



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

**CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL ACEITE DE OLIVA  
VIRGEN EXTRA DE 18 VARIEDADES PRESENTES EN EL  
BANCO DE GERMOPLASMA DE JUNÍN**

Ing. Agr. ADRIANA PAMELA BANCO

Tesis para optar al grado académico de  
Magister en Cultivos Intensivos

Directora: Dra. VIVIANA JOFRÉ

Co-director: Dr. NORBERTO GARIGLIO

Asesor: Dr. EDUARDO TRENTACOSTE

ESPERANZA, SANTA FE

Año: 2017

*A mis viejos...*

*Děkuju!*



## **Agradecimientos**

*Esta tesis ha sido financiada por el Instituto Nacional de Tecnologías Agropecuarias a través del Proyecto Regional con Enfoque Territorial 1251408 y los Proyectos Nacionales 1130043 y 1130041.*

*A la Dra. Viviana Jofré (directora de la tesis), por fortalecer mi carácter y a mis compañeros del laboratorio de Aromas de INTA Luján, por compartir sus conocimientos conmigo.*

*Al Dr. Norberto Gariglio (co-director de la tesis) que a pesar de la distancia siempre estuvo presente, por sus valiosas críticas y por su calidez humana.*

*Al Laboratorio de Aceites INTA San Juan, al Instituto de Biología Agrícola de Mendoza y al Laboratorio de la Municipalidad de Junín.*

*Al Dr. Eduardo Trentacoste y al M.Sc. Carlos Puertas*

*“Cada persona brilla con luz propia entre todas las demás. No hay dos fuegos iguales. Hay fuegos grandes y fuegos chicos y fuegos de todos los colores. Hay gente de fuego sereno, que ni se entera del viento, y gente de fuego loco, que llena el aire de chispas. Algunos fuegos, fuegos bobos, no alumbran ni queman; pero otros arden la vida con tantas ganas que no se puede mirarlos sin parpadear, y quien se acerca, se enciende”.*

*Ustedes son de esos fuegos, que motivan, acompañan, alientan y como dice Galeano, quien se acerca se enciende...de corazón MUCHAS GRACIAS!!!*

*A todos mis amigos y compañeros del INTA y especialmente a Octavio Contreras, María González, Walter Galarza, Vanesa Lucero y Osvaldo Gómez...Gracias por las risas compartidas y por hacer de la temporada unos meses tan agradables.*

*Al Ing. Agr. Guillermo Salvarredi....Gracias por tus sabios consejos!*

*A mi padres por su apoyo incondicional, porque me enseñaron con el ejemplo los valores que hoy tengo, por la educación que me dieron, y que hoy me da la posibilidad de vivir de lo que más me gusta. A mi hermano por convertirme en tía y a mis sobrinos por llenar de alegría e inocencia nuestras vidas y especialmente a mi hermana por estar en cada pequeño detalle...siempre! A todos ellos eternamente GRACIAS!!!*

*Y por último, pero no menos importante, a Javier...gracias por elegir transitar conmigo este momento de la vida. TE AMO...*

*“Ojalá podamos tener el coraje de estar solos y la valentía de arriesgarnos a estar juntos”.*

*“A los que buscan aunque no encuentren,  
a los que avanzan aunque se pierdan,  
a los que viven aunque se mueran”*

*Eduardo Galeano*

# Índice

<b>1. RESUMEN.....</b>	<b>7</b>
1.1. SUMMARY.....	10
<b>2. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>12</b>
2.1. EL OLIVO, OLEA EUROPAEA L.....	13
2.2. PANORAMA VARIETAL.....	13
2.3. IMPORTANCIA DEL CONSUMO DEL ACEITE DE OLIVA VIRGEN EXTRA.....	15
2.4. CALIDAD NUTRACÉUTICA DEL ACEITE DE OLIVA VIRGEN EXTRA.....	16
2.5. COMPUESTOS FENÓLICOS Y CALIDAD NUTRACÉUTICA DEL ACEITE DE OLIVA VIRGEN EXTRA.....	17
2.6. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS.....	18
2.7. ORIGEN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS.....	19
2.8. HIPÓTESIS.....	23
2.9. OBJETIVO GENERAL.....	23
2.10. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>24</b>
3.1. SITIO, MATERIAL VEGETAL Y DISEÑO EXPERIMENTAL.....	25
3.2. COSECHA DE ACEITUNAS.....	25
3.3. EXTRACCIÓN DE ACEITE.....	27
3.4. MEDICIONES REALIZADAS EN LOS FRUTOS.....	28
3.4.1. <i>Índice de madurez</i> .....	29
3.4.2. <i>Relación pulpa-carozo</i> .....	29
3.4.3. <i>Peso medio y humedad de los frutos</i> .....	30
3.4.4. <i>Materia grasa</i> .....	30
3.5. MEDICIONES REALIZADAS EN LOS ACEITES.....	31
3.5.1. <i>Acidez libre</i> .....	31
3.5.2. <i>Estabilidad oxidativa</i> .....	31
3.5.3. <i>Fenoles totales</i> .....	32
3.5.4. <i>Índices de extinción (<math>K_{232}</math> y <math>K_{270}</math>)</i> .....	32
3.5.5. <i>Composición fenólica</i> .....	33
3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	35

<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>36</b>
4.1. PARÁMETROS EVALUADOS EN LOS FRUTOS .....	37
4.1.1. <i>Índice de madurez</i> .....	37
4.1.2. <i>Peso de los frutos y relación pulpa/carozo</i> .....	39
4.1.3. <i>Humedad y materia grasa de los frutos</i> .....	42
4.2. CARACTERÍSTICAS DE LOS ACEITES DE OLIVA VIRGEN EXTRA .....	44
4.2.1. <i>Caracterización general de los aceites</i> .....	44
4.2.1.1. <i>Rendimiento industrial</i> .....	44
4.2.1.2. <i>Acidez libre</i> .....	45
4.2.1.3. <i>Estabilidad oxidativa</i> .....	47
4.2.1.4. <i>Coefficiente de extinción K</i> .....	49
4.2.2. <i>Caracterización fenólica de los aceites</i> .....	52
4.2.2.1. <i>Compuestos fenólicos totales</i> .....	52
4.2.2.2. <i>Composición fenólica de los aceites</i> .....	53
4.3. CARACTERÍSTICAS AMBIENTALES DE LA COLECCIÓN DE OLIVOS.....	65
<b>5. DISCUSIÓN .....</b>	<b>66</b>
5.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS FRUTOS.....	67
5.2. CARACTERÍSTICAS DE LOS ACEITES .....	70
5.2.1. <i>Caracterización general de los aceites</i> .....	70
5.2.2. <i>Caracterización fenólica de los aceites</i> .....	72
5.3. CARACTERÍSTICAS AMBIENTALES DE LA COLECCIÓN DE OLIVOS.....	78
<b>6. CONCLUSIONES .....</b>	<b>80</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>83</b>

## **1. RESUMEN**

En la actualidad, en Argentina se cultiva un escaso número de variedades de olivo. Éstas fueron introducidas por los inmigrantes europeos, quienes imitaban las tradiciones de su lugar de origen. En nuestro país, algunas de esas variedades tienen bajo rendimiento industrial y otras dan aceites de escasa conservación. Un aumento de la diversidad de cultivares, podría mejorar la calidad de los aceites argentinos. Mendoza cuenta con un Banco de Germoplasma de Olivo con 74 variedades, que han sido evaluadas por sus características agronómicas. Sin embargo, estas variedades aún no han sido evaluadas en términos de la calidad de aceite.

El objetivo del presente trabajo fue identificar variedades de la colección de germoplasma de olivo de Mendoza, a partir de características de los frutos y sus aceites, que permitan obtener aceite de oliva virgen con alta calidad, para las condiciones ambientales de Mendoza.

En las temporadas 2013/2014 y 2014/2015 se evaluaron 18 variedades de la colección de olivos, seleccionadas por su alto contenido de materia grasa y bajo porcentaje de humedad. Durante los meses de abril y mayo se cosecharon 20 kg por planta (tres repeticiones por variedad). Sobre 2kg de aceitunas se determinó en los frutos el índice de madurez, relación pulpa/carozo, peso medio, humedad del fruto y materia grasa. El aceite se extrajo en un plazo menor a 24 h desde cosecha. Mediante un sistema continuo de dos fases y en frío, 15 kg por muestra fueron molidos y amasados durante 40 minutos. Luego por centrifugado, el aceite fue separado del agua y de los restos vegetales, para ser recolectado en bidones. Al cabo de dos semanas se filtró, se envasó y se almacenó al reparo de la luz y las altas temperaturas hasta su análisis. En el aceite se determinó el rendimiento industrial, acidez, estabilidad oxidativa, compuestos fenólicos totales, índices de extinción y perfil fenólico.

Las variedades mostraron diferencias significativas para todos los caracteres evaluados en los frutos. Se destacaron ‘Cucci’ por presentar alta materia grasa (62%) y alto peso del fruto (7,75g), ‘Criolla Salvarredi’ alta relación pulpa/carozo (9,05) y ‘Genovesa’ y ‘Farga’ baja humedad del fruto (46%). La relación pulpa/carozo y la materia grasa resultaron además significativamente diferente para el efecto año y la interacción variedad x año. El peso de los frutos mostró deferencias significativas para el efecto año, y el índice de madurez sólo para la

interacción variedad x año. Todas las variedades presentaron aceites de calidad “virgen extra” según el Consejo Oleícola Internacional (acidez < 0,8% ácido oleico). Al igual que en los frutos, las variedades mostraron diferencias para todos los parámetros evaluados en el aceite. Se destacaron ‘Villalonga’ por el alto rendimiento industrial (18%), ‘Canino’ por un alto contenido de fenoles totales (440,64 ppm) y ‘Nevadillo Blanco’ por la mayor estabilidad oxidativa (20,74 h). La interacción variedad x año también resultó significativa para todos los parámetros evaluados en el aceite. Mientras que el rendimiento industrial y el contenido total de fenoles fueron influenciados por el año. La estabilidad oxidativa se correlacionó negativa y significativamente con el ácido p-cumárico ( $r = -0,78$ ), mientras el índice de madurez se relacionó positivamente con el hidroxitirosol ( $R^2 = 0,45$ ) y negativamente con el tirosol ( $R^2 = -0,41$ ).

Todos los compuestos fenólicos variaron significativamente respecto de la variedad y del año, excepto el ácido cafeico. En promedio para los dos años, ‘Canino’ presentó en su aceite el mayor contenido de tirosol (69,70 ppm) e hidroxitirosol (5.13 ppm), Cucci de oleuropeína (9,46 ppm) y ácido vanílico (1,21 ppm), ‘Piangente’ de rutina (1,49 ppm), ‘Arauco’ de catequina (5,39 ppm), ‘Nevadillo Blanco’ de ácido cinámico (3,88 ppm), ‘Farga’ de ácido siríngico (3,47 ppm), ‘Selección N°1’ de apigenina (8,15 ppm) y quercetina (31,72 ppm), y ‘Criolla Salvarredi’ de ácido p-cumárico (28,47 ppm). ‘Jabaluno’ fue el único aceite que presentó ácido gálico (0,34 ppm).

Las 18 variedades presentaron diferencias cuantitativas y cualitativas en todas las características evaluadas tanto en los frutos como en los aceites. En base a los resultados obtenidos en el presente trabajo, se destacaron cinco variedades (‘Nebbio’, ‘Villalonga’, ‘Piangente’, ‘Canino’ y ‘Nevadillo Blanco’) por presentar alto rendimiento industrial, prolongada estabilidad oxidativa y alto contenido fenólico.

**Palabras claves:** *Olea europaea* L., AOVE, índice de madurez, perfil fenólico, provincia de Mendoza.

## 1.1. Summary

Nowadays, in Argentina only a few varieties of olive are cultivated. European immigrants, who imitated their local traditions, introduced those varieties. In our country, some varieties has low industrial yield or bad conservation of their olive oils. Increasing cultivars diversity could improve the Argentinian olive oil quality. Mendoza has an Olive Germplasm Bank with 74 varieties, however these varieties have been evaluated agronomically but not in terms of oil quality.

The aim of this work was to evaluate fruit and oil characteristic in olive varieties included in Mendoza's Olive Germplasm Collection to identify those with high quality virgin olive oil for local environmental conditions. Eighteen varieties from the collection, selected previously by their high oil content and low percentage of humidity, were evaluated during two growing seasons (2013-2014 and 2014-2015). During April and May, a sample of 20 kg per plant were harvested (three replications for variety). The maturity index, pulp / stone ratio, average weight, water content and oil content were determined on a sample of 2 kg of olives fruit. The oil was extracted within 24 hours after harvest. Fruit samples of 15 kg were milled and kneaded for 40 minutes using a continuous two-phase and cold system. Then, the oil was centrifuged and separated from water and vegetable remains, and collected in drums. After two weeks, oil was filtered and stored in darkness and low temperature until their analysis. Oil industrial yield, free acidity, oxidative stability, total phenolic compounds content, extinction rates and phenolic profile were determined in each oil sample.

Varieties were significantly different for all fruit characteristics evaluated. 'Cucci' showed both the highest oil content (62%) and fruit weight (7,75g), while 'Criolla Salvarredi' had the highest pulp / stone ratio (9.05), and 'Genovesa' and 'Farga' the lowest humidity percentage (46%). The pulp / stone ratio and oil content were also significantly different between the years and year x variety interaction. Fruit weight was significantly affected by year conditions and maturity index by year by variety interaction. The oils obtained from all varieties were classified



as "extra virgin" quality, according to the International Olive Council (i.e. acidity <0.8% oleic acid). Similar to fruit characteristics, varieties were significantly different for all the oil parameters evaluated. Villalonga showed the highest industrial yield (18%), 'Canino' had the highest total phenol content (440.64 ppm) and Nevadillo Blanco the greatest oxidative stability (20.74 h). All the oil parameters were significantly affected by the year x variety interaction. While industrial yield and total phenol content were influenced by year. Oxidative stability was negative and significantly correlated to p-coumaric acid content ( $r = -0.78$ ), while maturity index was positively related to hydroxytyrosol ( $R^2 = 0.45$ ) and negatively to tyrosol ( $R^2 = -0.41$ ).

All phenolic compounds were significantly influenced by variety and year conditions, except caffeic acid. On average for two years, 'Canino' presented the highest contents of tyrosol (69.70 ppm) and hydroxytyrosol (5.13 ppm), 'Cucci' had the highest oleuropein (9.46 ppm) and vanillic acid content (1.21 ppm), 'Piangente' had the highest rutine content (1.49 ppm), 'Arauco' had the highest catechin content (5.39 ppm), 'Nevadillo Blanco', the highest cinnamic acid content (3.88 ppm), 'Farga', the highest sirinyc acid content (3,47 ppm) 'Selection N° 1', the highest content of both apigenin (8.15 ppm) and quercetin (31.72 ppm) and 'Criolla Salvarredi' had the highest p-coumaric acid content (28.47 ppm). 'Jabaluno' was the only one oil containing gallic acid (0.34 ppm).

The 18 olive varieties showed quantitative and qualitative differences in all evaluated characteristics in fruit and virgin oil. Based on the results obtained in this work, five varieties were selected ('Nebbio', 'Villalonga', 'Piangente', 'Canino' and 'Nevadillo Blanco') due to high industrial yield, prolonged oxidative stability and high phenolic content.

**Keywords:** *Olea europaea* L, EVOO, phenol profile, maturity index, Mendoza province

## **2. INTRODUCCIÓN**

## **2.1. *El olivo, Olea europaea L.***

Su origen no se conoce con exactitud, pero se especula desde la zona sur del Cáucaso hasta Irán, llegando a la costa mediterránea de Siria. Desde allí podrían haber salido los primeros ejemplares, expandiendo su frontera junto a una de las civilizaciones más antiguas - Los fenicios. Existen indicios del olivo en los registros de numerosas culturas: en petroglifos egipcios, en el arte micénico de los griegos, en numerosas oportunidades en la biblia, incluso unos 3.000 años a.c., Creta ya exportaba aceite de oliva a los egipcios (101). Con la colonización de América se introdujo el cultivo del olivo al continente, pero fue gracias a su plasticidad que logró adaptarse a los distintos ambientes. Así, actualmente se reconocen variedades naturalizadas “criollas”, en el continente americano como ‘Arauco’ en Argentina y ‘Mission’ en Estados Unidos.

El olivo es una especie perenne, cuyas hojas pueden vivir entre 2-3 años. Presenta una elevada tolerancia al frío (20) y se caracteriza por ser un árbol “vecero”, es decir que presenta alternancias en la producción (130). El fruto es una drupa, conocido vulgarmente como “aceituna”. Al momento de cosecha, la aceituna está formada en un 70-90 % por el mesocarpo (pulpa), en un 9-27 % por el endocarpo (carozo) y en un 2-3 % por la semilla. El mesocarpo está constituido principalmente en un 60 % por agua y 30 % de aceite, luego le siguen azúcares (4 %), proteínas (3 %) y por último fibras y cenizas. El endocarpo está formado por un 10 % de agua, 30 % de celulosa, 40 % otros carbohidratos y aproximadamente 1 % de aceite. La semilla en cambio, tiene 30 % de agua, 27 % de aceite, 27% de carbohidratos y 10 % de proteínas (43). Es decir que una aceituna promedio contiene aproximadamente un 25% de aceite.

## **2.2. *Panorama varietal***

Mundialmente, existen alrededor de 2000 variedades de olivo, la mayoría de origen mediterráneo, con cualidades para distintos fines tales como para aceite, mesa, o doble propósito. En la actualidad, sólo un reducido porcentaje se utiliza en cultivos comerciales.

Esto se debe a que los colonizadores trajeron a América un limitado número de cultivares, influenciados por sus propias experiencias locales. En Argentina, el olivo se adaptó a las condiciones de distintas regiones, sin embargo, su explotación se llevó a cabo con las mismas técnicas que se usaban en Europa, incluyendo la obtención del AOVE. En la elección varietal se repitió el mismo patrón y debido a ello, en la actualidad las variedades más difundidas en Argentina son ‘Arbequina’, ‘Arbosana’, ‘Barnea’, ‘Changlot Real’, ‘Coratina’, ‘Empeltre’, ‘Farga’, ‘Frantoio’, ‘Hojiblanca’, ‘Manzanilla’ y ‘Picual’, todas de origen europeo. La única variedad criolla y de gran difusión en el país es ‘Arauco’.

Debe destacarse que para alcanzar el mejor potencial de una variedad es importante relacionar las características de ésta con las zonas de producción. En este sentido Trentacoste y Puertas (123) llevaron a cabo una caracterización morfológica y agronómica en 74 variedades de la Colección Olivícola de Mendoza (COM). Según estos autores, un grupo de 25 variedades de la COM se destacaron por tener frutos con baja concentración de agua y alta concentración de aceite en la madurez, lo que podría relacionarse con un alto rendimiento industrial de aceite. Existe un limitado número de antecedentes sobre las características químicas de los aceites de las principales variedades difundidas en la provincia de Mendoza y en Argentina (38, 82, 83, 105, 120). Sin embargo, la calidad del aceite de las variedades preseleccionada y tradicionalmente no cultivadas no ha sido estudiada. Por lo tanto, resulta fundamental el estudio de las propiedades nutraceuticas de variedades tradicionales y no tradicionales de la provincia, para la selección de variedades adaptadas a la zona Este de Mendoza.

A nivel mundial, la caracterización química de los aceites de oliva lleva varias décadas. Por ello existen diversos estudios acerca de la composición de los AOVE, de cómo interviene cada compuesto en las cualidades sensoriales y qué factores afectan su presencia (37, 78, 86). Numerosos estudios demuestran la influencia ambiental sobre el cultivo de olivo y sus características. Ceci y col. (38) evaluando 8 variedades en 4 provincias de la Argentina, determinaron que ‘Arbequina’ (principal variedad de Arbeca-España) presentaba la peor

adaptación local. Esto demuestra, la importancia de evaluar variedades preseleccionadas localmente, en función de potenciales atributos nutraceuticos (por ejemplo: perfil fenolico).

### ***2.3. Importancia del consumo del aceite de oliva virgen extra***

En el año 2013, el consumo mundial de aceite de oliva virgen extra (AOVE) ocupó el noveno lugar (4,96 %), muy por debajo del consumo de otros aceite vegetales como palma (89,4 %), soja (68,0 %), colza (40,2 %), girasol (24,3 %) y palmiste (9,7 %) según la Bolsa de Comercio de Rosario (33). Sin embargo, según el Consejo Oleícola Internacional (COI) (42), en 24 años el consumo mundial de AOVE ha experimentado un importante incremento (183 %), pasando de 1.666.500 T (90/91) a 3.056.500 T (13/14). Este aumento puede deberse a una mayor información del consumidor, sobre las propiedades nutraceuticas de los aceites. Estudios recientes (97, 109, 137) han destacado atributos en el aceite de oliva relacionados con una mejora en la salud. En consecuencia, el aceite de oliva dejó de ser usado sólo en ungüentos y recetas caseras, para ser reconocido en muchos países como un alimento saludable. Otro de los motivos que explica el incremento del consumo de AOVE es la introducción de este aceite en la dieta diaria de países asiáticos. Actualmente países como China, Indonesia, India tienen un consumo promedio anual de AOVE de 0.01 l hab<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> (71) y aunque el consumo per cápita es reducido, estos países concentran al 61 % de la población mundial (4.140 millones de habitantes). A modo de ejemplo, si el consumo asiático per cápita experimentara un aumento de tan sólo 10 ml anuales, la producción demandaría más de 40 mil toneladas de aceite.

El incremento en el consumo ha provocado un aumento importante de la producción mundial de aceite. Según el COI, en los últimos 57 años, la producción mundial de aceite de oliva experimentó un notable aumento, alcanzando 3 millones de toneladas aproximadamente, en la temporada 2015/2016. Asimismo, este incremento progresivo de consumo a nivel mundial, exigió a la producción expandir las fronteras del cultivo el olivo fuera de la cuenca del

mediterráneo, llegando a cultivarse intensivamente en países como Argentina, Australia, Chile y Estados Unidos (56).

La inmigración de principios del siglo XX trajo a Argentina los cultivos del olivo y la vid, que eran usados para consumo familiar. En esos tiempos la agricultura era el principal recurso económico, por lo que la industrialización de estos productos no tardó en llegar. En la actualidad, el olivo es uno de los cultivos frutales más importantes de los sistemas agrícolas intensivos de nuestro país. El consumo anual promedio de aceite de oliva virgen extra es de 0.15 l hab<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup>. Este valor es casi 67 veces menor al consumo de países europeos como España, Grecia o Italia (71). La producción nacional promedio, de los últimos 10 años, ronda las 14.000 t, representando sólo el 0,7 % de la producción mundial (92). La olivicultura nacional ocupa un total de 110.000 ha (100) entre variedades aceiteras y de mesa, con mayor importancia en la provincia de Catamarca (26 %), La Rioja (24 %), Mendoza (21 %) (18) y San Juan (19 %). La superficie restante se encuentra en las provincias de Córdoba y el sur de Buenos Aires.

En Mendoza, el olivo tradicionalmente ha sido considerado como un frutal secundario. Sin embargo, en los últimos 20 años la provincia ha experimentado una importante expansión de la superficie cultivada, pasando de 14.000 a 29.000 ha en el año 2015 (46). Si bien no existen datos actuales del consumo per cápita de AOVE de la provincia, se estima similar al promedio nacional.

#### **2.4. *Calidad nutracéutica del aceite de oliva virgen extra***

Según el COI, el aceite de oliva se define como el zumo oleoso extraído del fruto del olivo, únicamente por procesos mecánicos y/o físicos en condiciones, principalmente térmicas, que no produzcan la alteración del aceite, ni afecten al contenido o la calidad de sus componentes y cuyas demás características correspondan a las normas fijadas (62).

Por definición, el aceite de oliva virgen es el único aceite vegetal no refinado empleado en el consumo. El procesamiento basado sólo en prensado y centrifugación, sin el uso de solventes

orgánicos, hace que los aceites conserven los atributos que le aportan la variedad, el ambiente (clima, suelo) y el manejo del cultivo (riego, fertilización). En contraste, los aceites vegetales de semilla son alterados durante el proceso de refinado, perdiendo muchos de los atributos organolépticos y nutraceuticos propio del cultivar/híbrido y del ambiente (118).

El término nutraceutico deriva de la combinación entre “nutrición” y “farmaceutico”. En 1989 el Dr. Stephen De Felice (49), definió los nutraceuticos como “un alimento o parte de un alimento que proporciona beneficios médicos o para la salud, incluyendo la prevención y/o tratamiento de enfermedades”. Para que un alimento sea considerado como nutraceutico debe cumplir con algunos requisitos, entre ellos ser aislado y purificado por métodos no desnaturizantes. Es por ello que el AOVE integra el listado de alimentos nutraceuticos. Algunos estudios sugieren que las dietas en las que se consume AOVE, con una ligera reducción de las grasas saturadas, disminuye las dosis diarias de antihipertensivos. Además, el AOVE es considerado como un elemento antioxidante y está demostrado su papel preventivo en las enfermedades cardiovasculares y en la disminución del estrés oxidativo (59, 87, 129).

### **2.5. *Compuestos fenólicos y calidad nutraceutica del aceite de oliva virgen extra***

Las propiedades nutraceuticas del AOVE han sido relacionadas con el alto contenido de ácido oleico y su capacidad hipocolesterolemia tanto en hombres como animales (76, 109). Numerosos estudios le han atribuido al ácido oleico propiedades antitumorales sobre el cáncer de mama humano (79), cáncer de estómago y ovarios (80). No obstante, algunos autores (65, 74), señalan que las propiedades antitumorales atribuidas al ácido oleico aún no han sido demostradas. Estudios clínicos realizados por Aguilera y col. (1) han encontrado que además del contenido de ácido oleico, los AOVE presentan compuestos antioxidantes relacionados con su calidad nutraceutica. Estos autores estudiaron pacientes con enfermedad vascular periférica, sometidos a dietas a base de aceites con un alto contenido en ácido oleico (AOVE y Aceite de Girasol de alto oleico). Comparando los resultados obtenidos, los niveles de oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), en dietas ricas en AOVE, fueron menores que los

hallados en las dietas ricas en Aceites de Girasol de alto oleico. También sugirieron que en el AOVE existen otros compuestos antioxidantes diferentes a la vitamina E capaces de proteger contra la oxidación a las LDL. Así en aceites de girasol con concentraciones de vitamina E (1200 mg kg<sup>-1</sup>) mayores a las del AOVE (400 mg kg<sup>-1</sup>), no fue suficiente para proteger a las LDL de esos procesos oxidativos, sugiriendo la presencia de otros compuestos antioxidantes como los fenoles. Asimismo, Wiseman y col., (139) concluyeron que los compuestos fenólicos presentes en el AOVE serían los responsables de la capacidad antioxidante endógena de los LDL de los AOVE, comparando con los aceite de girasol de alto oleico.

