promoción a nivel mundial de la dieta mediterránea que resalta las destacadas propiedades nutritivas del aceite de oliva, al incremento en la oferta de marcas chilenas en cadenas de supermercado, así como también a que los consumidores nacionales han incorporado este producto de distintas maneras en su dieta (ODEPA, 2012).

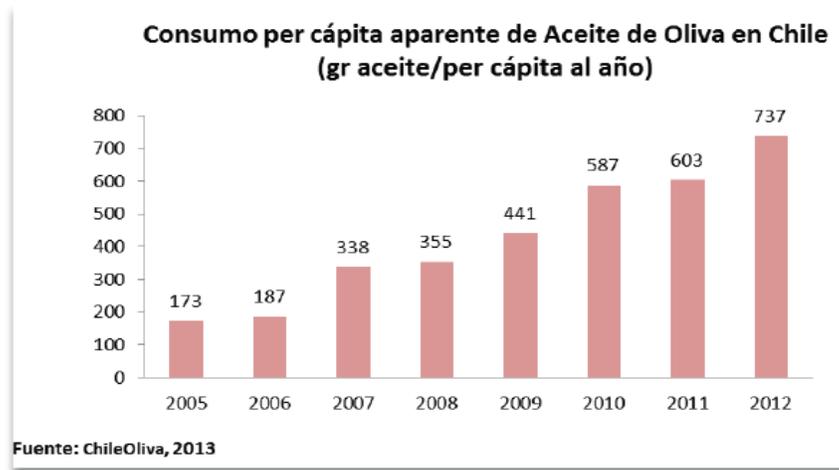


Figura 5: Evolución del consumo per cápita aparente nacional de aceite de oliva 2005-2012. Fuente: elaborado por CHILEOLIVA con información propia, ODEPA y ADUANA.

Para el año 2012 el consumo aparente per cápita estimado fue de alrededor de 737 gr. por persona al año, lo que representa un aumento del 22,2% con respecto al consumo estimado del año anterior (ODEPA, 2012).

1.6. EXPORTACIONES E IMPORTACIONES

1.6.1. Exportaciones

Durante el año 2012 se exportaron en total 10.228 toneladas de aceite de oliva. Del total de la producción nacional en cuanto a volumen, se exportó un 47,3% aumentando en un 12% con respecto al año 2011 donde se exportó 41,9% de la producción nacional. Se estima que para el 2015 las exportaciones estarán cerca de los US\$67.320.000, correspondientes a envíos por 22.400 toneladas de aceite de oliva virgen extra. Del volumen total exportado el 32% corresponde a aceite de oliva extra virgen embotellado a un precio FOB promedio de 5,4 dólares el kg y el 68% a aceite de oliva extra virgen a granel a un precio FOB promedio de 2,7 dólares el kg (Chile Oliva, 2013).

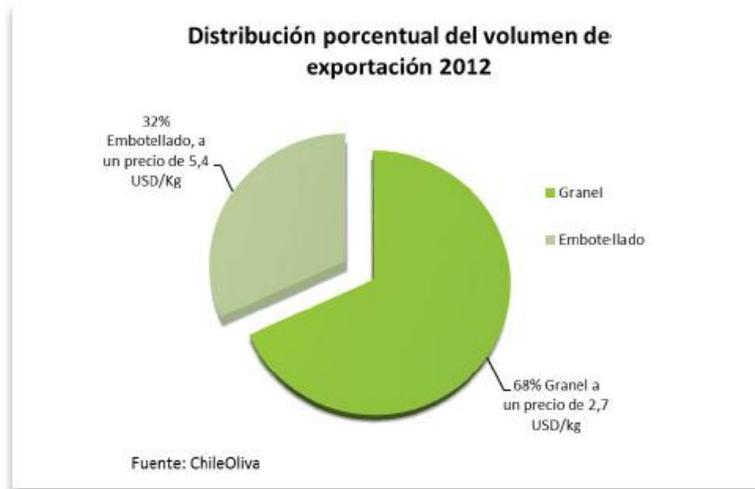


Figura Nº 6: Porcentaje de exportaciones a granel y embotellado, en base a volumen 2012. Fuente: elaborado por CHILEOLIVA y Servicio Nacional de Aduanas, 2013.

Los principales países destino de las exportaciones nacionales desde el 2008 al 2012 son Estados Unidos, España, Italia, Brasil, Venezuela y Canadá, sin embargo durante los últimos años las exportaciones chilenas han diversificado sus destinos de exportación llegando en el año 2012 a 42 países del mundo, entre ellos mercados como Colombia, México, Inglaterra y Japón, esta tendencia se puede observar en la Figura 8 (Chile Oliva, 2013).

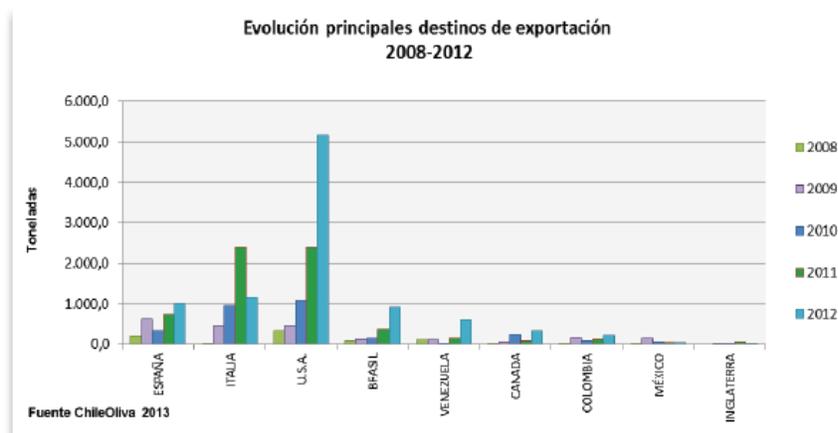


Figura Nº 7: Evolución de destinos de exportaciones 2008 – 2012. Fuente: Servicio Nacional de Aduanas, 2013.

En el cuadro N° 3, se puede observar las exportaciones nacionales a cada destino para el año 2012. Nuestro principal destino de aceite embotellado y a granel es Estados Unidos, le sigue en embotellado Venezuela, Brasil, y Canadá y en exportaciones a granel Italia y España (Chile Oliva, 2013).

Tabla 2: Principales países de destino de exportaciones chilenas, 2013.

Pais Destino	Cantidad de Mercancia (Kg)	% Cantidad Mercancia	Valor FOB	% FOB	Valor Unitario USD/kg
U.S.A.	5.163.454	50,48	16.124.390	44,54	3
VENEZUELA	599.192	5,86	4.170.648	11,52	7
BRASIL	919.042	8,99	4.152.234	11,47	5
ITALIA	1.154.746	11,29	3.032.663	8,38	3
ESPAÑA	1.021.633	9,99	2.451.693	6,77	2
CANADA	327.083	3,20	1.568.859	4,33	5
COLOMBIA	233.003	2,28	1.042.471	2,88	4
JAPON	170.863	1,67	871.682	2,41	5
PORTUGAL	175.400	1,71	531.971	1,47	3
MEXICO	45.635	0,45	290.609	0,80	6
TAIWAN (FORMOSA)	38.776	0,38	216.924	0,60	6
OMAN	83.770	0,82	211.519	0,58	3
PARAGUAY	47.915	0,47	210.951	0,58	4
CHINA	49.251	0,48	210.374	0,58	4
INGLATERRA	27.207	0,27	181.968	0,50	7
ECUADOR	27.240	0,27	155.971	0,43	6
RUSIA	24.571	0,24	153.058	0,42	6
URUGUAY	26.164	0,26	108.095	0,30	4
ALEMANIA	20.766	0,20	106.008	0,29	5
BELGICA	11.027	0,11	71.608	0,20	6

I.6.2. Importaciones

Durante los últimos años se ha observado una tendencia hacia la baja de las importaciones, si se analiza el periodo de tiempo desde el 2005 al 2012, se puede ver que el volumen importado ha disminuido en un 34%. Lo que refleja la preferencia del consumidor nacional por las marcas locales. Durante el año 2012 se importó un volumen total de aceite de oliva de 843 toneladas, presentado un aumento de un 21% con respecto al año 2011 (Chile Oliva, 2013).

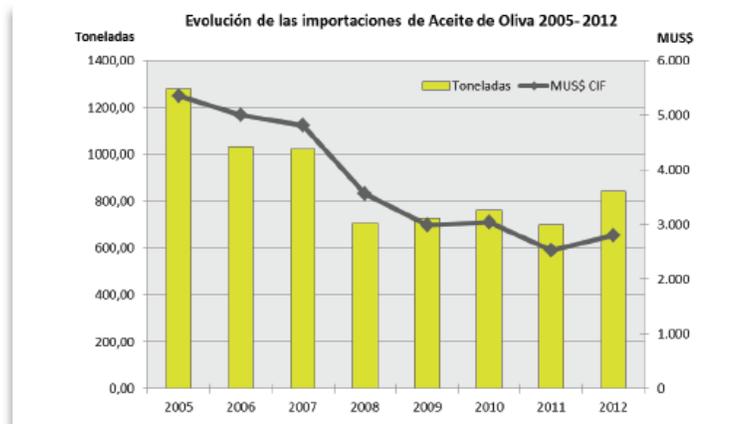


Figura Nº 8: Evolución de las importaciones de Aceite de Oliva 2003-2012. Fuente: Chile Oliva y Servicio Nacional de Aduanas 2013.

Las importaciones nacionales de aceite de oliva provienen en total de 12 países origen. En términos de volumen importado nuestro principal proveedor es Argentina, con una participación del 62,2% aproximadamente, le sigue España con 28,8% e Italia con 6,2 %. Considerando el precio o valor unitario en US\$ por kg se puede observar que Argentina es el mayor proveedor de aceite de oliva a granel con un menor costo que el aceite de España, Italia y Siria desde los cuales se importan principalmente aceite embotellado (Chile Oliva, 2013).

Tabla 3: Participación de países origen, según volumen importado y valor CIF. Fuente CHILEOLIVA y Servicio Nacional de Aduana, 2013.

Pais Origen	Cantidad de Mercancia (KG)	% Cantidad de Mercancia	Valor CIF	% CIF	Valor Unitario USD/kg
ARGENTINA	524.828,2	62,25	1.356.638,6	48,4	2,6
ESPANA	242.927,8	28,81	1.100.248,4	39,2	4,5
ITALIA	52.235,0	6,20	229.547,5	8,2	4,4
SIRIA	11.425,0	1,36	54.401,7	1,9	4,8
USA	3.466,2	0,41	20.785,6	0,7	6,0
PERU	5.369,3	0,64	17.202,8	0,6	3,2
FRANCIA	1.337,2	0,16	17.025,3	0,6	12,7
PORTUGAL	792,0	0,09	4.527,5	0,2	5,7
BRASIL	260,0	0,03	1.405,8	0,1	5,4
SUECIA	180,0	0,02	945,8	0,0	5,3
COREA DEL SUR	233,4	0,03	379,6	0,0	1,6
LIBANO	80,1	0,01	343,5	0,0	4,3
Total	843.134,2	100,0	2.803.452,3	100,0	128.214,9

1.7. VARIETADES DE OLIVOS PROCEDENTES DEL BANCO DE GERMOPLASMA OBJETO DE ESTE ESTUDIO

1.7.1. Arbequina

Es bien conocido y ampliamente verificado que la variedad española Arbequina puede ser considerada la base del sistema superintensivo. De hecho, esta variedad presenta un óptimo porte y un vigor bastante reducido unido a una productividad precoz, abundante y constante y una excelente capacidad de adaptación a las principales adversidades, con una elevada resistencia al frío, a la salinidad y a las condiciones más extremas. Es sobre todo por esta gran versatilidad, que la Arbequina resulta al día de hoy la variedad más utilizada y difundida en las plantaciones superintensivas de todo el mundo, y es también la que en definitiva a dado los mejores resultados en todas partes. El único aspecto negativo, al menos hasta ahora, está relacionado con el nivel cualitativo del aceite que esta variedad puede producir. Las mayores críticas de las que ha sido objeto el aceite producido de esta variedad provienen de valores expresados en los análisis químicos, con un bajo contenido en ácido oleico y en polifenoles totales, seguidos de una baja estabilidad en el tiempo del producto final (Olint, 2010).

1.7.2. Arbequina IRTA I-18

La Arbequina IRTA I-18 es una selección de la variedad Arbequina muy productiva y totalmente adaptada al sistema superintensivo. Es la variedad más importante de Cataluña, donde ocupa más de 55.000 hectáreas. También se ha difundido en el resto de España, sobretodo en Andalucía. Es la variedad de referencia en las nuevas plantaciones superintensivas, por este motivo además de España se ha plantado en muchos otros países; Francia, USA, Chile, Portugal, Italia, Túnez, Marruecos, Australia, Argentina, etc. Posee un rendimiento graso elevado y la calidad de su aceite es excelente, aunque presenta baja estabilidad. Posee una capacidad de enraizamiento elevada. (Olint, 2010).

1.7.3. Arbusana

Variedad de origen española, procedente de la comarca del Arbos en la provincia de Tarragona. Tiene un hábito de crecimiento muy poco vigoroso, pero sin embargo presenta gran productividad y precocidad. Estuvo al borde de la extinción, pero actualmente se está proyectando como una de las variedades más interesantes por buena adaptación al sistema superintensivo, por su precocidad de entrada en producción, su productividad (gran número de frutos por inflorescencia) y la alta calidad del aceite producido (INIA, 2004).

1.7.4. Azapa o sevillana

Esta variedad posee denominación de origen, por lo tanto sólo pueden llamarse azapa aquellas aceitunas producidas exclusivamente en el valle de azapa, de color negro o verde, de gran tamaño, piel y pulpa fina, hueso pequeño y de forma ovalada, estas son las principales características que le otorga el clima del valle desértico. Tiene doble aptitud: de mesa y aceite de buena puntuación organoléptica (aroma y sabor), con un rendimiento medio de aceite de 19%. Actualmente se comercializan a granel en tiendas y supermercados en tres versiones: verde sevillana, negra sin amargo y negra natural (Chile potencia alimentaria, 2007).

1.7.5. Barnea

La Barnea es originaria de Israel, país donde se cultiva en altura, esta variedad no ha sido muy difundida en otras zonas del mundo, ya que presenta la desventaja de ser poco resistente al frío, por lo que se recomienda cultivar en climas templado o cálidos. La barnea es cultivada preferentemente para la preparación de conservas y aceite (OLIVID, 2012).

1.7.6. Cerignola

Las aceitunas Cerignolas, provenientes de la propia Cerignola, al sur de Italia, son una de las variedades de aceitunas de mejor calidad destinadas a la mesa. Al igual que las arbequinas, este tipo de aceituna se caracteriza por su sabor algo picante y su intenso aroma. Suelen servirse con o sin carozo y en ocasiones se las rellena con Morrón o queso (OLIVID, 2012).

1.7.6. Coratina

La Coratina es una planta de vigor medio, se caracteriza por su precoz entrada en producción, productividad elevada y relativamente constante. Los frutos son de tamaño medio, presentando una maduración tardía y una elevada fuerza de retención, que dificulta su cosecha mecánica. Uno de los usos más comunes es emplear este aceite como corrector del aceite de la variedad Arbequina Catalana. El fruto es sensible al frío, sin embargo, el producto final (aceite) es muy tolerante al frío, posee excelentes características organolépticas y es muy estable (OLIVID, 2012).

1.7.7. Fantoio

Variedad italiana originaria de La Toscana cuya extensión en el resto de países se debe a la moderada resistencia al verticillium. Árbol de gran vigor, poca densidad de copa, productividad elevada y constante aunque con entrada en producción tardía adaptable a distintas condiciones aunque con poca resistencia al frío. Sus frutos son medianos y heterogéneos con maduración desigual. Su aceite es de gran calidad y estabilidad (Agrotterra, 2012).

