



Universidad de Chile

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas

Departamento de Ciencia de los Alimentos y

Tecnología Química

INFLUENCIA DE LA LATITUD, VARIEDAD Y ESTADO DE
MADURACIÓN EN LA EVOLUCIÓN DE LOS COMPUESTOS
RESPONSABLES DEL FLAVOR (FENOLES Y VOLÁTILES) EN
ACEITE DE OLIVA VIRGEN EXTRA

Memoria para Optar al Título de Ingeniero en Alimentos

DIAMARA SOLANGE FERNANDA VERGARA FARÍAS

Profesor Patrocinante

MSc. Nalda Romero Palacios

Químico Farmacéutico

Profesor Director

MSc. Nalda Romero Palacios

Químico Farmacéutico

Santiago, Chile

Septiembre, 2017

A mi esposo y futura descendencia,
por los cuales me esfuerzo en ser mejor.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por todas las bendiciones que me da constantemente.

A mis padres, por siempre incentivarlos a obtener logros académicos y por todo el apoyo que me han dado.

A mi amado Jairo por todo el apoyo y amor que me ha dado en estos últimos años de carrera, por ser un sostén en todo los ámbitos de mi vida.

A la Universidad de Chile y su Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas por su formación académica.

A la Profesora Nalda Romero, profesora patrocinante y directora de esta memoria, por su confianza, orientación y ayuda en la realización de ésta.

A Fernanda Escobar por toda su ayuda y buena disposición en el laboratorio durante la realización de la parte experimental de la memoria.

TABLA DE CONTENIDO

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
TABLA DE CONTENIDO	iv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ABREVIATURAS	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT	xii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Definición y clasificación del aceite de oliva según el Comité Oleícola Internacional (COI).	1
1.1.1 Aceite de oliva virgen (AOV)	1
1.1.1.1 Aceite de oliva virgen extra (AOVE)	1
1.1.1.2 AOV.....	1
1.1.1.3 Aceite de oliva virgen corriente	1
1.1.1.4 Aceite de oliva virgen lampante	2
1.1.2 Aceite de oliva refinado	2
1.1.3 El aceite de oliva	2
1.2 Variedades de olivos	2
1.2.1 Arbequina.....	3
1.2.2 Koroneiki	3
1.2.3 Arbosana.....	3
1.3 Antecedentes	4
1.3.1 Contenido y formación de Compuestos Volátiles y Fenólicos en el AOV. 4	
1.3.2 Influencia de la variedad de cultivo	10
1.3.3 Influencia de la gestión de riego.....	11
1.3.4 Efecto de la maduración.....	12
1.3.5 Influencia del zona de cultivo (latitud)	13
II. OBJETIVOS.....	15
2.1 Objetivos Generales	15

2.2	Objetivos Específicos	15
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	16
3.1	Materiales	16
3.1.1	MATERIA PRIMA	16
3.1.2	Material de Laboratorio	16
3.1.3	Reactivos y Solventes.....	17
3.1.4	Equipos.....	17
3.2	Metodología	18
3.2.1	Caracterización físico-química del AOVE	18
3.2.1.1	Ácidos grasos libres expresados como ácido oleico	18
3.2.1.2	Índice de peróxido	18
3.2.1.3	Medidas espectrofotométricas de Absorción UV K232 y K270 .	19
3.2.1.4	Color.....	19
3.2.1.5	Determinación de ácidos grasos	20
3.2.2	Determinación de compuestos responsables del flavor.....	20
3.2.2.1	Compuestos volátiles	20
3.2.2.2	Compuestos fenólicos	21
2.2.3	Análisis estadístico.....	22
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
4.1	Criterios de Calidad	23
4.1.1	Acidez Libre	23
4.1.2	Índice de Peróxidos	24
4.1.3	Absorbancia UV	26
4.1.4	Color	27
4.2	Perfil de Ácidos Grasos	30
4.3	Compuestos Fenólicos	32
4.4	Compuestos Volátiles	42
V.	CONCLUSIONES.....	58
VI.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
VII.	ANEXOS	68

Anexo 1. Límites establecidos para algunos de los criterios de calidad en cada denominación.	68
Anexo 2. Latitudes estudiadas.....	69
Anexo 3. Datos agronómicos de las dos latitudes estudiadas.....	70
Anexo 4. Gradiente de elución fase móvil utilizado en HPLC para la determinación de compuestos fenólicos.	71
Anexo 5. Gráficos de medias para Acidez Libre.....	72
Anexo 6. Gráficos de medias para Índice de Peróxidos.	74
Anexo 7. Escala Color Gardner.....	76

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Calidad del AOV relacionada con los componentes menores, (Fregapane, 2013).	5
Figura 2. Ruta de la LOX involucrada en la generación de compuestos volátiles del AOV, (Morales y Tsimidou, 2003).	6
Figura 3. Estructuras químicas de los principales compuestos identificados en la fracción fenólica del AOV, (Mateos y cols., 2011).	9
Figura 4. Evolución de la acidez libre (% ácido oleico) para las variedades Koroneiki, Arbequina y Arbosana en Limarí y Molina según estado de maduración.	23
Figura 5. Evolución del índice de peróxidos (mEq oxígeno/ Kg aceite) para las variedades Koroneiki, Arbequina y Arbosana en Limarí y Molina, según estado de maduración.....	25
Figura 6. Color (\bar{X}) medido en Escala Gardner para cada estado de maduración, variedad (Koroneiki, Arbequina, Arbosana) y en las dos zonas de cultivo (Limarí y Molina).....	29
Figura 7. Gráficos de medias, que presentan las diferencias significativas ($p < 0,05$) entre variedades (Arbequina, Arbosana y Koroneiki), en E4 (A) y E7 (B) en Limarí.	38
Figura 8. Promedios de los principales compuestos volátiles encontrados en aceite de oliva (Hexanal, E-2-hexenal y Hexanol) correspondientes a la variedad Koroneiki. El gráfico muestra las diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre las dos zonas de cultivo estudiadas (Limarí y Molina).	46
Figura 9. Promedios de los principales compuestos volátiles encontrados en aceite de oliva (Hexanal, E-2-hexenal y Hexanol) correspondientes a la variedad Arbequina. El gráfico muestra que no existen diferencias significativas ($p \geq 0,05$) entre las dos zonas de cultivo estudiadas (Limarí y Molina).	46
Figura 10. Promedios de los principales compuestos volátiles encontrados en aceite de oliva (Hexanal, E-2-hexenal y Hexanol) correspondientes a la variedad Arbosana. El gráfico muestra las diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre las dos zonas de cultivo estudiadas (Limarí y Molina).	47
Figura 11. Concentración de compuestos volátiles totales (mg/Kg) presentes en AOVE de las variedades Koroneiki, Arbequina y Arbosana para cada estado de maduración (2-7) y áreas de cultivo: Molina y Limarí.	49
Figura 12. Concentración de hexanal, E-2 hexenal y hexanol (ug/Kg) en aceite de oliva extra virgen de la variedad Koroneiki para cada estado de maduración (2-7) y áreas de cultivo: Molina y Limarí.	50
Figura 13. Concentración de hexanal, E-2 hexenal y hexanol (ug/Kg) en aceite de oliva extra virgen de la variedad Arbequina para cada estado de maduración (2-7) y áreas de cultivo: Molina y Limarí.	50

Figura 14. Concentración de hexanal, E-2 hexenal y hexanol (ug/Kg) en aceite de oliva extra virgen de la variedad Arbosana para cada estado de maduración (2-7) y áreas de cultivo: Molina y Limarí.	51
Figura 15. Concentración de aldehídos, esterés, alcoholes (* sin considerar etanol), cetonas, hidrocarburos y ácidos (ug/Kg) en aceite de oliva extra virgen de la variedad Koroneiki para cada estado de maduración (2-7) y áreas de cultivo: Molina y Limarí. .	51
Figura 16. Concentración de aldehídos, esterés, alcoholes (*sin considerar etanol), cetonas, hidrocarburos y ácidos (ug/Kg) en aceite de oliva extra virgen de la variedad Arbequina para cada estado de maduración (2-7) y áreas de cultivo: Molina y Limarí.	52
Figura 17. Concentración de aldehídos, esterés, alcoholes (*sin considerar etanol), cetonas, hidrocarburos y ácidos (ug/Kg) en aceite de oliva extra virgen de la variedad Arbosana para cada estado de maduración (2-7) y áreas de cultivo: Molina y Limarí..	52
Figura 18. Zonas geográficas que corresponde a las dos latitudes estudiadas.	69
Figura 19. Gráficos de medias y diferencias significativas para datos agronómicos de las dos latitudes estudiadas.	71
Figura 20. Gráficos de medias y diferencias significativas entre estados de maduración para Acidez Libre en localidad de Limarí, variedad Koroneiki (A) y Arbequina (B).	72
Figura 21. Gráficos de medias y diferencias significativas entre variedades para Acidez Libre en localidad de Limarí, E2 (A), E5 (B), E6 (C) y E7 (D).	72
Figura 22. Gráfico de medias y diferencias significativas entre variedades para Acidez Libre en localidad de Molina E4.	73
Figura 23. Gráficos de medias y diferencias significativas entre latitudes para Acidez Libre en Arbosana E3 (A), Koroneiki E4 (B) y Arbequina E6.	73
Figura 24. Gráficos de medias y diferencias significativas entre estados de maduración para Índice de Peróxidos en localidad de Limarí, variedad Koroneiki (A) y Arbosana (B).	74
Figura 25. Gráficos de medias y diferencias significativas entre variedades para Índice de Peróxidos en localidad de Limarí, E3 (A), E4 (B), E5 (C) y E7 (D).	74
Figura 26. Gráficos de medias y diferencias significativas entre estados de maduración para Índice de Peróxidos en localidad de Molina, variedad Koroneiki (A), Arbequina (B) y Arbosana (C).	75
Figura 27. Gráficos de medias y diferencias significativas entre variedades para Índice de Peróxidos en localidad de Molina, E2 (A), E3 (B) y E5 (C).	75
Figura 28. Gráficos de medias y diferencias significativas entre latitudes para Índice de Peróxidos en Koroneiki E2 (A), Arbequina E3 (B), Arbequina E4, Arbequina E6, Arbosana E2 y Arbosana E3.	76
Figura 29. Escala de color Gardner. Los colores van desde blanco agua (Gardner 1) a través de amarillo a marrón (Gardner 18), (Paul N. Gardner Company, Inc, 2016).	76

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resultados de absorción ultravioleta para aceites de la variedad Koroneiki, Arbequina y Arbosana.	27
Tabla 2. Resultados de color en escala Gardner para los aceites de la variedad Koroneiki, Arbequina y Arbosana.....	28
Tabla 3. Composición de los principales ácidos grasos (% de ésteres metílicos) en AOVE, el total de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados.....	31
Tabla 4. Descriptores sensoriales de algunos compuestos fenólicos presentes en el AOVE.	32
Tabla 5. Concentración de compuestos fenólicos (mg/Kg), correspondientes a muestras de la variedad Koroneiki, zonas de cultivo Molina y Limarí, en sus diferentes estados de maduración (E). Incluye resultados de análisis estadístico ANOVA.....	39
Tabla 6. Concentración de compuestos fenólicos (mg/Kg), correspondientes a muestras de la variedad Arbosana, zonas de cultivo Molina y Limarí, en sus diferentes estados de maduración (E). Incluye resultados de análisis estadístico ANOVA.....	40
Tabla 7. Concentración de compuestos fenólicos (mg/Kg), correspondientes a muestras de la variedad Arbequina, zonas de cultivo Molina y Limarí, en sus diferentes estados de maduración (E). Incluye resultados de análisis estadístico ANOVA.....	41
Tabla 8. Concentración de compuestos volátiles (mg/Kg) en AOVE variedad Koroneiki, localidad de Limarí y Molina en diferentes estados de maduración. Incluye resultados de análisis estadístico ANOVA.	53
Tabla 9. Concentración de compuestos volátiles (mg/Kg) en AOVE variedad Arbequina, localidad de Limarí y Molina en diferentes estados de maduración. Incluye resultados de análisis estadístico ANOVA.	55
Tabla 10. Concentración de compuestos volátiles (mg/Kg) en AOVE variedad Arbosana, localidad de Limarí y Molina en diferentes estados de maduración. Incluye resultados de análisis estadístico ANOVA.	57
Tabla 11. Límites establecidos para algunos de los criterios de calidad en cada denominación, según la “Norma Comercial Aplicable a los Aceites de Oliva y los Aceites de Orujo de Oliva” del Consejo Oleícola Internacional (COI, 2015).	68
Tabla 12. Información agronómica de las precipitaciones (mm), riego (m ³) y Eto acumulada (mm) de acuerdo a las tres variables estudiadas.....	70
Tabla 13. Gradiente de elución fase móvil utilizado en HPLC.....	71

ABREVIATURAS

ADH: Alcohol Deshidrogenasa.

AOV: Aceite de Oliva Virgen.

AOVE: Aceite de Oliva Virgen Extra.

C_i: Cadena de 'i' número de carbonos.

COI: Comité Oleícola Internacional.

E_i: Fruta en estado de maduración 'i'.

ETo: Evapotranspiración del cultivo de referencia.

EVOO: Extra Virgin Olive Oil.

GC: Gas chromatography.

HPLC: High-performance liquid chromatography.

LOX: Lipoxigenasa.

p-HPEA-EDA: Decarboximetil aglicona del ligustrósido, forma dialdehídica.

p-HPEA-EDA-ALD: Aglicona del ligustrósido , forma dialdehídica.

PAL: Fenilalanina amonio liasa

3,4 DHPEA-EDA: Decarboximetil aglicona de la oleuropeína, forma dialdehídica.

3,4 DHPEA-EDA-AOD: Aglicona de la oleuropeína, forma dialdehídica.

3,4-DHPEA-EDA-AOAH: Aglicona de la oleuropeína, forma aldehídica e hidroxílica.

3,4 DHPEA-EDA ox: Decarboximetil aglicona de la oleuropeína, forma dialdehídica oxidada.

RESUMEN

En esta investigación se estudió la influencia del estado de maduración, variedad y zona de cultivo sobre la concentración de los compuestos fenólicos y volátiles de los AOVEs de las variedades Arbequina, Koroneiki y Arbosana, provenientes de dos zonas geográficas de Chile: IV Región de Coquimbo (Valle de Limarí) y VII Región del Maule (Molina).

A los aceites se les realizó una caracterización de la calidad fisicoquímica (acidez libre, índices de peróxidos, absorción UV K232, K270, ΔK y color) y la composición en ácidos grasos; cumpliendo todas las muestras con los criterios según la Norma del Comité Oleícola Internacional para la categoría de AOVE.

La determinación de compuestos fenólicos mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), previa extracción en fase sólida (SPE), dio como resultado diferencias significativas entre variedades, la mayor concentración la presentó la variedad Koroneiki seguido de 'Arbosana' y por último 'Arbequina'. La concentración de compuestos fenólicos también se vio afectada por el estado de maduración de la oliva, con una tendencia a disminuir a medida que avanza el nivel de maduración de las aceitunas, y por el origen geográfico, encontrándose aceites con un mayor contenido fenólico en el Valle de Limarí en comparación con la zona de Molina. Los principales compuestos fenólicos encontrados en las tres variedades correspondieron a derivados de oleuropeína y ligustrósidos.

La medición de compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida (SPME) seguido de cromatografía de gases (GC), mostraron que los principales compuestos presentes en los aceites fueron Hexanal, E-2-hexenal y Hexanol. De manera general se presentó mayor concentración de estos tres compuestos en los aceites de la zona de Molina. Por otra parte en el Valle de Limarí se mostró una tendencia definida en donde la variedad Arbequina presentó mayor concentración de compuestos volátiles seguido de 'Arbosana' y 'Koroneiki'. Además, se mostró una influencia del estado de maduración, donde la concentración de los compuestos volátiles predominantes aumentó hasta el estado E4 o E5 de maduración para luego disminuir o mantenerse en los estados E6 y E7.

ABSTRACT

INFLUENCE OF LATITUDE, VARIETY AND RIPENING STAGE ON THE EVOLUTION OF FLAVOR RESPONSIBLE COMPOUNDS (PHENOLS AND VOLATILES) IN EXTRA VIRGIN OLIVE OIL

In this research the influence of the ripening stage, variety and growing region on the concentration of phenolic and volatile compounds in EVOOs from Arbequina, Koroneiki and Arbosana varieties from two geographical areas of Chile: IV Region of Coquimbo (Limarí Valley) and VII Region of Maule (Molina) were studied.

A characterization of the physicochemical quality of the oils was performed (free acidity, peroxide value, K232, K270, ΔK absorption and color) and fatty acid composition; all the samples were classified as EVOO according to the standards given by International Olive Oil Council.

The determination of phenolic compounds through solid phase extraction (SPE) followed by high-performance liquid chromatography (HPLC) analysis led as result significant differences between varieties, the highest concentration was found in the Koroneiki variety, followed by 'Arbosana' and lastly 'Arbequina'. The concentration of phenolic compounds was also affected by the ripening stage of the olive, with a tendency to decrease as the ripening level of the olive progresses, and by the geographical origin, finding oils with the highest phenolic content in the Limarí Valley in comparison to the Molina zone. The main phenolic compounds found in the three varieties corresponded to derivatives of oleuropein and ligstroside.

The measurement of volatile compounds through soli-phase microextraction (SPME) followed by gas chromatography (GC), displayed that the main compounds found in the oils were Hexanal, E-2-hexenal and Hexanol. In general, the largest concentration of these three compounds was found in the oils from the Molina zone. In the Limarí Valley a defined tendency in which the Arbequina variety displayed a larger concentration of volatile compounds followed by 'Arbosana' and 'Koroneiki' was shown. On the other hand, the influence of the ripening stage was observed, in which the concentration of prevalent volatile compounds increased to the ripening stage E4 or E5 to subsequently to decrease or stay in the E6 and E7 stage.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Definición y clasificación del aceite de oliva según el Comité Oleícola Internacional (COI).

El aceite de oliva es el aceite procedente únicamente del fruto del olivo (*Olea europaea* L.), con exclusión de los aceites obtenidos por disolventes o por procedimientos de reesterificación y de toda mezcla con aceites de otra naturaleza. El aceite de oliva se clasifica en, (COI, 2015):

1.1.1 ACEITE DE OLIVA VIRGEN (AOV)

Es el aceite obtenido del fruto del olivo únicamente por procedimientos mecánicos o por otros medios físicos en condiciones, especialmente térmicas, que no produzcan la alteración del aceite, que no haya tenido más tratamiento que el lavado, la decantación, la centrifugación y el filtrado.

Los AOVs aptos para el consumo en la forma en que se obtienen incluyen:

1.1.1.1 Aceite de oliva virgen extra (AOVE)

AOV cuya acidez libre expresada en ácido oleico tiene un máximo de 0,8 gramos por 100 gramos y cuyas demás características corresponden a las fijadas para esta categoría en la “Norma Comercial Aplicable a los Aceites de Oliva y los Aceites de Orujo de Oliva” del COI, (Anexo 1, Tabla 11).

1.1.1.2 AOV

AOV cuya acidez libre expresada en ácido oleico es como máximo de 2 gramos por 100 gramos y cuyas demás características corresponden a las fijadas para esta categoría en la norma del COI, (Anexo 1, Tabla 11).

1.1.1.3 Aceite de oliva virgen corriente

AOV cuya acidez libre expresada en ácido oleico es como máximo de 3,3 gramos por 100 gramos y cuyas demás características corresponden a las fijadas para esta categoría en la norma del COI, (Anexo 1, Tabla 11).

Por otra parte, el AOV no apto para el consumo en la forma en que se obtiene, se denomina:

1.1.1.4 Aceite de oliva virgen lampante

AOV cuya acidez libre expresada en ácido oleico es superior a 3,3 gramos por 100 gramos y/o cuyas características organolépticas y demás características corresponden a las fijadas para esta categoría en la norma del COI, (Anexo 1, Tabla 11), este aceite se destina a las industrias de refinado o a usos técnicos.

Los demás tipos de aceite de oliva son:

1.1.2 ACEITE DE OLIVA REFINADO

Es el aceite de oliva obtenido de los aceites de oliva vírgenes mediante técnicas de refinado que no provoquen ninguna modificación de la estructura glicéridica inicial. Su acidez libre expresada en ácido oleico es como máximo de 0,3 gramos por 100 gramos y sus demás características corresponden a las fijadas para esta categoría en la norma del COI, (Anexo 1, Tabla 11).

1.1.3 EL ACEITE DE OLIVA

Es el aceite constituido por la mezcla de aceite de oliva refinado y de aceites de oliva vírgenes aptos para el consumo en la forma en que se obtienen. Su acidez libre expresada en ácido oleico es como máximo de 1 gramo por 100 gramos y sus demás características corresponden a las fijadas para esta categoría en la norma del COI, (Anexo 1, Tabla 11).

1.2 Variedades de olivos

La mayor parte de las variedades de olivos presentes en el mundo provienen del Mediterráneo, siendo España, Italia y Grecia las cunas por excelencia de este producto. De esos países comenzaron a llegar los aceites a Chile y también las primeras variedades aceiteras de olivos. Actualmente las más importantes que se cultivan en Chile son: Arbequina, Arbosana, Frantoio, Leccino, Picual, Koroneiki y Coratina, (Chile oliva, 2017).

1.2.1 ARBEQUINA

Esta variedad es originaria de España y entrega un fruto ovalado y pequeño. Su aceite es muy aromático, con ligero sabor a manzana, verde herbáceo, dulce, muy poco amargo y picante. Ha tenido muy buena aceptación en los mercados poco habituados al consumo de aceite de oliva. Es la variedad más plantada en Chile, representa el 57% del total nacional, ya que es usado comúnmente como base en todas las mezclas debido a su aceite suave de frutado ligero (Chile oliva, 2017). El fruto tiene un peso de 1,7 gramos y su rendimiento graso es medio, de un 15% de la materia húmeda, (Araniti y cols., 2014).

1.2.2 KORONEIKI

Variedad proveniente de Grecia, representa cerca del 60% de la superficie oleícola de ese país. Esta variedad está destinada a la producción de aceite, ya que, produce un aceite muy apreciado por sus características organolépticas, estabilidad y alto contenido en oleico. Aceite frutado, buen aroma, elegante y muy verde. En Chile esta variedad abarca el 3% de la producción nacional. El fruto tiene un peso de 1,05 gramos y el rendimiento graso en base húmeda alcanza 15,8%, (Araniti y cols. y Chile oliva, 2017).

1.2.3 ARBOSANA

Esta es una variedad española, procedente de la comarca de “El Arbos” en la provincia de Tarragona. Actualmente se proyecta como una de las variedades más interesantes por la calidad del aceite producido, ya que es muy frutado y aromático con particular aroma a plátano. Es estable, amargo y picante ligero. Es la segunda variedad más plantada en Chile, representa el 20% del total nacional (Chile oliva, 2017). El peso del fruto alcanza 1,02 gramos en madurez de cosecha, tiene un rendimiento graso potencial de 12% de aceite base materia húmeda, (Araniti y cols., 2014).

1.3 Antecedentes

El AOV se ha considerado como componente principal de la dieta mediterránea por sus propiedades beneficiosas y saludables en las enfermedades cardiovasculares y el cáncer (López-Miranda, 2010). Actualmente estas propiedades beneficiosas se atribuyen a la fracción fenólica del aceite, la cual es parte de los componentes minoritarios de éste (Granados-Principal y cols., 2010 y Omar, 2010). Estos compuestos fenólicos, junto con los compuestos volátiles son también responsables en gran medida de las características sensoriales finas que posee este tipo de aceite, como lo es el aroma y gusto único (Inarejos-García y cols., 2010; Cerretani y cols., 2008; Angerosa, 2002; Aparicio y cols., 1996 y Gutiérrez-Rosales y cols., 1992), ambos compuestos permanecen en el aceite debido a la utilización de sólo medios mecánicos para su extracción desde el fruto del olivo (*Olea europaea* L.).

El aroma verde frutal de aceites de oliva vírgenes de alta calidad se debe principalmente a la presencia de compuestos volátiles; mientras que los componentes fenólicos afectan el gusto, en particular, los atributos sensoriales positivos (amargo y picante). Por tanto, compuestos volátiles y fenólicos son en gran parte responsables del flavor de los aceites de oliva virgen y en gran medida determinan la calidad y el grado de preferencia de los consumidores de este producto, ver Figura 1, (Fregapane y cols., 2013).

1.3.1 CONTENIDO Y FORMACIÓN DE COMPUESTOS VOLÁTILES Y FENÓLICOS EN EL AOV.

Los compuestos volátiles responsables del aroma del AOV provienen de la aceituna. Estos componentes volátiles pueden ser considerados como metabolitos directos producidos en órganos de la planta por vías biogénicas intracelulares. Algunos de los compuestos volátiles que se encuentran en el AOV están presentes en el tejido intacto de la fruta, y otros se forman por la ruptura de la estructura celular durante la extracción del AOV, debido a las reacciones

enzimáticas en presencia de oxígeno (ruta de la lipoxigenasa (LOX)). Los principales precursores de compuestos volátiles son los ácidos grasos insaturados (particularmente linoleico y α -linolénico) y aminoácidos (leucina, isoleucina y valina), (Morales y cols., 2013).

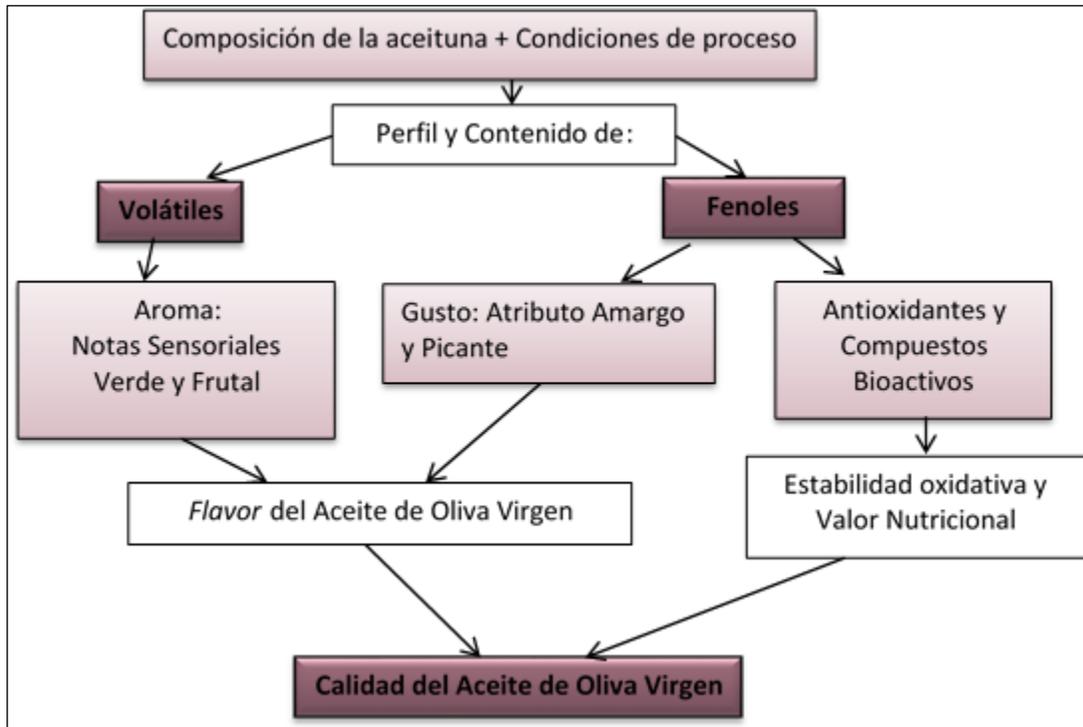


Figura 1. Calidad del AOV relacionada con los componentes menores, (Fregapane, 2013).

Las principales rutas bioquímicas involucradas en la síntesis del aroma del AOV se pueden agrupar en:

Ruta de la LOX: Está involucrada en la formación de los principales compuestos volátiles del AOVE, por lo tanto la concentración general de los compuestos volátiles del AOVE depende del nivel y de la actividad de cada enzima involucrada en esta ruta, (Salas y cols., 2005 y Angerosa y cols., 2004). Los principales precursores de esta ruta son los ácidos grasos insaturados linoleico y

α -linolénico, a partir de los cuales se forman principalmente compuestos volátiles C_6 y en menor medida, prácticamente ausentes, compuestos C_9 , (Morales y cols., 2013). Esta ruta bioquímica que se impulsa por la ruptura de tejidos, implica la acción de una serie de enzimas que oxidan (LOX) y escinden (hidroperóxido liasa) ácidos grasos poliinsaturados para producir aldehídos, que son posteriormente reducidos a alcoholes (alcohol deshidrogenasa (ADH)) y esterificados a continuación para producir ésteres (alcohol aciltransferasa), (Kalua y cols., 2007). En el curso del proceso industrial de extracción del aceite de oliva, la ruta de la LOX se inicia durante la molienda de los frutos y se mantiene activa durante el batido de la pasta de aceitunas, (Sánchez y Salas, 2003). La Figura 2 muestra los principales compuestos volátiles producidos a través de esta ruta que se encuentran normalmente en el AOV.

