



Universidad Nacional de Córdoba



Universidad Nacional de Chilecito

Lic. en Ciencias Biológicas Patricia Noemí Bortnyk

Título al que se aspira: Magister en Ciencia y Tecnología de los alimentos

Evaluación de parámetros de calidad de los compuestos mayoritarios y minoritarios de dos variedades de aceite de oliva: Arbequina y Coratina del Valle Antinaco- Los Colorados

Lugares de trabajo:



Universidad Nacional de
Chilecito



Universidad Nacional de
Córdoba

Directora: Dra. Natalia Barbieri

Co- directora: Dra. Claudia Mariana Asensio

Comisión evaluadora:

Dra. Silvia F. Pesce

Dra. Marcela Lilian Martínez

Dra. Romina Monasterio

Dedicado a la memoria de mis padres: María y Artemio

Quiero agradecer:

- En primer lugar a mi familia, lo más importante de mi vida, por su constante apoyo e incentivo para continuar adelante: A Ruben, el amor y compañero de vida, por su paciencia, compañía y viajes a Córdoba. A mis hijos Ale y a Cele por su compañerismo, interés, correcciones y aportes sobre el tema. A Omar y Naty que hacen felices a mis hijos. A mis nietos Iván e Iri a los que amo profundamente, y me acompañan siempre. A mi hermano Jorge por brindarme hospedaje durante los dos años, y apoyarme en todo, como siempre. A mis sobrinos Alexis, Milly y Vicky por los momentos vividos en mis viajes a Córdoba.
- A la Dra. Natalia Barbieri por su tiempo y sus enseñanzas, apoyo y correcciones para la elaboración de este trabajo.
- A la Dra. Claudia Asensio por co-dirigirme y ayudarme a realizar parte del trabajo.
- A la Dra. Alba Benavente por su amistad y por su impulso para que realice este trabajo de tesis, y finalice la maestría.
- Al Dr. Manuel Velasco por su apoyo en la maestría y en todo lo que necesité para la realización de esta tesis.
- A todos los integrantes del LAC, Sonia, Tito, Eugenia, Dina, Dona, Mariana, Lorena y Cintia, por el apoyo brindado.
- A los Ing. Colovatti y Minchiotti por facilitarme algunas muestras de aceite.
- A las Dras. Martínez, Pesce y Monasterio por sus sugerencias para mejorar el trabajo.
- A Rebeca Lobo Allende por su amistad.

- A la Mgter. Laura Montero Hagen por la realización del mapa, y sobre todo por sus palabras y amistad.
- Al Lic. Jorge Leiva por la capacitación brindada en estadística.
- A la Universidad de Chilecito, a la que quiero entrañablemente, por cobijarme y permitirme la realización de este trabajo.
- A mis compañeras y compañero por los momentos vividos durante la cursada de la maestría.

Resumen

La presencia de distintos compuestos químicos en el aceite de oliva virgen está definida por distintos factores, como las condiciones edafoclimáticas de la zona de producción, la madurez al momento de la cosecha de las aceitunas, los métodos de extracción del aceite y la conservación del mismo. En los últimos quince años se produjo un incremento de la producción de aceite de oliva en la Provincia de La Rioja, destacándose principalmente la variedad Arbequina y -en menor medida- Coratina, Picual y Barnea.

La fuente grasa de la dieta mediterránea es el aceite de oliva. En los últimos años se redescubrieron los beneficios de esta dieta, ya no solo asociada al ácido oleico sino también a los compuestos que se encuentran en pequeña proporción como los fenoles, vitamina E, etc.

Como objetivo en este trabajo se planteó evaluar parámetros de calidad referidos a los compuestos mayoritarios y minoritarios de dos variedades de aceite de oliva producidas en el Valle Antinaco- Los Colorados (Chilecito- La Rioja), con la finalidad de poder comparar los mismos en términos de calidad y actividad antioxidante.

Se trabajó con seis muestras de aceite de oliva pertenecientes a cuatro emprendimientos olivícolas del Valle Antinaco- Los Colorados. Las variedades analizadas fueron Arbequina y Coratina y los ensayos realizados: acidez libre, índice de peróxidos, extinción específica, perfil de ácidos grasos, presencia de esteroides, fenoles, flavonoides, pigmentos y actividad de captación de radicales libres. Para cada uno de los parámetros analizados se realizó un análisis de la varianza y la determinación de la correlación y regresión lineal entre la CD50% y dichos parámetros. Debido a que se encontraron diferencias en los resultados entre los emprendimientos aceiteros, se compararon entre ellos para cada variedad de aceite.

Los parámetros de calidad analizados, permiten clasificar a cuatro de los aceites estudiados en la categoría de aceite de oliva virgen extra. Los dos restantes, a pesar de estar etiquetados como aceite de oliva virgen extra, no cumplen con los requisitos correspondientes a esta calidad.

El contenido de ácido oleico fue en promedio de 58,36 % para Arbequina y 73,41 % para Coratina. Los valores de fenoles fueron significativamente mayores para la variedad Coratina. Clasificándose a esta como alto en fenoles, en cambio los aceites de la variedad Arbequina como muy bajo en fenoles. Se registró mayor contenido de pigmentos (clorofilas y carotenoides) en los aceites de la variedad Coratina, siendo las diferencias significativas para las clorofilas. El potencial antioxidante fue significativamente mayor para los aceites de la variedad Coratina (425,03 mg.mL⁻¹ y 170,96 mg.mL⁻¹ para Arbequina y Coratina respectivamente). De acuerdo a los resultados de correlación lineal se puede indicar que el poder antiradicalario de los aceites estudiados depende del contenido de fenoles en la variedad Coratina y la concentración de carotenoides en la variedad Arbequina.

Existe una marcada diferencia varietal en la composición de Arbequina y Coratina. De acuerdo a los resultados obtenidos, el aceite de la variedad Coratina presentaría mejores propiedades antioxidantes que el aceite de la variedad Arbequina.

Lista de abreviaturas

ha	Hectárea
tn	Tonelada
°C	Grado centígrado
N ₂	Nitrógeno
OMS	Organización mundial de la salud
mg/kg	miligramo/ kilogramo
mm	milímetro
mEQ	Miliequivalente
N	Normal
nm	Nanómetro
mP	MiliPascal
mL	Mililitro
P/V	Peso en volumen
µL	Microlitro
µg	Microgramo
DPPH	1,1-difenil-2- picrilhidrazil
CD50	Concentración depuradora 50
P	Peso
Abs	Absorbancia
R ²	Coefficiente de regresión lineal
DS	Desviación estándar
O/L	Relación oleico/linoleico
<	Menor que
>	Mayor que
msnm	Metros sobre el nivel del mar
AGMI	Ácidos grasos mono insaturados
cLDL	Lipoproteínas de alta densidad
cHDL	Lipoproteínas de baja densidad
kg	Kilogramo
ABTS	Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico
TEAC	Ácido6-hidroxi-2,5,7,8- tetrametilcromo-2-ácido carboxílico
ORAC	Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno

BHT	Butil hidroxitolueno
Vs	Versus
EAG	Equivalentes de ácido gálico
≥	Mayor o igual
ANOVA	Análisis de la varianza
IM	Índice de madurez

Lista de tablas

Tabla 1.	Comparación entre los parámetros de calidad de las dos variedades de aceite y fincas estudiadas.	50
Tabla 2.	Perfil de ácidos grasos para las dos variedades estudiadas.	54
Tabla 3.	Perfil de ácidos grasos para las variedades Arbequina y Coratina, para cada finca de estudio (V, U, G, A).	55
Tabla 4.	Contenido de fenoles totales y flavonoides en aceite de oliva para las dos variedades de aceite analizadas.	59
Tabla 5.	Contenido de pigmentos en aceite de oliva para las dos variedades de aceite analizadas.	64
Tabla 6.	Actividad antioxidante de las dos variedades de aceite estudiadas.	70
Tabla 7.	Comparación del Potencial antioxidante de las dos variedades, Arbequina y Coratina, por fincas de estudio (V, U, G, A).	70
Tabla 8.	Correlación de Pearson tomando las dos variedades de aceite en conjunto.	71
Tabla 9.	Correlación de Pearson para los distintos parámetros analizados Vs CD50 de la variedad Arbequina y Coratina.	72
Tabla 10.	Regresión múltiple para los distintos parámetros analizados Vs CD50 considerando las dos variedades en conjunto y por separado.	72

Lista de figuras

Figura 1.	Actuales zonas productoras de aceite de oliva en el mundo.	16
Figura 2.	Principales provincias productoras de aceite de oliva.	17
Figura 3.	Avances tecnológicos incorporados a la producción de olivos del Valle Antinaco- Los Colorados.	18
Figura 4.	Partes de la aceituna.	19
Figura 5.	Variedades de aceitunas analizadas.	20
Figura 6.	Proceso de obtención de aceite de oliva.	23
Figura 7.	Fenoles presentes en el aceite de oliva.	26
Figura 8.	Flavonoides encontrados en el aceite de oliva.	27
Figura 9.	Localización de las cuatro fincas- aceiteras muestreadas.	36
Figura 10.	Finca U	37
Figura 11.	Finca A	37
Figura 12.	Reacción que refleja el proceso de oxidación de un aceite.	39
Figura 13.	Espectrofotómetro Agilent, modelo 8453	41
Figura 14.	Perfil de ácidos grasos (proceso de reconocimiento).	42
Figura 15.	Reacción general que representa la oxidación de los fenoles por el Reactivo de Folin-Ciocalteu.	43
Figura 16.	Reacciones que representan la captación de los radicales de DPPH.	46
Figura 17.	Lector de microplaca.	47
Figura 18.	Esteroles Arbequina.	58
Figura 19.	Esteroles Coratina.	58
Figura 20.	Reacción que representa la acción de inhibición de los fenoles sobre los oxidantes.	63

Lista de gráficos

- | | | |
|-------------------|--|----|
| Gráfico 1. | Determinación de fenoles totales (A) y flavonoides (B) en aceite de oliva variedad Arbequina y Coratina de las fincas muestreadas (V, U, G, A, G). | 60 |
| Gráfico 2. | Contenido de clorofilas (A) y carotenoides (B) en aceite de las variedades Arbequina y Coratina de las fincas muestreadas (V, U, G, A, G). | 65 |
| Gráfico 3. | Actividad depuradora de radicales libres de los aceite de oliva variedad Arbequina en las fincas muestreadas. | 68 |
| Gráfico 4. | Actividad depuradora de radicales libres de los aceite de oliva variedad Coratina en las fincas muestreadas. | 69 |

Contenido

Introducción.....	15
Origen y distribución del cultivo de olivo	16
Variedades cultivadas	19
El aceite de oliva	20
Proceso de extracción del aceite de oliva	20
Parámetros químicos del aceite de oliva	23
Efectos benéficos asociados al consumo de aceite de oliva	28
Importancia del trabajo	31
Hipótesis y Objetivos	32
Hipótesis.....	33
Objetivo General	33
Objetivos específicos	33
Materiales y métodos	34
Descripción de la zona de estudio.....	35
Análisis químico	37
Calidad	37
Acidez libre	37
Índice de peróxidos	38
Coeficientes de extinción específica: dienos (K_{232}) y trienos (K_{270}) conjugados	39
Pureza	41
Perfil de ácidos grasos	41
Compuestos minoritarios.....	42
Presencia de esteroides	42
Compuestos fenólicos	42
Flavonoides	44

Pigmentos. Estimación de carotenoides y clorofilas.....	44
Potencial antioxidante de las muestras. Método DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil)	45
Análisis estadístico	47
Resultados y Discusión	48
Parámetros de calidad	49
Criterios de pureza	52
Perfil de ácidos grasos	53
Presencia de esteroides	57
Compuestos minoritarios.....	58
Composición fenólica y flavonoides	58
Pigmentos	64
Actividad antioxidante de las muestras	67
Análisis de correlación y regresión.....	71
Conclusiones.....	74
Bibliografía	77

Introducción



Origen y distribución del cultivo de olivo

El olivo, la vid, la higuera y la palmera datilera constituyen los cultivos más antiguos conocidos. El cultivo del olivo se origina en la zona de Creta en el año 5000 a.C. En principio los Fenicios y luego los Árabes fueron los encargados de difundir su cultivo a toda Europa, especialmente en toda la cuenca del mar Mediterráneo. Con la llegada de los españoles a América, fue introducido en el continente. Hoy en día también se lo cultiva en Sudáfrica, China, Japón y Australia. (Pastrana Moncayo, 2016) (**Figura 1**).



Figura 1. Actuales zonas productoras de aceite de oliva en el mundo. Morcillo Bravo (2016).

El olivo se comenzó a cultivar en la Argentina en la época de la colonización española en la zona de la actual ciudad de Aimogasta (departamento Arauco- provincia de La Rioja). A fines del siglo XIX, su cultivo recibe un gran impulso, aunque en la década de 1960 su producción disminuye debido a la importante competencia del aceite de girasol. Esta tendencia se revirtió en la década del noventa gracias al aumento del precio del aceite y de las campañas sobre los beneficios del consumo del de oliva en la salud humana. Además, fueron fundamentales las medidas de apoyo a la producción a través de las Leyes de Diferimiento Impositivos para emprendimientos industriales, agrícolas, ganaderos y turísticos (Leyes N° 22.021 en la Rioja; 22702 en Catamarca y 22973 en San Juan). Antes de la promulgación de las mencionadas leyes, las zonas olivícolas eran Mendoza, San Juan y Córdoba,

a las que se incorporaron Catamarca y La Rioja, adquiriendo estas últimas preponderancias en la producción de aceite de oliva. El Valle Antinaco- Los Colorados resultó ser una de las regiones de mayor producción de aceite de oliva.

La Argentina se encuentra posicionada como el principal productor de aceite de oliva de América y está ubicada en el quinto lugar como exportador en el mundo después de la Unión Europea, Túnez, Siria y Turquía (Ministerio de Agroindustria, 2018). Según el Ministerio de Agroindustria de Argentina, “más del 50% de la superficie olivícola corresponde a variedades para la producción de aceite, 20% para el consumo directo y alrededor de un 28% está implantada con variedades doble propósito”. De acuerdo a las hectáreas plantadas, Catamarca ocupa el primer lugar con un 27% del total nacional, seguida por La Rioja, con un 26%, San Juan con el 24,6% y Mendoza con el 16,8%. Del total de 83.400 ha en producción, la provincia de La Rioja posee 25.000 ha, Mendoza 20.600 ha, San Juan 18.200 ha, Catamarca 12.700 ha. Y el resto se distribuye en menor medida en Córdoba (5.000 ha), Buenos Aires (1.800 ha) y Río Negro (500 ha) (**Figura 2**).

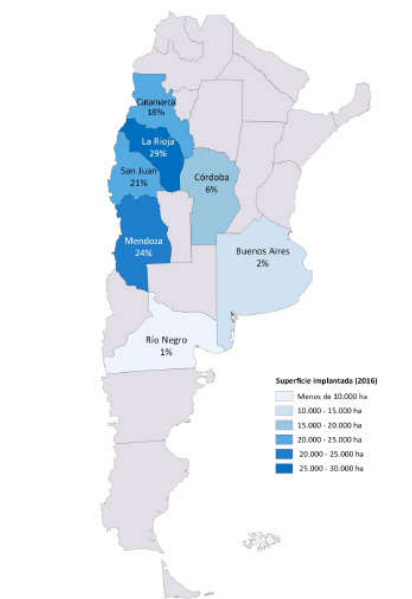


Figura 2. Principales provincias productoras de aceite de oliva. Fuente Subsecretaría de Programación Microeconómica 2018.

En promedio se cosechan, en el Valle Antinaco- Los Colorados, 400.000 toneladas de oliva, la mitad de las cuales son destinadas a la molienda para la obtención de aceite. Según el “Documento de actualización de la estrategia provincial para el sector agroalimentario (EPSA)”, publicado por el Ministerio de Producción y Agroindustria de la provincia de La Rioja-julio de 2014- el 37 % de la producción de aceite de oliva de la provincia corresponde al Valle Antinaco-Los Colorados. Con igual porcentaje se encuentra el departamento Capital y con un 25% el departamento Arauco, cuna de la olivicultura nacional. La variedad más utilizada para la obtención de aceite es la Arbequina, mientras que la Manzanilla se utiliza con doble propósito. Con un rendimiento industrial cercano al 20%, la producción de aceite promedia 38.000tn, de las cuales se exporta alrededor del 80%.

“El buen aceite de oliva es considerado sinónimo de buen gusto y refinamiento en los platos que preparamos todos los días” indica el portal del Ministerio de Agroindustria al referirse a la cadena olivícola. Además, este aceite es cada vez más utilizado en la gastronomía debido a sus potenciales beneficios nutricionales y su sabor. Según datos de la cartera agroindustrial, el aceite de oliva argentino se destaca por condiciones agroclimáticas diferenciadas según zona de cultivo de las olivas y una producción contra estación respecto del hemisferio norte. Los avances tecnológicos incorporados en el cultivo (**Figuras 3 a y b**) y procesamiento del aceite mejoraron la calidad, pudiendo competir en diferentes mercados, posicionándose a la altura de las exigencias mundiales.

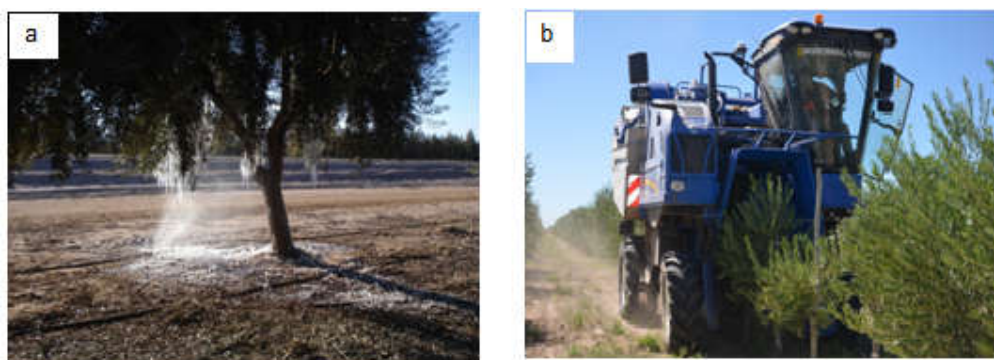


Figura 3. Avances tecnológicos incorporados a la producción de olivos del Valle Antinaco- Los Colorados. a. Riego por goteo, Finca A. b. Cosecha automatizada, Finca U.

Variedades cultivadas

El nombre científico del olivo cultivado en Argentina es *Olea europea L.* Es la única especie de la familia *Oleaceae* comestible. Se trata de una especie leñosa muy resistente a las sequías, sensible a las temperaturas inferiores a los 10°C, de crecimiento lento, con hojas perennes que puede alcanzar una altura de quince metros. La altura es regulada de acuerdo a las condiciones de producción. La forma del fruto, drupa con una sola semilla, es de elipsoidal a globosa. Principalmente, está formado por tres tejidos, endocarpo (carozo o hueso), mesocarpo (pulpa) y exocarpo (piel) (**Figura 4**). Mide de 1 a 4 cm de longitud y de 0,6 a 2 cm de diámetro, dependiendo de la variedad. (Bauzá, *et al*, 2011)



Figura 4. Partes de la aceituna: exocarpo (1-2%), mesocarpo (68-86%) y endocarpo (20-30%).

