

**UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE**  
**ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA**  
**Máster Universitario en Tecnología y Calidad Agroalimentaria**



**Efecto del riego deficitario controlado en la  
composición y calidad del aceite de oliva**

**TRABAJO FIN DE MÁSTER**

**Convocatoria ordinaria -2019**

AUTOR: José Miguel García Garví

DIRECTOR/ES: Ángel Antonio Carbonell Barrachina

Lucía Sánchez Rodríguez



# MÁSTER UNIVERSITARIO EN TECNOLOGÍA Y CALIDAD AGROALIMENTARIA

## VISTO BUENO DEL TRABAJO FIN DE MÁSTER

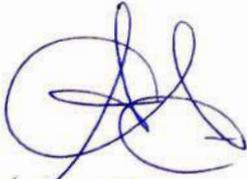
CURSO 2018/2019

Director/es del trabajo
Ángel Antonio Carbonell Barrachina Lucía Sánchez Rodríguez

Dan su visto bueno al Trabajo Fin de Máster

Título del Trabajo
Efecto del riego deficitario controlado en la composición y calidad del aceite de oliva
Alumno
José Miguel García Garví

Orihuela, a 2 de julio de 2019

 Ángel Carbonell	
Firma/s tutores trabajo	



## **MÁSTER UNIVERSITARIO EN TECNOLOGÍA Y CALIDAD AGROALIMENTARIA**

### **REFERENCIAS DEL TRABAJO FIN DE MÁSTER**

Título: Efecto del riego deficitario controlado en la composición y calidad del aceite de oliva

Title: Effect of controlled deficit irrigation on the composition and quality of olive oil

Modalidad (proyecto/experimental): Experimental

Type (project/research): Research

Autor/Author: José Miguel García Garví

Director/es/Advisor: Ángel Antonio Carbonell Barrachina; Lucía Sánchez Rodríguez

Convocatoria: Julio 2019

Month and year: July 2019

Número de referencias bibliográficas/number of references: 39

Número de tablas/Number of tables: 8

Número de figuras/Number of figures: 5

Número de planos/Number of maps: 0

Palabras clave (5 palabras): HidroSOStenibles, actividad antioxidante, composición volátil, aceite de oliva, perfil de ácidos grasos.

Key words (5 words): HydroSOSustainable, antioxidant activity, volatile composition, olive oil, fatty acids profile



## MÁSTER UNIVERSITARIO EN TECNOLOGÍA Y CALIDAD AGROALIMENTARIA

### **RESUMEN** (mínimo 10 líneas):

El olivo es uno de los cultivos más extendidos en toda España, sobre todo en Andalucía. Este tipo de cultivos ha pasado de secano, tradicional, a un modelo de cultivo de regadío, superintensivo. Este cambio hace que se requiera el uso de agua. Debido al cambio climático, la disminución de las reservas hídricas y la escasez de lluvias, es importante buscar metodologías de riego deficitario controlado. Este método de riego consiste en reducir la cantidad de agua aportada al árbol en momentos puntuales, como el engrosamiento del hueso, pero se necesitan nuevas investigaciones para controlar el momento, la duración y la intensidad de dicha restricción para evitar que la calidad, tanto físico-química como nutricional y organoléptica se vea perjudicada. En este estudio se han realizado 4 metodologías de riego en olivos plantados de forma superintensiva, con el fin de observar su efecto en la composición y características organolépticas de los aceites, demostrando que sí es posible modificar y mejorarlas, a la par que se reduce el consumo de agua. Por lo que se trata de alimentos hidroSostenibles, respetuosos con el medio ambiente de elevada calidad.

### **ABSTRACT** (10 lines or more):

Olive tree is one of crops more extended in Spain, especially in Andalucía. This type of crop has changed from drought, traditional cultivation system, to irrigation, superintensive cultivation system. This change make necessary the use of irrigation water. Due to climatic change, decrease in water reserves and shortage of rains, it is important to conduct research of new controlled deficit irrigation methodologies. This type of irrigation system consists in reducing the amount of irrigation water at trees at certain moments, such as stone thickening, but new researching about moment, duration and intensity of restriction are needed to avoid nutritional, physico-chemical and organoleptic quality. In this study, 4 irrigation system in superintensives olive trees were evaluated to analyze their effects on composition and organoleptic characteristic of olive oils, demonstrating that it is possible to improve olive oil characteristic, and as the same time save water. Because of that hydroSustainable, environmental friendly and of high quality.



*GRACIAS A MIS TUTORES ÁNGEL CARBONELL Y  
LUCÍA SÁNCHEZ POR SU TIEMPO Y  
DEDICACIÓN, Y A MI FAMILIA Y NOVIA POR EL  
APOYO INCONDICIONAL.*

## **Efecto del riego deficitario controlado en la composición y calidad del aceite de oliva**

<b>1. Introducción:</b> .....	7
<b>a. El olivo</b> .....	7
<b>b. Métodos de cultivo, variedades y recolección</b> .....	7
<b>c. Extracción del aceite</b> .....	8
<b>d. Clasificación de calidad del aceite</b> .....	9
<b>e. Producción de aceite</b> .....	11
<b>i. Aceites con Denominación de Origen Protegido</b> .....	12
<b>2. Objetivos:</b> .....	14
<b>3. Materiales y métodos</b> .....	15
<b>a. Diseño experimental y aceites de oliva</b> .....	15
<b>b. Parámetros de Calidad del aceite de oliva</b> .....	16
<b>i. Determinación de los ácidos grasos libres</b> .....	16
<b>ii. Determinación del índice de peróxidos</b> .....	17
<b>iii. Prueba espectrofotométrica en el ultravioleta (UV)</b> .....	17
<b>c. Ácidos grasos</b> .....	18
<b>d. Compuestos volátiles</b> .....	18
<b>e. Actividad antioxidante total y contenido fenólico total</b> .....	19
<b>f. Análisis sensorial</b> .....	20
<b>g. Análisis estadístico</b> .....	20
<b>4. Resultados y discusión</b> .....	21
<b>a. Riegos aplicados</b> .....	21
<b>b. Parámetros de Calidad del Aceite de Oliva</b> .....	21
<b>c. Ácidos grasos</b> .....	22
<b>d. Compuestos volátiles</b> .....	23
<b>e. Actividad antioxidante total y contenido fenólico total</b> .....	25
<b>f. Análisis sensorial</b> .....	26
<b>5. Conclusiones</b> .....	28
<b>6. Bibliografía</b> .....	29

## 1. Introducción:

### a. El olivo

El olivo (*Olea europea*) es un árbol perteneciente a la familia de las Oleáceas. Se trata de un cultivo de hoja perenne y lanceolada. Su origen se ha establecido en Asia menor, desde la cual se expandió, gracias a las civilizaciones fenicia, griega y romana, por toda la cuenca mediterránea. Con el descubrimiento de América, se extendió por el continente americano, donde pervive un olivo de la época de la colonización en Argentina (COI, 2019). El cultivo se ha extendido a diversos países como Japón.