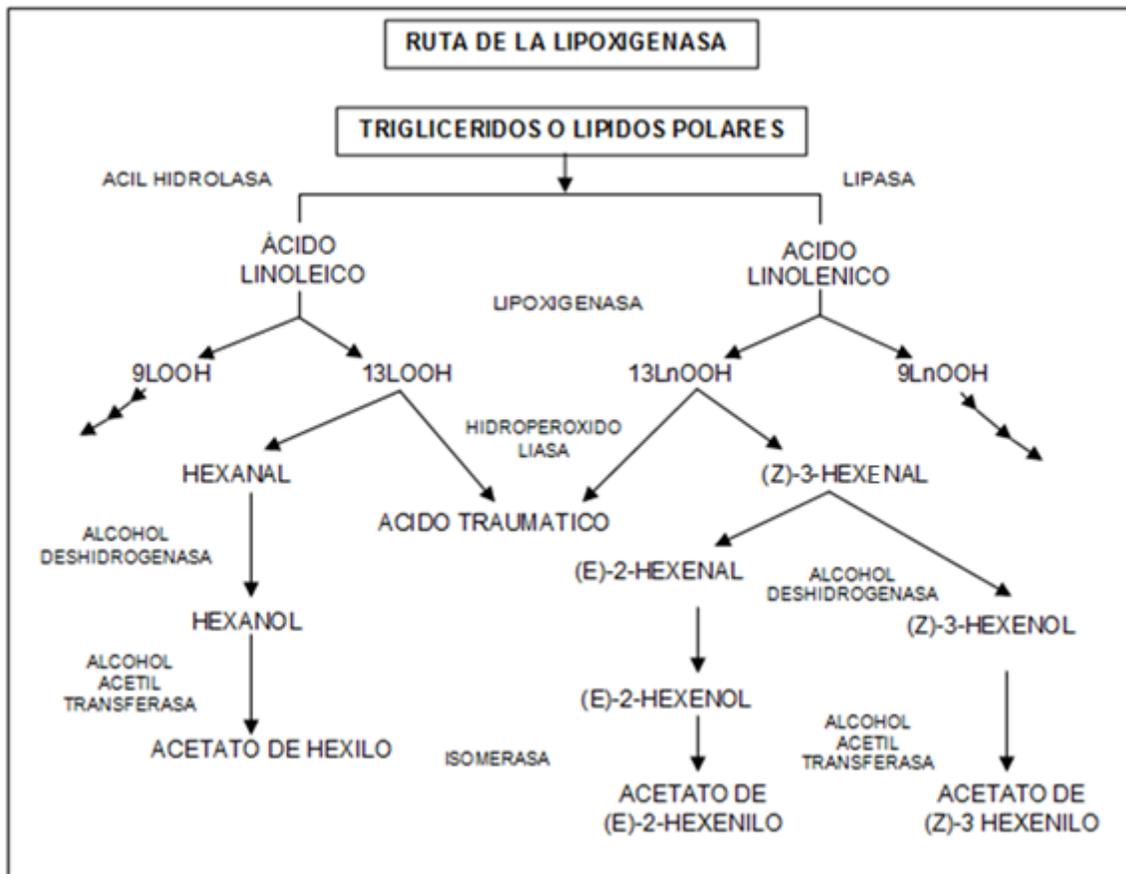


Figura 2. Ruta de la LOX involucrada en la generación de compuestos volátiles del AOV, (Morales y Tsimidou, 2003).

Una reacción de escisión del 13-hidroperóxido de ácido linolénico, mediada por LOX a través de un radical alcoxi, podría dar lugar a la formación de radicales 1,3-penteno estabilizados, que posteriormente pueden dimerizarse, dando lugar a hidrocarburos C₁₀ (dímeros de penteno); o un par con un radical hidroxilo presente en el medio que produce alcoholes C₅ tales como 1-penten-3-ol y 2-penten-1-ol, que han sido identificados en AOV. La activación adicional del alcohol deshidrogenasa (ADH) podría ser responsable de la formación de aldehídos C₅.

El esqueleto estructural de algunos volátiles se deriva de los aminoácidos de cadena ramificada (valina, leucina, e isoleucina) por una serie de transformaciones bioquímicas. Valina, leucina e isoleucina se transforman en los aldehídos ramificados 2-metil propanal, 3-metil butanal y 2-metil butanal, respectivamente. La activación adicional de ADH convierte los aldehídos así formados en los correspondientes alcoholes. Más tarde la acción del alcohol acil transferasa da lugar a la formación de éster.

Metabolismo de ácidos grasos: Las frutas no maduras producen una variedad de ácidos grasos y algunos compuestos volátiles menores (alcoholes primarios y secundarios). Durante la maduración, la fruta desarrolla la habilidad de convertir algunos ácidos grasos en cetonas, ésteres y alcoholes. Ésteres alifáticos, alcoholes, ácidos, y carbonilos derivados del metabolismo de los ácidos grasos se pueden encontrar en el AOV.

Por otra parte, los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de las plantas, biosintetizados a través de la ruta del ácido shikímico, del ácido mevalónico y del metabolismo de fenilpropanoides, (El Riachy y cols., 2011 y Ryan y cols., 2002).

Ruta del ácido shikímico: En las plantas, la ruta del ácido shikímico es la responsable de la formación de dos aminoácidos aromáticos, fenilalanina y tirosina. La glicólisis no oxidativa de la glucosa produce fosfoenolpiruvato y

eritrosa-4-fosfato, ambos constituyen los reactantes iniciales de la ruta del ácido shikímico. La fenilalanina obtenida representa el substrato inicial del metabolismo de fenilpropanoides, (El Riachy y cols., 2011 y Ryan y cols., 2002).

Metabolismo de fenilpropanoides: La función principal de la fenilalanina es la producción de proteínas, sin embargo, una parte se desvía de esta ruta y la fenilalanina pasa a ser el precursor común de la mayoría de los compuestos fenólicos. Fenilalanina amonio liasa (PAL) es la enzima clave en la biosíntesis fenólica, la cual inicia la biosíntesis de una amplia gama de compuestos fenilpropanoides secundarios, incluyendo la lignina y pigmentos flavonoides (El Riachy y cols., 2011 y Ryan y cols., 2002).

Ruta del ácido mevalónico: En las especies Oleaceae, secoiridoides como la Oleuropeína, generalmente el compuesto fenólico más importante en los cultivares de olivo, son biosintetizados a través de una ramificación en la ruta del ácido mevalónico, en el que se combinan la síntesis de terpeno (fracción de oleósido) y el metabolismo de fenilpropanoides (fracción fenólica) resultando en la formación de oleósidos. A partir de estos compuestos se derivan los secoiridoides, en los cuales el esqueleto de carbono se deriva del ácido mevalónico, (El Riachy y cols., 2011 y Soler-Rivas y cols., 2000).

Algunos de los compuestos fenólicos más representativos en el aceite se pueden agrupar en cuatro clases (ver Figura 3): derivados secoiridoideos (agliconas de oleuropeína y ligustrósido y sus derivados), los fenoles simples derivados del alcohol feniletílico, ácidos cinámico y benzoico, y otros compuestos identificados como lignanos y flavonoides, (Conde y cols., 2008 y Tripoli y cols., 2005).

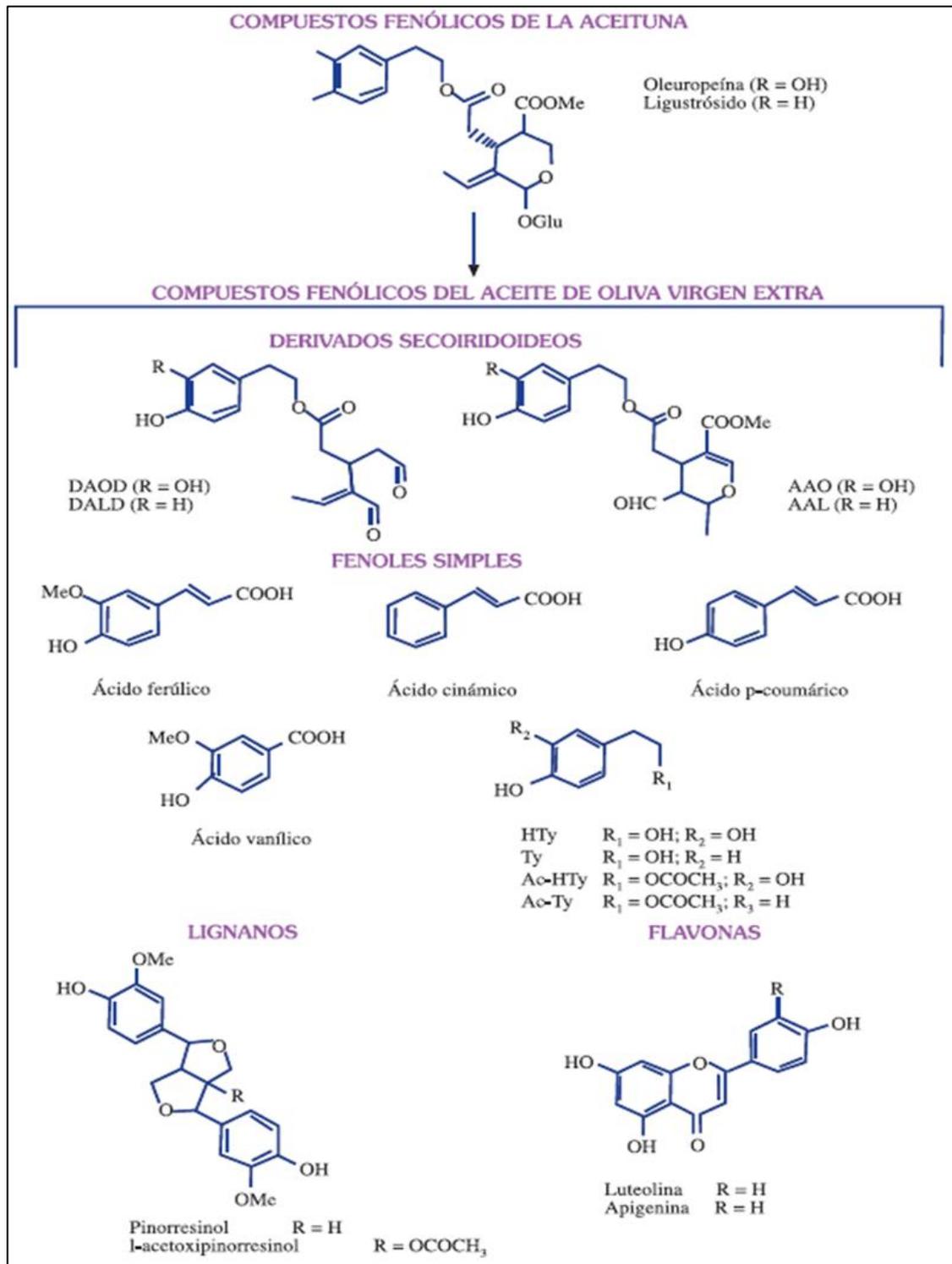


Figura 3. Estructuras químicas de los principales compuestos identificados en la fracción fenólica del AOV, (Mateos y cols., 2011).

La composición de los compuestos volátiles y fenólicos ha sido utilizada para discriminar entre las etapas de maduración, origen geográfico y variedad (Gómez-Rico y cols., 2008a; Luna y cols., 2006; Vichi y cols., 2003; Gómez-Alonso y cols., 2002; Angerosa y cols., 1999 y Aparicio y Morales, 1998). De esto se deduce que los componentes menores (volátiles y fenoles) se ven afectados por variables agronómicas tales como: el cultivar (variedad), el grado de maduración de la fruta, el área de cultivo, las condiciones climáticas, las condiciones del suelo y de la gestión del riego, (Fregapane y cols., 2013; Morales y Aparicio, 1999; Aparicio y Morales, 1998 y Aparicio y cols., 1994).

1.3.2 INFLUENCIA DE LA VARIEDAD DE CULTIVO

La variedad de la oliva es uno de los principales factores que determina el contenido y el perfil de compuestos volátiles y fenólicos de un AOV. Entre los estudios que avalan esta afirmación, se tiene el análisis de aceite de la variedad Arbosana, Koroneiki y Arbequina, cultivadas en una misma localidad, cuyo resultado mostró un contenido fenólico total de 133.6, 403.2 y 95.50 mg/kg, respectivamente (Dabbou y cols., 2009); igual relación se presentó en un estudio llevado a cabo a las mismas variedades, a pesar que los resultados no son iguales, se presentaron diferencias significativas entre las muestras, siendo el mayor contenido fenólico para el aceite de la variedad Koroneiki y el menor para el aceite de la variedad Arbequina, (Allalout y cols., 2011); la misma influencia se determinó en un estudio de 26 variedades distintas en Chile, entre las que se encuentra Arbosana, Koroneiki y Arbequina, las que presentaron aproximadamente 300, 500 y 600 mg/kg, respectivamente, (Romero, 2014).

En el primer estudio, los compuestos volátiles (ésteres, cetonas, aldehídos y alcoholes) presentaron diferencias en las muestras de aceites de las tres variedades analizadas, las cuales se obtuvieron a partir de cultivos cosechados en el mismo grado de madurez y procesados en las mismas condiciones de funcionamiento, (Dabbou y cols., 2009); otro análisis realizado en aceites de oliva

virgen de 39 variedades diferentes, mostró que el contenido volátil total osciló desde 9,83 hasta 35 mg/kg y estas diferencias se deben exclusivamente al cultivar ya que el sistema de extracción, la madurez de oliva y el clima y condiciones agronómicas fueron los mismos para todos los cultivares, (Luna y cols., 2006).

1.3.3 INFLUENCIA DE LA GESTIÓN DE RIEGO

Se ha observado una relación entre el contenido fenólico en los aceites de oliva virgen y la gestión de riego, (Inglese y cols., 2011). Estos compuestos que afectan tanto a la estabilidad a la oxidación y las características sensoriales, especialmente el gusto amargo, muestran una relación inversa con la cantidad de agua aplicada a los olivos, (Gómez- Rico y cols., 2009; Gómez- Rico y cols., 2007; Gómez- Rico y cols., 2006; Aparicio y Luna, 2002 y Patumi y cols., 2002); esto también se muestra en un estudio llevado a cabo con aceite de la variedad Chétoui de la zona sur de Túnez, donde el nivel de fenoles totales se redujo en más de la mitad pasando de un manejo de riego equivalente a 75% y 50% de la ETo¹ a riego equivalente a 100% de la ETo, reportando una clara reducción en la cantidad total de compuestos fenólicos asociados con el aumento de la disponibilidad de agua; en contraste, en este mismo estudio no se encontraron diferencias en cuanto a la intensidad del amargo de los aceites obtenidos en el norte del mismo país, (Issaoui y cols., 2013). Un estudio reciente en aceite de la variedad de Frantoio avala que, los árboles con regadío abundante produjeron aceites con menores concentraciones de fenoles totales y o-difenoles con respecto a los aceites procedentes de árboles con gran estrés hídrico y las concentraciones de secoiridoides fueron menores en árboles plenamente regados que en los árboles de bajo riego, (Caruso y cols., 2014).

¹ ETo: Evapotranspiración del cultivo de referencia. Se refiere a la tasa de evapotranspiración (proceso de evaporación y transpiración que ocurren simultáneamente en un cultivo) de una superficie de referencia (cultivo hipotético de pasto con características específicas), que ocurre sin restricciones de agua, (FAO, 2006).

En cuanto a la influencia que tiene la gestión de riego en los compuestos volátiles presentes en el AOV, Servili y cols. (2007) informaron que el estado hídrico del árbol tenía un marcado efecto sobre la concentración de compuestos volátiles obtenidos del aceite oliva virgen de la variedad Leccino y, en particular, en aldehídos C₆-saturados e insaturados, alcoholes y ésteres. Gómez-Rico y cols. (2006) informaron también que las principales concentraciones de compuestos volátiles fueron más altas en los aceites producidos bajo condiciones de riego. Más adelante, Dabbou y cols. (2011) demostraron que el efecto del riego era dependiente del cultivar, ya que la concentración de compuestos volátiles en los aceites de oliva virgen de Arbequina, Koroneiki, y Coratina respondió de manera diferente con el nivel de agua aplicada. Sin embargo, el efecto del agua está lejos de ser clara, ya que en el estudio de Túnez el aceite de la variedad Chétoui reportó que no existe una relación directa o inversa definida, pero si se aprecia que el contenido volátil es mayor en los aceites de los olivos con gestión de riego equivalente a 100% de la ETo (Issaoui y cols., 2013) y el análisis sobre el efecto del riego en los compuestos volátiles del aceite de Frantoio no parecían estar influenciados por la disponibilidad de agua en el suelo, (Caruso y cols., 2014).

1.3.4 EFECTO DE LA MADURACIÓN

Según estudios reportados, se ha observado que durante la maduración de las olivas la cantidad de compuestos volátiles generalmente aumenta hasta una concentración máxima, que se produce cuando el color de la piel de la fruta se vuelve de color amarillo-verde a púrpura; más allá de ese punto, el contenido de volátiles disminuye, (Gómez-Rico y cols., 2006; Angerosa, 2002 y Aparicio y Morales, 1998).

Camposeo y cols. (2013) reportaron las cantidades de polifenoles en aceites de la variedad Arbequina, Arbosana y Coratina para cinco fechas distintas de cosecha de las olivas, los aceites de Arbequina y Arbosana presentaron un aumento en la cantidad de fenoles hasta la tercera fecha, después de la cual

disminuyó abruptamente la concentración; y el aceite de la variedad Coratina presentó la máxima concentración en la primera fecha, para luego disminuir en las cuatro restantes. En otro estudio realizado en aceites de la variedad Arbequina se informó que los niveles de fenoles totales se incrementaron progresivamente hasta que llegaron a un máximo entre 1,7 y 2,3, en un índice de maduración de 0 a 7, después de lo cual se redujeron, pero esta tendencia no fue la misma en las tres temporadas de cultivo, en las cuales se realizó el estudio, lo que según los autores se debe al factor de la lluvia que no fue la misma en las tres temporadas (Benito y cols., 2013). La misma tendencia de aumento del contenido fenólico y luego una disminución a lo largo de la maduración se mostró en otro estudio de estos mismos autores (Benito y cols., 2012).

1.3.5 INFLUENCIA DEL ZONA DE CULTIVO (LATITUD)

En un estudio llevado a cabo con aceite de la variedad Chétoui de la zona sur y norte de Túnez (Issaoui y cols., 2013), se informó que los resultados en los compuestos volátiles no fueron los mismos para las dos áreas estudiadas, el contenido de hexanal (olor manzana, notas verdes) mostró mayor porcentaje en aceites del norte que del sur, al contrario de las cantidades de (E)- 2- hexenal donde ocurrió lo inverso, en general se concluyó que al parecer la composición volátil de la variedad Chétoui se ve afectada por el zona de cultivo, de hecho se hizo evidente que la mayoría de los volátiles se relaciona principalmente con las condiciones de las zonas de cultivo, más que con las condiciones de gestión del riego (Issaoui y cols., 2013). Otro estudio llevado a cabo en Turquía donde se analizó la influencia de 5 áreas de cultivo en los compuestos volátiles de aceites de oliva vírgenes de la variedad Gemlik registraron una diferencia significativa en la composición de compuestos volátiles entre los aceites de diferentes regiones geográficas, lo cual se atribuyeron a las distintas condiciones climáticas, latitud y longitud que presentaba cada área de cultivo, (Kıralan y cols., 2012).

El análisis aplicado al aceite de la variedad Chétoui (Issaoui y cols., 2013) mostró una gran influencia del área de cultivo en la composición fenólica, donde los aceites obtenidos de los cultivares plantados en el norte de Túnez tuvieron un alto contenido de fenoles, mientras que los cultivares plantados en el sur del mismo país presentaron un contenido reducido de estos compuestos químicos, (Issaoui y cols., 2013); esta misma tendencia se reafirma en el estudio de los autores (Youssef y cols., 2012) en el cual reportaron para los aceites de la misma variedad Chétoui valores más bajos en fenoles y el contenido de o-difenol, y por lo tanto menos estables a la oxidación, cuando los olivos se cultivaron distantes (centro del país de Túnez) del sitio original de la plantación (norte del país), debiéndose estas diferencias a las condiciones ambientales. Resultados parecidos reportados por Arslana y cols. (2013) en aceites de oliva extra virgen de la variedad Sariulak, cultivados en tres zonas geográficas distintas del sur de Turquía, (Antalya, Karaman, Mersin), presentaron diversos resultados para cada zona, el contenido fenólico más altos se reportó en Karaman, lo cual, los autores lo relacionan con los niveles más bajos de precipitación en este lugar.

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivos Generales

Estudiar la influencia de la latitud, el estado de maduración y la variedad de cultivo sobre los compuestos responsables del flavor en AOVE.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar el efecto de la latitud sobre la composición de los compuestos fenólicos y volátiles de tres variedades de AOVE.
- Determinar la influencia estado de maduración sobre la composición de los compuestos fenólicos y volátiles de tres variedades de AOVE.
- Determinar el efecto varietal sobre la composición de los compuestos fenólicos y volátiles de tres variedades de AOVE.
- Determinar los parámetros de calidad de los aceites procedentes de tres variedades de AOVE.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales

3.1.1 MATERIA PRIMA

Se estudiaron aceites de oliva virgen extra, correspondientes a la cosecha 2013-2014 en diferentes estados de maduración E2 al E7 para las variedades Arbequina, Arbosana y Koroneiki, en dos zona de cultivo: Valle de Limarí de la Región de Coquimbo (Latitud 30°30'2" Sur) y Molina de la Región del Maule (Latitud 35°07'2" Sur) (Anexo 2, Figura 18), cuyos campos son manejados comercialmente. En cada fecha de cosecha se tomaron tres muestras por variedad (R1, R2 y R3). En la zona de Molina las muestras fueron reducidas en cuanto a los estados de maduración, teniendo incluso solo dos estados en la variedad Arbosana, esto producto de las bajas temperaturas presentadas en esa zona, las cuales repercutieron directamente en el fruto de la oliva impidiendo la extracción de aceite producto de la helada en la aceituna.

3.1.2 MATERIAL DE LABORATORIO

- Balón pera de 30 ml con boca esmerilada; tapa esmerilada.
- Bureta digital de 50 mL, Brand.
- Columna Sep-Pack Vac 3 cc (500 mg), Waters.
- Cubetas de cuarzo de 10 mm, Mundolab S.A.
- Filtro de jeringa con membrana PVDF 0,45 µm, Ø 13 mm.
- Jeringa Hipodérmica estéril de 5 ml, MedicalTek Chile S.A.
- Matraz aforado con tapón de 10, 25 y 100 mL.
- Matraz balón de 250 ml con boca esmerilada; tapa esmerilada.
- Matraz Erlenmeyer de 250 mL.
- Micropipeta de 100, 200 y 1000 µL y 5 mL, Brand.
- Pipetas graduadas de 0,5, 1, 5 y 10 mL.
- Pipetas pasteur.

- Probetas de 10, 100 y 500 mL.
- Tubos de ensayo con tapón roscado, Isolab.
- Vasos precipitados de 25, 50, 100 y 250 mL.
- Vial de 12*32 mm, tapa rosca y septo precortado de PTFE/Silicone, Waters.
- Vial de 20 ml, sello de aluminio Ø 20 mm con septo de PTFE/Silicone.

3.1.3 REACTIVOS Y SOLVENTES

- Ácido acético, Sigma Aldrich.
- Ácido orto-fosfórico 85% para análisis, Merck
- Acetato de etilo para análisis, Merck
- Acetonitrilo para cromatografía líquida, Merck
- Agua para cromatografía, Merck
- Alcohol etílico 96%, Chemix.
- Cloroformo para análisis, Merck.
- Hidróxido de sodio 0,1 N, Merck.
- Isooctano para espectroscopía, Merck.
- n-Heptano para análisis, Merck.
- n-Hexano para cromatografía líquida, Merck.
- Metanol para cromatografía líquida, Merck
- Solución indicador de almidón (10 mg/ml)
- Solución indicadora de fenolftaleína
- Ampolla Tiosulfato de sodio para 1000 ml (0,1 N), Merck.
- Yoduro de potasio para análisis, Merck.
- 4-metil-2-pentanol para síntesis, Merck
- Aceite de maravilla, Natura

3.1.4 EQUIPOS

- Cámara de vacío, Supelco.

- Rotavapor: sistema condensación VV2011 y baño termoregulado OB2001, Heidolpl.
- Sistema de vacío MZ 2CNT+AK+EK, Vacuubrand.
- Cromatógrafo líquido de alta resolución HPLC, Waters
- Cromatógrafo de gases 5890 Serie II, Hewlett Packard.
- Cromatógrafo de gases GC-2010 Plus, Shimadzu.
- Espectrofotómetro UV/Vis UV3, Unicam.
- Colorímetro PFX195, Lovibond.
- Balanza analítica, Sudelab.
- Baño ultrasónico Elmasonic E30H, Elma.
- Vortex Finevortex, Finepcr.

3.2 Metodología

3.2.1 CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DEL AOVE

3.2.1.1 Ácidos grasos libres expresados como ácido oleico

Se determinó el contenido de ácidos grasos libres de acuerdo con el método oficial de la A.O.C.S. Ca 5a-40. Este método determina el contenido de ácidos grasos libres existentes en la muestra, expresados como ácido oleico.

El porcentaje de ácidos grasos libres calculado como ácido oleico se obtuvo con la siguiente fórmula:

$$\text{Ácidos grasos libres, \%} = (\text{mL NaOH} * \text{N NaOH} * 28,2) / (\text{peso muestra})$$

Siendo:

N NaOH = Normalidad de la solución de hidróxido de sodio

3.2.1.2 Índice de peróxido

El índice de peróxido se estableció de acuerdo con el método oficial de la A.O.C.S. 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.

El índice de peróxidos expresado como mEq de peróxidos por 1000 g de muestra se obtiene mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de peróxido} = ((S - B)(N)(1000))/(\text{peso muestra})$$

Siendo:

B = Titulación del blanco (mL)

S = Titulación de la muestra (mL)

N = Normalidad de la solución de tiosulfato de sodio

3.2.1.3 Medidas espectrofotométricas de Absorción UV K232 y K270

Se determina la absorbancia a K232 y K270 de acuerdo con el método oficial de la A.O.C.S. Ch 5-91.

Los valores K232, K270 y ΔK se obtuvieron mediante las siguientes fórmulas:

$$K_{\lambda} = \frac{A_{\lambda}}{c \times l}$$

Donde:

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

c = concentración de la solución, g/100 ml.

A_{λ} = absorbancia medida a la longitud de onda λ

$$\Delta K = K_{270} - \left(\frac{K_{266} + K_{274}}{2} \right)$$

3.2.1.4 Color

El color se fijó de acuerdo al método oficial de la A.O.C.S. Cc 13e-92. Este método determina el color haciendo coincidir el color de la luz transmitida a través

de un espesor específico de aceite con el color procedente de la misma fuente, transmitida a través de estándares de vidrios de color. El color se mide en escala de color Gardner.

3.2.1.5 Determinación de ácidos grasos

La determinación de la composición en ácidos grasos se realizó según el método adoptado por el Consejo Oleícola Internacional para el análisis químico de los aceites de oliva: COI/T.20/DOC. 24 – 2001 “Preparación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos del aceite de oliva y el aceite de orujo de oliva”. La preparación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos se llevó a cabo siguiendo el método A: Transesterificación en frío con una solución metanólica de hidróxido potásico 2 N. En la determinación se utilizó un GC Hewlett Packard 5890 Serie II, columna Stabilwax-DB (0,25µm, 0,32 mm x 50m) adosado a un computador con el software Clarity. Las condiciones de temperatura fueron las siguientes: T° del inyector y detector FID 220°C T° horno inicial 160°C, Tiempo inicial: 3 min., rampa 2°C/min., T° final 220°C, Tiempo final: 20 min.

Los ácidos grasos se identificaron según los tiempos de retención y comparación con estándares de ácidos grasos y la norma COI (COI/T.20/DOC. 24 – 2001). Los ácidos grasos se expresaron como % de esteres metílicos.

3.2.2 DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS RESPONSABLES DEL FLAVOR

3.2.2.1 Compuestos volátiles

Inicialmente se preparó la muestra pesando 2 gramos de aceite en un vial de 20 ml, al cual se le agrega 100 µL de solución madre (50 µg 4-metil-2-pentanol/ 1 ml aceite maravilla), se tapa el vial y se agita por 50 segundos en vortex; luego se realizó el análisis de compuestos volátiles mediante la técnica de micro extracción en fase sólida (SPME) utilizando una fibra triple de 2 cm, 50/30 (DVB/ Carboxen/ PDMS) Supelco. Los compuestos volátiles se determinan en un cromatógrafo de gases Shimadzu GC-2010 Plus, detector FID-2010, inyector automático Headspace HT280T, columna Teknokroma TR-Wax (0,25µm, 0,25d.i

x 60m), software de adquisición de datos y manejo del equipo GC Solution V 2.4. Las condiciones de análisis fueron las siguientes: T° inyector 260°C, T° detector 280°C, T° horno: inicial 40°C por 10 min, rampa 3°C/min, final 200°C; se trabaja con una presión de 14.7 psi, radio: -1 y flujo 3.0 ml/min. El inyector automático utiliza el programa HT COMSOFT-S, donde el tiempo de desorción fue de 5 min, limpieza 2 min, agitación 2 min, descanso 5 min y una extracción de 10 mm por 10 min.