Las principales variedades que se producen en Argentina son Arauco, Arbequina, Manzanilla, Picual, Barnea, Coratina, Arbosana y Hojiblanca, entre otras (Gómez del Campo, *et al*, 2010). La variedad Arbequina es muy productiva, iniciándose en forma precoz. De maduración temprana (marzo en el Valle bajo estudio), y resistente a las heladas, presenta buen rendimiento graso (alrededor de 20,5%, base húmeda). Los frutos son pequeños, esféricos y arracimados. (Bauzá, *et al*, 2011; Ponce Flores, *et al*, 2014; Pastrana Moncayo, 2016). El árbol de la variedad Coratina presenta un vigor medio, entra en producción en forma precoz, con buena productividad; es resistente al frío. Los

frutos son de tamaño medio, con una maduración tardía (junio- julio en la zona de estudio). El aceite presenta excelentes calidades organolépticas y buena estabilidad oxidativa (Ponce Flores, *et al*, 2014) (**Figuras 5 a y b**).



Figura 5. Variedades de aceitunas analizadas. a- Arbequina, b- Coratina.

El aceite de oliva

De acuerdo al artículo 535 del Código Alimentario Argentino:

Se entiende por Aceite de oliva, el obtenido de los frutos de Olea europaea L. Se denominan Aceites de oliva vírgenes a los obtenidos a partir del fruto del olivo exclusivamente por procedimientos mecánicos y técnicos adecuados y purificado solamente por lavado, sedimentación, filtración y/o centrifugación (excluida la extracción por disolventes). El aceite de oliva obtenido por presión y sometido a proceso de refinación se designará como Aceite de oliva refinado. Con la designación de Aceite de Oliva (sin otra denominación) se entiende a una mezcla de aceite de oliva virgen con aceite de oliva refinado.

El aceite de oliva es uno de los pocos que puede ser consumido sin un proceso de refinado y sin el agregado de conservantes.

Proceso de extracción del aceite de oliva

En Argentina, la cosecha de aceitunas se realiza entre los meses de febrero y julio, dependiendo de la zona de cultivo y la variedad recogida. Este proceso se lleva a cabo cuando el grado de madurez y contenido de aceite es el óptimo. Existen distintos trabajos en los que se ha estudiado la influencia de factores genéticos, ambientales y agronómicos en la acumulación de aceite y la calidad del mismo para establecer el momento exacto para la recolección de las aceitunas (Rondanini, *et al.*, 2014; Bodoira, *et al.*, 2016; Trentacoste, *et al.*, 2019). Los productores aprovechan los cambios de color del fruto (índice de madurez, IM) como indicador para comenzar con la cosecha (Araniti, 2013). Sin embargo, este indicador no siempre es válido porque la maduración de la fruta y la tasa de acumulación de aceite pueden cambiar con el cultivo y las condiciones ambientales (Bodoira, *et al.*, 2016).

En los emprendimientos estudiados, la cosecha se realiza con cosechadoras vibradoras y/o cabalgantes (**Figura 3- b**). Las aceitunas, una vez cosechadas, son transportadas inmediatamente a la fábrica para ser procesadas. No deben pasar más de 12 h para lograr un aceite de oliva virgen extra. Ese lapso de tiempo es importante ya que cuando las aceitunas se amontonan, se produce un aumento de la temperatura produciéndose la proliferación de mohos y levaduras que alterarán la materia grasa contenida en las aceitunas, favoreciendo la hidrólisis de los ácidos grasos (aumentando la acidez del aceite), lipólisis enzimática o microbiana y oxidación del aceite (Bauzá, *et al.*, 2011). En la fábrica, el primer paso es la eliminación de impurezas que pueden traer las frutas (hojas, tallos, piedras, etc.), a través de un lavado con agua y decantación (**Figura 6-A**).

Las aceitunas, a través de una cinta transportadora, son depositadas en el interior del tambor para proceder a la molienda, donde un sistema de martillos inicia la trituración. Si este proceso se realiza con elevada velocidad aumenta la temperatura estresando las aceitunas. El objetivo de este paso es la rotura de las membranas celulares del fruto, a través de un proceso de cizallamiento, para dejar en libertad los glóbulos de aceite contenidos en las vacuolas. Las gotas de aceite se agrupan y en contacto con el agua forman una emulsión.

El proceso siguiente es el amasado que tiene como finalidad obtener una fase oleosa continua. Se debe llegar a una temperatura de trabajo de 32°C, para facilitar la separación sólido-líquido, liberándose el aceite disperso en la masa molida. Se procura alcanzar un equilibrio en el amasado entre la temperatura y el tiempo del mismo ya que un exceso de temperatura favorece el rendimiento, pero un tiempo prolongado y el aumento de la temperatura disminuye la calidad del aceite por la pérdida de compuestos volátiles y mayor contacto con el oxígeno, lo que aceleraría proceso de oxidación (**Figura 6-B**).

La pasta de aceitunas obtenida pasa a la última etapa para la separación definitiva del orujo, el aceite y el agua. Este proceso consiste en un centrifugado de dos fases para las aceiteras de donde provienen las muestras analizadas (la extracción se puede realizar en centrífugas de tres fases). Se realiza en centrífugas horizontales llamadas “Decanter” (**Figura 6-C**). El aceite obtenido contiene una cantidad mínima de agua que es posteriormente extraída en una centrífuga vertical (**Figura 6-D**).

Los aceites son depositados-durante 24 h como mínimo y 30 días como máximo- en tanques para que sedimente los sólidos que pudieron quedar luego de la centrifugación y para clarificarlo, ya que en ese proceso se produjo la aireación del aceite, produciendo cierta turbidez. Luego de esta etapa, los aceites son almacenados en tanques de acero inoxidable (**Figura 6-E**), con atmósfera modificada (N₂), en ambientes a temperaturas bajas, iluminación moderada y alejada de focos que puedan conferir sabores extraños al aceite.

Pueden ser envasados o vendidos a granel. Cuando son envasados se lo debe proteger del calor, la luz y el oxígeno presente en el espacio de cabeza.

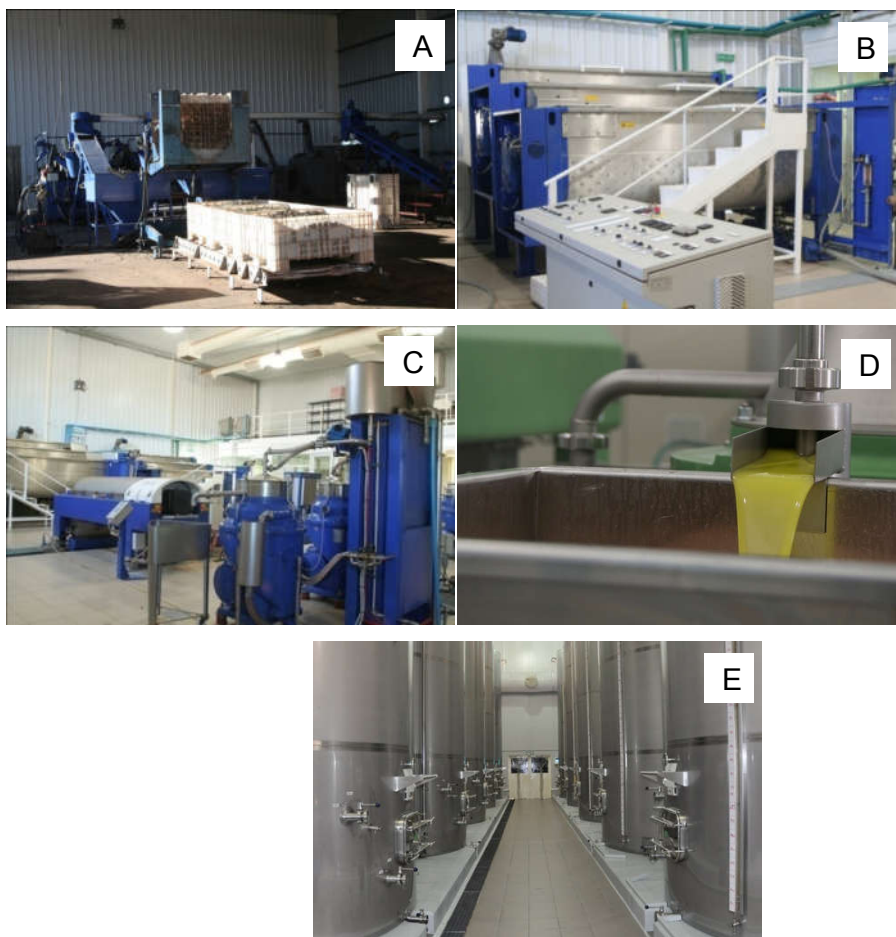


Figura 6. Proceso de obtención de aceite de oliva: A- Zona de patio de la fábrica donde las aceitunas son lavadas y se extraen distintos sólidos que pueden acarrear desde la zona de cultivo y cosecha, B- Amasadora, C- Centrífuga horizontal “Decanter”, D- Aceite obtenido luego de ser sometido al centrifugado vertical, E- Zona de almacenamiento del aceite.(Gentileza finca Aimurai).

Parámetros químicos del aceite de oliva

La composición del aceite de oliva varía de acuerdo a distintos factores como clima, prácticas agrícolas, características tecnológicas de obtención y variedad de aceitunas procesada (Tous, *et al.*, 1997; Bodoira, *et al.*, 2016; Lara Ortega, 2017; Sánchez-Rodríguez, *et al.*, 2018; Rousseaux, *et al.*; 2020). Pero, puede establecerse que está formado por dos fracciones, una saponificable, constituida por triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos y en menor medida ácidos grasos, que de acuerdo a la proporción presente (98%), se los llama

compuestos mayoritarios. La otra fracción, denominada no saponificables incluye una gran cantidad de compuestos como fenoles, esteroides, tocoferoles, pigmentos, compuestos volátiles, entre otros. Estos compuestos se encuentran en menor proporción en el aceite por lo que se los conoce como compuestos minoritarios (Pérez Martínez, *et al.*, 2007; Fuentes de Mendoza, 2013; Bodoira, *et al.*, 2016; Lazzerini, *et al.*, 2017; Sánchez-Rodríguez, 2018; Sánchez-Calvo *et al.*, 2019).

El contenido cuali-cuantitativo de ácidos grasos en el aceite de oliva presenta especial interés porque de estos estudios pueden detectarse posibles adulteraciones. La composición de esta fracción difiere de una zona de cultivo a otra, pudiendo ser utilizados para clasificar al aceite de acuerdo a la zona de procedencia. Los ácidos grasos se encuentran esterificados, pudiendo existir algún porcentaje de los mismos en estado libre que le conferirá al aceite una determinada acidez y como el ácido oleico es el principal ácido graso presente, la acidez se expresa como porcentaje de ácido oleico (Rondanini, *et al.*, 2010; Ceci, *et al.*, 2010; Rondanini, *et al.*, 2014; Pastrana Moncayo, 2016; Trentacoste, *et al.*, 2014; De la Rosa, *et al.*, 2015).

Dentro de los parámetros clásicos de determinación de la calidad de un aceite de oliva, la acidez libre constituye el principal factor a evaluar. Cuando las aceitunas o el aceite no tuvieron un trato adecuado o cuentan con alto contenido de agua, los aceites presentarán acidez libre alta debido a la degradación hidrolítica de los ésteres por la presencia de agua, por acción de lipasas (que actúan en la interfase aceite/agua)(Torres, *et al.*, 2010). El índice de peróxidos y la absorbancia en el ultravioleta (K_{232} y K_{270}) también forman parte de los parámetros clásicos para evaluar calidad. Los mismos están relacionados con el grado de oxidación de los aceites (ácidos grasos insaturados) (Fuentes de Mendoza, 2013; El-Gharbi, *et al.*, 2018). De acuerdo al valor de estos parámetros, se determinará la calidad del aceite de oliva (aceite de oliva virgen extra, aceite de oliva virgen, aceite de oliva refinado, aceite de orujo de oliva, etc.).

La fracción minoritaria del aceite está constituida por una gran cantidad de compuestos de naturaleza compleja. El contenido de estos compuestos en

un aceite de oliva puede variar por diversos motivos, como las condiciones agronómicas, edafoclimáticas, etc. (Cañabate-Díaz, *et al.*, 2007; Bauzá, *et al.*, 2011).

Desde 1990, varias organizaciones internacionales del ámbito de la nutrición, como la OMS, recomiendan un consumo diario de antioxidantes, principalmente a través de frutas y verduras, con el fin de prevenir o atenuar patologías asociadas al estrés oxidativo celular. Dentro de este grupo de antioxidantes se encuentran los carotenoides, licopenos, vitaminas C y E, zinc, selenio, etc. además de los compuestos fenólicos.

La composición fenólica del aceite de oliva está constituida por un conjunto de compuestos, provenientes del mesocarpio y del endocarpio de la aceituna. Cumplen la función de protección frente a distintos patógenos y al daño que puede ocasionar la radiación ultravioleta en el fruto. Estos contribuyen con las propiedades antioxidantes al aceite de oliva, además de ser uno de los principales compuestos que le confieren los atributos organolépticos particulares, como amargor y picor, valorados positivamente (Lozano Sánchez, 2013; Romero del Río, 2015; Higuera Campo, 2017; Sánchez-Rodríguez, 2018). Estos autores sostienen que la concentración de fenoles puede estar contemplada entre 50 y 200 mg. kg⁻¹ de aceite, pero pueden encontrarse aceites que los contengan hasta 1000 mg. kg⁻¹ de aceite. Los márgenes que establece el Consejo oleícola internacional (COI) para el contenido total de fenoles están comprendidos entre 200 y 1500 mg. kg⁻¹ de aceite.

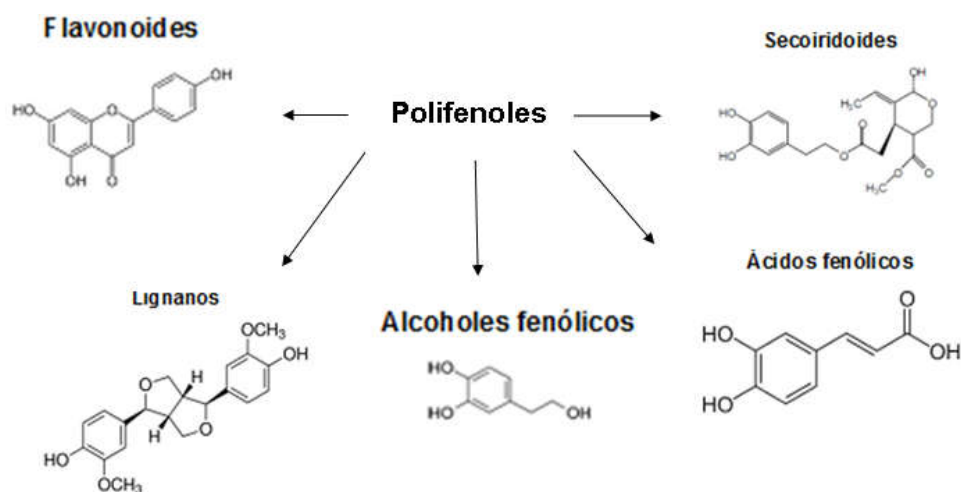


Figura 7. Fenoles presentes en el aceite de oliva.

Los compuestos fenólicos presentes en aceite de oliva virgen pertenecen a cinco grupos: los ácidos fenólicos, los alcoholes fenólicos (hidroxitiroso y tiroso), flavonoides, lignanos y secoirridoides (ligustrósidos, oleuropeínas) (Lozano Sánchez, 2013; Monasterio, *et al.*, 2017) (**Figura 7**). Los secoirridoides constituyen los compuestos fenólicos mayoritarios del aceite; seguidos por los alcoholes fenólicos, los lignanos, flavonoides y ácidos fenólicos (Monasterio, *et al.*, 2017, Castelli, *et al.*, 2018).

Un exceso de agua contenida en la aceituna o adicionada durante el amasado puede ocasionar, además de aumento de acidez del aceite, pérdida de los compuestos fenólicos, por tratarse de compuestos solubles mayoritariamente en agua. De esta manera, se alteraría el equilibrio de partición entre los líquidos aumentando la fase acuosa y la pérdida de los fenoles contenidos en la misma (Maestri, *et al.*, 2005; Torres, *et al.*, 2006; Cornejo, 2018).

El mecanismo de acción de los fenoles puede explicarse de la siguiente forma: los fenoles tienen grupos hidroxilos que pueden actuar como aceptores de electrones, a través de reacciones redox, formando radicales fenoxil relativamente estables, modificando la cadena de reacciones oxidativas. Estos radicales pueden reaccionar con el iniciador de la reacción de oxidación, previniendo la reacción, descomponer peróxidos, actuar como quelante de

iones metálicos, modificar la actividad de enzimas oxidantes (lipoxigenasa y ciclooxigenasa) y/o para extinguir al oxígeno singlete (Maestri, *et al.*, 2005; Larrauri, 2016). Toda esta multiplicidad de mecanismos de acción antioxidante hacen que los compuestos fenólicos sean estudiados buscando beneficios para la salud y también que sean utilizados sus extractos ricos en ellos, para extender la vida útil de otros aceites (Torres, *et al.*, 2011).

Carrasco Pancorbo, *et al.* (2004) encontraron en el aceite de oliva distintos flavonoides, como flavonas, luteolina y apigenina, flavonoles como quercetina y kaempferol, y un flavanonol, (+)-taxifolin (**Figura 8**). Las flavonas son las que aparecen mayoritariamente en el aceite de oliva. El mecanismo de acción de los flavonoides está relacionado con los distintos grados de hidroxilación que poseen los distintos compuestos.

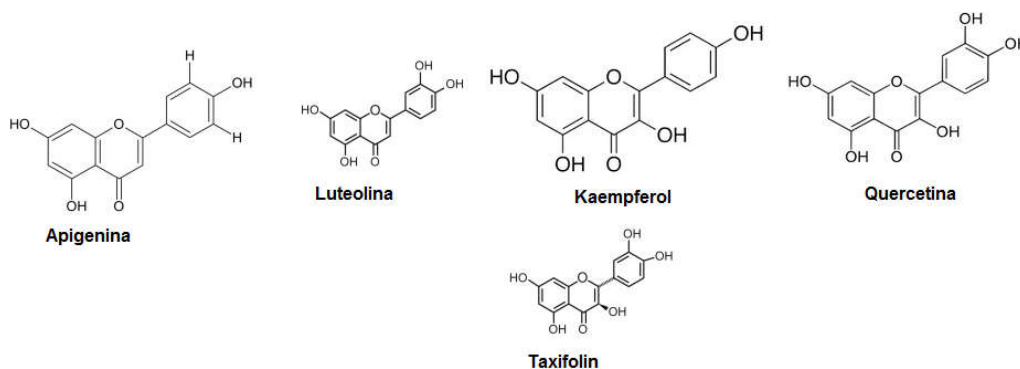


Figura 8. Flavonoides encontrados en el aceite de oliva.