Se trata de una especie con una vecería acusada. La vecería es el comportamiento que presenta el olivo, en el que se alternan años de producción elevada con años de producción reducida, aunque con un buen control del riego y poda se puede reducir dicha variación.

### b. Métodos de cultivo, variedades y recolección

Existen diferentes metodologías de plantación de olivo, que depende de factores como el tipo de suelo, orografía y destino de la oliva, agrupadas en tres grandes grupos (Esencia de Olivo, 2019):

- **Tradicional:** es el método más extendido en la cuenca mediterránea. Una de sus características es la reducida densidad, menor de 100 plantas por hectárea, plantados en cuadrícula con una separación de 10 a 12 metros, y pueden llegar a contar con olivos centenarios. Este sistema de cultivo se diferencia en dos subgrupos, mecanizable o no mecanizable, en función de la pendiente del terreno. El mecanizable tiene una pendiente menor al 20% y permite aumentar la densidad introduciendo plantas nuevas entre las ya existentes, mientras que el no mecanizable se encuentra en terrenos con una mayor pendiente, imposibilitando el empleo de maquinaria, como tractores.
- **Intensivo:** formado por olivos jóvenes de un solo pie, a diferencia de los 3 o 4 empleados en el sistema tradicional, plantados en cuadrículas de 6 × 6 metros y aislados unos de otros. Este método está adaptado para permitir la recogida del fruto con paraguas vibradores.
- **Superintensivo:** los olivos están dispuestos en hileras formando un seto, con una densidad elevada, entre 1.000 y 2.000 olivos por hectárea. La vida media de estos árboles es de unos 15 años, siendo recolectados por cosechadoras.

En función del destino de las aceitunas, se crean dos vertientes diferentes, aceituna de mesa y aceituna de almazara. La aceituna de mesa es aquella que tras una serie de procesos bioquímicos, como oxidación y fermentación, se toma como aperitivo o como ingrediente en elaboraciones culinarias. La aceituna de almazara es aquella que está destinada a ser empleada para la extracción de aceite. Esta diferenciación se realiza por diferentes aspectos tecnológicos, como son el contenido graso y la facilidad de molturación. Dentro de las aceitunas de mesa, la principal variedad empleada es la *Manzanilla*, muy extendida en la provincia de Sevilla, en las destinadas a almazara destacan la variedad *Picual* y la *Arbequina*, que aportan perfiles sensoriales muy diferentes. También existen variedades que pueden ser destinadas a cualquiera de las dos vertientes descritas, aunque son menos comunes, como la variedad *Gordal Sevillana* (Infoagro, 2016)

Respecto a los métodos de recogida para las aceitunas de almazara, se pueden clasificar en dos grupos principales, en función del sistema de cultivo (Porras Soriano A. et al, 2013):

- **Tradicional:** también denominado “vareado” o “vareo”, es el método más antiguo y es el empleado en los sistemas de cultivo tradicional no mecanizable. En este método, los recolectores, agrupados en “cuadrillas de aceituneros” tiran los frutos del árbol al suelo, que previamente han cubierto con mantones fabricados a partir de filamentos de polietileno de alta densidad que cuentan con refuerzos cada metro o metro y medio, en función del tamaño, con varas de diversos materiales, desde maderas duras hasta fibra de carbono. Actualmente se está extendiendo el uso de maquinaria portátil y de fácil manejo, entre la que destacan los vibradores, que se colocan en las ramas principales de los olivos y las sacuden hasta tirar los frutos al suelo, o los denominados peines, formados por dos elementos móviles que cada uno cuenta con varias varillas que, al entrecruzarse tiran el fruto al mantón. Posteriormente, los mantones se vacían en sacas, espuestas o en remolques, en función de la orografía del terreno y su accesibilidad.
- **Mecanizado:** ampliamente empleado en los cultivos superintensivos y en menor medida en el cultivo tradicional mecanizable. En este sistema existen una gran variedad de maquinarias empleadas, generalmente montadas sobre tractores o cosechadoras. Destacan los “paraguas vibratorios”, que rodean el tronco de los olivos con una lona con los extremos elevados y lo agitan, recogiendo así la aceituna, que pueden ser autopropulsados o montados sobre los tractores, y en el olivar superintensivo, principalmente es recogido por cosechadoras, que peinan los olivos con formación en seto y depositan los frutos en remolques que las acompañan.

Una vez recolectada la aceituna, es vital que el tiempo entre dicha recolección y la molturación sea el menor posible, así como evitar en la mayor medida posible que las aceitunas, por efecto del peso de las superiores, se aplasten, ya que supondría el inicio de la aparición de defectos en el aceite, como por ejemplo “atrojado” y “borras”.

### c. Extracción del aceite

Una vez la aceituna llega a la almazara, se procede a su limpieza, primero por corriente de aire, para eliminar los restos de ramas y hojas provenientes de la cosecha, y posteriormente pasa por un sistema de aspersión que permite eliminar piedras, polvo y otros objetos pesados. Posteriormente se pasa a la etapa de molienda, que tradicionalmente se ha realizado con molinos de piedra, ya en desuso, que se han sustituido por molinos mecánicos de martillos, de cilindros estriados o cilindros lisos. En la molienda se genera una pasta en la que aún está presente el hueso. La etapa siguiente es el batido de la pasta, para facilitar la separación del aceite de los compuestos sólidos. El siguiente paso consiste en una separación sólido-líquido, que puede ser por dos métodos distintos (Aceitedeoliva.com, 2017):

- **Método tradicional o por prensas:** consiste en colocar diversas capas de capachos, recipientes realizados con cuerdas de esparto, rellenos con la pasta de aceituna anterior y mediante el empleo de prensas mecánicas se genera presión para separar el contenido líquido del sólido. Este método está casi en desuso por la facilidad de aparición de defectos asociados al flavor del aceite, además de ser más lento.