Finalmente los compuestos volátiles se identificaron por comparación de los tiempos de retención con estándares Sigma y se cuantificaron mediante el área de integración del estándar interno (4-metil-2pentanol).

3.2.2.2 Compuestos fenólicos

La determinación de los compuestos fenólicos se realizó mediante el método propuesto por Mateos y cols., (2001). Este método consiste en la extracción de los compuestos fenólicos mediante columnas de extracción en fase sólida (SPE) con una columna Sep-Pak diol Waters. La separación de los compuestos se realiza por HPLC en fase reversa, empleando un HPLC Waters equipado con bomba binaria 1525, detector arreglo de diodos 2998, horno 5CH, autosampler 2707, software cromatográfico EMPOWER SINGLE SYSTEM. Los compuestos fenólicos se identificaron empleando estándares Sigma comparando tiempos de retención y espectros UV de los compuestos con los respectivos estándares. Los compuestos secoiridoides se identificaron según tiempos de retención y espectros de absorbancia, (Ortúzar, 2013). La separación HPLC de 20 µL de las muestras y estándares se realizó en una columna Spherisorb ODS2 C18 (5µm, 4,6d.i x 250mm) a una temperatura de 30°C utilizando como fase móvil ácido fórmico 0,5%v/v (agua) y metanol/acetonitrilo 50/50% v/v, flujo 1 mL/min, elución en gradiente (Anexo 4, Tabla 13). Los cromatogramas se obtuvieron a 235, 280 y 335 nm. La cuantificación se realizó con los estándares internos ácido p-

hidroxifenilacético (S.I.1) para los fenoles que se obtienen a 280 y 235 nm y o-cumárico (S.I.2) para los fenoles que se obtienen a 335 nm.

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

$$\text{Fenol} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) = \frac{100 * P(\text{PI}) * \text{Area}(\text{fenol}) * \text{Factor}(\text{fenol})}{\text{Area}(\text{PI}) * P(\text{muestra})}$$

Siendo:

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

Área (fenol): área del fenol en cromatograma

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

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

P (muestra): peso de la muestra en gramos

2.2.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) simple a los resultados de acidez libre, índice de peróxidos, contenido y tipo de fenoles y volátiles, utilizando el software Statgraphics Centurión XVI para evaluar diferencias significativas entre localidades, variedades y estados de maduración. En el caso de existir diferencias significativas entre las muestras se realizó el método de Tukey HSD para identificar las diferencias.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Criterios de Calidad

4.1.1 ACIDEZ LIBRE

El grado de acidez mide la cantidad de ácidos grasos libres presentes en el aceite, por hidrólisis del triglicérido y se expresa como porcentaje de ácido oleico y es una de las características que mejor define la calidad de éste, (Porrás y cols., 1995). La Figura 4 presenta la evolución de la acidez libre para las tres variedades estudiadas en Limarí y Molina, según el estado de maduración. Todas las muestras analizadas reportaron entre 0,12 y 0,3 % ácido oleico, excepto la muestra perteneciente al estado 2 de Arbequina Limarí que presenta una acidez libre de 0,44 % de ácido oleico. De acuerdo a estos resultados todas las muestras de aceite pertenecen a la categoría de AOVE, según la norma del COI, (COI, 2015).

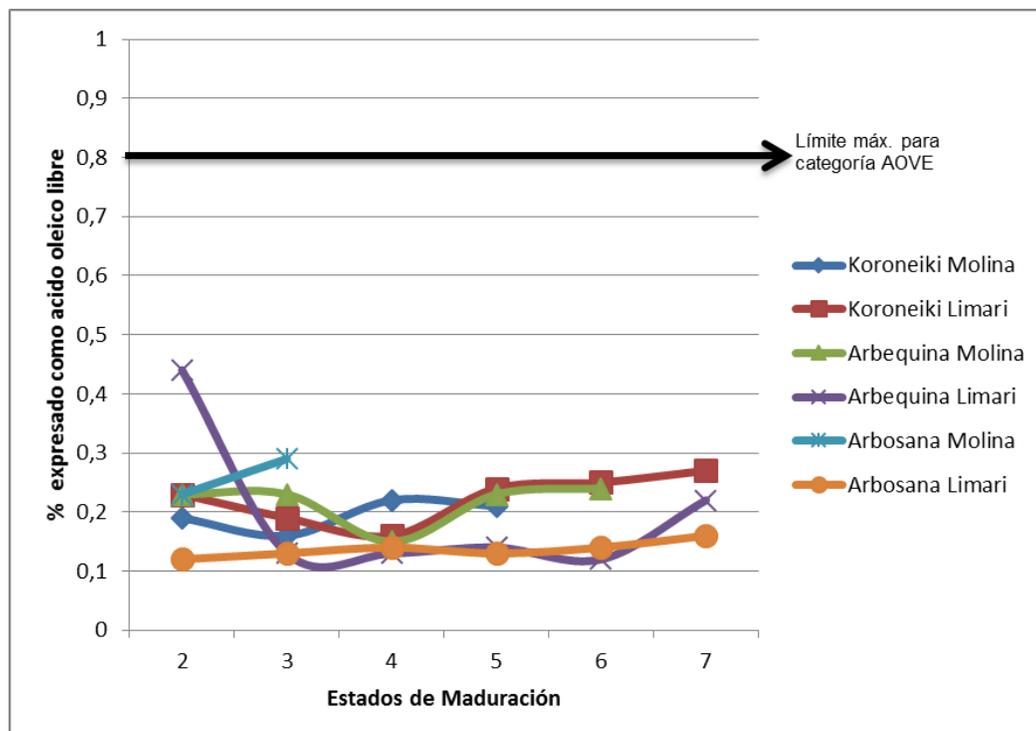


Figura 4. Evolución de la acidez libre (% ácido oleico) para las variedades Koroneiki, Arbequina y Arbosana en Limarí y Molina según estado de maduración.

En la localidad de Limarí se presentan diferencias significativas ($p < 0,05$) en la variedad Koroneiki, donde se observa una disminución de la acidez en el estado 4, observándose diferencias significativas ($p < 0,05$) con el último estado de maduración (E7). En la variedad Arbequina, el E2 presenta una acidez libre significativamente mayor que los demás estados (Anexo 4, Figura 20).

Entre variedades, 'Arbequina' presenta diferencias significativas ($p < 0,05$) para el E2 con 'Arbosana', la variedad Koroneiki, presenta diferencias significativas ($p < 0,05$) en estado 5 y 6 con las otras variedades y en el estado 7 se observan diferencias entre todas las variedades (Anexo 4, Figura 21).

En la localidad de Molina, las tres variedades estudiadas no presentan diferencias significativas ($p \geq 0,05$) entre los distintos estados de maduración. Entre variedades, solo se presentan diferencias significativas ($p < 0,05$) en el E4 entre la variedad Koroneiki y Arbequina (Anexo 4, Figura 22).

Al comparar entre localidades para una misma variedad, se observa diferencias significativas ($p < 0,05$) en el estado 3 para 'Arbosana', el estado 4 para 'Koroneiki', y en el estado 6 para 'Arbequina' (Anexo 4, Figura 23).

En su totalidad los aceites analizados en este estudio eran de buena calidad, es decir, provenientes de aceitunas sanas y sin defectos, ni daños mecánicos y que los procesos de cosecha, extracción, envasado y almacenamiento del aceite fueron realizados conservando las buenas prácticas de producción.

4.1.2 ÍNDICE DE PERÓXIDOS

Los peróxidos son los primeros compuestos formados en las reacciones de oxidación de los aceites, siguiendo una marcha paralela, al menos durante las primeras etapas, al oxígeno absorbido por éstos, por este motivo el Índice de Peróxidos es un parámetro de la calidad de los aceites, (Porrás y cols, 1995).

La Figura 5 presenta la evolución del índice de peróxidos a través de los estados de maduración, para las tres variedades estudiadas en las zonas de Limarí y Molina. Las muestras presentaron un índice de peróxidos entre 3,09 y 8,75 mEq de peróxidos por 1000 gramos de aceite, estos resultados son bastante inferiores al límite superior que presenta la norma del COI (COI, 2015) para los aceites de oliva virgen extra, cuyo valor es 20 mEq de oxígeno/ Kg aceite.

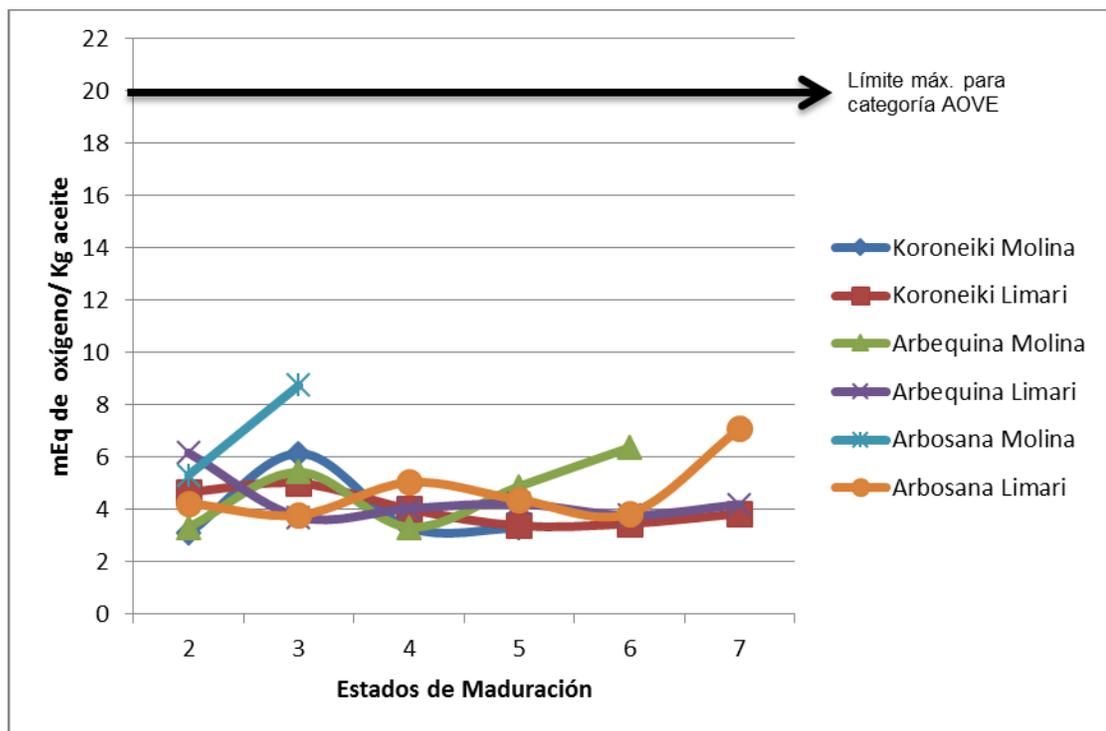


Figura 5. Evolución del índice de peróxidos (mEq oxígeno/ Kg aceite) para las variedades Koroneiki, Arbequina y Arbosana en Limarí y Molina, según estado de maduración.

En la localidad de Limarí, se observa que en la variedad Koroneiki los estado 2 y 3 presentan valores significativamente mayores ($p < 0,05$) que en los estados 5 y 6; en la variedad Arbosana, el estado 7 presenta un índice de peróxidos significativamente mayor ($p < 0,05$) que los demás estados (Anexo 5, Figura 24). Entre variedades, la variedad Koroneiki presenta diferencias significativas ($p < 0,05$) en el estado 3 y 5 con las otras dos variedades; lo mismo ocurre con

la variedad Arbosana en el estado 4 y 7, que presenta valores significativamente mayores ($p < 0,05$) de índice de peróxido que las otras dos variedades (Anexo 5, Figura 25).

En la localidad de Molina, se presentan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre estados de maduración. 'Koroneiki' en el estado 3 presenta valores de índice de peróxido significativamente mayor que los demás estados; 'Arbequina' en el estado 2 y 4 muestra un índice de peróxidos significativamente menor que el resto y en la variedad Arbosana el estado 2 es significativamente menor que el estado 3 (Anexo 5, Figura 26).

Entre variedades, 'Arbosana' en el estado 2 presenta diferencias significativas ($p < 0,05$) con las otras variedades, y en el estado 3 con la variedad Arbequina. Esta última variedad, en el estado 5, presenta diferencias significativas ($p < 0,05$) con 'Koroneiki' (Anexo 5, Figura 27).

Entre localidades de cultivo, la variedad Koroneiki muestra diferencias significativas ($p < 0,05$) solo en el estado 2, la variedad Arbequina en los estados 3, 4 y 6, y la variedad Arbosana en los estados 2 y 3 (Anexo 5, Figura 28).

4.1.3 ABSORBANCIA UV

Los parámetros K232 y K270 sirven para detectar el estado de oxidación del aceite, K232 (dienes conjugados) mide la oxidación primaria de las grasas (hidroperóxidos), mientras que K270 (trienes conjugados), mide la oxidación secundaria (aldehídos y cetonas) (Porras y cols., 1995).

Los resultados de absorción ultravioleta se encuentran en la Tabla 1, donde se presenta el promedio de tres muestras para K 232, K270 y ΔK junto a la desviación estándar. De acuerdo a estos resultados, todas las muestras estudiadas cumplen con el límite máximo permitido para cada uno de estos parámetros ($K\ 232 \leq 2,5$; $K270 \leq 0,22$; $\Delta K \leq 0,01$) especificados para AOVE según la norma del COI, (COI, 2015).

Los valores presentados para todas las variedades y estados de maduración en ambas localidades son bajos y corresponden a aceites frescos, extraídos en frío, ya que, según estudios anteriores el calentamiento del AOV afecta en los valores K232 y K270, aumentándolos hasta alcanzar valores superiores a los establecidos en la norma (Maggio y cols.,2011).

Tabla 1. Resultados de absorción ultravioleta para aceites de la variedad Koroneiki, Arbequina y Arbosana.

	Limarí			Molina		
	K232	K270	ΔK	K232	K270	ΔK
Koroneiki						
E2	1,911±0,11	0,15±0	0,006±0	1,364±0,034	0,102±0,013	0,002±0,001
E3	1,495±0,093	0,111±0,003	0,003±0	1,433±0,114	0,101±0,016	0,003±0,001
E4	1,489±0,021	0,131±0,002	0,004±0	1,401±0,069	0,12±0,022	0,003±0,001
E5	1,419±0,031	0,107±0,004	0,003±0	1,452±0,012	0,116±0,012	0,003±0,001
E6	1,437±0,029	0,107±0,004	0,003±0			
E7	1,478±0,053	0,111±0,003	0,003±0			
Arbequina						
E2	1,453±0,097	0,111±0,003	0,003±0	1,577±0,262	0,079±0,004	0,001±0
E3	1,533±0,044	0,103±0,013	0,003±0,001	1,572±0,099	0,097±0,009	0,002±0,001
E4	1,416±0,045	0,075±0,006	0,003±0	1,375±0,067	0,08±0,004	0,001±0,001
E5	1,451±0,041	0,094±0,008	0,002±0	1,452±0,076	0,096±0,005	0,001±0,001
E6	1,441±0,017	0,089±0,006	0,002±0,001	1,429±0,042	0,079±0,003	0,001±0
E7	1,591±0,051	0,071±0,001	0,002±0			
Arbosana						
E2	1,463±0,027	0,122±0,003	0,004±0	1,62±0,123	0,09±0,016	0,001±0
E3	1,383±0,029	0,091±0,001	0,003±0	1,598±0,067	0,119±0,024	0,001±0
E4	1,368±0,033	0,1±0,003	0,003±0			
E5	1,361±0,025	0,094±0,001	0,002±0			
E6	1,386±0,057	0,085±0,001	0,002±0			
E7	1,429±0,101	0,081±0,002	0,002±0			

4.1.4 COLOR

El color del aceite de oliva se debe a dos tipos de pigmentos, clorofilas y carotenoides. Pigmentos de clorofila representan el verdor de los aceites, mientras que los segundos cuentan para su amarillez, y ambos con propiedades

beneficiosas para la salud (Moyano y cols., 2010). A pesar de esto, la reglamentación actual para clasificar los aceites de oliva (COI/T.15/NC N° 3/Rev. 10.2015) no establece un color para los aceites de oliva virgen extra.

Los resultados del análisis de color se exhiben en la Tabla 2 que muestra los resultados medidos en colorímetro Lovibond PFX195; el color se midió para cada uno de las muestras en escala Gardner; se presenta el promedio de tres repeticiones para cada estado de maduración, junto a la desviación estándar.

La escala de color Gardner se emplea para evaluar el color de productos líquidos transparentes, tales como, barnices, aceites, entre otros, de color amarillos/parduzcos que estén comprendidos entre el Gardner 1 (blanco agua) y el Gardner 18 (marrón), (Anexo 6, Figura 29). El color se mide empleando un espectrofotómetro capaz de medir el color transmitido e informar los resultados en la escala de color Gardner.

Tabla 2. Resultados de color en escala Gardner para los aceites de la variedad Koroneiki, Arbequina y Arbosana.

	Koroneiki	Arbequina	Arbosana
Limarí			
E2	10,9±0,0aA	10,6±0,1a A	10,1±0,2a A
E3	10,1±0,3a A	9,8±0,4a A	8,3±0,3bc A
E4	8,9±0,1b A	6,4±0,1b A	8,6±0,9b
E5	6,1±0,1c A	6,3±0,1b A	6,7±0,5d
E6	6,2±0,7c	6,7±0,9b A	7,1±0,1cd
E7	6,5±0,3c	6,1±0,2b	6,7±0,1d
Molina			
E2	10±0,2aB	9,8±0,4a B	7,4±0,9a B
E3	10±0,2a A	10±0,2a A	8,9±0,3b A
E4	10±0,2a B	7,6±0,6b B	
E5	9,9±1,3a B	9,1±0,2a B	
E6		9,7±0,3a B	
a, b, c y d: Diferencias significativas (p<0,05) entre estados de maduración para una misma variedad y zona cultivo. A, B y C: Diferencias significativas (p<0,05) entre localidades Limarí y Molina para una misma variedad y estado de maduración.			

Los resultados van desde 6,1 a 10,9. En la localidad de Limarí se presentan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre estados de maduración, donde los mayores valores se encuentran en los estados más verdes y los menores valores en estados de maduración más avanzados. Además, se presentan en la mayoría de las muestras diferencias significativas ($p < 0,05$) entre localidades, observándose colores más intensos en las variedades de Molina, para los mismos estados de maduración.

El color en los aceites de oliva puede influir en las decisiones de consumo y puede estar relacionado con la variedad, grado de madurez de la oliva, zona de producción, la presencia de contaminantes, microorganismos o con los tratamientos de procesamiento que han sido sometidos, (Magariños y Bauzá, 2003).

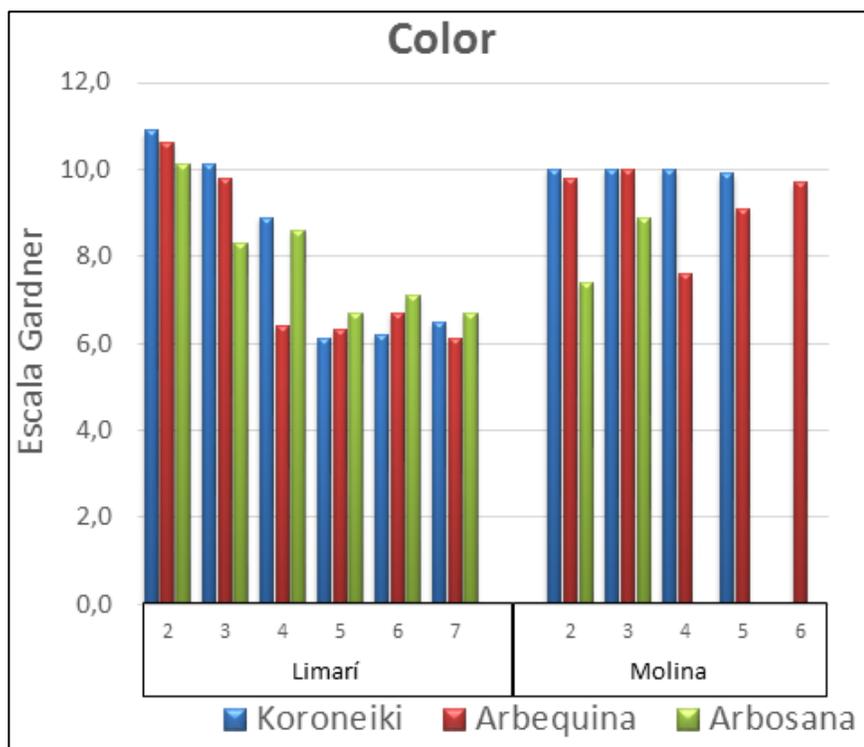


Figura 6. Color (\bar{X}) medido en Escala Gardner para cada estado de maduración, variedad (Koroneiki, Arbequina, Arbosana) y en las dos zonas de cultivo (Limarí y Molina).

4.2 Perfil de Ácidos Grasos

Los resultados de la determinación de ácidos grasos (% ésteres metílicos) en los aceites de oliva virgen extra analizados, se muestran en la Tabla 3; se presenta el promedio y desviación estándar de tres muestras (R1, R2, R3) analizados por duplicado para cada muestra.

En la Tabla 3 se puede apreciar que las muestras de AOVE correspondientes a las tres variedades Koroneiki, Arbequina y Arbosana cumplen con los rangos establecidos por el COI para los porcentajes de los ácidos grasos respecto al total. Lo que indica que las muestras estudiadas pertenecen a AOVE puros, y no mezclas con otro tipo de aceites.

De acuerdo al análisis de varianza para el total de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, la mayoría de las muestras presenta diferencias significativas ($p \leq 0,05$), entre los estados de maduración analizados (verde y maduro), para una misma variedad y localidad de cultivo, excluyendo a la variedad Arbosana cuyos estados analizados (E2 y E3) pertenecían a fechas con una sola semana de diferencia, lo cual no fue suficiente para provocar una diferencia en los porcentajes de ácidos grasos. Se observó además, diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en los porcentajes totales de grupos ácidos grasos entre localidades para una misma variedad y estado de maduración y entre las variedades para una misma localidad y estado de maduración. Estos resultados son esperables ya que la composición de ácidos grasos está determinada directamente por la genética del fruto (Jiménez y Beltrán, 2003).

Tabla 3. Composición de los principales ácidos grasos (% de ésteres metílicos) en AOVE, el total de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados.

Ácidos Grasos													
		Ác. Palmítico (C16:0)	Ác. Esteárico (C18:0)	Total saturados*	Ác. Oleico (C18:1)	C18:1w9	C18:1w7	Total monoinsaturados**	Ác. Linoleico (C18:2)	Ác. Linolénico (C18:3)	Total poliinsaturados***	Relación mono/poli	
Koroneiki	Limarí	E2	10,1±0,1	2,7±0,1	13,3±0,1a A1	80,1±0,2	78±0,2	2,2±0,1	81±0,1a A1	5±0	0,7±0	5,7±0a A1	14,2±0,1
		E7	9,6±0,3	2,8±0,1	13±0,2b A	78±0,6	75,8±0,7	2,2±0,1	78,8±0,6b A	7,6±0,4	0,6±0,1	8,2±0,4b A	9,7±0,5
	Molina	E2	10,7±0,3	2,2±0,2	13,6±0,1a A2	80,3±0,4	77,7±0,5	2,6±0,2	81,3±0,3a A2	4,5±0,2	0,7±0,1	5,1±0,2a A2	15,9±0,6
		E5	10,8±0,4	2,2±0,1	13,7±0,3a	79,4±1	76,7±1,1	2,7±0,2	80,5±0,9b	5,3±0,5	0,6±0,1	5,9±0,5b	13,7±1,3
Arbequina	Limarí	E2	12,3±0,1	2,4±0	15,4±0,1a B1	74,8±0,1	72,1±0,2	2,7±0,1	75,9±0,1a B1	8±0,1	0,6±0	8,6±0,1a B1	8,8±0,1
		E7	11,8±0,1	2,2±0	14,7±0,1b B	73,2±0,3	70,4±0,3	2,8±0,1	74,5±0,3b B	10,4±0,3	0,5±0	10,9±0,3b B	6,9±0,2
	Molina	E2	11,6±0,2	1,8±0	14,1±0,1a B2	78,9±0,1	75,8±0,2	3,1±0,1	80,2±0,1a B2	5±0,1	0,6±0	5,6±0,1a A2	14,2±0,4
		E6	11,2±0,3	2±0	13,8±0,3b	78,9±0,5	76±0,6	2,9±0,1	80,2±0,5a	5,5±0,2	0,5±0	6±0,2b	13,4±0,6
Arbosana	Limarí	E2	11,6±0,3	2,4±0	14,8±0,2a C1	77,7±0,8	74,9±0,7	2,8±0,2	79±0,8a C1	5,7±0,6	0,6±0	6,3±0,6a C1	12,6±1,2
		E7	11,8±1	2,3±0	14,8±0,9a B	76,1±0,8	73,4±0,8	2,7±0,1	77,5±0,7b C	7,2±0,3	0,6±0,1	7,7±0,3b A	10±0,3
	Molina	E2	11,4±0,5	2±0,1	14±0,4a B2	79,2±0,9	76,2±0,9	3±0,1	80,6±0,9a AB2	4,8±0,6	0,5±0,1	5,3±0,6a A2	15,3±1,9
		E3	11,9±0,6	2±0,1	14,6±0,5a	78,2±0,7	75,2±0,7	3,1±0,1	79,8±0,7a	5,1±0,5	0,6±0	5,7±0,5a	14,2±1,3
Límite (+)		7,5 - 20,0	0,5 - 5,0		55,0 - 83,0				3,5 - 21,0	≤1,0			

(+) Límites establecidos por el COI para aceites de oliva (COI, 2015).
 *Total de ácidos grasos saturados corresponde a la suma de ác. palmítico, margárico, esteárico, araquidónico, behémico y ác. lignocérico.
 **Total de ácidos monoinsaturados corresponde a la suma de los ác. palmitoleico w9 y w7, ác. margaroleico, ác. oleico w9 y w7 y ác. eicosanoico.
 ***Total de ácidos grasos poliinsaturados corresponde a la suma de ác. linoleico y ác. linoléico.
 a, b: diferencias significativas (p<0,05) entre estados de maduración para una misma variedad y zona cultivo.
 A, B y C: diferencias significativas (p<0,05) entre variedades para un mismo estado de maduración y zona cultivo.
 1 y 2: Diferencias significativas (p<0,05) entre Localidades Limarí y Molina para una misma variedad y estado de maduración.

4.3 Compuestos Fenólicos

Los compuestos fenólicos son los principales antioxidantes en el AOVE, se forman en la oliva a partir de la ruta del ácido shikímico y del ácido mevalónico y pasan al aceite durante el proceso de elaboración. Estos compuestos confieren al aceite un sabor amargo y picante (Tabla 4), dado principalmente por los derivados de oleuropeína y ligustrósidos (Romero y cols., 2016). Presentan diversas propiedades saludables entre las que se destacan la prevención del riesgo cardiovascular, actividad antiinflamatoria y antimicrobiana. (Servili y cols., 2014).

Tabla 4. Descriptores sensoriales de algunos compuestos fenólicos presentes en el AOVE.

Compuesto	Sabor (Gusto)
Hidroxitirosol	Amargo
Pinoresinol	Amargo
3,4-DHPEA-EDA	Amargo, ligeramente picante
3,4-DHPEA-EDA-AOD	Amargo
*Descriptores sensoriales basados en la literatura, (Romero y cols., 2016).	

Los principales antioxidantes en AOVE están representados por fenoles lipófilos e hidrófilos, con la presencia de una pequeña cantidad de carotenoides. Los fenoles lipófilos (especialmente los tocoferoles y tocotrienoles) también se pueden encontrar en otros aceites vegetales, en cambio, los fenoles hidrófilos del AOVE no se encuentran en otros aceites y grasas y representan una clase de metabolitos secundarios de la planta que muestran inusuales propiedades de salud y sensoriales. Los diferentes grupos de compuestos fenólicos hidrofílicos que se pueden encontrar en estos aceites de oliva, son: alcoholes fenólicos, ácidos fenólicos, hidroxí-isocromanos, flavonoides, lignanos y secoiridoides (Servili y cols., 2014).