Los pigmentos son los responsables de la tonalidad final del aceite. En el aceite de oliva virgen extra el color se debe a la presencia de clorofilas, feofitinas, pirofeofitinas, luteína y β -caroteno (Mínguez-Mosquera, 1995). La clorofila a y b, junto a la serie b de feofitinas y pirofeofitinas, aportan al aceite distintas gamas de colores verdes mientras que la serie a de feofitinas y pirofeofitinas son las responsables del color pardo. Los tonos amarillos del aceite se deben a la luteína y el β -caroteno (Fuentes, *et al.*, 2010). Sólo un 20% de las clorofilas del fruto están presentes en el aceite, quedando el resto en los subproductos. La mayor pérdida de pigmentos-clorofilas, principalmente- se debe a los procesos de extracción (Roca, *et al.*, 2003; Morcillo Bravo,

2017). Los pigmentos clorofílicos, en presencia de luz, pueden producir la fotooxidación del aceite, pero en condiciones de oscuridad actúan como antioxidantes. Los carotenoides, entre los que se destaca el β -caroteno, representan un provitámico, precursor del retinol (Beltrán Muñiz, 2013).

Efectos benéficos asociados al consumo de aceite de oliva

La dieta mediterránea está asociada con una menor incidencia de patologías crónicas de origen cardiovascular, artritis reumatoidea y una mayor longevidad. Las patologías mencionadas están relacionadas con el estrés oxidativo, síndrome metabólico y procesos inflamatorios (López Miranda, *et al.*, 2008). Según estudios epidemiológicos realizados en España, Italia y Grecia, donde siguen la tradicional dieta mediterránea y utilizan al aceite de oliva como principal grasa, la incidencia de cáncer es menor que en el norte de Europa, Australia o América del Norte (Wahle, *et al.*, 2004; López Miranda, *et al.*, 2008; Cicerale, *et al.*, 2010; Silva, *et al.*, 2014). Distintos trabajos relacionan las propiedades saludables del ácido oleico con el mejoramiento del perfil de lipoproteínas plasmáticas, reduciendo potencialmente las posibilidades de sufrir accidentes cardio-vasculares (Aguilera, *et al.*, 2003; Olivera López, 2005; Puertollano, *et al.*, 2010). Olivera López, 2005; López Miranda, *et al.*, 2008; Bernardini, *et al.*, 2016 sostienen que el poder antioxidante del aceite de oliva proviene de la combinación de niveles altos de ácido oleico con una serie de antioxidantes presentes como los compuestos fenólicos, carotenoides y vitamina E.

Gimeno Creus (2003) realizó una revisión bibliográfica sobre el efecto del consumo de aceites vegetales en los valores de colesterol sérico. Reportó que los ácidos grasos poliinsaturados que contienen el aceite de maíz o de girasol produce un descenso de las lipoproteínas cLDL y del cHDL. En cambio el ácido oleico, ácido graso mono insaturado (AGMI) mayoritario del aceite de oliva produjo el descenso de las cLDL pero sin modificar la concentración de las cHDL. Además estos autores sostienen que una dieta rica en AGMI mejora la tolerancia a la glucosa.

En los últimos años, muchas investigaciones se han centrado en los compuestos minoritarios del aceite de oliva (Puertollano, *et al.*, 2010; Surra, *et al.*, 2015; Martínez Peláez, *et al.*, 2016) además del perfil de ácidos grasos que presenta (compuesto mayoritario) para encontrar relaciones entre la alimentación y la prevención de enfermedades. Casos destacados son el consumo de ácidos grasos monoinsaturados combinados con fenoles y pigmentos.

Entre los compuestos fenólicos se pueden mencionar el tirosol y el hidroxitirosol, estudios realizados por Bernardini, *et al.*, (2016) atribuyen a estos compuestos los beneficios biológicos sobre el organismo humano. Los resultados de estudios observacionales realizados en animales e *in vitro*, arrojaron como resultado efectos de inhibición de enzimas participantes en el proceso inflamatorio y de la acción metabólica de los procarcinógenos, previniendo la lipoperoxidación induciendo cambios favorables en el perfil lipídico, mejorando la función endotelial y presentan propiedades antitrombóticas. Estos estudios observacionales en poblaciones mediterráneas han sugerido que la incorporación del aceite de oliva a la dieta puede ser protectora contra el deterioro cognitivo relacionado con la edad y la enfermedad de Alzheimer (García, *et al.*, 2003; Olivera López, *et al.*, 2005; Silva, *et al.*, 2014).

Se ha reportado que los compuestos fenólicos presentes en el aceite de oliva son capaces de disminuir el estado de oxidación del plasma, aumentar las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y el glutatión reducido, y disminuir la hipertensión (Weinbrenner, *et al.*, 2004; Covas, *et al.*, 2006; Bogani, *et al.*, 2007; Parkinson, *et al.*, 2015; Hernández, *et al.*, 2015). Estos trabajos refuerzan la noción de que el consumo de aceite de oliva virgen extra reduce la incidencia de enfermedades coronarias y sería en gran medida debido al papel protector de los compuestos fenólicos presentes en el aceite.

Olivera López (2005) trabajó con 34 ratones machos, divididos en tres grupos, a los que le suministró entre 50 y 100 mL de aceite de oliva virgen extra a un grupo, a otro igual cantidad de aceite de girasol y el tercero funcionó

como testigo, entre tres y cinco días. Al día siguiente de cada suministro, y durante los cinco días siguientes, se les extrajo sangre para analizar los niveles de fenoles (hidroxitirosol). Se constató un aumento significativo en los niveles de fenoles en plasma con respecto a los controles, en el grupo que recibió aceite de oliva, y 1,9 veces mayor con respecto a los que fueron suplementados con aceite de girasol. Estos valores máximos se lograron con el suministro de 50 mL de aceite durante tres días. Concluyéndose que el aceite de oliva aumenta la concentración de fenoles en plasma.

Miró- Casas, *et al.*, 2002; Fitó 2003 y Vissers, *et al.*, 2004 encontraron que la biodisponibilidad de los fenoles en humanos está entre el 55-60%, y Visioli, *et al.*, (2003) y Surra, *et al.*, (2015) determinaron que esa biodisponibilidad se produce cuando el aceite es consumido puro, no adicionado a un aceite refinado o a algún alimento funcional.

A partir de las evidencias científicas, la Administración de Drogas y Alimentos de EE. UU (FDA) ha autorizado la declaración de propiedades saludables en el aceite de oliva contra las enfermedades cardiovasculares. El reglamento europeo también permite que los aceites de oliva virgen extra con un contenido mínimo de 5 mg de hidroxitirosol y sus derivados (por ejemplo, un complejo de oleuropeína o tirosol) por 20 g de aceite de oliva lleven la etiqueta de: “*Los polifenoles del aceite de oliva contribuyen a la protección de los lípidos de la sangre al estrés oxidativo*” (UE resolución No 432/2012; Castelli, *et al.*, 2018; Negro, *et al.*, 2019).

Importancia del trabajo

En Argentina, y particularmente en La Rioja, existen pocos datos disponibles sobre el contenido de fenoles en el aceite de oliva virgen extra comercial, a pesar de los efectos biológicos relevantes que presenta. El estudio de los parámetros referidos podría contribuir a posteriores estudios tendientes a lograr la denominación de origen protegida del aceite de oliva extra producido en el Valle Antinaco-Los Colorados.

En este trabajo se estudiaron algunos parámetros de los compuestos mayoritarios y minoritarios de dos variedades de aceites, Arbequina y Coratina, producidos en la zona del Valle Antinaco-Los Colorados (Departamento Chilecito, provincia de La Rioja). Los resultados permitirán comparar en términos de calidad, valor nutricional y potencial antioxidante las dos variedades de aceites propuestas.

Hipótesis y Objetivos



Hipótesis

De acuerdo a los antecedentes anteriormente expuestos, el presente estudio postula que aceites de oliva virgen de distintas variedades y zonas geográficas manifestarán diferencias en parámetros de calidad y actividad biológica.

Objetivo General

Evaluar parámetros de calidad referidos a los compuestos mayoritarios y minoritarios de dos variedades de aceite de oliva producidas en el Valle Antinaco-Los Colorados, con la finalidad de poder comparar los mismos en términos de calidad, valor nutricional y actividad biológica.

Objetivos específicos

- Determinar la acidez libre, el índice de peróxidos, la absorción al ultravioleta, perfil de ácidos grasos, contenido de fenoles, flavonoides, pigmentos presentes en los aceites, y potencial antioxidante, correlacionándolo con las diferentes variedades de olivo propuestas.
- Establecer correlaciones entre la composición de compuestos mayoritarios y minoritarios entre las variedades de olivos seleccionadas y su región de cultivo, comparándolas con otras zonas de cultivo.

Materiales y métodos



Descripción de la zona de estudio

El presente proyecto se realizó con muestras de aceite de oliva procedentes de la zona del Valle Antinaco-Los Colorados, en el Departamento Chilecito, provincia argentina de La Rioja. El Valle Antinaco-Los Colorados es una extensa y elongada franja, ubicada entre los cordones montañosos del Velazco y Famatina. Se extiende desde los 30° hasta los 28° 20' de latitud sur (Díaz, 1989). Según la clasificación dada por Köppen (BSh), el clima predominante es el seco semiárido con un corto invierno en junio-julio, una temperatura media anual de 18° C y 185 mm anuales de precipitaciones, concentradas entre noviembre y marzo. Las sierras de Velazco y de Famatina forman un corredor que influye en la dirección de los vientos, que por lo general proceden del sur y corren con intensidad, registrándose también, en invierno y primavera, el Zonda procedente del oeste. (Díaz, 1989; Rojas, *et al.*, 2014). El ambiente presenta marcadas pendientes, débil estructura de los suelos, torrencialidad de las lluvias, escasa cobertura y congelamiento del suelo, esto determina que numerosas áreas se vean afectadas por el proceso de desertificación (Tomasini, 2002). Los suelos son esqueléticos, arenosos de grano fino, surcados por cauces de ríos secos. Se observa gran presencia de Jume, lo que indica suelos salitrosos (de Alba, 1979; Rojas, *et al.*, 2014) y la cobertura herbácea es pobre.

En el Valle existen distintos emprendimientos agrícolas, aprovechando los recursos hídricos brindados por los deshielos del cordón del Famatina, entre los que se pueden destacar viñedos, olivares y, en menor medida, nogales. Los muestreos de aceites se realizaron en cuatro emprendimientos agrícolas ubicados en el centro-sur del Valle Antinaco-Los Colorados, estos son: “Finca V” (29° 24' 24''S y 67° 30' 53'' O) 923 msnm, “Finca A” (29° 32' 5''S y 67° 28' 36''O) 823 msnm, “Finca G” (29° 34' 46''S y 67° 26' 37''O) 799 msnm y “Finca U (29° 02' 31''S y 67° 26' 00'' O) 1040 msnm (**Figuras 9, 10 y 11**).

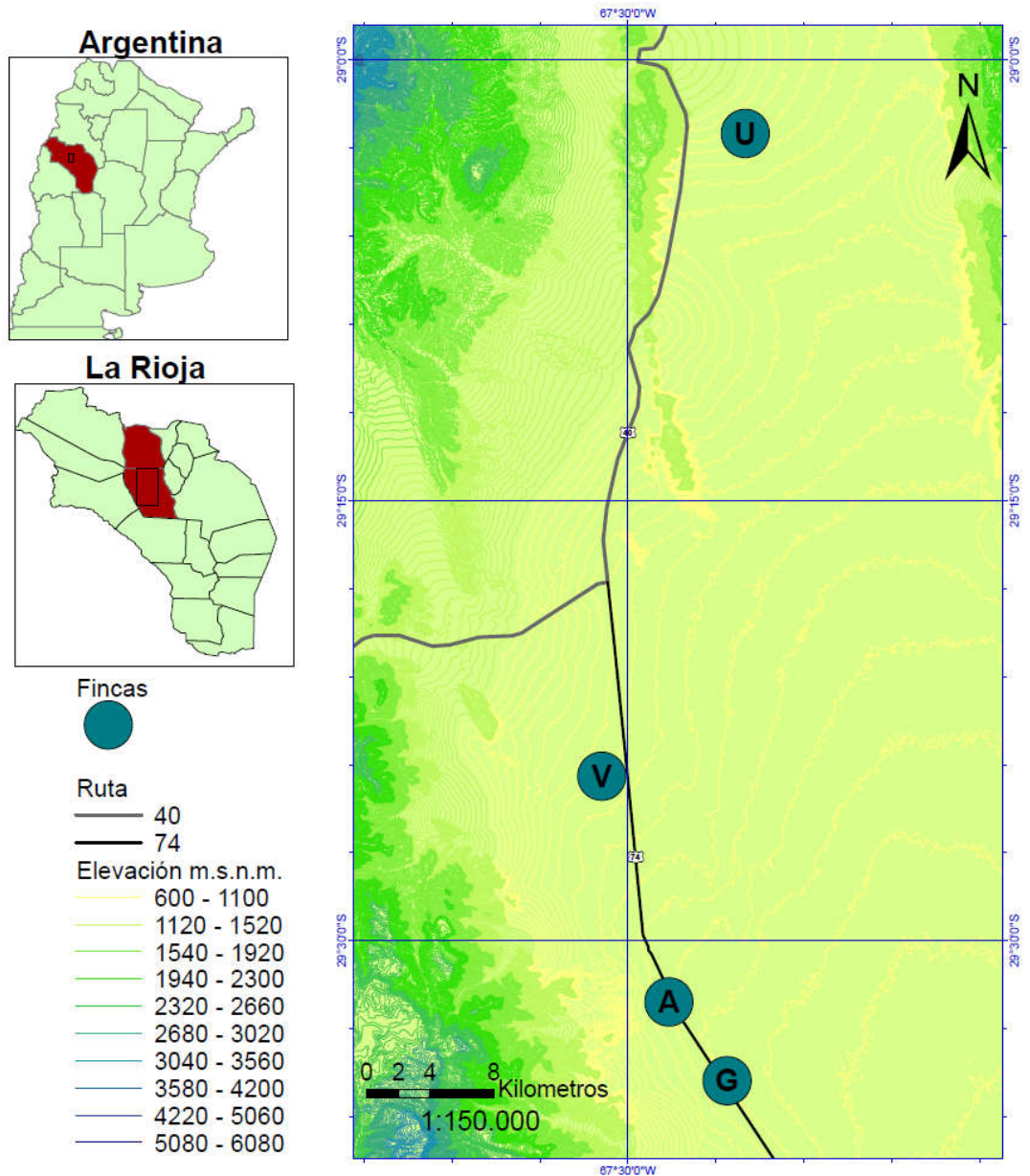


Figura 9. Localización de las cuatro fincas- aceiteras muestreadas.

Estos emprendimientos cuentan con Buenas Prácticas Agrícolas (BPA), por lo tanto será posible “rastrear” la procedencia de las distintas variedades de aceitunas con respecto a la parcela de su producción. Las variedades de aceite analizadas fueron Arbequina (muestreos de las fincas V, U, G) y Coratina (muestreos de las fincas V, A, G).



Figura 10. Finca U



Figura 11. Finca A

Se separaron, de la cosecha 2018, seis alícuotas de 250 mL cada una, en frascos color caramelo para protegerlos de la luz, evitando la fotooxidación y eliminando la cámara de aire de la parte superior para evitar la posible oxidación del aceite, dichos frascos fueron conservados en ambiente oscuro.

Análisis químico

Los análisis químicos llevados a cabo se dividieron en análisis de calidad, análisis de pureza, compuestos minoritarios y actividad antioxidante de los aceites.

Calidad

Acidez libre

Se expresa como porcentaje de ácido oleico (por ser el ácido mayoritario en un aceite de oliva). La alta acidez es un parámetro anómalo del aceite y puede estar originado en el mal estado del fruto o en la mala conservación de los mismos.

La acidez libre de un aceite de oliva es uno de los parámetros, junto con el índice de peróxidos y el coeficiente de extinción específica, que permite su clasificación comercial: Aceite de oliva virgen extra, 0,8 g cada 100 g de aceite; Aceite de oliva virgen, 2 g cada 100 g de aceite; Aceite de oliva virgen corriente, 3,3 g cada 100 g de aceite, y Aceite de oliva lampante, superior a 3,3 g de ácido oleico cada 100 g de aceite. Estos son los valores máximos

aceptables (Código alimentario Argentino, CAA; Consejo Oleícola internacional, COI).

Para llevar a cabo el método estandarizado (COI/T.20/Doc. No 34/Rev. 1. 2017), se colocó en un erlenmeyer entre 4 y 6 g de aceite (masa conocida), se disolvió con 50 mL de solución al 50 % v/v de etanol-éter etílico, se neutralizó la mezcla de solventes con solución de hidróxido de sodio 0,1 M (estandarizada con ftalato ácido de potasio 0,08 M) en presencia de fenolftaleína. Posteriormente, se tituló la acidez del aceite con la misma solución de hidróxido hasta aparición de coloración rosada tenue. La expresión matemática utilizada para calcular la acidez fue:

$$A = \frac{V \cdot M \cdot 282\text{g/mol}}{P} \times 100$$

Siendo:

A: Grado de acidez expresado en porcentaje de ácido oleico

V: Volumen consumido de hidróxido de sodio en la valoración (mL).

M: Molaridad del hidróxido de sodio (0,1 M= 0,1 mol.L⁻¹)

P: Peso en gramos de aceite valorado (g).

282g/mol= masa /mol del ácido oleico

Índice de peróxidos

Los peróxidos se originan cuando la aceituna ha sido maltratada o si el aceite no se ha protegido de la luz y el sol (**Figura 12**). Por lo tanto, a mayor índice de peróxidos menor capacidad antioxidante del aceite, por el deterioro que pudieron haber experimentado componente de interés nutricional, como la vitamina E.

La medida del índice de peróxidos se basa en determinar la cantidad (meq de O₂ activo.kg⁻¹ de aceite) de peróxidos presentes en las muestras que ocasionan la oxidación del yoduro de potasio en las condiciones de trabajo. Se considera un valor máximo de 20 meq de O₂ activo. kg⁻¹ de aceite para los aceites vírgenes (COI- 15. NC N° 3- Rev. 15. 2019).

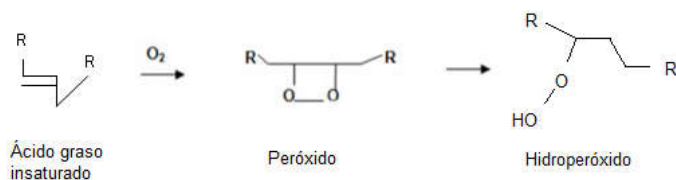
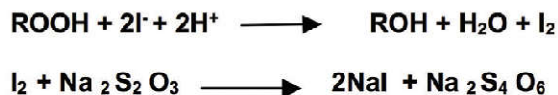


Figura 12. Reacción que refleja el proceso de oxidación de un aceite.

Se pesaron entre 1,8 y 2,2 g de aceite, colocándolo en un erlenmeyer con tapón esmerilado, se añadieron 25 mL de solución ácido acético-cloroformo (relación 3/2) y 1 mL de solución saturada de yoduro de potasio (preparado, en el momento de uso, con 13,7 g de yoduro en 10 mL de agua). Se agitó suavemente y se dejó reposar en oscuridad durante 5 min. Transcurrido este lapso, se agregó 75 mL de agua destilada y 10 gotas de solución de almidón soluble al 0,5 % p/v. Agitándose enérgicamente y valorándose con solución de tiosulfato de sodio 0,002 N (estandarizada con solución 0,1 de yodato de potasio) hasta desaparición del color pardo inicial. La siguiente reacción química responde al proceso descrito:



La fórmula matemática utilizada para el cálculo del índice de peróxidos fue:

$$\text{IP} = \frac{\text{V.N.1000}}{\text{P}}$$

Siendo:

IP: Índice de peróxidos expresados en $\text{meqO}_2 \cdot \text{kg}^{-1}$ de aceite

V: Volumen gastado de tiosulfato de sodio 0.002 N en la valoración (L)

N: Normalidad del tiosulfato de sodio ($\text{N} = \text{eq} \cdot \text{L}^{-1}$)

P: Peso de la muestra (kg)

Coeficientes de extinción específica: dienos (K_{232}) y trienos (K_{270}) conjugados

Los múltiples enlaces de los ácidos grasos poliinsaturados pueden sufrir oxidaciones autocatalíticas originando hidroperóxidos con dobles y triples enlaces conjugados. Estos compuestos originan compuestos carbonílicos. Los primeros compuestos absorben ondas de 232 nm (K_{232}) de longitud y los segundos, a 270 nm (K_{270}). La información que proporcionan estos ensayos permite conocer la calidad del aceite, su estado de conservación y posibles modificaciones en los procesos tecnológicos de obtención del aceite (Fuentes de Mendoza, 2013).