- **Sistema continuo de extracción:** basado en la diferencia de densidades de los compuestos que forman la pasta, por lo que se separan mediante el uso de una centrífuga horizontal o decánter. En este tipo de sistemas se puede hacer una segunda clasificación, en función de los productos generados:
  - **Sistema en tres fases:** es el método de separación en continuo más antiguo. Emplea una corriente de agua en el mismo sentido que la circulación de la pasta. En este método se generan tres productos: una fase acuosa con restos de aceite, denominada alpechín, aceite con restos de agua y la pulpa con bastante humedad, denominada orujo.
  - **Sistema en dos fases:** método más moderno, que reduce el uso de agua, siendo un sistema más respetuoso para el medioambiente. En este método se genera aceite por un lado, con restos de agua de vegetación, y por otro se genera la pulpa con el agua de vegetación presente de forma natural en las aceitunas, denominado alpeorujo.
  - Una vez separados de la fase sólida, los denominados aceites sucios pasan por una fase de separación líquido-líquido, que permite eliminar el agua residual y los posibles restos de sólidos que puedan haber quedado disueltos. Para ello se emplean bañeras o depósitos, método tradicional, separando por densidades, o por centrífugas verticales, que separan el aceite del resto de componentes. El último paso es almacenar el aceite en grandes depósitos de acero inoxidable, realizando previamente un ligero aireado, para favorecer cambios deseables en el flavor del aceite. El aceite de oliva se puede envasar de formas muy diferentes, desde tarrinas de plástico monodosis de uso alimentario hasta latas de metal de 5 litros, siendo preferible el empleo de componentes opacos para proteger el aceite de la luz (Aceitedeoliva.com, 2017).

#### d. Clasificación de calidad del aceite

Para la clasificación realizada por el Comité Oleícola Internacional (COI) se emplean parámetros físico-químicos (% de acidez expresada en ácido oleico, índice de peróxidos, expresado en miliequivalentes de oxígeno de peróxidos por Kg de aceite y la absorbancia en el espectro UV, entre otros) y organolépticos (sabor y olor, diferenciados en defecto y frutado), como se recoge en la **Tabla 1** (COI, 2007). Hay que tener en cuenta que el análisis sensorial oficial se debe realizar por un panel especializado en la cata de aceite, y reconocido por el COI. La clasificación es la siguiente:

- **Aceite de oliva virgen extra (AOVE):** se trata del aceite de mejor calidad, obtenido de aceitunas en buen estado, con buen sabor y sin defectos y una acidez inferior a 0.8%.
- **Aceite de oliva virgen (AOV):** inferior al AOVE, puede presentar defectos organolépticos, una acidez máxima del 2%.
- **Aceite de oliva virgen corriente (AOVC):** puede tener una acidez máxima de 3,3%, y su comercialización no está permitida en todos los países.
- **Aceite de oliva virgen lampante (AOVL):** se trata de aceite no apto para consumo humano, por lo que necesita un proceso de refinado. La acidez de esta categoría es superior al 3,3%.

## Introducción

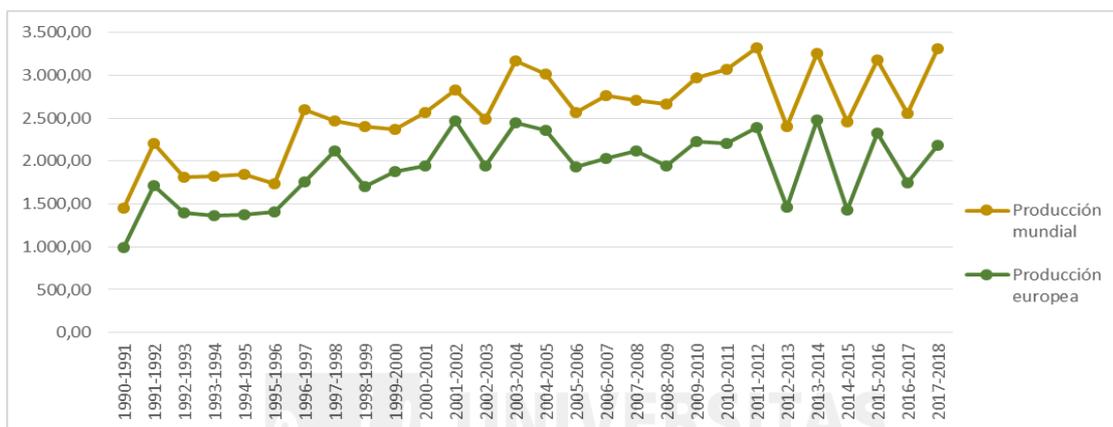
- **Aceite de oliva refinado (AOR):** obtenido mediante el refinado de los aceites de oliva vírgenes por procesos que no modifiquen la estructura glicérica inicial, y deben tener una acidez máxima de 0,3%.
- **Aceite de oliva (AO):** se trata del aceite formado por la mezcla de aceite de oliva refinado y aceite de oliva apto para el consumo, con una acidez máxima de 1%.
- **Aceite de orujo de oliva:** es el aceite extraído por tratamientos con disolventes u otros procedimientos físicos de los orujos obtenidos de la elaboración de aceite en las almazaras, a excepción de procedimientos de reesterificación y aceites de otra naturaleza. Esta categoría se divide a su vez en tres grupos:
  - Aceite de orujo de oliva crudo: destinado a refinado para consumo humano o a usos técnicos.
  - Aceite de orujo de oliva refinado, obtenido a partir del aceite anterior por métodos que no modifiquen la estructura glicérica.
  - Aceite de orujo de oliva, elaborado a partir de la mezcla de aceite de orujo de oliva refinado y de aceite de oliva virgen apto para el consumo humano.