Los resultados de la determinación de compuestos fenólicos por HPLC y el análisis estadístico, se presenta en la Tabla 5, 6 y 7. La concentración se presenta en mg/Kg de AOVE, para cada uno de los quince compuestos identificados y para fenoles totales, que corresponde a la suma total de todos los compuestos fenólicos identificados en las muestras de aceite. Los quince compuestos identificados corresponden a compuestos derivados del ácido benzoico (Ácido vainílico y vainillina), alcoholes fenólicos (Tirosol e Hidroxitirosol), compuestos secoiridoides (derivados de oleuropeína: Decarboximetil aglicona de la oleuropeína, forma dialdehídica oxidada (3,4 DHPEA-EDA ox), Decarboximetil aglicona de la oleuropeína, forma dialdehídica (3,4 DHPEA-EDA), Aglicona de la oleuropeína, forma dialdehídica (3,4 DHPEA-EDA-AOD), Aglicona de la oleuropeína, forma aldehídica e hidroxílica (3,4-DHPEA-EDA-AOAH) y derivados de ligustrósido: Decarboximetil aglicona del ligustrósido, forma dialdehídica (p-HPEA-EDA), Aglicona del ligustrósido, forma dialdehídica (p-HPEA-EDA-ALD)), flavonoides (Apigenina, Luteolina y Metil luteolina), lignanos (Pinoresinol (mezclado con 1-acetoxipinoresinol) y Ácido elenólico.

Los valores de fenoles totales obtenidos en todos los AOVE analizados fluctúan entre 75 y 797 mg/Kg, correspondiendo la menor y mayor concentración a los aceites 'Arbequina' E6 de la localidad de Molina y 'Koroneiki' E2 del Valle del Limarí, respectivamente. Entre los compuestos destacan el ácido elenólico y los derivados de la oleuropeína y del ligustrósido, los cuales presentaron concentraciones elevadas respecto a los demás compuestos fenólicos identificados. Según Servili y cols. (2014), los compuestos secoiridoides representan la mayor fracción de fenoles hidrofílicos en AOVE. Los compuestos derivados de secoiridoides se generan durante el proceso de extracción mecánica del aceite, en las que actúan las enzimas endógenas beta-glucosidasas de la oliva, (Servili y cols., 2014).

Los alcoholes fenólicos, como Hidroxitirosol (3,4-DHPEA) y Tirosol (p-HPEA), tienen una concentración generalmente baja en aceites recién prensados, pero esto aumenta durante el almacenamiento del aceite. (Servili y cols., 2014); por esta razón, éstos compuestos al ser cuantificados en los AOVE de Molina y Limarí, presentaron bajas concentraciones.

Los fenoles totales presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las dos zonas (latitudes) de cultivo estudiadas, presentando mayor concentración la zona de Limarí para las tres variedades en todos los estados de maduración estudiados, a excepción de 'Arbequina' en E3 que presentó concentración similar de fenoles en ambas latitudes estudiadas. La zona de Limarí presentó menor irrigación ($3881 \text{ m}^3/\text{ha}$) que la zona de Molina ($6174 \text{ m}^3/\text{ha}$) y además menores precipitaciones ($19 \text{ v/s } 391\text{mm}$) para Limarí y Molina, respectivamente, lo que produjo una menor disponibilidad de agua en las olivas de Limarí (Anexo 3, Figura 19). Esta situación, sumada a las mayores temperaturas observadas en la zona de Limarí, representadas por los Días-grados² (Dg) acumulados, llevó a una mayor ETo del cultivo, generando una situación de estrés hídrico y con ello una mayor concentración de fenoles en los AOVE en la zona de Limarí. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en las cosechas anteriores (2011-2012 y 2012-2013) con mayores concentraciones de fenoles totales e individuales en el Valle de Limarí, atribuido a una mayor ETo y una menor irrigación en los olivos del Valle de Limarí comparada con los olivos de Molina (Romero y cols., 2016; Fuentes, 2015; Ortúzar, 2013). El mayor contenido fenólico en cultivos de olivos sometidos a déficit hídrico estaría relacionado a la activación de la enzima PAL, enzima relacionada a la síntesis de fenoles a partir de la fenilalanina (Morelló y cols., 2005). Además, el mayor contenido de agua en las olivas de cultivos irrigados aumenta la solubilización de los compuestos fenólicos (en la pasta

² Días-Grados (Dg): Corresponde a la suma térmica por sobre un umbral o base de temperatura (t) para alcanzar un determinado estado fisiológico (Donoso y Lemus, 2017). Para la oliva la t base es $12,5^\circ\text{C}$.

acuosa) y disminuye la liberación, hacia el aceite, de los compuestos fenólicos unidos a polisacáridos en la pared celular durante las etapas de molienda y la malaxación en el proceso de producción de aceite de oliva (Allalout y cols., 2009; Romero y cols., 2016).

Los resultados obtenidos son avalados por estudios anteriores, los cuales indican que los compuestos fenólicos se ven influenciados por las condiciones ambientales donde se cultivan las olivas (Issaoui y cols., 2013; Youssef y cols., 2012; Arslana y cols., 2013); García-González y cols. (2013) mencionan que los compuestos químicos responsables del sabor (volátiles y fenoles) varían en función de la temperatura y la latitud. Las condiciones de riego también determinan la concentración de este tipo de compuestos, los cuales se ven influenciados de acuerdo a la cantidad de agua adicionada al cultivo. Los estudios de Caruso y cols. (2014); Issaoui y cols. (2013) y Gómez-Rico y cols. (2009) determinaron que un déficit de agua produce una mayor concentración de fenoles en el aceite de oliva; y que estos a su vez disminuyen al aumentar el agua de riego.

De esta manera, según Tabla 4, los aceites originarios del Valle del Limarí, al recibir menos riego, debieran poseer un atributo sensorial “amargo” de mayor intensidad que los aceites de la zona de Molina, conclusión que también fue llevada a cabo por Gómez-Rico (2008b) y Romero y cols. (2016).

En las Tabla 5, 6 y 7 se puede apreciar que de manera general, la mayor diferencia en las concentraciones de los compuestos fenólicos la presentan los compuestos secoiridoides derivados de la oleuropeína y del ligustrósido, los cuales presentan concentraciones significativamente mayores ($p < 0,05$) en los aceite provenientes del Valle del Limarí; destacando los compuestos 3,4-DHPEA-EDA-AOD, 3,4-DHPEA-EDA-AOAH. Estos resultados concuerdan con lo informado por Baccouri y cols. (2008), quienes informaron que los AOV obtenidos de huertos tradicionales de secano tienen un contenido de fenol superiores, en

particular los derivados de hidroxitirosol y compuestos secoiridoides, en comparación con los obtenidos en los huertos irrigados. Además, Gómez-Rico (2008b) plantea que el nivel de estrés hídrico registrado en los olivos está relacionado directamente con el contenido en fenoles complejos del AOV, afectando de manera especial a los derivados secoiridoides del hidroxitirosol (3,4-DHPEA-EDA y 3,4-DHPEA-EA). Por otra parte, ácido elenólico presenta diferencias significativas en algunas muestras ($p < 0,05$) con concentraciones mayores en aceites de la zona de Molina. El compuesto pinorresinol no presentó diferencias significativas entre estados de maduración y zonas de cosecha para una misma variedad ($p > 0,05$). Los compuestos hidroxitirosol y tirosol presentaron concentraciones inferiores a 20 mg/kg en ambas zonas de cosecha, presentando los aceites de 'Koroneiki' Limarí E4, 'Koroneiki' Molina E2 y 'Arbequina' Limarí E2 los mayores valores ($p < 0,05$).

Las concentraciones de compuestos fenólicos totales presentan diferencias significativas entre los tres cultivares estudiados, para muestras que corresponden a un mismo estado de maduración y zona geográfica de cultivo ($p < 0,05$). En las dos zonas de cultivo (Molina y Limarí) la variedad Koroneiki presenta la mayor concentración de fenoles totales (Tabla 5, 6 y 7), y en ciertos estados de maduración, la variedad que le sigue es Arbosana y en último lugar quien presenta la menor concentración de fenoles totales es la variedad Arbequina (Figura 7). Solo en E3, en las dos áreas geográficas estudiadas, las concentraciones resultantes de las tres variedades no presentan diferencias significativas ($p > 0,05$). Estos resultados muestran que la concentración de fenoles presentes el AOVE se ve influenciado por la variedad y concuerdan con resultados reportados en otros estudios (Romero, 2014; Allalout y cols., 2011; Dabbou y cols., 2009). Estos dos últimos autores presentaron una tendencia similar en el contenido fenólico para estas variedades, reportando una mayor concentración para la variedad Koroneiki y una menor concentración para 'Arbequina'. La diferencia presentada entre variedades se debe a que el

contenido en derivados secoiridoides de un AOV depende de la actividad de enzimas presentes en el fruto (ej. β -glucosidasa), las cuales presentan un marcado carácter varietal, (Gómez-Rico, 2008b).

Finalmente, se observan diferencias significativas entre estados de maduración ($p < 0,05$) en todas las variedades en ambas zonas geográficas. Se observa que la mayor concentración de fenoles totales se presenta en el E2, (el cual es el estado de maduración más verde estudiado), en la mayoría de las variedades y zonas de cultivo estudiadas. También se observa que la concentración de fenoles totales disminuye en los últimos estados de maduración (E6 y E7). Sin embargo, no se identifica una tendencia clara entre todos los estados, ya que, en cada variedad y zona de cultivo se presentan distintos comportamientos. Diferentes autores observaron que los niveles de fenoles totales se ven influenciados de acuerdo a la maduración de la oliva, en algunos casos había un aumento de la concentración de fenoles en los primeros estados pero luego disminuía drásticamente en los siguientes estados de maduración y en otros simplemente había una disminución a lo largo de la maduración del fruto, (Camposeo y cols., (2013); Benito y cols., (2013); Benito y cols., (2012) y Romero y cols. (2003)).

En cuanto a los resultados de cada uno de los compuestos, en las Tablas 5, 6 y 7 se puede ver que el compuesto ácido elenólico es el que más influye en las diferencias significativas de los fenoles totales, entre estados de maduración, seguido de los compuestos derivados de la oleuropeína y del ligustrósido. Los compuestos 3,4-DHPEA-EDA; 3,4-DHPEA-EDA-AOD; 3,4-HPEA-EDA-AOAH y p-HPEA-EDA en general presentaron mayores concentraciones ($p < 0,05$) en los estados de maduración más verdes, las que fueron disminuyendo mientras el estado de maduración de la oliva aumentó. La disminución del contenido de compuestos secoiridoides se explicaría por la acción de las enzimas esterases del fruto, las cuales hidrolizarían el enlace ester de la oleuropeína, liberando un alcohol fenólico y el ácido elenólico (Ayton et al., 2007).

La tendencia a la disminución de compuestos secoiridoides a través de la maduración también se reportó en estudios de cosechas anteriores (Romero y cols., 2016; Fuentes, 2015; Ortúzar, 2013).

La menor concentración de compuestos secoiridoides en frutos más maduros produciría aceites de oliva virgen menos amargos y picantes que aquellos extraídos de olivas más verdes, por el contrario, una alta concentración de derivados secoiridoides hará que el aceite sea más intenso en estos descriptores sensoriales (Tabla 4), (Romero y cols., 2016; Fuentes, 2015).

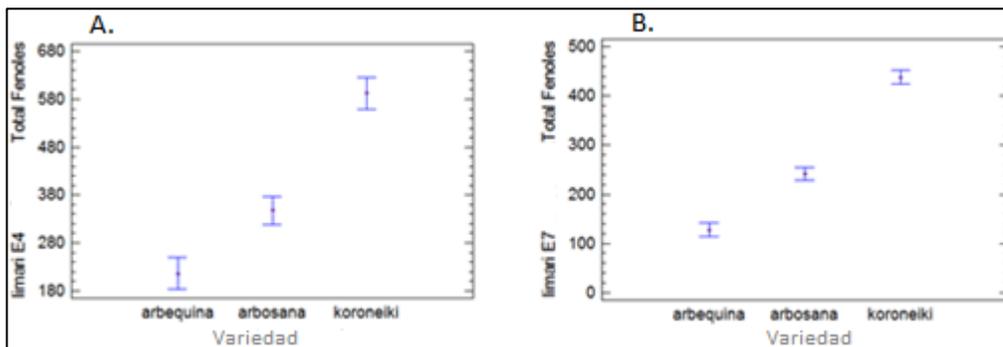


Figura 7. Gráficos de medias, que presentan las diferencias significativas ($p < 0,05$) entre variedades (Arbequina, Arbosana y Koroneiki), en E4 (A) y E7 (B) en Limarí.

Tabla 5. Concentración de compuestos fenólicos (mg/Kg), correspondientes a muestras de la variedad Koroneiki, zonas de cultivo Molina y Limarí, en sus diferentes estados de maduración (E). Incluye resultados de análisis estadístico ANOVA.

KORONEIKI		Limarí					
		E2	E3	E4	E5	E6	E7
Compuestos	Ácido elenólico	135,42±12,45aA	85,34±34,56abcA	114,29±37,41abA	61,15±17,88cA	72,33±10,83bc	62,17±4,76c
	Hidroxitirosol	7,01±2,74abA	2,3±0,69aA	13,21±8,23bA	3,38±0,34aA	4,62±3,52ab	2,01±0,52a
	Tirosol	4,66±1,34aA	4,41±1,91aA	10,29±6,81aA	4,96±0,47aA	6,97±2,94a	5,51±0,32a
	Ácido vainílico	0,25±0,02aA	0,24±0,05aA	0,53±0,15bA	0,58±0,05bA	0,68±0,16b	0,53±0,11b
	Vainillina	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	3,4 DHPEA-EDA*	170,8±9,73aA	27,7±3,02bA	39,59±8bA	29,41±4,31bA	26,41±5,01b	55,33±3,23c
	3,4 DHPEA-EDAox*	16,95±0,85aA	0,76±1,53bA	0±0b	0±0bA	0±0b	0±0b
	3,4 DHPEA-EDA-AOD*	90,96±4,07aA	37,49±11,5bA	193,49±24,51cA	99,68±10,99aA	165,89±34,78c	120,33±10,52a
	p-HPEA-EDA*	127,82±7,89aA	80,86±21,07bA	38,27±5,3cA	29,06±7,79cA	19,61±4,42c	35,75±2,55c
	Pinosresinol	8,81±0,16aA	9,56±1,14aA	14,03±3,47bA	10,93±0,92abA	8,61±0,88a	9,67±0,39a
	p-HPEA-EDA-ALD*	1,61±0,25aA	1,54±1,54aA	4,84±2,12aA	1,67±0,27aA	2,03±3,61a	1,56±0,44a
	3,4 DHPEA-EDA-AOAH*	229,54±15,1aA	116,56±19,01bA	147,29±33,47bA	124,54±5bA	108,54±6,93b	127,57±15,58b
	Luteolina	2,45±0,09aA	5,65±3,73aA	10,1±0,4bA	14,04±1,35bcA	16,37±1,46c	11,87±1,48b
	Apigenina	1,03±0,08aA	5,71±4,71aA	5,22±3,47aA	5,56±0,38aA	4,7±0,45a	4,2±0,45a
Metil luteolina	0,38±0,02aA	0,97±0,24bA	1,52±0,08dA	1,77±0,19dA	1,07±0,2bc	1,45±0,21cd	
Fonoles Totales		797,69±24,25aA1	379,1±51,81bA1	592,66±19,45cA1	386,75±21,96bA1	437,84±46,57b1	437,95±23,06b1
		Molina					
Compuestos	Ácido elenólico	152,83±20,7aA	56,15±24,26bA	104,48±18,17cA	116,59±10,67acB		
	Hidroxitirosol	13,57±8,12aA	2,29±1,19bA	2,83±0,74bB	6,86±0,77abB		
	Tirosol	27,76±13,34aB	2,11±0,61bA	3,4±0,99bA	9,41±4,72bA		
	Ácido vainílico	0,58±0,14aB	0,39±0,1abB	0,27±0bB	0,37±0,1bB		
	Vainillina	0±0	0±0	0±0	0±0		
	3,4 DHPEA-EDA*	9,87±3,8aB	25,21±6,45abA	31,47±3,53bA	24,79±17,81abA		
	3,4 DHPEA-EDAox*	0±0aB	1,46±2aA	0±0a	1,57±1,55aA		
	3,4 DHPEA-EDA-AOD*	13,45±4,3aB	39,18±31,52aA	52,39±16,12aB	26,96±28,77aB		
	p-HPEA-EDA*	28,39±15,27aB	31,42±4,91aB	30,45±3,43aB	29,85±2,35aA		
	Pinosresinol	10,49±1,68aA	11,07±0,78aA	9,65±0,8aB	10,81±0,65aA		
	p-HPEA-EDA-ALD*	0,51±0,06aB	0,79±0,2aA	0,77±0,24aB	1,24±0,9aA		
	3,4 DHPEA-EDA-AOAH*	32,09±20,82aB	55,09±24,97aB	54,79±8,75aB	37,39±17,68aB		
	Luteolina	5,81±0,75aB	4,79±1,14aA	8,68±0,46bB	11,23±1,11cB		
	Apigenina	2,67±0,53aB	3,35±0,83aA	4,19±0,48aA	5,75±1bA		
Metil luteolina	1,45±0,06aB	1,41±0,06aB	1,7±0,02bB	2,04±0,18cA			
Fonoles Totales		299,47±82,03aB1	234,72±83,69aB1	305,07±29,57aB1	284,86±62,86aB1		
a, b, c, d: diferencias significativas (p<0,05) entre estados de maduración para una misma zona geográfica							
A, B: diferencias significativas (p<0,05) entre zonas geográficas para un mismo estado de maduración							
1,2,3: diferencias significativas (p<0,05) entre variedades para un mismo estado de maduración y una misma zona geográfica (comparar con tabla de 'Arbequina' y 'Arbosana')							
*Ver abreviaturas en pág. X							

Tabla 6. Concentración de compuestos fenólicos (mg/Kg), correspondientes a muestras de la variedad Arbosana, zonas de cultivo Molina y Limarí, en sus diferentes estados de maduración (E). Incluye resultados de análisis estadístico ANOVA.

ARBOSANA		Limarí					
		E2	E3	E4	E5	E6	E7
Compuestos	Ácido elenólico	112,25±10,3aA	65,02±10,92bA	43,09±5,6c	32,51±6,54c	34,81±10,49c	26,82±4,41c
	Hidroxitirosol	5,73±4,11aA	1,88±0,43bA	1,79±0,59b	3,47±0,71ab	1,27±0,37b	0,95±0,05b
	Tirosol	2,27±1,27aA	1,33±0,2bA	2,05±0,27ab	2,35±0,29a	1,93±0,12ab	1,6±0,17ab
	Ácido vainílico	0,75±0,15aA	0,38±0,06cA	0,32±0,03c	0,64±0,11ab	0,69±0,07a	0,46±0,04bc
	Vainillina	0,01±0,01	0,01±0	0,01±0,01	0,01±0	0,01±0	0,01±0
	3,4 DHPEA-EDA*	71,84±11,06aA	91,95±6,91abA	140,94±23,88c	113,23±9,88bc	78,81±26,53ab	88±8,81ab
	3,4 DHPEA-EDAox*	1,9±3,8aA	3,28±3,79aA	4,37±0,66a	5,23±0,83a	3,17±0,86a	1,77±2,05a
	3,4 DHPEA-EDA-AOD*	112,6±38,54aA	30,26±4,38bA	13,99±2,13b	30,29±4,2b	14,81±3,51b	8,5±2,44b
	p-HPEA-EDA*	24,58±9,76aA	30,27±7,99abA	33,93±7,57ab	46,8±5,46b	36,71±11,71ab	34,48±2,36ab
	Pinoresinol	23,41±1,92aA	22,43±1,26aA	22,13±3,36a	23,93±2,06a	23,12±1,15a	21,33±0,79a
	p-HPEA-EDA-ALD*	3,58±1,8aA	7,5±0,36bA	5,75±1,79ab	6,1±0,87ab	6,65±1,38b	7,72±0,35b
	3,4 DHPEA-EDA-AOAH*	97,25±20,12aA	50,56±8,82bA	47,38±7,08b	44,24±4,16b	36,59±7,18b	29,3±1,19b
	Luteolina	7±0,53aA	11,37±0,58aA	13,47±10,58a	8,47±0,49a	13,83±12,81a	8,64±0,38a
Apigenina	10,19±1,45aA	16,09±1,82aA	17,09±14,13a	12,82±1,01a	15,14±1,33a	10,93±0,79a	
Metil luteolina	1,29±0,22aA	1,2±0,08aA	1,85±1,55a	0,99±0,04a	1,48±0,17a	1,31±0,13a	
Fenoles Totales		474,64±62,09aA2	333,53±35,09bA1	348,15±46,88b2	331,06±24,94bc1	269,02±38,17bc2	241,82±17,61c2
		Molina					
Compuestos	Ácido elenólico	169,88±85,5aA	178,77±46,38aB				
	Hidroxitirosol	0,49±0,17aB	0,13±0,04bB				
	Tirosol	3,8±2,17aA	3,02±0,37aB				
	Ácido vainílico	0,58±0,18aA	0,38±0,24aA				
	Vainillina	0±0	0,09±0,17				
	3,4 DHPEA-EDA*	0±0aB	0,16±0,32aB				
	3,4 DHPEA-EDAox*	0±0A	0±0A				
	3,4 DHPEA-EDA-AOD*	0±0B	0±0B				
	p-HPEA-EDA*	19,27±6,29aA	16,58±1,94aB				
	Pinoresinol	20,57±0,56aB	17,79±2,68aB				
	p-HPEA-EDA-ALD*	3,62±1,79aA	2,92±0,41aB				
	3,4 DHPEA-EDA-AOAH*	7,02±7,64aB	1,5±1,03aB				
	Luteolina	9,35±5,47aA	7,79±1,18aB				
Apigenina	5,39±1,56aB	6,98±0,93aB					
Metil luteolina	0,93±0,32aA	1,17±0,15aA					
Fenoles Totales		240,92±102,35aB12	237,27±53,27aB1				
<p>a, b, c, d: diferencias significativas (p<0,05) entre estados de maduración para una misma zona geográfica A, B: diferencias significativas (p<0,05) entre zonas geográficas para un mismo estado de maduración 1,2,3: diferencias significativas (p<0,05) entre variedades para un mismo estado de maduración y una misma zona geográfica (comparar con tabla de 'Arbequina' y 'Arbosana') *Ver abreviaturas en pág. X</p>							

Tabla 7. Concentración de compuestos fenólicos (mg/Kg), correspondientes a muestras de la variedad Arbequina, zonas de cultivo Molina y Limarí, en sus diferentes estados de maduración (E). Incluye resultados de análisis estadístico ANOVA.

ARBEQUINA		Limarí					
Estado Maduración	E2	E3	E4	E5	E6	E7	
Compuestos	Ácido elenólico	191,6±60,5aA	104,07±12,09bA	49,72±8,65bcA	48,8±7,91bcA	36,11±12,74cA	35,31±6,61c
	Hidroxitirosol	13,05±9,44aA	11,69±4,53abA	0,81±0,2cA	2,7±1,76bcA	1±0,32cA	0,88±0,16c
	Tirosol	5,07±3,47aA	3,24±1,14abA	1,27±0,33bA	2,19±0,42abA	1,65±0,42bA	0,97±0,2b
	Ácido vainílico	0,76±0,1aA	0,84±0,01aA	0,47±0,09bA	0,39±0,08bcA	0,4±0,07bcA	0,29±0,03c
	Vainillina	0,01±0	0±0	0,01±0	0±0	0,01±0	0,01±0
	3,4 DHPEA-EDA*	64,64±23,23abA	99,72±36,28aA	53,85±12,57abA	85,97±13,24aA	96,77±41,92aA	24,4±5,67b
	3,4 DHPEA-EDAox*	6,77±1,44aA	2,83±3,28abA	1,21±1,55bA	2,01±2,35bA	0,73±1,45bA	0±0b
	3,4 DHPEA-EDA-AOD*	23,8±15,45abA	41,05±18,04aA	10,69±1,56bA	18,54±10,56abA	9,93±3,94bA	3,17±1,3b
	p-HPEA-EDA*	27,1±7,37aA	30,32±8,27aA	17,55±3,81abA	24,69±4,84aA	24,95±5,91aA	10,86±0,41b
	Pinosresinol	14,23±2,47abA	14,7±1,08abA	14,02±0,7abA	13,46±0,71abA	15,84±2,18aA	11,46±0,73b
	p-HPEA-EDA-ALD*	3,42±0,64aA	3,52±3,03aA	3,92±0,81aA	3,42±0,93aA	2,06±0,61aA	0,86±0,04a
	3,4 DHPEA-EDA-AOAH*	68,69±23,19aA	49,08±5,84abA	40,47±3,54bcA	41,06±11,33bcA	36,29±5,66bcA	21,34±0,48c
	Luteolina	4,42±1,37aA	10,68±1,46bA	13,96±1,49cdA	15,06±0,93dA	11,96±1,38bcA	12,36±0,4bc
	Apigenina	1,3±0,34aA	3,53±0,36bcA	5,34±1,23dA	3,74±0,57bcdA	5,12±1,02cdA	3,27±0,1b
Metil luteolina	1,66±0,48aA	2,51±0,25bcA	2,72±0,19cA	2,42±0,08bcA	2,03±0,19abA	2,7±0,11c	
Fenoles Totales	426,52±116,14aA2	377,77±45,91abA1	216,01±23,32cdA3	264,46±38,43bcA2	244,85±60,09bcdA2	127,88±3,4d3	
		Molina					
Compuestos	Ácido elenólico	80,8±22,28aB	168,9±30,5bB	76,12±20,73acA	86,86±25,36aB	30,58±6,26cA	
	Hidroxitirosol	1,35±0,95aB	2,04±0,43aB	1,39±0,84aA	1,23±2,04aA	0,09±0,03aB	
	Tirosol	8,04±2,31aA	1,45±0,33bB	1,84±0,23bB	1,74±1,63bA	0,56±0,16bB	
	Ácido vainílico	0,4±0,09aB	0,46±0,04aB	0,37±0,06aA	0,38±0,11aA	0,11±0,02bB	
	Vainillina	0±0	0±0	0±0	0,01±0	0±0	
	3,4 DHPEA-EDA*	1,41±1,67aB	41,11±8,19bB	24,11±16,71abB	12,18±22,19aB	0,64±0,01aB	
	3,4 DHPEA-EDAox*	0±0aB	4,07±0,45bA	0±0aA	0±0aA	0±0aA	
	3,4 DHPEA-EDA-AOD*	0±0aB	17,26±2,23bB	2,4±1,29aB	1,95±2,37aB	0±0aB	
	p-HPEA-EDA*	17,56±2,84abA	24,19±3,77aA	24,04±7,61aA	11,86±1,19bB	17,47±3,8abA	
	Pinosresinol	13,74±0,99abA	14,09±3,39abA	14,92±0,94bA	14,28±0,96abA	10,92±0,11aB	
	p-HPEA-EDA-ALD*	1,03±0,43aB	0,93±0,22aA	2,32±0,5bB	1,46±0,32aB	0,81±0,02aB	
	3,4 DHPEA-EDA-AOAH*	5,62±3,91aB	34,03±6,22bB	12,21±4,27aB	4,25±6,01aB	2,67±1,02aB	
	Luteolina	3,02±0,85aA	7,05±1,31bB	7,38±1,31bB	8,43±0,91bB	6,53±0,53bB	
	Apigenina	0,99±0,18aA	2,14±0,23abB	2,32±0,27bB	4,32±1,05cA	2,95±0,41bB	
Metil luteolina	1,31±0,22aA	1,76±0,34abB	1,65±0,37aB	1,51±0,2aB	2,32±0,07bB		
Fenoles Totales	135,27±28,18abB2	319,47±37,28cA1	171,06±28,37bB2	150,45±59,1abB2	75,66±8,49aB		

a, b, c, d: diferencias significativas (p<0,05) entre estados de maduración para una misma zona geográfica
A, B: diferencias significativas (p<0,05) entre zonas geográficas para un mismo estado de maduración
1,2,3: diferencias significativas (p<0,05) entre variedades para un mismo estado de maduración y una misma zona geográfica (comparar con tabla de 'Arbequina' y 'Arbosana')
*Ver abreviaturas en pág. X

4.4 Compuestos Volátiles

Los compuestos volátiles, son compuestos de bajo peso molecular y se vaporizan a temperatura ambiente; estos compuestos pueden alcanzar el epitelio olfativo de los consumidores, dando una sensación de olor (Kalua y cols., 2007), por tanto contribuyen directamente en el aroma del producto.

Los compuestos volátiles perceptibles por parte del consumidor influyen grandemente en la calidad del aceite de oliva. Éstos compuestos pueden diferenciarse en dos grupos, el primer grupo asociado a los atributos positivos del aceite, los cuales provienen de la oxidación de los ácidos grasos a través de la ruta de la LOX (enzimas propias del fruto); el otro grupo se produce por oxidación química con enzimas exógenas provenientes de actividad microbiana, a estos últimos compuestos volátiles se les atribuye atributos sensoriales negativos del aceite, (Kalua y cols., 2007).