Para el cálculo de la absorbancia, se realiza la lectura espectrofotométrica a una longitud de onda de 232 nm (K_{232}) y 270 nm (K_{270}). La información recogida a partir de este ensayo completa la obtenida en la determinación del índice de peróxidos. Para la determinación, se siguieron las normas COI/T.20/Doc. No 19/Rev. 5 2019. En distintos matraces aforados de 10 mL se colocaron, entre 20 y 30 mg de aceite para K_{232} y 200 - 300 mg para determinar K_{270} . Se procedió a enrasar con ciclohexano y medir la absorbancia con espectrofotómetro Agilent, modelo 8453 (**Figura 13**). Se repitieron aquellas muestras cuyas absorbancias no estuvieron comprendidas entre 0,1 y 0,8. Los valores de las absorbancias se expresaron como coeficientes de extinción específica a 232 y 270 nm, calculándose de la siguiente forma:

$$K\lambda = \frac{E\lambda}{CE}$$

Donde:

$K\lambda$ es la extinción específica a la longitud de onda utilizada;

$E\lambda$ es la absorbancia medida a la longitud de onda utilizada;

C es la concentración de la disolución de aceite en g por 100 mL;

E es el espesor (paso óptico) de la cubeta en cm.



Figura 13. Espectrofotómetro Agilent, modelo 8453

Pureza

Perfil de ácidos grasos

La autenticidad de un aceite se puede determinar a partir de los ácidos grasos que posee (Essiari, *et al.*, 2014). El componente mayoritario es el ácido oleico, seguido en menor proporción por linoleico y palmítico.

Los ácidos grasos presentes en el aceite se analizaron por medio de un cromatógrafo de gases-FID (Perkin Elmer Precisely Clarus 600) (**Figura 14 B**), Previamente se realizó la esterificación de los mismos, en una solución metanólica de hidróxido de potasio, descrita por Ollivier, *et al.*, 2014 y Essiari,*et al.*, 2014, con algunas modificaciones.

Para la obtención de los ésteres metílicos, primero se realizó la saponificación colocándose 0,5 g de aceite en matraz y se incorporó 5 mL de solución metanólica de hidróxido de potasio 0,5 N. Se calentó a reflujo durante 5 min, y al cabo de ese tiempo se agregaron 15 mL de cloruro de amonio en ácido sulfúrico 1 N, calentándose 5 minutos más. Al enfriarse el sistema se lavó, con tres porciones de 20 mL, de hexano. La fracción orgánica se recogió sobre cantidad suficiente de sulfato de sodio anhidro. Se filtró (papel Whatman N° 1) y evaporó en rotavapor a 0,02 mP de presión y 50 °C de temperatura (**Figura 14 A**). Para el análisis de los ésteres metílicos, se utilizó una columna capilar de sílice fundida Supelcowax (30 m de longitud, 0,25 mm de diámetro interno y 0.25 μm de espesor de fase). El gas portador fue N_2 a 1 mL. min^{-1} ; la

temperatura del horno fue programada desde 180° C hasta 220°C aumentando 2° C. min⁻¹; y la temperatura del detector FID fue de 250°C. La identificación se realizó comparando su retención con los compuestos de referencia (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.). Los porcentajes de cada ácido graso se estimaron en base al área del pico.

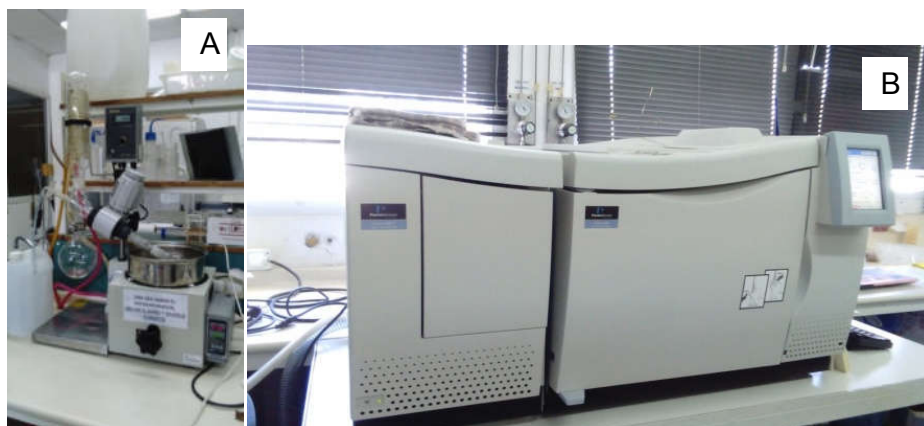


Figura 14. Perfil de ácidos grasos (proceso de reconocimiento): A- Evaporación del ciclohexano en el rotavapor. B- Cromatógrafo de gases Perkin Elmer Precisely Clarus 600.

Compuestos minoritarios

Presencia de esteroides

Se colocó en tubos de ensayo una masa conocida de aceite a la que se le agregó 2 mL de cloroformo. Se homogeneizó. Esta disolución se mezcló con ácido sulfúrico concentrado. La aparición de un anillo marrón rojizo en la interfase indicó la presencia de triterpenos/esteroides (Reacción de Salkowski) (Adegboye, *et al.*, 2008).

Compuestos fenólicos

Para la determinación de fenoles totales se llevó a cabo el ensayo de Folin- Ciocalteu, usando ácido gálico como patrón (Singleton, *et al.*, 1999; Antolovich, *et al.*, 2001). Este ensayo se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin- Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una

coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a una longitud de onda de 765 nm. Este reactivo contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. El ácido fosfomolibdotúngstico (formado por las dos sales en el medio ácido), de color amarillo da lugar a un complejo de color azul intenso, cuando es reducido por los grupos hidroxilos, cuya intensidad es la que se mide para evaluar el contenido en fenoles. El proceso se puede representar de acuerdo a la siguiente reacción:

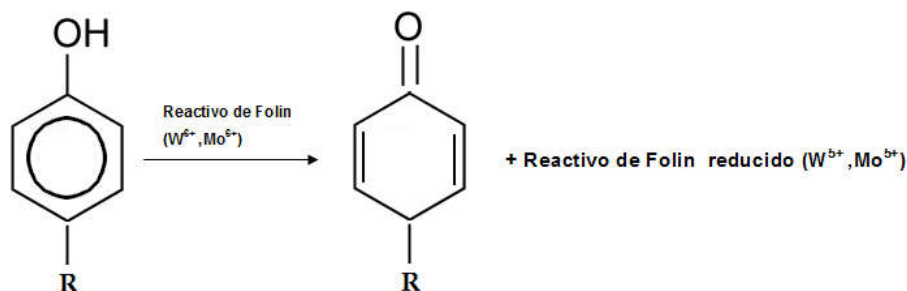


Figura 15. Reacción general que representa la oxidación de los fenoles por el Reactivo de Folin-Ciocalteu.

Para la extracción de los compuestos fenólicos, se pesaron entre 4 y 5 g de aceite, se diluyeron con 4 mL de solución metanol- agua (80:20), procediéndose luego a agitar, con agitador Vortex Velp científica Mixer a 3000 rpm, durante 3 min, intercalados con dos intervalos de reposo de 1 min. Transcurrido este proceso, se centrifugó a 5000 rpm durante 5 min.

Del sobrenadante se extrajeron distintas alícuotas (entre 13 μ L y 100 μ L) de acuerdo a variedad y finca analizada, para que la absorbancia esté contemplada entre 0,1 y 0,8. A estas alícuotas se las diluyeron con agua completando un volumen de 1 mL, se agregó 0,1mL de reactivo de Folin-Ciocalteu 2N, dejándose incubar durante 2 min. Posteriormente se alcalinizó el medio con 0,4 mL de solución de carbonato de sodio 15,9% p/v. Transcurridos 20 min de incubación, se procedió a realizar las lecturas en espectrofotómetro (Agilent, modelo 8453 a 765 nm). Las determinaciones se realizaron por triplicado. Se realizó una curva patrón con ácido gálico y el contenido de fenoles de las muestras se calculó de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$x (\mu\text{g EAG /ml})= Ab - 0,0369/0,0802$$

Posteriormente se ajustó este valor a la masa de aceite utilizada por variedad y finca. Los resultados se expresaron como mg de equivalentes de ácido gálico (EAG). kg^{-1} de aceite.

Flavonoides

El contenido total de flavonoides de las muestras de aceite se determinó siguiendo los estudios de Popova, *et al.*, 2004, usando cloruro de aluminio. Se tomaron 500 μL del sobrenadante utilizado para la determinación de polifenoles, se agregaron 500 μL de solución al 2% p/v en etanol de cloruro de aluminio incubándose durante 1 h. Las lecturas se realizaron en el espectrofotómetro (Agilent, modelo 8453), a una longitud de onda de 437 nm contra un blanco de metanol. Se realizó una curva patrón con quercetina. Los resultados se expresaron como mg de equivalentes de quercetina/kg de aceite. La ecuación que se aplicó surgió de la curva de calibración:

$$x (\mu\text{g/mL quercetina})= \text{Abs.}+0,105/0,065$$

Luego se ajustó a las masas de aceite utilizadas en cada determinación.

Pigmentos. Estimación de carotenoides y clorofilas

Para la cuantificación global de pigmentos (carotenoides y clorofilas) se preparó una disolución de 7-8 g aceite de oliva con 25 mL de ciclohexano. Posteriormente, para conocer la fracción clorofílica se realizó una lectura espectrofotométrica a 470 nm (máxima absorción para la feofitina a, componente mayoritario de la fracción clorofílica) y otra lectura a 670 nm para la fracción carotenoide que corresponde a la luteína, componente mayoritario de esta fracción (Motilva, *et al.*, 1998). Las expresiones matemáticas utilizadas para la cuantificación de las clorofilas y carotenoides fueron:

$$\text{Carotenoides 670: } \frac{\text{abs. } 250.1000}{2000.P}$$

$$\text{Clorofila 470: } \frac{\text{abs} \cdot 250.1000}{613.P}$$

P: peso de la muestra de aceite

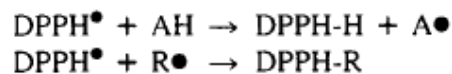
613: coeficiente de extinción específica de la feofitina-a

2.000: coeficiente de extinción específica de la luteína

Abs: absorbancia leída con el espectrofotómetro.

Potencial antioxidante de las muestras. Método DPPH (1,1-difenil-2- picrilhidrazil)

Los mecanismos de oxidación son complejos, por este motivo existen distintos métodos para medir dicho poder. En el presente trabajo se utilizó el método del 1,1-difenil- picrilidracil (DPPH). La actividad de captación de radicales DPPH se midió como se describe en Farasat, *et al.*, (2013) con pequeñas modificaciones (Barbieri, *et al.*, 2016). Se determinó la capacidad antioxidante (habilidad de atrapar radicales de DPPH) de las distintas variedades de aceite estudiadas, midiendo la disminución de la absorbancia a 525 nm, en lector de microplaca. El método consiste en evaluar la actividad antioxidante de compuestos o extractos específicos, éstos reaccionan con el radical estable, 2,2-difenil picrylhydrazyl (DPPH•) en una solución de etanol. La reducción de DPPH• se comprueba por la disminución de la absorbancia a la longitud de onda determinada. En su forma radical, DPPH• absorbe entre 515-525 nm, al reducirse con un antioxidante (AH) o una especie radical (R•), la absorción desaparece (**Figura 16**):



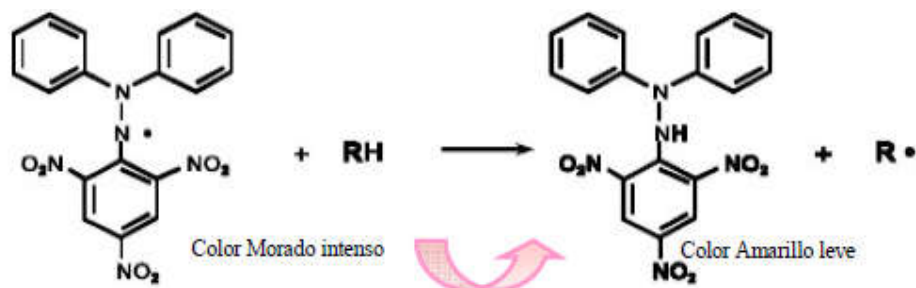


Figura 16. Reacciones que representan la captación de los radicales de DPPH.

La solución etanólica del reactivo de 1,1-difenil-2- picrilhidrazil utilizada contenía una concentración de 300 μM . Se realizaron distintas diluciones, con etanol 96°, del sobrenadante de las muestras (extracción con metanol de los aceites) y se enfrentaron al radical DPPH•. Según el siguiente esquema:

Extracto de aceite (μL)	Etanol 96° (μL)	DPPH (μL)	Incubación a temperatura ambiente
-----	105	95	20 min
10	95	95	
25	80	95	
50	55	95	
75	30	95	
100	5	95	

Se leyeron las absorbancias en lector de microplaca (Thermo scientific, modelo multiskango, **Figura 17**), a 525 nm. Como controles positivos se emplearon butilhidroxitolueno (BHT), quercetina y ácido ascórbico. El porcentaje de actividad antioxidante de las muestras se calculó en comparación con la absorbancia de la solución de DPPH•

$$\% \text{ Actividad Residual} = \text{Abs. Muestra} * 100 / \text{Abs. DPPH}$$

$$\% \text{ Actividad Antioxidante} = 100 - \% \text{ Actividad Residual}$$

Con los datos de actividad antioxidante (porcentajes) vs la concentración de las muestras se construyeron curvas. En base a la ecuación de la curva se

calculó la concentración depuradora 50 (CD50), concentración de la muestra que elimina o atrapa el 50% de los radicales DPPH.



Figura 17. Lector de microplaca

Análisis estadístico

Los análisis fueron efectuados por triplicado a excepción del perfil de ácidos grasos que se realizó por duplicado. Los resultados se presentan a través de tablas y gráficos, en los que se resumen los valores promedios con su correspondiente desvío estándar. Para cada uno de los parámetros analizados se realizó un análisis de la varianza (ANAVA) de dos factores (variedad, finca), utilizando MINITAB software (version 15 for Windows, SPSS Inc., Chicago, IL). Para determinar entre qué variedades y emprendimientos agrícolas existen diferencias significativas se utilizó el test de Tukey. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas cuando la probabilidad fue mayor al 95% ($p \leq 0.05$). Para la determinación de la correlación y regresión lineal entre la CD50% y el contenido de fenoles, flavonoides, pigmentos y ácido oleico, se utilizó la base informática InfoStat software (versión 2017, InfoStat FCA Group, UNC, Argentina). Se consideró correlación y regresión significativa cuando la probabilidad fue mayor al 95% ($p \leq 0.05$)

Resultados y *Discusión*



Parámetros de calidad

Desde el punto de vista químico, las alteraciones que puede sufrir un aceite se pueden clasificar en dos grupos; los procesos hidrolíticos, que afectan el grado de acidez y los oxidativos que se verán reflejados en un aumento del índice de peróxidos y en el coeficiente de extinción específica (K_{232} , K_{270}) (Ruiz Domínguez, 2015). Estos parámetros permiten evaluar la calidad del aceite de oliva y no son afectados por la variedad de aceituna ni por el origen geográfico de las mismas, pero sí por el manejo y proceso tecnológico de obtención del aceite (El-Gharbi, *et al*, 2018).

Debido a que se trabajó con muestras comerciales, se realizaron estos ensayos para determinar la calidad de las muestras de partida. En la tabla 1 se presentan los resultados asociados a la calidad química de los aceites de oliva estudiados.

Todas las muestras evaluadas presentaron valores de acidez libre inferiores a 0.8%, cumpliendo con lo establecido por la norma COI para la categoría virgen extra (**tabla 1**).

En cuanto al índice de peróxidos ($\text{meq O}_2 \cdot \text{kg}^{-1}$ de aceite) los aceites de la finca G (tanto Arbequina como Coratina) presentaron valores de IP superiores a los permitidos por la norma (**tabla 1**). Las demás muestras de aceite evaluadas (fincas V, U y A) cumplieron con los requerimientos de IP establecidos por la Norma Comercial aplicable a los aceites de oliva (COI).

Los valores obtenidos para la prueba espectrofotométrica en el UV (K_{232}), fueron más bajos para la variedad Coratina comparados con la variedad Arbequina (**tabla 1**). De los tres aceites de la variedad Arbequina estudiados, se encontraron valores de K_{232} similares y dentro del rango permitido para las fincas U y V. Mientras que la muestra de la finca G presentó valores de K_{232} significativamente mayores a todas las muestras evaluadas y fuera del límite aceptado (**tabla 1**). Al realizar la comparación de los valores de K_{232} entre las fincas para la variedad Coratina se encontró que los aceites de V y A cumplen

Tabla 1. Comparación entre los parámetros de calidad de las dos variedades de aceite y fincas estudiadas. Los valores son los promedios \pm DS.

Variedad	Finca	Índice de acidez (%)	Índice de Peróxidos (meqO ₂ .kg ⁻¹ aceite)	Coefficiente de extinción específica: dienos (K ₂₃₂) conjugados	Coefficientes de extinción específica: trienos(K ₂₇₀) conjugados
Arbequina	V	0,40 \pm 0,04 b	10,32 \pm 1,38 ab	2,20 \pm 0,12 b	0,13 \pm 0,02 a
	U	0,26 \pm 0,03a	11,56 \pm 0,39ab	2,17 \pm 0,28 b	0,12 \pm 0,03 a
	G	0,33 \pm 0,01ab	32,03 \pm 0,88d	6,12 \pm 0,83 d	0,38 \pm 0,07 b
	Promedios	0,33	17,97	3,5	0,21
Coratina	V	0,41 \pm 0,04 b	9,21 \pm 1,23a	1,10 \pm 0,25 a	0,17 \pm 0,04a
	A	0,25 \pm 0,03 a	12,97 \pm 0,78 b	1,41 \pm 0,11 a	0,15 \pm 0,03a
	G	0,31 \pm 0,04a	22,89 \pm 2,34c	2,71 \pm 0,24 c	0,12 \pm 0,03a
	Promedios	0,32	15,02	1,61	0,15
Valores de referencia (COI/T.15/NC No 3/Rev. 15 2019)	Virgen extra	\leq 0,8	\leq 20	\leq 2,50	\leq 0,22

Letras diferentes indican diferencias significativas entre las muestras de aceite evaluadas ($p \leq 0,05$).

con lo establecido por la norma. La muestra de aceite de la finca G presentó valores de K_{232} significativamente diferentes a los de V y A y superiores a los permitidos.