Por otro lado, Menendez y col. (81) evidenciaron que las principales familias de los compuestos fenólicos del AOVE (secoiridoides y lignanos) afectan negativamente la proliferación y supervivencia de las células de cáncer de mama humano, a través de un mecanismo molecular que inhibe la expresión y actividad de HER2 (un receptor de tipo I de la tirosina quinasa) que regula importantes funciones biológicas como la transformación oncogénica, tumorigénesis y metástasis del cáncer de mama humano.

## ***2.6. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos***

Los aceites de oliva virgen extra se reconocen por presentar atributos sensoriales como el amargo y el picante, característico de las aceitunas recién cosechadas. Estas propiedades han sido relacionadas con la composición fenólica de los aceites (9, 21). Los principales encargados de proporcionar el gusto amargo y picante, tanto en el fruto como en el aceite, son glucósidos secoiridoides (oleuropeína y ligustrósido), derivados de los compuestos terpénicos. La oleuropeína, es el principal compuesto fenólico presente en el olivo, de ahí deriva su nombre. La hidrólisis de los secoiridoides da lugar a los alcoholes fenólicos (tirosol e hidroxitirosol), componentes principales de la fracción minoritaria de los AOVE. Los compuestos fenólicos le confieren al aceite de oliva resistencia al desarrollo de la rancidez, destacándose en esta propiedad el hidroxitirosol (HT), que es un derivado de la oleuropeína (70, 75).



La actividad antioxidante de los polifenoles está relacionada con el grado de hidroxilación y la posición de los grupos hidroxilos en la molécula (91). Visioli y Gali (136) demostraron que los fenoles tienen capacidad antioxidante mayor o igual que la de otros antioxidantes ampliamente estudiados, como la vitamina E, ácido ascórbico, butilhidroxitolueno, entre otros (114). Además, les atribuyen propiedades antioxidantes pues ceden radicales hidrógeno que se unen a los radicales lipídicos formados durante la fase de propagación de la oxidación. Estos mismos autores (137) también han determinado que la actividad antioxidante de los aceites de oliva virgen está directamente relacionada con la concentración de los compuestos fenólicos. Así, variedades de olivo más amargas y picantes, que contengan mayor contenido de fenoles en el aceite, estarán asociados a una mayor estabilidad oxidativa y calidad organoléptica. Por lo tanto, para que una variedad sea reconocida por su potencial nutracéutico, deberá presentar una elevada concentración de fenoles totales.

Numerosos estudios demuestran el efecto varietal en la composición inicial de los fenoles (68, 70, 134). La composición inicial de polifenoles en los alimentos puede modificarse tanto cuantitativa como cualitativamente como consecuencia de la preparación, procesado y almacenamiento al que sean sometidos, lo que puede dar lugar a cambios en la funcionalidad de sus constituyentes. Morelló y col. (86) estudiaron la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos presentes en la pulpa del fruto y en el aceite de oliva para la variedad Arbequina. Estos autores comprobaron que los compuestos fenólicos de la pulpa y del aceite fueron distintos tanto en tipo y concentración, lo que estaba relacionado con la capacidad antioxidante diferencial entre el fruto y el producto final.

## ***2.7. Origen de los compuestos fenólicos***

Los compuestos fenólicos se caracterizan por la presencia de un anillo aromático y uno o más grupos hidroxilos unidos a él. Según Harborne (73), los compuestos fenólicos se clasifican en nueve grupos: i) ácidos fenólicos, ácidos fenilacéticos y fenoles alcoholes, ii) ácidos cinámicos,

cumarinas, isocumarinas y cromonas, iii) lignanos, iv) varios grupos de flavonoides, v) ligninas, vi) taninos, vii) benzofenonas, xantonas y estilbenos, viii) quinonas y ix) betacianinas.

Los fenoles son hidrosolubles y se encuentran presentes en las distintas familias del reino vegetal. Existen dos rutas de biosíntesis de los compuestos fenólicos: la ruta del ácido mevalónico, importante fuente de fenoles para hongos y bacterias, pero poco empleada por las plantas superiores; y la ruta del ácido shikímico responsable de la biosíntesis de la mayoría de los compuestos fenólicos de las plantas (13). La mayoría de los compuestos fenólicos derivan de la fenilalanina (Fig. 1), también se presentan las estructuras de los 13 compuestos evaluados en el presente estudio.

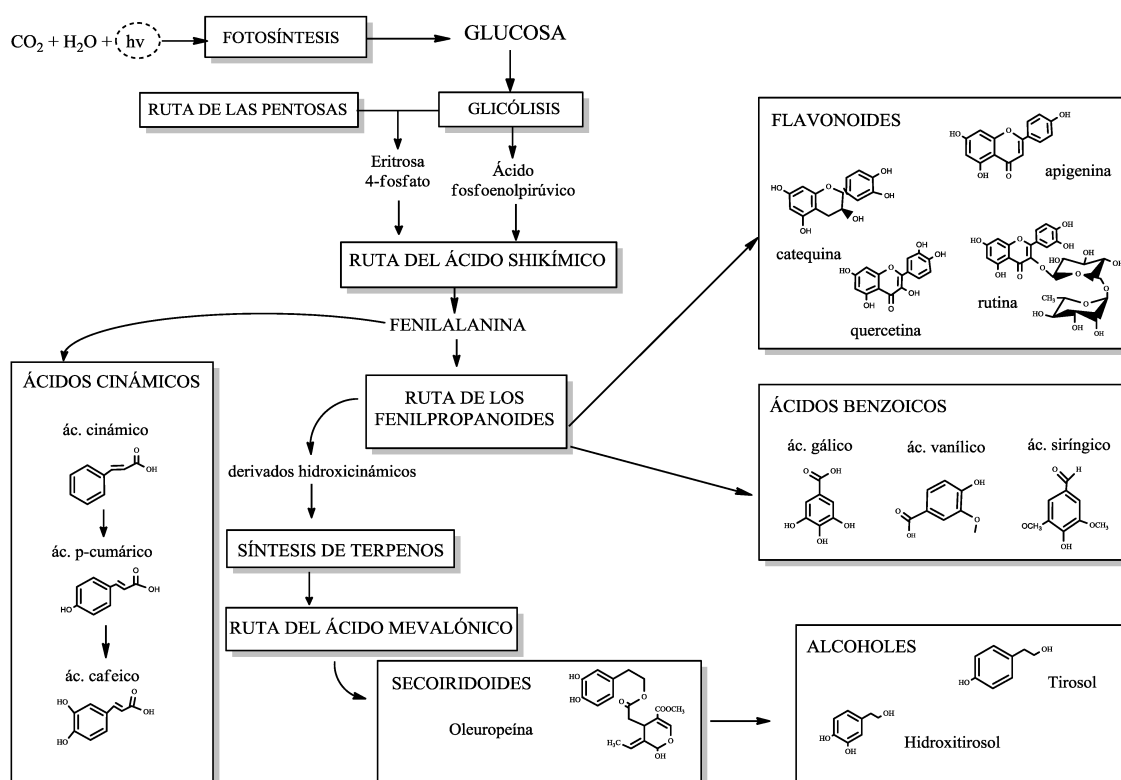


Figura 1: Rutas de síntesis de compuestos fenólicos. Adaptado de Ávalos-García y Obied (13, 89)

En el olivo, los compuestos fenólicos están presentes en toda la planta, pero su naturaleza y concentración varía entre los diferentes tejidos (108). La mayor concentración se encuentra en la pulpa de los frutos (103) y en las hojas (5, 98, 111).

Por ser compuestos solubles en agua, durante el proceso de extracción del AOVE, gran parte de los fenoles se pierden en el agua vegetal (alpechín) y orujo (60). Sin embargo, una pequeña porción pasa a formar parte del aceite, y por ello constituyen la fracción minoritaria (11).

La composición química del AOVE está dada por una fracción mayoritaria saponificable (98,5-99,5 %), constituida por triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos, ácidos grasos libres, ceras y fosfolípidos (57). Este mismo autor sugiere que la mayor parte de los ácidos grasos están presentes como triglicéridos formados por ácido palmítico P; ácido oleico O; ácido esteárico S y ácido linoleico L, en la siguiente proporción POO (18,4 %), SOO (5,1 %), OOO (43,5 %) y OOL (6,8 %). En la fracción minoritaria insaponificable (0,5-1,5 %) se encuentran los compuestos fenólicos, compuestos volátiles, pigmentos, esteroides, tocoferoles, alcoholes triterpénicos e hidrocarburos (57).

Diversos autores sostienen que la concentración de los compuestos fenólicos presentes en un aceite dependen del contenido inicial de fenoles en el fruto, y son afectados por el momento de cosecha (40), el genotipo (116), el ambiente (temperatura y radiación) (27, 69), el manejo del cultivo (principalmente riego) (47, 121), la tecnología implementada en el proceso de extracción de los aceites y en la conservación de los mismos (90). Asimismo, durante el proceso de extracción del aceite (molienda, amasado, entre otros) se favorece la disolución de los compuestos fenólicos tanto en el agua vegetal como en el agua adicionada (25, 36, 60).

La composición fenólica del AOVE es dependiente principalmente de la variedad. Vlahov (138), estudiando tres variedades de olivo observó que la cianidina-3-glucosido se presentaba únicamente en la variedad 'Giarraffa', en cambio la cianidina-3-rutinosido se encontraba presente en las variedades 'Giarraffa', 'Leccino' y 'Cassano'. Vinha y col., (134) evaluaron 18 variedades de olivo y observaron que el perfil fenólico de los aceites varió entre los cultivares, y que estos parámetros podrían emplearse para la caracterización bioquímica de los aceites. Esti y col. (55), evaluando la composición fenólica de los aceites de cuatro variedades distintas de olivo en Italia, determinaron diferencias significativas entre las variedades estudiadas. Lo que podría ser usado como marcadores varietales, por ejemplo la dimetiloleuropeína en 'Coratina' y

‘Leccino’. La composición fenólica de los aceites también es dependiente del momento de cosecha, éste parámetro ha sido evaluado en diversos trabajos (15, 85, 106). Así, por ejemplo, los alcoholes fenólicos se encuentran en mayor concentración en las primeras etapas de desarrollo del fruto y a medida que éste madura su concentración disminuye. Cuando comienza el cambio de coloración (envero) se observa un incremento de la concentración total de fenoles, constituida por flavonoides, lignanos y pigmentos antocianos (132).

Existen estudios en olivo sobre los efectos del ambiente, Gómez del Campo y García (69) han estudiado los efectos de la temperatura y radiación sobre el contenido y perfil fenólico de los aceites en la variedad Arbequina. En ese trabajo, la magnitud de respuesta de la composición química de los AOVE a factores ambientales ha sido descripta sólo para una variedad. Sin embargo, evaluar esta relación (composición química vs. factores ambientales) para un mayor número de variedades y de ambientes permite identificar interacciones genotipo-ambiente y seleccionar variedades que expresen mejor sus cualidades en nuevas áreas de cultivo, como es la zona Este de la provincia de Mendoza. También es factible evaluar la adaptación a potenciales ambientes estresantes.

Por último, numerosos autores han observado que diferentes parámetros evaluados en el aceite están influenciados por las características morfológicas de los frutos. Ryan y Beltrán (23, 107), demostraron que el contenido total de fenoles varía con la madurez de los frutos, o bien con la humedad de los frutos debido a la condición hidrofílica de los fenoles (65, 110).

## **2.8. Hipótesis**

Dentro de la colección de germoplasma de olivo de la provincia de Mendoza, existen variedades tradicionalmente no cultivadas que producen aceites de alta calidad nutracéutica y se encuentran adaptadas a las condiciones agroclimáticas de la provincia.

## **2.9. Objetivo general**

Identificar variedades de la colección de germoplasma de olivo de la provincia de Mendoza, a partir de características de los frutos y de los aceites, que permitan obtener aceite de oliva virgen con alto potencial nutracéutico, para las condiciones ambientales de la provincia.

## **2.10. Objetivos específicos**

- ✓ Caracterizar químicamente los aceites de 18 variedades de la colección de germoplasma de olivo de la provincia de Mendoza, mediante el estudio del perfil de compuestos fenólicos y parámetros químicos generales (estabilidad oxidativa, acidez, rendimiento industrial, K232 y K270).
- ✓ Estudiar las relaciones entre las características de los aceites (fenoles totales, composición fenólica, estabilidad oxidativa, acidez, rendimiento industrial, K232 y K270) y las características de los frutos (índice de madurez, peso de los frutos, materia grasa, humedad del fruto y relación pulpa-carozo), en 18 variedades de la colección de germoplasma de olivo de la provincia de Mendoza.
- ✓ Estudiar el efecto del año sobre características de los frutos y aceites, en 18 variedades de la colección de germoplasma de olivo de la provincia de Mendoza.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

### ***3.1. Sitio, material vegetal y diseño experimental***

El estudio fue realizado durante las temporadas 2013-2014 y 2014-2015, con 18 variedades presentes en la Colección de Germoplasma de Olivo, localizada en la Estación Experimental Agropecuaria Junín del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (EEA INTA Junín) (33° 06' S; 68° 26' O, a 653 m.s.n.m.), hacia el este de la provincia de Mendoza, Argentina. La colección incluye 74 variedades, 4 locales (Arauco, criolla Salvarredi, criolla San Martín y Selección N°1), y el resto de origen Mediterráneo (España, Italia, Túnez, Francia y Egipto). La colección fue implantada en 1946, utilizando un marco de 12 m entre hileras y 12 m entre plantas. Los árboles fueron conducidos en vaso, y presentaron un volumen de copa que superaba los 4 m de ancho y alto en el momento de inicio del experimento. En este estudio se utilizaron 3 plantas por variedad (repetición) en relación al nivel de carga y tamaño de las plantas. El riego es superficial a través de melgas. Los datos meteorológicos utilizados en la caracterización del sitio (Tabla 1) fueron obtenidos de una estación automática ubicada a 60 m de la colección y dependiente de la Dirección Agropecuaria de Contingencias Climáticas de Mendoza (DACC) (54).

La localidad presenta una temperatura media anual de 17,3°C (54) , y una precipitación media anual de 275 mm, para el período 1957-2015. El período libre de heladas es de 130 a 150 días, comprendido entre los meses de octubre y abril. Las precipitaciones son de carácter torrencial y principalmente concentradas durante los meses de verano y principios de otoño.

### ***3.2. Cosecha de aceitunas***

Las 18 variedades estudiadas en el presente trabajo (Tabla 1) fueron seleccionadas en base su alto contenido de materia grasa y bajo porcentaje de humedad, sobre un total de 74 variedades que componen la colección, previamente evaluadas por Trentacoste y Puertas (123), por su comportamiento agronómico. Las cosechas se efectuaron durante los meses de abril y mayo de las temporadas 2013-2014 y 2014-2015.

Tabla 1: Origen, uso y fecha de cosecha de las variedades estudiadas

Variedades	Índice de madurez	Uso	Fecha de cosecha	
			Temporada 2013-2014	Temporada 2014-2015
Arauco (A)	1,57	mesa y aceite	21-may.	13-may.
Blanqueta (E)	2,72	aceite	16-may.	27-abr.
Canino (I)	2,93	aceite	20-may.	14-may.
Criolla Salvarredi (A)	1,98	mesa	21-may.	30-abr.
Cucci (I)	3,27	mesa	12-may.	26-may.
Dritta (I)	2,71	aceite	22-may.	23-abr.
Dulzal (E)	3,63	mesa	15-may.	29-abr.
Empeltre (E)	4,25	aceite	9-may.	22-abr.
Farga (E)	3,52	aceite	8-may.	22-abr.
Frantoio (I)	3,42	aceite	23-may.	29-abr.
Genovesa (E)	3,48	mesa	9-may.	21-abr.
Jabaluno (E)	2,22	mesa y aceite	14-may.	30-abr.
Morchiaio Morettini (I)	3,64	aceite	10-may.	20-abr.
Nebbio (I)	1,55	aceite	9-may.	23-abr.
Nevadillo Blanco (E)	2,98	aceite	7-may.	24-abr.
Piangente (I)	3,68	aceite	8-may.	21-abr.
Selección N°1 (A)	2,97	mesa	13-may.	27-abr.
Villalonga (E)	2,15	aceite	13-may.	28-abr.



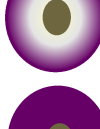
(A) origen Argentina (E) origen España (I) origen Italia

En la primera semana de abril se estableció el orden de cosecha de cada variedad, con el fin de reducir al mínimo el efecto del índice de madurez entre variedades tempranas y tardías. Para ello se utilizó una escala visual según la coloración de la mayoría de los frutos (Tabla 2), considerando valores entre cero y cuatro.

La cosecha se realizó manualmente, recolectando una muestra 20 kg de aceitunas por planta. Los frutos fueron recolectados de la cara noroeste de la copa, donde recibieron una mayor iluminación. Las aceitunas cosechadas fueron colocadas en cajas debidamente etiquetadas, y llevadas a la fábrica para ser conservadas en oscuridad y a una temperatura promedio inferior a los 15°C, hasta la extracción del aceite.



Tabla 2: coloración de la piel y la pulpa de las aceitunas, según índice de madurez

Color de piel	Color de pulpa	Valor asignado	
verde	verde	0	
verde-amarillento	verde	1	
violeta en menos de la mitad del fruto (inicio de envero)	verde	2	
violeta en más de la mitad del fruto	blanca	3	
violeta	blanca	4	
violeta	violeta en menos de la mitad	5	
violeta	violeta en más de la mitad	6	
violeta	violeta hasta el carozo	7	

### 3.3. Extracción de aceite

La extracción de los aceites se llevó a cabo en un plazo máximo de 24 h desde la cosecha de cada una de las variedades estudiadas. Para la extracción del aceite se utilizó un sistema continuo (Alfa-Laval SPREMOLIVE NEW Single Phase. MF-Toscana Enologica Mori-Italia) de dos fases y 20 kg h<sup>-1</sup> de capacidad. El proceso se inició con la molturación de las aceitunas a través de un molino de martillo. La pasta molida fue recibida en un amasador horizontal, permaneciendo durante 40 minutos. En esta etapa no se adicionó agua ni calor a la pasta.

Una vez amasada la pasta pasó al decanter (sistema de centrifugación horizontal), donde el aceite fue separado del agua vegetal y del orujo (alperujo). Las tres replicas correspondientes a cada variedad fueron procesadas por separado y luego recolectadas en bidones plásticos de 3 litros. Los aceites se dejaron decantar durante dos semanas y luego se filtraron con algodón. Una vez filtrados los aceites fueron fraccionados en envases de vidrio color caramelo de 30 ml, sin dejar espacio de cabeza para evitar posibles oxidaciones. Posteriormente fueron almacenados al reparo de la luz y en un ambiente fresco (< 20°C), hasta el momento de su análisis.

Antes del procesamiento de las muestras de cada variedad, se molieron 15 kg de frutos de la misma variedad con el fin de expulsar completamente cualquier vestigio de la variedad anterior y evitar así interferencias en los resultados. El aceite obtenido de esta molienda “extracción sacrificio” fue descartado. La extracción sacrificio fue también utilizada para realizar ajustes en el decanter para cada variedad.

El rendimiento industrial (RI) fue calculado según la ecuación 1

$$RI = \frac{Kg\ AOVE\ obtenido}{Kg\ de\ fruta\ molida} \quad Ec. 1$$

### ***3.4. Mediciones realizadas en los frutos***

Las características de los frutos fueron evaluadas en submuestras de 2 kg extraídas aleatoriamente de cada una de las muestras de 20 kg, descriptas anteriormente. Las determinaciones realizadas en los frutos fueron:

### 3.4.1. Índice de madurez

Para determinar el índice de madurez (IM), se utilizaron 100 frutos al azar, clasificándolos del 0 al 7 según color de la piel y de la pulpa (131), según la Tabla 3

El índice de madurez (IM) se calculó mediante la ecuación 2

$$IM = \frac{(0xn0) + (1xn1) + (2xn2) + (3xn3) + (4xn4) + (5xn5) + (6xn6) + (7xn7)}{N} \quad \text{Ec. 2}$$

Donde:

$n0 \dots n7$ , corresponde al número de frutos en cada categoría

N número total de frutos.

### 3.4.2. Relación pulpa-carozo

Para esta determinación se usaron lotes de 50 frutos, los cuales fueron pesados y luego descaroizados (Electronic Balance SHIMADZU UW629H). Los carozos se lavaron y se secaron a temperatura ambiente, determinando luego su peso. La relación pulpa-carozo (P/C) se calculó con la ecuación 3

$$P/C = \frac{(PF - PC)}{PC} \quad \text{Ec. 3}$$

Donde:

PF: peso fresco de los frutos

PC: peso seco de carozos

### 3.4.3. *Peso medio y humedad de los frutos*

Se utilizaron lotes de 100 frutos por repetición, los cuales fueron pesados en conjunto para determinar el peso medio del fruto. Luego, fueron llevados a estufa a 60° C hasta peso constante, determinando el peso seco de los frutos. A partir de estos datos se estimó la humedad o concentración de agua de los frutos (CAF), según la ecuación 4

$$CAF (\%) = \frac{P_0 - P_1}{P_0} \times 100 \quad \text{Ec. 4}$$

Donde:

P<sub>0</sub>: peso de 100 frutos frescos

P<sub>1</sub>: peso de 100 frutos secos a estufa hasta peso constante

### 3.4.4. *Materia grasa*

Para determinar el contenido de materia grasa (MG) se siguió el método propuesto por Avidan y col. (14). Se pesaron aproximadamente 5 g de pulpa fresca, en balanza analítica. Los recipientes previamente tarados, fueron colocados en estufa hasta peso constante (48 horas aproximadamente). Se pesó la pulpa seca y se trituró en mortero, y utilizando 15 ml de éter de petróleo se trasladó el material a un tubo de ensayo (TE1). Posteriormente, los tubos de ensayo fueron colocados en un agitador por 12 h (en oscuridad) y luego se filtraron, trasladando el líquido en otros tubos de ensayo (TE2) previamente tarados y etiquetados. El filtrado se realizó en vacío, empleando papel de filtro de 100 µm. Se lavaron los restos de material con 5 ml de éter de petróleo. Se evaporó el solvente de los TE2 y posteriormente se llevaron a estufa (NINGBO HINOTEK Air blast dry box DHG- 9203A) a 60 °C hasta peso constante. La determinación de materia grasa se realizó por triplicado por cada muestra (árbol).

El porcentaje de materia grasa (MG) expresado en base al peso seco de pulpa, fue calculado según la ecuación 5

$$MG (\%) = \frac{PTE2-PTV}{PPS} \times 100$$

**Ec.5**

Donde:

PTE2: peso del tubo con aceite

PTV: peso del tubo vacío

PPS: peso de la pulpa seca

### **3.5. Mediciones realizadas en los aceites**

#### **3.5.1. Acidez libre**

La acidez se determinó utilizando la técnica “Determinación del índice de ácido y de la acidez” (método ISO 660) (62) aprobado por el Consejo Oleícola Internacional (COI). Se extrajeron aproximadamente 5 g de aceite (adaptado de la tabla del COI, según acidez presumible), se colocaron en un Erlenmeyer de 250 ml y se disolvieron con 25 ml de solución A:B previamente neutralizada (A:50 % etanol; B:50 % éter de petróleo). Se adicionaron 3-4 gotas de fenolftaleína como indicador y se tituló con una solución de NaOH 0,1 N, previamente valorada. La acidez del aceite fue expresada como ácido oleico a través de la ecuación 6:

$$Acidez = \frac{V \times C \times M}{10 \times m}$$

**Ec.6**

Donde:

V: volumen de NaOH 0,1 N gastado en la titulación en mililitros

C: concentración exacta del NaOH en eq.l<sup>-1</sup>

M: 282 g.mol<sup>-1</sup>, masa molar del ácido oleico.

m: peso en gramos de la muestra de aceite

#### **3.5.2. Estabilidad oxidativa**

La estabilidad oxidativa se determinó por pruebas de conductividad eléctrica, mediante un equipo Rancimat. El método se basa en la descomposición de los hidroperóxidos y en la formación de ácidos grasos de cadena corta, que cambian la conductividad eléctrica del agua.

Los aceites fueron calentados a 120 °C y sometidos a una corriente de aire, de flujo continuo (20 l.h<sup>-1</sup>). La señal fue transmitida a un software que generó una curva de conductividad eléctrica. El resultado se expresó en horas y corresponde al punto de inflexión de la curva.

### **3.5.3. Fenoles totales**

Para la extracción de los compuestos fenólicos totales se empleó la técnica de Folin y Ciocalteu (61). Resumidamente, se pesaron 40 g de aceite en un vial de 100 ml, se emulsionaron con 20 ml de metanol-agua (80:20), agitando enérgicamente. Luego las muestras se centrifugaron a 5000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante se trasvasó a un Erlenmeyer de 250 ml mediante pipetas Pasteur plásticas de 3 ml. Al aceite remanente en el vial se le adicionó nuevamente 20 ml de metanol-agua, y el proceso se repitió tres veces. El sobrenadante total, se agitó para homogeneizar la muestra. Se extrajeron 200 µl de sobrenadante y se le adicionaron 1.8 ml de agua destilada, en matraz de 25 ml. Se le agregaron 10 ml de Folin Ciocalteu al 10 % y 8 ml de carbonato de sodio (75 g.l<sup>-1</sup>). Una vez obtenidas las muestras se dejaron al reparo de la luz durante dos horas. Los fenoles totales de los aceites se determinaron mediante espectrofotometría (Spectrometer UV/VIS Lambda 25 Perkin Elmer precisely) a una absorbancia de 725 nm.

Para a la determinación del contenido total de fenoles en las muestras, se usó la curva de calibración, obtenida a partir de soluciones de ácido cafeico en concentraciones crecientes (50, 150, 250, 450, 650 y 800 ppm).

### **3.5.4. Índices de extinción ( $K_{232}$ y $K_{270}$ )**

Los índices de extinción se determinaron en los aceites de la segunda temporada (2015), mediante “Análisis espectrofotométrico en el ultravioleta” (método ISO 3656) (62) aprobado por el COI.

Se extrajeron aproximadamente 0,25 g de aceite (pesados en balanza analítica). Las muestras perfectamente homogeneizadas y exentas de impurezas en suspensión, se colocaron en matraces aforados de 25 ml y se enrasaron con n-hexano (grado cromatográfico). La solución de aceite y n-hexano se colocó en cubetas de cuarzo con paso óptico de 1cm. Como blanco se utilizó n-hexano. La absorbancia se midió en espectrofotómetro (UV-VIS Spectrophotometer Biotraza Model 752, China) a 232 y 270 nm.

Los coeficientes de extinción (extinciones específicas) se calcularon según la ecuación 7:

$$K_{\lambda} = \frac{E_{\lambda}}{c \times s} \quad \text{Ec.7}$$

Donde:

$K_{\lambda}$ : extinción específica a la longitud de onda  $\lambda$  (232 o 270 nm)

$E_{\lambda}$ : extinción medida a la longitud de onda  $\lambda$

c: concentración de la disolución en g/ml

s: espesor de la cubeta en cm.