**Tabla 1.** Clasificación de los aceites en función de los parámetros de calidad

	AOVE	AOV	AOVC	AOVL	AOR	AO	Aceite de orujo de oliva crudo	Aceite de orujo de oliva refinado	Aceite de orujo de oliva
<b>Características organolépticas</b>									
Olor y sabor (sobre una escala continua)					Aceptable	Bueno		Aceptable	Bueno
Mediana del defecto	Me = 0	0 < M < 3,5							
Mediana del frutado	Me = 0	Me > 0	3,5 < Me ≤ 6,00	Me > 6,0					
Color					Amarillo claro	Claro, Amarillo-verde		Amarillo a amarillo oscuro	Claro, amarillo a verde
Aspecto a 20°C tras 24 horas					Límpido	Límpido		Límpido	Límpido
<b>Acidez libre</b>									
% m/m expresada en ácido oleico	≤ 0,8	≤ 2,0	≤ 3,3	> 3,3	≤ 0,3	≤ 1,0	No limitada	≤ 0,3	≤ 1,0
<b>Índice de peróxidos</b>									
En meq. de oxígeno de peróxidos/kg de aceite	≤ 20	≤ 20	≤ 20	No limitado	≤ 5	≤ 15	No limitado	≤ 5	15
<b>Absorbancia en UV (K 1%) 1cm</b>									
270 nm	≤ 0,22	0,25	≤ 0,30		≤ 1,10	≤ 0,90		≤ 2,00	≤ 1,70
Δ K 232	≤ 0,01	0,01	≤ 0,01		≤ 0,16	≤ 0,15		≤ 0,20	≤ 0,18

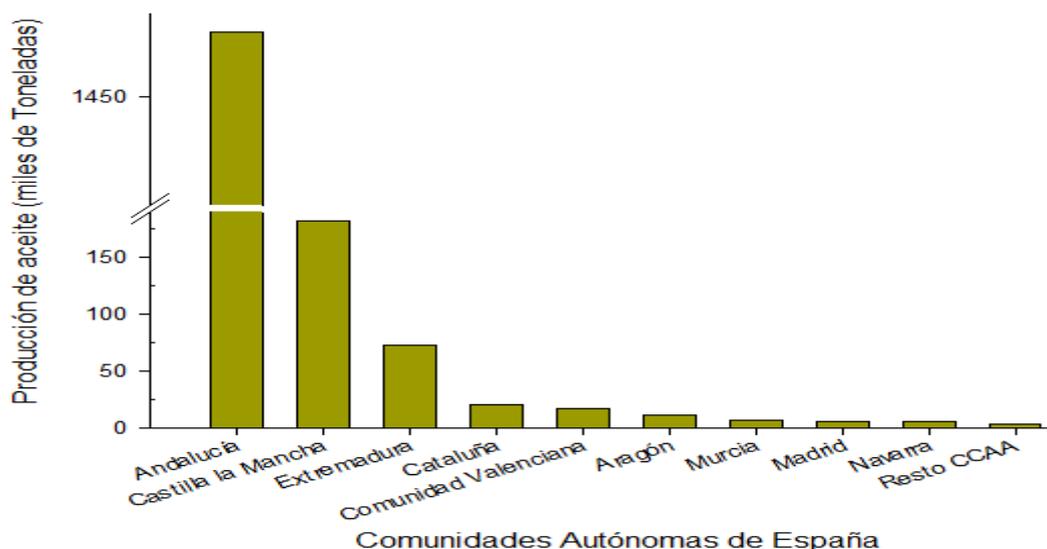
**e. Producción de aceite**

El aceite de oliva ha experimentado un gran aumento de producción a nivel global (*Ilustración 1*), debido al aumento de publicaciones y de información acerca de lo beneficios saludables que genera su consumo cotidiano (Lombardo et al., 2018). Según el COI (2018), en los últimos datos publicados, se alcanzaron un total de 3.314 miles de toneladas de aceite a nivel mundial, de las cuales 2.186 miles de toneladas fueron producidas en Europa. Fuera de Europa, los principales productores de aceite de oliva fueron Túnez, Turquía y Marruecos, con 280, 263 y 140 miles de millones de kg en 2018. A nivel europeo, el principal productor de aceite de oliva es España, seguido de Italia y Grecia, con 1.260, 429 y 320 miles de millones de kg, respectivamente. Por tanto, se observa una clara relación entre los países de la zona mediterránea y la producción, siendo España el principal productor a nivel mundial.



*Ilustración 1: evolución de la producción a nivel mundial y europeo en miles de toneladas (T). Fuente: COI (2018)*

A nivel nacional, en la campaña 2018-2019 se ha obtenido un total de 1.783.071 toneladas de aceite, siendo la Comunidad Autónoma de Andalucía la mayor productora, con 1.455.938 toneladas (*Ilustración 2*).



*Ilustración 2: distribución de la producción nacional de aceite de oliva. Resto CCAA engloba la producción de La Rioja, Castilla y León, Baleares, País Vasco y Galicia. Fuente: COI (2019)*



aquellos productores que, mediante el riego deficitario, consigan realizar una producción ecosostenible, a la par que dicha marca significa un aspecto distintivo frente a la competencia, puesto que además, se consiguen mejorar algunas características funcionales y sensoriales de los productos, con lo que el precio podría incrementarse, ya que mediante diversos estudios se observa que el consumidor está dispuesto a pagar un precio más elevado por aquellos productos que estén certificados como sostenibles (Noguera-Artiaga Luis; Lipan Leontina, 2016).



**Ilustración 4.** Logos de la marca *HydroSOS Foods* para productos nacionales e internacionales.

Respecto a los efectos producidos en los productos obtenidos a partir del olivo sometido a riego deficitario, se están realizando investigaciones sobre el efecto en las características de los aceites y las aceitunas de mesa, como su capacidad antioxidante y el perfil lipídico, entre otros parámetros. En el caso de las aceitunas de mesa, Cano-Lamadrid et al. (2017) observó como el ácido oleico, el ácido graso monoinsaturado con mayor presencia en el aceite aumentaba ligeramente, mientras que en el caso del aceite en la campaña del 2018 Sánchez-Rodríguez, Kranjac, et al. (2019) determinó que no se producía una merma de la calidad de los aceites analizados a pesar de realizar diversos niveles de riego deficitario.