Al analizar los valores de K_{270} por finca se encontró que la variedad Arbequina de la finca G presentó valores significativamente más altos y superó el valor de referencia (**tabla 1**). Para la variedad Coratina las tres fincas presentaron valores de K_{270} similares y dentro del rango permitido (**tabla 1**).

Los parámetros evaluados proporcionan información sobre la calidad de una grasa, su estado de conservación y los cambios que pudieron ocasionar los procesos tecnológicos, fundamentalmente el amasado.

La estabilidad oxidativa, está asociada a la acidez que presenta el aceite de oliva. Existen varios factores que ocasionan el aumento de los ácidos grasos libres, como: el retraso de la época de recolección de la aceituna, anomalías en el proceso de elaboración del aceite y sobre todo un inadecuado almacenamiento del fruto antes de su molturación (Oliveras López, 2005; Gharbi, *et al*, 2015). Además, estas situaciones dan lugar a la formación de aldehídos, cetonas o hidrocarburos, compuestos responsables del mal sabor y mal olor (enranciamiento) (Pastrana Moncayo, 2016). De acuerdo a los valores de acidez libre encontrados, tanto para los aceites de Arbequina como los de Coratina, se podría asumir que los productores locales realizan un manejo adecuado del cultivo durante la cosecha y un rápido procesamiento de los frutos.

Entre los procesos de elaboración del aceite, la molienda y el amasado constituyen pasos críticos, ya que la pasta está en contacto con el oxígeno del aire y por lo tanto es susceptible a la oxidación. Además, durante la molienda, parte de la energía cinética de las trituradoras se transforma en energía térmica, aumentando la temperatura de la masa (DiGiovacchino, *et al*, 2002). Cuando el tiempo de molienda y amasado son excesivos influyen negativamente en los valores de IP y de K_{232} (Gharbi, *et al*, 2015; Gallardo González, 2015; Ruiz Domínguez, 2015). Las condiciones del almacenamiento

constituyen otro factor que puede influir en la estabilidad oxidativa del aceite. El proceso de deterioro se ve favorecido por la luz, el aire y las altas temperaturas, lo cual puede desencadenar reacciones de oxidación e hidrólisis (Ruiz Domínguez, 2015).

Las muestras de la finca G son las únicas que presentaron valores de IP y K_{232} superiores al límite establecido por el COI, lo que implica que estos aceites están sufriendo un proceso de oxidación. Lo cual podría deberse a un inadecuado almacenamiento, y/o excesivo tiempo de molienda y amasado. Al comparar las dos variedades de aceite de la finca G, se encontraron valores de IP y de extinción específicos significativamente menores para Coratina. Estas diferencias serían atribuidas a la variedad ya que se empleó el mismo proceso tecnológico para obtener los aceites.

Los aceites de la finca G están etiquetados como virgen extra por la empresa pero de acuerdo a resultados de laboratorio del presente trabajo, no cumplen con lo establecido por la norma para esta calidad de aceite. Los demás aceites estudiados (fincas V, U y A) presentaron valores de índice de acidez, índice de peróxido y coeficientes de extinción (K_{232} y K_{270}) de acuerdo a lo establecido por la norma COI, por lo que pertenecerían a la categoría virgen extra.

Criterios de pureza

La autenticidad de un aceite de oliva se evalúa a partir del análisis de una serie de componentes químicos que tienen dos orígenes diferentes, los que se forman naturalmente o aquellos que sufren transformaciones durante el proceso de obtención o en la refinación del aceite.

Los aceites se pueden analizar a través de dos fracciones, la mayoritaria (98%) o saponificable, los componentes principales de esta fracción son ésteres de triacilglicéridos, ácido oleico (55-83%), ácido palmítico (7,5–20%), ácido linoleico (3,5–21%) y otros ácidos grasos como el ácido esteárico (0,5–5%). En la fracción minoritaria o insaponificable se encuentran esteroides,

hidrocarburos, carotenoides, clorofilas, fenoles y tocoferoles (Fuentes de Mendoza, 2013).

Perfil de ácidos grasos

El perfil de ácidos grasos del aceite de oliva se ve influenciado por múltiples factores como la latitud, clima, variedad, grado de madurez, suelo, estado de maduración del fruto. Por lo tanto, las concentraciones pueden variar de un año a otro y a la zona de producción (Tous, *et al.*, 1997; Gallardo González, 2015).

En la **tabla 2** se muestra el perfil de ácidos grasos en las muestras analizadas. Se presentan los cinco ácidos grasos mayoritarios, existiendo otros en menor proporción (mirístico-C14:0, palmitoléico-C16:1, heptadecanoico-C17:0, heptadecenoico-C17:1, aráquico-C20:0, behénico-C22:0 y lignocérico-C24:0) (Ruiz Domínguez, 2015)

Los resultados muestran que las dos variedades de aceite presentaron niveles de palmítico, estearico, oleico, linoleico, linolénico dentro de los valores de referencia. Sin embargo, la variedad Coratina presentó mayor contenido de oleico que Arbequina, siendo esta diferencia significativa (**tabla 2**).

Para contar con mayores elementos de juicio en el momento de evaluar la calidad de los aceites de oliva vírgenes, especialmente haciendo referencia al aspecto nutritivo y terapéutico, se calculó el índice AGMI/AGPI (ácidos grasos monoinsaturados/ ácidos grasos polinsaturados). Esta relación fue significativamente mayor para la variedad Coratina frente a la Arbequina (**tabla 2**).

Tabla 2. Perfil de ácidos grasos para las dos variedades estudiadas. Los valores son los promedios \pm DS (n=6).

Variedad	Palmítico 16:0	Estearico 18:0	Oleico 18:1	Linoleico 18:2	Linolénico 18:3	AGMI/AGPI
Arbequina(%)	18,51 \pm 4,81	1,36 \pm 0,16	58,36 \pm 3,67 ^a	17,68 \pm 1,47	0,74 \pm 0,04	3,17 ^a
Coratina (%)	13,70 \pm 3,41	2,10 \pm 0,64	73,41 \pm 3,35 ^b	8,37 \pm 0,86	0,86 \pm 0,11	7,95 ^b
Valores de referencia (COI/T.15/NC No 3/Rev. 15 2019)	7,50 -20,00	0,50 - 5,00	55,00 - 83,00	2,50 - 21,00	\leq 1,00	

Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05)

Los resultados obtenidos por emprendimiento aceitero con los que se trabajó se presentan en la **tabla 3**.

Tabla 3. Perfil de ácidos grasos para las variedades Arbequina y Coratina, para cada finca de estudio (V, U, G, A). Los valores son los promedios (n= 2).

Arbequina						
Finca	Ácidos grasos (%)					AGMI/AGPI
	Palmítico 16:0	Estearico 18:0	Oleico 18:1	Linoleico 18:2	Linolénico 18:3	
V	18,87	1,22	56,86	19,03	0,75	1,46
U	15,96	1,33	61,09	17,59	0,71	3,34
G	20,69	1,53	57,12	16,42	0,75	3,33
Coratina						
Finca	Ácidos grasos (%)					AGMI/AGPI
	Palmítico 16:0	Estearico 18:0	Oleico 18:1	Linoleico 18:2	Linolénico 18:3	
V	11,50	1,58	75,86	8,62	0,84	8,02
A	11,69	1,80	75,00	9,17	0,95	7,41
G	17,9	2,90	69,35	7,31	0,77	8,57

Rondanini, *et al.*, (2011), evaluaron el perfil de ácidos grasos de los aceites de oliva de La Rioja y clasificaron a las variedades Arbequina y Arauco como aceites con bajo contenido de oleico (<55%), Barnea y Frantoio, con contenido medio (55-65%), y Manzanilla, Coratina y Picual con alto contenido (>65%).

El valor promedio de ácido oleico para la variedad Coratina fue de 73,41%, el cual es similar a lo reportado por Rondanini, *et al.*, (2011) considerando a esta variedad como de alto contenido de oleico. Otros autores estudiaron aceites de la variedad Coratina procedentes de San Juan, La Rioja y Catamarca, clasificándolos también como de alto contenido oleico (Ceci, *et al.*, 2010; De la Rosa, *et al.*, 2015; Ceci, *et al.*, 2017)

En cuanto a la variedad Arbequina, se encontraron mayores valores de ácido oleico que los reportados por Rondanini, *et al.*, (2011), por lo que el

aceite chilicense se clasificaría de contenido medio. Resultados similares a los de la presente investigación fueron encontrados por Ceci, *et al.*, (2017) para aceites producidos en la provincia de San Juan, y Ceci, *et al.*, (2010) para aceites de La Rioja. Además, Araniti, (2013) reportó que el aceite de la variedad Arbequina de Mendoza también pertenece a la categoría media de oleico.

Se ha reportado que los aceites obtenidos en zonas de montaña tienen características distintas que aquellos producidos en áreas de baja altitud y con temperaturas templadas (Tours, *et al.*, 1997; Essiari, *et al.*, 2012). En este sentido, Ceci, *et al.*, (2010) reportaron que aceites de la variedad Arbequina de la costa atlántica (provincias de Buenos Aires: 72,02% y Río Negro: 68,71%), presentaron valores de oleico más altos que los producidos en el noroeste de Argentina (1000 a 1500 msnm). En este caso, la variedad Arbequina pertenecería a la categoría de alto oleico. Por su parte Rondanini, *et al.*, (2014) evaluaron la acumulación de aceite durante la maduración del fruto de variedades cultivadas en el noroeste argentino (La Rioja) y demostraron que el contenido de ácido oleico en la variedad Arbequina disminuye a medida que aumenta la temperatura ambiente. Distinto es el comportamiento que encontraron para la variedad Coratina. En esta variedad, el contenido de oleico durante la maduración del fruto, parece no ser afectado por un aumento de temperatura y el fruto mantiene constante su nivel de oleico. Piravi- Vanak, *et al.*, (2012), trabajaron con veintisiete muestras de aceite de regiones de Irán con diferente altitud sobre el nivel del mar y distintas condiciones climáticas. Encontraron que las muestras procedentes de las regiones de baja altitud presentaron mayor porcentaje de ácido oleico, resultados similares a los reportados por Ceci, *et al.*, (2010). Todos estos trabajos demuestran cómo las condiciones edafoclimáticas influyen sobre el perfil de ácidos grasos de los aceites de oliva.

La FDA en 2009 determinó que se necesita una ingesta diaria mínima de 17,5 g de AGMI del aceite de oliva para ejercer un efecto positivo en la reducción de la enfermedad coronaria. Con un contenido de aceite de oliva

monoinsaturado tan alto como 74 por ciento, solo se necesitan 23 g de aceite de oliva (2 cucharadas) para suministrar los gramos requeridos de AGMI.

Los resultados del presente trabajo de investigación demuestran que los aceites de la variedad Coratina presentan una mayor relación AGMI/AGPI, que la variedad Arbequina. Esto implicaría mayor contenido de ácido graso monoinsaturado y mayor estabilidad oxidativa para los aceites de Coratina. Porque cuanto mayor sea el contenido de ácidos grasos poliinsaturados del aceite, más susceptible será este de sufrir reacciones de reducción-oxidación. La relación AGMI/AGPI es utilizada por varios autores para evaluar la estabilidad oxidativa del aceite (Fuentes de Mendoza, 2013; Mansouri, *et al.*, 2014; Cornejo, 2018; El-Gharbi, *et al.*, 2018).

Dado que el proceso tecnológico de obtención de los aceites y las condiciones edafoclimáticas del Valle son similares se puede concluir que las diferencias en el contenido de ácido oleico de los aceites se debe a la variedad. De acuerdo a estos resultados, la variedad Coratina es de alto contenido de oleico y su consumo presentaría un mayor potencial benéfico para la salud (reducción de enfermedades cardio-vasculares).

Presencia de esteroides

Los esteroides constituyen lípidos nutricionalmente importantes en los alimentos. El contenido y la composición de los esteroides en el aceite de oliva, depende de las condiciones agronómicas y climáticas, la calidad de la fruta, la extracción de aceite, variedad de aceite y los procedimientos de refinación y las condiciones de almacenamiento. Estos compuestos han sido reconocidos como sustancias biológicamente activas preventivas del cáncer (Cañabete, *et al.*, 2007).

Piravi-Vanak, *et al.*, (2012), sostienen que la fracción esteróica puede ser utilizada para detectar mezclas de aceite de oliva con otros aceites de diversas procedencias, como el de soja y girasol.

Luego de realizada la reacción de Salkowski para las distintas muestras de aceite, puede observarse la presencia de triterpenos y esteroides, en la **Figura 23 a y b** para Arbequina, y **Figura 24 a y b** para Coratina.

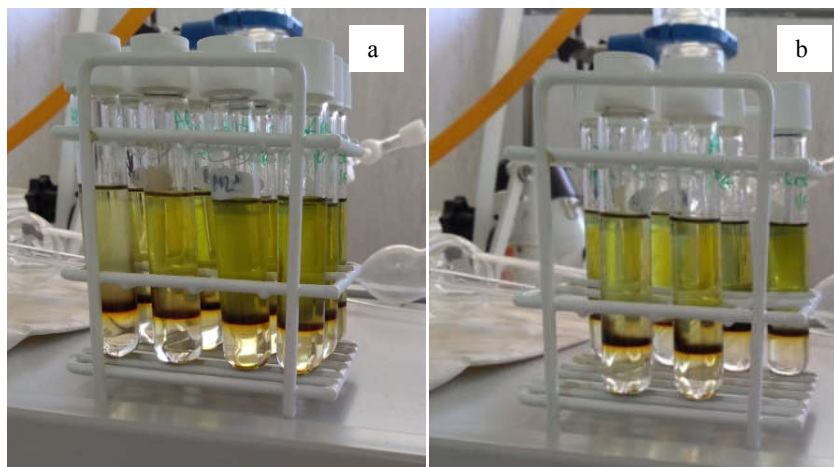


Figura 18. Esteroles Arbequina. a- Fincas V y U. b- Finca G

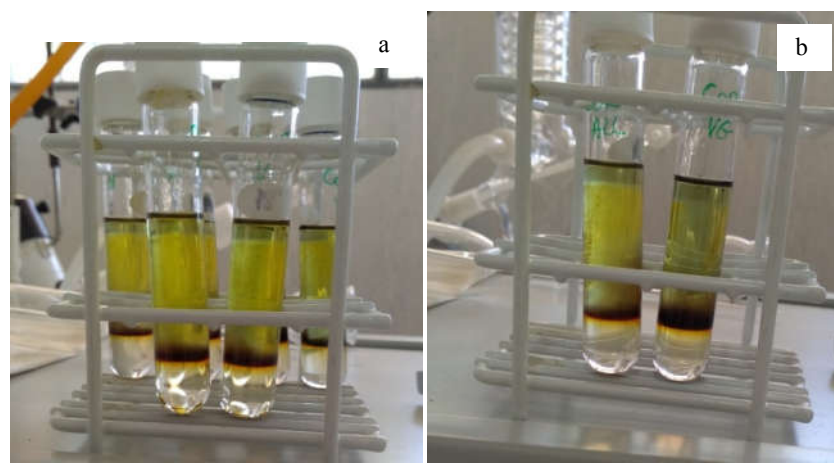


Figura 19. Esteroles Coratina. a- Finca V. b- Fincas A y G.

Compuestos minoritarios

Composición fenólica y flavonoides

En los últimos años se ha prestado especial atención a los compuestos fenólicos presentes en el aceite de oliva virgen y en el aceite de oliva virgen extra, como parámetros de calidad, debido a sus beneficios para la salud (COI/T.15/NC No 3/Rev. 15 2019; Gilbert-López, *et al.*, 2014).

En la **tabla 4** se detallan los valores registrados para el contenido de fenoles totales y flavonoides totales de los aceites estudiados. La variedad Arbequina presentó valores de fenoles significativamente menores que la Coratina. Mientras que no se encontraron diferencias significativas en el contenido de flavonoides totales entre las variedades estudiadas.

Tabla 4. Contenido de fenoles totales y flavonoides en aceite de oliva para las dos variedades de aceite analizadas. Los valores son los promedios \pm DS (n=9).

Variedad	Fenoles totales: mg de equivalentes de ácido gálico.kg⁻¹ de aceite	Flavonoides totales: mg de equivalentes de quercetina.kg⁻¹ aceite
Arbequina	130,73 \pm 24,27 ^a	2,94 \pm 0,78
Coratina	595,35 \pm 100,21 ^b	3,83 \pm 1,07

Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05)

Como se encontraron diferencias significativas en el contenido de fenoles, entre las variedades estudiadas, fueron comparados los aceites de los distintos emprendimientos. En el **gráfico 1** se muestra el contenido de fenoles (**A**) y flavonoides (**B**) hallados para las variedades Arbequina y Coratina en las distintas fincas muestreadas (V, U, G, A). El mayor contenido de fenoles se observó para el aceite de la variedad Coratina, finca A, seguido por el aceite de Coratina, finca G. Por último, la Coratina de V mostró valores de fenoles significativamente menores que los otros aceites de Coratina y similares a los aceites de la variedad Arbequina (V, U, G) (**gráfico 1 A**).

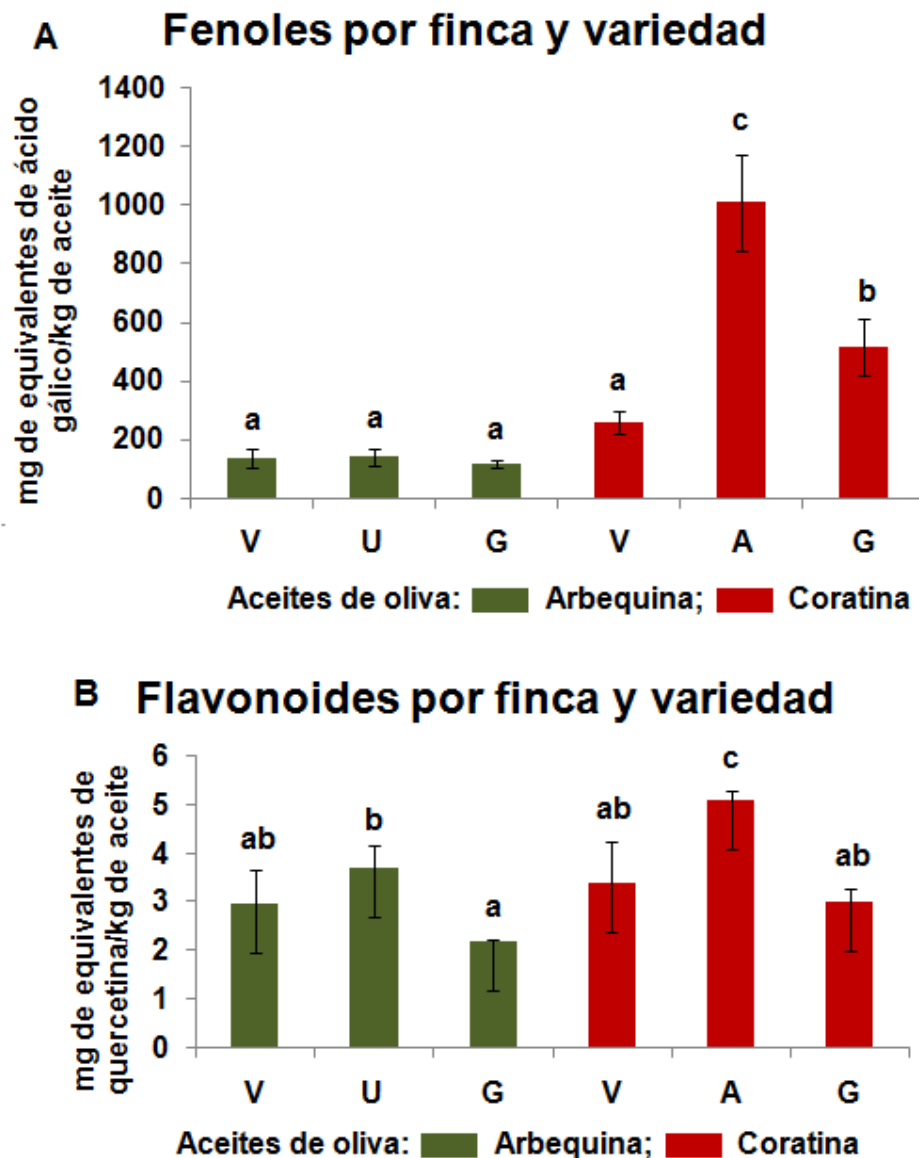


Gráfico 1. Determinación de fenoles totales (A) y flavonoides (B) en aceite de oliva variedad Arbequina y Coratina de las fincas muestreadas (V, U, G, A, G). Los valores son los promedios \pm DS (n=3). Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

El aceite que presentó valores más altos de flavonoides fue el de Coratina, finca A. Para los aceites de Arbequina, el de la finca U presentó valores significativamente mayores que los de V y G (**gráfico 1 B**). Estos valores están por debajo a los reportados por Monasterio, *et al.*, 2017, para la zona de Maipú, Mendoza. Estos autores sugieren que el contenido de

flavonoides de un aceite de oliva está condicionado por las condiciones climáticas de cultivo de las aceitunas.