1.7.9. Grappolo Limarí

Variedad rústica, muy tolerante a la sequía. Es de floración y maduración media respecto a variedades de la zona. La resistencia a la tracción de sus frutos es media, lo

que significa que el fruto no se desprende con facilidad al momento de la cosecha. Esta variedad es empleada para la producción de aceite debido a su alto rendimiento de aceite, superior al 20% (INIA, 2003).

1.8. Beneficios para la salud

Estudios epidemiológicos han demostrado que el aceite de oliva virgen otorga excelentes beneficios para salud, donde se destacan las siguientes propiedades (Romero y Aparicio, 2010):

- Prevención de enfermedades cardiovasculares.
- Está demostrado que su consumo reduce la presión sanguínea y el riesgo de hipertensión.
- Está demostrado que su consumo reduce la concentración de triglicéridos en el plasma e incrementa los niveles de colesterol HDL

Durante el estado post prandial, las dietas ricas en ácidos grasos saturados pueden perjudicar la reactividad vascular, mientras que el consumo de aceite de oliva virgen preserva la función endotelial. Estudios recientes han reforzado el mecanismo por el cual los aceites de oliva vírgenes pueden ejercer sus efectos beneficiosos en el riesgo cardiovascular, incluyendo mejora en el perfil lipídico; Disminución del colesterol LDL y un aumento en la proporción de colesterol HDL; Reducción de la susceptibilidad de la LDL a la oxidación y mejora de daño oxidativo vascular; Mejoría de la función endotelial; Mejoría en el control de presión sanguínea y modificaciones favorables de hemostasia (J. Loópez-Miranda y cols, 2008).

- Se ha evidenciado que su consumo en las comidas mejora el metabolismo postprandial de las lipoproteínas.
- Su consumo protege la oxidación de las células del endotelio que están involucradas en procesos anti-inflamatorios y de vasodilatación.

- Se ha probado su efecto anticancerogénico en animales y en la actualidad se investiga con líneas celulares.
- Hay evidencias experimentales del efecto beneficioso de su consumo en diferentes estadios de la carcinogénesis.

Existe evidencia experimental de la influencia favorable del aceite de oliva en la iniciación, promoción y progresión de la carcinogénesis, donde los tumores tienen un menor grado de malignidad clínica e histopatológica. Tal acción protectora sobre el cáncer puede ser mediada a través de varios mecanismos, entre ellos, los cambios en células tumorales relacionados con la composición y estructura de las membranas celulares, cambios en la biosíntesis de eicosanoides o en las vías de señalización intracelular, modulación de la expresión génica, reduce el estrés oxidativo celular y daño en el ADN, y modulación del sistema inmunológico y el equilibrio hormonal en cánceres dependientes de hormonas, tales como el de mama y de próstata (J. Loópez-Miranda y cols, 2008).

- Una dieta basada en aceite de oliva virgen no incrementa la obesidad ya que incrementa la actividad lipolítica del tejido adiposo.

Estudios recientes demuestran que una dieta rica en aceite de oliva (ácidos grasos monoinsaturados) es inversamente proporcional a los depósitos de la grasa abdominal, pero no así con el índice de masa corporal.

- Hay evidencia de que su consumo previene de las enfermedades cognitivas de la edad (Alzheimer) y la demencia.

El deterioro cognitivo vascular o de origen neurodegenerativo a menudo comparten los mismos factores de riesgos cardiovasculares, debido a que los hábitos alimentarios influyen claramente en el riesgo de enfermedades vasculares, por lo que un efecto sobre deterioro cognitivo se puede esperar. De hecho, estudios recientes han sugerido que los ácidos grasos dietéticos desempeñan un papel en lo cognitivo. Un análisis en 704 participantes demostró que la alta ingesta de ácidos

grasos mono y polinsaturados mejoró el rendimiento cognitivo en un seguimiento de 8,5 años, este efecto protector se atribuye al mantenimiento integro de las membranas neuronales y al mejoramiento de la fluidez de las membranas sinaptosomales, regulando de este modo la transmisión neuronal (Solfrizzi V, 2006).

- Últimas evidencias sugieren que su consumo incrementa la longevidad.

Los estudios prospectivos han demostrado que la adhesión a dieta rica en aceite de oliva se asocia con una menor mortalidad y mayor longevidad, lo cual se asocia con un mejor estado de salud, la cual se refleja en una reducción significativa en la mortalidad (9%), enfermedades cardiovasculares (9%), cáncer (6%), y la incidencia de Parkinson y la enfermedad de Alzheimer (13%) (J. Loópez-Miranda y cols, 2008).

2. HIPÓTESIS

Las diferencias en composición química y componentes bioactivos presentadas en los aceites de oliva extra virgen procedentes del Banco de Germoplasma obedecen a una influencia varietal.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la composición química y componentes bioactivos en nueve variedades de Olivo del Centro Experimental de INIA en Huasco, con potencial económico para el mejoramiento de la oferta exportable de la industria olivícola Nacional.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar la calidad de los aceites de oliva extra virgen monovarietales procedentes de nueve variedades del Banco de Germoplasma de Olivo del Centro Experimental Huasco.

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 Olivo del Centro Experimental Huasco.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. MATERIALES

4.1.1. Materiales de laboratorio

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

4.1.2. Reactivos

- 2,7 Diclorofluoresceína (Merck).
- Acetato de Etilo para análisis (Merck).
- Acetona para análisis (Merck).
- Acetonitrilo para análisis (Merck).

- Acido Ortofosfórico 97% pureza para análisis (Merck).
- Agua para cromatografía y nanopure (Merck).
- Cloroformo para análisis (Merck).
- Clorotrimetilzilano (Merck).
- Dihidrogeno Fosfato de Sodio y Potasio (Merck).
- Estándar Esteroles: 5 α - colestano- 3 β 0,2%.
- Éter Etilico para análisis (Merck).
- Heptano para análisis (Merck).
- Hexano para cromatografía (Merck).
- Hidróxido de Potasio (Merck).
- Ioduro de Potasio (Merck).
- Isooctano para espectrofotometría (Merck).
- Kit Fenoles (Sigma)
- Kit Tocoferol α - β - γ - δ (Calbiochem)
- Metanol para análisis (Merck)
- Na₂SO₄ anhidro (Merck)
- NaCl, KCL, NaOH, KOH (Merck).
- Propanol HPLC (Merck).
- Solución Ácido Acético Glacial: Cloroformo (3:2).
- Solución NaOH 0,1 N.
- Sulfato de Sodio Anhidro (Merck).

4.1.3. Equipos

- Agitador Vortex tubos Cenco-Instrument MIJ.B.V y Centrifuga Sorvall
- Baño ultrasónico FS30H Fisher Scientific.
- Bomba vacio modelo C55JXHRL4205, Emerson.
- Cámara de vacío, Supelco.
- Cromatógrafo de gases Hewlett Packard 5890 Serie II, columna Stabilwax-DB (0,25 μ m, 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)
- Cromatógrafo líquido de alta resolución equipado con bomba Merck–Hitachi L-6200 con detector de fluorescencia Merck-Hitachi F-1050, columna LiChrocart Superspher Si-60 (5 μm , 4,0 mm x 250 mm).
- Cromatógrafo líquido de alta resolución Waters equipado con bomba binaria 1525, detector arreglo de diodos 2998, horno 5CH autosampler 2707, columna Spherisorb ODS2 (5 μm x 4,6 mm x 250 mm).
- Espectrofotómetro UV/Vis UV3, Unicam.

4.2. MÉTODOS

El Instituto de Investigaciones Agropecuarias posee un Centro Experimental ubicado en Vallenar, el que cuenta con un campo donde se ha desarrollado un Banco de Germoplasma de Olivo destinado a generar información respecto de la adaptabilidad de las variedades de olivo presentes en el País, cuyo fin último es difundir aquellas variedades que presenten un mejor comportamiento agronómico, industrial y que sus aceites provean las mejores características en composición química y aportes de componentes bioactivos y los mejores atributos organolépticos.

Los ensayos experimentales de la memoria se realizaron en las instalaciones de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Chile, donde se determinaron los parámetros de calidad, composición química y componentes bioactivos de nueve variedades de aceite de oliva extra virgen.

4.2.1. Muestreo

Se realizó el muestreo en el Banco de Germoplasma de Olivos de Huasco, se seleccionaron al azar 3 árboles, a los cuales se les realizó el seguimiento durante dos temporadas, aquí cada árbol corresponde a una unidad experimental. Se colectan 10 kg de aceitunas, de la zona media del árbol, recolectadas con un estado de madurez entre 3 y 4, según índice de madurez definido por Hermoso et al, 2000.

4.2.2. Extracción de aceite y almacenamiento.

El aceite de oliva de cada muestreo y por variedad se extrajo en el laboratorio de INIA en Vallenar con una máquina extractora de aceite 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 trituran en un molino de martillos obteniéndose una pasta que es homogeneizada inmediatamente en una termobatidora, y posteriormente centrifugada a 3000-4000 r.p.m., para la obtención del aceite.

El aceite de oliva extra virgen obtenido se conserva a 15°C, hasta la determinación de los distintos componentes. Los aceites se enviaron al laboratorio para su análisis en los meses de junio y julio.

4.2.3. Determinación de índice de peróxidos

El índice de peróxido se determinó de acuerdo con el método oficial de la AOCS Cd 8-53. Este método determina los peróxidos, expresados en términos de mEq de peróxidos por 1000 g de muestra, los que producen la oxidación del yoduro de potasio (KI) bajo las condiciones de realización del método.

La muestra problema, disuelta en ácido acético y cloroformo, se trata con solución de yoduro potásico. El yodo liberado se valora con solución valorada de tiosulfato sódico. El resultado se expresa según la siguiente ecuación:

$$\text{Índice de Peróxidos: } \frac{(V_1 - V_0) (N) (1000)}{P}$$

Donde:

V_0 = ml de Tiosulfato de sodio usado para el blanco

V_1 = ml de Tiosulfato de sodio usado en la muestra

N = Normalidad del Tiosulfato de sodio

P = Peso de la muestra (g)

4.2.4. Determinación de acidez libre

Esta metodología mide la cantidad de ácidos grasos libres presentes en una grasa alimentaria, en este caso el aceite de oliva, la cual se calcula y mide por medio del método convencional Ca 5a-40, que consiste en la disolución de la muestra y valoración de los ácidos grasos libres mediante una solución de hidróxido de sodio (AOCS, 1993). El resultado se expresó como porcentaje de ácido oleico, calculado mediante la siguiente ecuación:

$$\frac{ml_{NaOH} * N_{NaOH} * 28,2}{PESO MUESTRA}$$

Donde:

V_{NaOH} = Volúmen (ml) gastados hasta lograr neutralización

N_{NaOH} = Normalidad de solución NaOH utilizada

P = Peso de muestra expresada en gramos

4.2.5. Determinación de Extinción Específica (K):

Se empleó el método NCh 5-91 descrito en AOCS 1993. Esta metodología describe el procedimiento de una examinación espectrofotométrica para aceites. El aceite o la grasa en cuestión se disuelven en isooctano y la extinción de la solución se determina por medio a las longitudes de ondas específicas (232, 266, 270 y 274 nm) con respecto a un disolvente puro o blanco (isooctano). Los valores de estas absorciones se expresan en extinción específica $E_{1cm}^{1\%}$ (extinción de una solución de la materia grasa al 1 % en el disolvente determinado, en un espesor de 1 cm) que se expresa convencionalmente como K, también denominado coeficiente de extinción. La prueba espectrofotométrica en el ultravioleta puede proporcionar información sobre la calidad de un aceite, su estado de conservación y las modificaciones inducidas por los procesos tecnológicos (AOCS, 1993).

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

Donde:

K_{λ} = extinción específica a la longitud de onda λ

A_{λ} = 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 , el cual se cálculo de acuerdo a la fórmula:

$$\Delta K: K_{270} - \frac{1}{2} (K_{266} + K_{274})$$

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 (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 como una fase intermedia antes de que se produzca la saponificación, descrito por (COI, 2001).

Se utilizó un GC Hewlett Packard 5890 Serie II, columna Stabilwax-DB (0,25 μ m, 0,32 mm x 50m) en condiciones de temperatura de 220°C en el inyector y detector, y una temperatura de 160°C en el horno.

Los ácidos grasos se identificaron según los tiempos de retención y comparación con estándares de ácidos grasos y norma COI (ver anexo 1). Los ácidos grasos se expresan como % de ésteres metílicos.

4.2.7. Determinación de la composición y el contenido en esteroides

La determinación de la composición y el contenido en esteroides se realizó según la Norma COI/ T.20/ Doc. nº 10/Rev. 1 de 2001. El método consiste en la

saponificación de la materia grasa, a la que se añade α -colestanol como patrón interno, con una solución etanólica de hidróxido potásico; a continuación, se realiza una extracción del insaponificable con éter etílico, luego se separa la fracción de esteróles del insaponificable extraído, mediante cromatografía en placa de gel de sílice básica; los esteróles recuperados del gel de sílice se transforman en trimetisililéteres y se analizan mediante cromatografía de gases con columna capilar y detector FID (ver anexo 2) (COI, 2001). Para cada esterol se realiza el cálculo:

$$\text{Esterol } X = \frac{(A_X * M_S * 1000)}{(A_S * M)}$$

Donde:

A_X = área del pico de esterol X en milivolts cuadrados

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

M_S = peso de α -colestanol añadidos, en miligramos

M = peso de muestra para determinación, en gramos

4.2.8. Determinación de tocoferoles

Los tocoferoles se determinaron por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detección de fluorescencia, según método estándar AOCS Ce 8-89 (AOCS, 1993). Columna Superspher Si LichroCART 60 (25cm x 4mm i.d., tamaño partícula 5 μ m; Merck), la fase móvil será propan-2-ol en hexano (0.5:99.5 v/v) en una velocidad de flujo de 1 ml/min. Se utilizó una bomba de HPLC, Rheodyne 7725i, inyector con un loop de 20 μ m, espectrofotómetro de fluorescencia y PC con interface y software Clarity. Los picos se detectan a una longitud de onda de excitación en 290 nm y la longitud de onda de emisión en 330 nm (ver anexo 3). Los tocoferoles se identificaron y cuantificaron usando tocoferoles Calbiochem (Merck) como estándares externos. Mediante la inyección de una solución estándar conocida se determinaron los tocoferoles presentes y la concentración de cada compuesto según la fórmula:

$$\text{ppm tocol} = \frac{(a * C * V * d)}{(A * P)}$$

Donde:

a = área del pico del tocoferol en la muestra

C = concentración del tocoferol en el estándar en $\mu\text{g/ml}$

V = volumen del matraz aforado en ml

d = factor de dilución (si corresponde)

A = área del pico del tocoferol en el estándar

P = peso de la muestra en gramos

4.2.9. Determinación de la composición de los compuestos fenólicos

La determinación de los compuestos fenólicos se realizó implementando el método propuesto por Mateos et al (2001). Este método consiste en la extracción de los compuestos fenólicos mediante columnas de microextracción en fase sólida, con una 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 ($5\mu\text{m}$, 250mm x4,6 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).

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 ácido fórmico 0,5%V/V y metanol/acetonitrilo 50/50% V/V, a un flujo 1 ml/min. Los cromatogramas fueron extraídos a longitudes de onda de 235, 280 y 335 nm.

La cuantificación de cada fenol, se realizó respecto al estándar interno adicionado, utilizando al ácido p-hidroxifenilacético (PHPA) para los fenoles extraídos a 235 y 280 nm, y ácido o-cumárico para los extraídos a 335 nm (ver anexo 4).