El aroma positivo del aceite de oliva se atribuye a aldehídos, ésteres, alcoholes, cetonas e hidrocarburos, (Kalua y cols., 2007). Este tipo de compuestos, son los que se identifican en los aceites de oliva virgen extra (AOVE) estudiados. Las Tablas 8 al 10 muestran los 41 compuestos volátiles identificados para cada una de las variedades y zonas estudiadas junto con sus concentraciones ($\bar{X} \pm DE$). La concentración de volátiles se presenta en mg por kilogramo de AOVE.

Los aceites de las variedades Koroneiki E2 y E4 y Arbequina E2, de la localidad de Molina, junto con 'Arbequina' E4 de la localidad de Limarí presentaron una elevada concentración de etanol en comparación a la concentración de los demás compuestos volátiles presentes en el aceite, lo que aumentó directamente la concentración de volátiles totales en estas muestras (Figura 11). Según (Conte y cols., 2014) el etanol se puede producir por fermentación durante el proceso de extracción y almacenamiento del AOV; además se ha asociado a un proceso fermentativo debido a la contaminación microbiana de las aceitunas, (Morales y cols., 2005). Sin embargo, el etanol también se puede producir por la acción de

enzimas endógenas del fruto como ADH, la cual actúa a través de la maduración provocando en la fruta un ligero aumento en la concentración de etanol al principio de la maduración y luego genera un rápido aumento del compuesto a través de esta (Beltrán y cols, 2015). Por el contrario, un estudio llevado a cabo por Salas y Sánchez (1998), indica que la enzima ADH aumenta su actividad desde la semana 13 después de la floración hasta la semana 25, donde los frutos aún están verdes, disminuyendo su actividad a lo largo de la maduración del fruto; Este comportamiento explicaría los elevados niveles de etanol en los AOVE 'Koroneiki' y 'Arbequina' en los estados iniciales de maduración, observándose una tendencia a la disminución de este compuesto con la maduración de las olivas en todos los aceites. Debido a su elevado umbral de olor (30 mg/kg), el etanol no muestra significación sensorial en los aceites analizados (Morales y cols., 2005). Con el objeto de facilitar el análisis de los resultados, el etanol no será considerado para evitar distorsiones en la comprensión de los resultados.

De manera general los compuestos volátiles que se destacan en los AOVE analizados son hexanal, E-2 hexenal y hexanol, los que en conjunto representan más del 50% de la concentración total de compuestos volátiles. Estos resultados concuerdan con estudios anteriores realizados en aceite de oliva (Kalua y cols., 2007; Sanchez-Ortiz y cols., 2012; Salas y cols., 2013), en los cuales los compuestos aldehídos de 6 carbonos, los alcoholes y sus correspondientes esterres son los compuestos más importantes en el AOV. Estos compuestos volátiles se forman por un sistema de reacciones bioquímicas llamada la ruta de la LOX, (Kalua y cols., 2007), que se produce durante la trituración de la fruta y batido de la pasta de aceitunas incorporándose a la fase oleosa, (Sánchez y Harwood, 2002). El contenido de compuestos de seis átomos de carbono resulta ser muy importante en la definición de los atributos positivos del aceite (Procida y cols., 2016).

En la localidad de Limarí, las tres variedades muestran un patrón similar, donde el compuesto hexanal en todos los estados de maduración se muestra en mayor concentración que el compuesto hexanol, (Figura 12, 13 y 14), y estos a su vez presentan una concentración bastante mayor que la del compuesto hexil acetato, el cual alcanzó un máximo de 0,168 mg/kg en las muestras estudiadas (Tabla 8 a 10). Estos resultados se asemejan a los presentados por Sanchez-Ortiz en 'Arbequina' y 'Picual' cultivadas en España, los autores señalan la posibilidad de un cuello de botella en la ruta de la LOX para la síntesis de ésteres de importancia sensorial (Sanchez-Ortiz y cols, 2012). Debido a lo anterior los compuestos que predominan en casi la totalidad de las muestras son los aldehídicos (Figura 15, 16 y 17). Resultados similares se presentaron en un análisis de la variedad Gemlik (Kiralán y cols., 2012).

El análisis estadístico de los tres compuestos predominantes en las muestras (hexanal, E-2 hexenal y hexanol) dio como resultado diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las localidades estudiadas (Molina y Limarí), Figura 8, 9 y 10. Los resultados se presentan en la Tabla 8 a la 10, donde se aprecia que los compuestos en la mayoría de las muestras presentan mayor concentración en la zona de Molina. La variedad Koroneiki, por ejemplo, en los estados de maduración 2 al 5 presenta concentraciones significativamente mayores en Molina que en Limarí para estos compuestos ($p < 0,05$). En 'Arbequina' y 'Arbosana' se observa la misma tendencia de manera leve, (Tabla 9 y 10; Figura 13 y 14). La variación en los niveles de aldehídos y alcoholes C₆ para muestras de aceite de diferentes regiones implica que las condiciones ambientales de crecimiento pueden influir en la actividad de la enzima ADH, (Kalua y cols., 2007). Además los compuestos químicos relacionados con el flavor dentro de los cuales están los volátiles varían en función de la temperatura y la latitud, (Romero y cols., 2016). También las distintas concentraciones de estos compuestos entre las zonas estudiadas podría deberse a las diferencias en el manejo del riego en los cultivos y la ausencia de precipitaciones en la zona de Limarí, aunque según

Romero y cols. (2016), la diferencia parece verse afectada más por la temperatura máxima que por la ETo y el riego. Gómez-Rico y cols. (2006), informaron que las concentraciones de los principales compuestos volátiles fueron más altas en los aceites producidos bajo condiciones de riego, lo que concuerda con los resultados obtenidos, ya que, la localidad de Molina recibió una mayor cantidad de agua de riego junto con una mayor cantidad de precipitación comparado con la localidad del Valle de Limarí (Anexo 3, Tabla 12, Figura 19), lo anterior también se reafirma con resultados de otro autor donde relaciona de manera inversa, el nivel de estrés hídrico registrado en los olivos con la cantidad de aldehídos C₆ y alcoholes C₆ cuantificados en el producto, lo que a su vez hace concluir que el riego permite acentuar las notas sensoriales “verdes” y “frutadas” del AOV, disminuyendo la intensidad del atributo sensorial “amargo”, (Gómez-Rico, 2008b). Por otra parte, un estudio llevado a cabo en Túnez para aceite de la variedad Chétoui, relacionó los compuestos volátiles principalmente con las condiciones del área de cultivo más que con las condiciones de gestión de riego (Issaoui y cols., 2013). Caruso y cols. (2014) no encontraron relación entre la disponibilidad de agua y los compuestos volátiles en un aceite ‘Frantoio’. La respuesta de las concentraciones de compuestos volátiles al riego es compleja y variable; se ha demostrado ser dependiente de cultivar y las condiciones ambientales, lo que en parte puede explicar algunas discrepancias existentes en la literatura, (Romero y cols., 2016).

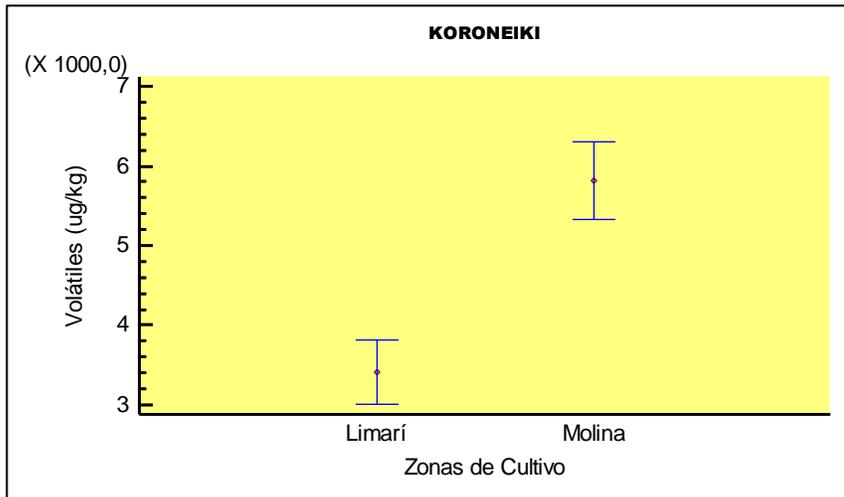


Figura 8. Promedios de los principales compuestos volátiles encontrados en aceite de oliva (Hexanal, E-2-hexenal y Hexanol) correspondientes a la variedad Koroneiki. El gráfico muestra las diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre las dos zonas de cultivo estudiadas (Limarí y Molina).

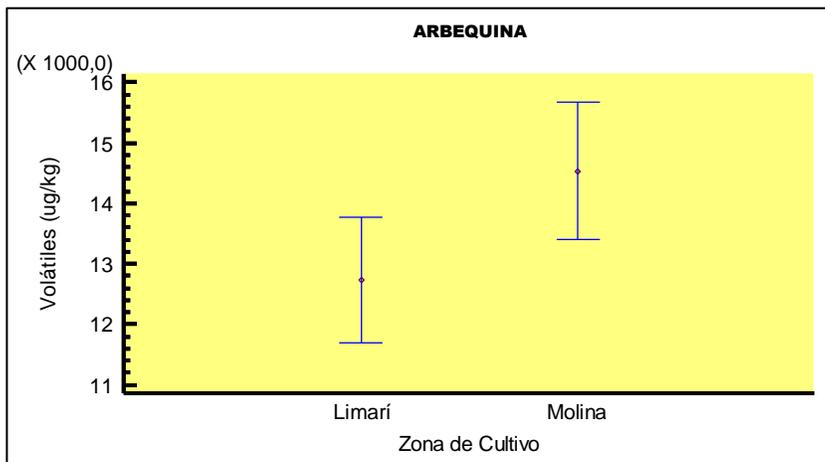


Figura 9. Promedios de los principales compuestos volátiles encontrados en aceite de oliva (Hexanal, E-2-hexenal y Hexanol) correspondientes a la variedad Arbequina. El gráfico muestra que no existen diferencias significativas ($p \geq 0,05$) entre las dos zonas de cultivo estudiadas (Limarí y Molina).

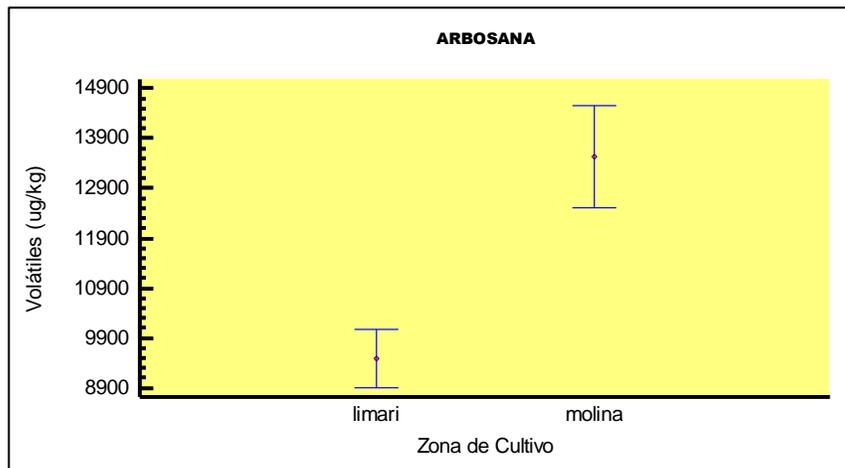


Figura 10. Promedios de los principales compuestos volátiles encontrados en aceite de oliva (Hexanal, E-2-hexenal y Hexanol) correspondientes a la variedad Arbosana. El gráfico muestra las diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre las dos zonas de cultivo estudiadas (Limarí y Molina).

Se observa además, para los compuestos volátiles hexanal, E-2 hexenal y hexanol, diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las variedades estudiadas para una misma área de cultivo y estado de maduración (Tablas 8 a 10). De manera global resultó que los aceites con mayor concentración de compuestos volátiles en la zona del valle del Limarí corresponden a la variedad Arbequina, seguida del cultivar Arbosana mientras que las muestras de aceite con menor concentración de volátiles pertenecen a 'Koroneiki'. Por lo tanto, la concentración de este tipo de compuestos se ve influenciada directamente por el cultivar, resultado que se comparte con estudios publicados (Dabbou y cols., 2009; Luna y cols., 2006). En la zona de Molina las diferencias de concentraciones son más difusas, a pesar de esto, se presentan diferencias significativas en la mayoría de las muestras, en el estado de maduración 4 y 5 se aprecia claramente que la variedad Arbequina presenta significativamente mayor concentración en hexanal, E-2-hexenal y hexanol que la variedad Koroneiki ($p < 0,05$).

Además de las diferencias entre variedades en la concentración de cada uno de los tres compuestos volátiles (hexanal, E-2 hexenal y hexanol), también se puede apreciar en las Figuras 12, 13 y 14 que el tipo de compuesto aldehídico predominante (perfil) difiere de acuerdo a la variedad de la oliva, puesto que para la variedad Koroneiki en las dos localidades, el compuesto predominante es el hexanal; en cambio para la variedad arbequina en la mayoría de los estados sobresale el compuesto E-2-hexenal, lo mismo ocurre con la variedad Arbosana en la zona de Limarí. Este resultado es semejante al de otra investigación (Dabbou y cols., 2009), en la cual se observó que el tipo de compuesto que prevalecía era diferente en cada variedad. Los resultados confirman que la actividad de las enzimas de la ruta de la LOX se encuentra estrechamente asociada a factores genéticos, (Gómez-Rico, 2008b); y reafirma que la variedad de la oliva es uno de los principales factores que determina el perfil de compuestos volátiles de un AOVE.

Por otra parte, el análisis estadístico de los resultados evidenció la existencia de diferencias significativas entre estados de maduración para una misma variedad y zona de cultivo, (Tablas 8 a 10). Los resultados para los tres compuestos volátiles predominantes (hexanal, E-2 hexenal y hexanol) muestran una tendencia, aunque no muy marcada, al aumento de la concentración de estos compuestos volátiles a medida que el estado de maduración de la oliva avanza. En la mayoría de las muestras estudiadas la concentración de cada uno de los tres compuestos fue la más baja en el E2, equivalentes a las aceitunas verdes. Aunque en ciertas muestras la tendencia no es clara el estudio muestra una tendencia al aumento de la concentración de estos tres compuestos volátiles hasta el E4 o E5 de para luego disminuir o mantenerse en E6 y E7. Esta misma tendencia se ha reportado en los estudios de Gómez-Rico y cols. (2006), Angerosa (2002) y Aparicio y Morales (1998), en los cuales se ha observado que durante la maduración de las olivas la cantidad de compuestos volátiles generalmente aumenta hasta una concentración máxima, que se produce cuando

el color de la piel de la fruta se vuelve de color amarillo-verde a púrpura; más allá de ese punto, el contenido de volátiles disminuye. Por otra parte en la variedad Arbosana en la zona de Molina no se puede determinar alguna tendencia ya que solo se tienen dos estados de maduración para los cuales no se presentan diferencias significativas salvo en el compuesto hexanol.

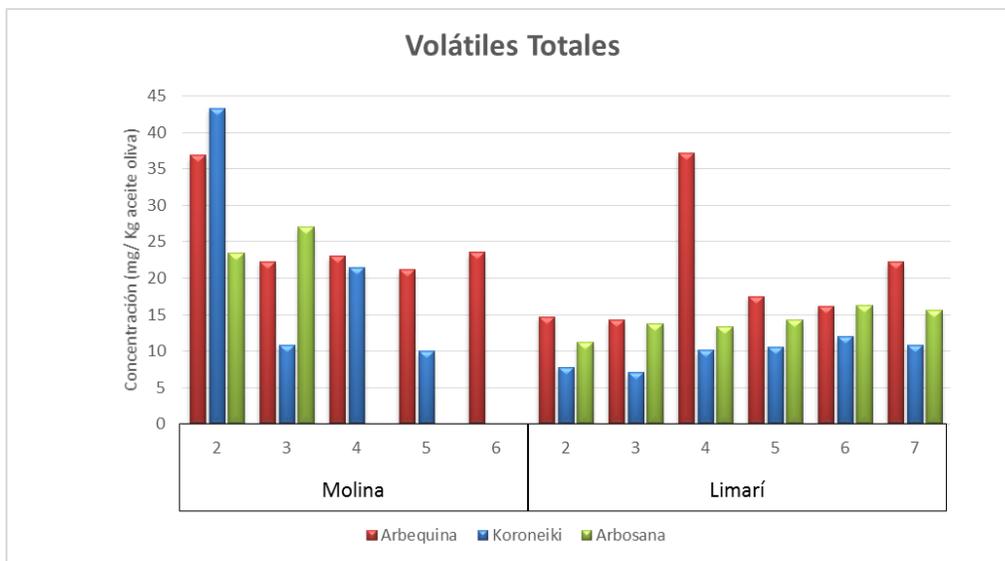


Figura 11. Concentración de compuestos volátiles totales (mg/Kg) presentes en AOVE de las variedades Koroneiki, Arbequina y Arbosana para cada estado de maduración (2-7) y áreas de cultivo: Molina y Limarí.

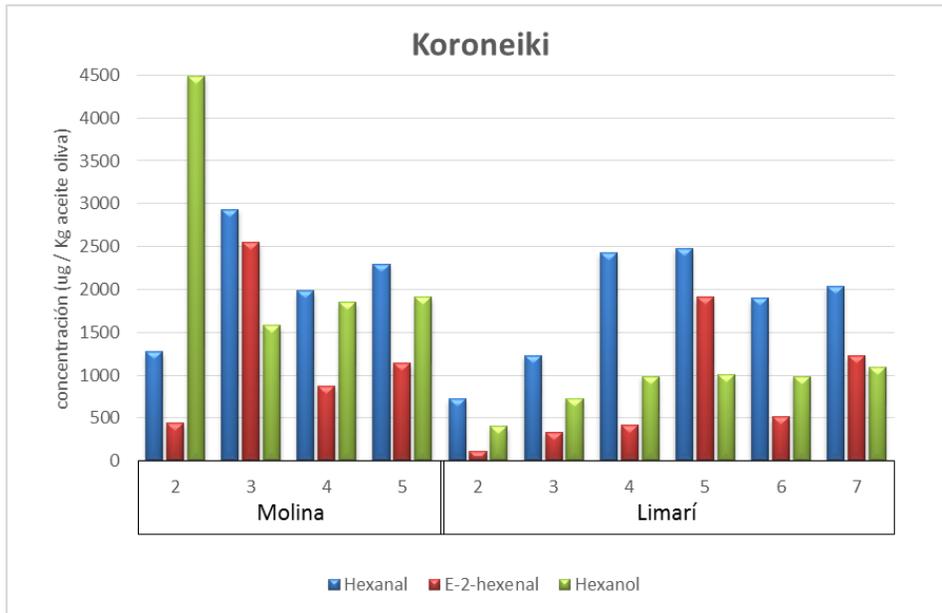


Figura 12. Concentración de hexanal, E-2 hexenal y hexanol (ug/Kg) en aceite de oliva extra virgen de la variedad Koroneiki para cada estado de maduración (2-7) y áreas de cultivo: Molina y Limarí.

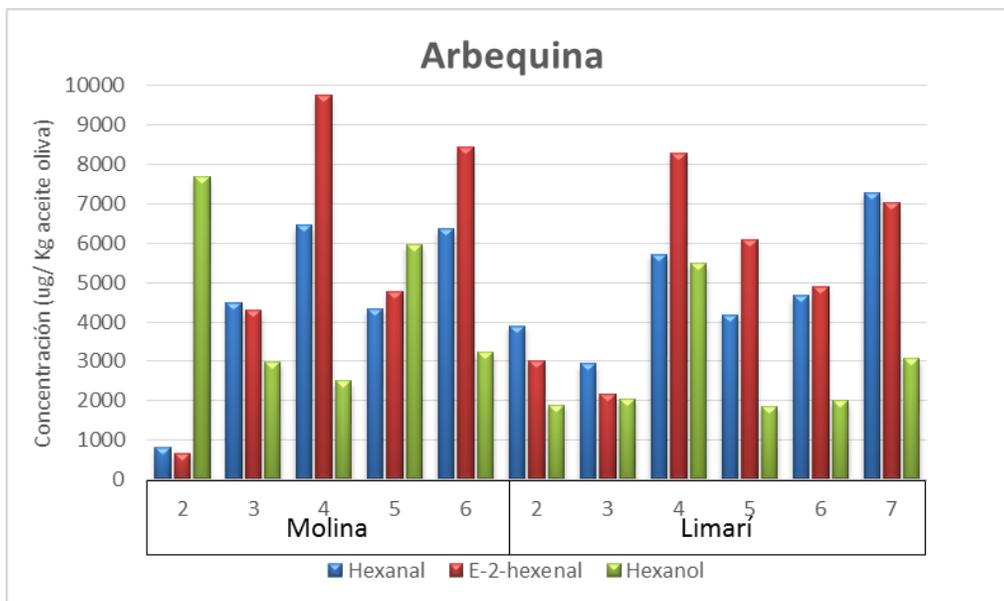


Figura 13. Concentración de hexanal, E-2 hexenal y hexanol (ug/Kg) en aceite de oliva extra virgen de la variedad Arbequina para cada estado de maduración (2-7) y áreas de cultivo: Molina y Limarí.

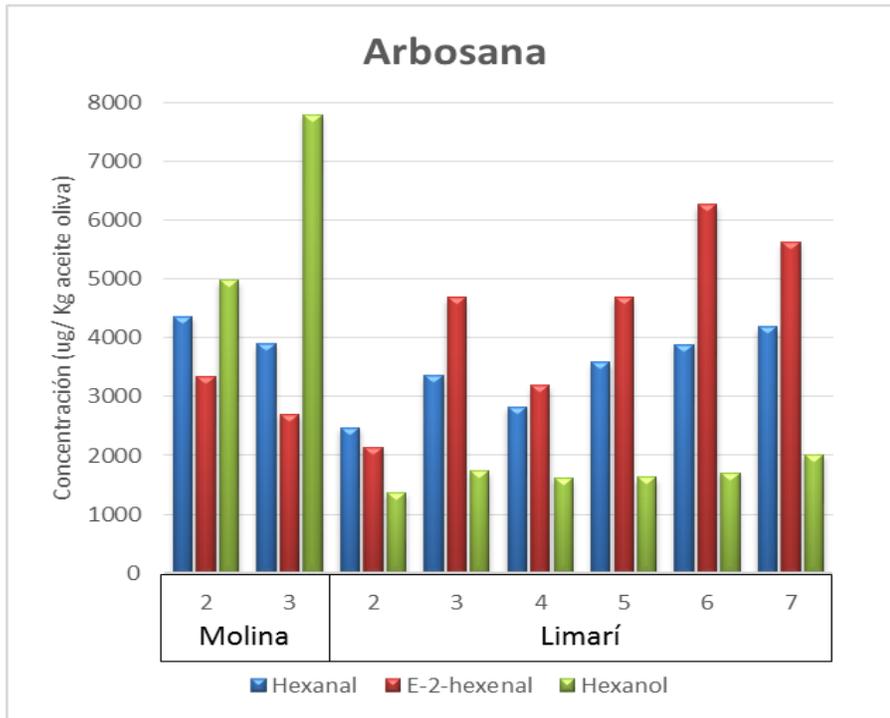


Figura 14. Concentración de hexanal, E-2 hexenal y hexanol (ug/Kg) en aceite de oliva extra virgen de la variedad Arbosana para cada estado de maduración (2-7) y áreas de cultivo: Molina y Limarí.

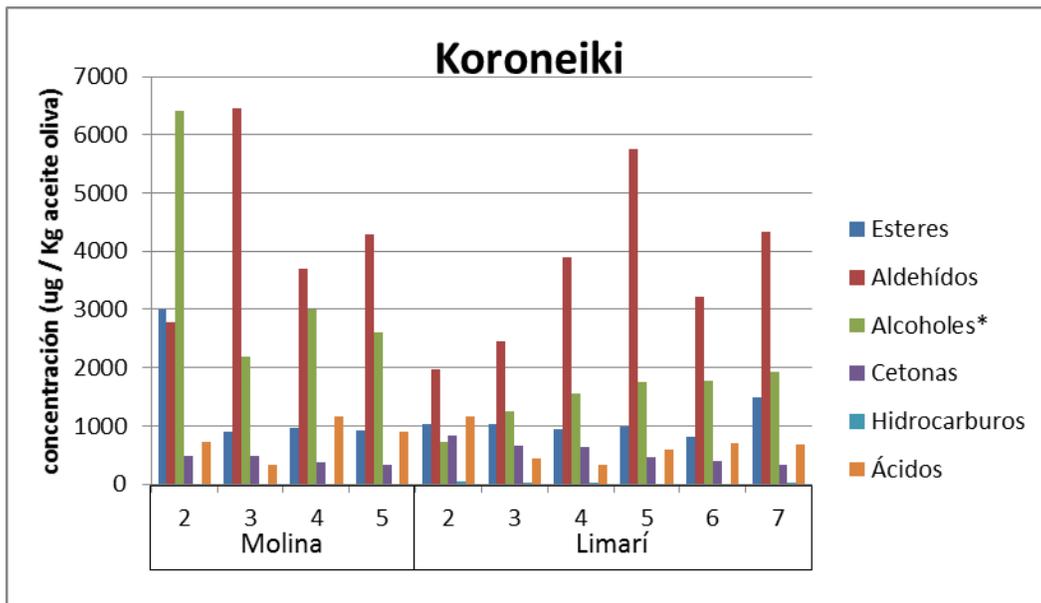


Figura 15. Concentración de aldehídos, esteres, alcoholes (* sin considerar etanol), cetonas, hidrocarburos y ácidos (ug/Kg) en aceite de oliva extra virgen de la variedad Koroneiki para cada estado de maduración (2-7) y áreas de cultivo: Molina y Limarí.

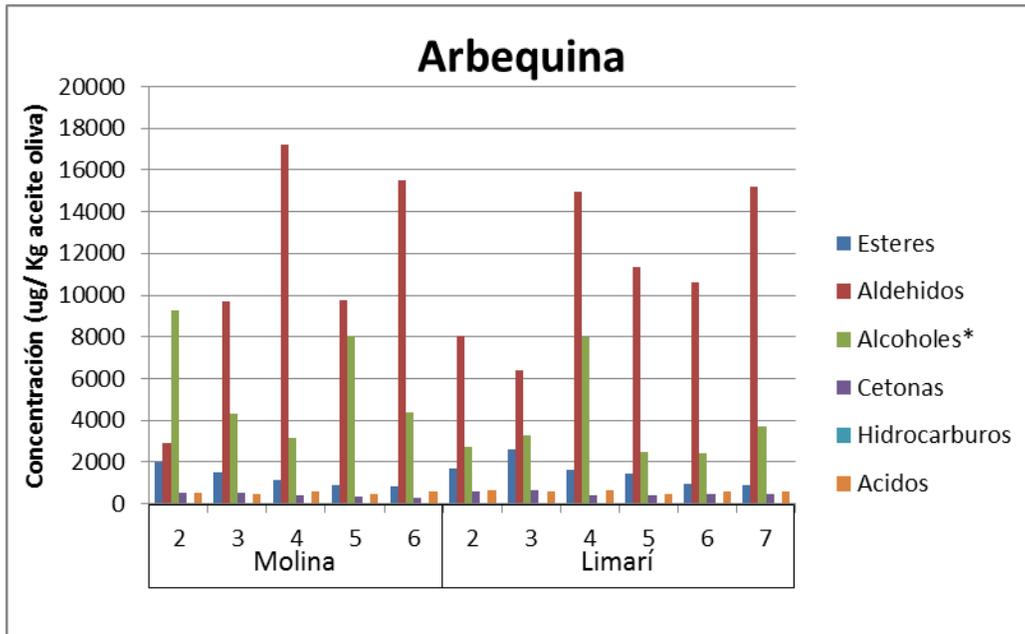


Figura 16. Concentración de aldehídos, esterés, alcoholes (*sin considerar etanol), cetonas, hidrocarburos y ácidos (ug/Kg) en aceite de oliva extra virgen de la variedad Arbequina para cada estado de maduración (2-7) y áreas de cultivo: Molina y Limarí.