Para aceites de oliva virgen españoles de la variedad Arbequina, se encontraron valores comprendidos entre 0,74 y 6,54 mg. kg⁻¹ de aceite (Carrasco- Pancorbo, 2006; Franco Baltazar, 2014). Nuestros resultados están por debajo de los obtenidos en Mendoza, influenciados por las condiciones climáticas.

La concentración de compuestos fenólicos en el aceite de oliva depende de las condiciones edafoclimáticas de la zona de producción, del manejo agronómico y de los aspectos tecnológicos referidos a la producción (Olivera López, 2005; El-Gharbi, *et al.*, 2018; Del Mónaco, *et al.*, 2015, Bodoira,*et al.*, 2016).

Ceci, *et al.*, (2017) proponen clasificar a los aceites de oliva en cinco categorías en cuanto a su contenido de fenoles. Contenido muy alto (>600 mg. kg⁻¹ de aceite), alto (450–600 mg. kg⁻¹ de aceite), medio (300–450 (mg. kg⁻¹ de aceite), bajo (150– 300 mg. kg⁻¹ de aceite) y muy bajo (<150 mg. kg⁻¹ de aceite). De acuerdo a esta clasificación, considerando los promedios, nuestra variedad Arbequina sería de muy bajo contenido de fenoles, y de alto contenido la variedad Coratina. Sin embargo, considerando los aceites de Coratina por finca, la clasificación sería: aceite de la finca A contenido muy alto en fenoles (> 600mg. kg⁻¹ aceite), la finca G medio (300–450mg. kg⁻¹ de aceite), y la finca V bajo (150–300mg. kg⁻¹ de aceite).

El contenido de fenoles en la variedad Arbequina fue similar al encontrado por Ceci, *et al.*, (2010), para la misma variedad, en la zona montañosa de La Rioja. No se encontraron reportes sobre los fenoles en aceites de la variedad Coratina procedentes de la zona de estudio de la presente investigación. De esta manera, este trabajo constituye el primer reporte del contenido de fenoles para la variedad Coratina de la región estudiada.

Al comparar los resultados de este trabajo con lo reportado para otras provincias, se puede afirmar que los aceites de las variedades Arbequina y Coratina procedentes de San Juan presentaron valores similares de fenoles a los riojanos (Ceci, *et al.*, 2017). Para aceites de la variedad Coratina procedentes de Mendoza, se reportaron valores de fenoles menores a los resultados obtenidos en esta investigación y correspondientes a la categoría media (Monasterio, *et al.*, 2017). Además, para los aceites de la variedad Arbequina procedentes de Catamarca, San Juan y Mendoza se reportaron valores de fenoles similares a las muestras analizadas para este trabajo y correspondientes a la categoría muy baja ($<150 \text{ mg. kg}^{-1}$ de aceite)(Torres, *et al.*, 2009; Cornejo 2018; Monasterio, *et al.*, 2017).

En otros trabajos se encontraron valores más altos de fenoles para los aceites de la variedad Arbequina producidos en Mendoza, y Córdoba (Valle de Traslasierra y Cruz del Eje) que corresponderían a la categoría baja ($150\text{--}300 \text{ mg. kg}^{-1}$ de aceite)(Torres, *et al.*, 2005; Torres, *et al.*, 2009; Araniti 2013).

Además, nuestros resultados coinciden con los documentados por Haddam, *et al.*, (2014) para aceites de oliva, de Arbequina, producidos en Marruecos (altura sobre el nivel del mar similar a la del Valle Antinaco-Los Colorados).

Como los emprendimientos agrícolas con los que hemos trabajado se encuentran próximos (radio de 40 km) consideramos que las condiciones climáticas serían similares. De acuerdo a lo expuesto, las diferencias en el contenido de fenoles de los aceites estudiados, se deberían a la variedad de aceite y al proceso tecnológico de cada finca.

La estabilidad oxidativa de un aceite depende principalmente de la composición de ácidos grasos, contenido total de fenoles, tocoferoles, carotenoides, y del proceso de conservación. Di Giovacchino *et al.*, (2002) González Castro (2011), Mansouri, *et al.*, (2014), determinaron que una operación de mezcla y batido excesivo (tiempo prolongado y temperatura superior a los 36°C), disminuye el contenido de fenoles en el aceite. Es por ello

que un proceso tecnológico inadecuado adquiere mayor importancia para variedades como Arbequina, caracterizada por contener menor concentración de oleico y fenoles y, por lo tanto, menor estabilidad oxidativa.

Los efectos positivos del consumo de aceite de oliva sobre la salud son bien conocidos (Samaniego Sánchez, 2006; Cicerale, *et al.*, 2010; Silva, *et al.*, 2015). Se ha reportado que el efecto cardioprotector asociado al consumo de aceite de oliva se debería al perfil de ácidos grasos y al contenido de fenoles del aceite (Silva, *et al.*, 2015). Además, los compuestos fenólicos del aceite de oliva contribuirían a paliar el estrés oxidativo (Samaniego Sánchez, 2006; Ferran Font, 2015). Se acepta que estos compuestos actúan como antioxidantes primarios o de tipo I, ya que promueven la inactivación de los radicales libres formados durante la iniciación o propagación de las reacciones de oxidación, a través de la donación de átomos de hidrógeno. El radical fenoxi resultante, estabilizado por resonancia, no tiene la capacidad de iniciar o propagar las reacciones oxidativas (**Figura 20**) (Maestri, *et al.*, 2006)



Figura 20. Reacción que representa la acción de inhibición de los fenoles sobre los oxidantes.

Se ha postulado que el cuerpo absorbe una porción significativa de los compuestos fenólicos del aceite de oliva que se consumen (40-95% de hidroxitirosol y tirosol). La alta biodisponibilidad de estos compuestos explicaría sus efectos beneficiosos sobre la salud. (Cicerale, *et al.*, 2010; Sánchez-Rodríguez, *et al.*, 2018).

Las diferencias en la concentración de compuestos fenólicos de un aceite implicarían efectos biológicos diferentes. Nuestros resultados sugieren que la variedad Coratina presentaría mejor potencial benéfico para la salud, ya que aportaría mayor contenido de fenoles y de ácidos grasos monoinsaturados.

Pigmentos

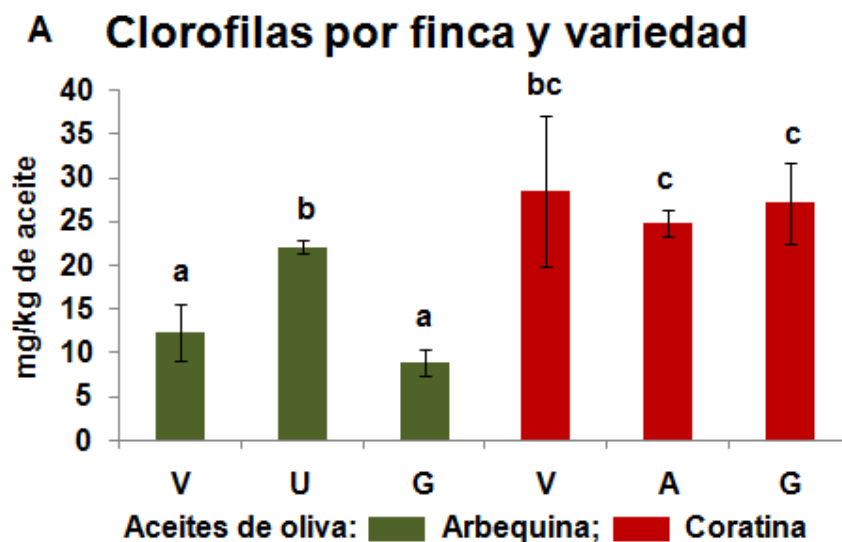
El color del aceite de oliva, que lo diferencia de otros aceites, se debe a una combinación entre las clorofilas y los carotenoides.

Tabla 5. Contenido de pigmentos en aceite de oliva para las dos variedades de aceite analizadas. Los valores son los promedios \pm DS (n=9).

	Pigmentos (mg.kg ⁻¹ de aceite)	
	Clorofilas	Carotenoides
Arbequina	14,37 \pm 6,22 ^a	7,17 \pm 2,23
Coratina	26,78 \pm 5,19 ^b	13,51 \pm 2,00

Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05)

En la **tabla 5** se muestran los valores de clorofilas y carotenoides obtenidos para las dos variedades de aceite estudiadas. Y en el gráfico 2 se presentan los datos de pigmentos por finca. Coratina mostró mayores concentraciones para ambos pigmentos. Las diferencias encontradas para las clorofilas fueron significativas (**tabla 5 y gráfico 2**). De acuerdo a los valores promedio por variedad, no se encontraron diferencias significativas en el contenido de carotenoides (**tabla 5**). Sin embargo, al considerar los valores por finca, se observa que los aceites de Coratina presentan valores significativamente mayores que los aceites de Arbequina (**gráfico 2**).



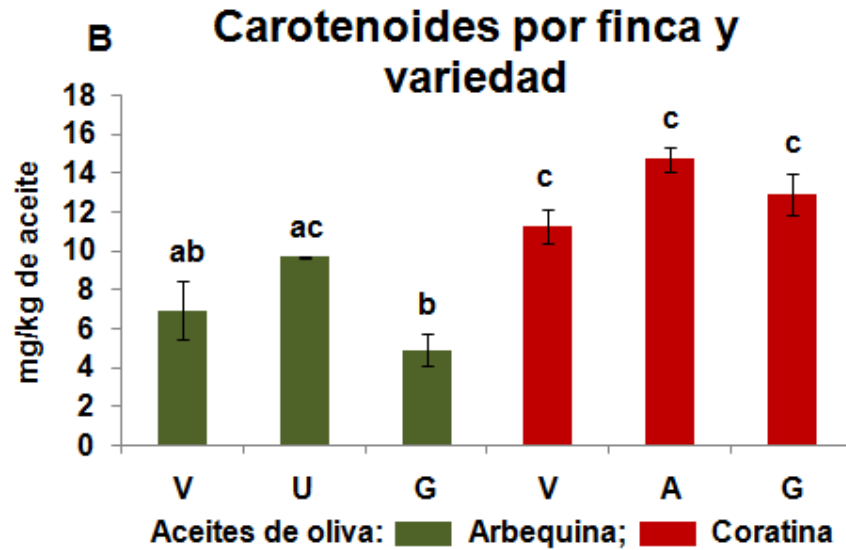


Gráfico 2. Contenido de clorofilas (A) y carotenoides (B) en aceite de las variedades Arbequina y Coratina de las fincas muestreadas (V, U, G, A, G). Los valores son los promedios \pm DS (n=3). Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

El contenido de pigmentos de un aceite depende de numerosos factores, como la variedad de aceituna, el estado de maduración (a medida que avanza la maduración en las frutas, disminuye el contenido de clorofilas (Gandull Rojas, *et al.*, 2016; Lazzerini, *et al.*, 2017), las condiciones medioambientales, los procesos de extracción y las condiciones de conservación.

En nuestros aceites la concentración de clorofilas fue superior a la de carotenoides, lo cual está de acuerdo con lo reportado por Gallardo-Guerrero, (1994) y Ruiz Pineda, (2016). Los valores hallados para clorofilas y carotenoides, para la variedad Arbequina, son superiores a los documentados por Ceci, *et al.*, (2010) para la región montañosa de La Rioja. Para la variedad Coratina de nuestra región no hemos encontrado publicaciones acerca de la concentración de estos pigmentos. Con lo cual este trabajo constituye el primer aporte sobre el tema.

Para la zona de La Rioja capital (valle) y Catamarca, las concentraciones de clorofilas y carotenoides, reportadas para aceites de Coratina y Arbequina (Ceci, *et al.*, 2010), fueron más bajas que nuestros resultados. Para aceites de la variedad Arbequina, encontramos valores inferiores a los nuestros tanto para clorofilas como para carotenoides (Catamarca, Cornejo 2018; Córdoba, Torres, *et al.*, 2005 y 2008; Mendoza y San Juan, Ceci, *et al.*, 2010). Sin embargo, para aceites procedentes de Río Negro (Ceci, *et al.*, 2010) se han reportado valores más altos para los dos pigmentos. Todos estos trabajos demuestran la influencia de la zona de cultivo en el contenido de pigmentos de los aceites.

Clorofilas y carotenoides juegan un importante papel en la estabilidad oxidativa del aceite, actúan como antioxidantes en la oscuridad y prooxidantes cuando están expuestos a la luz (Torres, *et al.*, 2005; Morcillo Bravo, 2017). Además, los carotenoides que presentan estructura terpenoide poseen actividad provitamina A y actúan como antioxidantes en la dieta (Maestri, *et al.*, 2006; Morcillo Bravo, 2017).

Las diferencias en las concentraciones de pigmentos observadas en los aceites de nuestra región (asumiendo que presentan condiciones edafoclimáticas similares) serían atribuidas a la variedad de aceitunas. De acuerdo a estos resultados, el aceite de la variedad Coratina sería de mejor calidad que el aceite de la variedad Arbequina, ya que posee mayor contenido de pigmentos.

Los pigmentos no son un factor que intervenga en la categorización comercial de los aceites, es por eso que su concentración no está regulada por ninguna de las instituciones que establecen la normativa sobre la calidad del aceite de oliva. Sin embargo, existen algunas normativas que han establecido a la pirofeofitina a como indicador de calidad del aceite de oliva para la categoría virgen extra, fijando el límite en un porcentaje inferior al 17% (García-González, *et al.*, 2017). Se propuso a este compuesto como marcador del envejecimiento del aceite, adulteración del mismo con aceites desodorizados o inconvenientes en el tratamiento de amasado de la pasta (Aparicio-Ruiz *et al.*, 2010). De

acuerdo a esto es posible que en el futuro se incorpore la evaluación de los pigmentos de los aceites como un parámetro más de calidad.

Actividad antioxidante de las muestras

Existen distintos métodos para evaluar el potencial antioxidante de una muestra. Algunos se basan en incorporar al medio un radical, habitualmente una molécula estable comercial o un radical generado en el propio medio de reacción, y comprobar cómo le afecta la presencia de un antioxidante. Pertenecen a este grupo de métodos los ensayos conocidos por las abreviaturas DPPH (1,1-difenil-2- picrilhidrazil), ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico), TEAC (Ácido 6-hidroxi-2, 5, 7,8- tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) y ORAC (Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno). En el presente estudio se utilizó el método de depuración de radicales DPPH (Farasat, *et al.*, 2013), para evaluar la capacidad antioxidante de las dos variedades de aceite estudiadas.

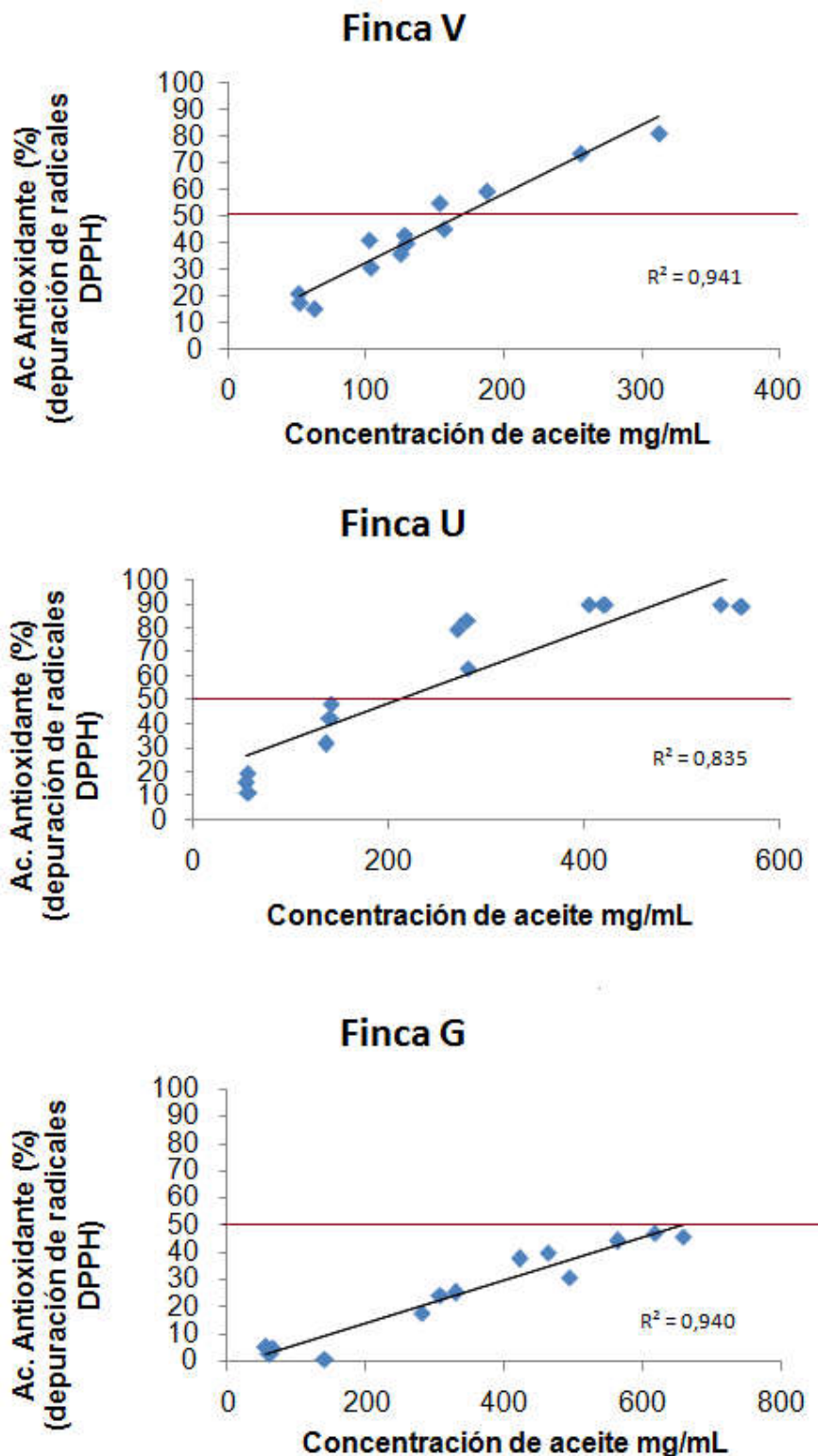


Gráfico 3. Actividad depuradora de radicales libres de los aceite de oliva variedad Arbequina en las fincas muestreadas.