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

$$\text{Fenol (mg/kg)} = \frac{1000 * \text{CI (g)} * \text{Area fenol} * \text{Factor fenol}}{\text{Área PI} * P}$$

Donde:

CI: concentración del patrón interno (ácido p-hidroxifenilacético para $\lambda=235$ y 280 nm y ácido o-cumárico para $\lambda=335$ nm) expresada en mg/ml

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 cromatograma

P: peso de la muestra, expresada gramos

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 extra virgen del Banco de Germoplasma se trataron estadísticamente, las diferencias entre los distintos aceites se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) e Intervalos de comparación múltiple de Fisher (LSD) al 95% de confianza ($p < 0.05$) para conseguir establecer diferencias significativas. Se utilizó el SOFTWARE: Statgraphics Centurion 16.

Todos los análisis se realizaron en duplicado.

5. RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1. Determinación de parámetros de calidad

La “calidad” de un producto alimentario, en su más amplio sentido, puede definirse como el conjunto de aquellas características de atributos individuales del mismo que son significativos para determinar el grado de aceptación que aprecia, o debe apreciar, el consumidor. Los atributos de calidad para cualquier alimento se pueden clasificar en sensoriales y ocultos. Entre estos últimos se incluyen: El valor nutricional, la ausencia de alteración y toxicidad, y en el caso de los aceites de oliva vírgenes, el sistema de obtención de los mismos (por métodos físicos excluida por principio cualquier manipulación química, y a baja temperatura) y la ausencia de aditivos para su comercialización, dando los parámetros clásicos de calidad: valoración organoléptica e índices tradicionales de acidez, de peróxidos y absorción ultravioleta (Hidalgo, 1992).

5.1.1 Índice de peróxidos

La reacción de oxidación del aceite consiste en la incorporación del oxígeno en el grupo metilénico activado (ya sea libre o incorporado en un acilglícrido) para formar peróxidos e hidroperóxidos.

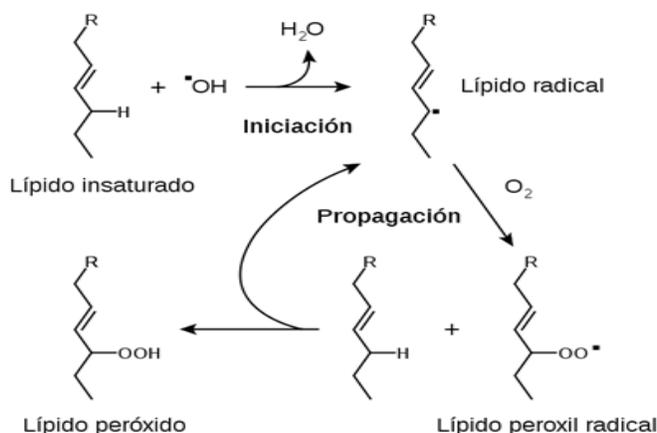


Figura 9: Formación de peróxidos.

Los peróxidos e hidroperóxidos son compuestos relativamente inestables y se transforman progresivamente en aldehídos y cetonas, compuestos responsables de sabores y aromas desfavorables para el aceite de oliva.

Tabla 4: Índice de peróxidos (mEqO₂/Kg)

Variedad	IP*(mEqO ₂ /Kg)
Coratina	2,39 ± 0,44 ^a
Arbequina I-18	2,49 ± 0,39 ^a
Sevillana	5,39 ± 0,54 ^b
Cerignola	5,51 ± 1,06 ^b
Frantoio	5,65 ± 0,18 ^b
G.Limarí	6,33 ± 0,5 ^c
Arbusana	6,38 ± 0,4 ^c
Barnea	6,60 ± 0,45 ^{cd}
Arbequina	7,16 ± 0,26 ^d

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

El COI establece para índice de peróxidos un máximo de 20 mEqO₂/Kg de aceite, lo que implica que las nueve variedades se encuentran dentro del rango permitido para aceites de oliva virgen extra, indicando una oxidación primaria y tendencia al enranciamiento mínimas.

La tabla 4 muestra los resultados obtenidos para las nueve variedades en estudio, donde se puede apreciar las diferencias significativas entre ellas (ver anexo 5). La variedades 'Coratina' y 'Arbequina I-18' presentan los menores valores de índice de peróxido con 2,39 y 2,49 mEq/O₂ kg de aceite y la variedad 'Arbequina' presenta el valor más elevado con 7,16 mEq/O₂ kg de aceite (Figura 10). El mayor valor de peróxido presentado por la variedad 'Arbequina' podría deberse a una mayor actividad en las enzimas lipoxigenasas en el fruto.

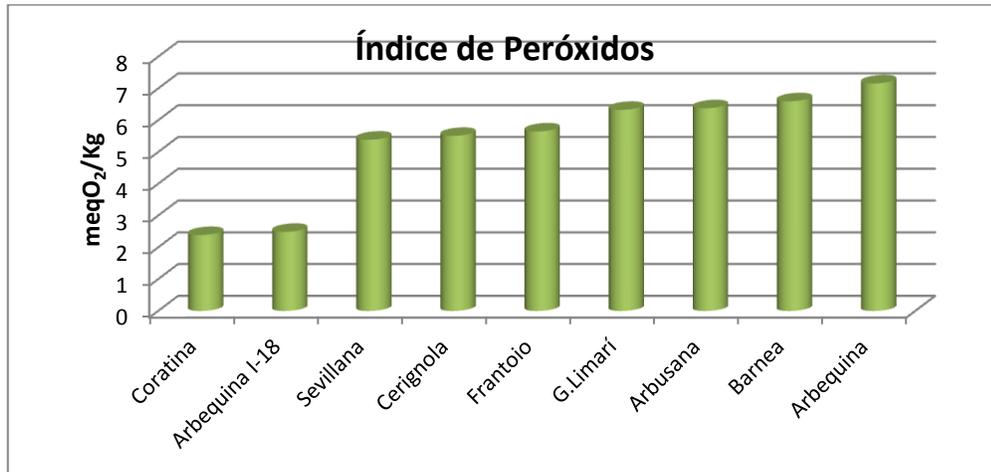


Figura 10: Gráfico promedio de índice de peróxidos por variedad.

En un estudio realizado por Allalout et al (2009) se encontraron índices de peróxidos de 3,55 mEq/O₂ kg de aceite para la variedad Arbequina, valor muy inferior al obtenido en este estudio, esta variación se debe principalmente a factores agronómicos y diferencias climáticas de las distintas zonas de cultivo. En este mismo estudio se encontraron valores para la variedad 'Arbequina IRTA-I18' de 3,20 mEq/O₂ kg de aceite y de 4,20 mEq/O₂ kg de aceite para la variedad 'Arbusana'.

5.1.2 Acidez libre

El COI estipula que el aceite de oliva virgen extra no podrá superar el 0,8%, mientras que el límite del aceite de oliva virgen está en un 2%. En el reglamento de la UE nº 1513/2001 en que se publican las definiciones de los aceites en el mercado de graneles, también se indica que el aceite de oliva virgen extra tendrá 0,8% de acidez máxima (COI, 2009). La tabla 5 presenta los porcentajes de acidez libre, se observa que todas las variedades presentaron valores bajos de acidez libre y cumplen con la normativa COI y el reglamento de UE.

Tabla N°5: Porcentaje de acidez libre, expresado como ácido oleico.

Variedad	Acidez Libre (%)
Arbequinal-18	0,10 ± 0,01 ^a
Arbusana	0,11 ± 0,01 ^a
Cerignola	0,12 ± 0,01 ^{a,b}
Barnea	0,13 ± 0,01 ^{a,b,c}
Sevillana	0,15 ± 0,00 ^{a,b,c}
Coratina	0,17 ± 0,01 ^{b,c}
Grappolo Limarí	0,17 ± 0,03 ^c
Frantoio	0,17 ± 0,01 ^c
Arbequina	0,22 ± 0,13 ^d

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

En la tabla 5 se observa que los aceites de oliva virgen extra analizados presentaron valores de acidez libre entre los 0,10 y 0,22%, los cuales presentan diferencias significativas entre variedades (Ver anexo 6). Las diferencias de acidez libre entre una variedad y otra se deben principalmente a la variabilidad genética de la aceituna, además de su estado de madurez 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.

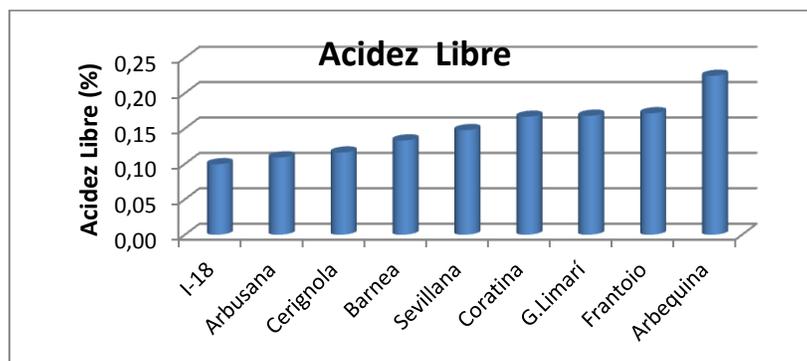


Figura 11: Gráfico promedio de Acidez libre por variedad.

A partir de la figura 11 se observa que la variedad 'Arbequina' presenta el mayor porcentaje de acidez libre, valor que se compara con el 0,27% obtenido en un estudio realizado por Allalout et al (2009). Por el contrario la variedad 'Arbequina IRTA-18' en el mismo estudio, obtuvo un 0,37%, valor muy superior al 0,10% obtenido en el aceite analizado. Las diferencias con otros autores se deben principalmente a factores agronómicos y climáticos.

Un índice de acidez muy bajo corresponde con un aceite de alta calidad, valores próximos a 0,1 indican que el aceite procede de frutos sanos y ha sido elaborado en condiciones óptimas, mientras que un índice de acidez alto indica anomalías en el estado de los frutos, en el tratamiento y/o en la conservación (Jiménez y Carpio, 2002).

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

Las mediciones de absorbancia al ultravioleta están relacionadas con el estado oxidativo de los aceites, por lo que se utiliza para reconocer el estado de conservación y la adulteración de estos. Los aceites de oliva extra virgen deben tener un coeficiente de extinción a 232 y 270 nm, menor o igual a 2,50 y 0,22, respectivamente, y un $\Delta K \leq 0,01$ (COI/T.15/NC N° 3/Rev. 5.2010). Estos límites se deben a que los compuestos de oxidación primarios (peróxidos y hidroperóxidos), formados durante la oxidación de los aceites, absorben a 232 nm, mientras que los productos de oxidación secundaria como aldehídos, cetonas o ácidos, lo hacen a longitudes de ondas más altas (262, 268, 270 y 274 nm) (Paz y Molero, 2000).

El coeficiente Delta K (ΔK) se utiliza fundamentalmente como criterio de pureza y para detectar mezclas con aceites de oliva refinados puesto que en el proceso de refinación del aceite se forman unos compuestos denominados trienos conjugados, que absorben a 270 nm, pero que también presentan picos de absorbancia que no existen cuando el aceite es virgen (BALENSYA, 2011).

En la tabla 6 se puede ver los valores del coeficiente de extinción a 232 nm, 270 nm de absorbancia y ΔK .

Tabla 6: Coeficiente K a 232 y 270 nm de absorbancia y ΔK para cada variedad.

Variedad	K 232	K 270	ΔK
Arbequina	3,10 ± 0,30 ^e	0,17 ± 0,02 ^{c,d}	0,005 ± 0,001 ^{a,b}
Arbusana	2,21 ± 0,20 ^{a,b,c}	0,13 ± 0,02 ^{a,b}	0,004 ± 0,001 ^{a,b}
Barnea	2,53 ± 0,11 ^d	0,17 ± 0,03 ^d	0,009 ± 0,005 ^{c,d}
Cerignola	2,12 ± 0,19 ^{a,b}	0,15 ± 0,02 ^{b,c,d}	0,006 ± 0,001 ^{b,c}
Coratina	2,36 ± 0,32 ^{b,c,d}	0,15 ± 0,01 ^{b,c,d}	0,011 ± 0,004 ^d
Frantoio	2,52 ± 0,12 ^{c,d}	0,16 ± 0,01 ^{c,d}	0,012 ± 0,001 ^d
Grappolo Limarí	2,94 ± 0,20 ^e	0,15 ± 0,01 ^{b,c,d}	0,002 ± 0,000 ^a
Arbequina I-18	1,94 ± 0,08 ^a	0,11 ± 0,01 ^a	0,013 ± 0,001 ^d
Sevillana	2,21 ± 0,06 ^{a,b,c}	0,14 ± 0,01 ^{a,b,c}	0,005 ± 0,001 ^{a,b}

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

Analizando los datos de la tabla 6, se observa que la mayoría de las variedades cumplen con la normativa del COI, sin embargo, se presentan variedades fuera de rango para K_{232} como la 'Arbequina' y 'Grappolo Limarí' y justo en el límite las variedades 'Barnea' y 'Frantoio'. El Coeficiente ΔK también presentó ligeras alzas en las variedades 'Coratina', 'Frantoio' y 'Arbequina IRTA-18', las cuales están sutilmente fuera de rango. Estas alzas en el coeficiente de extinción K_{232} y ΔK , pueden generarse por un mal tratamiento de la aceituna, por exposición a la luz o al calor, por envasado no apropiado, etc.

Se encontraron diferencias significativas entre variedades (ver anexo 7), lo que se explica principalmente por la variabilidad genética de la aceituna.

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 'Arbequina' se encontraron valores cercanos 0,08, 1,46 y 0,004 para K_{270} , K_{232} y ΔK , respectivamente (Allalout et al, 2009), en el caso de la variedad 'Arbusana' se encontraron valores cercanos a 0,16,

2,24 y 0,003 para K270, K232 y ΔK , respectivamente (Allalout et al, 2009). Las diferencias obtenidas con distintos autores se deben primordialmente a la variación climática y agronómica de las zonas de cultivos.

5.2. Caracterización del perfil de ácidos grasos

Los múltiples estudios realizados sobre la composición en ácidos grasos de aceites elaborados a partir de aceitunas, muestran amplios márgenes y variabilidad de ésta, lo que se considera relacionado con factores genéticos y ambientales en el desarrollo de estos frutos (Sanchez, 2003).

Otros autores indican igualmente al estudiar la composición en ácidos grasos del aceite de oliva procedente de diferentes campañas, épocas de recolección y variedades, que el contenido graso tiene una fuerte componente varietal, atribuyendo a este factor más del 70 % de la variabilidad encontrada, en especial si se tienen en cuenta las variaciones porcentuales del contenido en ácido palmítico, esteárico, oleico y linoleico. Aún teniendo en cuenta el gran tamaño que presentan los rangos de variabilidad de los diferentes ácidos grasos en el aceite de oliva, se pueden considerar estos como un índice analítico que permite apreciar cualidades positivas en la evaluación de su calidad, ya sea en el sentido de controlar sus posibles alteraciones, en las que los ácidos grasos, especialmente poliinsaturados, tienen una clara intervención o para conocer su pureza (Sanchez, 2003).

Por medio de cromatografía de gases se obtuvieron los distintos perfiles de las variedades en estudio de aceite de oliva virgen extra, donde su cuantificación, arrojó los siguientes resultados resumidos en la tabla 7.

Tabla 7: Perfil de ácidos grasos expresados como porcentaje de ésteres metílicos.