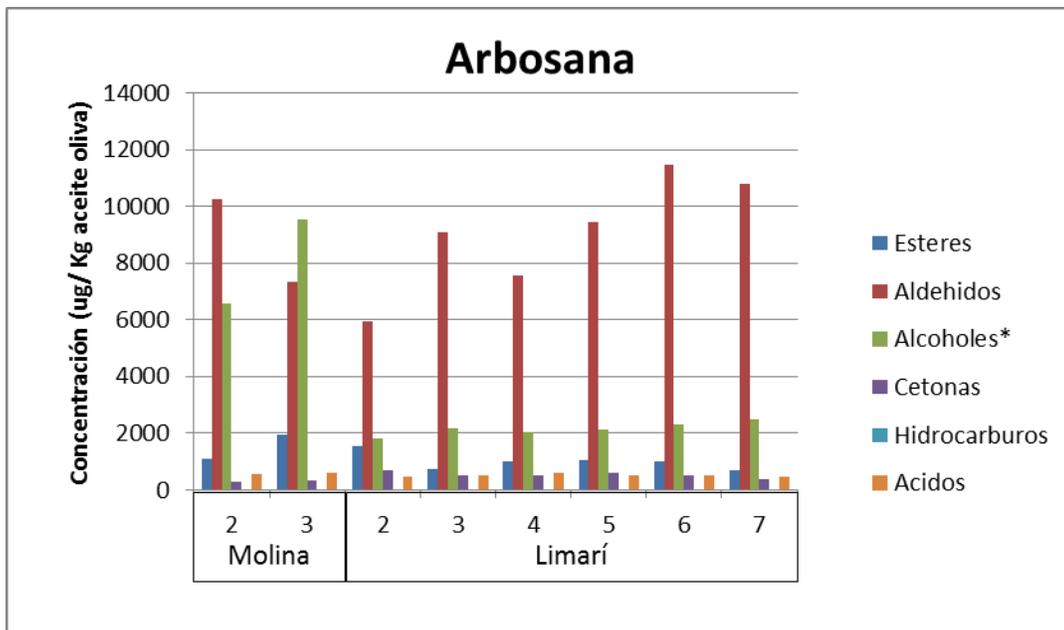


Figura 17. Concentración de aldehídos, esterés, alcoholes (*sin considerar etanol), cetonas, hidrocarburos y ácidos (ug/Kg) en aceite de oliva extra virgen de la variedad Arbosana para cada estado de maduración (2-7) y áreas de cultivo: Molina y Limarí

Tabla 8. Concentración de compuestos volátiles (mg/Kg) en AOVE variedad Koroneiki, localidad de Limarí y Molina en diferentes estados de maduración. Incluye resultados de análisis estadístico ANOVA. (1° PARTE)

KORONEIKI		Limarí					Molina				
		E2	E3	E4	E5	E6	E7	E2	E3	E4	E5
Compuestos	Heptano	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	Octano	0,042±0,008	0,031±0,027	0,014±0,024	0±0	0±0	0,007±0,012	0±0	0±0	0±0	0±0
	Metilacetato	0,069±0,029	0,045±0,015	0,012±0,02	0±0	0±0	0,005±0,009	0±0	0±0	0±0	0±0
	E-2-octeno	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	Acetato de etilo	0,929±0,178	0,827±0,344	0,7±0,124	0,865±0,092	0,641±0,107	1,427±0,315	2,934±0,512	0,773±0,277	0,895±0,058	0,789±0,331
	2-metil butanal	0,265±0,026	0,088±0,064	0,038±0,014	0,123±0,027	0,037±0,006	0,175±0,048	0,199±0,046	0,175±0,085	0,136±0,075	0,066±0,022
	3-metil butanal	0,219±0,021	0,072±0,054	0,015±0,006	0,09±0,021	0,02±0,003	0,124±0,04	0,164±0,033	0,142±0,069	0,092±0,053	0,039±0,011
	Etanol	2,056±0,87	1,225±0,046	2,732±0,377	1,031±0,168	5,066±0,8	2,042±1,139	29,926±4,014	0,479±0,093	12,231±2,474	0,942±0,786
	Etil propionato	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	3-pentanona	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	Pentanal	0,542±0,131	0,405±0,066	0,643±0,056	0,861±0,189	0,529±0,056	0,521±0,064	0,445±0,083	0,325±0,013	0,37±0,048	0,614±0,302
	4-metil-2-pentanona	0,242±0,072	0,295±0,04	0,274±0,024	0,147±0,024	0,121±0,014	0,109±0,009	0,16±0,006	0,243±0,037	0,153±0,018	0,149±0,039
	1-penten-3-ona	0,093±0,075	0,042±0,006	0,044±0,009	0,039±0,005	0,048±0,001	0,043±0,004	0,048±0,011	0,042±0,001	0,045±0,001	0,05±0,006
	Acetato de butilo	0,038±0,002	0,076±0,012	0,065±0,02	0,049±0,01	0,028±0,012	0,018±0,007	0,062±0,003	0,085±0,02	0,052±0,001	0,055±0,019
	Hexanal	0,721±0,006a A1	1,231±0,124ab A1	2,429±0,427c A1	2,48±0,524c A1	1,898±0,15bc1	2,04±0,752c1	1,276±0,391a B1	2,935±1,234b B1	1,981±0,407ab A1	2,293±0,553ab A1
	E-2-pentenal	0,039±0,002	0,253±0,032	0,31±0,036	0,235±0,007	0,185±0,018	0,114±0,1	0,181±0,132	0,176±0,043	0,142±0,089	0,127±0,013
	Z-3-hexenal	0,012±0,021	0,045±0,006	0,043±0,007	0,056±0,004	0,043±0,003	0,031±0,027	0,012±0,021	0,113±0,07	0,073±0,025	0,007±0,008
	1-butanol	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0,042±0,072	0±0
	1-penten-3-ol	0,006±0,006	0,036±0,012	0,093±0,026	0,126±0,025	0,131±0,027	0,035±0,01	0,024±0,007	0,069±0,014	0,046±0,014	0,022±0,025
	2-metil-1-butanol	0,024±0,021	0,016±0,003	0,048±0,017	0,048±0,012	0,031±0,011	0,02±0,017	0,006±0,011	0,046±0,023	0,03±0,01	0,032±0,006
3-metil-1-butanol	0±0	0,04±0,016	0,061±0,012	0,07±0,01	0,109±0,013	0,14±0,028	0,061±0,031	0,065±0,021	0,052±0,021	0,073±0,044	
E-2-hexenal	0,115±0,008a A1	0,334±0,05a A1	0,416±0,124a A1	1,907±0,888c A1	0,513±0,08ab1	1,229±0,687bc1	0,44±0,138a B1	2,549±1,339b B1	0,868±0,441a B1	1,139±0,562a A1	
3-octanona	0,326±0,006	0,232±0,062	0,283±0,012	0,199±0,017	0,193±0,033	0,178±0,011	0,273±0,064	0,209±0,013	0,182±0,024	0,138±0,093	
hexilacetato	0±0	0,077±0,067	0,168±0,046	0,081±0,023	0,147±0,099	0,041±0,01	0,011±0,019	0,046±0,004	0,026±0,023	0,074±0,067	
3-hidroxi-2-butanona	0±0	0,049±0,051	0,038±0,04	0,07±0,012	0,042±0,01	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	

a, b, c, d: diferencias significativas (p<0,05) entre estados de maduración para una misma zona geográfica.

A, B: diferencias significativas (p<0,05) entre zonas geográficas para un mismo estado de maduración.

1,2,3: diferencias significativas (p<0,05) entre variedades para un mismo estado de maduración y una misma zona geográfica (comparar con Tabla N°9 y N° 10).

Tabla 8. Concentración de compuestos volátiles (mg/Kg) en AOVE variedad Koroneiki, localidad de Limarí y Molina en diferentes estados de maduración. Incluye resultados de análisis estadístico ANOVA. (2° PARTE)

	KORONEIKI							Limarí				Molina				
		E2	E3	E4	E5	E6	E7	E2	E3	E4	E5	E2	E3	E4	E5	
Compuestos	2-octanona	0,17±0,014	0,034±0,059	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	
	E-2-heptenal	0,06±0,009	0,02±0,034	0±0	0±0	0±0	0,105±0,141	0,016±0,018	0,036±0,018	0,028±0,012	0±0	0,016±0,018	0,036±0,018	0,028±0,012	0±0	
	Hexanol	0,405±0,012a A1	0,729±0,201b A1	0,982±0,121bc A1	1,007±0,103c A1	0,986±0,139c1	1,095±0,244c1	4,489±1,38a B1	1,579±0,89b B1	1,851±0,383b B1	1,909±0,932b B1	0,405±0,012a A1	0,729±0,201b A1	0,982±0,121bc A1	1,007±0,103c A1	0,986±0,139c1
	E-3-hexen-1-ol	0,035±0,004	0,037±0,007	0,125±0,113	0,069±0,002	0,095±0,017	0,061±0,01	0,344±0,06	0,104±0,058	0,156±0,042	0,127±0,068	0,035±0,004	0,037±0,007	0,125±0,113	0,069±0,002	0,095±0,017
	Z-3-hexen-1-ol	0,013±0,023	0,18±0,093	0,105±0,058	0,127±0,037	0,298±0,083	0,237±0,03	1,141±0,319	0,21±0,157	0,51±0,179	0,308±0,268	0,013±0,023	0,18±0,093	0,105±0,058	0,127±0,037	0,298±0,083
	E-2-hexen-1-ol	0,014±0,025	0,052±0,06	0,018±0,004	0,101±0,041	0,057±0,02	0,08±0,033	0,144±0,07	0,033±0,018	0,237±0,12	0,085±0,079	0,014±0,025	0,052±0,06	0,018±0,004	0,101±0,041	0,057±0,02
	Z-2-hexen-1-ol	0±0	0,017±0,029	0±0	0,008±0,007	0,028±0,008	0,022±0,003	0,111±0,021	0,016±0,011	0,048±0,015	0,032±0,028	0±0	0,017±0,029	0±0	0,008±0,007	0,028±0,008
	E-2-octenal	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0,054±0,014	0,009±0,005	0,011±0,019	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	Ac acético	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0,08±0,035	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	Ac propiónico	0±0	0,078±0,103	0±0	0±0	0,14±0,121	0±0	0,107±0,093	0,017±0,006	0,19±0,025	0,32±0,111	0±0	0,078±0,103	0±0	0,14±0,121	0±0
	1-Octanol	0,225±0,037	0,142±0,071	0,119±0,008	0,196±0,032	0,037±0,006	0,228±0,046	0,084±0,117	0,076±0,016	0,03±0,016	0,016±0,027	0,225±0,037	0,142±0,071	0,119±0,008	0,196±0,032	0,037±0,006
	Ac butirico	0,852±0,228	0,038±0	0,032±0,004	0,318±0,012	0,295±0,016	0,378±0,046	0,242±0,021	0,042±0,005	0,265±0,015	0,257±0,014	0,852±0,228	0,038±0	0,032±0,004	0,318±0,012	0,295±0,016
	Ac pentanoico	0,051±0,004	0,038±0,001	0,032±0,004	0,018±0,003	0,016±0,003	0,021±0,003	0,056±0,031	0,046±0,015	0,039±0,038	0,017±0,029	0,051±0,004	0,038±0,001	0,032±0,004	0,018±0,003	0,016±0,003
	Ac Hexanoico	0,071±0,006	0,077±0,022	0,089±0,006	0,067±0,006	0,068±0,008	0,063±0,014	0,071±0,011	0±0	0,051±0,046	0,069±0,061	0,071±0,006	0,077±0,022	0,089±0,006	0,067±0,006	0,068±0,008
	Ac Heptanoico	0,063±0,002	0,067±0,003	0,081±0,005	0,098±0,007	0,101±0,003	0,097±0,012	0,091±0,016	0,058±0,002	0,063±0,026	0,088±0,022	0,063±0,002	0,067±0,003	0,081±0,005	0,098±0,007	0,101±0,003
	Ac octanoico	0,047±0,01	0,035±0,007	0,023±0,009	0,035±0,013	0,026±0,009	0,044±0,006	0,039±0,005	0,064±0,005	0,151±0,02	0,074±0,043	0,047±0,01	0,035±0,007	0,023±0,009	0,035±0,013	0,026±0,009
	Ac nonanoico	0,084±0,023	0,104±0,012	0,067±0,024	0,049±0,007	0,055±0,019	0,07±0,017	0,125±0,078	0,036±0,001	0,396±0,171	0,077±0,043	0,084±0,023	0,104±0,012	0,067±0,024	0,049±0,007	0,055±0,019
Esteres	1,036±0,143aA1	1,025±0,261aA1	0,945±0,161aA1	0,995±0,088aA1	0,815±0,049a1	1,492±0,31b1	3,007±0,501aB1	0,904±0,257bA1	0,974±0,044bA1	0,917±0,345bA1	1,036±0,143aA1	1,025±0,261aA1	0,945±0,161aA1	0,995±0,088aA1	0,815±0,049a1	
Aldehidos	1,973±0,145aA1	2,447±0,228abcA1	3,893±0,576bA1	5,753±1,451dA1	3,224±0,275abc1	4,339±1,324cd1	2,788±0,48aB1	6,458±2,101bB1	3,701±0,798aA1	4,284±1,266aA1	1,973±0,145aA1	2,447±0,228abcA1	3,893±0,576bA1	5,753±1,451dA1	3,224±0,275abc1	
Alcoholes	2,779±0,753aA1	2,474±0,378aA1	4,282±0,494bA1	2,783±0,158aA1	6,837±0,825c1	3,96±0,777b1	36,33±5,166aB1	2,675±1,092bA1	15,233±2,685cB1	3,546±1,865bA1	2,779±0,753aA1	2,474±0,378aA1	4,282±0,494bA1	2,783±0,158aA1	6,837±0,825c1	
Cetonas	0,832±0,122aA1	0,652±0,128bA1	0,639±0,074bA1	0,455±0,025cA1	0,404±0,054c1	0,33±0,027c1	0,481±0,082aB1	0,494±0,043aB1	0,38±0,042bB1	0,337±0,061bB1	0,832±0,122aA1	0,652±0,128bA1	0,639±0,074bA1	0,455±0,025cA1	0,404±0,054c1	
Hidrocarburos	0,042±0,013aA1	0,031±0,025abA1	0,014±0,022bcA1	0±0c	0±0c	0,007±0,011bc1	0±0B	0±0B	0±0A	0±0	0,042±0,013aA1	0,031±0,025abA1	0,014±0,022bcA1	0±0c	0±0c	
Ácidos	1,167±0,266aA1	0,436±0,125bcA1	0,324±0,024bA1	0,585±0,02cdA1	0,701±0,082d1	0,675±0,08d1	0,73±0,127aB1	0,342±0,048bA1	1,155±0,23cB1	0,902±0,159aB1	1,167±0,266aA1	0,436±0,125bcA1	0,324±0,024bA1	0,585±0,02cdA1	0,701±0,082d1	
Volátiles Totales	7,829±0,507aA1	7,065±0,267aA1	10,097±0,826bA1	10,571±1,593bcA1	11,981±1,151c1	10,802±1,178bc1	43,335±6,196aB1	10,873±3,333bB1	21,442±2,515cB1	9,987±1,276bA1	7,829±0,507aA1	7,065±0,267aA1	10,097±0,826bA1	10,571±1,593bcA1	11,981±1,151c1	

a, b, c, d: diferencias significativas (p<0,05) entre estados de maduración para una misma zona geográfica.

A, B: diferencias significativas (p<0,05) entre zonas geográficas para un mismo estado de maduración.

1,2,3: diferencias significativas (p<0,05) entre variedades para un mismo estado de maduración y una misma zona geográfica (comparar con Tabla N°9 y N° 10).

Tabla 9. Concentración de compuestos volátiles (mg/Kg) en AOVE variedad Arbequina, localidad de Limarí y Molina en diferentes estados de maduración. Incluye resultados de análisis estadístico ANOVA. (1° PARTE)

ARBEQUINA		Limarí					Molina					
		E2	E3	E4	E5	E6	E7	E2	E3	E4	E5	E6
Compuestos	Heptano	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	Octano	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	Metilacetato	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	E-2-octeno	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	Acetato de etilo	1,532±0,29	2,495±0,653	1,55±0,145	1,336±0,144	0,842±0,274	0,822±0,117	1,957±0,441	1,386±0,346	0,988±0,281	0,745±0,087	0,738±0,173
	2-metil butanal	0,148±0,093	0,31±0,116	0,223±0,118	0,186±0,022	0,167±0,044	0,112±0,016	0,144±0,068	0,128±0,06	0,137±0,04	0,089±0,008	0,132±0,011
	3-metil butanal	0,047±0,019	0,194±0,061	0,162±0,094	0,123±0,017	0,115±0,014	0,092±0,016	0,08±0,038	0,097±0,059	0,087±0,032	0,057±0,003	0,078±0,001
	Etanol	0,961±0,211	0,888±0,875	11,576±5,454	1,253±0,265	1,179±0,76	1,385±0,585	21,579±11,788	5,825±0,511	0,518±0,177	1,725±0,473	1,989±0,533
	Etil propionato	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	3-pentanona	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	Pentanal	0,532±0,087	0,461±0,119	0,365±0,059	0,544±0,038	0,541±0,066	0,486±0,019	0,888±0,308	0,356±0,075	0,562±0,164	0,363±0,05	0,359±0,107
	4-metil-2-pentanona	0,332±0,077	0,23±0,033	0,21±0,039	0,234±0,017	0,227±0,041	0,27±0,109	0,223±0,06	0,268±0,067	0,219±0,009	0,185±0,026	0,123±0,042
	1-penten-3-ona	0,041±0	0,045±0,003	0,058±0,006	0,05±0,004	0,048±0,002	0,066±0,005	0,053±0,003	0,04±0,005	0,056±0,005	0,049±0,011	0,06±0,006
	Acetato de butilo	0,113±0,023	0,008±0,001	0,092±0,02	0,078±0,007	0,082±0,018	0,057±0,006	0,054±0,011	0,097±0,03	0,087±0,001	0,082±0,012	0,03±0,003
	Hexanal	3,905±0,281b A2	2,947±0,539a A2	5,715±0,282c A2	4,178±0,181b A2	4,673±1,198b A2	7,29±0,198d2	0,816±0,475a B1	4,488±1,04b B1	6,448±0,479c B2	4,337±0,434b A2	6,357±0,672c B
	E-2-pentenal	0,239±0,058	0,253±0,019	0,122±0,018	0,154±0,016	0,166±0,039	0,147±0,012	0,201±0,056	0,163±0,028	0,163±0,024	0,118±0,007	0,108±0,013
	Z-3-hexenal	0,047±0,041	0±0	0±0	0,026±0,023	0±0	0±0	0,049±0,003	0,08±0,032	0,02±0,018	0±0	0±0
	1-butanol	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	1-penten-3-ol	0,17±0,032	0,049±0,013	0,044±0,009	0,063±0,007	0,039±0,008	0,038±0,014	0,011±0,008	0,092±0,061	0,068±0,015	0,029±0,01	0,038±0,004
	2-metil-1-butanol	0,062±0,004	0,038±0,014	0,124±0,011	0,09±0,005	0,068±0,012	0,096±0,01	0±0	0,063±0,068	0,134±0,029	0,084±0,009	0,124±0,009
3-metil-1-butanol	0,007±0,003	0,005±0,001	0±0	0,026±0,008	0,021±0,006	0,025±0,003	0±0	0,068±0,059	0±0	0±0	0,026±0,01	
E-2-hexenal	3,024±0,369a A2	2,165±0,867a A2	8,295±1,113d A2	6,072±0,175bc A2	4,886±0,973b A2	7,018±1,047cd2	0,671±0,383a B1	4,292±2,182b B1	9,743±1,527c A2	4,765±0,685b B2	8,427±0,655c B	
3-octanona	0,213±0,061	0,334±0,055	0,123±0,023	0,135±0,008	0,148±0,024	0,122±0,008	0,251±0,1	0,194±0,008	0,142±0,02	0,099±0,059	0,085±0,011	
hexilacetato	0,068±0,025	0,093±0,02	0±0	0,046±0,042	0±0	0,014±0,012	0±0	0,025±0,024	0,037±0,007	0,04±0,002	0,038±0,007	
3-hidroxi-2-butanona	0,025±0,043	0,035±0,031	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0,012±0,021	

a, b, c, d: diferencias significativas (p<0,05) entre estados de maduración para una misma zona geográfica.

A, B: diferencias significativas (p<0,05) entre zonas geográficas para un mismo estado de maduración.

1,2,3: diferencias significativas (p<0,05) entre variedades para un mismo estado de maduración y una misma zona geográfica (comparar con Tabla N°8 y N° 10).

Tabla 9. Concentración de compuestos volátiles (mg/Kg) en AOVE variedad Arbequina, localidad de Limarí y Molina en diferentes estados de maduración. Incluye resultados de análisis estadístico ANOVA. (2°PARTE)

	Limarí							Molina				
	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E2	E3	E4	E5	E6	
ARBEQUINA												
Compuestos	2-octanona	0±0	0±0	0±0	0±0	0,049±0,026	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	
	E-2-heptenal	0,062±0,005	0,056±0,015	0,036±0,031	0,064±0,007	0,04±0,009	0,036±0,007	0,021±0,019	0,052±0,025	0,067±0,014	0,027±0,023	0,026±0,002
	Hexanol	1,888±0,337 a A2	2,049±0,615 ab A2	5,475±1,308c A2	1,86±0,1a A2	1,996±0,401 a A2	3,06±0,472b 2	7,672±2,671a B2	2,991±0,644b B1	2,496±0,162b B2	5,97±1,654a B2	3,231±0,449 b B
	E-3-hexen-1-ol	0,119±0,006	0,1±0,027	0,269±0,044	0,106±0,014	0,086±0,018	0,131±0,023	0,177±0,09	0,18±0,044	0,133±0,007	0,252±0,023	0,165±0,031
	Z-3-hexen-1-ol	0,267±0,042	0,186±0,074	0,162±0,033	0,105±0,013	0,062±0,018	0,051±0,002	0,71±0,529	0,509±0,226	0,062±0,004	0,183±0,017	0,123±0,013
	E-2-hexen-1-ol	0,202±0,06	0,705±0,031	1,855±0,304	0,251±0,131	0,139±0,06	0,287±0,028	0,575±0,319	0,297±0,096	0,251±0,072	1,467±0,165	0,644±0,246
	Z-2-hexen-1-ol	0,02±0,001	0,053±0,025	0,057±0,011	0,011±0,002	0,007±0,002	0,011±0,002	0,128±0,076	0,037±0,018	0,011±0,002	0,054±0,009	0,024±0,007
	E-2-octenal	0,012±0,001	0,011±0,011	0,02±0,005	0,008±0,001	0,003±0,003	0,007±0,001	0,036±0,019	0,019±0,008	0,007±0,001	0,021±0,004	0,01±0,002
	Ac acético	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0,017±0,029	0±0	0±0	0±0
	Ac propiónico	0,119±0,04	0,093±0,082	0,219±0,031	0,135±0,024	0,181±0,022	0,146±0,103	0,133±0,014	0,058±0,064	0,119±0,016	0,173±0,023	0,16±0,036
	1-Octanol	0±0	0,065±0,083	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0,084±0,041	0±0	0±0	0±0
	Ac butirico	0,223±0,033	0,183±0,017	0±0	0,168±0,003	0,155±0,011	0,157±0,02	0,13±0,006	0,083±0,019	0,17±0,023	0,018±0,002	0,143±0,022
	Ac pentanoico	0,016±0,007	0,027±0,024	0,039±0,034	0±0	0±0	0±0	0,032±0,03	0,055±0,018	0,007±0,006	0,024±0,041	0±0
	Ac Hexanoico	0,067±0,061	0,095±0,005	0,14±0,057	0,049±0,001	0,06±0,008	0,084±0,013	0,052±0,008	0,06±0,021	0,071±0,008	0,014±0,023	0,062±0,007
	Ac Heptanoico	0,076±0,013	0,083±0,003	0,093±0,02	0,09±0,005	0,099±0,003	0,109±0,013	0,093±0,005	0,065±0,006	0,111±0,015	0,107±0,014	0,106±0,008
Ac octanoico	0,054±0,005	0,013±0,002	0,096±0,031	0,006±0,004	0,06±0,002	0,077±0,007	0,067±0,005	0,07±0,006	0,049±0,018	0,075±0,014	0,073±0,001	
Ac nonanoico	0,101±0,022	0,079±0,011	0,043±0,007	0,038±0,006	0,036±0,002	0,043±0,006	0,038±0,001	0,043±0,004	0,036±0,002	0,04±0,005	0,041±0,004	
Esteres	1,713±0,294 aA2	2,595±0,603 bA2	1,641±0,131 aA2	1,461±0,126 acA2	0,924±0,254 cdA1	0,893±0,122 d2	2,01±0,417aA 2	1,508±0,329b B2	1,112±0,262b cB1	0,867±0,106c B1	0,807±0,163 cA	
Aldehidos	8,016±0,789 aA2	6,398±1,15a A2	14,939±0,98 8bA2	11,355±0,17 4cA2	10,59±1,869 cA2	15,188±1,20 8b2	2,906±0,504a B1	9,674±3,11bB 1	17,233±2,246 cB2	9,777±0,58bB 2	15,498±1,12 3cB	
Alcoholes	3,695±0,452 aA2	4,137±0,819 aA2	19,561±6,51 1bA2	3,765±0,377 aA2	3,597±0,544 aA2	5,085±0,881 a2	30,852±12,989 aB1	10,147±0,653 bB2	3,673±0,255b B2	9,765±1,549b B2	6,364±0,647 bB	
Cetonas	0,611±0,084 aA2	0,644±0,041 aA1	0,391±0,059 bA2	0,419±0,018 bA1	0,473±0,081 bA1	0,458±0,127 b2	0,526±0,119a A1	0,502±0,061a B1	0,417±0,041a bA1	0,333±0,039b cB1	0,281±0,085 cB	
Hidrocarburos	0±02	0±02	0±01	0±0	0±0	0±01	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	
Ácidos	0,656±0,154 aA2	0,573±0,077 aA2	0,63±0,068a A2	0,487±0,028 aA2	0,592±0,039 aA2	0,615±0,142 a1	0,544±0,04ab A2	0,451±0,078a B2	0,563±0,06bA 2	0,45±0,055aA 2	0,584±0,083 bA	
Volátiles Totales	14,692±1,707a A2	14,348±1,539a A2	37,161±5,866b A2	17,486±0,552a cA2	16,175±2,027 aA2	22,239±0,839c 2	36,839±13,29aB 1	22,282±3,298bB 2	22,999±2,749bB 1	21,192±1,542bB 2	23,532±1,223b B	

a, b, c, d: diferencias significativas (p<0,05) entre estados de maduración para una misma zona geográfica.
A, B: diferencias significativas (p<0,05) entre zonas geográficas para un mismo estado de maduración.
1,2,3: diferencias significativas (p<0,05) entre variedades para un mismo estado de maduración y una misma zona geográfica (comparar con Tabla N°8 y N° 10).

Tabla 10. Concentración de compuestos volátiles (mg/Kg) en AOVE variedad Arbosana, localidad de Limarí y Molina en diferentes estados de maduración. Incluye resultados de análisis estadístico ANOVA.