### 3.5.5. *Composición fenólica*

La extracción de los compuestos fenólicos se realizó mediante extracción en fase sólida (SPE), usando cartuchos Sep-Pak<sup>R</sup> Vac Diol 1 cc (Waters Corporation Milford, Massachusetts USA). Los cartuchos fueron pre-acondicionados con 5 ml de metanol y 5 ml de n-hexano. Se sembraron 1,6 g de muestra de aceite disuelta en 1 ml de n-hexano. La fracción no polar de los aceites se extrajo con 5 ml de n-hexano. La extracción de los compuestos fenólicos se realizó con 1,5 ml de metanol a velocidad de goteo constante (2 ml/min). Finalizada la extracción, los cartuchos se acondicionaron con 2 ml de metanol y 3 ml de n-hexano. Los extractos se conservaron a -20 °C en oscuridad hasta su posterior análisis.

La identificación y cuantificación de los compuestos fenólicos se realizó por (CE) electroforesis capilar (CAPEL-105M con detector-UV Lumex Ltd., St. Petersburgo, Rusia) usando el modo electroforesis capilar zonal (CZE).

Las condiciones de trabajo fueron: voltaje 20 kv, presión 20 mbar, tiempo de inyección 2 segundos, longitud de onda 240 nm, columna de 75 µm, temperatura: 25 °C y buffer de lavado y análisis borato de sodio 30 mM y pH 9,5. El capilar se acondicionó usando agua pura (RiO/Elix3-Sinergy 185, Millipore), NaOH 0,1 M y borato de sodio.

Individualmente se determinaron los tiempos de elución para los compuestos fenólicos. Posteriormente se preparó una solución mezcla con los 13 compuestos fenólicos y mediante CE se obtuvo un electroferograma. Luego se inyectaron al CE todos los extractos, obteniéndose un electroferograma por cada uno de ellos. Por último un extracto de cada variedad fue enriquecido con la solución mezcla de los 13 estándares, se inyectó al CE y se obtuvo un último electroferograma. De esta manera se compararon en simultaneo los 3 electroferogramas, para identificar en cada extracto, los picos pertenecientes a los compuestos fenólicos evaluados en el presente estudio. Las curvas de calibración se realizaron empleando una solución patrón de todos los compuestos fenólicos, en concentraciones conocidas de 0,75 hasta 30 ppm (Tabla 3).

Tabla 3: Curvas de calibración para los 13 compuestos fenólicos estudiados

<i>Compuesto fenólico</i>	<i>Ecuación</i>	<i>R<sup>2</sup></i>
<i>Tirosol</i>	$A^* = 0,66050 + 0,12068 \times C^*$	73,71
<i>Oleuropeína</i>	$A = 0,33284 + 0,43684 \times C$	97,75
<i>Hidroxitirosol</i>	$A = 0,06749 + 0,29454 \times C$	97,93
<i>Rutina</i>	$A = 0,01583 + 0,69230 \times C$	98,21
<i>Catequina</i>	$A = -0,21302 + 0,56459 \times C$	98,84
<i>Ác cinámico</i>	$A = -1,04913 + 1,37278 \times C$	98,11
<i>Ác siríngico</i>	$A = 1,85485 + 1,50876 \times C$	97,75
<i>Apigenina</i>	$A = -0,17989 + 1,82233 \times C$	98,61
<i>Quercetina</i>	$A = -0,56490 + 1,32736 \times C$	82,21
<i>Ác p-cumárico</i>	$A = -1,12702 + 1,07971 \times C$	96,94
<i>Ác vanílico</i>	$A = -0,58340 + 0,92077 \times C$	92,72
<i>Ác cafeico</i>	$A = -3,27293 + 4,92443 \times C$	97,42
<i>Ác gálico</i>	$A = -1,81204 + 2,89314 \times C$	98,41

A\* área del pico electroforético, C\* concentración de compuesto fenólico

Las ecuaciones de las curvas de calibración obtenidas para cada fenol, se emplearon para determinar su concentración en las muestras.



A modo de ejemplo, se muestra el Electroferograma de un aceite de oliva virgen extra de la variedad Farga (Fig. 2), enriquecido con la solución mezcla de estándares (C= 15 ppm)

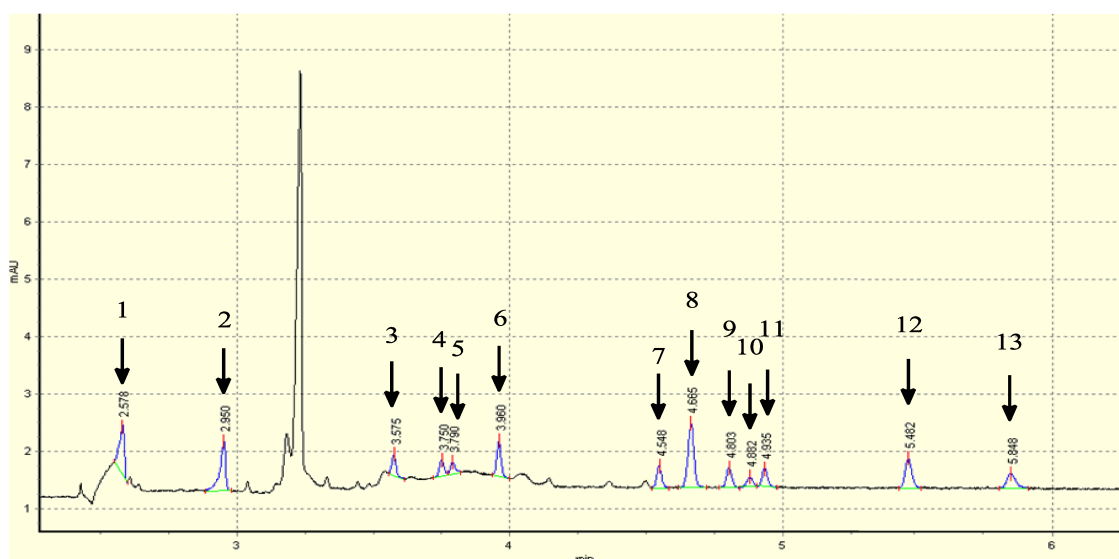


Figura 2: Electroferograma de un AOVE de la temporada 2013-2014, enriquecido con una mezcla de los 13 compuestos fenólicos estándares: 1-tirosol, 2-oleuropeína, 3-hidroxitirosol, 4-rutina, 5-catequina, 6-ácido cinámico, 7-ácido siríngico, 8-apigenina, 9-quercetina, 10-ácido p-cumárico, 11-ácido vanílico, 12-ácido cafeico, 13-ácido gálico

### 3.6. *Diseño experimental y análisis estadístico*

Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado de tres repeticiones (árboles) por variedad (n=3). En el caso particular de la determinación de materia grasa se realizó por triplicado cada una de las tres réplicas, por lo tanto, el valor de materia grasa correspondió al promedio de nueve datos por variedad (n=9). Los datos de las características de los frutos, de los aceites y la composición fenólica fueron evaluados mediante análisis de la varianza (ANAVA). Las medias se compararon con el test de mínima diferencia significativa (MDS) para nivel de significancia  $\alpha= 0,05$ . Para evaluar las características de los aceites y composición fenólica de los mismos se realizó un análisis de correlación entre las distintas variables tanto de los aceites como de los frutos. Las relaciones entre las variables de calidad de los aceites, características de los frutos y variables meteorológicas fueron analizadas por regresión lineal. Los análisis estadísticos se efectuaron con el software InfoStat versión 1.5. Por último se compararon las pendientes y ordenadas al origen entre curvas de distintos años mediante un test de correspondencia (Fisher) con el software GraphPad Prism versión 5.01.

## ***4. RESULTADOS***

#### 4.1. Parámetros evaluados en los frutos

##### 4.1.1. Índice de madurez

En la recolección de los frutos, el índice de madurez (IM) fue diferente entre las variedades estudiadas ( $p < 0,0001$ ), al igual que la interacción variedad x año ( $p < 0,0001$ ). En cambio, no fue significativo el efecto año ( $p = 0,0865$ ) (Tabla 4).

Tabla 4: Índice de madurez promedio de dos temporadas (2013/2014 y 2014/2015) de los frutos de 18 variedades de olivo de la Colección de la EEA INTA Junín, Mendoza

Fuente de variación	Índice de Madurez
<i>Variedad</i>	
Arauco	1,57 g
Blanqueta	2,72 de
Canino	2,93 cd
Criolla Salvarredi	1,98 fg
Cucci	3,27 bcd
Dritta	2,71 de
Dulzal	3,63 b
Empeltre	4,25 a
Farga	3,52 bc
Frantoio	3,42 bc
Genovesa	3,48 bc
Jabaluno	2,22 ef
Morchiaio Morettini	3,64 ab
Nebbio	1,55 g
Nevadillo Blanco	2,98 cd
Piangente	3,68 ab
Selección N°1	2,97 cd
Villalonga	2,15 efg
<i>Año</i>	
2014	2,83
2015	3,02 ns
<i>Interacción var x año (p-valor)</i>	< 0,001

Diferentes letras indican diferencias significativas entre variedades ( $p \leq 0,05$ ). ns no significativo a un  $\alpha = 0,05$

Las variedades ‘Nebbio’, ‘Arauco’, ‘Criolla Salvarredi’ y ‘Villalonga’ mostraron los IM más bajos (piel verde amarillenta) y sin diferencias significativas entre ellas. La variedad ‘Empeltre’ presentó el IM más alto, 4,25 (piel negra y pulpa comenzando a oscurecerse), mostrando diferencias significativas con el resto de las variedades, excepto con ‘Morchiaio Morettini’ y

‘Piangente’. Las restantes variedades presentaron valores de madurez intermedios (Tabla 4) y fueron clasificadas considerando un  $IM \leq 2$  (‘Nebbio’, ‘Arauco’ y ‘Criolla Salvarredi’), entre 2 y 4 (‘Jabaluno’, ‘Villalonga’, ‘Nevadillo Blanco’, ‘Blanqueta’, ‘Dritta’, ‘Canino’, ‘Cucci’, ‘Frantoio’, ‘Piangente’, ‘Genovesa’, ‘Farga’, ‘Selección N°1’, ‘Dulzal’ Y ‘Morchiaio Morettini’), y  $IM \geq 4$  (‘Empeltre’). Esta clasificación permitió definir variedades más tempranas y más tardías.

La mayoría de las variedades estudiadas, presentaron en promedio, mayor IM la segunda temporada (2014/2015) respecto de la primera (2013/2014) (Fig.3), sin embargo las diferencias entre años no fueron significativas ( $p = 0,0865$ ). La interacción variedad x año se explica por el hecho que las variedades ‘Frantoio’, ‘Piangente’, ‘Farga’, ‘Morchiaio Morettini’, ‘Nevadillo Blanco’, ‘Arauco’ y ‘Nebbio’ presentaron índices de madurez más bajos en la segunda temporada respecto de la primera, mientras que las variedades ‘Empeltre’ y ‘Jabaluno’ no mostraron diferencias en los dos años de evaluación (Fig. 3).

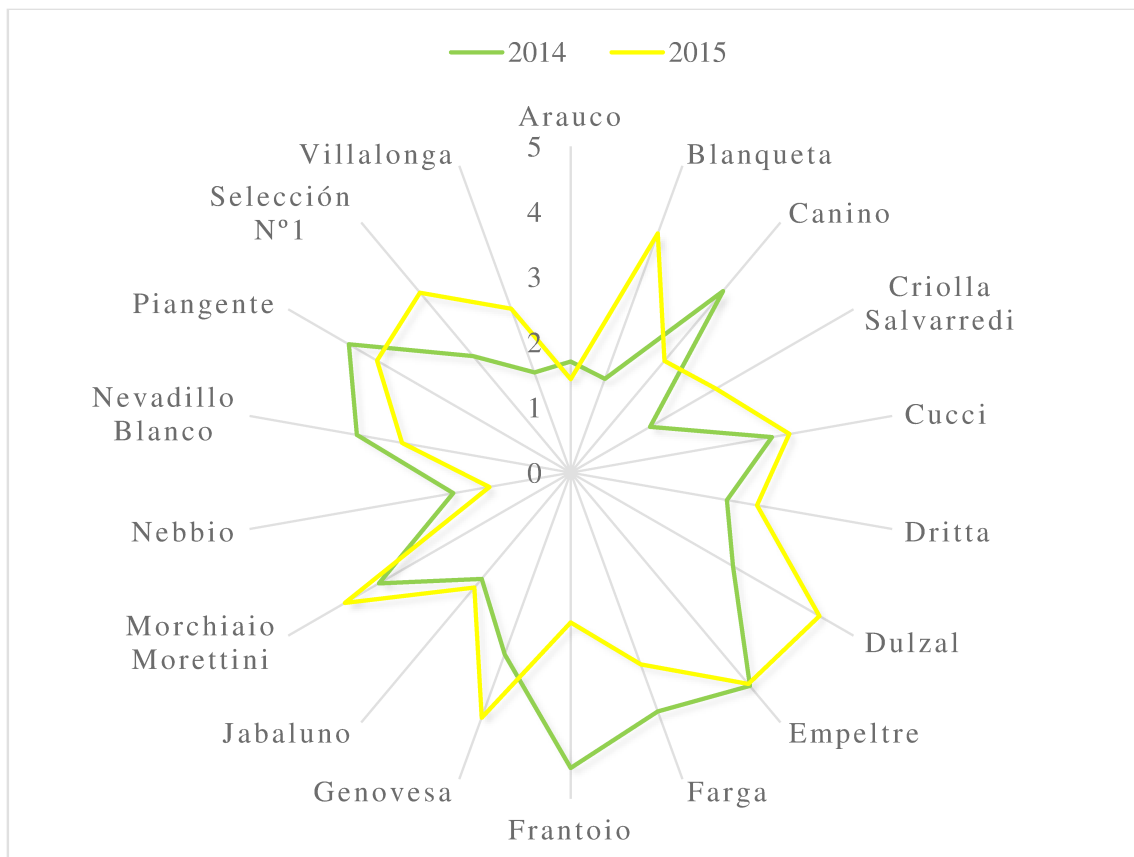


Figura 3: Índice de madurez de dos temporadas (2013/2014 y 2014/2015) en frutos de 18 variedades de olivo de la Colección de la EEA INTA Junín, Mendoza

#### 4.1.2. *Peso de los frutos y relación pulpa/carozo*

Los frutos presentaron diferencias significativas entre las variedades tanto para el peso ( $p < 0,0001$ ) como para la relación pulpa/carozo ( $p < 0,0001$ ). La relación P/C fue significativa para la interacción variedad x año y entre años ( $p < 0,0001$ ), siendo mayor la segunda temporada respecto de la primera (Tabla 5). El efecto año y la interacción variedad x año no fueron significativos para el peso de los frutos ( $p = 0,0138$  y  $p = 0,8420$ ) (Tabla 5).

Tabla 5: Peso y relación pulpa/carozo de los frutos de 18 variedades de olivo de la Colección de la EEA INTA Junín, Mendoza. Datos promedio de dos temporadas (2013/2014 y 2014/2015)

Fuente de variación	Peso del fruto (g)	Pulpa/ Carozo	
<i>Variedad</i>			
Arauco	5,59 b	7,75 b	
Blanqueta	2,48 f	7,57 bc	
Canino	4,52 de	5,22 fg	
Criolla Salvarredi	5,63 b	9,05 a	
Cucci	7,75 a	7,20 bc	
Dritta	2,84 f	3,93 h	
Dulzal	4,11 e	7,07 c	
Empeltre	4,85 cd	5,98 de	
Farga	2,86 f	4,62 h	
Frantoio	2,59 f	4,05 h	
Genovesa	5,36 bc	7,70 b	
Jabaluno	6,93 a	8,60 a	
Morchiaio Morettini	2,62 f	4,63 gh	
Nebbio	2,46 f	5,97 de	
Nevadillo Blanco	5,52 bc	8,60 a	
Piangente	2,52 f	5,37 f	
Selección N°1	3,97 cde	5,55 ef	
Villalonga	4,12 de	6,47 d	
<i>Año</i>			
	2014	4,03	5,77 b
	2015	4,47 ns	7,22 a
<i>Interacción var x año (p-valor)</i>		0,842	<0,0001

Diferentes letras dentro de cada columna indican diferencias significativas entre variedades ( $p \leq 0,05$ ).

ns no significativo a un  $\alpha = 0,05$

Las variedades se pueden agrupar según el peso promedio de los frutos (PF) (Fig. 4). En un primer grupo las variedades ‘Cucci’ y ‘Jabaluno’ con frutos de mayor peso ( $PF > 6$  g). En el

segundo las variedades ‘Criolla Salvarredi’, ‘Arauco’, ‘Nevadillo Blanco’, ‘Genovesa’, ‘Empeltre’, ‘Dulzal’, ‘Canino’, ‘Villalonga’ y ‘Selección N°1’ con frutos de peso mediano ( $4 \text{ g} < \text{PF} < 6 \text{ g}$ ). El último grupo formado por las variedades de menor peso ( $\text{PF} < 4 \text{ g}$ ) ‘Dritta’, ‘Farga’, ‘Piangente’, ‘Morchiaio Morettini’, ‘Nebbio’, ‘Frantoio’ y ‘Blanqueta’. En la figura 4, además se observa que el peso del carozo no varió significativamente entre variedades.

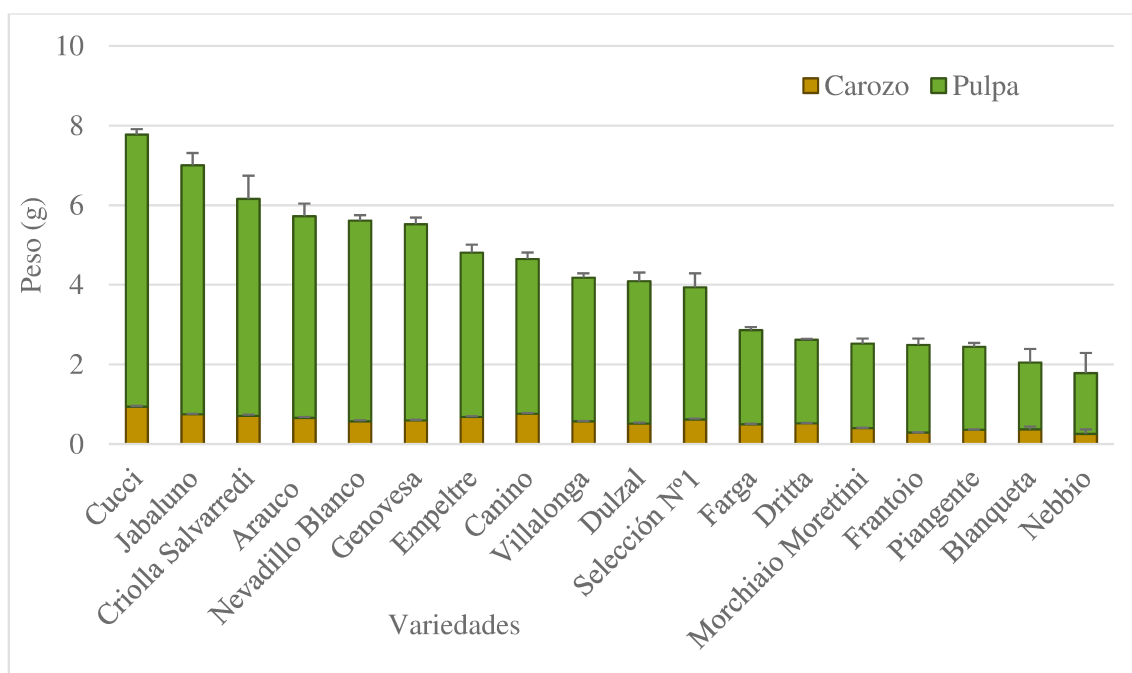


Figura 4: Peso promedio de dos temporadas (2013/2014 y 2014/2015) de carozo y pulpa en frutos de 18 variedades de olivo de la Colección de la EEA INTA Junín, Mendoza. Barras de error  $\pm 1\text{ee}$  ( $n = 3$ )

En la figura 5, ‘Criolla Salvarredi’ presentó la mayor relación pulpa/carozo promedio, sin diferencias significativas con ‘Jabaluno’ y ‘Nevadillo Blanco’. Los valores más bajos se observaron en las variedades ‘Dritta’, ‘Farga’, ‘Frantoio’ y ‘Morchiaio Morettini’ sin diferencias significativas entre ellas (Tabla 5).

Así, las variedades ‘Criolla Salvarredi’, ‘Jabaluno’ y ‘Nevadillo Blanco’ con una relación pulpa/carozo alta (promedio superior a 8,5) presentaron frutos de mayor tamaño ( $\text{PF} > 5 \text{ g}$ ). En tanto que las variedades con menor relación P/C (promedio menor a 5) ‘Morchiaio Morettini’, ‘Farga’, ‘Frantoio’ y ‘Dritta’ presentaron frutos de bajo peso ( $\text{PF} < 3 \text{ g}$ ).

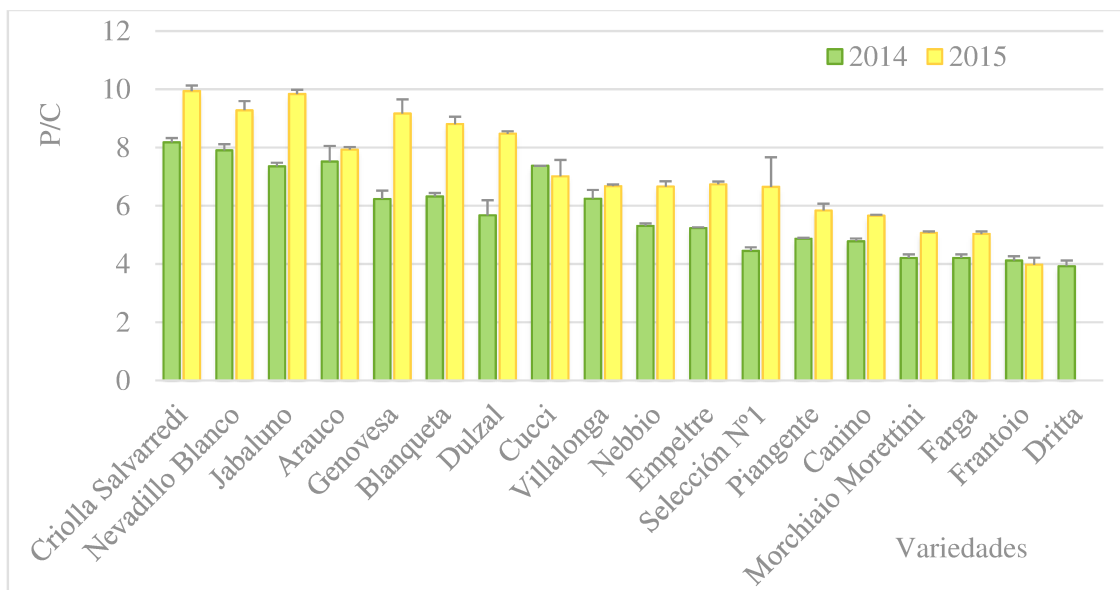


Figura 5: Relación pulpa-carozo (P/C) de dos temporadas (2013/2014 y 2014/2015) de 18 variedades de olivo de la Colección de la EEA INTA Junín, Mendoza. Barras de error  $\pm 1$ ee (n = 3)

En la figura 6 se representan las curvas de regresión lineal entre la relación P/C y PF para las dos temporadas. Mediante un test de correspondencia se compararon las pendientes y ordenadas al origen (datos no mostrados). Se determinó que la diferencia entre pendientes no fue significativa ( $p = 0,9964$ ) y por ello, es posible utilizar una nueva y única pendiente (0,6656). Mientras que si hubo diferencias significativas entre las ordenadas al origen ( $p = 0,01214$ ).

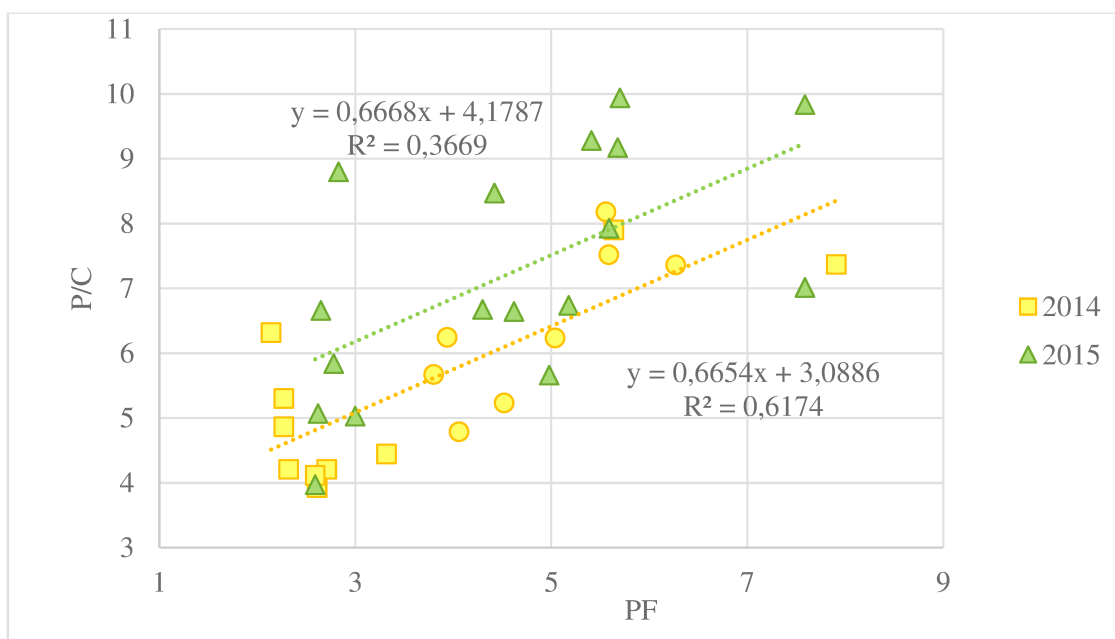


Figura 6: Relación entre el peso promedio y la relación pulpa/carozo de los frutos de 18 variedades de olivo para dos temporadas (2013/2014 y 2014/2015)

### 4.1.3. Humedad y materia grasa de los frutos

Se observaron diferencias significativas entre variedades ( $p = 0,0238$ ) para la humedad de los frutos. También se obtuvieron diferencias entre variedades ( $p < 0,0001$ ) y entre años ( $p = 0,0008$ ) para el contenido de materia grasa de los frutos. La interacción variedad x año fue significativa para el contenido de materia grasa ( $p = 0,0266$ ) pero no para la humedad de los frutos ( $p = 0,2289$ ) (Tabla. 6).