## 2. Objetivos:

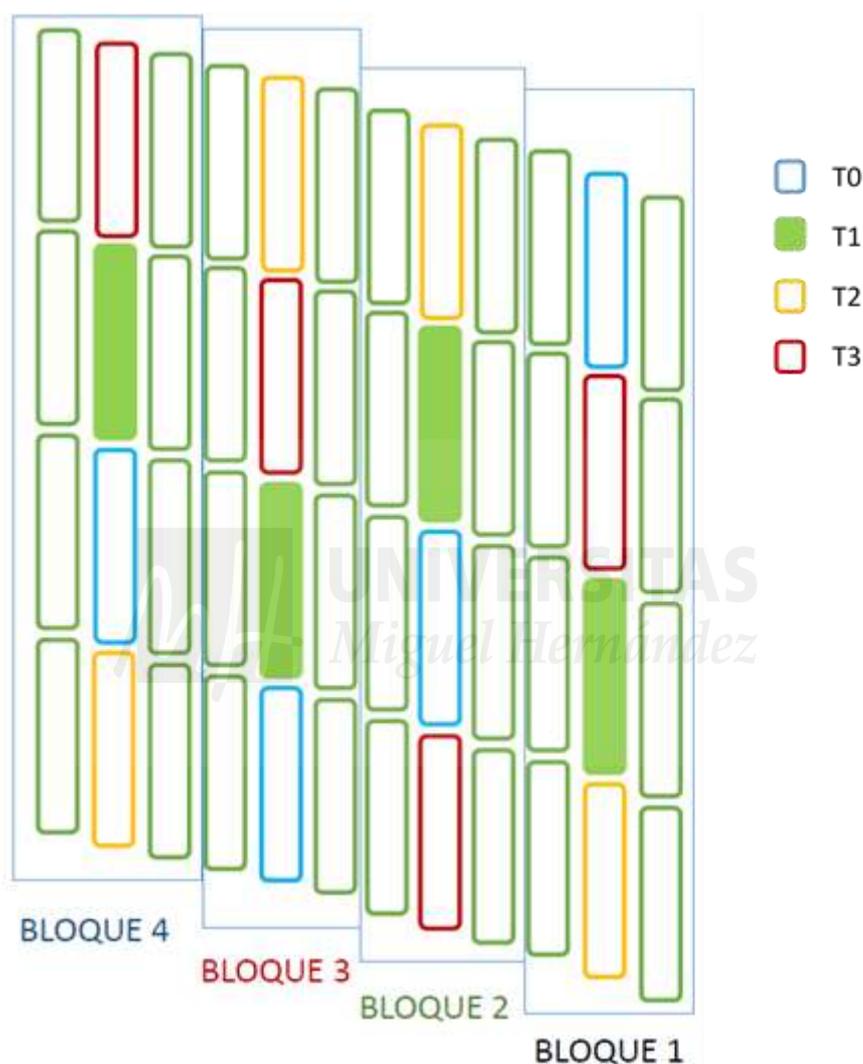
El objetivo de este Trabajo Fin de Máster fue determinar qué método de riego deficitario controlado permite reducir el consumo de agua de riego, pero manteniendo o mejorando la calidad general (nutricional, funcional y sensorial) del aceite de oliva. Para su consecución, se analizaron parámetros de calidad [acidez libre, índice de peróxidos, pruebas espectrofotométricas (parámetros K)], el perfil lipídico, los compuestos aromáticos volátiles y la calidad sensorial, mediante un panel entrenado.



### 3. Materiales y métodos

#### a. Diseño experimental y aceites de oliva

El experimento se llevó a cabo en árboles de 12 años de la variedad “Arbequina” localizados en Carmona (37,49° N, -5,67° W, Sevilla, España). El cultivo tiene una densidad superintensiva (4,0 m × 1.5 m), 360 m<sup>2</sup>, y cuenta con 60 árboles en seto organizados en líneas de 30 m. El diseño experimental se realizó con bloques distribuidos al azar con 4 repeticiones por tratamiento de riego. En la *Ilustración 5* se puede observar la distribución del ensayo.



*Ilustración 5. Distribución de los bloques y tratamientos de riego realizados*

La recolección se realizó con una cosechadora mecánica cuando las aceitunas presentaban un índice de madurez de 1,9. Cada bloque se recolectó en días consecutivos y la media de producción fue de 7.117 kg/ha.

El aceite de oliva se elaboró utilizando una Almazara Frantoino Bio (Toscana Enológica Mori, Florencia, Italia) mediante extracción de 2 fases a 40-50 kg/h. Se molturaron 100 kg de aceitunas de cada uno de los tratamientos de cada bloque. En primer lugar, se limpiaron y lavaron las aceitunas, y se transfirieron a la batidora, dónde se mantuvieron durante 20 minutos a una temperatura inferior a 28 °C. A continuación, la

pasta obtenida de la batidora pasa al molino, dónde estuvo 15 minutos y finalmente se obtuvo el alperoujo y el aceite de oliva.

El potencial de tallo a medio día ( $\Psi$ ) se determinó semanalmente utilizando una cámara de presión (PMS Instrument Company, Albania, USA) en 4 árboles por tratamiento (24 de marzo a 20 de octubre, 2018). La integral de estrés (IS) se calculó según la ecuación 1 para describir el efecto acumulativo de los tratamientos de riego deficitario desde el principio del endurecimiento del hueso hasta la cosecha.

$$(1) \quad IS = \int (\Psi - (-0,2)) \times n$$

donde IS es la integral de estrés,  $\Psi$  es la media del potencial de tallo mínimo para cualquier intervalo y n es el número de días del intervalo.