Ácidos Grasos	Arbequina	Frantoio	Coratina	G.Limari	Arbusana	Barnea	Sevillana	Arbequina I-18	Cerignola	COI*
	(%)									
C16:0 Palmítico	13,0±0,47 ^d	12,0 ± 0,39 ^b	9,7 ± 0,67 ^a	12,1 ± 0,92 ^{b,c}	12,6±0,18 ^{b,c,d}	9,77 ± 0,12 ^a	15,4±0,4 ^e	13,07±0,56 ^d	12,7±0,8 ^{c,d}	7,5-20,0
C17:0 Heptadecanoico	0,1±0,0	Traza	traza	traza	0,1 ± 0,0	Traza	Traza	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,05	≤ 0,3
C18:0 Estearico	1,8±0,1 ^a	2,05 ± 0,16 ^b	2,08 ± 0,23 ^b	1,98 ± 0,15 ^b	1,83 ± 0,05 ^a	2,68 ± 0,08 ^c	2,9±0,1 ^d	1,83 ± 0,10 ^a	3,0 ± 0,1 ^d	0,5-5,0
C20:0 Araquídico	0,3±0,0	0,3±0,0	0,4±0,1	0,3±0,0	0,3±0,0	0,3 ± 0,00	0,2±0,0	0,30 ± 0,05	0,2 ± 0,0	≤ 0,6
C22:0 Behénico	0,1±0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,13 ± 0,05	0,10 ± 0,04	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	≤ 0,2
C24:0 Lignocérico	Traza	Traza	traza	traza	Traza	Traza	Traza	Traza	traza	≤ 0,2
C16:1 Palmitoleico	1,1±0,21 ^{d,e}	0,8±0,05 ^b	0,4±0,14 ^a	1,1±0,15 ^{c,d,e}	1,2±0,06 ^e	0,5 ± 0,05 ^a	1,8±0,10 ^f	1,1±0,05 ^{c,d}	0,9±0,14 ^c	0,3-3,5
C16:1 ω9	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	
C16:1 ω7	1,0	0,7	0,3	1,0	1,1	0,4	1,7	0,9	0,8	
C17:1 Heptadecenoico	0,2±0,04	0,1±0,0	0,1±0,05	0,1±0,0	0,28±0,04	Traza	Traza	0,25±0,05	0,27±0,05	≤ 0,3
C18:1 Oleico	73,1±1,52 ^c	77,9±0,97 ^e	80,2±1,15 ^f	77,9±0,53 ^e	75,9±0,42 ^d	79,2±0,26 ^{e,f}	63,3±1,1 ^a	72,3±0,93 ^c	68,9±3,04 ^b	55,0-83,0
C18:1 ω9	69,8	75,3	78,6	74,8	72,6	77,5	60,5	69,4	67,3	
C18:1 ω7	3,2	2,7	2,1	3,4	3,5	2,0	3,0	3,2	2,3	
C20:1 Eicosenoico	0,3±0,0 ^{b,c}	0,3±0,05 ^{c,d}	0,4±0,05 ^d	0,3±0,05 ^b	0,3±0,0 ^{b,c}	0,3±0,04 ^b	0,2±0,0 ^a	0,3±0,0 ^{b,c}	0,2±0,0 ^a	≤ 0,4
C18:2 Linoleico	9,3±1,01 ^{a,b,c}	12,8±0,86 ^{b,c}	5,3±0,48 ^a	5,1±0,83 ^a	6,3±0,23 ^{a,b}	5,9±0,41 ^{a,b}	14,6±0,8 ^c	9,7±0,99 ^{a,b,c}	11,5±1,89 ^{a,b,c}	3,5-21,0
C18:3 Linolénico	0,5±0,04	0,7±0,04	0,7±0,0	0,5±0,0	0,7±0,0	0,7±0,04	0,7±0,0	0,7±0,05	0,9±0,1	≤ 1,0

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

La tabla 7 muestra que todos los ácidos grasos para las nueve variedades estudiadas se encuentran dentro de los límites establecidos por la norma COI, además de presentar diferencias significativas entre variedades (ver anexo 8). Se observa que el ácido graso predominante y que se encuentra en mayor porcentaje es el ácido monoinsaturado oleico, encontrándose en un rango de 60-80 % aproximadamente, seguido por el ácido saturado palmítico que se encuentra entre un 9-15%.

Las variaciones en la composición de los ácidos grasos se atribuyen principalmente a la variable genética, a la zona de producción del aceite de oliva, donde los factores principales que afectan la composición son la latitud, las condiciones climáticas y el grado de madurez de la aceituna (Boskou et al, 2006). Aceites de oliva procedentes de Grecia, Italia y España son bajos en ácidos linoleico y palmítico y presentan altos porcentajes de ácido oleico. Aceites de oliva Tunesinos son altos en ácido linoleico y palmítico y bajos en ácido oleico (Boskou et al, 2006). Sobre la base de análisis de muestras de varios países los aceites de oliva son clasificados en dos tipos, uno con un bajo contenido de ácidos linoleico-palmítico y alto contenido de ácido oleico y el otro con alto contenido de ácido linoleico- palmítico y bajo contenido de oleico (Boskou et al, 2006). Ninni (1999) reportó que el ácido oleico es formado primero en la fruta y hay una relación antagónica entre el ácido oleico y los ácidos palmítico, palmitoleico y linoleico (Boskou et al, 2006).

El ácido palmítico es el principal ácido graso saturado de la dieta, constituyendo aproximadamente un 60% del total de los ácidos grasos saturados y también juega un rol importante en el mecanismo de biosíntesis de los ácidos grasos en las plantas, ya que es conocido que se realiza a través de secuencias de complejos procesos bioquímicos, iniciados con la síntesis de la cadena grasa saturada, hasta llegar a ácido palmítico, a expensas de ion acetato y CoA. A continuación esta cadena es alargada y desaturada para suministrar los distintos ácidos grasos saturados e insaturados (Sanchez, 2003).

En la figura 12 podemos ver que la variedad ‘Sevillana’ o ‘Azapa’ es la que presenta mayor contenido de ácido palmítico (15,4%), presentando diferencias

significativas con el resto variedades. El ácido Palmítico le entrega estabilidad oxidativa, debido que al ser un ácido graso saturado es menos reactivo.

En estudios realizados por el INIA y publicados en la revista “Tierra Adentro” se obtuvieron resultados muy similares a los en estudio, donde el contenido de ácido palmítico es de 13,4% para la ‘Arbequina’, 10,1% para la ‘Barnea’, 8,1% para la ‘Coratina’ y 13% para el ‘Grappolo Límari’. En el caso del ácido Palmitoleico, ocurre lo mismo, la variedad ‘Sevillana’ alcanza el contenido más alto (1,8%) y presenta diferencias significativas con el resto de las variedades. Nuevamente el factor genético marca la diferencia entre variedades.

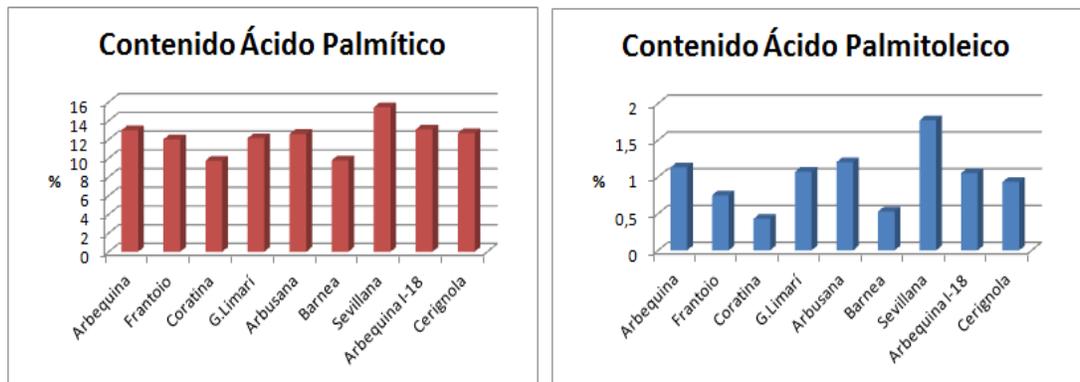


Figura 12: Contenido de ácido Palmítico y Palmitoleico para las 9 variedades (%).

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).

En la figura 13, se observa que todas las variedades presentan altos contenido en ácido oleico, destacándose entre ellas las variedades ‘Coratina’ con un 80,2%, la ‘Barnea’ con un 79,2% y el ‘Frantoio’ con un porcentaje de 77,9%.

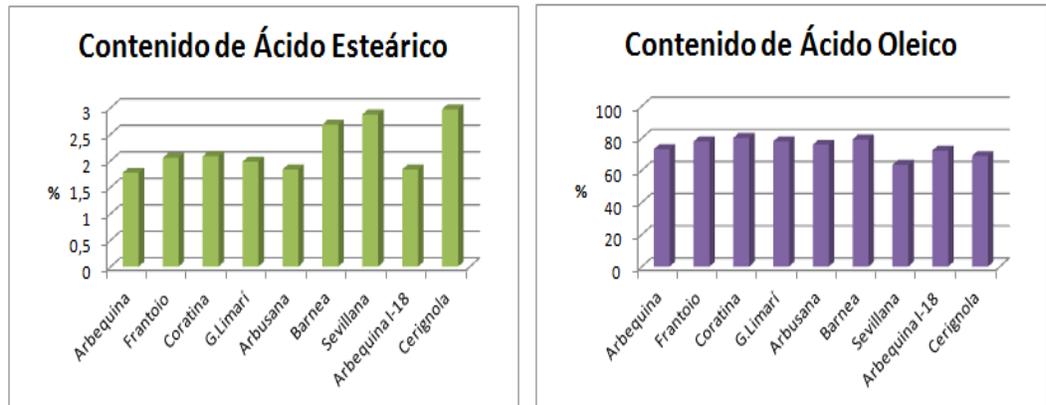


Figura 13: Contenido de ácido Esteárico y Oleico para las 9 variedades (%).

En un estudio realizado por Carelli (2008), se obtuvieron valores muy similares a los presentados, donde el porcentaje de ácido oleico para la variedad ‘Coratina’ fue de 70%, para ‘Barnea’ 66% y para ‘Frantoio’ un 75% del total de ácidos grasos.

Se puede apreciar en la figura 12 que las variedades que presentan mayor contenido de ácido esteárico son la variedad ‘Cerignola’, ‘Sevillana’ y ‘Barnea’. Comparativamente con un estudio realizado por el INIA la variedad ‘Barnea’ obtuvo 2,24% de ácido esteárico, la variedad ‘Arbequina’ 1,76% y ‘Grappolo Limari’ 1,99% (Tierra Adentro, 2010).

El aceite de oliva virgen extra aporta ácidos grasos esenciales para la dieta humana, tales como el ácido linoleico y en pequeña cantidad ácido linolénico. En la figura 13 se puede observar que entre variedades hay diferencias significativas en el contenido de los ácidos poliinsaturados, dichas diferencias se atribuyen a la variabilidad genética propia de cada variedad.

En la Figura 14 se observa que la variedad ‘Sevillana’, ‘Frantoio’ y ‘Cerignola’ presentan los contenidos más elevados de ácido Linoleico con un 14,6%, 12,8% y 11,5%, respectivamente. Para el ácido Linolénico se ve en la gráfica que la ‘Cerignola’ destaca en su contenido de éste ácido (0,87%).

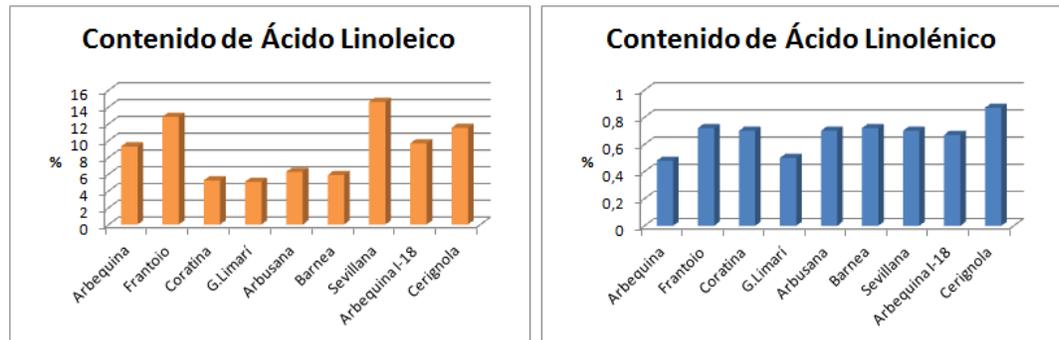


Figura 14: Contenido de ácido Linoleico y Linolénico para las 9 variedades (%).

Un estudio realizado por Dugo et al (2004), entrega valores para la variedad ‘Cerignola’ de 11,9% y 0,7% para ácido linoleico y linolénico, respectivamente. Para la variedad ‘Frantoio’ estudios realizador por Carelli (2008) entregan cifras de 12,6% de ácido linoleico y 0,8 % para linolénico. Resultados arrojados por la revista del INIA indican que para la variedad ‘Arbequina’ el contenido de ácido Linoleico fue de 8,87 % y para el ácido Linolénico un 0,53%. Para la variedad ‘Barnea’ se obtuvo un 7,93% de ácido linoleico y un 0,55% de linolénico.

La estabilidad oxidativa de los aceites de oliva virgen aumenta cuando la relación entre ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados es mayor. Al aumentar el grado de insaturación, la velocidad de oxidación aumenta progresivamente, por lo que los ácidos grasos poliinsaturados, como el linoleico (dos dobles enlaces) y el linolénico (tres dobles enlaces), son más sensibles a la auto-oxidación que los ácidos grasos monoinsaturados, como el ácido oleico, el cual presenta mayor resistencia a la oxidación(Ceci y Carelli, 2010).

4.3. Contenido de tocoferoles

Se han identificado varios tocoferoles, constituidos por un núcleo cromano sustituido con grupos fenólicos, metílicos y una cadena lateral de fitilo saturada, de 16 átomos de carbono, con tres esqueletos de isopreno (Lozano, 2010).

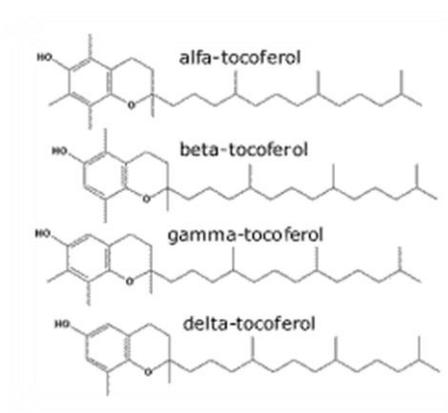


Figura 15: Alfa, beta, gamma y delta tocoferol.

Los tocoferoles son agentes antioxidantes naturales y confieren estabilidad a la grasa o aceite que los posee. Por tanto, los tocoferoles son constituyentes importantes en la composición del aceite de oliva, ya que le otorga estabilidad, y tienen un papel biológico beneficioso como vitamina E y antioxidantes. Químicamente el alfa-tocopherol es la forma de la vitamina E que ejerce una acción antioxidante más importante, ya que reacciona con los radicales peróxidos de los ácidos grasos, que son los productos primarios de la autooxidación de la grasa, y detiene así la alteración en las primeras etapas (Lozano, 2010).

El contenido en tocoferol depende mucho de la variedad de la aceituna, sus concentraciones varían desde 5 a 300 mg/kg. En los aceites de oliva de buena calidad, el contenido suele estar entre los 100 y 300 mg/kg (Lozano, 2010).

En la tabla 8 se pueden ver los resultados obtenidos por HPLC de α -tocopherol, γ -tocopherol y contenido total de tocoferoles para las nueve variedades de aceite de oliva virgen extra en estudio.

Tabla 8: Concentración de tocoferoles de las nueve variedades de aceite de oliva virgen extra analizadas.

Variedad	Contenido α (mg/kg)	Contenido γ (mg/kg)	Contenido Total (mg/kg)
Cerignola	126 \pm 11,1 ^a	Tr	126 \pm 11,1 ^a
G. Limarí	163 \pm 8,5 ^b	Tr	163 \pm 8,5 ^b
Coratina	164 \pm 10,7 ^b	Tr	164 \pm 10,7 ^b
Frantoio	170 \pm 6,2 ^b	Tr	170 \pm 6,2 ^b
Arbequina	176 \pm 3,6 ^{b,c}	Tr	176 \pm 3,6 ^{b,c}
Sevillana	190 \pm 6,3 ^c	11,8 \pm 0,1	202 \pm 6,2 ^c
Barnea	190 \pm 21,2 ^c	Tr	190 \pm 21,2 ^c
Arbusana	239 \pm 11,2 ^d	Tr	239 \pm 11,2 ^d
Arbequina I-18	245 \pm 3,0 ^d	Tr	245 \pm 3,0 ^d

Promedio n=6. Letras distintas representan diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre variedades. Tr < 10 mg/kg de aceite.