Tabla 6: Materia grasa (sobre peso seco) y humedad de los frutos de 18 variedades de olivo de la Colección de la EEA INTA Junín, Mendoza. Datos promedio de dos temporadas (2013/2014 y 2014/2015)

Fuente de variación	Materia grasa (%)	Humedad de los frutos (%)
<i>Variedad</i>		
Arauco	55 bcd	61 ab
Blanqueta	56 bc	62 ab
Canino	56 bc	50 bc
Criolla Salvarredi	55 bc	61 ab
Cucci	62 a	54 abc
Dritta	53 cde	61 ab
Dulzal	48 ef	56 abc
Empeltre	47 f	62 a
Farga	56 bc	46 c
Frantoio	57 bc	48 c
Genovesa	58 b	46 c
Jabaluno	50 ef	62 ab
Morchiaio Morettini	56 bc	52 abc
Nebbio	55 bc	55 abc
Nevadillo Blanco	51 def	61 ab
Piangente	50 ef	57 abc
Selección N°1	55 bcd	61 ab
Villalonga	57 bc	53 abc
<i>Año</i>		
	2014	59 a
	2015	53 b
		55 ns
<i>Interacción var x año (p-valor)</i>	0,0266	0,2289

Diferentes letras dentro de cada columna indican diferencias significativas entre variedades ( $p \leq 0,05$ ).

ns no significativo a un  $\alpha = 0,05$ .

Los frutos con mayor contenido de materia grasa fueron los de la variedad ‘Cucci’ (62 %), con diferencias significativas respecto del resto de las variedades, mientras que el menor contenido graso lo presentaron ‘Empeltre’, ‘Dulzal’, ‘Jabaluno’, ‘Piangente’ y ‘Nevadillo Blanco’  $\leq 52$  %



(Tabla 6). El contenido de materia grasa para el año 2014 fue significativamente superior al 2015, presentando valores de 59 y 53 % respectivamente ( $p = 0,0008$ ).

Por otro lado, los frutos con mayor humedad fueron ‘Empeltre’, ‘Blanqueta’ y ‘Jabaluno’ con el 62 %, sin diferencias significativas respecto de ‘Arauco’, ‘Criolla Salvarredi’, ‘Dritta’, ‘Nevadillo Blanco’, ‘Selección N°1’, ‘Cucci’, ‘Dulzal’, ‘Morchiaio Morettini’, ‘Nebbio’, ‘Piangente’ y ‘Villalonga’, mientras que el contenido más bajo de humedad de los frutos lo presentaron las variedades ‘Frantoio’, ‘Genovesa’ y ‘Farga’, sin diferencias significativas con ‘Cucci’, ‘Dulzal’, ‘Morchiaio Morettini’, ‘Nebbio’, ‘Piangente’, ‘Villalonga’ y ‘Canino’.

En la figura 7 se observa una tendencia negativa entre la humedad y el contenido de materia grasa de los frutos de las 18 variedades evaluadas en dos temporadas de análisis. Si bien el ajuste fue bajo, la relación estadísticamente resultó significativa ( $p$ -valor = 0,0094). Asimismo, se observó que estos dos parámetros estuvieron negativamente correlacionados ( $r = -0,40$ ).

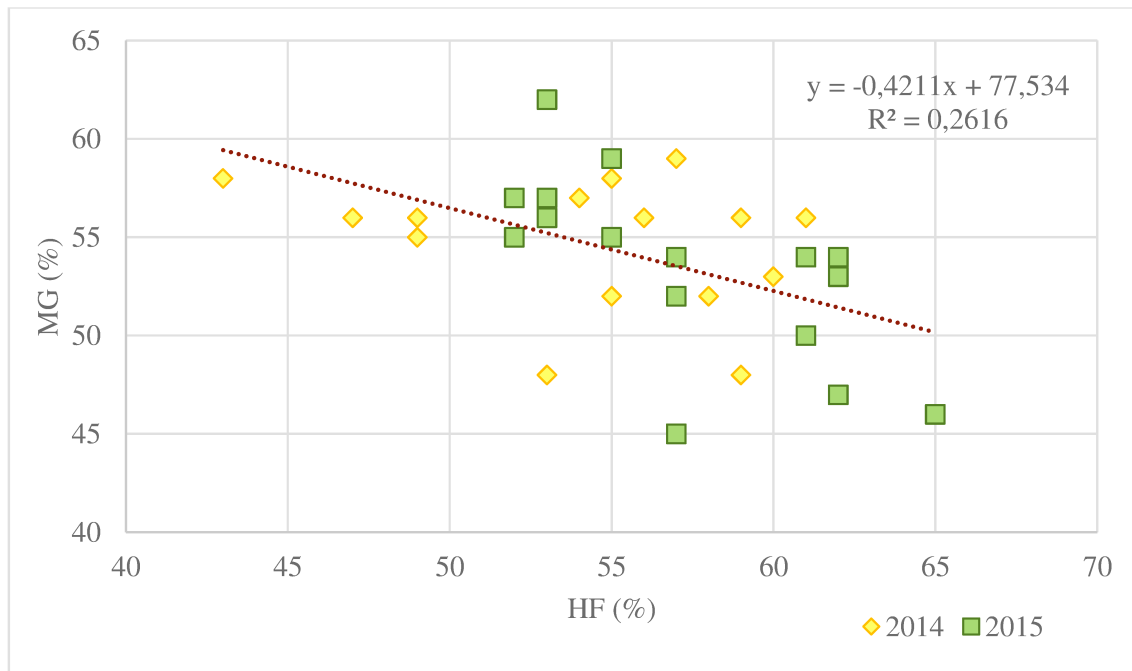


Figura 7: Relación entre humedad y materia grasa de los frutos de 18 variedades de olivo para dos temporadas (2013/2014 y 2014/2015). MG= materia grasa de los frutos; HF= humedad de los frutos

## 4.2. Características de los aceites de oliva virgen extra

### 4.2.1. Caracterización general de los aceites

#### 4.2.1.1. Rendimiento industrial

Se observaron diferencias significativas entre variedades ( $p < 0,0001$ ), entre años ( $p = 0,0234$ ), y también fue significativa la interacción variedad x año ( $p = 0,0061$ ). ‘Villalonga’ presentó el mayor rendimiento industrial sin diferencias significativas respecto de ‘Morchiaio Morettini’. Mientras que ‘Empeltre’ presentó el valor más bajo. Además se observó una diferencia mayor a cuatro veces y media entre los valores extremos (Tabla 7).

Tabla 7: Rendimiento industrial promedio de dos temporadas (2013/2014 y 2014/2015) de los frutos de 18 variedades de olivo de la Colección de la EEA INTA Junín, Mendoza

Fuente de variación	Rendimiento industrial (%)	
<i>Variedad</i>		
Arauco	11	def
Blanqueta	12	cde
Canino	14	bc
Criolla Salvarredi	10	ef
Cucci	8	f
Dritta	14	cde
Dulzal	12	cde
Empeltre	4	g
Farga	11	def
Frantoio	13	bcd
Genovesa	14	bcd
Jabaluno	8	f
Morchiaio Morettini	13	ab
Nebbio	15	bc
Nevadillo Blanco	10	def
Piangente	14	def
Selección N°1	10	ef
Villalonga	18	a
<i>Año</i>		
2014	11	b
2015	12	a
<i>Interacción var x año (p-valor)</i>	0,0061	

Diferentes letras indican diferencias significativas entre variedades ( $p \leq 0,05$ ).

En promedio el año 2015 (12%) presentó mayor rendimiento industrial respecto al 2014 (11%) para la mayoría de las variedades. Sin embargo, las variedades ‘Morchiaio Morettini’ y ‘Empeltre’ presentaron mayor porcentaje de rendimiento industrial en la primera temporada respecto de la segunda, mientras que las variedades ‘Frantoio’, ‘Arauco’, ‘Farga’ y ‘Selección N°1’ se mantuvieron constantes. Esto explicaría la interacción variedad x año (Fig. 8).

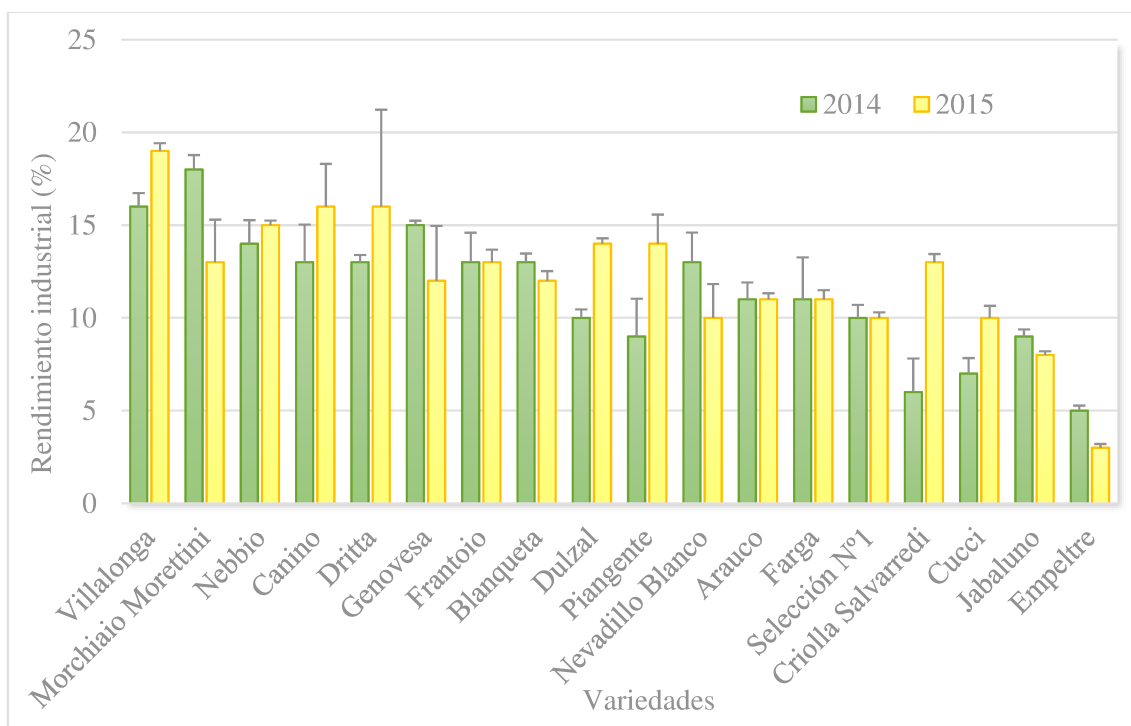


Figura 8: Rendimiento industrial de aceite (%) de los frutos de 18 variedades de olivo durante dos temporadas (2013/2014 y 2014/2015). Barras de error  $\pm 1\text{ee}$  ( $n = 3$ )

Mediante un análisis de correlación (datos no mostrados), se evaluó la correspondencia entre el rendimiento industrial y el contenido de materia grasa de los frutos ( $r = 0,27$ ), siendo esta significativa ( $p = 0,01$ ). Además, se evaluó el rendimiento industrial respecto de la humedad de los frutos, dando una correlación negativa ( $r = -0,47$ ).

#### 4.2.1.2. Acidez libre

Se observó un efecto significativo de la variedad ( $p < 0,0001$ ) y de la interacción variedad x año ( $p < 0,0001$ ), en tanto que el efecto año no fue significativo ( $p = 0,751$ ) (Tabla 8).

El intervalo para esta variable, expresada como porcentaje de ácido oleico, estuvo entre 0,66 % para la variedad ‘Canino’ y 0,18 % para la variedad ‘Selección N°1’.

Tabla 8: Acidez libre promedio durante dos temporadas (2013/2014 y 2014/2015) del aceite de 18 variedades de olivo de la Colección de la EEA INTA Junín, Mendoza

Fuente de variación	Acidez libre (% ácido oleico)	
<i>Variedad</i>		
Arauco	0,25	fg
Blanqueta	0,45	bcd
Canino	0,66	a
Criolla Salvarredi	0,21	g
Cucci	0,24	g
Dritta	0,35	def
Dulzal	0,43	cd
Empeltre	0,28	efg
Farga	0,24	g
Frantoio	0,38	de
Genovesa	0,25	fg
Jabaluno	0,24	g
Morchiaio Morettini	0,55	ab
Nebbio	0,51	bc
Nevadillo Blanco	0,53	bc
Piangente	0,23	g
Selección N°1	0,18	g
Villalonga	0,23	g
<i>Año</i>		
2014	0,35	ns
2015	0,35	
<i>Interacción var x año (p-valor)</i>	<0,0001	

Diferentes letras indican diferencias significativas entre variedades ( $p \leq 0,05$ ).

ns no significativo a un  $\alpha = 0,05$ .

Las variedades restantes tuvieron valores intermedios y fueron clasificadas en dos grupos, uno formado por las variedades ‘Selección N°1’, ‘Criolla Salvarredi’, ‘Piangente’, ‘Villalonga’, ‘Cucci’, ‘Farga’, ‘Jabaluno’, ‘Arauco’, ‘Genovesa’ y ‘Empeltre’, que presentaron un porcentaje de acidez más bajo ( $< 0,3$  %), y sin diferencias significativas entre ellas, y otro grupo formado por variedades con mayor acidez (‘Canino’, ‘Morchiaio Morettini’, ‘Nevadillo Blanco’, ‘Nebbio’, ‘Blanqueta’, ‘Dulzal’, ‘Frantoio’ y ‘Dritta’).

Las variedades ‘Arauco’, ‘Canino’, ‘Frantoio’, ‘Nevadillo Blanco’ y ‘Nebbio’ presentaron un porcentaje de ácido oleico más bajo al segundo año de molienda respecto del primero, mientras que por el contrario, las variedades ‘Blanqueta’, ‘Morchiaio Morettini’, ‘Piangente’ y ‘Dulzal’ tuvieron un porcentaje de ácido oleico mayor al segundo año de molienda. Esto explicaría la interacción variedad x año, independientemente que el efecto año no fue significativo.

#### 4.2.1.3. Estabilidad oxidativa

La estabilidad oxidativa mostró diferencias entre variedades ( $p < 0,0001$ ) pero no entre años ( $p = 0,592$ ). También fue significativa la interacción variedad x año ( $p < 0,0001$ ) (Tabla 9).

Tabla 9: Estabilidad oxidativa promedio de dos temporadas (2013/2014 y 2014/2015) del aceite de 18 variedades de olivo de la Colección de la EEA INTA Junín, Mendoza

Fuente de variación	Estabilidad oxidativa (h)	
<i>Variedad</i>		
Arauco	9,25	ghi
Blanqueta	11,18	fgh
Canino	9,55	ghi
Criolla Salvarredi	11,36	fg
Cucci	9,07	hi
Dritta	7,50	i
Dulzal	14,94	cd
Empeltre	16,87	bc
Farga	12,58	ef
Frantoio	9,28	ghi
Genovesa	14,50	de
Jabaluno	20,28	a
Morchiaio Morettini	12,74	def
Nebbio	11,37	fg
Nevadillo Blanco	20,74	a
Piangente	19,11	ab
Selección N°1	9,63	ghi
Villalonga	14,32	de
<i>Año</i>		
2014	13,15	ns
2015	12,93	
<i>Interacción var x año (p-valor)</i>	<0,0001	

Diferentes letras indican diferencias significativas entre variedades ( $p \leq 0,05$ ).

ns no significativo a un  $\alpha = 0,05$ .

Las variedades con mayor resistencia al enranciamiento fueron ‘Nevadillo Blanco’, ‘Jabaluno’ y ‘Piangente’ con más de 19 h cada una, mientras que en el otro extremo se encontró ‘Dritta’ sin diferencias significativas respecto de ‘Cucci’, ‘Arauco’, ‘Frantoio’, ‘Canino’ y ‘Selección N°1’, con menos de 10 h en promedio de resistencia al enranciamiento. Las restantes variedades (‘Empeltre’, ‘Dulzal’, ‘Genovesa’, ‘Villalonga’, ‘Morchiaio Morettini’, ‘Farga’, ‘Nebbio’, ‘Criolla Salvarredi’ y ‘Blanqueta’) presentaron valores promedios superiores a las 10 h de resistencia al enranciamiento (Fig. 9).

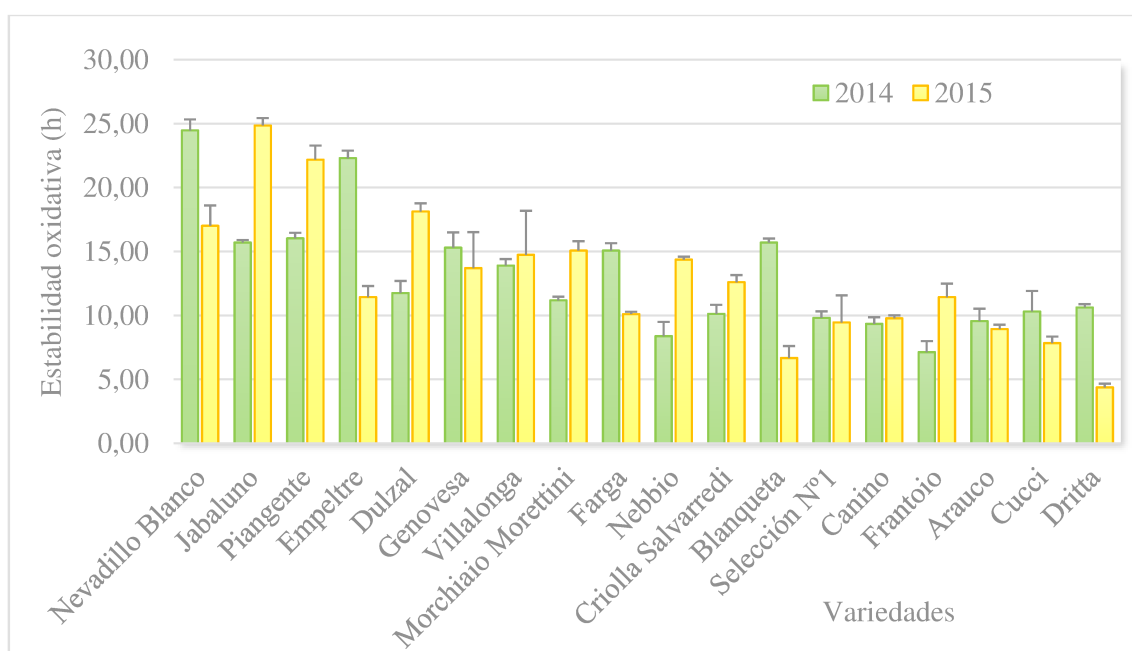


Figura 9: Estabilidad Oxidativa (expresada en horas) del aceite de 18 variedades de olivo durante dos temporadas (2013/2014 y 2014/2015). Barras de error  $\pm 1$ ee (n = 3)

Las variedades ‘Dritta’, ‘Farga’ y ‘Nevadillo Blanco’ presentaron mayor resistencia al enranciamiento en el primer año respecto del segundo. Por el contrario ‘Dulzal’, ‘Jabaluno’, ‘Frantoio’, ‘Morchiaio Morettini’, ‘Nebbio’ y ‘Piangente’ presentaron mayor resistencia al enranciamiento en la segunda temporada, lo que explicaría la interacción variedad x año (Fig. 9).

#### 4.2.1.4. Coeficiente de extinción K

Estos parámetros fueron medidos únicamente en la segunda temporada. Para el coeficiente  $K_{232}$  se observaron diferencias significativas entre variedades ( $p = 0,0004$ ). Los valores extremos fueron 3,91 y 1,13, correspondientes a las variedades ‘Dritta’ y ‘Nevadillo Blanco’, respectivamente (Tabla 10).

Tabla 10: Coeficientes de extinción temporada 2014/2015 de 18 variedades de olivo de la Colección de la EEA INTA Junín, Mendoza

<i>Variedad</i>	$K_{232}$	$K_{270}$
Arauco	2,97 abc	0,16 ab
Blanqueta	3,49 a	0,15 abc
Canino	2,76 abcd	0,16 ab
Criolla Salvarredi	3,08 abc	0,17 a
Cucci	2,87 abcd	0,09 hi
Dritta	3,91 a	0,11 efg
Dulzal	2,03 cde	0,09 ghi
Empeltre	1,82 de	0,11 ef
Farga	2,76 abcd	0,10 fgh
Frantoio	3,01 abc	0,12 de
Genovesa	3,89 a	0,10 efg
Jabaluno	1,88 e	0,12 ef
Morchiaio Morettini	2,65 abcd	0,14 bc
Nebbio	2,08 cde	0,15 abc
Nevadillo Blanco	1,13 e	0,08 i
Piangente	3,30 ab	0,14 cd
Selección N°1	3,62 a	0,14 cd
Villalonga	2,37 bcd	0,11 ef

Diferentes letras indican diferencias significativas entre variedades dentro de cada columna ( $p \leq 0,05$ ).

Las restantes variedades presentaron valores intermedios y fueron clasificadas en dos categorías. El primer grupo estuvo formado por variedades con un  $K_{232}$  menor a 2,5 (valor máximo fijado por el COD): ‘Villalonga’, ‘Nebbio’, ‘Dulzal’, ‘Jabaluno’, ‘Empeltre’ y ‘Nevadillo Blanco’, mientras que el segundo grupo lo formaron las variedades con un coeficiente de extinción  $K_{232}$  mayor a 2,5: ‘Dritta’, ‘Genovesa’, ‘Selección N°1’, ‘Blanqueta’, ‘Piangente’, ‘Criolla Salvarredi’, ‘Frantoio’, ‘Arauco’, ‘Cucci’, ‘Canino’, ‘Farga’ y ‘Morchiaio Morettini’ (Fig. 10).

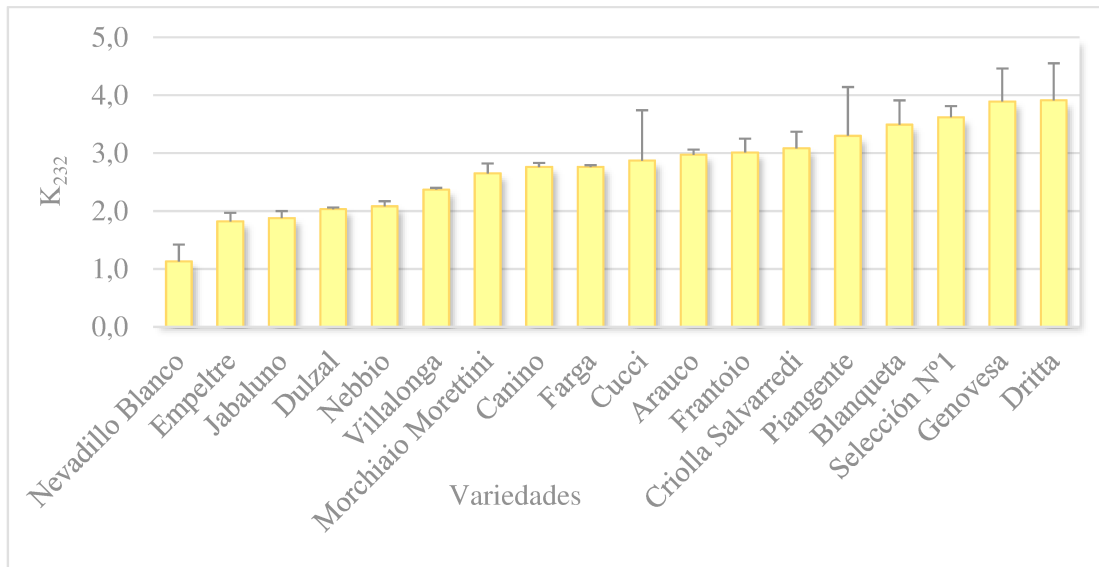


Figura 10: Coeficiente de Extinción (K<sub>232</sub>) del aceite de 18 variedades de olivo. Datos correspondientes a la temporada 2014/2015. Barras de error  $\pm 1\text{ee}$  (n = 3)

El coeficiente de extinción K<sub>270</sub> también fue dependiente de la variedad ( $p < 0,0001$ ). Los valores promedio estuvieron en un rango de 0,17 a 0,08 (Tabla 10). El valor más alto correspondió a la variedad ‘Criolla Salvarredi’ sin diferenciarse significativamente de ‘Arauco’, ‘Canino’, ‘Blanqueta’ y ‘Nebbio’. Mientras que el valor más bajo correspondió a ‘Nevadillo Blanco’, sin diferencias significativas respecto de ‘Cucci’ y ‘Dulzal’ (Fig. 11).

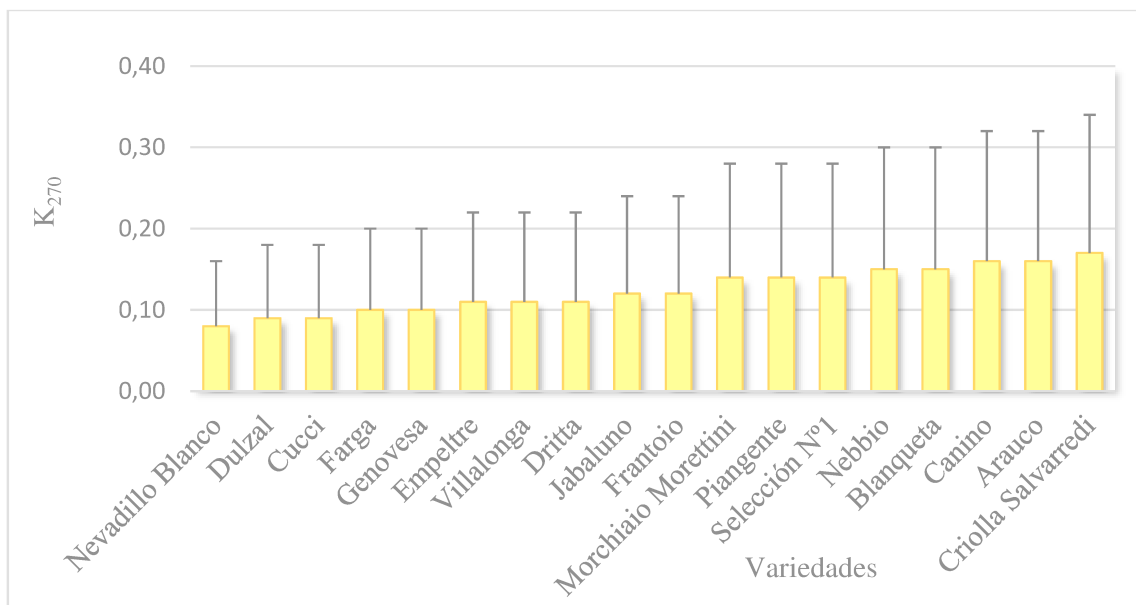


Figura 11: Coeficiente de Extinción (K<sub>270</sub>) del aceite de 18 variedades de olivo. Datos correspondientes a la temporada 2014/2015. Barras de error  $\pm 1\text{ee}$  (n = 3)



En la segunda temporada, mediante un análisis de correlación (datos no mostrados), se evaluaron los datos de los coeficientes de extinción y la estabilidad oxidativa. Se observó una tendencia negativa ( $r = -0,43$ ) entre el coeficiente de oxidación primaria ( $K_{232}$ ) y la estabilidad ( $p = 0,0015$ ). Con respecto al coeficiente de oxidación secundaria ( $K_{270}$ ) la relación no fue significativa.