Los tratamientos de riego se establecieron siguiendo la técnica de la cámara de presión y los umbrales de  $\Psi$  antes y después del endurecimiento del hueso de la aceituna y son los siguientes:

- **Control (T1):** los árboles se regaron para suplir el 100 % de la evapotranspiración.
- **RDC óptimo (T2):** los árboles estuvieron sin restricción de agua durante las fases de crecimiento I y III mientras que, en la fase II se aplicó el riego deficitario controlado.
- **RDC confederación (T3):** en este tratamiento los árboles se trataron igual que en el T1 pero restringiendo el riego a la lámina de agua suministrada por la confederación hidrográfica del Guadalquivir (2.906 m<sup>3</sup>/ha y año).
- **RDS confederación (T4):** en este tratamiento los árboles se sometieron a riego deficitario sostenido con la lámina de agua permitida por la confederación hidrográfica del Guadalquivir (2.906 m<sup>3</sup>/ha y año).

En la tabla 2 se pueden observar los resultados de IS y el potencial de tallo mínimo (min  $\Psi$ ) que se obtuvieron para los tratamientos de riego aplicados.

#### b. Parámetros de Calidad del aceite de oliva

Los siguientes parámetros de calidad del aceite, así como los métodos de análisis de los mismos están recogidos en el reglamento Europeo 2568/91, con sus sucesivas modificaciones, y son empleados para clasificar los aceites en las distintas calidades establecidas.

##### i. Determinación de los ácidos grasos libres

Los ácidos grasos libres se determinarán como la acidez expresada en ácido oleico. Para medirla, se empleó una disolución 0.5M de KOH en etanol, una dilución etanol:éter etílico 1:1 v/v y una solución de fenolftaleína en metanol de 95% v/v como indicador de viraje. Se emplearon 10 g de aceite de oliva, a los que se añadió 50 mL de la solución etanólica, previamente neutralizada, y se valoró la solución hasta el punto de viraje de la fenolftaleína.

La acidez, expresada en porcentaje de ácido oleico se calculó:

$$(2) \quad \% \text{ oleico} = V \times c \times M / 1000 \times 100 / P = (V \times c \times M) / (10 \times P)$$

donde V es el volumen en mL de la solución valorada de KOH; c es la concentración de la solución de KOH; M es 282, el peso molecular del ácido oleico; y P es el peso en gramos de la muestra (CEE, 1991).

## ii. Determinación del índice de peróxidos

El índice de peróxidos (IP) es la cantidad (expresada en miliequivalentes de oxígeno activo por kg de grasa) de peróxidos en la muestra que ocasionan la oxidación del yoduro potásico en las condiciones de trabajo descritas.

Para medir el contenido en peróxidos de las muestras fue empleada una solución saturada (1 g/mL) de yoduro de potasio en agua destilada, cloroformo, ácido acético glacial, una disolución en agua destilada de tiosulfato sódico 0,01 N y una disolución de almidón al 1 % como indicador de viraje. En este caso se emplearon 2 g de muestra, a los que se añadieron 10 mL de cloroformo y se agitaron para disolver bien la fase oleosa. Posteriormente se añadieron 15 mL de ácido acético glacial y se volvió a someter a agitación para homogeneizar el contenido. A continuación, se añadió 1 mL de la solución de IK y se mantuvo 5 minutos en oscuridad. Por último, se añadieron 75 mL de agua destilada y unas gotas de la solución de almidón, y se valoró con la solución de tiosulfato de sodio, hasta cambio de color de amarillo a transparente.

El IP, expresado en mEqu O<sub>2</sub>/kg, se calcula siguiendo la ecuación número 3,

$$(3) \quad IP = (V \times N \times 1000)/P$$

donde V, son los mL de IK empleados en el ensayo; N, es la normalidad de la solución de IK; y P, es el peso en gramos de la muestra (CEE, 1991).

## iii. Prueba espectrofotométrica en el ultravioleta (UV)

Esta prueba, puede proporcionar indicaciones sobre la calidad del aceite de oliva, su estado de conservación y las modificaciones inducidas en él por los procesos tecnológicos. Las absorciones que se emplean se deben a la presencia de sistemas diénicos y triénicos conjugados que son resultado de los procesos de oxidación y/o de las prácticas de refinación. Los valores de estas se expresan en extinciones específicas de la materia grasa al 15 en el disolvente, en un espesor de 10 mm que, convencionalmente se expresa como K (coeficiente de extinción).

Para medir los Índices K<sub>270</sub> y K<sub>232</sub>, y la variación de la extinción específica ( $\Delta K$ ) se empleó ciclohexano como disolvente, cubetas de cuarzo de 1 cm y un espectrofotómetro Helios Gamma, 1002E (Helios, Cambridge, UK) ajustado a las longitudes de onda ( $\lambda$ ) de  $\lambda=270$  nm,  $\lambda=266$  nm,  $\lambda=274$  nm y  $\lambda=232$  nm.

Para la medición a longitudes de onda de 270, 266 y 274 se emplearon 0,25 g de muestra, a los que se enrasó en un matraz aforado de 25 mL con ciclohexano. Esta mezcla se introdujo en las cubetas de cuarzo y se midió su absorbancia a las tres longitudes anteriormente citadas. Para la medición a  $\lambda=232$  se emplearon 0,05 g de muestra y se enrasó a 25 mL siguiendo el mismo procedimiento previamente descrito.

Todas las absorbancias obtenidas deben encontrarse en el rango de 0.1 a 0.8, teniendo que realizar una operación de concentrado si se obtienen valores inferiores o una dilución en el caso de obtener resultados superiores.

Los coeficientes de extinción se calcularon siguiendo la ecuación 4:

$$(4) \quad k\lambda = E\lambda/(c \times s)$$

donde  $k\lambda$  es la extinción específica a la longitud de onda  $\lambda$ ;  $E\lambda$ , es la extinción medida a la longitud de onda  $\lambda$ ; c es el coeficiente de la solución en g/100 mL; y s es la longitud de paso de la cubeta de cuarzo en cm.

La variación de la extinción específica ( $\Delta K$ ) se calculó según la ecuación 5:

$$(5) \quad \Delta K = |K_m - [(k\lambda_m - 4 + k\lambda_m + 4)/2]|$$

donde  $K_m$  es la extinción específica a la longitud de onda de máxima absorción a 270 nm (CEE, 1991)

### c. Ácidos grasos

Los ésteres de los ácidos grasos de los aceites de oliva se prepararon siguiendo la norma ISO-12966-2 (2017). Se empleó C13:0 (0,04 mg/L) como patrón interno para poder realizar la cuantificación de los ácidos grasos identificados.