El contenido de tocoferoles totales se encuentra dentro del rango reportado por otros autores, alcanzando concentraciones entre 126 y 245 mg/kg de aceite. Se observaron diferencias significativas entre variedades (ver anexo 9). 'Arbequina I-18' y 'Arbusana' presentan los mayores contenidos de α -tocoferol, con valores de 245 mg/kg y 239 mg/kg, respectivamente. La variedad Cerignola presenta el valor más bajo con 125 mg/kg de aceite.

El estudio realizado por Allalout et al (2009) presentó valores inferiores a los obtenidos; la variedad 'Arbequina I-18' obtuvo 220 mg/kg de aceite, mientras que la variedad 'Arbusana' presentó 200 mg/kg. Otros autores como Escudero et al (2009), en la localidad de Sevilla (España), publicaron resultados para las variedades 'Coratina' y 'Frantoio', obteniendo 316 y 159 mg/kg de aceite de α -tocoferol, respectivamente. Carelli (2008), en Argentina, para las variedades 'Arbequina' y 'Barnea' obtuvo 186 y 313 mg/kg de aceite respectivamente. Las diferencias que se presentan pueden justificarse debido a las condiciones climáticas de la zona de cultivo y a factores agronómicos (Kodad et al, 2007).

La variedad 'Sevillana' presentó el mayor contenido de γ -tocoferol con 11,8 mg/kg de aceite, obteniendo el resto de las variedades sólo trazas de este tocoferol.

5.4 Contenido de esteroides y alcoholes triterpénicos

Los alcoholes esteroideos, presentes en todos los organismos vivos excepto en bacterias, de acuerdo a su estructura química y biosíntesis se clasifican en tres grupos: 4,4-dimetilesteroides, 4-monometilesteroides y desmetilesteroides según tengan dos, uno o ningún grupo metilo en el carbono 4. A este último grupo pertenecen los esteroides vegetales, denominados fitoesteroides, cuyos valores están reglamentados por la Comunidad Europea y el COI y limitados sus porcentajes por el Codex Alimentarius de la FAO/OMS para salvaguardar la genuinidad de estas (Sanchez, 2010).

En función de esto, el conocimiento del perfil de esteroides ha sido utilizado por investigadores para detectar posibles mezclas fraudulentas de grasas de menor valor con algún aceite de oliva (virgen, refinado u orujo) y también como parámetros para caracterizar esos aceites de oliva. Además, se ha observado que el perfil de esteroides varía atendiendo a distintos factores como los agronómicos (clima, suelo, agua), la recolección (cultivar, madurez), factores tecnológicos (conservación del fruto o del aceite, sistemas de extracción) y procesos industriales (refinación, extracción con disolventes) (Sanchez, 2010).

La tabla 9 muestra los porcentajes de los diferentes esteroides y alcoholes triterpénicos que componen el aceite de oliva virgen extra para las nueve variedades de olivos en estudio y los valores reglamentados por el COI. Se observa que para los distintos esteroides se obtuvieron diferencias significativas entre las variedades (anexo 10).

Tabla 9: Composición y contenido de esteroides de las nueve variedades de aceite de oliva virgen extra

Variedad	Colesterol (%)	Brasicasterol (%)	Campesterol (%)	Estigmasterol (%)	B-Sitosterol (%)	D-7-Estigmasterol (%)	Esteroides totales (mg/kg)	Eritrodil + uvaol (%)
Sevillana	0,1±0,02 ^a	0,1±0,00 ^a	4,0±0,10 ^c	0,2±0,02 ^a	95,1±0,09 ^a	0,1±0,02 ^a	1551±74,3 ^c	0,6±0,21 ^{a,b}
Barnea	0,2±0,04 ^{a,b}	0,1±0,06 ^a	3,3±0,24 ^b	0,1±0,10 ^a	96,0±0,45 ^c	0,2±0,05 ^{b,c}	2233±136,2 ^e	0,4±0,06 ^a
Arbusana	0,2±0,01 ^{a,b}	0,1±0,00 ^a	3,5±0,09 ^b	0,4±0,02 ^{b,c}	95,6±0,04 ^b	0,2±0,10 ^{a,b}	1728±72,6 ^d	3,3±0,15 ^f
Coratina	0,3±0,05 ^{b,c}	0,1±0,00 ^a	3,8±0,13 ^c	0,5±0,11 ^{c,d}	95,1±0,13 ^a	0,3±0,06 ^c	1037±20,4 ^a	3,6±0,15 ^g
Cerignola	0,3±0,09 ^{b,c}	0,1±0,00 ^a	3,9±0,17 ^c	0,4±0,09 ^{b,c}	95,0±0,32 ^a	0,3±0,08 ^{c,d}	1222±29,1 ^b	1,3±0,21 ^e
Arbeq. I-18	0,3±0,01 ^{c,d}	0,1±0,00 ^a	3,5±0,10 ^b	0,3±0,03 ^b	95,5±0,08 ^b	0,2±0,02 ^{a,b}	1843±143,0 ^d	3,7±0,10 ^g
Arbequina	0,3±0,05 ^{c,d,e}	0,1±0,00 ^a	3,9±0,07 ^c	0,5±0,04 ^d	94,8±0,09 ^a	0,3±0,05 ^{b,c}	1546±50,6 ^c	0,8±0,06 ^d
G.Limarí	0,4±0,03 ^{d,e}	0,1±0,00 ^a	3,1±0,04 ^a	0,5±0,01 ^d	95,8±0,04 ^{b,c}	0,2±0,03 ^{a,b}	1797±119,0 ^d	0,7±0,06 ^{c,d}
Frantoio	0,4±0,02 ^e	0,1±0,00 ^a	3,7±0,20 ^c	0,4±0,11 ^{b,c,d}	95,0±0,08 ^a	0,3±0,06 ^c	1820±167,1 ^d	5,5±0,20 ^h
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.

Para el contenido de esteroles totales en el aceite de oliva, se establecen valores que van en el rango desde los 1130- 2650 mg/kg. Estos valores incluso pueden ser más altos. Numerosos estudios demuestran que β -sitosterol representa entre el 75 y 95 % de la fracción total de esteroles, lo cual se refleja en los resultados obtenidos en la tabla 9. En pequeñas cantidades se encuentran el estigmaesterol, colesterol, campesterol, etc (Lozano, 2010).

El Colesterol es un tipo de grasa que existe en el organismo y que poseemos todas las personas. De hecho dependemos del colesterol para, entre otras cosas, poder fabricar la membrana de las células, para formar las sales biliares y para elaborar algunos tipos de hormonas tan importantes como son las hormonas sexuales y las hormonas glucocorticoides y mieneralocorticoides, que nos sirven para controlar la Tensión Arterial y para defendernos de las agresiones externas o internas. El Colesterol utiliza la corriente sanguínea para circular de uno tejidos a otros. Para movilizarse dentro de la sangre el Colesterol tiene que ir unido a un tipo de proteínas: unas llamadas HDL y otras conocidas como LDL (Gargallo, 2013).

En la tabla 10 se puede observar que el COI establece como límite máximo de colesterol un 0,5%, para el cual todas las variedades en estudio, se encuentran dentro de norma.

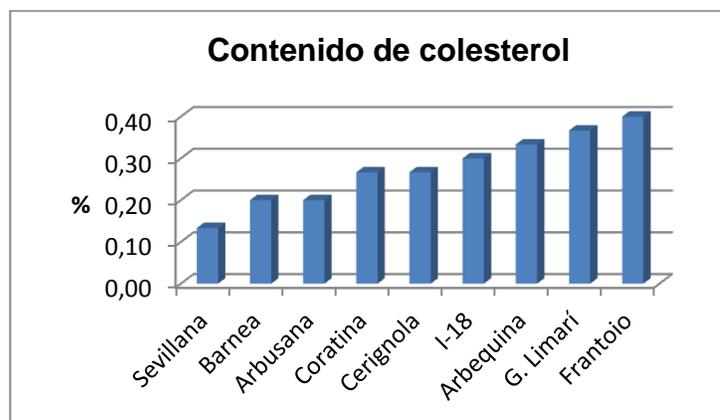


Figura 16: Contenido de colesterol (%) en aceites analizados.

En la figura 16 se observa que las variedades que presentan mayor contenido de colesterol son 'Frantoio' y 'Grappolo Limari' con un 0,40 y 0,37 %, respectivamente, mientras que la variedad que menos presenta es la 'Sevillana' con un 0,13 %. Estos datos concuerdan con resultados obtenidos en la industria olivícola Argentina, ya que para 'Frantoio' se han reportado valores de 0.4% de colesterol (Carelli, 2008). Otras variedades que reportó este estudio son la 'Barnea' y 'Coratina' con 0,2 y 0,3% respectivamente, valores muy similares a los obtenidos.

Analizando el contenido de Brasicasterol todas las variedades obtuvieron un contenido de 0,1%, por lo tanto no se encontraron diferencias significativas. Este fitoesterol en conjunto con el D-7-Estigmaesterol y el colesterol son los que presentan menor contenido en el total de esteroides para aceites de oliva extra virgen.

El campesterol es el esteroide más abundante luego del β -sitosterol, el cual por reglamentación de COI no debe sobrepasar el 4%. Se Puede observar que todas la variedades se encuentran dentro de norma.

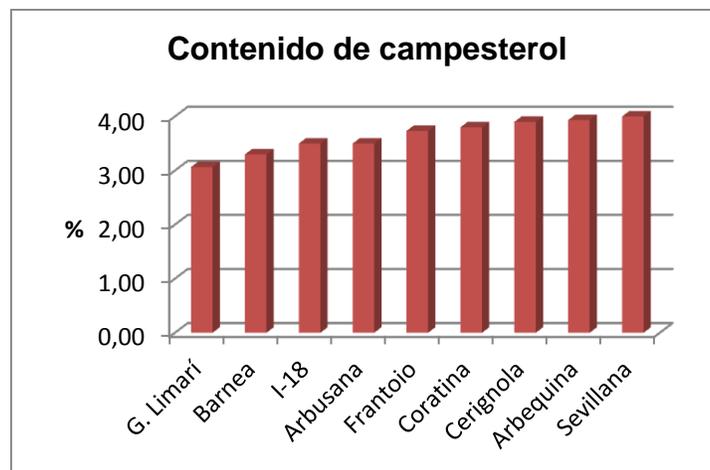


Figura 17: Contenido de campesterol (%) en aceites analizados.

A partir de la figura 17 se aprecia que la mayor concentración la obtuvo la variedad 'Sevillana' con un 4% y la 'Arbequina' con un 3,9% y la variedad con menor contenido de campesterol fue el Grappolo Limari con un 3,1%. Se observaron diferencias significativas entre variedades determinadas principalmente por la variedad

genética. Datos publicados en un estudio realizado por Weissbein (2006) entrega valores de 1,15% para 'Arbequina', muy inferior a lo obtenido, lo cual se explica por diferencias en factores climáticos y agronómicos en los dos estudios. Por el contrario en el estudio de Carelli (2008) se publicaron valores de 4,4%, 3,5% y 3,6% para 'Barnea', 'Coratina' y 'Frantoio' respectivamente, dichos valores se asemejan mucho más a los resultados obtenidos.

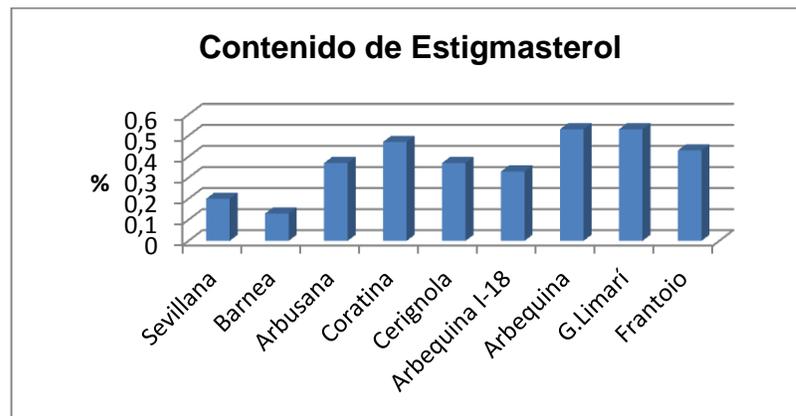


Figura 18: Contenido de Estigmasterol (%) en aceites analizados.

En la figura 18 se observa el contenido de estigmasterol, encontrándose todas las variedades en estudio dentro de norma y presentando diferencias significativas entre ellas. También se puede apreciar que las variedades con mayor contenido de estigmasterol son 'Arbequina' y 'Grappolio Limarí' ambas con 0,5% del total de esteroides y 'Barnea' resultó ser la variedad con menor contenido con un 0,1%. De acuerdo a datos publicados por Mailer (2010) las variedades 'Arbequina' y 'Barnea' presentan valores de 0,9 y 0,4% respectivamente. Carelli (2008) reportó valores de 0,6% para 'Coratina' y 0,8% 'Frantoio', respectivamente. La variabilidad se debería a la influencia de los factores climáticos y agronómicos en los compuestos químicos de los aceites de oliva extra virgen.

El fitoesterol más abundante en aceites de oliva es el de β -sitosterol, el cual constituye alrededor de un 90-95% de los esteroides totales (Palou, 2005). Según la normativa de COI, establece como contenido mínimo un 93%, donde todas las

variedades en estudio se encuentran dentro de normativa alcanzando niveles de hasta un 96% para la variedad Barnea.

El β -sitosterol es muy importante, ya que su estructura es muy similar a la del colesterol, por lo cual puede inhibir la absorción del colesterol en el cuerpo y así reducir los niveles de colesterol en el plasma sanguíneo. También se ha demostrado que el β -sitosterol mejora la actividad hepática reduciendo el riesgo de cáncer a la próstata y el crecimiento de células cancerígenas en el colon (Je-Chiuan Ye, 2010).

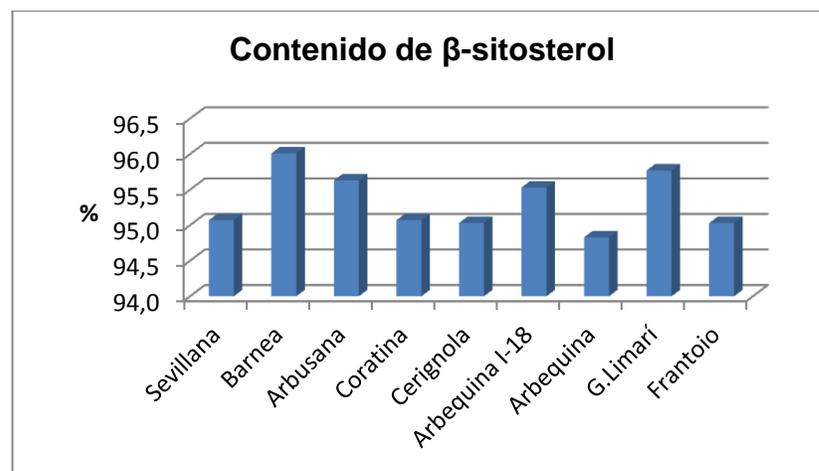


Figura 19: Contenido de β -sitosterol (%) en aceites analizados.

En la Figura 19 se observan los contenidos de B-sitosterol, donde se destaca la variedad 'Barnea' con el contenido más alto de 96%, y la variedad 'Arbequina' con el contenido más bajo de 94,8%, presentando diferencias significativas entre ellas. Mailer et al en un estudio realizado el 2010 publicaron valores de 94% para 'Barnea' y de 93,6 para 'Arbequina', valores similares de B-sitosterol a los obtenidos por las variedades estudiadas.