## 4.2.2. Caracterización fenólica de los aceites

### 4.2.2.1. Compuestos fenólicos totales

Este parámetro mostró diferencias entre variedades ( $p < 0,0001$ ), entre años ( $p < 0,0001$ ), y en la interacción variedad x año ( $p < 0,0001$ ). El contenido total de fenoles varió entre 440,64 ppm y 105,45 ppm. La variedad ‘Canino’ presentó el valor más alto, sin diferencias significativas respecto de ‘Nebbio’ y ‘Arauco’, mientras que el valor más bajo se observó en la variedad ‘Cucci’ (Tabla 11).

Tabla 11: Fenoles totales promedio de dos temporadas (2013/2014 y 2014/2015) en 18 variedades de olivo de la Colección de la EEA INTA Junín, Mendoza

Fuente de variación	Fenoles totales (ppm)	
<i>Variedad</i>		
Arauco	413,63	ab
Blanqueta	324,77	cde
Canino	440,64	a
Criolla Salvarredi	371,16	bc
Cucci	105,45	k
Dritta	241,52	ghij
Dulzal	250,22	ghij
Empeltre	217,03	ij
Farga	268,93	fgh
Frantoio	227,34	hij
Genovesa	236,74	ghij
Jabaluno	231,58	hij
Morchiaio Morettini	285,92	efg
Nebbio	416,06	ab
Nevadillo Blanco	345,92	cd
Piangente	304,96	def
Selección N°1	190,81	j
Villalonga	357,14	c
<i>Año</i>		
2014	323,83	a
2015	258,66	b
<i>Interacción var x año (p-valor)</i>	<0,0001	

Diferentes letras indican diferencias significativas entre variedades ( $p \leq 0,05$ ).

En la primera temporada (2013/2014), las variedades en general presentaron en promedio una concentración total de fenoles significativamente superior ( $p < 0,0001$ ) respecto de la segunda

temporada (2014/2015). Sin embargo, la variedad ‘Nebbio’ presentó mayor concentración de fenoles en la temporada 2014/2015 mientras que ‘Jabaluno’ y ‘Selección N°1’ presentaron escasa variación entre las temporadas evaluadas (Fig. 12), lo que explica la interacción variedad x año (Tabla 11).

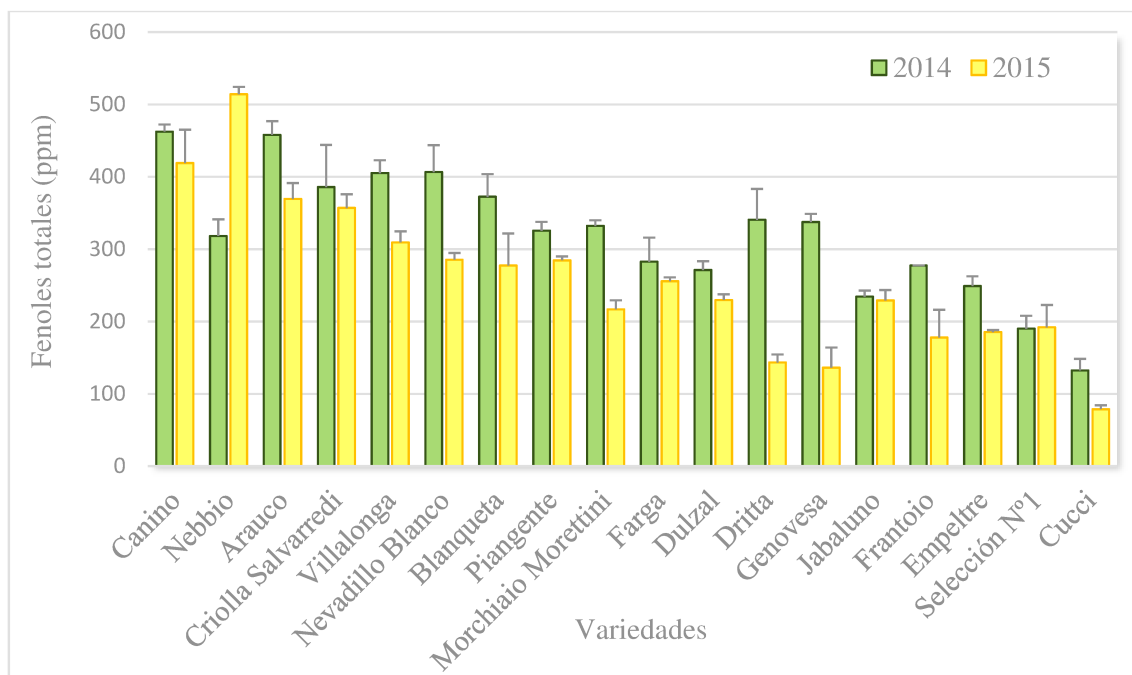


Figura 12: Contenido total de fenoles (ppm) en el aceite de 18 variedades de olivo, durante dos temporadas de estudio (2013/2014 y 2014/2015). Barras de error  $\pm 1\text{ee}$  ( $n = 3$ )

Con los datos del contenido total de fenoles de las dos temporadas evaluadas, se hicieron análisis de correlación (datos no mostrados). Con respecto a la estabilidad oxidativa la correlación no fue significativa. Sin embargo, se observó una correlación negativa entre el contenido total de fenoles y el índice de madurez ( $r = -0,46$ ).

#### 4.2.2.2. Composición fenólica de los aceites

La composición fenólica de los aceites fue significativamente diferente entre variedades ( $p < 0,0013$ ), entre años ( $p < 0,0002$ ) y para la interacción variedad x año ( $p < 0,0001$ ). Los compuestos fenólicos más abundantes, en promedio para todas las variedades, fueron tirosol y

quercetina (26%), seguidos por oleuropeína (14%) y apigenina (8%). Mientras que los ácidos gálico y vanílico presentaron las menores concentraciones (Fig. 13).

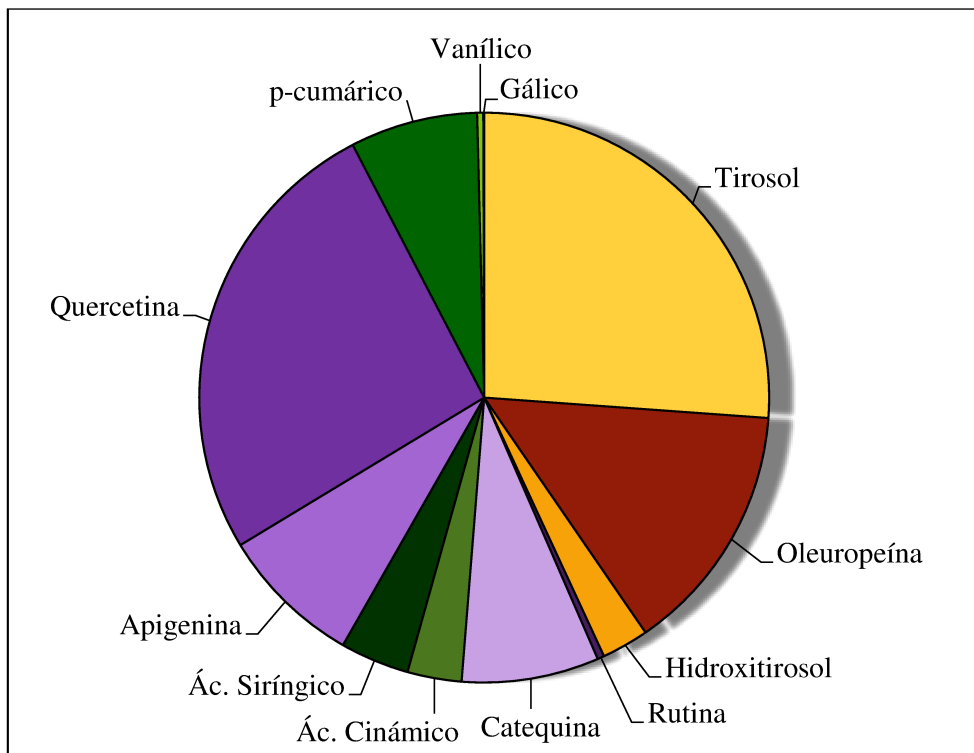


Figura 13: Concentración total de los diferentes compuestos fenólicos para todas las variedades de olivo de la EEA INTA Junín, Mendoza. Datos de dos temporadas (2013/2014 y 2014/2015)

El promedio general de todos los fenoles medidos en las dos temporadas, en 18 variedades fue 38,5 ppm. Las variedades con mayor concentración promedio de fenoles fueron ‘Canino’ (106,37 ppm) y ‘Criolla Salvarredi’ (68,10 ppm) datos no mostrados en la tesis. La variedad ‘Morchiaio Morettini’ presentó la concentración de fenoles promedio más baja (15,38 ppm). El resto de las variedades presentaron concentraciones intermedias, diferenciándose por el tipo de compuesto.

Para facilitar el análisis, los compuestos fenólicos se clasificaron según su estructura química en cuatro familias (alcoholes, secoiridoides, flavonoides y ácidos). Todas las variedades estudiadas presentaron los cuatro grupos de familias identificadas en el presente trabajo, excepto

‘Genovesa’ y ‘Morchiaio Morettini’ que no mostraron en su composición, presencia de ninguno de los ácidos estudiados (Fig. 14).

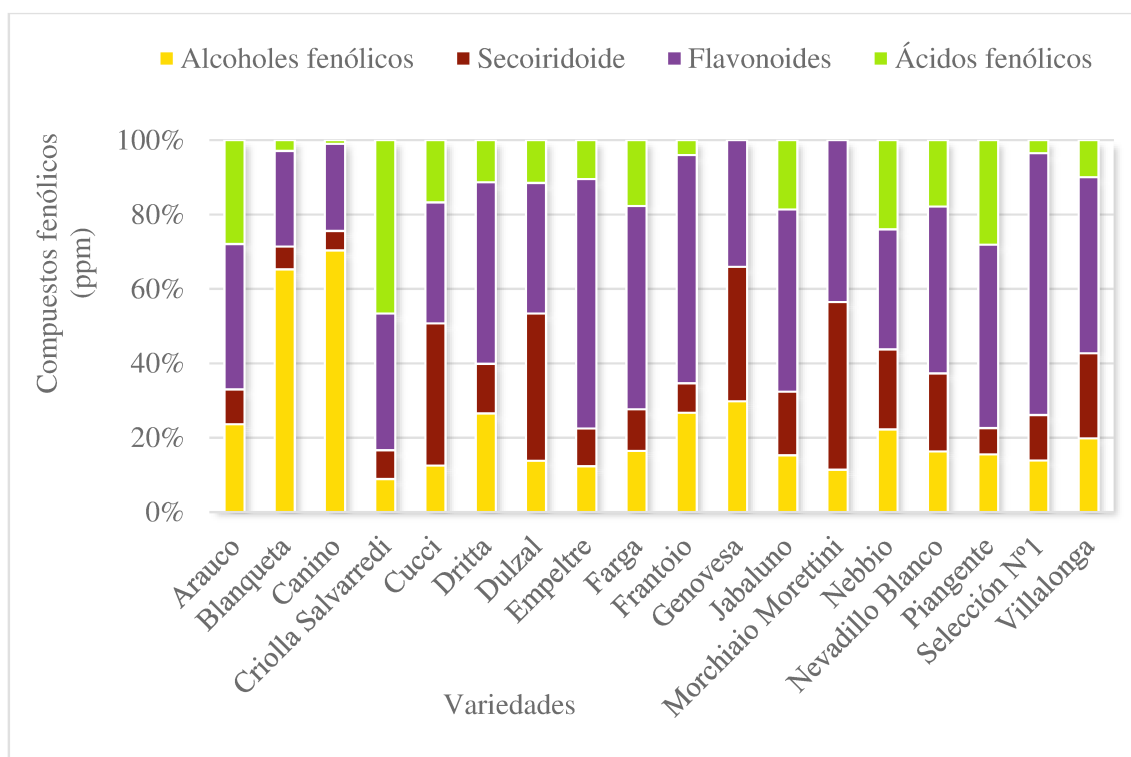


Figura 14: Contribución porcentual de familias de compuestos fenólicos en el aceite de 18 variedades de olivo de la colección de la EEA INTA Junín, Mendoza. Datos promedio de dos temporadas (2013-2014 y 2014-2015)

La oleuropeína fue el único secoiridoide evaluado en los aceites de las 18 variedades, con una concentración promedio igual a 5,50 ppm. El contenido de este compuesto dependió de la variedad ( $p < 0,0001$ ), del año ( $p < 0,0001$ ), y fue significativa la interacción variedad x año ( $p < 0,0001$ ) (Tabla 12).

‘Dulzal’ y ‘Cucci’ presentaron las mayores concentraciones de oleuropeína (9,67 ppm y 9,46 ppm respectivamente) con diferencias significativas respecto del resto, mientras que ‘Frantoio’ exhibió la concentración más baja (2,18 ppm), sin diferencias respecto de las variedades ‘Blanqueta’, ‘Dritta’, ‘Farga’ y ‘Piangente’. Las variedades restantes tuvieron valores intermedios con diferencias significativas entre ellas. ‘Villalonga’, ‘Selección N°1’, ‘Genovesa’, ‘Morchiaio Morettini’ y ‘Nevadillo Blanco’ presentaron concentraciones superiores a 6,30 ppm. ‘Jabaluno’, ‘Canino’, ‘Nebbio’, ‘Criolla Salvarredi’ y ‘Arauco’ mostraron una

concentración superior a 4,80 ppm. Por último, las variedades ‘Empeltre’, ‘Dritta’, ‘Blanqueta’, ‘Farga’ y ‘Piangente’ mostraron las concentraciones más bajas, inferiores a 3,30 ppm.

Tabla 12: Concentración (ppm) de secoiridoide (oleuropeína) en el aceite de 18 variedades de olivo de la EEA INTA Junín, Mendoza. Datos promedio de dos temporadas (2013/2014 y 2014/2015)

Fuente de variación	Oleuropeína (ppm)
<i>Variedad</i>	
Arauco	4,81 e
Blanqueta	3,18 fg
Canino	5,61 de
Criolla Salvarredi	5,31 de
Cucci	9,46 a
Dritta	3,20 fg
Dulzal	9,67 a
Empeltre	3,28 f
Farga	2,81 fg
Frantoio	2,18 g
Genovesa	7,36 b
Jabaluno	5,72 de
Morchiaio Morettini	6,93 bc
Nebbio	5,37 de
Nevadillo Blanco	6,30 cd
Piangente	2,81 fg
Selección N°1	7,42 b
Villalonga	7,51 b
<i>Año</i>	
2014	10,98 a
2015	0,00 b
<i>Interacción var x año (p-valor)</i>	<0,0001

Diferentes letras indican diferencias significativas entre variedades dentro de cada columna ( $p \leq 0,05$ )

El efecto año fue muy significativo ( $p < 0,0001$ ), dado que en la primera temporada (2013/2014) todas las variedades manifestaron contener oleuropeína en su composición, mientras que en la segunda temporada (2014/2015) ninguna variedad lo hizo (Tabla 12).

Los alcoholes fenólicos ocuparon el segundo lugar entre los compuestos fenólicos (Fig. 14), siendo la concentración promedio igual a 11,09 ppm, para las 18 variedades evaluadas. El tirosol, fue el alcohol fenólico más representativo (26%), seguido por el hidroxitirosol (3%).

Las concentraciones en ambos alcoholes (tirosol e hidroxitirosol) fueron dependiente de la variedad ( $p < 0,0001$ ), del año ( $p < 0,0001$ ), y también se observó interacción variedad x año ( $p < 0,0001$ ) (Tabla 13).

Tabla 13: Concentración (ppm) de alcoholes fenólicos (tirosol e hidroxitirosol) en el aceite de 18 variedades de olivo de la EEA INTA Junín, Mendoza. Datos promedio de dos temporadas (2013/2014 y 2014/2015)

Fuente de variación	Tirosol (ppm)	Hidroxitirosol (ppm)
<i>Variedad</i>		
Arauco	11,37 c	0,66 cde
Blanqueta	34,05 b	0,00 e
Canino	69,70 a	5,13 a
Criolla Salvarredi	5,51 def	0,53 de
Cucci	1,84 gh	1,27 cd
Dritta	5,08 defg	1,25 cd
Dulzal	3,38 efgh	0,00 e
Empeltre	2,38 fgh	1,61 c
Farga	4,12 defgh	0,00 e
Frantoio	6,36 de	0,99 cde
Genovesa	2,42 fgh	3,66 b
Jabaluno	4,67 defg	0,41 de
Morchiaio Morettini	1,75 h	0,00 e
Nebbio	5,56 def	0,00 e
Nevadillo Blanco	4,89 defg	0,00 e
Piangente	4,85 defg	1,30 cd
Selección N°1	7,16 d	1,21 cd
Villalonga	6,01 de	0,47 de
<i>Año</i>		
2014	8,00 b	0,35 b
2015	12,12 a	1,68 a
<i>Interacción var x año (p-valor)</i>	<0,0001	<0,0001

Diferentes letras dentro de cada columna indican diferencias significativas entre variedades ( $p \leq 0,05$ )

Las mayores concentraciones promedio de tirosol se observaron en las variedades ‘Canino’, ‘Blanqueta’ y ‘Arauco’, con diferencias significativas entre ellas. Los valores más bajos se observaron en las variedades ‘Farga’, ‘Dulzal’, ‘Empeltre’, ‘Genovesa’, ‘Cucci’ y ‘Morchiaio Morettini’ sin diferencias significativas entre ellas (Tabla 13).

En el caso del hidroxitirosol, la mayor concentración promedio se observó en la variedad ‘Canino’, mientras que ‘Arauco’, ‘Frantoio’, ‘Villalonga’, ‘Criolla Salvarredi’ y ‘Jabaluno’

presentaron las concentraciones más bajas, sin diferencias significativas respecto de las variedades donde su concentración no fue detectada.

El hidroxitirosol, en la primera temporada, estuvo únicamente presente en la variedad ‘Canino’ (Fig. 15c), en tanto que en la segunda temporada estuvo presente en la mayoría de las variedades, excepto ‘Canino’, ‘Dulzal’, ‘Farga’, ‘Morchiaio Morettini’, ‘Nebbio’ y ‘Nevadillo Blanco’ donde su concentración no fue detectada.

Por último, se evaluaron las relaciones entre el índice de madurez (IM) y los alcoholes fenólicos para todas las variedades evaluadas en el año 2014. El IM presentó una relación positiva con el hidroxitirosol ( $R^2 = 0,45$ ) y negativa con el tirosol ( $R^2 = 0,41$ ).

Tabla 14: Concentración (ppm) de flavonoides (rutina, catequina, apigenina y quercetina) en el aceite de 18 variedades de olivo de la EEA INTA Junín, Mendoza. Datos promedio de dos temporadas (2013-2014 y 2014-2015)

Fuente de variación	Rutina (ppm)	Catequina (ppm)	Apigenina (ppm)	Quercetina (ppm)
<i>Variedad</i>				
Arauco	0,00 c	5,39 a	1,86 g	12,67 cd
Blanqueta	0,00 c	1,27 de	2,09 fg	10,04 def
Canino	0,00 c	4,62 a	4,56 c	15,66 bc
Criolla Salvarredi	1,16 b	5,04 a	5,78 b	13,03 cd
Cucci	0,00 c	0,00 e	1,89 g	6,17 fgh
Dritta	0,00 c	1,80 cde	2,29 fg	7,56 efgh
Dulzal	0,00 c	4,00 ab	0,77 h	3,82 hi
Empeltre	0,00 c	0,00 e	2,10 fg	19,62 b
Farga	0,00 c	1,87 cde	2,61 ef	9,21 defg
Frantoio	0,00 c	4,26 ab	2,94 e	9,67 defg
Genovesa	0,00 c	0,00 e	2,18 fg	4,76 h
Jabaluno	0,00 c	3,58 abc	1,80 g	10,97 de
Morchiaio Morettini	0,00 c	3,67 abc	3,01 e	0,00 i
Nebbio	0,00 c	4,27 ab	3,81 d	0,00 i
Nevadillo Blanco	0,00 c	5,26 a	2,38 efg	5,82 gh
Piangente	1,49 a	1,53 de	4,84 c	11,75 cde
Selección N°1	0,00 c	2,69 bcd	8,15 a	31,72 a
Villalonga	0,00 c	4,72 a	2,97 e	7,79 efgh
<i>Año</i>				
2014	0,15 a	1,18 b	4,82 a	0,00 b
2015	0,00 b	4,82 a	1,41 b	20,02 a
<i>Interacción var x año (p-valor)</i>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Diferentes letras dentro de cada columna indican diferencias significativas entre variedades ( $p \leq 0,05$ )



Los flavonoides ocuparon el primer lugar entre los compuestos fenólicos, siendo la concentración promedio igual a 16,27 ppm para las 18 variedades evaluadas. Se identificaron cuatro flavonoides (Tabla 14): apigenina, quercetina, rutina y catequina. Para los cuatro flavonoides fue significativo el efecto de la variedad ( $p < 0,0001$ ), el año ( $p < 0,0001$ ) y la interacción variedad x año ( $p < 0,0001$ ). Comparando entre las concentraciones totales de flavonoides, quercetina fue la más alta (180,26 ppm), seguida por apigenina (56,03 ppm), catequina (53,97 ppm) y por último rutina (2,65 ppm).

Las concentraciones de apigenina variaron entre 8,15 y 0,77 ppm, siendo ‘Selección N°1’ la variedad con mayor concentración, en tanto que ‘Dulzal’ manifestó el valor más bajo (Tabla 14). En el caso de la quercetina las concentraciones variaron entre 31,72 y 3,82 ppm, presentando la mayor concentración la variedad ‘Selección N°1’, mientras que los valores más bajos se observaron en las variedades ‘Villalonga’, ‘Dritta’, ‘Cucci’, ‘Nevadillo Blanco’, ‘Genovesa’ y ‘Dulzal’ (Tabla 14).

La rutina estuvo presente únicamente en las variedades ‘Criolla Salvarredi’ (Fig. 15d) y ‘Piangente’ (Fig. 15p). En tanto que catequina fue identificada en 15 variedades, siendo ‘Arauco’, ‘Nevadillo Blanco’, ‘Criolla Salvarredi’, ‘Villalonga’, ‘Canino’, ‘Frantoio’, ‘Dulzal’, ‘Nebbio’, ‘Jabaluno’ y ‘Morchiaio Morettini’ las que presentaron las mayores concentraciones, sin diferencias significativas entre ellas; las menores concentraciones de catequina fueron identificados en ‘Farga’, ‘Dritta’ ‘Piangente’, ‘Selección N°1’ y ‘Blanqueta’ sin diferencias estadísticamente significativas entre ellas. En las variedades ‘Cucci’, ‘Empeltre’ y ‘Genovesa’, la catequina no fue detectada en ninguna de las temporadas evaluadas.

Los ácidos fenólicos evaluados fueron seis: ácido cinámico, ácido siríngico, ácido p-cumárico, ácido vanílico, ácido cafeico, y ácido gálico (Tabla 15).

Tabla 15: Concentración (ppm) de ácidos fenólicos (cinámico, siríngico, p-cumárico, vanílico, cafeico y gálico) en el aceite de 18 variedades de olivo de la EEA INTA Junín, Mendoza. Datos promedio de dos temporadas (2013-2014 y 2014-2015)

Fuente de variación	Ácido Cinámico (ppm)	Ácido Siríngico (ppm)	Ácido p-cumárico (ppm)	Ácido Vanílico (ppm)	Ácido Cafeico (ppm)	Ácido Gálico (ppm)
<i>Variedad</i>						
Arauco	0,00 d	0,00 h	14,26 b	0,00 b	0,00	0,00 b
Blanqueta	0,00 d	1,52 defg	0,00 d	0,00 b	0,00	0,00 b
Canino	0,00 d	1,09 fgh	0,00 d	0,00 b	0,00	0,00 b
Criolla Salvarredi	2,12 abcd	1,15 efg	28,47 a	0,00 b	0,00	0,00 b
Cucci	0,00 d	1,74 cdef	0,00 d	1,21 a	0,00	0,00 b
Dritta	0,48 d	2,23 bcde	0,00 d	0,00 b	0,00	0,00 b
Dulzal	2,81 abc	0,00 h	0,00 d	0,00 b	0,00	0,00 b
Empeltre	1,26 bcd	2,12 bcdef	0,00 d	0,00 b	0,00	0,00 b
Farga	0,96 cd	3,47 a	0,00 d	0,00 b	0,00	0,00 b
Frantoio	0,63 d	0,48 gh	0,00 d	0,00 b	0,00	0,00 b
Genovesa	0,00 d	0,00 h	0,00 d	0,00 b	0,00	0,00 b
Jabaluno	2,11 abcd	3,09 ab	0,69 d	0,00 b	0,00	0,34 a
Morchiaio Morettini	0,00 d	0,00 h	0,00 d	0,00 b	0,00	0,00 b
Nebbio	3,26 ab	2,73 abc	0,00 d	0,00 b	0,00	0,00 b
Nevadillo Blanco	3,88 a	1,47 efg	0,00 d	0,00 b	0,00	0,00 b
Piangente	1,86 abcd	2,57 abcd	6,73 c	0,00 b	0,00	0,00 b
Selección Nº1	0,00 d	2,11 bcdef	0,00 d	0,00 b	0,00	0,00 b
Villalonga	1,92 abcd	1,35 efg	0,00 d	0,00 b	0,00	0,00 b
<i>Año</i>						
2014	0,48 b	0,33 b	0,08 b	0,13 a	0,00	0,04 a
2015	1,88 a	2,68 a	5,49 a	0,00 b	0,00	0,00 b
<i>Interacción var x año (p-valor)</i>						
	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,00	<0,0001

Diferentes letras dentro de cada columna indican diferencias significativas entre variedades ( $p \leq 0,05$ )

El ácido p-cumárico presentó la mayor concentración promedio (12,54 ppm) mientras que el ácido cafeico no fue detectado en ninguna de las 18 variedades evaluadas en el presente estudio. Para todos los ácidos, excepto cafeico, fue significativo el efecto de la variedad ( $p < 0,002$ ), del año ( $p < 0,0002$ ) y de la interacción variedad x año ( $p < 0,0001$ ) (Tabla 15). Las variedades ‘Criolla Salvarredi’ y ‘Arauco’ presentaron las mayores concentraciones de ácidos promedio (31,74 ppm y 14,26 ppm, respectivamente) (Fig. 15a y 15d).

El ácido cinámico fue detectado en 11 variedades. ‘Nevadillo Blanco’ tuvo la concentración más alta, sin diferencias significativas respecto de ‘Criolla Salvarredi’, ‘Dulzal’, ‘Jabaluno’, ‘Nebbio’, ‘Piangente’ y ‘Villalonga’. Mientras que ‘Dritta’ presentó la concentración más baja de ácido cinámico, sin diferencias significativas respecto de ‘Frantoio’, ‘Criolla Salvarredi’,

‘Empeltre’, ‘Farga’, ‘Jabaluno’, ‘Piangente’ y ‘Villalonga’. En las restantes variedades no fue detectado el ácido cinámico (Tabla 15).