	Limarí							Molina	
	ARBOSANA	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E2	E3
Compuestos	Heptano	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	Octano	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	Metilacetato	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	E-2-octeno	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	Acetato de etilo	1,279±0,146	0,597±0,165	0,829±0,197	0,76±0,296	0,84±0,22	0,514±0,041	1,006±0,315	1,822±0,548
	2-metilbutanal	0,165±0,031	0,226±0,077	0,408±0,097	0,174±0,007	0,246±0,025	0,157±0,016	0,067±0,03	0,12±0,025
	3-metilbutanal	0,055±0,011	0,156±0,054	0,267±0,067	0,105±0,005	0,162±0,015	0,09±0,015	0,038±0,024	0,077±0,012
	Etanol	0,753±0,045	0,761±0,112	1,654±0,201	0,562±0,396	0,512±0,284	0,762±0,348	4,659±3,642	7,25±1,677
	Etil propionato	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	3-pentanona	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	Pentalanal	0,679±0,063	0,582±0,072	0,599±0,034	0,613±0,036	0,602±0,049	0,513±0,027	2,243±2,889	0,376±0,075
	4-metil-2-pentanona	0,358±0,021	0,296±0,01	0,263±0,034	0,364±0,063	0,285±0,03	0,23±0,019	0,115±0,021	0,14±0,029
	1-penten-3-ona	0,052±0,002	0,048±0,004	0,054±0,01	0,056±0,003	0,043±0,002	0,042±0,006	0,053±0,003	0,05±0,003
	Acetato de butilo	0,13±0,012	0,11±0,005	0,072±0,006	0,118±0,004	0,11±0,016	0,085±0,008	0,044±0,013	0,051±0,009
	Hexanal	2,467±0,354a A3	3,36±0,364bc A2	2,831±0,501ab1	3,583±0,376cd3	3,888±0,26cd2	4,186±0,244d3	4,362±0,515a B2	3,894±1,417a A1
	E-2-pentalanal	0,301±0,005	0,016±0,004	0,192±0,016	0,191±0,015	0,19±0,012	0,142±0,01	0,109±0,031	0,138±0,01
	Z-3-hexenal	0,067±0,019	0,02±0,004	0±0	0±0	0,022±0,019	0±0	0,05±0,056	0±0
	1-butanol	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	1-penten-3-ol	0,114±0,035	0,061±0,009	0,048±0,005	0,079±0,012	0,09±0,009	0,048±0,003	0,029±0,013	0,017±0,007
	2-metil-1-butanol	0,05±0,012	0,065±0,01	0,047±0,007	0,071±0,016	0,045±0,006	0,073±0,007	0,056±0,016	0,041±0,032
	3-metil-1-butanol	0,007±0,001	0,01±0,004	0,012±0,004	0,01±0,005	0,085±0,006	0,007±0,001	0,008±0,005	0,005±0,005
	E-2-hexenal	2,137±0,962a A3	4,684±0,64b A3	3,193±0,38a3	4,684±1,113b3	6,269±0,505c3	5,635±0,391bc3	3,343±1,175a A2	2,7±1,917a B1
	3-octanona	0,275±0,009	0,166±0,016	0,182±0,006	0,172±0,006	0,161±0,009	0,124±0,007	0,123±0,035	0,138±0,071
	hexilacetato	0,121±0,012	0,038±0,033	0,122±0,043	0,155±0,017	0,04±0,007	0,097±0,008	0,031±0,008	0,061±0,02
	3-hidroxi-2-butanona	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0,016±0,028
	2-octanona	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	E-2-heptenal	0,08±0,023	0,057±0,009	0,05±0,005	0,067±0,01	0,081±0,008	0,045±0,005	0,017±0,006	0,019±0,008
	Hexanol	1,374±0,334a A3	1,729±0,138ab A2	1,622±0,338ab1	1,632±0,201ab3	1,704±0,137ab2	2,018±0,187b3	4,981±0,584a B1	7,804±1,922b B2
	E-3-hexen-1-ol	0,102±0,024	0,071±0,007	0,07±0,013	0,1±0,008	0,091±0,005	0,095±0,005	0,208±0,053	0,214±0,043
	Z-3-hexen-1-ol	0,061±0,034	0,054±0,021	0,089±0,007	0,118±0,01	0,084±0,01	0,059±0,007	0,416±0,199	0,129±0,035
	E-2-hexen-1-ol	0,103±0,058	0,152±0,009	0,135±0,051	0,119±0,015	0,137±0,038	0,17±0,034	0,796±0,133	1,28±0,465
	Z-2-hexen-1-ol	0,015±0,008	0,008±0,001	0,008±0,002	0,009±0,001	0,007±0,001	0,006±0	0,047±0,015	0,039±0,014
	E-2-octenal	0,01±0,004	0,005±0	0,006±0,001	0,007±0,001	0,006±0,001	0,005±0,001	0,023±0,007	0,017±0,003
	Ac acético	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
	Ac propiónico	0,09±0,012	0,139±0,033	0,173±0,082	0,097±0,029	0,173±0,022	0,162±0,003	0,132±0,022	0,175±0,031
	1-Octanol	0±0	0±0	0,007±0,013	0±0	0,055±0,048	0±0	0,022±0,01	0,016±0,008
	Ac butirico	0,116±0,006	0,103±0,012	0,122±0,012	0,127±0,011	0,058±0,014	0,08±0,005	0,11±0,011	0,112±0,001
	Ac pentanoico	0±0	0,047±0,005	0,063±0,009	0,058±0,006	0,054±0,013	0±0	0,055±0,003	0,051±0,009
	Ac Hexanoico	0,061±0,004	0,039±0,017	0,05±0,045	0,03±0,027	0,036±0,003	0,036±0,001	0,075±0,041	0,054±0,021
	Ac Heptanoico	0,088±0,004	0,073±0,004	0,075±0,007	0,093±0,002	0,071±0,006	0,069±0,004	0,088±0,017	0,088±0,013
	Ac octanoico	0,063±0,008	0,067±0,006	0,074±0,004	0,075±0,009	0,065±0,009	0,062±0,004	0,072±0,005	0,069±0,016
	Ac nonanoico	0,038±0,004	0,039±0,002	0,043±0,005	0,039±0,001	0,042±0,008	0,039±0,01	0,039±0,002	0,048±0,005
Esteres	1,53±0,152aA2	0,745±0,127bcA1	1,024±0,177c1	1,034±0,263c1	0,99±0,218bc1	0,696±0,052b2	1,081±0,265aB3	1,934±0,486bB2	
Aldehídos	5,963±1,307aA3	9,105±1,053bcA3	7,547±0,808ab3	9,425±1,321c3	11,465±0,856d2	10,775±0,854cd3	10,251±4,071aB2	7,341±3,057aA1	
Alcoholes	2,58±0,383aA1	2,911±0,223aA1	3,691±0,444b1	2,7±0,142a1	2,81±0,48a2	3,239±0,519ab1	11,222±3,966aB2	16,795±1bB3	
Cetonas	0,685±0,036aA2	0,51±0,028bA2	0,498±0,062b2	0,593±0,054c2	0,488±0,039b1	0,395±0,024d12	0,292±0,054aB2	0,344±0,071aB2	
Hydrocarburos	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	
Ácidos	0,456±0,025aA2	0,507±0,024abA12	0,6±0,118b2	0,519±0,052ab2	0,499±0,027a3	0,448±0,027a2	0,572±0,028aB2	0,598±0,049aB3	
Volátiles Totales	11,213±1,859aA3	13,777±1,343abcA2	13,36±1,547ab1	14,271±1,385bc3	16,253±1,533c2	15,553±1,415bc3	23,417±0,972aB2	27,012±4,18aB2	

a, b, c, d: diferencias significativas (p<0,05) entre estados de maduración para una misma zona geográfica.

A, B: diferencias significativas (p<0,05) entre zonas geográficas para un mismo estado de maduración.

1,2,3: diferencias significativas (p<0,05) entre variedades para un mismo estado de maduración y una misma zona geográfica (comparar con Tabla N°8 y N° 9).

V. CONCLUSIONES

Los valores de los parámetros de calidad considerados en este estudio (acidez libre, índice de peróxido, absorbancia UV y color) se encontraron muy por debajo de los límites establecidos por el COI, clasificándose todas las muestras dentro de la categoría AOVE. La totalidad de los aceites analizados reflejaron las Buenas Prácticas de Manufactura del proceso de elaboración de los aceites.

Los aceites estudiados presentan un elevado contenido de compuestos fenólicos entre los que destacan los compuestos secoiridoides, fracción fenólica mayoritaria en las tres variedades de AOVE, los que se relacionan con el sabor amargo y picante del aceite.

Los fenoles fueron influenciados por el efecto varietal, la zona de cultivo y el estado de maduración, observándose diferencias significativas entre estas variables. La variedad Koroneiki presentó la mayor concentración seguida de 'Arbosana' y finalmente 'Arbequina', señalando un predominio genético sobre la expresión de los fenoles. La zona de Limarí presentó mayor concentración de fenoles que la zona de Molina, atribuido a las mayores temperaturas, menor irrigación y las menores precipitaciones. Los estados más verdes presentaron mayor concentración de fenoles.

Los principales componentes del perfil de compuestos volátiles corresponden a hexanal, E-2 hexenal y hexanol, los cuales provienen de la ruta de la LOX, y son los responsables de los atributos positivos del aceite como aroma verde y frutado.

De la misma manera, los volátiles fueron influenciados por la variedad, la latitud y el estado de maduración de las olivas, observándose diferencias significativas para estas variables. La variedad Arbequina mostró la mayor concentración de compuestos volátiles seguida de 'Arbosana' y finalmente 'Koroneiki, esta tendencia se presentó más claramente en la zona de Limarí; además, se observó que el compuesto aldehídico predominante (perfil) cambió de acuerdo a la

variedad, siendo hexanal compuesto mayoritario para 'Koroneiki' y E-2-hexenal para las variedades Arbequina y Arbosana, lo que evidenció un vínculo estrecho entre los factores genéticos y la expresión de compuestos volátiles. La zona de Molina presentó la mayor concentración de estos compuestos, atribuido a las condiciones de riego y ambientales. Se mostró una tendencia, aunque no muy marcada, al aumento de la concentración de los compuestos volátiles a medida que el estado de maduración de la oliva avanzó.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLALOUT A, KRICHENE D, MATHENNI K, TAAMELLI A, OUESLATI I, DAOUD D., ZARROUK M. 2009. Characterization of virgin olive oil from super-intensive Spanish and Greek varieties grown in northern Tunisia. *Scientia Horticulturae* 120:77–83.
- ALLALOUT A., KRICHÈNE D., METHENNI K., TAAMALLI A., DAOUD D. y ZARROUK M. 2011. Behavior of super-intensive Spanish and Greek olive cultivars grown in northern Tunisia. *Journal of Food Biochemistry*. 35: 27–43.
- ANGEROSA F., BASTI C., VITO R. 1999. Virgin olive oil volatile compounds from lipoxygenase pathway and characterization of some Italian cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47: 836–839.
- ANGEROSA, F. 2002. Influence of volatile compounds on virgin olive oil quality evaluated by analytical approaches and sensor panels. *Journal of Lipid Science and Technology*. 104: 639–660.
- ANGEROSA, F., SERVILI, M., SELVAGGINIB, R., TATICCHIB, A., ESPOSTOB, S., MONTEDOROB, G. 2004. Volatile compounds in virgin olive oil: occurrence and their relationship with the quality. *Journal of Chromatography A* 1054: 17-31.
- APARICIO, R., FERREIRO, L., ALONSO, V. 1994. Effect of climate on the chemical composition of virgin olive oil. *Analytica Chimica Acta* 292: 235–241.
- APARICIO R., MORALES M. T., ALONSO M.V. 1996. Relationship between volatile compounds and sensory attributes of olive oil by the sensory wheel. *Journal of American Oil Chemistry Society* 73: 1253–1264.
- APARICIO, R., MORALES, M.T. 1998. Characterization of olives ripeness by green aroma compounds of virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46:1116–1122.
- APARICIO R., LUNA G. 2002. Characterisation of monovarietal virgin olive oils. *European Journal of Lipid Science and Technology* 104: 614–627.
- ARANITI V., BAUZÁ M., TAPIA F. 2014. Características Productivas e Industriales y Descripción Sensorial de las Variedades de Olivo. En: ROMERO N. Levantamiento y procesamiento de información de variedades de olivo con potencial económico para el mejoramiento de la oferta exportable de la industria olivícola nacional. Chile, Litografía Garín S.A. pp. 23-40.

- ARSLANA, D., KARABEKIR, Y., SCHREINER, M. 2013. Variations of phenolic compounds, fatty acids and some qualitative characteristics of Sariulak olive oil as induced by growing area. *Food Research International* 54: 1897–1906.
- AYTON J., MAILER R. J., HAIGH A., TRONSON D., CONLAN D. 2007. Quality and Oxidative Stability of Australian Olive Oil according to Harvest date and Irrigation. *Journal of Food Lipids* 14:138–156.
- BACCOURI O., GUERFEL M., BACCOURI B., CERRATINI L., BENDINI A., LERCKER G., ZARROUK M., BEN MILED D. 2008. Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. *Food Chemistry* 109:743–754.
- BENITO, M., LASA, J.M., GRACIA, P., ORIA, R., ABENOZA, M., SANCHEZ-GIMENO, A.C. 2012. Evolution of phenols and pigments in extra virgin olive oil from irrigated super-intensive orchard. *European Journal of Lipid Science and Technology* 114: 558–567.
- BENITO M., LASA J.M., GRACIA P., ORIA R., ABENOZA M., VARONA L., SANCHEZ-GIMENO A.C. 2013. Olive oil quality and ripening in super-high-density Arbequina orchard. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 93: 2207–2220.
- BELTRÁN G., BEJAOU M., JIMENEZ A., SANCHEZ-ORTIZ A. 2015. Ethanol in Olive Fruit. Changes during Ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 63: 5309–5312.
- CAMPOSEO S., VIVALDI G. A., GATTULLO C.E. 2013. Ripening indices and harvesting times of different olive cultivars for continuous harvest. *Scientia Horticulturae* 151: 1–10.
- CARUSO G., GUCCI R., URBANI S., ESPOSTO S., TATICCHI A., DI MAIO I., SELVAGGINI R., SERVILI M. 2014. Effect of different irrigation volumes during fruit development on quality of virgin olive oil of cv. Frantoio. *Agricultural Water Management* 134: 94–103.
- CERRETANI L., SALVADOR M. D., BENDINI A., LERCKER G., FREGAPANE G. 2008. Relationship between sensory evaluation performed by Italian and Spanish official panels and volatile and phenolic profiles of virgin olive oils. *Chemosensory Perception* 1: 258–267.
- CHILE OLIVA. Origen Chile: Variedades. [en línea] < <http://www.chileoliva.cl/es/origen-chile/> > [consulta: 30 Mayo de 2017].
- CONDE, C., DELROT, S., GERÓS, H. 2008. Physiological, biochemical and molecular changes occurring during olive development and ripening. *Journal of Plant Physiology* 165: 1545-156,.

- CONSEJO OLEÍCOLA INTERNACIONAL. 2015. Norma Comercial Aplicable los Aceites de Oliva y los Aceites de Orujo de Oliva. COI/T.15/NC nº 3/Rev. 10. España.
- CONTE L., MARIANI C., TOSCHI T., TAGLIABUE S. 2014. Alkyl esters and related compounds in virgin olive oils: their evolution over time. *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*. 91: 21-29.
- DABBOU S., BRAHMI F., SELVAGGINI R., CHEHAB H., DABBOU S., TATICCHI A., SERVILI M., HAMMAMI M. 2011. Contribution of irrigation and cultivars to volatile profile and sensory attributes of selected virgin olive oils produced in Tunisia. *International Journal of Food Science & Technology* 46: 1964–1976.
- DABBOU S., ISSAOUI M., ESPOSTO S., Sifi S., TATICCHI A., SERVILI M., MONTEDORO G.F. y HAMMAMIA M. 2009. Cultivar and growing area effects on minor compounds of olive oil from autochthonous and European introduced cultivars in Tunisia. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 89: 1314–1325.
- DONOSO J. y LEMUS G. 2017. Clima, cálculo de la acumulación de calor o suma térmica [en línea] Chile <<http://www2.inia.cl/medios/biblioteca/boletines/NR34993.pdf> > [consulta: 2 junio 2017].
- EL RIACHY, M., PRIEGO-CAPOTE, F., LEÓN, L., RALLO, L., LUQUE DE CASTRO, M.D. 2011. Hydrophilic antioxidants of virgin olive oil. Part 2: Biosynthesis and biotransformation of phenolic compounds in virgin olive oil as affected by agronomic and processing factors. *European Journal of Lipid Science and Technology* 113: 692-707.
- FAO, ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN. 2006. Evapotranspiración del cultivo: Guías para la determinación de los requerimientos de agua de los cultivo [en línea] Roma. <<ftp://ftp.fao.org/agl/aglw/docs/idp56s.pdf> > [consulta: 11 noviembre 2016].
- FREGAPANE G. 2013. Production of superior quality extra virgin olive oil modulating the content and profile of its minor components. *Food Research International* 54: 1907–1914.
- FUENTES S., T.K. 2015. Influencia de la Latitud, Prácticas Agronómicas y Variedad de Cultivo en la Evolución de los Compuestos responsables del Flavor de Aceite de Oliva Virgen Extra. Memoria de Ingeniero en Alimentos. Santiago, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. 42 -52p.

- GARCÍA-GONZÁLEZ D.L. Y APARICIO R. 2013. Olive oil characterization and traceability, in Analysis and Properties. En: APARICIO R. Y HARWOOD J. (Eds.). Handbook of Olive Oil, (2da Edición). Estados Unidos. Springer Science + Business Media. pp. 431–478.
- GÓMEZ-ALONSO S., SALVADOR M.D., FREGAPANE G. 2002. Phenolic compounds profile of Cornicabra virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 6812–6817.
- GÓMEZ-RICO A., SALVADOR M.D., LA GRECA M., FREGAPANE G. 2006. Phenolic and volatile compounds of extra virgin olive oil (*Olea europea* L. cv. Cornicabra) with regards to fruit ripening and irrigation management. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 7130–7136.
- GÓMEZ-RICO A., SALVADOR M.D., MORIANA A., PÉREZ D., OLMEDILLA D., RIBAS F. 2007. Influence of different irrigation strategies in a traditional Cornicabra cv. olive orchard on virgin olive oil composition and quality. *Food Chemistry* 100: 568–578.
- GÓMEZ-RICO A., FREGAPANE G., SALVADOR M.D. 2008a. Effect of cultivar and ripening on minor components in Spanish olive fruits and their corresponding virgin olive oils. *Food Research International* 41: 433–440.
- GÓMEZ-RICO R., A. 2008b. Influencia de Factores Agronómicos y Tecnológicos en el Perfil de los Compuestos Fenólicos y Volátiles del Aceite de Oliva Virgen de Calidad. Tesis de Doctor en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Ciudad Real. Universidad de Castilla - La Mancha. Facultad de Ciencias Químicas. Departamento de Química Analítica y Tecnología de los Alimentos. 175-177p.
- GÓMEZ-RICO A., SALVADOR M.D., FREGAPANE G. 2009. Virgin olive oil and olive fruit minor constituents as affected by irrigation management based on SWP and TDF as compared to ETc in medium-density young olive orchards (*Olea europaea* L. cv. Cornicabra and Morisca). *Food Research International* 42: 1067–1076.
- GRANADOS-PRINCIPAL, S., QUILES, J. L., RAMIREZ-TORTOSA, C. L., SANCHEZ-ROVIRA P. 2010. Hydroxytyrosol: from laboratory investigations to future clinical trials. *Nutrition Reviews* 68: 191–206.
- GUTIÉRREZ-ROSALES F., PERDIGUERO S., GUTIÉRREZ R., OLÍAS J.M. 1992. Evaluation of bitter taste in virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 69: 394–395.
- INAREJOS-GARCÍA A.M., SANTACATTERINA M., GÓMEZ-ALONSO S., SALVADOR M.D., FREGAPANE G. 2010. PDO virgin olive oils quality —

- Minor components profiles and organoleptic evaluation. *Food Research International* 43: 2138–2146.
- INGLESE P., FAMIANI F., GALVANO F., SERVILI M., ESPOSTO S., URBANI S. 2011. Factors Affecting Extra-Virgin Olive Oil Composition. *Horticultural Reviews* 38: 83-147.
- ISSAOUI M., FLAMINI G., CHEHAB H., CIONI P.L., BRAHAM M. y HAMMAMI M. 2013. Irrigation regimes and growing area effects on Chétoui olive oil Quality. *Journal of Food Biochemistry* 37: 185–192.
- JIMÉNEZ, A., BELTRÁN, G. 2003. Aplicación de la Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB) en la caracterización del aceite de oliva virgen. *Grasas y Aceites* 54: 403-40.
- KALUA C., ALLEN M., BEDGOOD JR D., BISHOP A., PRENZLER P., ROBARDS K. 2007. Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: A critical review. *Food Chemistry*. 100: 273–286
- KIRALAN M., OZKAN G., KOYLUOGLU F., UGURLU H. A., BAYRAK A., KIRITSAKIS A. 2012. Effect of cultivation area and climatic conditions on volatiles of virgin olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology* 114: 552–557.
- LÓPEZ-MIRANDA J., PEÉREZ-JIMÉNEZ F, ROS E., DE CATERINA R., BADIMÓN L., COVAS M.I, ESCRICH E, ORDOVÁS .J.M. 2010. Olive oil and health: Summary of the II International conference on olive oil and health consensus report, Jaén and Córdoba (Spain) 2008. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* 20: 284-294.
- LUNA G., MORALES M.T., APARICIO R. 2006. Characterisation of 39 varietal virgin olive oils by their volatile compositions. *Food Chemistry* 98: 243–252.
- MAGARIÑOS, C., BAUZÁ, M. 2003. Determinación del color de aceites de oliva vírgenes. *Rev. FCA UNCuyo* 2: 71-76.
- MAGGIO, R., VALLI, E., BENDINI, A., GÓMEZ-CARAVACA, A. M., TOSCHI, T., CERRETANI, L. 2011. A spectroscopic and chemometric study of virgin olive oils subjected to thermal stress. *Food Chemistry* 127: 216–221.
- MATEOS, R., ESPARTERO, J.L., TRUJILLO, M., RÍOS, J.J., LEÓN-CAMACHO, M., ALCUDIA, F., CERT, A. 2001. Determination of phenols, flavones, and lignans in virgin olive oils by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with diode array ultraviolet detection. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 49: 2185-2192.

- MATEOS, R., PEREIRA-CARO, G., GOYA, L., BRAVO, L. 2011. Biodisponibilidad y metabolismo de los compuestos fenólicos del aceite de oliva virgen. *Alimentación, Nutrición y Salud* 18: 2-9.
- MORALES M.T., APARICIO R. 1999. Effect of extraction conditions on sensory quality of virgin olive oil. *Journal American Oil Chemists' Society* 76: 295–300.
- MORALES, M.T. y TSIMIDOU, M. 2003. El papel de los compuestos volátiles y los polifenoles en la calidad sensorial del aceite de oliva. En: APARICIO, R. y HARWOOD J. (Eds.). *Manual del Aceite de Oliva*. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. pp. 381-430.
- MORALES M., LUNA G., APARICIO R. 2005. Comparative study of virgin olive oil sensory defects. *Food Chemistry*. 91: 293–301.
- MORALES, M.T., APARICIO-RUIZ, R. y APARICIO, R. 2013. Chromatographic Methodologies: Compounds for Olive Oil Odor Issues. En: APARICIO, R. y HARWOOD J. (Eds.). *Handbook of Olive Oil*, (2da Edición). Estados Unidos. Springer Science + Business Media. pp. 261-309.
- MORELLÓ J-R., ROMERO M-P., RAMO T., MOTILVA M-J. 2005. Evaluation of L-phenylalanine ammonia-lyase activity and phenolic profile in olive drupe from fruit setting period to harvesting time. *Plant Science* 168:65–72.
- MOYANO, M.J., HEREDIA, F., MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. 2010. The Color of Olive Oils: The Pigments and Their Likely Health Benefits and Visual and Instrumental Methods of Analysis. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 9: 278–291.
- OMAR, S. H. 2010. Oleuropein in olive and its pharmacological effects. *Scientia Pharmaceutica* 78: 133–154.
- ORTÚZAR M.P. 2013. Influencia de la Latitud y la Variedad de Cultivo en la Evolución de los Compuestos Responsables del Flavor (Fenoles y Volátiles) en Aceite de Oliva Extra Virgen. Memoria de Ingeniero en Alimentos. Santiago, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. 29p, 40-59p.
- PATUMI M., D'ANDRIA R., MARSILIO V., FONTANAZZA G., MORELLI G., LANZA B. 2002. Olive and olive oil quality after intensive monocone olive growing (*Olea europaea* L., cv. Kalamata) in different irrigation regimes. *Food Chemistry* 77: 27–34.
- PAUL N. GARDNER COMPANY, INC. 2016. Gardner Liquid Color Standards. [en línea] <https://www.gardco.com/pages/color/liquidcolor_std.cfm>. [consulta: 20 junio 2016]

- PORRAS, A.; CARRERA DE LA COLINA, J.; SORIANO, M.; MURCIA, M. 1995. Olivicultura y Elaiotecnia. España, Colección Estudios. pp. 285-286.
- PROCIDA G., CICHELLI A., LAGAZIO C., CONTE LS. 2016. Relationships between volatile compounds and sensory characteristics in virgin olive oil by analytical and chemometric approaches. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 96: 311–318.
- ROMERO M.P., TOVAR M. J., RAMO T., MOLTIVA M. J. 2003. Effect of crop season on the composition of virgin olive oil with protected designation of origin “Les Garrigues”. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 80:423–430.
- ROMERO N. 2014. Composición química de los aceites de oliva virgen extraídos de las variedades del Banco de Germoplasma de Olivo. En: Levantamiento y procesamiento de información de variedades de olivo con potencial económico para el mejoramiento de la oferta exportable de la industria olivícola nacional. Santiago, Litografía Garín S.A. pp. 41-52.
- ROMERO, N., SAAVEDRA, J., TAPIA, F., SEPÚLVEDA, B. y APARICIO, R. 2016. Influence of agroclimatic parameters on phenolic and volatile compounds of Chilean virgin olive oils and characterization based on geographical origin, cultivar and ripening stage. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 96: 583–592.
- RYAN, D., ANTOLOVICH, M., PRENZLER, P., ROBARDS, K., LAVEE, S. 2002. Biotransformation of phenolic compounds in *Olea europaea* L. *Scientia Horticulturae* 92: 147-176.
- SALAS J., SÁNCHEZ J. 1998. Alcohol Dehydrogenases From Olive (*Olea Europaea*) Fruit. *Phytochemistry*. 48: 35–40.
- SALAS J.J., SÁNCHEZ C., GARCÍA-GONZÁLEZ D.L., APARICIO R. 2005. Impact of the suppression of lipoxygenase and hydroperoxide lyase on the quality of the green odor in green leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 1648–1655.
- SALAS, J.J., HARWOOD, J.L. y MARTÍNEZ-FORCE, E. 2013. Lipid metabolism in olive: Biosynthesis of triacylglycerols and aroma components. En: APARICIO, R. y HARWOOD J. (Eds.). *Handbook of Olive Oil*, (2da Edición). Estados Unidos. Springer Science + Business Media. pp. 97-127.
- SÁNCHEZ J., HARWOOD J. 2002. Biosynthesis of triacylglycerols and volatiles in olives. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 104: 564–573.
- SÁNCHEZ, J. y SALAS, J. 2003. Biogénesis del aroma del aceite de oliva. En: APARICIO, R. y HARWOOD J. (Eds.). *Manual del Aceite de Oliva*. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. pp. 89-91.

- SANCHEZ-ORTIZ A., ROMERO-SEGURA C., GAZDA V., GRAHAM I., SANZ C., PEREZ A. 2012. Factors Limiting the Synthesis of Virgin Olive Oil Volatile Esters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60: 1300–1307.
- SERVILI M., ESPOSTO S., LODOLINI E.M., SELVAGGINI R., TATICCHI A., URBANI S., MONTEDORO G.F., SERRAVALLE M., GUCCI R. 2007. Irrigation effects on quality, phenolic composition and selected volatiles of virgin olive oil cv. Leccino. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55:6609–6618.
- SERVILI M., SORDINI B., ESPOSTO S., URBANI S., VENEZIANI G., DI MAIO I., SELVAGGINI R., TATICCHI A. 2014. Biological Activities of Phenolic Compounds of Extra Virgin Olive Oil. *Antioxidants* 3:1-23.
- SOLER-RIVAS, C., ESPÍN, J.C., WICHERS, H.J. 2000. Oleuropein and related compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 1013-1023.
- TRIPOLI E., GIAMMANCO, M., TABACCHI, G., DI MAJO, D., GIAMMANCO, S., LA GUARDIA, M. 2005. The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Nutrition Research Reviews* 18: 98-112.
- VICHI S., PIZZALE L., CONTE L.S., BUXADERAS S., LOPEZ-TAMAMES E. 2003. Solid-phase microextraction in the analysis of virgin olive oil volatile fraction: Characterization of virgin olive oils from two distinct geographical areas of northern Italy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 6572–6577.
- YOUSSEF N. B., LEÏLA A., YOUSSEF O., MOHAMED S. N., NIZARD D., CHEDLY A., MOKHTAR Z. 2012. Influence of the Site of Cultivation on Chétoui Olive (*Olea europaea* L.) Oil Quality. *Plant Production Science* 15: 228—237.

VII. ANEXOS

Anexo 1. Límites establecidos para algunos de los criterios de calidad en cada denominación.

Tabla 11. Límites establecidos para algunos de los criterios de calidad en cada denominación, según la “Norma Comercial Aplicable a los Aceites de Oliva y los Aceites de Orujo de Oliva” del Consejo Oleícola Internacional (COI, 2015).

	Aceite de oliva virgen extra	Aceite de oliva virgen	Aceite de oliva virgen corriente	Aceite de oliva virgen lampante	Aceite de oliva refinado	Aceite de oliva	Aceite de orujo de oliva crudo	Aceite de orujo de oliva refinado	Aceite de orujo de oliva
Acidez libre % m/m expresada en ácido oleico	≤ 0,8	≤ 2,0	≤ 3,3	> 3,3	≤ 0,3	≤ 1,0	no limitada	≤ 0,3	≤ 1,0
Índice de peróxidos en meq. de oxígeno de los peróxidos por kg de aceite	≤ 20	≤ 20	≤ 20	no limitado	≤ 5	≤ 15	no limitado	≤ 5	≤ 15
Absorbancia en UV (K 1% 1cm)									
- 270 nm	≤ 0,22	≤ 0,25	≤ 0,30		≤ 1,10	≤ 0,90		≤ 2,00	≤ 1,70
- ΔK	≤ 0,01	≤ 0,01	≤ 0,01		≤ 0,16	0,15		≤ 0,20	≤ 0,18
- 232 nm	≤ 2,50	≤ 2,60							

Anexo 2. Latitudes estudiadas.