En la figura 20 se puede ver el contenido de D-7-estigmastanol, para el cual el COI establece como límite máximo 0,5 %. La variedad con mayor contenido de D-7-estigmaesterol son las variedades 'Coratina' y 'Frantoio', las cuales contienen un 0,3%.

Estudios realizados en Australia obtuvieron para estas variedades 0,2 y 0,3%, respectivamente (Mailer, 2010). La variedad 'Sevillana' fue la que presentó menor contenido de éste fitoesterol (0,1%).

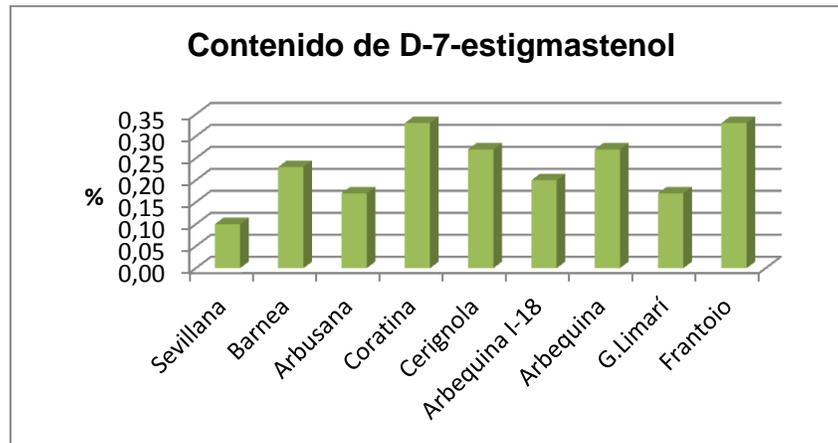


Figura 20: Contenido de D-7-estigmasterol (%) en aceites analizados

Hay una gran cantidad de evidencias experimentales que han demostrado que los esteroides vegetales tienen un importante efecto hipocolesterolemico, reduciendo tanto las concentraciones de colesterol total como las de colesterol LDL. En cuanto al mecanismo de acción se han propuesto diferentes posibilidades. Los esteroides vegetales afectan a la absorción intestinal de colesterol, a su síntesis, y a los sistemas de eliminación (Palou, 2005).

En la tabla 9 se puede observar que la normativa del COI establece como mínimo 1000 mg/kg en contenido total de esteroides, para lo cual las nueve variedades de aceite de oliva virgen extra en estudio cumplen con este requisito, presentando diferencias significativas entre variedades.

En la figura 21 se observa que la variedad que presenta mayor contenido de esteroides totales es la 'Barnea' con 2233 mg/kg y la variedad con menor contenido es la 'Coratina' con 1037 mg/kg, presentando una amplia diferencia. Resultados obtenidos en estudios argentinos arrojan resultados para la 'Barnea' 2533 mg/kg de esteroides

totales y para la 'Coratina' de 1053 mg/kg, por lo tanto existe congruencia de datos entre ambos estudios (Carelli, 2008).

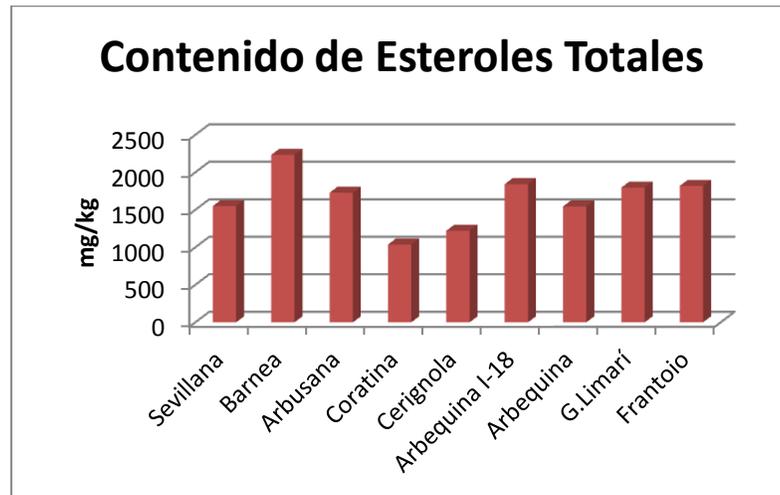


Figura 21: Contenido de Esteroles Totales (mg/kg) en aceites analizados.

Los fitoesteroles a pesar de que su estructura química es similar, los esteroides vegetales y el colesterol difieren marcadamente en lo que respecta a su absorción intestinal. Así, a diferencia del colesterol, los esteroides de plantas se absorben poco en el intestino (0,4%-3,5%) y los estanoles aún menos (0,02%-0,3%) (Palou, 2005).

El efecto más estudiado de los esteroides vegetales es su inhibición de la absorción intestinal de colesterol, tanto procedente de la dieta (unos 300 mg/día) como colesterol endógeno recirculante procedente de la bilis (unos 1000 mg/día), que puede ser parcialmente reabsorbido en el intestino siendo, de hecho, la principal forma de recaptación. Los esteroides vegetales, al ser más hidrofóbicos que el colesterol, pueden desplazarlo de las micelas de absorción, habiéndose demostrado, tanto in vivo como in vitro, que de esta manera se produce una disminución, por competición, de la incorporación del colesterol en las micelas y en consecuencia, disminuye su absorción intestinal. A dosis máximas de esteroides vegetales la absorción de colesterol disminuye un 30% a 50%. Además, los esteroides vegetales podrían reducir la tasa de esterificación del colesterol en el enterocito (afectando a la actividad de la ACAT) y

consecuentemente, de esta forma se reduciría la cantidad de colesterol exportado a la sangre en forma de quilomicrones. También se ha sugerido que el colesterol en el intestino, que ya de por sí es poco soluble, es precipitado y por tanto no absorbido o menos absorbible en presencia de esteroides vegetales (Palou, 2005).

El reciente descubrimiento de la implicación de los transportadores ABC en la absorción del colesterol ha permitido explorar aún más el mecanismo hipocolesterémico de los esteroides vegetales. Se ha hallado que las mezclas de micelas enriquecidas con sitostanol o con colesterol más sitostanol son potentes inductores de la expresión del transportador ABCA1 en las células caco-2, un modelo aceptado para el estudio de aspectos del metabolismo intestinal humano. Basándose en estos resultados, los autores hipotetizan que los estanoles (y posiblemente los esteroides) aumentan la excreción de colesterol mediado por ABCA1 (Palou, 2005).

El Eritrodiol y Uvaol son dialcoholes triterpénicos que al igual que los esteroides forman parte de la fracción insaponificable del aceite (Granell, 2002). El COI establece como límite máximo para estos dialcoholes un 4,5%, si observamos la figura 22 podemos observar que la variedad 'Frantoio' no cumple con la normativa ya que presenta un 5,5% sobrepasando el límite permitido.

Las otras ocho variedades se encuentran dentro de norma, siendo las que menos presentan contenido de Eritrodiol+Uvaol las variedades 'Barnea', 'Grappolo Limari' y 'Arbequina' con un contenido de 0,37%; 0,73% y 0,83%, respectivamente. Los resultados obtenidos en 'Barnea' y 'Arbequina' son muy similares a los reportados por Mailer et al (2010).

Con respecto a la detección de aceites de orujo de oliva en aceites de oliva, el método oficial utilizado actualmente es la determinación tanto de ceras como de los dialcoholes triterpénicos eritrodiol + uvaol (E+U%), estos últimos relativo al contenido de esteroides, ambos análisis permiten detectar fraude en la industria olivícola (Cert A, 2005).

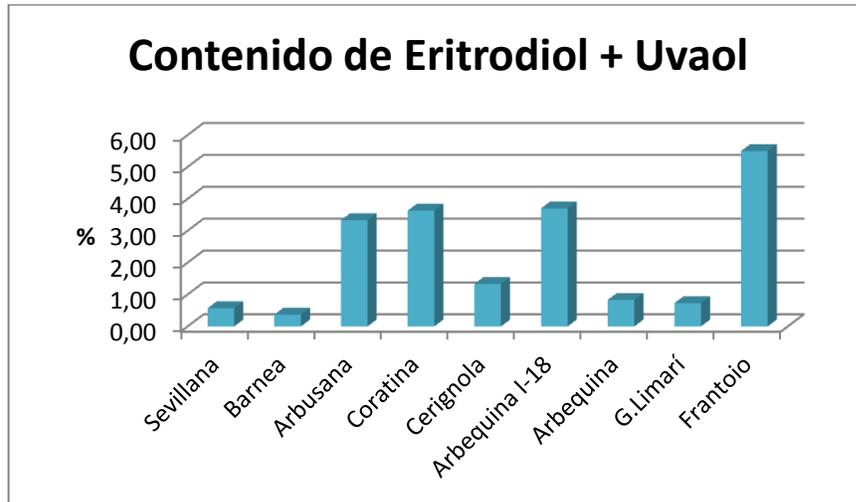


Figura 22: Contenido de Eritrodiol+Uvaol (%) en aceites analizados.

5.5. Composición Fenólica

La fracción fenólica del aceite de oliva consiste en una mezcla heterogénea de componentes, presentes en el mesocarpio de la aceituna. Son considerados como una parte importante del sistema químico de defensa del fruto y se les atribuyen funciones diversas como actividad antimicrobiana y protección frente al daño oxidativo al limitar los efectos de la luz UV (Lozano, 2010).

Los fenoles otorgan estabilidad frente a la oxidación y han sido identificados como los principales compuestos responsables de las propiedades antioxidantes del aceite de oliva virgen extra y contribuyen a las propiedades organolépticas de éstos. La concentración de fenoles totales varía entre 50 y 200 mg/kg de aceite, pero se pueden encontrar aceites con contenidos de hasta 1000 mg/kg de aceite. Se han fijado márgenes entre 200 y 1500 mg/kg (Lozano, 2010).

Se identificaron y cuantificaron 17 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). La tabla 10 muestra los distintos compuestos fenólicos presentes en las variedades en estudio y sus respectivas longitudes de onda de absorción. Más abajo la figura 23 muestra el cromatograma tipo de una variedad de aceite de oliva virgen extra, obtenido a una longitud de onda de 280 nm y con identificación de los compuestos fenólicos de acuerdo a la Tabla 10.

Tabla 10: 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 vainílico	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 hidroxílica oxidada (DAL-3)	15, 16
Cromatograma a 235 nm	
Ácido elenólico	6
Cromatograma a 335 nm	
Luteolina	13
Apigenina	17
Metil luteolina	18

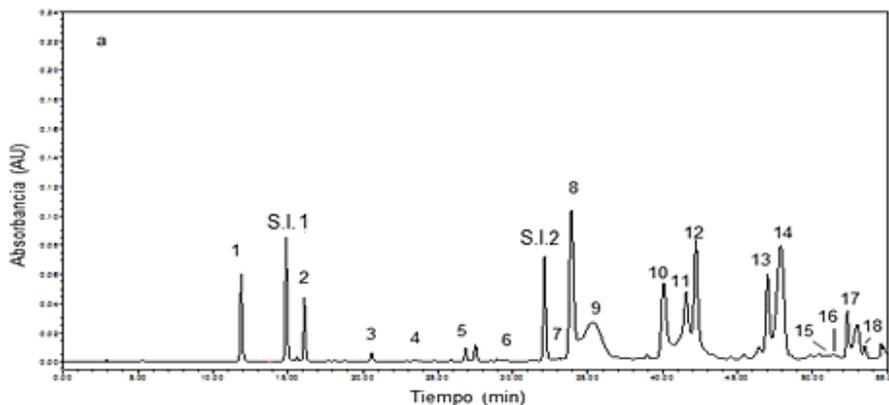


Figura 23: Cromatograma tipo de una muestra de aceite de oliva extra obtenidos a $\lambda = 280$ nm.

Tabla 11: Valores medios de cada compuesto fenólico determinado para cada variedad de aceite de oliva virgen extra analizado.

Fenoles	Frantoio	Arbequina	Arbusana	Arbequina I-18	Grapolo Limarí	Barnea	Coratina	Sevillana	Cerignola
Ác. Elenólico	328,6±64,8 ^d	130,4±34,3 ^b	99,7±31,5 ^{b,c}	104,8±23,0 ^{b,c}	78,4±8,9 ^{b,c}	198,7±79,3 ^c	134,5±35,7 ^b	91,8±7,2 ^{b,c}	65,1±13,3 ^a
Hidroxitiroso	5,6±2,8 ^b	1,9±1,2 ^a	1,0±0,3 ^a	2,3±1,2 ^a	1,6±0,3 ^a	5,4±1,1 ^b	8,1±2,4 ^{b,c}	10,2±3,0 ^c	10,2±2,2 ^c
Tiroso	2,9±0,8 ^{a,b}	1,5±0,7 ^a	2,3±1,5 ^{a,b}	1,6±0,5 ^a	4,5±3,0 ^{a,b}	4,1±1,1 ^{a,b}	4,9±1,1 ^b	34,4±3,4 ^c	4,0±1,8 ^{a,b}
Ác. Vainillínico	0,4±0,1 ^{a,b}	0,4±0,1 ^a	0,8±0,2 ^c	0,9±0,1 ^c	0,5±0,1 ^{a,b}	0,4±0,1 ^a	0,4±0,3 ^a	0,6±0,1 ^b	0,4±0,0 ^{a,b}
Vainillina	Nd	0,1±0,0 ^a	Nd	Nd	0,1±0,0 ^a	Nd	0,1±0,0 ^a	0,1±0,0 ^a	0,1±0,0 ^a
Ac. p-cumárico	Nd	0,1±0,0 ^{a,b}	0,1±0,0 ^{a,b}	0,2±0,1 ^b	0,1±0,0 ^{a,b}	0,1±0,0 ^{a,b}	0,1±0,0 ^{a,b}	1,1±0,1 ^d	0,3±0,2 ^c
Fenoles Simples	337,9±65,2 ^d	134,3±36,1 ^{a,b}	103,9±30,9 ^{a,b}	109,8±23,9 ^{a,b}	85,2±11,9 ^a	208,7±80,7 ^c	148,1±36,5 ^b	138,3±5,4 ^{a,b}	80,1±15,8 ^a
Pinoresinol + 1-acetoxipinoresinol	2,5±0,6 ^a	3,40±0,6 ^{a,b}	3,5±0,50 ^{a,b}	4,2±0,5 ^{b,c}	5,3±1,2 ^{c,d}	6,7±1,4 ^{d,e}	7,7±1,2 ^e	7,7±1,7 ^e	19,5±1,7 ^f
Luteolina	15,7±1,5 ^d	9,35±0,3 ^c	3,4±0,5 ^a	7,1±1,3 ^{b,c}	3,8±0,6 ^a	4,8±0,8 ^{a,b}	3,8±0,7 ^a	32,7± 5,1 ^e	3,6±0,6 ^a
Apigenina	11,4±1,2 ^c	2,80 ± 0,7 ^a	7,7±1,1 ^b	4,3±1,0 ^a	2,4±0,6 ^a	6,4±1,2 ^b	3,5±0,3 ^a	28,7±2,9 ^d	2,5±1,0 ^a
Metil Luteolina	2,0±0,5 ^a	1,0±0,1 ^a	0,5±0,0 ^a	1,4±0,3 ^a	0,2±0,1 ^a	0,4±0,1 ^a	0,5±0,0 ^a	3,4±0,5 ^b	0,2±0,0 ^a
Flavonoides y Lignanós(mg/kg)	31,6±2,5 ^c	16,6±1,3 ^{a,b}	14,9±1,8 ^a	17,0±2,4 ^{a,b}	11,7±2,2 ^a	18,3±3,4 ^{a,b}	15,5±0,5 ^{a,b}	72,5±21,2 ^d	25,9±0,6 ^{b,c}
DAO-1	4,9±0,7 ^b	Nd	0,7±0,2 ^a	Nd	0,7±0,2 ^a	4,6±1,6 ^b	4,6±0,8 ^b	7,2±1,5 ^c	5,1±1,2 ^b
DAO-2	24,9±2,3 ^b	95,4±9,7 ^c	0,6±0,1 ^a	2,0±1,3 ^a	34,9±5,2 ^b	3,1±0,2 ^a	37,1±3,5 ^b	24,2±8,0 ^b	33,6±9,9 ^b
DAO-3	55,5±10,4 ^c	5,1±3,2 ^a	2,8±2,3 ^a	2,2±2,0 ^a	2,3±0,8 ^a	62,5±15,3 ^{c,d}	50,2±16,6 ^{b,c}	76,2±17,2 ^d	35,4±18,1 ^b
DAO-4	97,1±9,5 ^d	32,4±5,7 ^{b,c}	Nd	13,7±4,6 ^{a,b}	15,8±1,2 ^{a,b}	60,0±18,7 ^c	93,6±21,9 ^d	120,9±14,9 ^d	113,9±46,2 ^d
Derivados de la oleuropeína	182,4±16,9 ^{c,d}	132,9±16,2 ^{b,c}	4,1±2,5 ^a	17,8±3,9 ^a	53,8±6,8 ^a	130,3±46,5 ^b	185,5±10,0 ^{c,d}	228,5±39,2 ^d	188,1±86,7 ^d
DAL-1	32,4±4,3 ^e	25,0±13,6 ^{d,e}	3,4±1,1 ^{a,b}	2,9±0,4 ^a	32,6±5,6 ^e	Nd	59,6±6,0 ^f	12,2±7,5 ^{b,c}	18,4±4,5 ^{c,d}
DAL-1 oxidada	Nd	3,6±1,3 ^b	Nd	Nd	5,9±0,7 ^c	Nd	8,6±0,9 ^d	Nd	2,7±0,7 ^a
DAL-2	310,4±75,3 ^f	120,2±23,3 ^{b,c,d}	164,6±13,0 ^{d,e}	132,3±21,8 ^{c,d}	10,0±1,9 ^a	106,7±9,9 ^{b,c}	193,9±34,2 ^e	32,9±5,9 ^a	86,7±16,7 ^b
Derivados del ligustrósido	342,8±71,9 ^e	148,9±23,4 ^{b,c}	168,0±12,9 ^c	135,3±22,0 ^{b,c}	48,5±6,5 ^a	106,7±9,9 ^b	262,1±28,3 ^d	45,1±13,3 ^a	107,7±21,5 ^b
Derivados secoiridoides	525,2±61,6 ^e	281,7±39,3 ^c	172,1±12,1 ^b	153,1±18,6 ^{a,b}	102,2±13,0 ^a	237,0±32,1 ^c	447,6±28,2 ^d	273,6±51,7 ^c	295,9±67,1 ^c
Fenoles Totales	895±110,9 ^d	433±66,0 ^b	291±34,1 ^a	280±22,9 ^a	199±22,0 ^a	464±98,9 ^b	611±56,2 ^c	484±60,3 ^b	402±52,1 ^b