El ácido sirínico fue identificado en 14 variedades. ‘Farga’ tuvo la concentración más alta, sin diferencias significativas respecto de ‘Jabaluno’, ‘Nebbio’ y ‘Piangente’, mientras que ‘Frantoio’ presentó la concentración más baja sin diferencias significativas respecto de ‘Blanqueta’, ‘Canino’, ‘Criolla Salvarredi’, ‘Nevadillo Blanco’ y ‘Villalonga’. Las restantes variedades presentaron valores intermedios sin diferencias significativas entre ellas (Tabla 15).

El ácido p-cumárico fue detectado en 4 variedades, con diferencias significativas entre ellas. ‘Criolla Salvarredi’ tuvo la mayor concentración mientras que ‘Jabaluno’ presentó la concentración más baja. ‘Arauco’ y ‘Piangente’ presentaron concentraciones intermedias con diferencias significativas entre ellas (Tabla 15). Mediante un análisis de correlación (datos no mostrados), se observó que el ácido p-cumárico y la estabilidad oxidativa se vinculaban negativamente ( $r = -0,78$ ).

El ácido vanílico fue identificado únicamente en la variedad ‘Cucci’, con una concentración promedio igual a 1,21 ppm para las dos temporadas (2013-2014 y 2014-2015). Asimismo, el ácido gálico fue identificado sólo en la variedad ‘Jabaluno’ con una concentración promedio de 0,34 ppm para ambas temporadas (Tabla 15).

La interacción variedad x año fue significativa para las 18 variedades de la colección, en consecuencia en la figura 14 se presenta la composición fenólica de los aceites de cada una de las variedades para los dos años evaluados.

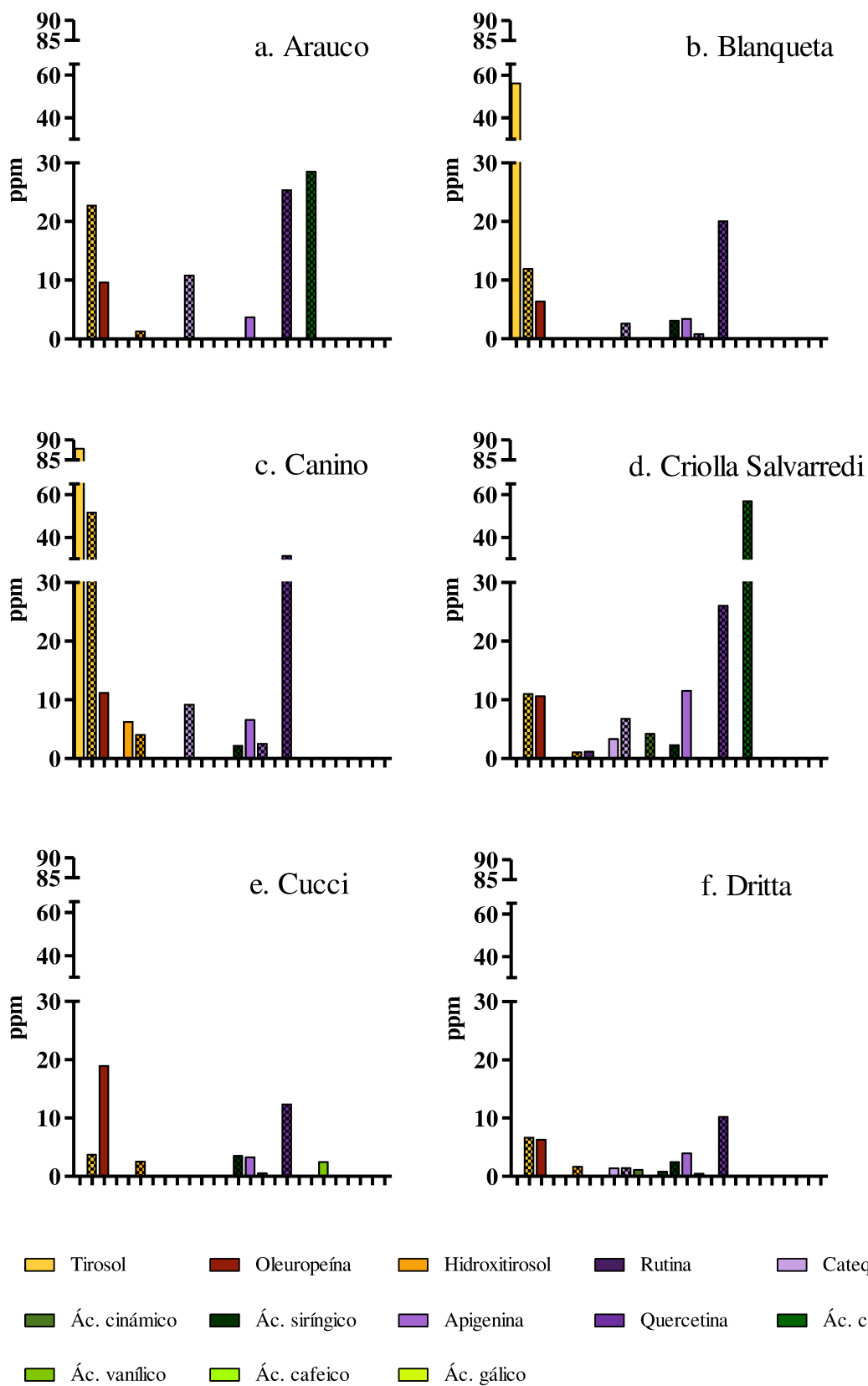


Figura 15: Composición fenólica de los aceites para cada variedad para dos temporadas (color liso temporada 2013/2014 y color con cuadrículado temporada 2014/2015)

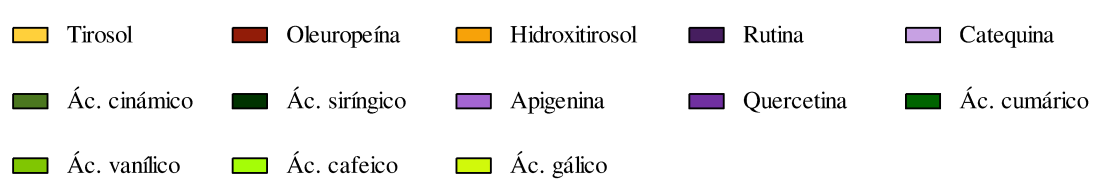
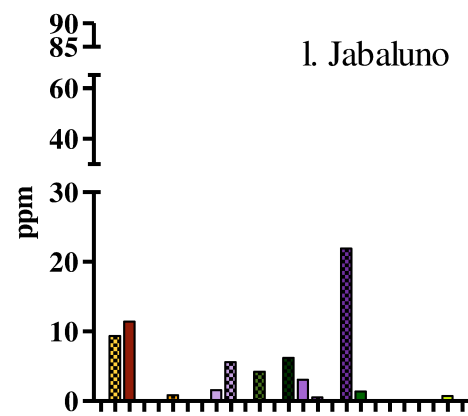
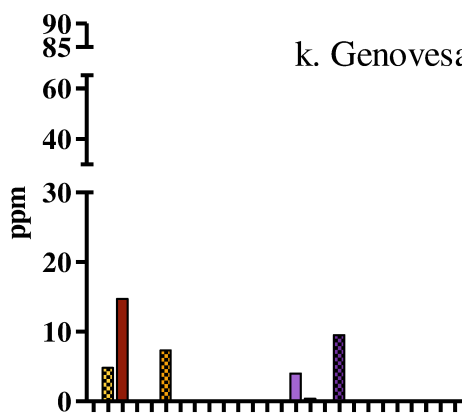
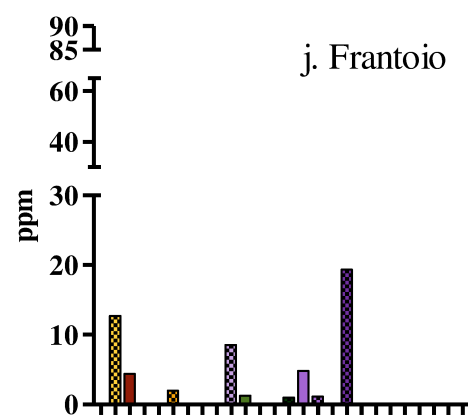
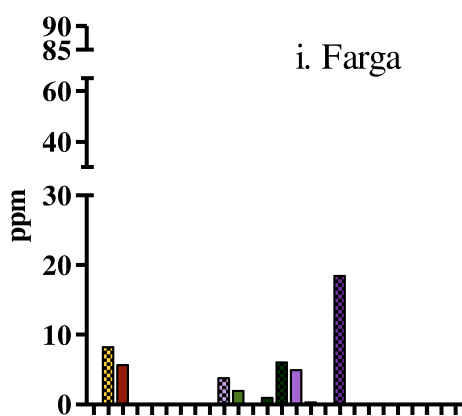
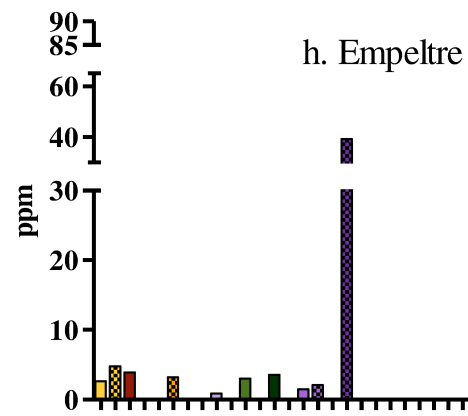
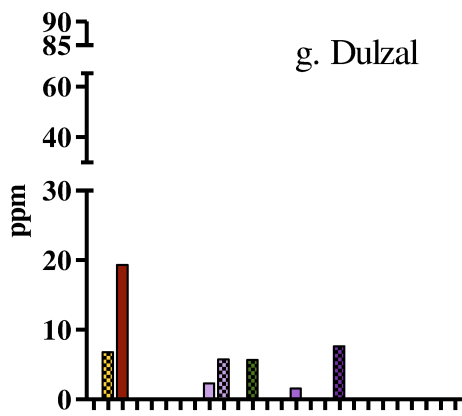


Figura 15: (continuación)

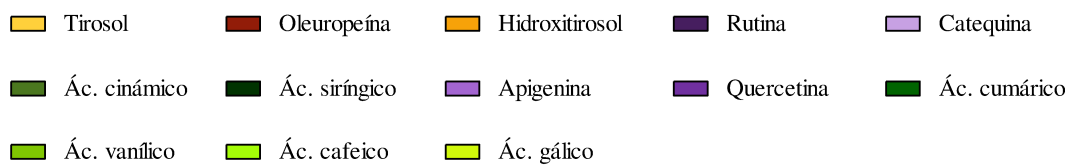
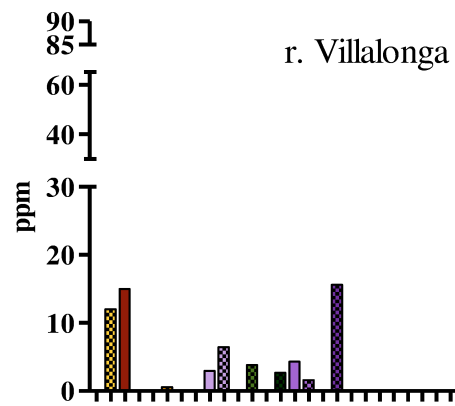
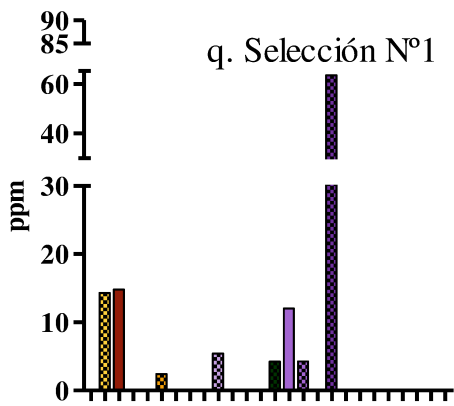
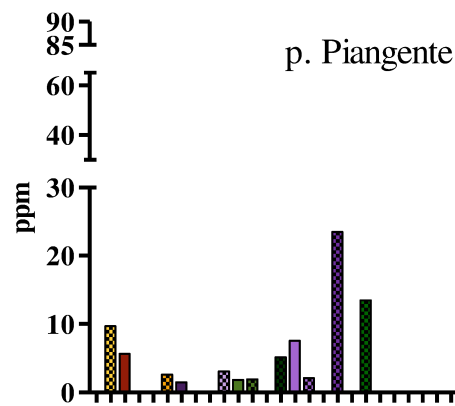
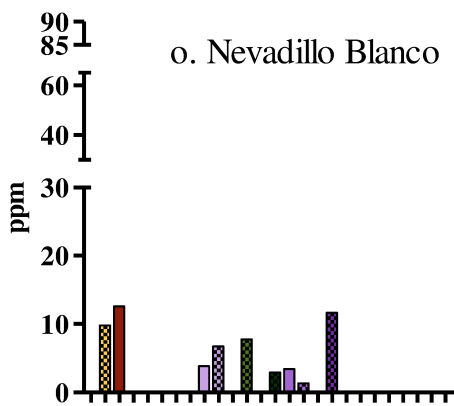
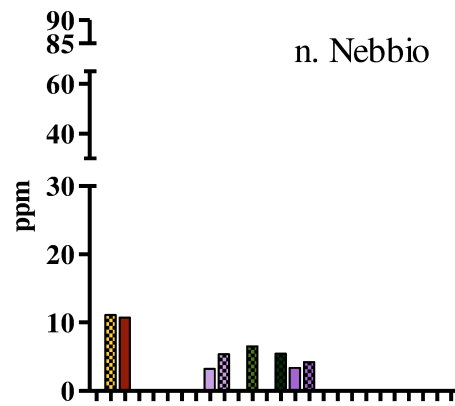
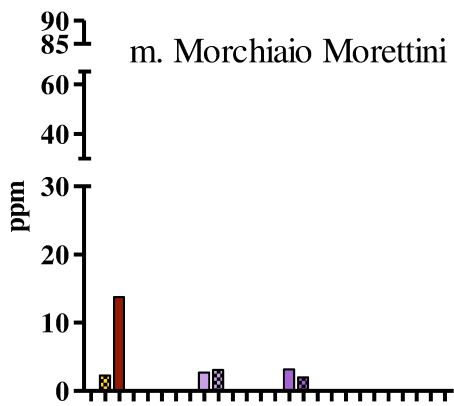


Figura 15: (continuación)

### 4.3. Características ambientales de la colección de olivos

Tabla 16: Datos de la estación meteorológica EEA INTA Junín dependiente de la DACC. Temporadas 2013-2014 y 2014-2015

Temporada 2013/2014	T máx. abs °C	T med. °C	T mín. abs °C	Precipitaciones Mm	Humedad %	Radiación W/m <sup>2</sup>
Octubre	35,6	18,7	1,9	0	43,2	7229,4
Noviembre	37	21,2	6,5	32,8	44,4	8090,4
Diciembre	37,7	25,6	11,9	17,2	45,4	9283,3
Enero	40,5	25,5	7	4,4	39,8	7899,1
Febrero	35,8	21	6,9	187,2	66,9	5883,9
Marzo	30,3	18	3,1	6,4	66,6	6474,0
Abril	26,6	14,5	-1,3	11,2	73,1	3607,5
Mayo	25,4	11,1	-1	10,4	78,1	
<b>Total temporada</b>				269,6		

Temporada 2014/2015	T máx. abs °C	T med. °C	T mín. abs °C	Precipitaciones Mm	Humedad %	Radiación W/m <sup>2</sup>
Octubre	34,3	19,5	1,9	8,6	50,2	6725,4
Noviembre	36,4	20,2	-0,1	1,6	43,1	7011,7
Diciembre	38,3	22,6	4,5	23,2	47,3	7836,8
Enero	38,9	25,2	6,8	14,6	51,2	7568,9
Febrero	35,8	21,7	8,5	91,2	69,3	6306,4
Marzo	35,6	21,2	7,9	50	69,5	5210,0
Abril	31,5	17,3	4,7	28,4	74,6	4147,3
Mayo	26	12,3	-2,3	0,8	71,4	3026,5
<b>Total temporada</b>				218,4		

Extraídos de la base de datos de la Dirección Agropecuaria de Contingencias Climáticas (54).

T máx.abs= temperatura máxima absoluta. T med. promedio= temperatura media promedio.

T mín abs= temperatura mínima absoluta

En la tabla 16 se presentan los valores promedios y absolutos de las características climáticas de la colección de olivos. En ambas temporadas el mes más cálido fue enero siendo el año 2014 levemente superior al 2015 (1,6 °C). El mes más frío fue mayo en ambas temporadas, con una diferencia de 1,2 °C. Sin embargo, en el año 2014 la primera helada se registró en abril, mientras que en el año 2015 la primera helada se registró en mayo. Comparando las temperaturas medias, el año 2014 presentó un promedio de 19,45 °C, mientras que el año 2015 el promedio fue levemente superior 20,04 °C. Las precipitaciones registradas para el año 2014 fueron levemente superior.

## ***5. DISCUSIÓN***



La olivicultura argentina, en los últimos 20 años ha experimentado un importante aumento en la superficie cultivada. En Mendoza el olivo es el segundo cultivo frutal en superficie después de la vid. Las variedades que se cultivan actualmente ('Arbequina', 'Empeltre', 'Frantoio', 'Farga', 'Picual', 'Manzanilla', etc.) son las de mayor difusión en la cuenca del Mediterráneo, y han sido empleadas sin evaluar previamente su adaptación a las condiciones ambientales de nuestra provincia. El presente trabajo tuvo como finalidad identificar variedades de la colección de germoplasma de olivo de la EEA INTA Junín (Mendoza), a partir de las características de los frutos y de los aceites, que permitan obtener aceite de oliva virgen con alta calidad nutracéutica, para las condiciones ambientales de Mendoza.

### ***5.1. Características de los frutos***

En olivo el grado de coloración de la piel y la pulpa son indicadores de la madurez de la fruta y son ampliamente utilizados para determinar el momento de cosecha. Los frutos cosechados con índices de madurez (IM) entre 2,5 y 3,5 producen aceites con mayor estabilidad oxidativa (72), alto contenido de ácido oleico y bajo contenido de ácido esteárico (48). Trentacoste y col. (124), demostraron que el tamaño máximo del fruto y el contenido máximo de aceite, se alcanzan con diferentes índices de madurez según la variedad y el nivel de carga frutal. Similares resultados observaron Barone y Tognetti (17, 119), quienes determinaron que el IM depende de la carga frutal.

En el presente trabajo, el IM varió significativamente entre las variedades evaluadas y estuvo en un intervalo entre 1,55 y 4,25 (Tabla 4). Sin embargo, la tendencia general se mantuvo, las variedades que maduraron antes en la primera temporada también lo hicieron en la segunda, similar a lo ocurrido con las variedades de maduración más tardía. Las diferencias entre variedades podrían deberse a cambios en la tasa de crecimiento y la duración del período de crecimiento del fruto de las distintas variedades, en el período comprendido entre el endurecimiento del carozo y el máximo peso de los frutos, según lo observado por Rondanini y

col. (105). Similares resultados fueron observados por Trentacoste y col. (125) estudiando 10 variedades en la provincia de Mendoza.

Previo al inicio del estudio, un índice de madurez entre 2,0 y 3,0 se prefijó para la cosecha de todas las variedades, a fin de evitar el efecto del grado de madurez sobre la calidad de los aceites, considerando los resultados de El Riachy y col. (53). Asimismo, en el presente trabajo se observó que los frutos con mayor índice de madurez presentaron menor contenido total de fenoles ( $r = -0,46$ ). Dag y col. (48) determinaron una notable disminución del contenido total de fenoles a mayor índice de madurez de los frutos. Sin embargo, variedades con un ciclo de madurez corto como ‘Empeltre’, ‘Piangente’, ‘Morchiaio Morettini’, ‘Dulzal’ y ‘Farga’ presentaron un índice de madurez superior a 3,5. En tanto que variedades con ciclo largo como ‘Arauco’ y ‘Criolla Salvarredi’, fueron cosechadas con un IM inferior a 2 para evitar que la ocurrencia de heladas tempranas deterioren la calidad de sus aceites (41, 85). Esto permitió clasificar las variedades según sean de cosecha temprana, media o tardía. A futuro sería interesante determinar, para la zona este de la provincia, cómo influye la carga frutal en el índice de madurez de cada variedad, y establecer parámetros para el momento oportuno de cosecha, asociados al máximo rendimiento de aceite de alta calidad, que seguramente resultarán específicos para cada variedad.

Aproximadamente el 90% del aceite se encuentra en la pulpa de los frutos, por ello conocer la relación pulpa/carozo (P/C) es un parámetro que nos permite caracterizar variedades. El promedio general para la relación P/C en los dos años de estudio y para las 18 variedades evaluadas fue de 6,41, levemente inferior (7,1) a lo obtenido por Trentacoste y col. (123). Las variedades con mayor relación P/C, también presentaron mayores pesos de los frutos (PF) (ver Fig. 6). Esta tendencia podría deberse a que el peso del carozo, a diferencia de la pulpa (ver Fig. 4), presenta menor variabilidad entre variedades (123). En el presente estudio las variedades se agruparon en base a la clasificación por tamaño de los frutos presente en el catálogo mundial de variedades de olivo (19). En general las variedades presentaron una mayor relación P/C en la segunda temporada de análisis (2014/2015). Esto podría deberse a las

diferencias en las cargas frutales entre años, en olivo conocido como vecería (parámetro no evaluado en este trabajo). Trentacoste y col. (124) determinaron que la relación P/C, al igual que otros componentes del rendimiento como número de frutos y peso fresco de los frutos, se ven afectados significativamente por la carga frutal. Así, años con baja carga frutal presentan una mayor relación P/C. Sin embargo, en el presente estudio, las diferencias entre las pendientes de las curvas (Fig. 6) fueron no significativas ( $p = 0,9964$ ), lo que señala que la tendencia (a mayor PF mayor P/C) se mantuvo en ambas temporadas y puede ser representada por un único valor de pendiente (0,6656).

La diferencia entre las variedades con mayor y menor contenido de materia grasa (MG) ('Cucci' y 'Empeltre' respectivamente) fue del 15 % en la primera temporada y del 16% en la segunda. Variedades con un alto contenido de materia grasa podrían presentar un mayor rendimiento industrial (22). Asimismo, se observa que las variedades 'Blanqueta', 'Empeltre' y 'Jabaluno' presentaron 16 % más humedad de los frutos, promedio de las dos temporadas, que 'Farga' y 'Genovesa'. La humedad de los frutos, es importante en la elaboración de los aceites, dado que a mayor humedad aumenta la formación de emulsiones, impidiendo la separación del aceite. En el presente estudio se observó una correlación negativa entre MG y HF ( $r = -0,40$ ). Asimismo, se destacaron las variedades 'Cucci', 'Genovesa', 'Frantoio', 'Villalonga', 'Farga', 'Canino' y 'Morchiaio Morettini' por presentar frutos con una humedad menor al 55 % y un porcentaje de MG superior al 55 %.

El segundo año de cosecha presentó un promedio significativamente más bajo de MG. Asimismo, la segunda temporada presentó valores de temperaturas media mensuales (ver marzo, abril y mayo Tabla 16) superiores (aproximadamente 2 °C) a las ocurridas durante ese mismo período, la primera temporada (2013/2014). Gancía-Inza y col. (64) observaron una disminución de la concentración de aceite al aumentar la temperatura media (1.13 % por °C) en la variedad Arauco. Similares resultados fueron obtenidos por Rondanini y col. (105) en la variedad 'Arbequina' y por Trentacoste y col. (125) evaluando 10 variedades en la provincia de Mendoza. Por otro lado en la segunda temporada se observó un adelanto de la cosecha

(ver Tabla 1), reduciendo el periodo de acumulación de aceite en el fruto. Trentacoste y col. (125) observaron que el parámetro más crítico para determinar la concentración de aceite en el fruto, fue la duración de la etapa de llenado de los frutos. Posiblemente el adelanto de la cosecha se deba a una menor carga frutal (parámetro no evaluado en el presente trabajo).

Con el fin de seleccionar variedades que presentaran las mejores características de los frutos, se clasificaron según la mayor relación P/C, menor humedad de los frutos, mayor porcentaje de materia grasa y su índice de madurez. Por presentar los mejores promedios entre los parámetros mencionados, se destacaron como variedades tempranas ‘Genovesa’, ‘Cucci’ y ‘Frantoio’, como variedades medias ‘Villalonga’ y ‘Canino’ y como variedades tardías ‘Criolla Salvarredi’ y ‘Arauco’.

## **5.2. Características de los aceites**

### **5.2.1. Caracterización general de los aceites**

El rendimiento industrial (RI) es un parámetro importante para el sector olivícola, dado que variedades con elevado RI presentan mayor eficiencia de producción, es decir ante la misma cantidad de kilos de fruta molida, el productor obtiene mayor cantidad de aceite. En el presente trabajo, el RI fue influenciado significativamente por el genotipo, en concordancia con lo observado por Beltrán y col. (22). Las variedades ‘Villalonga’, ‘Nebbio’, ‘Canino’, ‘Dritta’, ‘Genovesa’ y ‘Piangente’ (no cultivadas en Mendoza) presentaron un  $RI \geq 14\%$  y fueron superiores a variedades tradicionalmente cultivadas en la provincia como: ‘Frantoio’ (13%), ‘Farga’ (11%), ‘Arauco’ (11%) y ‘Empeltre’ (4%). Esto pone en evidencia que, a pesar de su extensivo uso, ‘Empeltre’ es una variedad de muy baja eficiencia en la extracción de AOVE y además se comprueba que existen otras variedades más productivas, en términos de cantidad de aceite, que las actualmente cultivadas.

A diferencia de lo observado por Beltrán y col. (22), el rendimiento industrial presentó una leve correlación ( $r = 0.27$ ) con el contenido de materia grasa, siendo la misma significativa

( $p = 0,01$ ). Esto posiblemente se deba al elevado número de variedades evaluadas en el presente trabajo. Una correlación mayor y negativa fue observada entre el rendimiento industrial y la humedad de los frutos ( $r = -0,47$ ). Esto podría deberse a que algunas variedades generan emulsiones con mayor facilidad que otras (3, 39), lo que dificultaría el proceso de extracción del AOVE.

La acidez libre determina la cantidad de ácidos grasos libres presentes en un aceite. Un aumento de acidez es debido a la elaboración de aceites con fruta en mal estado (plagas, enfermedades, heladas), o por un prolongado tiempo de acopio (96). Así, la acidez es un parámetro del estado de las aceitunas y de las condiciones de elaboración, que no permite caracterizar entre variedades, sino que explica la degradación de los triglicéridos al liberar ácido oleico, lo que disminuye las cualidades nutraceuticas. En este estudio, la acidez promedio de dos años para todas las variedades determinó que la calidad de los aceites corresponden a la clasificación de “virgen extra” (acidez  $\leq 0,8$  g%g) (141).