Para realizar la identificación y cuantificación de los ácidos grasos se utilizó un cromatógrafo de gases (C-17<sup>a</sup>; Shimadzu Corporation, Kyoto, Japón) conectado a un detector de ionización de llama (FID) siguiendo el método establecido según la norma ISO-12966-4 (2015) con algunas modificaciones. Se empleó una columna CPSil-88 (100 m × 0,25 mm ID. 0,2 μm de espesor; J&W 112-88A7; Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Esta columna se caracteriza por ser especial para la separación de los ácidos grasos del aceite de oliva. El detector estaba a 260 °C y los aceites se inyectaron con un Split de 1:20. La temperatura del horno se mantuvo a 175 °C durante 10 minutos y se subió hasta 220 °C (3 °C/min) y se mantuvo a 220 °C durante 5 min. Se utilizó helio como gas portador e hidrógeno (30 mL/min) y aire (350 mL/min) como gases del detector. Para realizar la identificación de los compuestos se empleó una solución estándar (FAME 37 MIX, Supelco, Bellefonte, PA, USA) que se inyectó bajo las mismas condiciones que los aceites de oliva.

### d. Compuestos volátiles

#### i. Preparación de las muestras

La extracción de los compuestos volátiles presentes en las muestras se llevó a cabo mediante la microextracción en fase sólida en espacio de cabeza (*SPME-HS* por sus siglas en inglés). Para ello se introdujo una fibra 50/30 μm DVB/CAR/PDMS en un vial de 15 mL en el que se encontraban 5 mL de muestra, 1 g de sal, para favorecer la liberación de aromas desde la matriz al espacio de cabeza del vial (Sánchez-Rodríguez, Kranjac, et al., 2019) y 10 μL de 2-metilpirazina con una concentración de 1000 ppm, empleada como patrón interno para una posterior cuantificación de los compuestos obtenidos, ya que se trata de un compuesto que no se ha encontrado en la bibliografía consultada sobre la composición aromática de los aceites de oliva. Dicho vial con la muestra y la fibra se mantuvo durante 45 minutos, siendo los 5 primeros de estabilización, en un baño termostataado a 40 °C con agitación magnética a 650 rpm.

#### ii. Análisis de las muestras

El análisis de los compuestos volátiles se llevó a cabo mediante un cromatógrafo de gases Shimadzu GC-17A acoplado a un espectrómetro de masas Shimadzu QP-5050A (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japón). Para la correcta separación de los compuestos, se empleó una columna Rxi-1301Sil MS (Restek Corporation, Bellefonte, USA), con una longitud de 30 metros, un espesor de 1 μm y un diámetro de 0,25 mm. Como gas portador se empleó una corriente de helio, con un flujo en columna de 0,6 mL s<sup>-1</sup> y una velocidad lineal de 28,1 cm s<sup>-1</sup>, obteniendo un flujo total de 4 mL min<sup>-1</sup>. La temperatura del inyector se fijó en 230 °C y la temperatura de detección en 300 °C. La desorción de los compuestos volátiles en el inyector se realizó durante un tiempo de 3 min con el fin de

asegurar la total transferencia de todos los compuestos a la columna de análisis. La temperatura inicial del horno fue de 80 °C y se incrementó hasta 160 °C con una rampa de 2,5 °C min<sup>-1</sup>. Una vez alcanzada dicha temperatura, se sometió a una rampa de 25 °C min<sup>-1</sup> hasta los 300 °C que se mantuvieron durante 0,40 min más. Los resultados del análisis se obtuvieron en forma de cromatograma, en el que se reflejan los tiempos de retención, las áreas de cada compuesto y la altura de los mismos, datos que sirven para su identificación y cuantificación, en función del área obtenida por el patrón

### iii. Caracterización de las muestras

Una vez obtenidos los cromatogramas de las muestras, en cada uno se analizaron los picos de forma independiente y manual, mediante el software informático *GCMS Postrun Analysis* (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japón). Una vez integrados, se procedió a caracterizar los compuestos detectados por 3 métodos distintos: (i) las librerías de masas Wiley 229 y NIST14; (ii) los índices de retención o Kovats obtenidos mediante la inyección de patrones lineales (n-alcenos) y la fórmula  $100 * \left( \frac{R_T - R_{t0}}{R_{t1} - R_{t0}} \right) + N$ , donde  $R_T$  es el tiempo de retención del compuesto problema,  $R_{t0}$  el tiempo de retención inmediatamente inferior de uno de los alcanos,  $R_{t1}$  el tiempo de retención inmediatamente superior de uno de los alcanos empleados como patrón y  $N$  el número de carbonos del patrón cuyo tiempo de retención es inmediatamente inferior al generado por el compuesto problema (Goodner, 2008); y (iii) los espectros de retención de los compuestos químicos puros. Una vez identificados todos los compuestos, se corroboró dicha identificación contrastando los índices obtenidos con los índices publicados en la página web del *National Institute of Standards and Technology* (NIST por sus siglas en inglés) para la misma columna empleada o de similares características (NIST, 2019)

### e. Actividad antioxidante total y contenido fenólico total.

Las extracciones de compuestos polifenólicos y antioxidantes se realizaron siguiendo el método previamente empleado por Tuberoso et al. (2007)). Se hizo una doble extracción con metanol:agua (80:20 v/v) que posteriormente se evaporó y se reconcentró con metanol puro. Estos extractos se emplearon para medir:

- **Contenido total de polifenoles (TPC por sus siglas en inglés)** empleando el reactivo de Folin-Ciocalteu y el método descrito por (Gao et al., 2000). La absorbancia se midió utilizando el espectrofotómetro Helios Gamma, UGV 1002E (Helios, Cambridge, UK). Se utilizó ácido gálico para realizar la recta de calibrado y el resultado se expresó en mg de ácido gálico/L.
- **Actividad antioxidante (AA)**. Las rectas de calibrado se realizaron Trolox y los resultados se expresaron en mMol de equivalentes de Trolox/L de aceite de oliva. La absorbancia fue medida empleando el mismo espectrofotómetro anteriormente indicado. Se emplearon tres métodos para medir la AA:
  - **ABTS<sup>+</sup>** (*azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)*). Se realizó siguiendo el método establecido según Re et al. (1999).
  - **DPPH<sup>•</sup>** (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*). Según Brand-Williams et al. (1995)
  - **FRAP** (*ferric reducing antioxidant power*). Según el método previamente indicado por (Benzie & Strain, 1996)