Promedio expresado en mg/kg de aceite, n=4. Nd: No detectado. (DAO-1): Decarboximetil aglicona de oleuropeína dialdehídica oxidada, DAO-2: Decarboximetil aglicona de la oleuropeína, forma dialdehídica, DAO-3: Aglicona de la oleuropeína, forma dialdehídica, DAO-4: Aglicona de la oleuropeína, forma aldehídica e hidroxílica, DAL-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 ($p \leq 0,05$) entre variedades.

En la tabla 11 se puede observar los distintos compuestos fenólicos, clasificados en fenoles simples, lignanos - flavonoides y compuestos secoiridoides, los cuales presentan diferencias significativas entre variedades, que se atribuye a diferencias genéticas de las variedades o a diferencias en el estado de maduración en que se cosecharon las aceituna.

El contenido de compuestos fenólicos simples para las 9 variedades de aceite de oliva, donde destacan en mayor porcentaje el contenido de ácido elenólico, hidroxitirosol y tirosol, los cuales presentan diferencias significativas entre las distintas variedades de aceite de oliva extra virgen estudiadas.

La mayor presencia de estos tres compuestos fenólicos, se debe principalmente a que los compuestos secoiridoides son los más abundantes en el aceite de oliva virgen, los cuales se caracterizan por la presencia en su estructura de ácido elenólico o sus derivados. Los compuestos secoiridoides están formados por un fenil etil alcohol (hidroxitirosol y tirosol), ácido elenólico y en ocasiones por un residuo glucosídico. Los secoiridoides sin glicosidar se originan en el tratamiento de la aceituna durante la trititación y malaxación, por acción de la enzima β -glucosidasa. Estas últimas por su naturaleza anfífila se sitúan entre la capa oleosa y las aguas de vegetación, estando más concentradas en ésta última. Durante el almacenamiento, sufren hidrólisis liberándose los fenoles simples (ácido elenólico, hidroxitirosol y tirosol) (Lozano, 2010).

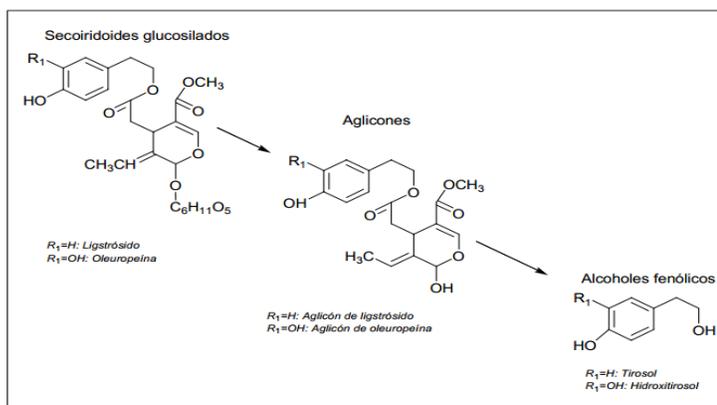


Figura 24: Hidrólisis y degradación los compuestos Secoiridoides principales.

En la tabla 11 se observa el contenido total de fenoles simples, donde las variedades en estudios fluctuaron en un rango de 80,1 y 337,9 mg/kg de aceite. La variedad 'Frantoio' y 'Barnea' presentaron la mayor concentración de este grupo de compuestos fenólicos con 337,9 y 208,7 mg/kg de aceite, respectivamente. Para el ácido elenólico destaca la variedad 'Frantoio' con 328,6 mg/kg, seguida por 'Barnea' con 198,7 mg/kg de aceite, lo mismo ocurre con el hidroxitirosol donde 'Frantoio' y 'Barnea' se perfilan con el mayor contenido de este fenol simple con 5,6 y 5,4 mg/kg respectivamente. Por último la concentración de Tirosol es más abundante en la variedad 'Sevillana', la cual alcanzó 34,4 mg/kg de aceite.

En un estudio realizado por Baiano et al (2009) informa resultados para la variedad 'Frantoio' de 0,54 mg/kg de aceite para hidroxitirosol y 3,92 mg/kg de aceite para tirsol. La variedad 'Barnea' fue reportada por Weissbein (2006) con 44,1 mg/kg para hidroxitirosol y 47,5 mg/kg para tirosol. Las diferencias entre ambos estudios, se deben principalmente a los factores agronómicos y climáticos propios de la zona de cultivo.

El contenido de lignanos en el aceite de oliva virgen puede alcanzar hasta 100 mg/kg, pero hay variaciones considerables entre los distintos aceites, por lo cual estos compuestos fenólicos son considerados como marcadores varietales. Los lignanos, después de los compuestos secoiridoides, son los que se encuentran en mayor abundancia en el aceite de oliva virgen, destacándose principalmente la presencia del (+)-1-pinoresinol y (+)-1-acetoxipinoresinol (Lozano, 2010). Para estos compuestos las variedades de aceite de oliva virgen extra estudiadas se presentan en un rango 2,5 y 19,5 mg/kg de aceite, destacando la variedad 'Cerignola' con 19,5 mg/kg de aceite. Resultados publicados por Baiano (2009), reportan valores de 25,3mg/kg para 'Frantoio' y de 12,9mg/kg para la variedad 'Coratina'.

Los Flavonoides han aparecido en este último tiempo en un creciente número de publicaciones sobre efectos beneficiosos que ejercen para la salud. Presentan anillos aromáticos en su estructura, uno de ellos y la cadena lateral de tres átomos de carbono, provienen de la L-fenilalanina, mientras que el resto proviene del acetil-coA, por la ruta poliacética. Presentan una variación estructural que proviene, en parte, de la

hidroxilación, metoxilación, prenilación o glicosilación. Se subdividen en flavonas, flavonoles, flavanones y flavanoles. Dentro de las flavonas tenemos la apigenina y luteolina (Lozano, 2010).

Los flavonoides más representativos presentes en el aceite de oliva son la apigenina y luteolina, la tabla 11 muestra que las variedades que alcanzaron los mayores contenidos de estos compuestos fenólicos fueron 'Sevillana' y 'Frantoio', con valores de 28,7 y 11,4 mg/kg de aceite para apigenina y 32,7 y 15,7 mg/kg de aceite para luteolina, respectivamente. En el caso de la metil luteolina 'Sevillana' alcanzó el mayor contenido con 3,4 mg/kg de aceite. Weissbein (2006) reportó para la variedad 'Barnea' concentraciones de apigenina de 1,3 mg/kg de aceite, mientras que para 'Arbequina' reportó valores de 17,6 mg/kg de aceite. Weissbein (2006) además informó valores de luteolina de 40,6 mg/kg de aceite para 'Barnea' y 108,3 mg/kg de aceite para 'Arbequina'. 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.

Los derivados secoirioides son producidos por el metabolismo secundario de terpenos y son provenientes de la ruta metabólica del acetato/mevalonato, caracterizados por la presencia de ácido elenólico en su estructura. Están formados específicamente por derivados de Ligustrósido y de la Oleuropeína, conformando un 77-88% de los compuestos fenólicos en el aceite de oliva. Estos derivan de las formas glucosiladas que naturalmente se forman en el fruto. En la figura 27 se presentan los principales secoirioides y algunos de sus derivados (De la Torre, 2007).

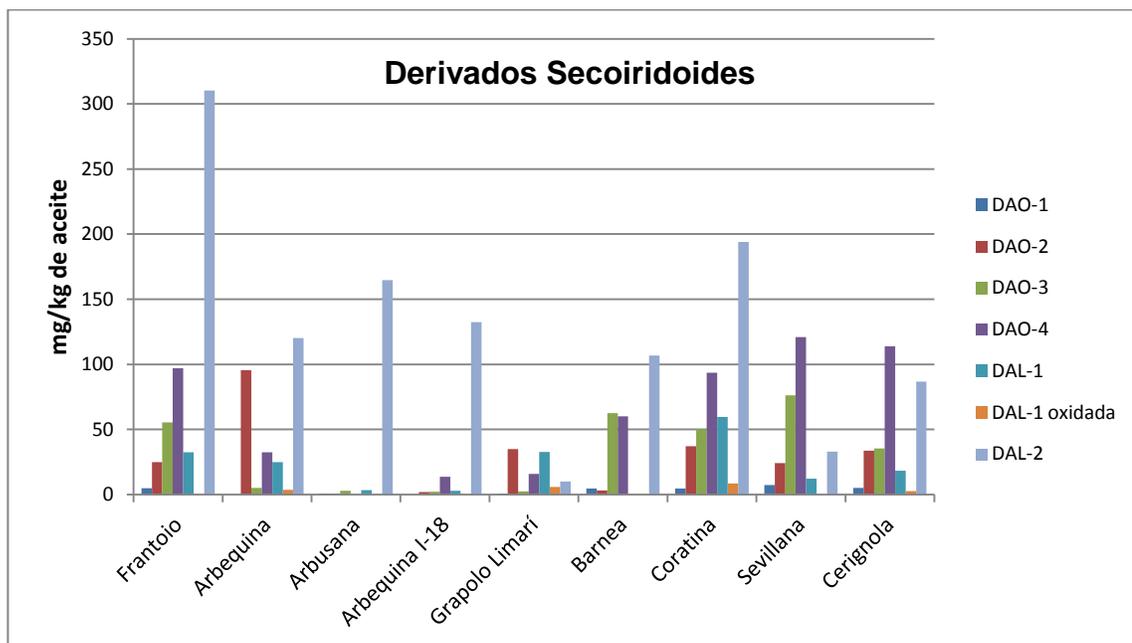


Figura 25: Concentración de derivados secoiridoides de las nueve variedades de aceite de oliva virgen extra en estudio (mg/kg de aceite). (DAO-1): Decarboximetil aglicona de oleuropeína dialdehídica oxidada, DAO-2: Decarboximetil aglicona de la oleuropeína, forma dialdehídica, DAO-3: Aglicona de la oleuropeína, forma dialdehídica, DAO-4: Aglicona de la oleuropeína, forma aldehídica e hidroxílica, DAL-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 ($p \leq 0,05$) entre variedades.

La figura 25 La variedad 'Arbequina' presentó el mayor contenido de decarboximetil aglicona de la oleuropeína forma dialdehídica (DAO-2) con 95,4 mg/kg de aceite. Para los fenoles aglicona de la oleuropeína forma dialdehídica (DAO-3) y aglicona de la oleuropeína forma aldehídica e hidroxílica (DAO-4), nuevamente la variedad 'Sevillana' alcanza los mayores contenidos con 72,2 y 120,9 mg /kg de aceite, respectivamente. También se puede observar en la figura 24 los derivados del ligustrósido, donde la variedad 'Coratina' alcanza las mayores concentraciones para el decarboximetil aglicona del ligustrósido, forma dialdehídica (DAL-1) y para el decarboximetil aglicona del ligustrósido, forma dialdehídica oxidada (DAL-1 oxidada) donde se obtuvo 59,6 y 8,6 mg/kg de aceite respectivamente. Por último la variedad 'Frantoio' presenta una gran concentración de aglicona del ligustrósido forma dialdehídica (DAL-2) alcanzó los 310,4 mg/kg de aceite.

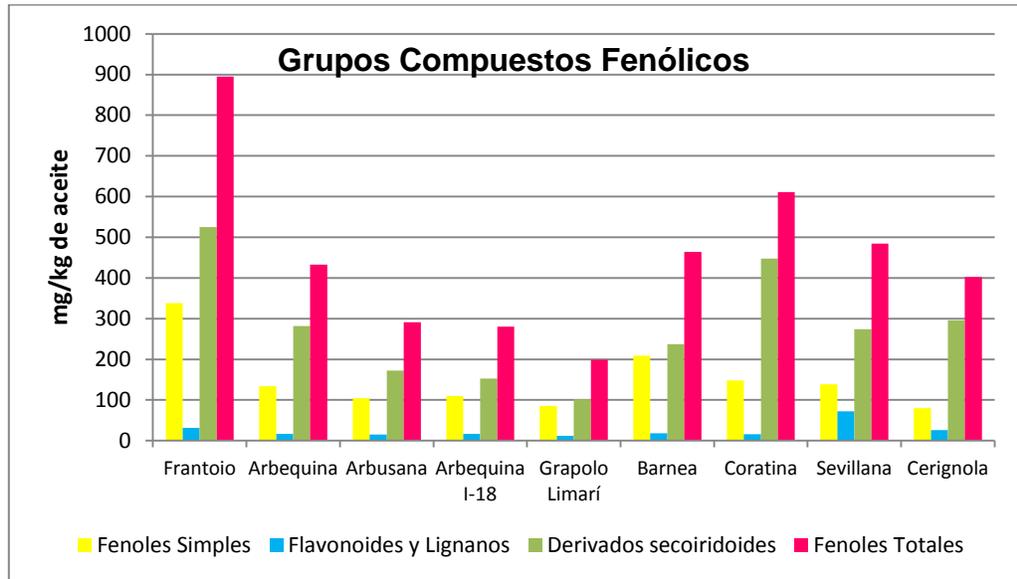


Figura 26: gráfico de grupos de compuestos fenólicos y fenoles totales.