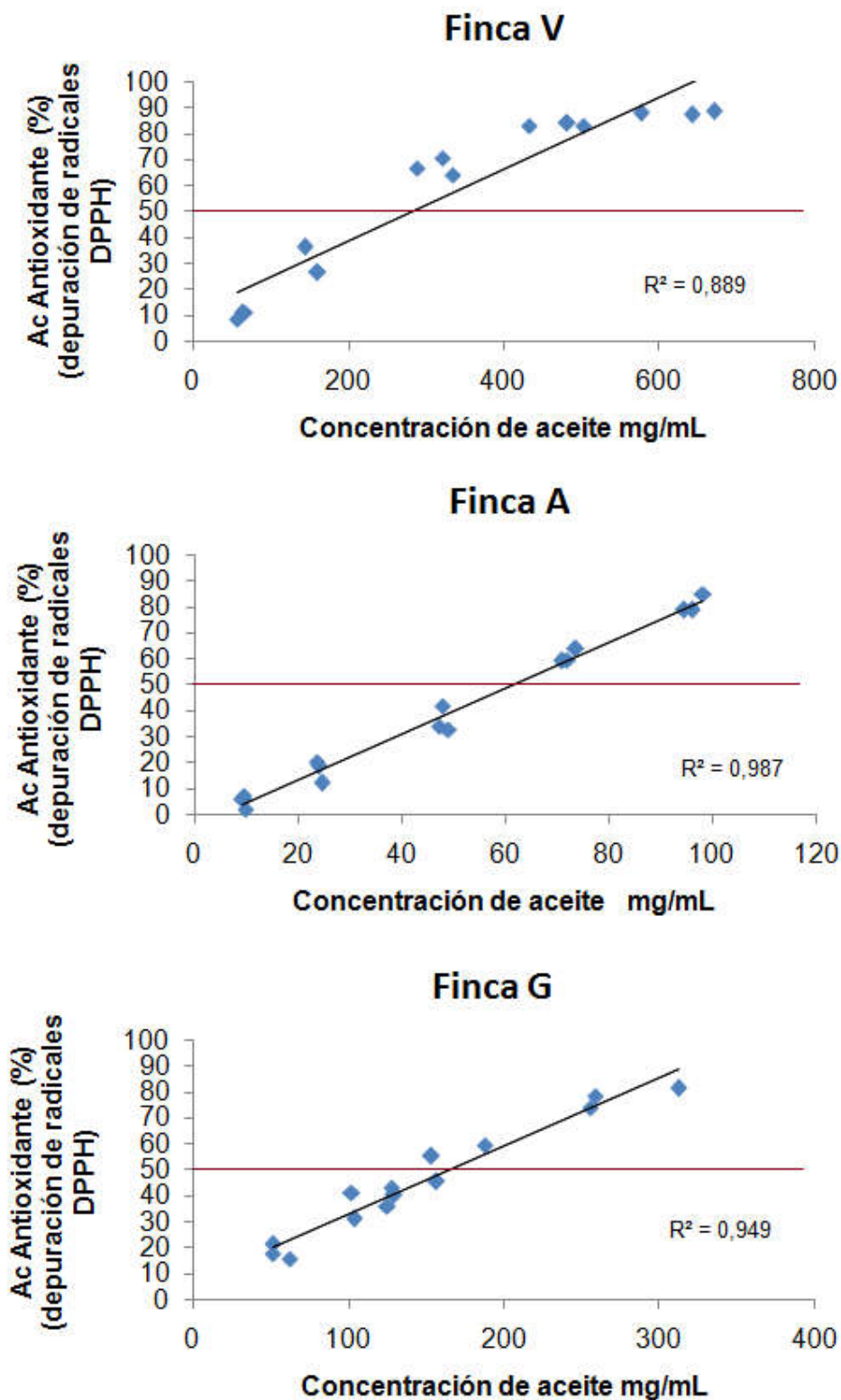


Gráfico 4. Actividad depuradora de radicales libres de los aceite de oliva variedad Coratina en las fincas muestreadas.

Se determinó la capacidad depuradora de radicales libre (DPPH) de distintas alícuotas de los extractos metanol-agua de los aceites estudiados, construyéndose curvas dosis-respuesta (**gráfico 3 y 4**). Con la ecuación de la curva se calculó la CD50: concentración de muestra requerida para captar el 50% de los radicales DPPH (**tabla 6 y 7**).

Tabla 6. Actividad antioxidante de las dos variedades de aceite estudiadas. Los valores son los promedios ± DS (n=9).

Variedades de aceite de oliva CD50 (mg.mL ⁻¹)		Antioxidantes de referencia CD50(ug.mL ⁻¹)		
Arbequina	Coratina	BHT	Ácido Ascórbico	Quercetina
425,03±163,25 ^d	170,96±98,72 ^c	218,40± 9,69 ^b	8,83± 2,08 ^a	8,47± 0,23 ^a

Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05). BHT: butil hidroxitolueno. CD50: concentración de muestra requerida para captar el 50% de los radicales DPPH.

Tabla7. Comparación del Potencial antioxidante de las dos variedades, Arbequina y Coratina, por fincas de estudio (V, U,G, A). Los valores son los promedios ± DS (n= 3).

CD50 (mg. mL ⁻¹)					
Arbequina			Coratina		
V	U	G	V	A	G
513,84± 14,58 ^e	209,28± 18,40 ^c	551,90± 14,41 ^f	286,95± 24,62 ^d	61,60± 0,92 ^a	164,32± 13,67 ^b

Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05). CD50: concentración de muestra requerida para captar el 50% de los radicales DPPH.

Al analizar los valores obtenidos, Coratina presentó actividad antioxidante significativamente mayor que Arbequina. Lo cual puede ser evidenciado por el menor valor de CD50 (**tabla 6**). Como antioxidantes de referencia, se emplearon tres compuestos permitidos en la industria alimenticia: butil hidroxitolueno (BHT), ácido ascórbico y quercetina.

Como se observaron diferencias entre las dos variedades se decidió compararlas de acuerdo al establecimiento de procedencia. Se encontraron diferencias significativas entre todas las muestras, siendo la muestra U, para Arbequina, y A para Coratina las que presentaron mayor poder antioxidante (**tabla 7**). Al comparar aceites de distinta variedad del mismo emprendimiento, se encontró que Coratina presenta actividad antioxidante superior que Arbequina (**tabla 7**). Para evaluar el efecto de los componentes mayoritarios y minoritarios de los aceites sobre la capacidad antiradicalaria realizamos análisis de correlación y regresión.

Análisis de correlación y regresión

El Coeficiente de correlación de Pearson es una medida de la magnitud de la asociación lineal entre dos variables que no depende de las unidades de medida de las variables originales. Los resultados de este análisis se presentan en las **tablas 8 y 9**.

Tabla 8. Correlación de Pearson tomando las dos variedades de aceite en conjunto, n= 12-18. InfoStat software- versión 2017

	Coeficiente de Correlación(r^2) CD50
Oleico	-0,72**
Fenoles	-0,76**
Flavonoides	-0,74**
Clorofila	-0,92**
Carotenoides	-0,78**

Asteriscos indican correlación significativa** $p < 0,01$

Nuestros resultados indican una correlación inversa y significativa entre los parámetros evaluados y la actividad antioxidante de los aceites (**tabla8**). Al aumentar la concentración de ácido oleico, fenoles, flavonoides y pigmentos, la CD50 disminuye, es decir que la actividad antioxidante aumenta. De acuerdo a estos resultados, la contribución de los parámetros estudiados en la actividad antioxidante de los aceites sería clorofila > carotenoides > fenoles > flavonoides > oleico (**tabla 8**). Además, realizamos el estudio de correlación para cada una de las variedades de aceite estudiadas (**Tabla 9**).

Tabla 9. Correlación de Pearson para los distintos parámetros analizados Vs CD50 de la variedad Arbequina y Coratina. InfoStat software- versión 2017

	Coeficiente de correlación(r^2) CD50	
	Arbequina	Coratina
Fenoles	-0,59	-0,93**
Flavonoides	-0,76*	-0,70*
Clorofila	-0,86**	-0,90**
Carotenoides	-0,93**	0,22

Asteriscos indican correlación significativa: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Existe una correlación inversa y significativa entre el poder antioxidante y la concentración de carotenoides, clorofilas y flavonoides para los aceites de la variedad Arbequina (**tabla 9**). Lo que indicaría que la actividad antioxidante del aceite de esta variedad dependería principalmente del contenido de estos componentes, destacándose los carotenoides. Para la variedad Coratina existe una correlación inversa y significativa entre el CD50 y la concentración de fenoles, clorofilas y flavonoides (**tabla 9**). Los fenoles son los que más influirían en la actividad antioxidante del aceite.

El análisis de regresión permite estudiar la relación funcional entre una variable respuesta Y (CD50) y una variable regresora X (parámetros químicos del aceite). El R^2 es una medida del ajuste de los datos a un modelo lineal.

Tabla 10. Regresión múltiple para los distintos parámetros analizados Vs CD50 considerando las dos variedades en conjunto y por separado. InfoStat software- versión 2017

	Coeficiente de Regresión(R^2) CD50		
	En conjunto	Arbequina	Coratina
Oleico	0,47**	—	—
Fenoles	0,55**	0,26	0,84**
Flavonoides	0,52**	0,51*	0,42**
Clorofilas	0,84**	0,70**	0,78**
Carotenoides	0,59**	0,85**	0,05

Asteriscos indican regresión significativa: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Al considerar las dos variedades en conjunto, las clorofilas explicarían en un 84% el poder antiradicalario de los aceites (R^2 : 0,84). En la variedad Arbequina, los carotenoides lo harían en un 85% (R^2 : 0,85), y los fenoles en un 84% (R^2 : 0,84) para Coratina (**tabla 10**).

De acuerdo a nuestros resultados, el poder antiradicalario de los aceites estudiados depende principalmente de:

- La concentración de los carotenoides en la variedad Arbequina.
- El contenido de fenoles en la variedad Coratina.

Cabe destacar que el presente trabajo constituiría el primer aporte para la región sobre la actividad antioxidante de los aceites de oliva, utilizando la técnica del DPPH.

Si bien no se encontró bibliografía que correlacione a la actividad antioxidante de los aceites con los niveles de pigmentos, es ampliamente aceptado que los mismos contribuyen a la estabilidad oxidativa de los aceites (Ceci, *et al.*, 2010; Torres, *et al.*, 2006; Torres, *et al.*, 2011).

Los fenoles son los compuestos que más influirían en la actividad antioxidante del aceite de la variedad Coratina. Estos resultados están de acuerdo con lo observado por varios investigadores para aceites de otros cultivares (Torres, *et al.*, 2010; Cioffi, *et al.*, 2010; Fernández, *et al.*, 2014; Negro, *et al.*, 2019). La actividad antioxidante es un buen parámetro para representar la calidad del aceite porque está correlacionado positivamente con el contenido de compuestos fenólicos (Negro, *et al.*, 2019). Si bien el COI establece un método para la evaluación de compuestos fenólicos del aceite de oliva virgen (COI/T.20/Doc. N°29 Rev.1- 2017), hasta el momento no ha especificado valores de referencia para las distintas calidades de aceite.

Nuestros resultados muestran la importancia de los compuestos minoritarios como fenoles y pigmentos en la actividad biológica de un aceite de oliva. Actividad biológica que se traduciría en un efecto benéfico para los consumidores.

Conclusiones



Este trabajo proporciona datos preliminares sobre la calidad química y actividad antioxidante de aceites de oliva producidos en el Valle Antinaco-Los Colorados (Argentina). Los parámetros de calidad analizados, permiten clasificar a cuatro de los aceites estudiados en la categoría de aceite de oliva virgen extra. Los dos restantes, a pesar de estar etiquetados como aceite de oliva virgen extra, no cumplen con los requisitos correspondientes a esta calidad.

Existe una marcada diferencia varietal en el contenido de ácido oleico. Se identificó a los aceites de Arbequina como medio oleico (56,86% -61,09%) y de alto contenido de oleico (69,35 %- 75,86%) a los de Coratina.

El contenido de fenoles totales depende de la variedad, Arbequina sería de muy bajo contenido de fenoles ($130,73 \text{ mg.kg}^{-1}$) y de alto contenido ($595,35 \text{ mg.kg}^{-1}$) para la variedad Coratina. En este sentido, este trabajo constituye el primer reporte del contenido de fenoles para la variedad Coratina del Valle Antinaco-Los Colorados.

Las diferencias en las concentraciones de pigmentos observadas serían atribuidas a la variedad de aceitunas. Los aceites de la variedad Coratina son los que presentaron mayor contenido de clorofilas y carotenoides.

Se utilizó el método de depuración de radicales DPPH para evaluar la capacidad antioxidante de las dos variedades de aceite estudiadas. Los aceites de la variedad Coratina presentaron actividad antioxidante significativamente mayor que Arbequina. Estos resultados constituirían el primer aporte sobre la actividad antioxidante de los aceites de oliva producidos en el Valle Antinaco-Los Colorados.

De acuerdo al análisis de correlación, el poder antiradicalario de los aceites dependería principalmente de la concentración de los carotenoides en la variedad Arbequina (r^2 : -0,93 y $p < 0,01$) y del contenido de fenoles en la variedad Coratina (r^2 : -0,93 y $p < 0,01$). Esto demostraría la importancia de los compuestos minoritarios en la actividad biológica de un aceite de oliva.

Actividad biológica que se traduciría en un efecto benéfico para los consumidores.

Los resultados de este trabajo pueden resultar de importancia para la industria del aceite de oliva local, permitiendo a los productores conocer otros parámetros de calidad de sus aceites y el potencial biológico que presentan.

Bibliografía



-Adegboye, M.F., Akinpelu, D.A., Okoh, A. **2008.**The bioactive and phytochemical properties of Garcinia kola (Heckel) seed extract on some pathogens. African Journal of Biotechnology 7 (21): 3934-3938.

-Aguilera, C.M.; Mesa M.D.; Ramirez-Tortosa M.C.;Quiles J.L. y Gil A.**2003.**Virgin olive and fish oils enhance the hepatic antioxidant defence system in atherosclerotic rabbits. Clinical Nutrition 22(4): 379–384.

- Antolovich, M; P. Prenzler; E. Patsalides; S. McDonald y K. Robards. **2001.** Métodos para probar la actividad antioxidante. Analista. 127 : 183–198.

-Aparicio, R.; M. Morales; R. Aparicio-Ruiz; N. Tena; D. García-González. **2013.** Authenticity of olive oil: Mapping and comparing official methods and promising alternatives. Food Research International, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.07.039>

-Araniti, E. 2013. Evaluación de la calidad de los aceites de oliva vírgenes obtenidos a partir de las variedades arauco y arbequina de Mendoza, Argentina. Tesis de maestría. Universidad Nacional de Cuyo.

-Barbieri, N., Costamagna, M., Gilabert, M., Perotti, M., Schuff, C., Isla, M. I., & Benavente, A. **2016.** Antioxidant activity and chemical composition of essential oils of three aromatic plants from La Rioja province. Pharmaceuticalbiology, 54(1), 168-173.

-Bauzá, M.; Araniti E.; Arjona C.; *et al.* **2011.** Olivicultura en Mendoza. Raigambre de una actividad que se renueva. Fundación Pedro Marzano. ISBN 978-987- 27156-0-1

-Beltrán Muniz M. Sánchez-Astudillo M.; Aparicio R.; García-González D. **2015.**Geographical traceability of virgin olive oil from south-western Spain by their multi-elementalcomposition. Food chemistry 169:350-357

-Bernardini, E. and Visioli F. **2016.** High quality, good health: The case for olive oil. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 118, 0000–0000.

-Bodoira, R.;Torres M.; Pierantozzi P.; Aguate F.; Taticchi A.; Servili M.; Maestri D. **2016.** Dynamics of Fatty Acids, Tocopherols and Phenolic Compounds Biogenesis During Olive (*Olea europaea* L.) Fruit Ontogeny. J Am Oil Chem Soc. DOI 10.1007/s11746-016-2877-7

-Bogani, P.; Galli, C.; Villa, M.; Visioli, F. **2007.**Postprandial anti-inflammatory and antioxidant effects of extra virgin olive oil. Atherosclerosis. 190, 181–186.

-Código alimentario argentino (C.A.A.). 1971. Capítulo V, Artículo 535. Anmat. Ministerio de Salud.

<https://www.argentina.gob.ar/anmat/codigoalimentario>

-Cañabate- Díaz, B.; Segura- Carretero A.; Fernández- Gutierrez A.; *et al.* **2007.** Separation and determination of sterols in olive oil by HPLC- MC. Food chemistry. Volume 102. Issue 3: 593-598.

-Carrasco- Pancorbo, A. 2006. Determinación de compuestos fenólicos en aceite de oliva mediante técnicas y metodologías separativas avanzadas. Tesis doctoral. Granada. España.

Castelli, G., Bianco, I. D., Mizutamari, R. K. **2018.** Polyphenol Content in Argentinean Commercial Extra Virgin Olive Oil. European Journal of Lipid Science and Technology, 120(12), 1800124.

-Ceci,L; Carelli, A. **2010.** Relation Between Oxidative Stability and Composition in Argentinian Olive Oils. J Am Oil Chem Soc 87: 1189–1197.

-Ceci,L; Mattar, S.; Carelli A. **2017.** Chemical quality and oxidative stability of extra virgin olive oils from San Juan province (Argentina). Food Research International 100: 764–770.

-Ceci, L; Ramírez, D.; Mussio, D.; Mattar, S.; Carelli, A. **2017.** Biophenols and Flavor in Extra Virgin Olive Oils from San Juan Province (Argentina). J Am Oil Chem Soc 94: 643–654.

-Cicerale, S.; Lucas, L. and R. Keast. **2010.** Biological Activities of Phenolic compounds present in virgin olive oil. International journal molecular science 1 (2): 458- 479. Us National Library of Medicine National Institute of Health.

-Cioffi, G., Pesca M.; De Caprariis P.; Braca A.; Severino L.; De Tommasi N. **2010.** Phenolic compounds in olive oil and olive pomace from Cilento (Campania, Italy) and their antioxidant activity. Food Chemistry 121: 105–111.

-COI-T.20. Consejo Oleícola Internacional. 2017. Determinación de los biofenoles de los aceites de oliva mediante HPLC. Doc. N° 29. Rev. 1.

-COI-T.20. Consejo Oleícola Internacional.2017. Determination of peroxide value.Doc. N° 19. Rev. 4.

-COI-T.20. Consejo Oleícola Internacional. 2017. Determination of free fatty acids, cold method. Doc. N° 34. Rev. 1

-COI-T.20. Consejo Oleícola Internacional. 2019. Spectrophotometric investigation in the ultraviolet. Doc. N° 19. Rev. 5

-COI-T.20. Consejo Oleícola Internacional. 2019. Trade standard applying to olive oil and olive pomace oils. N C. N° 3. Rev. 15

-Cornejo V. 2018. Caracterización química de aceites de oliva vírgenes variedad Arbequina producidos en San Juan, Argentina. Tesis de Maestría. Universidad Católica de Córdoba.