La oxidación de los lípidos es la principal causa de deterioro de los AOVE, manifestando cambios en su composición química y por ello en sus atributos nutraceuticos y sensoriales (72). La estabilidad oxidativa (EO) de un aceite, expresa en horas la resistencia de los lípidos a una oxidación forzada. En el presente trabajo la EO de los aceites fue dependiente del genotipo ( $p < 0,0001$ ). Esto podría deberse a (i) que la composición lipídica (no evaluada en este estudio) es dependiente del genotipo (105), (ii) que la composición fenólica fue dependiente del genotipo ( $p < 0,0001$ ) para las 18 variedades evaluadas, (iii) que la composición volátil (no evaluada en este estudio) es dependiente del genotipo (51), dado que la estabilidad se mide en relación al incremento de compuestos volátiles de oxidación formados durante la oxidación forzada, y por último (iv) que la composición enzimática (no evaluada en este estudio) es dependiente del genotipo (51). En la tabla 11 se observó que las variedades ‘Nevadillo Blanco’, ‘Jabaluno’, ‘Piangente’, ‘Empeltre’, ‘Dulzal’, ‘Genovesa’ y ‘Villalonga’ se destacaron por presentar una estabilidad oxidativa por encima del promedio (13,01 h). Estudios previos en la variedad ‘Villalonga’ también demostraron una alta estabilidad oxidativa del aceite (63). Asimismo la

estabilidad oxidativa promedio para las 18 variedades, coincide con los resultados de Tovar y col. (122) sobre la variedad Arbequina evaluada en España.

Los coeficientes de extinción ( $K_{232}$  y  $K_{270}$ ) se utilizan para detectar la presencia de compuestos de oxidación. Los productos de la oxidación primaria (peróxidos e hidroperóxidos) absorben a 232 nm de longitud de onda, mientras que los productos de oxidación secundaria (aldehídos, cetonas y ácidos) lo hacen a 270 nm. En el presente trabajo ambos coeficientes fueron evaluados únicamente en la segunda temporada (2014/2015), observándose diferencias significativas entre variedades para el  $K_{232}$  ( $p = 0,0004$ ) y  $K_{270}$  ( $p < 0,0001$ ). Además se observó una significativa ( $p = 0,0015$ ) correlación negativa ( $r = -0,43$ ) entre el coeficiente  $K_{232}$  y la estabilidad oxidativa (datos no mostrados). Los mecanismos de auto-oxidación para las 18 variedades requerirán una mayor investigación.

### **5.2.2. Caracterización fenólica de los aceites**

La capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos del AOVE, ha sido demostrada por numerosos autores (31, 127, 133, 136). El contenido total de fenoles fue dependiente del genotipo ( $p < 0,0001$ ), lo que resulta un parámetro importante en la caracterización de variedades según su capacidad antioxidante (31). En el presente trabajo el promedio de fenoles totales para las 18 variedades evaluadas en dos años fue de 290,5 ppm, similar a lo observado en aceites de variedades italianas y españolas (2, 53). En tanto que el intervalo de concentración de fenoles totales fue variable entre las 18 variedades (105,45-440,64 ppm), coincidiendo con lo evaluado en aceites chilenos (110) y españoles (53). Según la clasificación de Montedoro y col. (84), los aceites estudiados se catalogaron dentro de un contenido “medio” de fenoles totales, excepto la variedad ‘Selección N°1’ que presentó un contenido total de fenoles “bajo”.

En el primer año de cosecha se observó una concentración total de fenoles 25 % mayor al segundo año (2015). Esto podría deberse a (i) al menor índice de madurez que presentaron los

frutos (48) posiblemente debido a una mayor carga frutal (17, 119) y (ii) las diferencias climáticas (menor temperatura media y mayores precipitaciones) registradas durante la primera temporada (2013/2014). Romero y col. (104) demostraron que el contenido total de fenoles es dependiente del ambiente. Por otro lado, la interacción variedad x año puede ser explicada por el comportamiento dispar entre años de las variedades evaluadas.

Los contenidos de fenoles totales (según la clasificación de Montedoro), demostraron una escasa variabilidad, ya que la mayoría de los aceites evaluados en este trabajo pertenecían a una misma clasificación (“contenido fenólico medio”). Así, cuando el contenido de fenoles totales fue correlacionado con la estabilidad oxidativa de los aceites (datos no mostrados), se observó que la misma no fue significativa ( $r = 0,12$ ), en contraposición a lo encontrado en otros trabajos (15, 112). Posiblemente esto se deba a la elevada cantidad de variedades estudiadas y la escasa variabilidad en el contenido fenólico. A futuro sería interesante evaluar las rutas metabólicas de los fenoles en distintos estados fenológicos, para cada una de las variedades y vincularlos con parámetros como la estabilidad oxidativa de los aceites.

La selección de los compuestos fenólicos evaluados en el presente estudio se llevó a cabo en base a sus diferentes atributos. Así, la oleuropeína es un compuesto fenólico exclusivo de las plantas de la familia Oleaceae. A su vez los alcoholes fenólicos como el tirosol e hidroxitirosol derivan de los secoiridoides. Gómez-Rico y col. (70), han determinado que los alcoholes presentan una gran actividad antioxidante, principalmente el hidroxitirosol, siendo mayor su poder antioxidante que el de la oleuropeína (66). Además, tanto en el hidroxitirosol como en la oleuropeína han determinado actividad antimicrobiana (128). Los flavonoides son reconocidos no sólo por su capacidad de eliminar radicales libres, sino además por prevenir enfermedades coronarias y presentar propiedades anticancerígenas (140). Por último, a los ácidos fenólicos se los asocia con beneficios nutracéuticos, color de los frutos y atributos sensoriales (24, 88). Sin embargo, según Bendini y col. (24), también podrían comportarse como potenciales marcadores para la caracterización geográfica de las variedades. Los compuestos seleccionados, han sido

ampliamente estudiados en trabajos anteriores (4, 6, 12, 24, 26, 32, 40, 45, 53, 68, 77, 84, 102, 115–117, 126, 134), lo que facilita la comparación con nuestros resultados.

La composición fenólica de los AOVE, resultó significativa para el año y la interacción variedad x año para todas las variedades evaluadas ( $p < 0,0001$ ). En el año 2014, se observó que los aceites presentaron un contenido de oleuropeína significativamente superior al 2015, en el cual no fue detectado su contenido en ninguna de las variedades estudiadas. Mientras que la concentración de tirosol e hidroxitirosol fue significativamente mayor en 2015 que en 2014. Esto podría deberse a que existe una relación inversa entre la concentración de oleuropeína y la concentración de los alcoholes fenólicos (28–30, 113). Algunos trabajos han señalado una disminución en el contenido de oleuropeína a medida que maduran los frutos (7, 8). En el presente estudio se determinaron las relaciones entre el índice de madurez (IM) y los alcoholes fenólicos para todas las variedades evaluadas en el año 2014 (datos no mostrados). El IM presentó una relación positiva con el hidroxitirosol ( $R^2 = 0,45$ ) y negativa con el tirosol ( $R^2 = 0,41$ ). Esto explica la menor concentración de hidroxitirosol y mayor concentración de tirosol en las variedades que se cosecharon con menor madurez. Así variedades como ‘Arauco’, ‘Criolla Salvarredi’ y ‘Jabaluno’ ( $IM < 2$ ) presentaron valores bajos de hidroxitirosol. Mientras que en ‘Empeltre’, ‘Morchiaio Morettini’ y ‘Dulzal’ ( $IM > 3,5$ ) se observaron concentraciones bajas de tirosol. Por otro lado el hidroxitirosol es el principal compuesto derivado de la oleuropeína (7, 29). Mientras que el tirosol es el principal compuesto derivado del ligustrósido (44), un secoiridoide no evaluado en el presente trabajo.

La no detección de oleuropeína en las muestras analizadas en 2015 puede ser explicado por un mayor almacenamiento (alrededor 4 meses) de los extractos obtenidos en la técnica de determinación de fenoles (ver sección 3.5.5. en Materiales y Métodos), período durante el cual la oleuropeína pudo continuar evolucionando hacia hidroxitirosol, tirosol u otros derivados como la oleuropeína aglicona (35, 40) compuesto no evaluado en el presente trabajo.



Los alcoholes fenólicos (hidroxitirosol y tirosol) fueron afectados significativamente por la variedad, el año y la interacción variedad x año. El intervalo de concentración de los alcoholes fenólicos para las 18 variedades evaluadas fue de 69,70 - 1,75 ppm para el tirosol, y de 5,13 - 0,41 ppm para el hidroxitirosol. Owen y col., (93) evaluando el potencial antioxidante/anticáncer de los compuestos fenólicos en aceites de oliva virgen extra, hallaron una relación entre tirosol e hidroxitirosol (T/H) menor (1,9) a la detectada en el presente trabajo (4,6).

Visioli y col. (135) demostraron que el hidroxitirosol resultó un antioxidante más eficaz que la oleuropeína. A la vez le atribuyen al hidroxitirosol propiedades antimicrobianas y como inductor de la apoptosis celular (58). Posiblemente la producción de hidroxitirosol a partir de oleuropeína, en el aceite del interior de los frutos, esté relacionado a un mecanismo de protección del aceite (sustancia de reserva para el embrión), y paralelamente una señal de comienzo de senescencia.

Tsimidou y col. (127) hallaron una relación entre la estabilidad oxidativa y la relación hidroxitirosol/tirosol, sin embargo no fue significativa en este trabajo. La no correlación entre estos dos parámetros, puede ser explicada por la elevada cantidad de variedades evaluadas.

La concentración de flavonoides fue afectada significativamente por la variedad. En este grupo de fenoles, también hubo diferencias en la composición de flavonoides presente en las distintas variedades ( $p < 0,0001$ ). La quercetina se detectó al menos en uno de los dos años estudiados en aceites de todas las variedades de la colección, a excepción de 'Morchiaio Morettini' y 'Nebbio', en las cuales no fue detectada en ninguna de las temporadas evaluadas. Similarmente, Dell'Agli (50) estudiando la inhibición de la agregación plaquetaria de los fenoles, y comparando entre aceites con alto y bajo contenido fenólico, tampoco encontraron quercetina entre sus muestras. A su vez, de los flavonoides evaluados, la quercetina manifestó la mayor respuesta ante el ambiente, dado que no fue detectada en el primer año de análisis en ninguna de las variedades.

La rutina sólo fue detectada en concentraciones muy bajas en el aceite de las variedades ‘Piangente’ y ‘Criolla Salvarredi’ en 2014. Estos resultados podrían deberse a que la rutina actúa como precursor de la luteolina (24), compuesto no evaluado en el presente trabajo.

La catequina presentó un importante efecto genotípico, estando ausente en ‘Cucci’ y ‘Genovesa’ en los dos años de estudio, y presente en el resto de las variedades. La presencia de catequina ha sido relacionada a una mayor tolerancia a la oxidación del aceite, hasta un umbral de concentración (250  $\mu\text{M}$ ), por encima del cual el aumento de catequina estuvo asociado con un incremento lineal de la oxidación secundaria (52). Así, si el poder antioxidante de la catequina existe sólo en un determinado intervalo de concentraciones, lo mismo podría ocurrir para otros fenoles. Esto podría explicar por qué variedades con bajas concentraciones de fenoles totales como ‘Empeltre’ (217 ppm) y ‘Jabaluno’ (232 ppm) presentaron alta resistencia a la oxidación (16 y 20 h respectivamente). Determinar intervalos de concentración óptima para otros fenoles puede ser importante para valorizar variedades con bajas concentraciones de fenoles.

Numerosos autores (32, 34, 35) han identificado apigenina en muestras de aceite de oliva. En este trabajo, estuvo presente en todas las variedades evaluadas, exceptuando los aceites de ‘Criolla Salvarredi’ y ‘Dulzal’ de la segunda temporada. En promedio para todas las variedades, la concentración de apigenina fue de 3,11 ppm, respondiendo al ambiente en forma opuesta a la catequina y quercetina. Así la apigenina fue significativamente mayor en el primer año de evaluación, respecto del segundo, en tanto que catequina y quercetina presentaron mayores concentraciones promedio al segundo año de evaluación.

Excepto ‘Genovesa’ y ‘Morchiaio Morettini’, las restantes variedades estudiadas presentaron al menos un ácido fenólico. Los ácidos evaluados en el presente trabajo fueron seis y coincidieron con los hallados por Montedoro y col. (84) estudiando la estabilidad oxidativa de los aceites y su relación con las características sensoriales. Sin embargo, obtuvieron concentraciones en un intervalo menor (0,2 - 2,26 ppm) al observado en el presente trabajo (0,04 - 5,49 ppm).

Papadopoulos y col. (95) evaluando la actividad antioxidante de los ácidos fenólicos, encontraron que el siríngico es uno de los ácidos con mayor actividad antioxidante. En el presente trabajo, el ácido siríngico estuvo presente en todas de las variedades excepto 'Arauco', 'Dulzal', 'Genovesa' y 'Morchiaio Morettini'. El contenido de ácido siríngico fue significativo para la variedad, el año y la interacción variedad x año.

Mediante un análisis de correlación (datos no mostrados), se observó que la estabilidad oxidativa y el ácido p-cumárico (presente en 'Arauco', 'Criolla Salvarredi', 'Jabaluno' y 'Piangente') estuvieron negativamente correlacionados ( $r = -0,78$ ). Similares resultados fueron presentados por Papadopoulos y col. (95) quienes mostraron que los ácidos p-cumárico y vanílico manifestaron un efecto antioxidante muy bajo y tenían reducida contribución a la estabilidad oxidativa.

Asimismo, el ácido vanílico fue detectado sólo en la variedad 'Cucci' en el primer año de análisis. Morelló y col. (85), evaluando los daños producidos en la composición química de los aceites elaborados con aceitunas afectadas por heladas, determinaron un pequeño aumento de compuestos fenólicos como la vainillina y el ácido vanílico. Mientras que a nivel sensorial detectaron atributos más dulces en los aceites. Si bien el olivo es una especie muy tolerante al frío ( $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), la misma depende de varios factores (variedad, estado fenológico, duración de la helada, entre otros). En abril del 2014 la temperatura mínima más baja que se registró fue de  $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , y esto podría haber desencadenado la producción de ácido vanílico en la variedad 'Cucci'.

El ácido cinámico ha sido descrito por Visioli y col. (135) como uno de los responsables del gusto amargo de los aceites. En este trabajo estuvo presente en todas las variedades excepto 'Arauco', 'Blanqueta', 'Canino', 'Cucci', 'Genovesa', 'Morchiaio Morettini' y 'Selección N°1' en los dos años evaluados, y fue significativamente diferente entre genotipos. Además, su contenido dependió del año y presentó interacción variedad x año. Este compuesto también ha sido identificado por otros autores (94) en el aceite de oliva.

El ácido cafeico ha sido detectado en el aceite de oliva de estudios previos (16, 40). Sin embargo en el presente trabajo no fue detectado en ninguna de las variedades y años evaluados. Similares resultados fueron obtenidos por Godoy-Caballero (67), donde el ácido cafeico tampoco fue detectado en ninguna de las seis variedades evaluadas. La ausencia de ácido cafeico en todas las muestras analizadas podría deberse a que este compuesto fenólico sea un producto final de la ruta del ácido cinámico (ver Fig. 1), o el metabolito de otros compuestos no identificados en este trabajo.

Las variedades presentaron diferencias significativas respecto del ácido gálico (presente únicamente en 'Jabaluno'), el ácido vanílico (en 'Cucci') y el ácido p-cumárico (en 'Arauco', 'Criolla Salvarredi', 'Jabaluno' y 'Piangente'). Numerosos autores han mencionado diferencias entre variedades, tanto en la composición como en la concentración de los compuestos fenólicos presentes en los aceites de oliva (10, 102, 138). Así la presencia o ausencia de algunos ácidos fenólicos podría utilizarse para identificar variedades de olivo a partir de un análisis químico. Sin embargo, en el presente estudio los ácidos fueron afectados significativamente por el año, por lo que se debería corroborar mediante varios años de estudio.

La composición fenólica fue dependiente del genotipo, el ambiente y la interacción variedad x año para las 18 variedades estudiadas en el presente trabajo. A futuro sería interesante evaluar el Banco de Germoplasma completo en función del tipo y concentración de compuestos fenólicos presentes en los frutos que son transferidos tanto al aceite como los que se pierden con el alperujo.

### ***5.3. Características ambientales de la colección de olivos***

Las características climáticas de la colección de olivos de Mendoza, ocurridas en las dos temporadas de análisis, fueron similares (Tabla 16). La precipitación media anual de la provincia es de 275 mm (promedio histórico período 1957-2015). Puertas, (99) evaluando

diferentes estrategias de riego en la variedad Arbequina, estimó una evapotranspiración del cultivo de 700-800 mm. En consecuencia, las precipitaciones presentes en ambientes áridos de la provincia de Mendoza obligan al desarrollo del cultivo bajo riego. En contraste, la radiación solar es un parámetro no limitante, por lo cual el cultivo mayormente se encuentra en la máxima radiación fotosintéticamente activa (PAR).

## **6. CONCLUSIONES**

Las 18 variedades presentaron diferencias significativas ( $p < 0,002$ ) en todas las características evaluadas tanto en los frutos (índice de madurez, relación pulpa/carozo, peso medio, humedad del fruto y materia grasa) como en los aceites (acidez libre, estabilidad oxidativa, fenoles totales, índices de extinción y composición fenólica).

Las variedades fueron clasificadas según su índice de madurez, rendimiento industrial (RI), estabilidad oxidativa (EO), y contenido total de fenoles (CTF). Por presentar mejores valores en relación a los últimos tres parámetros, se destacaron como variedades tardías ‘Nebbio’ (IM=1,55) y ‘Villalonga’ (IM=2,15), como variedades medias ‘Canino’ (IM=2,93) y ‘Nevadillo Blanco’ (IM=2,98), y ‘Piangente’ (IM=3,68) como una variedad temprana. Mientras que las variedades ‘Frantoio’, ‘Empeltre’ y ‘Farga’, tradicionalmente cultivadas en la zona este de la provincia, quedaron situadas por debajo de las variedades mencionadas anteriormente, en función de su RI, EO y CTF. Por otro lado ‘Arauco’ (criolla) también se posicionó por encima de las variedades comercialmente cultivadas. Estos resultados permiten observar que las cinco variedades (‘Nebbio’, ‘Villalonga’, ‘Canino’, ‘Nevadillo Blanco’ y ‘Piangente’) expresarían mejor las cualidades de sus aceites, en comparación con las variedades que actualmente se cultivan en la zona este de la provincia. En general, existe mucha bibliografía en el campo de la medicina, que evalúa la capacidad antioxidante de los fenoles, sin embargo estudios más recientes destacan nuevos atributos. Así, conociendo las propiedades nutraceuticos que cada compuesto aporta al organismo, las variedades pueden ser clasificadas en reiteradas oportunidades, en función de nuevos objetivos buscados.

Las 18 variedades presentaron diferencias significativas en cuanto a la composición fenólica de los aceites. En tirosol, oleuropeína y apigenina las diferencias fueron cuantitativas, dado que los tres compuestos estuvieron presentes en todas las variedades analizadas, al menos en uno de los dos años evaluados. Los ácidos gálico y vanílico sólo estuvieron presentes en ‘Cucci’ y ‘Jabaluno’ respectivamente. Así algunos compuestos fenólicos podrían caracterizar variedades o detectar defectos.

En relación al segundo objetivo planteado, se evaluaron las características de los frutos y los aceites para las 18 variedades de la colección. Así, se observó una disminución del rendimiento industrial cuando los frutos presentaron mayor humedad ( $r = -0,47$ ), También se observó que los aceites que presentaron menor coeficiente de extinción ( $K_{232}$ ), presentaban mayor estabilidad oxidativa. Esa tendencia no fue observada respecto del coeficiente de extinción  $K_{270}$ .

Además, se evaluaron las relaciones entre el índice de madurez y los alcoholes fenólicos. Se observó que a medida que maduraron los frutos la concentración del tirosol disminuyó ( $R^2 = -0,40$ ), mientras que la de hidroxitirosol aumentó ( $R^2 = 0,45$ ). El índice de madurez también se correlacionó con el contenido total de fenoles, siendo esta relación negativa ( $r = -0,46$ ). Asimismo, se detectó una correlación negativa entre el ácido p-cumárico, presente en cuatro variedades ('Arauco', 'Criolla Salvarredi', 'Jabaluno' y 'Piangente') y la estabilidad oxidativa ( $r = -0,78$ ).

Otras relaciones como estabilidad oxidativa y contenido total de fenoles fueron evaluadas, resultando no significativas. Posiblemente debido al gran número de variedades analizadas.

Por último, se estudió el efecto del año sobre las características de los frutos y aceites de las 18 variedades de la colección. Las condiciones climáticas presentaron leves diferencias entre los años evaluados, por ello las diferencias observadas para la concentración de materia grasa, relación pulpa/carozo, fenoles totales y perfil fenólico, entre los años evaluados, posiblemente se deban a la influencia de la carga frutal.



## **7. BIBLIOGRAFÍA**

- 1 Aguilera, C.M.; Mesa, M.D.; Ramirez-Tortosa, M.C.; Nestares, M.T.; Ros, E. y Gil, A. 2004. Sunflower oil does not protect against LDL oxidation as virgin olive oil does in patients with peripheral vascular disease. *Clinical Nutrition* 23: 673-681.
- 2 Aguilera, M.P.; Beltrán, G.; Ortega, D.; Fernández, A.; Jiménez, A. y Uceda, M. 2005. Characterisation of virgin olive oil of Italian olive cultivars: 'Frantoio' and 'Leccino', grown in Andalusia. *Food Chemistry* 89: 387-391.
- 3 Aguilera, M.P.; Beltran, G.; Sanchez-Villasclaras, S.; Uceda, M. y Jimenez, A. 2010. Kneading olive paste from unripe 'Picual' fruits: I. Effect on oil process yield. *Journal of Food Engineering* 97: 533-538.
- 4 Alagna, F.; Mariotti, R.; Panara, F.; Caporali, S.; Urbani, S.; Veneziani, G.; Esposito, S.; Taticchi, A.; Rosati, A.; Rao, R. y Others. 2012. Olive phenolic compounds: metabolic and transcriptional profiling during fruit development. *BMC Plant Biology* 12: 1.
- 5 Altok, E.; Bayçın, D.; Bayraktar, O. y Ülkü, S. 2008. Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea* L.) by adsorption on silk fibroin. *Separation and Purification Technology* 62: 342-348.
- 6 Alu'datt, M.H.; Alli, I.; Ereifej, K.; Alhamad, M.; Al-Tawaha, A.R. y Rababah, T. 2010. Optimisation, characterisation and quantification of phenolic compounds in olive cake. *Food Chemistry* 123: 117-122.
- 7 Amiot, M.J. 1989. Accumulation of oleuropein derivatives during olive maturation. *Phytochemistry* 28: 67-69.
- 8 Amiot, M.J.; Fleuriot, A. y Macheix, J.J. 1986. Importance and evolution of phenolic compounds in olive during growth and maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 34: 823-826.
- 9 Andrewes, P.; Busch, J.L.H.C.; De Joode, T.; Groenewegen, A. y Alexandre, H. 2003. Sensory properties of virgin olive oil polyphenols: identification of deacetoxy-ligstroside aglycon as a key contributor to pungency. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 1415-1420.
- 10 Angerosa, F. 2000. Virgin olive oil odour notes: their relationships with volatile compounds from the lipoxygenase pathway and secoiridoid compounds. *Food Chemistry* 68: 283-287.
- 11 Angerosa, F.; D'Alessandro, N.; Konstantinou, P. y Di Giacinto, L. 1995. GC-MS evaluation of phenolic compounds in virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43: 1802-1807.
- 12 Artajo-Medina, L.S. 2006. Phenolic compounds: Their role during olive oil extraction and in flaxseed – Transfer and antioxidant function. University of Lleida, Spain.
- 13 Ávalos García, A. y Pérez-Urria Carril, E. 2009. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)* 2: 119-145.
- 14 Avidan, B.; Ogrodovitch, A. y Lavee, S. 1999. A reliable and rapid shaking extraction system for determination of the oil content in olive fruit. *Acta Horticulturae* 474: 653-658.
- 15 Baccouri, O.; Guerfel, M.; Baccouri, B.; Cerretani, L.; Bendini, A.; Lercker, G.; Zarrouk, M. y Daoud 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.
- 16 Ballus, C.A.; Meinhart, A.D.; Bruns, R.E. y Godoy, H.T. 2011. Use of multivariate statistical techniques to optimize the simultaneous separation of 13 phenolic compounds from extra-virgin olive oil by capillary electrophoresis. *Talanta* 83: 1181-1187.
- 17 Barone, E. 1994. Effect of crop load on fruit ripening and olive oil (*Olea europaea* L.) quality. *Journal of Horticultural Science*. 69 (1): 67-73
- 18 Baroni; Fernández; Rios; Perez; Alegre y Cantaloube. 2010. Censo frutícola provincial. IDR. Mendoza. p.74.
- 19 Barranco, D.; Cimato, A.; Fiorino, P.; Rallo, L.; Touzani, A.; Castañeda, C. y Trujillo, I. 2000. Catálogo mundial de variedades de olivo. Consejo Oleícola Internacional. Madrid, España. 360 pp.