En figura 25 se puede ver el contenido de fenoles por categoría y el contenido total. Donde la variedad 'Frantoio' destaca por su composición de fenoles simples y derivados secoiridoides con 337,9 y 525,2 mg/kg de aceite, respectivamente. En flavonoides y lignanos la variedad 'Sevillana' alcanza la mayor concentración con 72,5 mg/kg de aceite.

En el contenido de fenoles totales se infiere que la variabilidad genética propia de cada aceituna determina considerablemente el contenido total de estos. Las variedades en estudio se encuentran en un rango de 199 y 895 mg/kg de aceite, donde la variedad 'Frantoio' logra la mayor concentración de fenoles totales y el 'Grapolo Limarí' la menor. Estudios realizados por Ceci y Carelli (2007) informan 120 mg/kg de aceite. En otro estudio realizado por Allalout et al (2009) se reportan resultados para 'Arbequina' de 108 mg/kg, 'Arbequina I-18' de 196 mg/kg y 'Arbusana' de 138 mg/kg de aceite. Por último Tapia et al (2001) arroja valores de contenido total de fenoles para la variedad 'Sevillana' de 391 mg/kg. La variación de resultados entre los diferentes estudios se debe principalmente a que las zonas de cultivo están situadas en diferentes países, donde el factor climático y agronómico juega un rol fundamental en la composición química en cada variedad del olivo.

La estabilidad oxidativa en los aceites de oliva se encuentra directamente relacionada con su composición química, principalmente si presentan un alto contenido de ácidos grasos monoinsaturados (ácido oleico) y un bajo contenido en ácidos grasos poliinsaturados (linoleico y linolénico). Además de un alto contenido de compuestos antioxidantes (fenoles y tocoferoles). En la figura 26 se trazó una línea de tendencia en el gráfico de dispersión que ayuda a relacionar los conceptos y determinar que variedad presentan la mejor estabilidad oxidativa. De acuerdo a la gráfica se espera que las variedades 'Frantoio', 'Coratina' y Barnea sean las más estables.

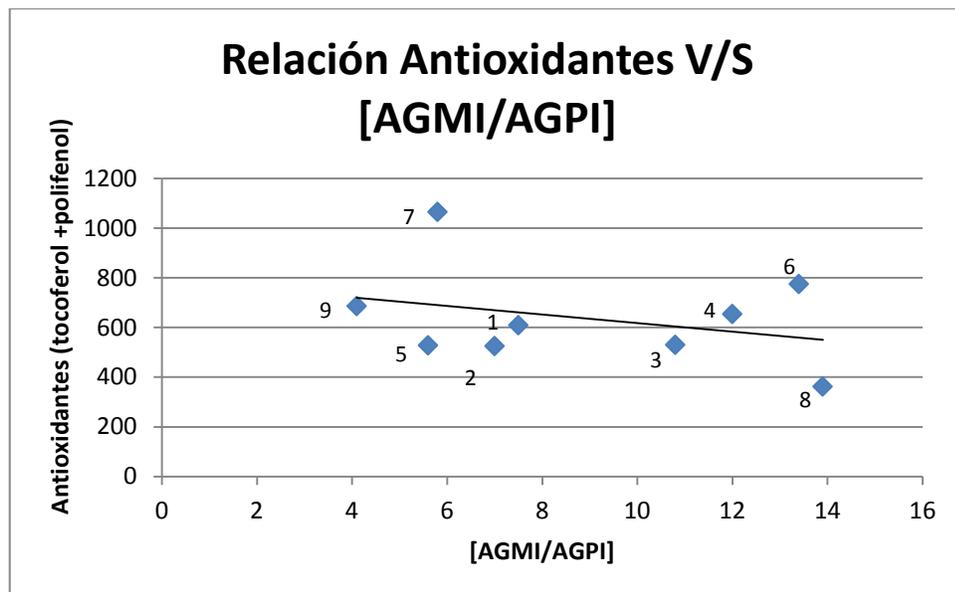


Figura 27: Gráfico relación Antioxidantes V/S [AGMI/AGPI]. 1: Arbequina, 2: Arbequina I-18, 3: Arbusana, 4: Barnea, 5: Cerignola, 6: Coratina, 7: Frantoio, 8: G.Limarí, 9: G.Limarí, AGMI: ácidos grasos monoinsaturados, AGPI: ácidos grasos poliinsaturados.

6. CONCLUSIONES

- Las nueve variedades en estudio presentaron excelentes resultados en los ensayos para determinar criterios de calidad, lo que implica que según la norma COI se pueden reconocer como aceites de oliva virgen extra, logrando la más alta calidad para este tipo de aceites.
- El análisis de ácidos grasos arrojó excelentes resultados para las variedades en estudio, las cuales presentaron alto contenido de ácido oleico, entre 63,4 y 80,2%. Este ácido graso monoinsaturado es fundamental para la estabilidad oxidativa del aceite, además de sus propiedades beneficios para la salud, ya que ayuda a prevenir enfermedades cardiovasculares, disminuyendo los índices de colesterol LDL y aumentando el HDL.
- Todas las variedades presentaron concentraciones dentro de lo esperado para aceites de oliva virgen extra (100-300 mg/kg de aceite), las variedades 'Arbequina I-18' y 'Arbusana' presentaron el más alto contenido de α -tocoferol con 245 y 239 mg /kg de aceite. Siendo de gran importancia ya que le otorga estabilidad al aceite y juega un rol biológico beneficioso como vitamina E y antioxidante.
- Las variedades 'Barnea', 'Arbequina I-18' y 'Frantoio' alcanzaron el mayor contenido de esteroides totales con 2233, 1843 y 1820 mg/kg de aceite. Todas las variedades presentaron un alto contenido de β -sitosterol, superior a 94%. El contenido total de fenoles arrojó resultados muy interesantes, la variedad 'Coratina' alcanzó 610 mg/kg y 'Frantoio' 898 mg/ de aceite. Ambas variedades al presentar tan elevado contenido de fenoles totales se le atribuirían excelentes propiedades beneficiosas para la salud como antiproliferativas, antiinflamatoria y antioxidantes.

- La variedades 'Frantoio', 'Coratina' y 'Barnea' presentan excelente estabilidad oxidativa, atribuido principalmente a su excelente calidad química, determinada por la presencia de altos porcentajes de ácido oleico y a su elevado contenido de fenoles y tocoferoles.
- Queda en evidencia que la composición química de las nueve variedades de aceite de oliva se ve determinada fuertemente por el componente varietal de cada una de ellas. Los altos contenidos en ácido oleico, así como los componentes antioxidantes de las nueve variedades estudiadas posibilitarán difundir con mayor claridad sus atributos, otorgándole un mayor valor agregado, que permitirá 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] <www.elsevier.com/locate/scihorti> [consulta: 10 julio 2013]
- A.M. Muñoz (2010). Polifenoles: Biodisponibilidad y Destino metabólico. [En línea].<http://medicina.unmsm.edu.pe/investigacion/bioquimica/documentos/ii_curso_antioxidantes/metabolismo_polifenoles.pdf> [consulta: 05.08.2013].
- Agencia para el aceite de oliva (2012). El olivo y sus orígenes. [En línea] <http://aplicaciones.mapa.es/pwagenciaaao/olivarespanol.aao?opcion_seleccionada=2100&idioma=esp&numpagina=2101>[Consulta : 11 mayo 212].
- Agrotterra (2012). Plantaciones de olivos variedad Frantoio. [En línea] <<http://www.agrotterra.com/p/plantones-de-olivo-variedad-frantoio-viveros-de-olivos-laconchuela-de-cordoba-3012920/3012920>> [Consulta 11 mayo 2012].
- Albert C.M., Hennekens C.H., O'donnell C.J., Ajani U.A., Carey V.J., Willett W.C. Ruskin J.N. and Manson J.E.: Fish consumption and risk of sudden cardiac death *jama* 279: 23–28, 1998.
- Aparicio R. y Harwood J. (2003). “Manual del aceite de oliva”. AMV Ediciones en conjunto con MUNDI-Prensa, Madrid España.
- Balensya (2011). Propiedades del aceite. [En línea], <<http://www.aceitedechufa.com/el-aceite-propiedades/>>, [Consulta: 08 de junio del 2012].
- Boekenoogen, H. A.; Analysis and characterization of oils, fat, and fat products; London 1964.
- Bonanome A. and Grundy S.M.: Effect of dietary stearic acid on plasma cholesterol and lipoprotein levels. *n engl j med* 318: 1244-1248,1988.
- Carelli (2008). Olive oil chemistry in argentina. Planta piloto de ingeniería química. Universidad Nacional del Sur CONICET.
- 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 Septiembre 2013]
- Cert, M.C. Pérez-Camino y W. Mored (2005). Estudio de nuevos parámetros para la detección de aceites de avellana y de orujo de oliva en aceites de oliva virgen y refinado. Instituto de la Grasa (c.s.i.c.).
- Chile Potencia Alimentaria (2007). Aceitunas de Azapa eN peligro. [En línea] <<http://www.chilepotenciaalimentaria.cl/content/view/4137/aceitunas-de-azapa-en-peligro.html>> [Consulta: 10 Mayo 2012].
- Chileoliva (2012). “Asociación de productores de aceite de oliva”. Informe anual del mercado nacional de aceite de oliva chile. [en línea]

<<http://www.chileoliva.cl/files/informe%20anual%20del%20mercado%202010.pdf>> [consulta : 23 abril 2012].

- CIFA(2005).[Enlínea]<http://64.76.123.202/sagpya/economias_regionales/_olivo/_cadenas/proceso_de_elaboracion_04_08.pdf> [Consulta: 26 Agosto del 2012].
- COI (2009), Norma comercial aplicable a los aceites de oliva y los aceites de orujo de oliva, [En línea], <http://www4.ujaen.es/~mferna/master%20olivar/coi_15_rev4_2009.pdf>, [Consulta: 08 de junio del 2013].
- 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.
- De la Torre K. (2007). Efecto del consumo del aceite de oliva sobre la composición de las lipoproteínas de baja densidad en individuos de diferentes países europeos. Universidad de Barcelona. Facultad de Química y Farmacia.
- 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, 1993.
- Determinación de índice de peróxidos, Método cd 8b-90, Official methods and recommended practices of the american oil chemistry society, 3th edition, 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, 1993.
- Determinación de la composición y del contenido en esteroides mediante cromatografía de gases con columna capilar. Norma coi/ t.20/ doc. nº 10/rev. 1, 2001.
- 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, 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, 1993.
- Escuderos M. Sayago A. Morales M. y Aparicio R. (2009). "Evolution of alpha-tocopherol in extra virgin olive oil by a luminiscent method". *Revista Grasas y Aceites*, vol6, nº4, Pág 337.
- García-González D., Romero N., Aparicio R. Comparative Study of Virgin Olive Oil Quality from Single Varieties Cultivated in Chile and Spain. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 58, 1899-12905. 2010.
- Gargallos (2013). Colesterol. Sociedad española de endocrinología y nutrición [Enlínea].<<http://www.seen.es/docs/publico/enfermedades/lipidos/colesterol.pdf>>.[Consulta: 01 Agosto 2013].
- Hidalgo Casado, M.A. Navas Fernández, A. Guinda Garín, A. Ruiz Gómez, Ivi. León Camacho, A. Lanzón Rey, R. Maestro Duran, M. I. Janer del Valle, M. C. Pérez Camino, A. Cert Ventulá, J. Alba Mendoza, F. Gutiérrez Rosales, M. C. Dobarganes y E. Graciani Constante. La calidad del aceite de oliva virgen: Posibles nuevos criterios para su evaluación. Junta de andalucía 1992.

- INIA (2004). Plantaciones Superintesivas de Olivos: Presente y Futuro. [En línea] <<http://www.inia.cl/medios/biblioteca/serieactas/nr28896.pdf>> [Consulta: 11 mayo 2012].
- Instituto de Investigaciones Agropecuarias (2006). Caracterización química de los aceites de oliva producidos en la región de coquimbo. [en línea] <<http://www.inia.cl/medios/biblioteca/boletines/nr34001.pdf>> [consulta: 20 de abril del 2012].
- Instituto Omega 3 (2005) Aceite de oliva virgen. [En línea] <<http://www.esenciadeolivo.com/wp-content/uploads/2011/12/informe-instituto-omega3.pdf>> [Consulta: 28 de agosto]
- Jiménez B. y Carpio A. 2002. La cata de aceite: aceite de oliva virgen, propiedades organolépticas y análisis sensorial. [en línea] <http://www.besana.es/sites/default/files/la_cata_de_aceites_baja_0.pdf> [consulta: 15 mayo 2013]
- J.D. Granell, A. Alvarruiz, M.A. Cuesta, J.M. Nuñez, A. Alfaro, E. López, E. Fernández, C. González, M. Plaza, J.E. Pardo (2002). Evaluación de la calidad potencial de los aceites de oliva de la denominación de origen (D.O.) "Aceite de campo montiel". Composición en ácidos grasos, esteroides y alcoholes triterpénicos.
- J.Sánchez Casas ; E. Osorio Bueno ; A.M. Montaña García ; M. Martínez Cano (2010). Contenido en esteroides de siete variedades de aceituna producidas en la región extremeña. Instituto Tecnológico Agroalimentario. Foro de la tecnología oleícola y la calidad.
- Je-Chiuan Ye, Wei-Chun Chang , Dennis Jine-Yuan Hsieh y Meen-Woon Hsiao (2010) . Extraction and analysis of β -sitosterol in herbal medicines. Journal of medicinal plants research vol.4 (7) Pág (522-527).
- Kodad O, Socías R, Prats M y López M (2007). Variabilidad del contenido de tocoferoles en distintos cultivos de olivo. Revista Itea, vol 103, nº1, Pág 31-42.
- Lozano J. Segura A. Fernández. A. (2010). Composición química del aceite de oliva. Capítulo 7. Pág 209-211.
- Mailer R. Ayton J. y Graham K. (2010). The influence of growing region, cultivar and harvest timing on the diversity of Australian olive oil. Journal of the American oil chemists' society. Proquest Agriculture Journals.
- Mensink R.P. and Katan M.B. (1992): Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins: A meta-analysis of 27 trials. *Arteriosclerosis Thrombosis* 12: 911–919.
- Olint (2010) Plantas de olivo edición española, 19, [En línea] <<http://www.olint.com/sites/default/files/magazines/olint19.pdf>> <http://www.olint.com/sites/default/files/o_fitxes_arbequina_irtai_esp.pdf> [Consulta: 11 Mayo 2012]
- Olivacordobesa (2013). Índice de peróxidos. [En línea] <<http://www.olivacordobesa.es/indice%20peroxidos.pdf>> [Consulta: 07 de junio 2013].
- Olivid (2012) . Barnea. [en línea] <<http://www.olivid.com.ar/variedades/barnea.html>> [Consulta: 11 mayo 2012].
- Olivid (2012) . Coratina. [En línea] <<http://www.olivid.com.ar/variedades/coratina.html>> [Consulta: 11 mayo 2012].

- 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.
- Palou, C. Picó, M.I. Bonet, P. Oliver, F. Serra, A.M. Rodríguez, J. Ribot (2005). El libro blanco de los esteroides vegetales. 2º Edición. Capítulo esteroides vegetales: tipos, fuentes y mecanismos de acción(pág 73-83).
- Paz y Molero (2000). Aplicación de la espectrofotometría uv-visible al estudio de la estabilidad térmica de aceites vegetales comestibles. Revista Grasas y Aceites, vol.51 pág 424-428. Madrid, España.
- Sanchez (2003), Estudio del contenido en ácidos grasos de aceites monovarietales elaborados a partir de aceitunas producidas en la región extremeña. Revista Grasas y Aceites. vol. 54. fasc. 4, 371-377.
- Tierra Adentro (2010). Santiago, Chile (91). PÁg 36-39.
- Weissbein S (2006). "Characterization of new olive varieties response to irrigation with saline water in the ramat negev area". Departamento de Bioquímica, Universidad Ben-Gurion del Negev, Israel.