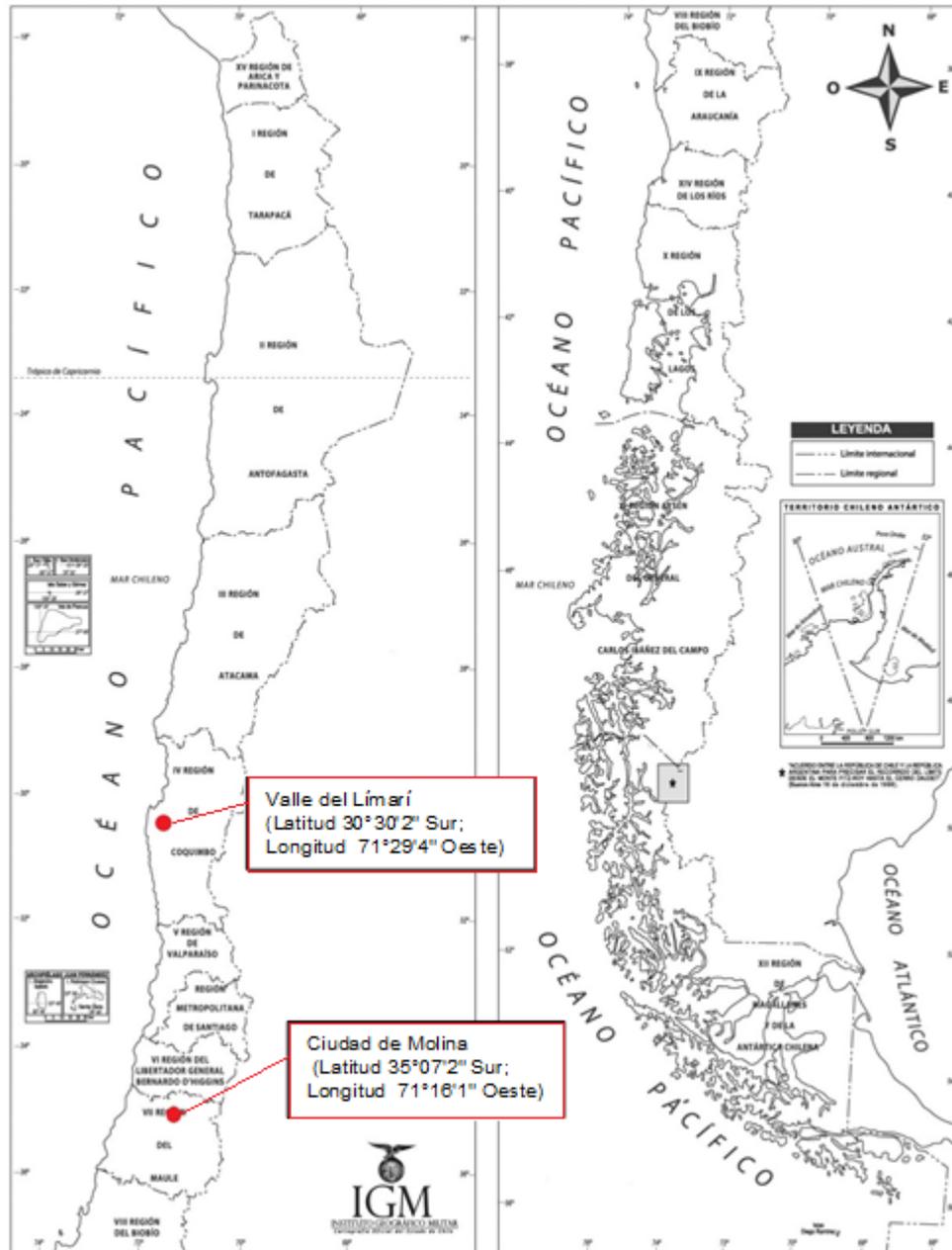


Figura 18. Zonas geográficas que corresponde a las dos latitudes estudiadas.

Anexo 3. Datos agronómicos de las dos latitudes estudiadas.

Tabla 12. Información agronómica de las precipitaciones (mm), riego (m³) y Eto acumulada (mm) de acuerdo a las tres variables estudiadas.

E	Variedad	Zona de cultivo	Eto* mm acumulada	Pp mm	Riego (m3/hectaria)	Dias Grado (Dg) 12,5°C	
E2	Koroneiki	Limari	886,1	5,7	3096,8	1074,2	
E3			904,8	5,7	3096,8	1110,4	
E4			962,3	5,7	3488,8	1165,8	
E5			1012,1	5,7	3803,4	1233,4	
E6			1024,9	5,7	3803,4	1244,1	
E7			1036,7	5,7	3803,4	1247,5	
E2			Arbequina	886,1	5,7	3096,8	1074,2
E3	962,3			5,7	3488,8	1165,8	
E4	1012,1			5,7	3803,4	1233,4	
E5	1024,9			5,7	3803,4	1244,1	
E6	1036,7			5,7	3803,4	1247,5	
E7	s.d.**			5,7	3920,0	s.d.	
E2	Arbosana			962,3	5,7	3488,8	1165,8
E3			1012,1	5,7	3803,4	1233,4	
E4			1024,9	5,7	3803,4	1244,1	
E5			1036,7	5,7	3803,4	1247,5	
E6			s.d.	5,7	3920,0	s.d.	
E7			1058,5	44,0	3920,0	1254,8	
X̄					18,5	3881,1	1249,9
E2	Koroneiki		Molina	499,4	349,2	6068,0	947,3
E3				512,1	349,4	6068,0	949,2
E4		523,9		350,8	6068,0	961,4	
E5		529,6		351,4	6174,0	961,8	
E2		Arbequina		499,4	349,2	6068,0	947,3
E3	512,1			349,4	6068,0	949,2	
E4	523,9			350,8	6174,0	961,4	
E5	529,6			351,4	6174,0	961,8	
E6	549,0			470,0	6174,0	963,1	
E2	Arbosana	523,9		350,8	6174,0	961,4	
E3		529,6		351,4	6174,0	961,8	
X̄				390,9	6174,0	962,2	

*Eto: Evapotranspiración del cultivo de referencia.
**s.d.: sin datos

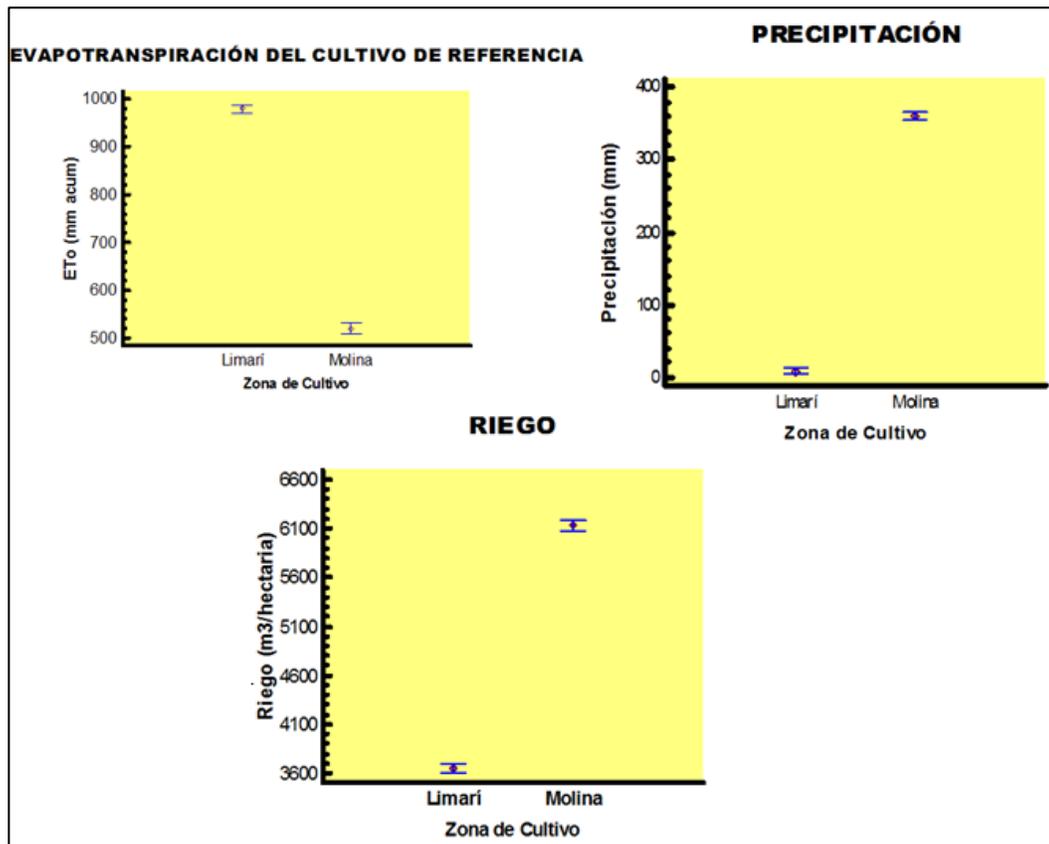


Figura 19. Gráficos de medias y diferencias significativas para datos agronómicos de las dos latitudes estudiadas.

Anexo 4. Gradiente de elución fase móvil utilizado en HPLC para la determinación de compuestos fenólicos.

Tabla 13. Gradiente de elución fase móvil utilizado en HPLC.

Tiempo	Flujo (ml/min)	% Fase Móvil A	% Fase Móvil B
0	1	95	5
25	1	70	30
35	1	62	38
40	1	62	38
45	1	55	45
50	1	47,5	52,5
55	1	0	100
60	1	0	100
61	1	95	5
71	1	95	5

Anexo 5. Gráficos de medias para Acidez Libre.

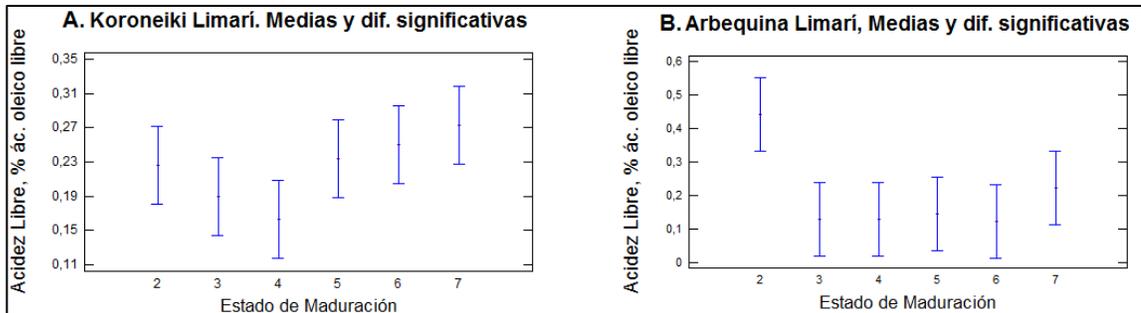


Figura 20. Gráficos de medias y diferencias significativas entre estados de maduración para Acidez Libre en localidad de Limari, variedad Koroneiki (A) y Arbequina (B).

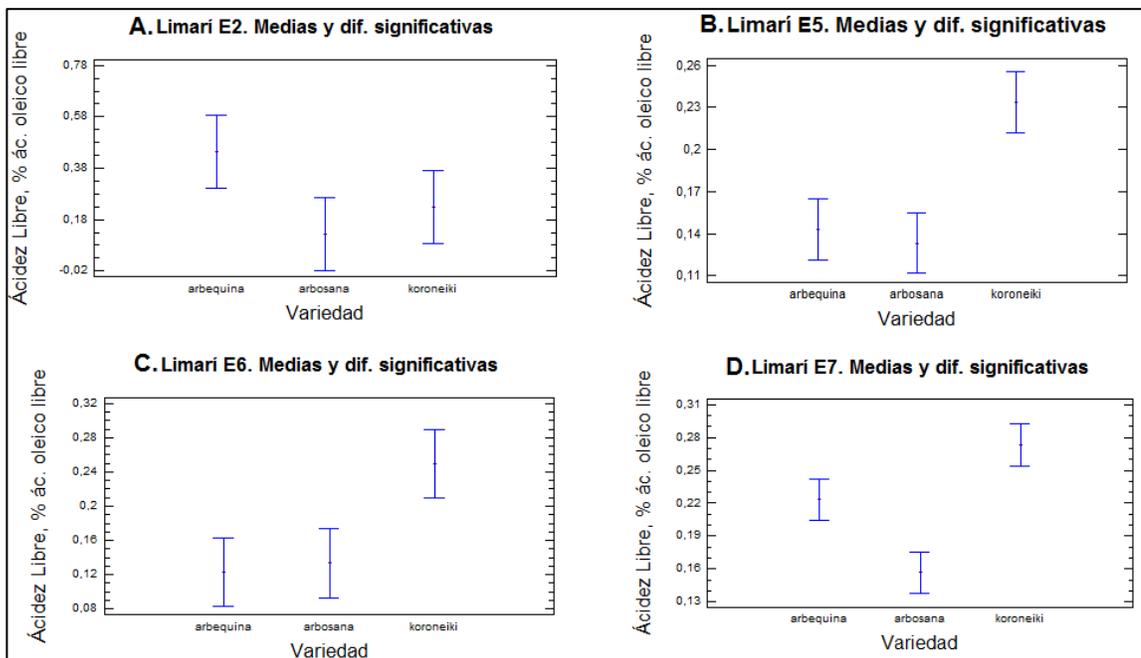


Figura 21. Gráficos de medias y diferencias significativas entre variedades para Acidez Libre en localidad de Limari, E2 (A), E5 (B), E6 (C) y E7 (D).

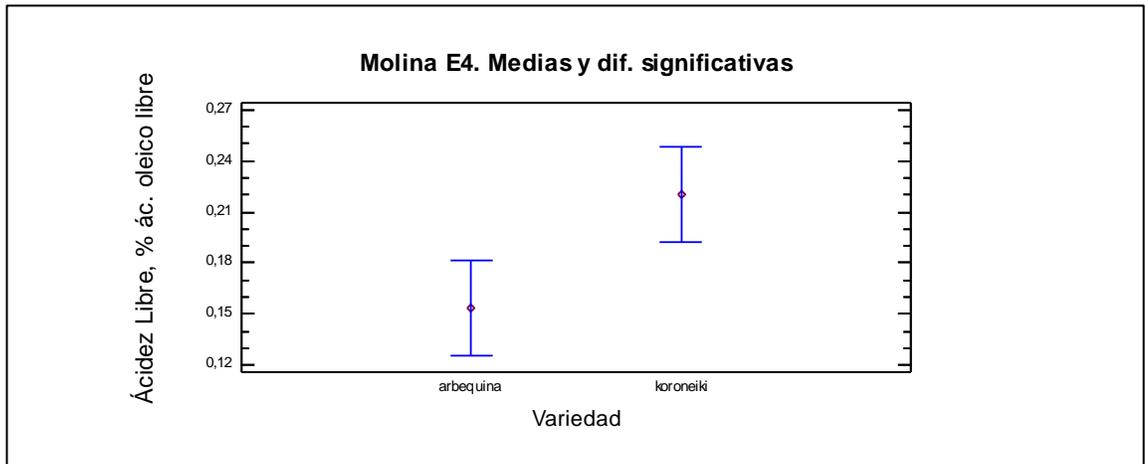


Figura 22. Gráfico de medias y diferencias significativas entre variedades para Acidez Libre en localización de Molina E4.

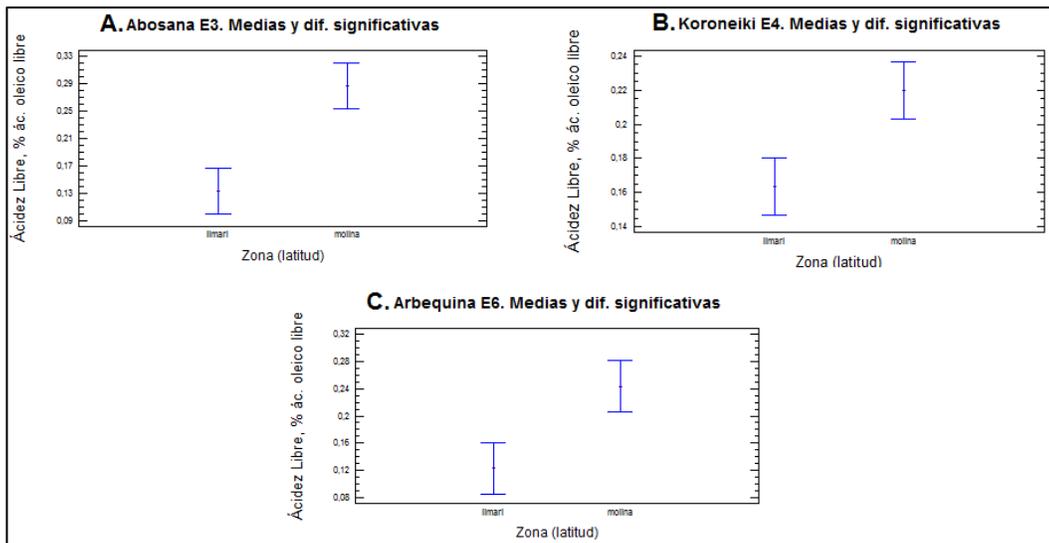


Figura 23. Gráficos de medias y diferencias significativas entre latitudes para Acidez Libre en Arbosana E3 (A), Koroneiki E4 (B) y Arboquina E6.

Anexo 6. Gráficos de medias para Índice de Peróxidos.

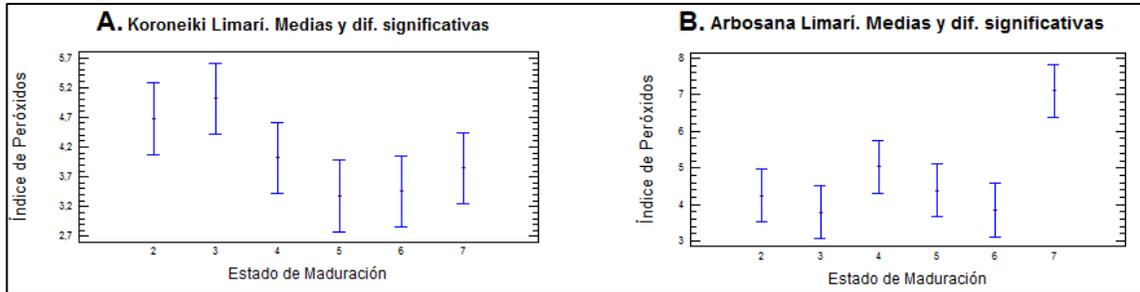


Figura 24. Gráficos de medias y diferencias significativas entre estados de maduración para Índice de Peróxidos en localidad de Limarí, variedad Koroneiki (A) y Arbosana (B).

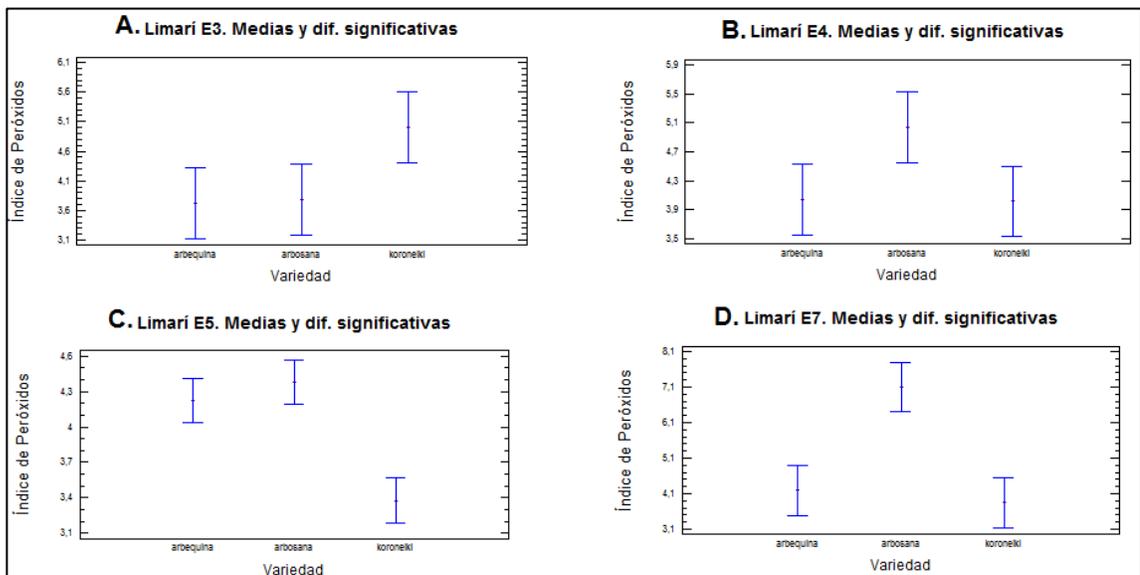


Figura 25. Gráficos de medias y diferencias significativas entre variedades para Índice de Peróxidos en localidad de Limarí, E3 (A), E4 (B), E5 (C) y E7 (D).

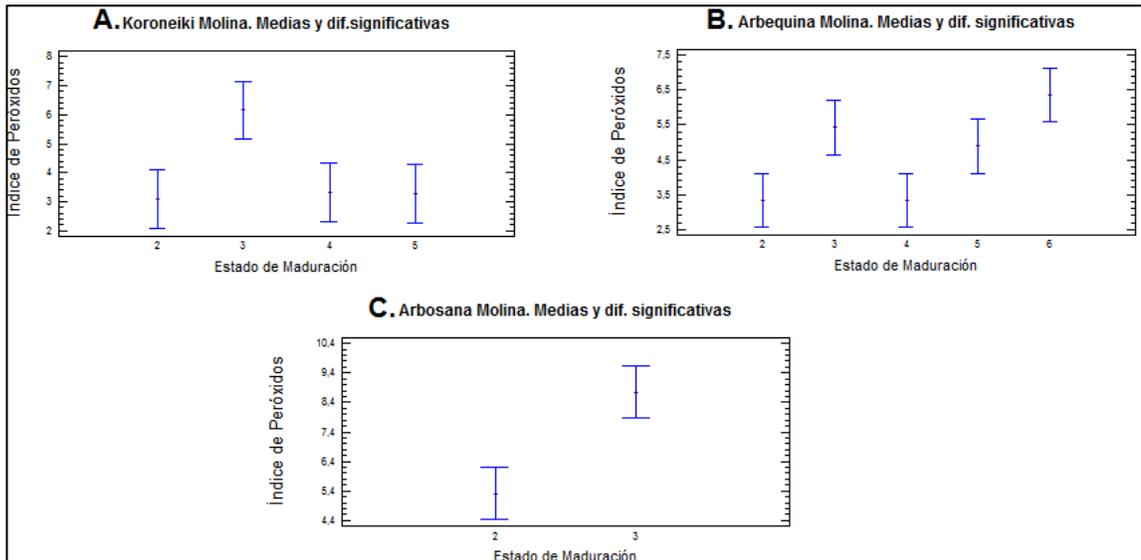


Figura 26. Gráficos de medias y diferencias significativas entre estados de maduración para Índice de Peróxidos en localidad de Molina, variedad Koroneiki (A), Arbequina (B) y Arbosana (C).

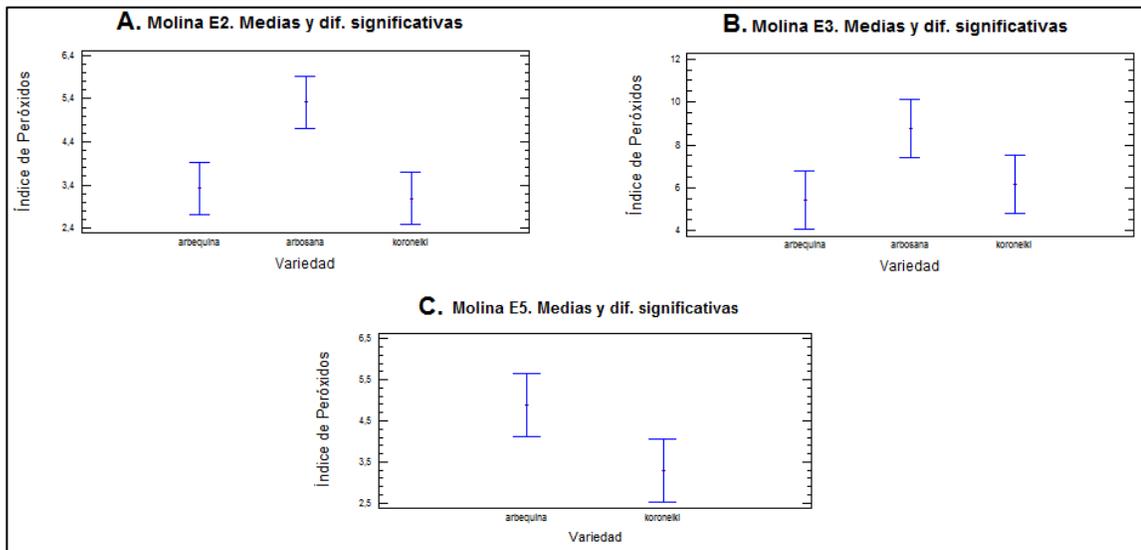


Figura 27. Gráficos de medias y diferencias significativas entre variedades para Índice de Peróxidos en localidad de Molina, E2 (A), E3 (B) y E5 (C).

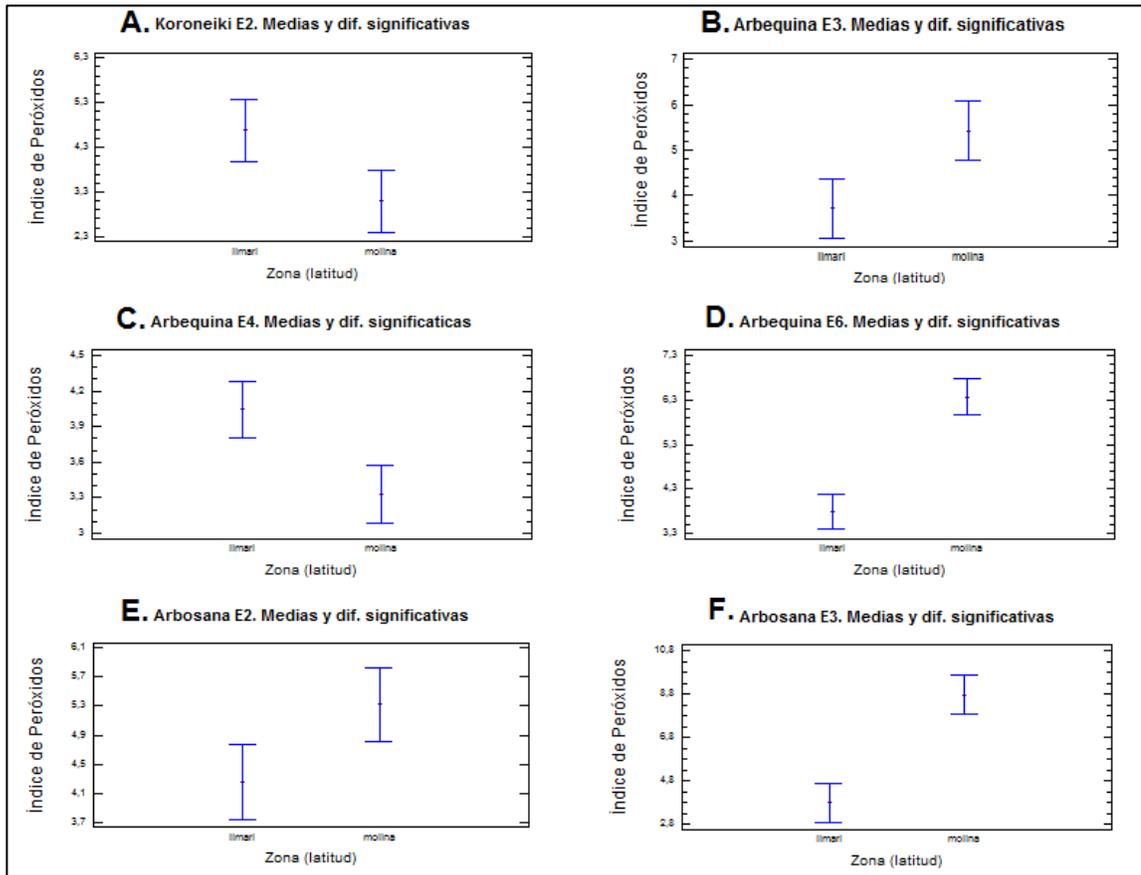


Figura 28. Gráficos de medias y diferencias significativas entre latitudes para Índice de Peróxidos en Koroneiki E2 (A), Arbequina E3 (B), Arbequina E4, Arbequina E6, Arbosana E2 y Arbosana E3.

Anexo 7. Escala Color Gardner.

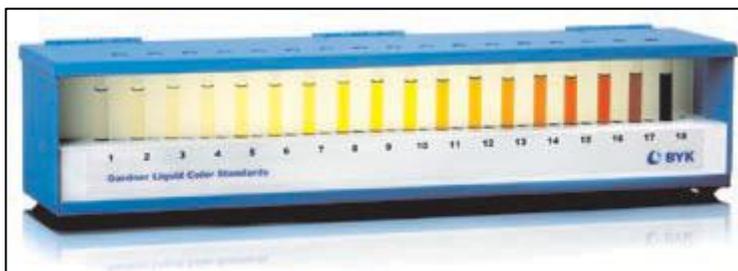


Figura 29. Escala de color Gardner. Los colores van desde blanco agua (Gardner 1) a través de amarillo a marrón (Gardner 18), (Paul N. Gardner Company, Inc, 2016).