- 20 Bartolozzi, F. y Fontanazza, G. 1999. Assessment of frost tolerance in olive (*Olea europaea* L.). *Scientia Horticulturae* 81: 309–319.
- 21 Beltrán, G. 2000. Análisis mediante HPLC de la fracción fenólica del aceite de oliva virgen de la variedad Arbequina. Relación con la medida del amargor K225 y la estabilidad. *Grasas y Aceites* 51: 320-324.
- 22 Beltrán, G.; Uceda, M.; Jiménez, A. y Aguilera, M.P. 2003. Olive oil extractability index as a parameter for olive cultivar characterisation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83: 503-506.
- 23 Beltrán, G.; Aguilera, M.P.; Rio, C.D.; Sanchez, S. y Martinez, L. 2005. Influence of fruit ripening process on the natural antioxidant content of Hojiblanca virgin olive oils. *Food Chemistry* 89: 207-215.
- 24 Bendini, A.; Cerretani, L.; Carrasco-Pancorbo, A.; Gómez-Caravaca, A.M.; Segura-Carretero, A.; Fernández-Gutiérrez, A. y Lercker, G. 2007. Phenolic molecules in virgin olive oils: a survey of their sensory properties, health effects, antioxidant activity and analytical methods. An overview of the last decade Alessandra. *Molecules* 12: 1679-1719.
- 25 Bendini, A.; Valli, E.; Barbieri, S. y Toschi, T.G. 2012. Sensory analysis of virgin olive oil. *Olive Oil – Constituents, Quality, Health Properties and Bioconversions*. INTECH. Rijeka, Croacia. p.110-130.
- 26 Bonoli, M.; Montanucci, M.; Toschi, T.G. y Lercker, G. 2003. Fast separation and determination of tyrosol, hydroxytyrosol and other phenolic compounds in extra-virgin olive oil by capillary zone electrophoresis with ultraviolet-diode array detection. *Journal of chromatography A* 1011: 163-172.
- 27 Boskou, D. 2000. Olive oil. *Mediterranean diets* 87: 56-77.
- 28 Bouaziz, M. y Sayadi, S. 2005. Isolation and evaluation of antioxidants from leaves of a Tunisian cultivar olive tree. *European Journal of Lipid Science and Technology* 107: 497-504.
- 29 Bouaziz, M.; Chamkha, M. y Sayadi, S. 2004. Comparative study on phenolic content and antioxidant activity during maturation of the olive cultivar Chemlali from Tunisia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 5476-5481.
- 30 Bouaziz, M.; Fki, I.; Jemai, H.; Ayadi, M. y Sayadi, S. 2008. Effect of storage on refined and husk olive oils composition: Stabilization by addition of natural antioxidants from Chemlali olive leaves. *Food Chemistry* 108: 253-262.
- 31 Bouaziz, M.; Jemai, H.; Khabou, W. y Sayadi, S. 2010. Oil content, phenolic profiling and antioxidant potential of Tunisian olive drupes. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90: 1750-1758
- 32 Brenes, M.; García, A.; García, P.; Rios, J.J. y Garrido, A. 1999. Phenolic compounds in spanish olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 3535-3540.
- 33 Calzada, J. 2014. Informativo Semanal N° 1681 AÑO XXXII - N° 1681 [en línea] Disponible en: <http://www.bcr.com.ar/Pages/Publicaciones/infoboletinsemanal.aspx?IdArticulo=1084>. Acceso: 23/11/2016.
- 34 Carrasco-Pancorbo, A.; Gómez-Caravaca, A.M.; Cerretani, L.; Bendini, A.; Segura-Carretero, A. y Fernández-Gutiérrez, A. 2006. A simple and rapid electrophoretic method to characterize simple phenols, lignans, complex phenols, phenolic acids, and flavonoids in extra-virgin olive oil. *Journal of Separation Science* 29: 2221-2233.
- 35 Carrasco-Pancorbo, A.; Gómez-Caravaca, A.M.; Cerretani, L.; Bendini, A.; Segura-Carretero, A. y Fernández-Gutiérrez, A. 2006. Rapid Quantification of the Phenolic Fraction of Spanish Virgin Olive Oils by Capillary Electrophoresis with UV Detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 7984-7991.
- 36 Catalano, P. y Caponio, F. 1996. Machines for Olive Paste Preparation Producing Quality Virgin Olive Oil. *Fett/Lipid* 57: 408-412.
- 37 Cavalli, J.-F.; Fernandez, X.; Lizzani-Cuvelier, L. y Loiseau, A.-M. 2004. Characterization of volatile compounds of French and Spanish virgin olive oils by HS-SPME: Identification of quality-freshness markers. *Food Chemistry* 88: 151-157.

- 38 Ceci, L.N. y Carelli, A.A. 2007. Characterization of monovarietal Argentinian olive oils from new productive zones. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 84: 1125-1136.
- 39 Cert, A.; Alba, J.; León-Camacho, M.; Moreda, W. y Pérez-Camino, M.C. 1996. Effects of talc addition and operating mode on the quality and oxidative stability of virgin olive oils obtained by centrifugation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44: 3930-3934.
- 40 Cinquanta, L.; Esti, M. y La Notte, E. 1997. Evolution of phenolic compounds in virgin olive oil during storage. *Journal of the American oil chemists' society* 74: 1259-1264.
- 41 Clodoveo, M.L. 2012. Malaxation: Influence on virgin olive oil quality. Past, present and future – An overview. *Trends in Food Science & Technology* 25: 13-23.
- 42 COI. 2015. NEWSLETTER - MERCADO OLEÍCOLA En: <http://www.internationaloliveoil.org/store/index/48-olivae-publications>. Acceso: 30/01/2017.
- 43 Connor, D.J. y Fereres. 2005. The physiology of adaptation and yield expression in olive.
- 44 Corona, G.; Spencer, J. y Dessi, M. 2009. Extra virgin olive oil phenolics: absorption, metabolism, and biological activities in the GI tract. *Toxicology and Industrial Health* 25: 285-293.
- 45 Cortesi, N.; Rovellini y Azzolini. 1995. Dosaggio dei componenti minori polari (CMP) in oli vergini di oliva. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse* 72: 333-337.
- 46 DACC. 2016. Estadísticas. En: <http://www.contingencias.mendoza.gov.ar>. Acceso: 03/03/2016.
- 47 Dag, A.; Ben-Gal, A.; Yermiyahu, U.; Basheer, L.; Nir, Y. y Kerem, Z. 2008. The effect of irrigation level and harvest mechanization on virgin olive oil quality in a traditional rain-fed 'Souri' olive orchard converted to irrigation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88: 1524-1528.
- 48 Dag, A.; Kerem, Z.; Yogev, N.; Zipori, I.; Lavee, S. y Ben-David, E. 2011. Influence of time of harvest and maturity index on olive oil yield and quality. *Scientia Horticulturae* 127: 358-366.
- 49 DeFelice, S. 1995. The nutraceutical revolution: its impact on food industry R&D. *Trends in Food Science & Technology* 6: 59-61.
- 50 Dell'Agli, M.; Maschi, O.; Galli, G.V.; Fagnani, R.; Dal Cero, E.; Caruso, D. y Bosisio, E. 2008. Inhibition of platelet aggregation by olive oil phenols via cAMP-phosphodiesterase. *British Journal of Nutrition* 99: 945-951.
- 51 Dhifi, W.; Angerosa, F.; Serraiocco, A.; Oumar, I.; Hamrouni, I. y Marzouk, B. 2005. Virgin olive oil aroma: Characterization of some Tunisian cultivars. *Food Chemistry* 93: 697-701.
- 52 Di Mattia, C.D.; Sacchetti, G.; Mastrocola, D. y Pittia, P. 2009. Effect of phenolic antioxidants on the dispersion state and chemical stability of olive oil O/W emulsions. *Food Research International* 42: 1163-1170.
- 53 El Riachy, M.; Priego-Capote, F.; Rallo, L.; Luque-de Castro, M.D. y León, L. 2012. Phenolic profile of virgin olive oil from advanced breeding selections. *Spanish Journal of Agricultural Research* 10: 443-453.
- 54 Estadísticas. 2016. En: <http://www.contingencias.mendoza.gov.ar>. Acceso: 20/07/2016.
- 55 Esti, M.; Cinquanta, L. y La Notte, E. 1998. Phenolic compounds in different olive varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 32-35.
- 56 FAOSTAT 2013. (s. f.). En: <http://www.fao.org>. Acceso: 03/03/2016.
- 57 Fedeli, E. 1977. Lipids of olives. *Progress in the Chemistry of Fats and other Lipids*. 57-74 pp.
- 58 Ferran-Font, M.D. 2015. Hidroxitirosol, el mejor antioxidante natural y el más desconocido: Estudio comparativo con otros antioxidantes. Tesis de maestría. Universitat Oberta de Catalunya. España.
- 59 Ferrara, L.A.; Raimondi, A.S.; D'Episcopo, L.; Guida, L.; Russo, A.D. y Marotta, T. 2000. Olive oil and reduced need for antihypertensive medications. *Archives of Internal Medicine* 160: 837-842.

- 60 Fiorentino, A.; Gentili, A.; Isidori, M.; Monaco, P.; Nardelli, A.; Parrella, A. y Temussi, F. 2003. Environmental effects caused by olive mill wastewaters: Toxicity comparison of low-molecular-weight phenol components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 1005-1009.
- 61 Folin, O. y Ciocalteu, V. 1927. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *Journal of biological chemistry* 73: 627-650.
- 62 Foro Nacional Olivarero; INTI y INTA. 2011. Protocolo de calidad de AOVE.
- 63 García, J.M.; Gutiérrez, F.; Barrera, M.J. y Albi, M.A. 1996. Storage of mill olives on an industrial scale. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44: 590-593.
- 64 García-Inza, G.P.; Castro, D.N.; Hall, A.J. y Rousseaux, M.C. 2014. Responses to temperature of fruit dry weight, oil concentration, and oil fatty acid composition in olive (*Olea europaea* L. var. 'Arauco'). *European Journal of Agronomy* 54: 107-115.
- 65 Gerber, M. 1997. Olive oil, monounsaturated fatty acids and cancer. *Cancer letters* 114: 91-92.
- 66 Giovannini, C.; Straface, E.; Modesti, D.; Coni, E.; Cantafora, A.; De Vincenzi, M.; Malorni, W. y Masella, R. 1999. Tyrosol, the major olive oil biophenol, protects against oxidized-LDL induced injury in caco-2 cells. *The Journal of Nutrition* 129: 1269-1277.
- 67 Godoy-Caballero, M.P.; Acedo-Valenzuela, M.I. y Galeano-Díaz, T. 2012. Simple quantification of phenolic compounds present in the minor fraction of virgin olive oil by LC-DAD-FLD. *Talanta* 101: 479-487.
- 68 Gómez-Alonso, S. 2002. Phenolic compounds profile of cornicabra virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 6812-6817.
- 69 Gómez-del-Campo, M. y García, J.M. 2012. Canopy fruit location can affect olive oil quality in 'Arbequina' hedgerow orchards. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 89: 123-133.
- 70 Gómez-Rico, A.; Fregapane, G. y Salvador, M.D. 2008. Effect of cultivar and ripening on minor components in Spanish olive fruits and their corresponding virgin olive oils. *Food Research International* 41: 433-440.
- 71 Gómez-Riera, P. y Vita, F. 2014, enero 9. Visión Prospectiva de la Cadena del Olivo al 2030. En: <http://www.mincyt.gob.ar/adjuntos/archivos/000/036/0000036235.pdf>. Acceso: 05/06/2015.
- 72 Gutiérrez, F.; Jiménez, B.; Ruíz, A. y Albi, M.A. 1999. Effect of olive ripeness on the oxidative stability of virgin olive oil extracted from the varieties Picual and Hojiblanca and on the different components involved. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 121-127.
- 73 Harborne, J.B. 1989. *Methods in plant biochemistry*. Academic Press. Ltd. London, UK. 2541 pp.
- 74 Jiang, W.G.; Bryce, R.P. y Horrobin, D.F. 1998. Essential fatty acids: molecular and cellular basis of their anti-cancer action and clinical implications. *Critical reviews in oncology/hematology* 27: 179-209.
- 75 Koski, A.; Psomiadou, E.; Tsimidou, M.; Hopia, A.; Kefalas, P.; Wähälä, K. y Heinonen, M. 2002. Oxidative stability and minor constituents of virgin olive oil and cold-pressed rapeseed oil. *European Food Research and Technology* 214: 294-298.
- 76 Kris-Etherton, P.M. 1993. The role of fatty acid saturation on plasma lipids, lipoproteins, and apolipoproteins: I. Effects of whole food diets high in cocoa butter, olive oil, soybean oil, dairy butter, and milk chocolate on the plasma lipids of young men. *Metabolism* 42: 121-129.
- 77 Lerma-García, M.J.; Herrero-Martínez, J.M.; Ramis-Ramos, G. y Simó-Alfonso, E.F. 2008. Prediction of the genetic variety of Spanish extra virgin olive oils using fatty acid and phenolic compound profiles established by direct infusion mass spectrometry. *Food Chemistry* 108: 1142-1148.
- 78 Luna, G.; Morales, M.T. y Aparicio, R. 2006. Characterisation of 39 varietal virgin olive oils by their volatile compositions. *Food Chemistry* 98: 243-252.

- 79 Martin-Moreno, J.M.; Willett, W.C.; Gorgojo, L.; Banegas, J.R.; Rodriguez-Artalejo, F.; Fernandez-Rodriguez, J.C.; Maisonneuve, P. y Boyle, P. 1994. Dietary fat, olive oil intake and breast cancer risk. *International Journal of Cancer* 58: 774-780.
- 80 Menendez, J.A.; Papadimitropoulou, A.; Vellon, L. y Lupu, R. 2006. A genomic explanation connecting «Mediterranean diet», olive oil and cancer: Oleic acid, the main monounsaturated fatty acid of olive oil, induces formation of inhibitory «PEA3 transcription factor-PEA3 DNA binding site» complexes at the Her-2/neu (erbB-2) oncogene promoter in breast, ovarian and stomach cancer cells. *European Journal of Cancer* 42: 2425-2432.
- 81 Menendez, J.A.; Vazquez-Martin, A.; Garcia-Villalba, R.; Carrasco-Pancorbo, A.; Oliveras-Ferreros, C.; Fernandez-Gutierrez, A. y Segura-Carretero, A. 2008. Anti-HER2 (erbB-2) oncogene effects of phenolic compounds directly isolated from commercial Extra-Virgin Olive Oil (EVOO). *BMC Cancer* 8: 1-23.
- 82 Monasterio, R.P.; Fernández, M. DE LOS Á. y Silva, M.F. 2013. Olive Oil by Capillary Electrophoresis: Characterization and Genuineness. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61: 4477-4496.
- 83 Monasterio, R.P.; Fontana, A.R. y Silva, M.F. 2014. Matrix solid-phase dispersion: a simple and fast technique for the determination of phenolic compounds in olive oil by liquid chromatography. *Anal. Methods* 6: 8986-8995.
- 84 Montedoro, G.; Servili, M.; Baldioli, M. y Miniati, E. 1992. Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil. 1. Their extraction, separation, and quantitative and semiquantitative evaluation by HPLC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40: 1571-1576.
- 85 Morelló, J.-R.; Motilva, M.-J.; Ramo, T. y Romero, M.-P. 2003. Effect of freeze injuries in olive fruit on virgin olive oil composition. *Food Chemistry* 81: 547-553.
- 86 Morelló, J.-R.; Vuorela, S.; Romero, M.-P.; Motilva, M.-J. y Heinonen, M. 2005. Antioxidant activity of olive pulp and olive oil phenolic compounds of the Arbequina cultivar. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 2002-2008.
- 87 Moreno, J.J.; Carbonell, T.; Sanchez, T.; Miret, S. y Mitjavila, M.T. 2001. Olive oil decreases both oxidative stress and the production of arachidonic acid metabolites by the prostaglandin G/H synthase pathway in rat macrophages. *The Journal of nutrition* 131: 2145-2149.
- 88 Nergiz, C. y Ünal, K. 1991. Determination of phenolic acids in virgin olive oil. *Food chemistry* 39: 237-240.
- 89 Obied, H.K.; Prenzler, P.D.; Ryan, D.; Servili, M.; Taticchi, A.; Esposto, S. y Robards, K. 2008. Biosynthesis and biotransformations of phenol-conjugated oleosidic secoiridoids from *Olea europaea* L. *Natural Product Reports* 25: 1167-1179.
- 90 Okogeri, O. y Tasioula-Margari, M. 2002. Changes Occurring in Phenolic Compounds and  $\alpha$ -Tocopherol of Virgin Olive Oil during Storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 1077-1080.
- 91 Oliveras, M.J. 2005. Calidad del aceite de oliva virgen extra. Antioxidantes y función biológica. Departamento de Nutrición y Bromatología Doctor en: 300.
- 92 olivo/\_estadisticas/Expo\_Olivo\_2014.html.2015.En:  
[http://www.minagri.gob.ar/site/desarrollo\\_rural/producciones\\_regionales/01\\_origen\\_vegetal/06\\_olivo/\\_estadisticas/Expo\\_Olivo\\_2014.html](http://www.minagri.gob.ar/site/desarrollo_rural/producciones_regionales/01_origen_vegetal/06_olivo/_estadisticas/Expo_Olivo_2014.html). Acceso: 14/12/2016.
- 93 Owen, R.W. 2000. The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. *European Journal of Cancer* 36: 1235-1247.
- 94 Owen, R.W.; Mier, W.; Giacosa, A.; Hull, W.E.; Spiegelhalder, B. y Bartsch, H. 2000. Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food and Chemical Toxicology* 38: 647-659.
- 95 Papadopoulos, G. 1991. Antioxidant effect of natural phenols on olive oil. *American Chemical Society* 68: 669-671.



- 96 Pérez-Arquillué, C.; Juan, T.; Valero, N.; Estopañan, G.; Ariño, A.; Conchello, P. y Herrera, A. 2003. Estudio de la calidad del aceite de oliva virgen de Aragón. *Grasas Aceites* 54: 151-160.
- 97 Perez-Jimenez, F.; Alvarez De Cienfuegos, G.; Badimon, L.; Barja, G.; Battino, M.; Blanco, A.; Bonanome, A.; Colomer, R.; Corella-Piquer, D.; Covas, I.; Chamorro-Quiros, J.; Escrich, E.; Gaforio, J.J.; Garcia Luna, P.P.; Hidalgo, L.; Kafatos, A.; Kris-Etherton, P.M.; Lairon, D.; Lamuela-Raventos, R.; Lopez-Miranda, J.; Lopez-Segura, F.; Martinez-Gonzalez, M.A.; Mata, P.; Mataix, J.; Ordoñas, J.; Osada, J.; Pacheco-Reyes, R.; Peruchó, M.; Pineda-Priego, M.; Quiles, J.L.; Ramirez-Tortosa, M.C.; Ruiz-Gutierrez, V.; Sanchez-Rovira, P.; Solfrizzi, V.; Soriguer-Escofet, F.; De La Torre-Fornell, R.; Trichopoulos, A.; Villalba-Montoro, J.M.; Villar-Ortiz, J.R. y Visioli, F. 2005. International conference on the healthy effect of virgin olive oil. *European Journal of Clinical Investigation* 35: 421-424.
- 98 Poudyal, H.; Campbell, F. y Brown, L. 2010. Olive leaf extract attenuates cardiac, hepatic, and metabolic changes in high carbohydrate-, high fat-fed rats. *Journal of Nutrition* 140: 946-953.
- 99 Puertas, C.M.; Trentacoste, E.R.; Morabito, J. y Pérez-Peña, J. 2010. Efecto de diferentes estrategias de riego sobre el rendimiento y la calidad de aceite en olivo (*Olea europaea*) cv. Arbequina. *INA*: 9.
- 100 Regiones Olivícolas Argentinas. (s. f.). En: <http://www.mondoliva.com/blog/regiones-olivícolas-argentinas.html>. Acceso: 06/01/2015.
- 101 Riley, F.R. 2002. Olive oil production on Bronze Age Crete: Nutritional properties, processing methods and storage life of Minoan olive oil. *Oxford journal of archaeology* 21: 63-75.
- 102 Romani, A.; Mulinacci, N.; Pinelli, P.; Vincieri, F.F. y Cimato, A. 1999. Polyphenolic content in five Tuscany cultivars of *Olea europaea* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 964-967.
- 103 Romero, C.; Brenes, M.; García, P. y Garrido, A. 2002. Hydroxytyrosol 4-β-D-Glucoside, an important phenolic compound in olive fruits and derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 3835-3839.
- 104 Romero, M.P. 2003. Effect of crop season on the composition of virgin olive oil with protected designation of origin «Les garrigues» 80: 426-430.
- 105 Rondanini, D.P.; Castro, D.N.; Searles, P.S. y Rousseaux, M.C. 2011. Fatty acid profiles of varietal virgin olive oils (*Olea europaea* L.) from mature orchards in warm arid valleys of Northwestern Argentina (La Rioja). *Grasas y Aceites* 62: 399-409.
- 106 Rotondi, A.; Bendini, A.; Cerretani, L.; Mari, M.; Lercker, G. y Toschi, T.G. 2004. Effect of olive ripening degree on the oxidative stability and organoleptic properties of cv. Nostrana di brisighella extra virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 3649-3654.
- 107 Ryan, D. 1999. Changes in phenolic content of olive during maturation. *International Journal of Food Science & Technology* 34: 265-274.
- 108 Ryan, D. 2002. Biotransformation of phenolics compounds in *Olea europaea* L. *Scientia Horticulturae* 92: 147-176.
- 109 Saez Lancellotti, T.E.; Boarelli, P.V.; Romero, A.A.; Funes, A.K.; Cid-Barria, M.; Cabrillana, M.E.; Monclus, M.A.; Simón, L.; Vicenti, A.E. y Fornés, M.W. 2013. Semen quality and sperm function loss by hypercholesterolemic diet was recovered by addition of olive oil to diet in rabbit. *PLoS ONE* 8: e52386.
- 110 Salgado, P.A. 2010. Validación y desarrollo de una metodología analítica para la determinación de polifenoles totales en aceites de oliva mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Tesis de grado. Universidad de Chile. Santiago de Chile.
- 111 Salta, F.N.; Mylona, A.; Chiou, A.; Boskou, G. y Andrikopoulos, N.K. 2007. Oxidative stability of edible vegetable oils enriched in polyphenols with olive leaf extract. *Food Science and Technology International* 13: 413-421.

- 112 Salvador, M.D.; Aranda, F.; Gómez-Alonso, S. y Fregapane, G. 2001. Cornicabra virgin olive oil: a study of five crop seasons. Composition, quality and oxidative stability. *Food Chemistry* 74: 267-274.
- 113 Servili, M.; Selvaggini, R.; Esposito, S.; Taticchi, A.; Montedoro, G. y Morozzi, G. 2004. Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil. *Journal of Chromatography A* 1054: 113-127.
- 114 Shahidi, F. y Wanasundara, P.D. 1992. Phenolic Antioxidants. *Food Science and Nutrition* 32: 67-103.
- 115 Talhaoui, N.; Gómez-Caravaca, A.M.; Roldán, C.; León, L.; De la Rosa, R.; Fernández-Gutiérrez, A. y Segura-Carretero, A. 2015. Chemometric analysis for the evaluation of phenolic patterns in olive leaves from six cultivars at different growth stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63: 1722-1729.
- 116 Talhaoui, N.; Gómez-Caravaca, A.M.; León, L.; De la Rosa, R.; Fernández-Gutiérrez, A. y Segura-Carretero, A. 2015. Pattern of variation of fruit traits and phenol content in olive fruits from six different cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63: 10466-10476.
- 117 Talhaoui, N.; Gómez-Caravaca, A.; León, L.; De la Rosa, R.; Fernández-Gutiérrez, A. y Segura-Carretero, A. 2016. From olive fruits to olive oil: phenolic compound transfer in six different olive cultivars grown under the same agronomical conditions. *International Journal of Molecular Sciences* 17: 337.
- 118 Tasan, M. y Demirci, M. 2005. Total and individual tocopherol contents of sunflower oil at different steps of refining. *European Food Research and Technology* 220: 251-254.
- 119 Tognetti, R.; D'Andria, R.; Lavini, A. y Morelli, G. 2006. The effect of deficit irrigation on crop yield and vegetative development of *Olea europaea* L. (cvs. Frantoio and Leccino). *European Journal of Agronomy* 25: 356-364.
- 120 Torres, M.M. y Maestri, D.M. 2006. The effects of genotype and extraction methods on chemical composition of virgin olive oils from Traslasierra Valley (Córdoba, Argentina). *Food Chemistry* 96: 507-511.
- 121 Tovar, M.; Romero, M.; Alegre, S.; Girona, J. y Motilva, M. 2002. Composition and organoleptic characteristics of oil from Arbequina olive (*Olea europaea* L) trees under deficit irrigation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82: 1755-1763.
- 122 Tovar, M.J. 2001. Changes in the phenolic composition of virgin olive oil from young trees (*Olea europaea* L. cv. Arbequina) grown under linear irrigation strategies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 5502-5508.
- 123 Trentacoste, E.R. y Puertas, C.M. 2011. Preliminary characterization and morpho-agronomic evaluation of the olive germplasm collection of the Mendoza province (Argentina). *Euphytica* 177: 99-109.
- 124 Trentacoste, E.R.; Puertas, C.M. y Sadras, V.O. 2010. Effect of fruit load on oil yield components and dynamics of fruit growth and oil accumulation in olive (*Olea europaea* L.). *European Journal of Agronomy* 32: 249-254.
- 125 Trentacoste, E.R.; Puertas, C.M. y Sadras, V.O. 2012. Modelling the intraspecific variation in the dynamics of fruit growth, oil and water concentration in olive (*Olea europaea* L.). *European Journal of Agronomy* 38: 83-93.
- 126 Tsimidou, M. 1998. Polyphenols and quality of virgin olive oil in retrospect. *Italian Journal of Food Science* 2: 99-116.
- 127 Tsimidou, M.; Papadopoulos, G. y Boskou, D. 1992. Phenolic compounds and stability of virgin olive oil—Part I. *Food Chemistry* 45: 141-144.
- 128 Tuck, K.L. y Hayball, P.J. 2002. Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 13: 636-644.
- 129 Tur Marí, J. 2004. The quality of fat: olive oil. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 54: 59-64.
- 130 Turktas, M.; Inal, B.; Okay, S.; Erkilic, E.G.; Dundar, E.; Hernandez, P.; Dorado, G. y Unver, T. 2013. Nutrition metabolism plays an important role in the alternate bearing of the olive tree (*Olea europaea* L.). *PLoS ONE* 8: e59876.



- 131 Uceda, M. y Frias, L. 1975. Épocas de recolección. Evolución del contenido graso del fruto y de la composición y calidad del aceite. Córdoba, España. pp. 25-46.
- 132 Vazquez-Roncero, A.; Maestro-Duran, R. y Graciani-Constante, E. 1971. Cambios en los polifenoles de la aceituna durante la maduración. *Grasas y Aceites*: 366-370.
- 133 Velasco, J. 2002. Oxidative stability of virgin olive oil.pdf. *European Journal of Lipid Science and Technology* 104: 661-676.
- 134 Vinha, A.F.; Ferreres, F.; Silva, B.M.; Valentão, P.; Gonçalves, A.; Pereira, J.A.; Oliveira, M.B.; Seabra, R.M. y Andrade, P.B. 2005. Phenolic profiles of Portuguese olive fruits (*Olea europaea* L.): Influences of cultivar and geographical origin. *Food Chemistry* 89: 561-568.
- 135 Visioli, F. 1998. Free radical-scavenging properties of olive oil polyphenols. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 247: 60-64.
- 136 Visioli, F.; Romani, A.; Mulinacci, N.; Zarini, S.; Conte, D.; Vincieri, F.F. y Galli, C. 1999. Antioxidant and other biological activities of olive mill waste waters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 3397-3401.
- 137 Visioli, F.; Poli, A. y Gall, C. 2002. Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Medicinal Research Reviews* 22: 65-75.
- 138 Vlahov, G. 1992. Flavonoids in three olive (*Olea europaea*) fruit varieties during maturation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 58: 157-159.
- 139 Wiseman, S. 1996. Dietary non-tocopherol antioxidants present in extra virgin olive oil increase the resistance of low density lipoproteins to oxidation in rabbits. *Atherosclerosis* 120: 15-23.
- 140 Yao, L.H.; Jiang, Y.M.; SHI, J.; Tomas-Barberan, F.A.; Datta, N.; Singanusong, R. y Chen, S.S. 2004. Flavonoids in food and their health benefits. *Plant foods for human nutrition* 59: 113-122.
- 141 Yufra-Picardo. 2013. Evaluación del tratamiento con radiación UV para la eliminación de residuos de plaguicidas en aceite de oliva virgen. Tesis doctoral. Universidad de Jaén. Jaén - España.