-Covas, M.I.; Nyyssonen, K.; Poulsen, H.E.; Kaikkonen, J.; Zunft, H.J.F.; Kiesewetter, H.; Gaddi, A.; De la Torre, R.; Mursu, J.; Baumler, H.; et al. 2006. The effect of polyphenols in olive oil on heart disease risk factor. *Ann. Int. Med.* 145, 333–341

-De La Rosa, P.; Luna, M.; Espeche, M.; Jais, M. **2015.** Composición acídica y calidad nutricional de aceites de oliva del oeste de Catamarca. *Revista APSAL: Órgano de la Asociación Profesionales de Salud y Alimentos.* Vol 1 N° 11: 1-6.

-Del Mónaco, G.; Officioso, A.; D’Angelo, S.; La Cara, F.;*et al.* **2015.** Characterization of extra virgin olive oils produced with typical Italian varieties by their phenolic profile. *Food Chemistry* 184: 220–228.

-Diaz, R. 1998. La Rioja, Encrucijada de Aridez y Esperanza. III-IX, 11-318. Magisterio del Río de la Plata.

-Di Giovacchino, L., Sestili, L.S. and Di Vincenzo, D. **2002.** Influence of Olive Processing on Virgin Olive Oil Quality. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 104, 587-601.

-Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. **2013.** InfoStat, versión 2013p. Grupo InfoStat. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.

El-Gharbi, S.; Tekaya, M.;Bendini, A.;*et al.* **2018.** Effects of Geographical Location on Chemical Properties of *Zarazi* Virgin Olive Oil Produced in the South of Tunisia. *American Journal of Food Science and Technology.* Vol. 6, No. 6: 228-236.

- Essiari, M.; Zouhair, R. y Chimi, H. **2014.** Contribución al estudio de la tipicidad de los aceites de oliva vírgenes producidos en la región de Sais (Marruecos). *Olivae* N°119: 7-23.

-Farasat, M.; Khavari-Nejad, R.; Bagher-Nabavi, S. and Namjooyan, F. **2013.** Antioxidant Activity, Total Phenolics and Flavonoid Contents of some Edible Green Seaweeds from Northern Coasts of the Persian Gulf. Iranian journal pharmaceutical research Winter; 13(1): 163–170.

-FDA.

www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation

-Fernandez M., Soto Vargas V.; Silva M. **2014.** Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Monovarietal Olive Oils Produced in Argentina. J Am Oil Chem Soc. 91:2021–2033.

-Ferran Font, M. 2015. Hidroxitirosol, el mejor antioxidante natural y el más desconocido. Estudio comparativo con otros antioxidantes. Trabajo final de Máster Nutrición y Salud. Universidad Oberta de Catalunya.

-Fitó Colomer, M. 2003. Efectos antioxidantes del aceite de oliva y de sus compuestos fenólicos. Tesis doctoral. Universidad de Barcelona.

-Franco Baltasar M. 2014. Influencia del estado de madurez del fruto sobre parámetros de calidad, compuestos fenólicos y propiedades antioxidantes de aceites de oliva extremeños. Aprovechamiento de subproductos de almaraza. Tesis doctoral. Universidad de Extremadura.

-Fuentes M.; Marín J.; Martínez M.; de Miguel C.; Sánchez j.; Osorio E. **2010.** Perfil colorimétrico y de pigmentos de aceites de oliva producidos en la zona oleícola de Tierra de Barros (Badajoz), como contribución a su caracterización. IX Congreso Nacional del color. Alicante.

-Fuentes de Mendoza, M. 2013. Caracterización de los aceites de oliva virgen producidos en la zona oleícola de Tierra de Barros. Tesis doctoral. Universidad de Extremadura. Badajoz.

-Gandul-Rojas B.; Mínguez-Mosquera Ml. **1996.** Chlorophyllase activity in olive fruits and its relationship with the loss of chlorophyll pigments in the fruits and oils. J. Sci. Food Agric. 72:291–294.

-Gandull-Rojas, B.; Roca M. and Gallardo-Guerrero L. **2006.** Chlorophylls and Carotenoids in Food Products from Olive Tree.

-Gallardo González, L. 2015. Estudio del potencial productivo y caracterización de los aceites obtenidos de los cultivares “Picual”, “Arbequina” y “Cornezuelo”. Tesis doctoral. Universidad de Extremadura.

-Gallardo-Guerrero, L. 1994. Clorofilas y carotenoides en aceitunas de la variedad Gordal. Factores asociados con la alteración Mancha Verde”. Tesis doctoral. Universidad de Sevilla.

-García A, Brenes M, García P, Romero C, Garrido A. 2003. Phenolic content of commercial olive oils. *Eur Food Res Technol* 216:520–525

-García-González DL, Tena N, Romero I, Aparicio-Ruiz R, Morales MT, Aparicio R. **2017.** Un estudio de las diferencias entre estándares comerciales dentro y fuera de Europa. *Grasas aceites* 68 (3): e210. Disponible en: <http://grasasyaceites.revistas.csic.es/index.php/grasasyaceites/article/view/1677>

-Gharbi, I., Issaoui, M., Mehri, S., Cheraief, I., Sifi, S. and Hammami, M. **2015.** Agronomic and Technological Factors Affecting Tunisian Olive Oil Quality. *Agricultural Sciences*, 6, 513-526.

-Gimeno Creus,E. 2003. El aceite de oliva como alimento clave de la dieta mediterránea. *OFFARM Vol 22 N° 1:* 88-94.

-Gómez del Campo, M.; Morales-Sillero, A.; Vita Serman, F.; *et al.* **2010.** El Olivar en los Valles áridos del Noroeste de Argentina (provincias de Catamarca, La Rioja y San Juan).

-Haddam, M.; Chimi, H.; El-Antari, A. **2014.** Caracterización fisicoquímica y estabilidad oxidativa de los aceites de oliva de las variedades ‘Picholine marocaine’, ‘Haouzia’, ‘Koroneiki’ y ‘Arbequina’ de la región oleícola central de Marruecos (Chauía-Uardiga). *OLIVÆ No. 119:* 24-36.

-Hernández, Á.; Remaley, A.T.; Farràs, M.; Fernández-Castillejo, S.; Subirana, I.; Schröder, H.; Fernández-Mampel, M.; Muñoz-Aguayo, D.; Sampson, M.; Solà, R.; *et al.* **2015.** Olive Oil Polyphenols Decrease LDL Concentrations and LDL Atherogenicity in Men in a Randomized Controlled Trial. *J. Nutr.* 2015, 145, 1692–1697.

-Lara Ortega F. 2017. Desarrollo de metodologías analíticas para la caracterización química de aceites de oliva virgen. Tesis doctoral. Universidad de Jaen.

- Larrauri, M. 2016. Estudio de la actividad antioxidante y antimicrobiana de polifenoles obtenidos del tegumento del maní. Tesis Para optar al grado académico de Doctor en Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba.

- **Lizzerini, C.;** M. Cifelli; V. Domenici. **2017.** Pigments in extra virgin olive oils produced in different mediterranean countries in 2014: Near UV-vis spectroscopy versus HPLC-DAD. DOI: 10.1016/j.lwt.2017.06.025. *LWT - Food Science and Technology*

-**López Miranda, J.;** F. Pérez-Jiménez; E. Ros; *et al.* **2008.** Olive oil and health: Summary of the II international conference on olive oil and health consensus report, Jaén and Córdoba (Spain). *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases.*

-**Loyola López, N.;** López Acevedo, R.; Acuña Carrasco, C. **2008.** Evaluación sensorial y analítica de la calidad de aceite de oliva extra virgen. *IDESIA (Chile) Volumen 26, N° 2: 27-44.*

-**Lozano Sánchez, J.** **2013.** Aceite de oliva como alimento funcional: nuevas perspectivas analíticas y tecnológicas. Tesis doctoral. Universidad de Granada.

-**Maestri D.;** V. Nepote ; A. Lamarque and J. Zygadlo. **2006.** Natural products as antioxidants. *Phytochemistry: Advances in Research.* 105-135

-**Mansouri F.;** Ben Moumen A.; Houmy N.; Richard G.; Fauconnier M.; Sindi M.; Serghini-Caid H.; Elamrani A. **2015.** Evaluación de la estabilidad oxidativa de los aceites de oliva obtenidos a partir de la mezcla de aceite 'Arbequina' con otros aceites de oliva monovarietales. *Olivae* 120:23-30.

-**Martín-Peláez, S.;** Castañer, O.; Solà, R.; *et al.* 2016. Influence of Phenol-Enriched Olive Oils on Human Intestinal Immune Function. *Nutrients* , 8, 213.

-**Mínguez-Mosquera, M.I.,** Gandul-Rojas, B. **1995.** High-performance liquid chromatographic study of alkaline treatment of chlorophyll. *Journal of Chromatography A* 690, 161-176.

-**Ministerio de agroindustria.** <https://www.agroindustria.gob.ar/>

-**Miró- Casas E.;** Covas Planells, M. I.; Fitó Colomer, M.; *et al.* **2002.** Tyrosol and hydroxytyrosol are absorbed from moderate and sustained doses of virgin olive oil in humans. *European Journal of Clinical Nutrition.* 57, 186-190.

-**Monasterio, R.;** Olmo-García L.; Bajoub A.; Fernandez-Gutiérrez A. and Carrasco-Pancorbo A. **2017.** Phenolic Compounds Profiling of Virgin Olive Oils

from Different Varieties Cultivated in Mendoza, Argentina, by Using Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 65: 8184-8195.

-Morcillo Bravo, L. 2017. Papel de las pirofeofitinas como marcadores del aceite de oliva virgen. Trabajo de fin de grado. Universidad de Sevilla.

-Motíva, M.; Jarla, I.; Bellart, I.y Paz Romero, M. **1998.** Estudio de la calidad del aceite de oliva virgen de la Denominación de Origen «Les Garrigues» (Lleida) durante la campaña 1995/96. *Grasas y Aceites* Vol. 49. Fase. 5-6: 425-433.

-Moussa, Y.; Gerasopoulos, D. **1996.** Effect of Altitude on Fruit and Oil Quality Characteristics of ‘Mastoides’ Olives. *J Sci Food Agric* 71: 345-350.

-Negro, C.; Aprile, A.; Luvisi, A.; Nicolì, F.; Nutricati, E.; Vergine, M.; Miceli, A.; Blando, F.; Sabella, E.; De Bellis, L. **2019.** Phenolic Profile and Antioxidant Activity of Italian Monovarietal Extra Virgin Olive Oils. *Antioxidants.* 8, 161

-Nescatelli R.; R. Bonanni; R. Bucci; A. L. Magrì, A. D. Magrì; F. Marini. **2014.** Geographical traceability of extra virgin olive oils from Sabina PDO by chromatographic fingerprinting of the phenolic fraction coupled to chemometrics. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems.*

-Ollivier, D.; Pinatel, C.; Ollivier, V.y Artaud, J. **2014.** Composición de ácidos grasos y triglicéridos de aceites de oliva vírgenes de 34 variedades y 8 denominaciones de origen francesas, y de 2 variedades extranjeras implantadas en Francia: elaboración de un banco de datos (Parte I). *OLIVÆ* No. 119: 37-49.

-Olivera López, M. J. 2005. Calidad del aceite de oliva virgen extra. Antioxidantes y función biológica. Tesis doctoral. Universidad de Granada. España.

-Parkinson L, Cicerale S. **2016.** The Health Benefiting Mechanisms of Virgin Olive Oil Phenolic Compounds. *Molecules.* Dec 16;21(12):1734)

-Pastrana Moncayo, L. 2016. Análisis de la calidad del aceite de oliva virgen: relación entre la estabilidad oxidativa y la composición fenólica. Trabajo de fin de grado. Universidad de Sevilla.

-Pérez Martínez, P.; López Miranda, J.; Delgado- Lista, J.;*et al.* **2007.** Aceite de oliva y prevención cardiovascular: más que una grasa. I Congreso de cultivo del olivo: 695- 706.

-Piravi-Vanak, Z.;Ghasemi, J.; Ghavami, M.;*et al.* **2012.**The Influence of Growing Region on Fatty Acids and Sterol Composition of Iranian Olive Oils by Unsupervised. Clustering Methods.

-Ponce Flores, H.; Sepúlveda Polgatti,V. **2014.** Caracterización química y sensorial de aceites de oliva extra virgen de siete variedades cultivadas en las provincias de Elqui y Limarí, región de Coquimbo.

-Popova, M.; Bankova, V.; Butovska, D.;*et al.***2004.**Validated Methods for the Quantification of Biologically Active Constituents of Poplar-type Propolis. *Phytochemical Analysis* 15:235–240.

-Puertollano, M.; Álvarez de Cienfuegos, G. y de Pablo, M. A. **2010.** Aceite de oliva, sistema inmune e infección. *Nutrición Hospitalaria.* 25(1):1-8.

-Roca, M.; Minguéz- Mosquera, M. **2003.** Carotenoid levels during the period of growth and ripening in fruits of different olive varieties (Hojiblanca, Picual and Arbequina). *Journal of plant physiology* 160: 451- 459.

-Rojas F.; Prieto M.;Villagra P. y Álvarez j. **2014.**Deforestación y actividades productivas en los valles del oeste de La Rioja y Catamarca, desde mediados del siglo XIX hasta la actualidad.*Boletín de Estudios Geográficos* N° 103 – ISSN 0374-618

-Romero del Río I. **2015.** Evaluación de indicadores de la calidad del aceite de oliva virgen: fortalezas, debilidades y oportunidades. Tesis doctoral. Universidad de Sevilla.

-Rondanini, D.; Castro, D.N.; Searles, P.S. and M.C. Rousseaux.**2010.** Fatty acid profiles of varietal virgin olive oils (*Olea europaea* L.) from mature orchards in warm arid valleys of Northwestern Argentina (La Rioja).

-Rondanini D.; Castro D.; Searles P.; Rousseaux M. **2014.** Contrasting patterns of fatty acid composition and oil accumulation during fruit growth in several olive varieties and locations in a non-Mediterranean region. *European J. Agronomy* 52: 237–246.

-Rousseaux M.; Cherbiy-Hoffmann S.; Hall A.; Searles P. **2020.**Fatty acid composition of olive oil in response to fruit canopy position and artificial shading. *Scientia Horticulturae* 271. 109477.

-Ruiz Pineda, C. **2016.** Calidad de los aceites de oliva virgen extra de sierra y campiña de la provincia de Jaén. Trabajo de fin de Master. Universidad de Jaén.

-Ruiz Domínguez M. 2015. Técnicas y prácticas de laboratorio para el análisis de aceite de oliva virgen. Cuaderno tecnológico N° 23. INTI.

-Samaniego Sánchez, C. 2006. Estudio y evaluación de la capacidad antioxidante de aceites de oliva virgen extra. Implicación en la salud. Tesis doctoral. Universidad de Granada.

-Sánchez-Calvo, B.; M. Mastrogiovanni; P. Conde-Innamorato; M. Arias-Sibillotte; A. Trostchansky and H. Rubbo. 2019. Nitro-fatty acids formation in Virgin Olive Oil during gastric digestion and its relationship to cultivar and fruit ripening. bioRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/592147>.

-Sánchez Casa, J.; Osorio Bueno, E.; Montaña García, A.y Martínez Cano, M. 2003. Estudio del contenido en ácidos grasos de aceites monovarietales elaborados a partir de aceitunas producidas en la región extremeña. Grasas y Aceites Vol. 54. Fasc. 4: 371-377.

- Sánchez-Rodríguez, E.; M. Mesa. 2018. Compuestos bioactivos del aceite de oliva virgen. Nutrición clínica en medicina. Vol. XII - Número 2 - pp. 80-94.

-Silva S.; Combet, E.; Figueira, M. E.;et al. 2015. New perspectives on bioactivity of olive oil: evidence from animal models, human interventions and the use of urinary proteomic biomarkers. Proceedings of the Nutrition Society. 74, 268–281.

-Singleton, V.L., Orthofer, R., and Lamuela-Raventós, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In Methods in Enzymology, (Academic Press), pp. 152–178.

-Surra, J.; Navarro, M. Á.; Martínez, M. V.; Osada, J.2015. Aceite de oliva virgen, el alimento con propiedades farmacológicas preventivas de la aterosclerosis. <http://revistas.iea.es/index.php/LUMALL>. 17: 225 a 245

-Tomasini, D. 2002. La convención de lucha contra la desertificación y las montañas. Seminario Conservación y Desarrollo de los Ecosistemas de Montaña. Buenos Aires.

-Torres M.; Martínez M. and Maestri D. 2005. A Multivariate Study of the Relationship Between Fatty Acids and Volatile Flavor Components in Olive and Walnut Oils. JAOCS, Vol. 82, N° 2: 105-110.

-Torres, M.; D. M. Maestri. **2006.** The effects of genotype and extraction methods on chemical composition of virgin olive oil from Traslasierra Valley (Córdoba, Argentina). *Food Chemistry* 96: 507-511

-Torres M.; Pierantozzi P.; Caceres M.; Labombarda P.; Fontanazza G.; and Maestri D. **2009.** Genetic and chemical assessment of Arbequina olive cultivar grown in Cordoba province, Argentina. *J Sci Food Agric.* 89: 523–530.

-Torres, M.; M. Martínez; P. Pierantozzi; M. Albanese; A. Nasjleti; D. Maestri. **2011.** Contribution of Compositional Parameters to the Oxidative Stability of Olive and Walnut Oil Blends. *JAm Oil Chem Soc.* 88:755–762

-Touss, J.; Romero, A.; Planas, J.; *et al.* **1997.** Características químico-sensoriales de los aceites de oliva «Arbequina» obtenidos en distintas zonas de España. *Grasas y Aceites* Vol. 48. Fase. 6: 415-424.

-Trentacoste E.; Banco A.; Piccoli P.; and Monasterio R. **2020.** Olive oil characterization of cv. ‘Arauco’ harvested at different times in areas with early frost in Mendoza, Argentina. *J Sci Food Agric.* 100: 953–960.

-Unión Europea, Official Journal of the. **2012.** Commission Regulation (EU) No 432/2012 of 16 May 2012 establishing a list of permitted health claims made on foods, other than those referring to the reduction of disease risk and to children’s development and health. L 136/1.

-Visioli F.; Borsani, L. y Galli, C. **2003.** Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of phytochemicals. *Cardiovascular Research,* 47: 419-425.

-Vissers, M. N.; Zock, P. L.; Katan, M. B. **2004.** Bioavailability and antioxidant effects of olive oil polyphenols in humans: a review. *E. J. C. N.* 58: 955-965.

-Wahle, W.; Carusob, D.; Ochoac, J. and Quilesc, J. L. **2004.** Olive Oil and Modulation of Cell Signaling in Disease Prevention. *Lipids.* Vol. 39, no. 12: 1223-1230.

-Weinbrenner, T.; Fito, M.; De la Torre, R.; Saez, G.; Rijken, P.; Tormos, C.; Coolen, S.; Albaladejo, M.F.; Abanades, S.; Schroder, H.; *et al.* **2004.** Olive oils high in phenolic compounds modulate oxidative/antioxidative status in men. *Nutr. Metab.* 134, 2314–2321.