**f. Análisis sensorial**

Un análisis sensorial descriptivo fue realizado por el panel de cata del grupo de Calidad y Seguridad Alimentaria (CSA) de la Universidad Miguel Hernández de Elche (Alicante, España). El panel estuvo formado por 8 catadores con más de 600 horas de entrenamiento en análisis sensorial, especialmente en productos de origen vegetal y con una formación especial en análisis sensorial de aceite de oliva, realizada por el panel de cata oficial de aceite de oliva de la Región de Murcia (acreditado por ENAC). Los panelistas tenían un rango de edad de 25 a 55 años y fueron 4 hombres y 4 mujeres.

Se realizaron 4 sesiones de cata en la que cada panelista realizó el análisis sensorial de 4 muestras de aceite de oliva (1 sesión por tratamiento de riego). Se emplearon las condiciones de realización de la cata establecidas según la normativa europea (CEE, 1991), al igual que las hojas de cata oficiales, según el mismo reglamento. Se evaluaron, en una escala de 0 a 10, los atributos positivos (frutado, amargo y picante) así como los negativos (atrojado/borras, mohoso/húmedo/terroso, avinado/avinagrado/ácido/agrio, aceitunas congeladas (madera húmeda), rancio y otros) que son característicos del aceite de oliva y cuyas definiciones se pueden encontrar en la normativa anteriormente citada.

**g. Análisis estadístico**

Todos los resultados obtenidos de los análisis anteriores fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de rangos múltiples de Tukey. Para ello se utilizó el software StatGraphicsPlus 5.0 Software (Manugistics, Inc., Rockville, Maryland, Estados Unidos). La diferencia significativa fue definida como  $p < 0,05$ , y en todas los análisis se realizaron 4 repeticiones.

#### 4. Resultados y discusión

##### a. Riegos aplicados.

En la **Tabla 2** se puede observar el estrés generado al olivo, a través de los parámetros potencial del tallo mínimo (a menor valor, más estrés) e integral de estrés (a mayor valor, mayor estrés). El tratamiento de riego que mayor estrés produjo fue el Tratamiento 3 (menor valor de  $\min \Psi_{\text{stem}}$  y mayor de IS).

**Tabla 2.** Condiciones de estrés alcanzados en los olivos durante la temporada 2018. Potencial de tallo mínimo ( $\min \Psi_{\text{stem}}$ ) expresado en MPa e integral de estrés (IS) expresado en MPa x día.

Muestra	Min $\Psi_{\text{stem}}$ (MPa)	IS (MPa × día)
ANOVA <sup>†</sup>		
	*	*
Test de Rangos Múltiples Tukey		
T1	-2,12 a <sup>‡</sup>	18,2 c
T2	-2,74 a	40,7 bc
T3	-4,71 b	139,5 a
T4	-3,75 ab	104,6 b

<sup>†</sup> \*diferencias estadísticas significativas cuando  $p < 0,05$ . <sup>‡</sup> Letras diferentes en la misma columna significa diferencias estadísticas significativas.

Teniendo en cuenta que se trata de un proyecto que comenzó en la campaña anterior, el estrés hídrico al que se ha sometido el bloque de olivos de cada tratamiento ha sido similar (Sánchez-Rodríguez, Kranjac, et al., 2019) al del año anterior, aunque la variabilidad de los valores de los parámetros bajo estudio fue menor. De este modo, las diferencias sí llegaron a ser significativas en el caso de la campaña de 2018. En principio, los niveles de estrés hídrico deberían ser independientes entre campañas, siempre que no se superen valores críticos que hagan que el metabolismo de la planta o árbol se vea seriamente modificado

##### b. Parámetros de Calidad del Aceite de Oliva

Los datos obtenidos de la calidad del aceite de oliva se reflejan en la **Tabla 3**. Se puede observar que todos los aceites obtuvieron una calificación AOVE, según los rangos establecidos por la normativa vigente (CEE, 1991; COI, 2007). El único parámetro que mostró diferencias significativas fue el índice de acidez, siendo el tratamiento “control” el que obtuvo una acidez mayor y los tratamientos T2 y T3 los que menor acidez mostraron, 0,42 %, 0,19 % y 0,15% de ácido oleico, respectivamente. Estos datos indican que la aplicación de un riego deficitario no empeora la calidad del AOVE. Dag et al. (2015) realizó tratamientos similares a este estudio, llegando a la conclusión de que el riego deficitario mejora las características y calidad del aceite, pero si se realiza un riego deficitario excesivo, estos parámetros de calidad disminuyen.

Puesto que la acidez de los aceites es generada por la presencia de ácidos grasos libres, puede ser un indicativo de la estabilidad del mismo frente a la oxidación, ya que son más fáciles de oxidar. Por lo tanto, los aceites HidroSOSTenibles parecen presentar una mayor resistencia a la oxidación, y, por tanto, al deterioro, de forma natural.

**Tabla 3:** Parámetros de calidad del aceite de oliva

Muestra	Índice de peróxidos (mEq O <sub>2</sub> /kg)	Índice de acidez (% ácido oleico)	Pruebas espectrofotométricas UV		
			K <sub>232</sub>	K <sub>270</sub>	ΔK
ANOVA <sup>†</sup>					
	NS	*	NS	NS	NS
Test de Rangos Múltiples Tukey					
T1	11,8	0,42 a <sup>‡</sup>	1,96	0,08	0,00
T2	8,15	0,21 b	1,96	0,09	0,00
T3	5,87	0,19 b	1,57	0,09	0,00
T4	7,02	0,15 b	1,72	0,09	0,00

<sup>†</sup> NS no hay diferencias estadísticas significativas; \* diferencias estadísticas significativas cuando  $p < 0,05$ . <sup>‡</sup> Letras diferentes en la misma columna significa diferencias estadísticas significativas.

### c. Ácidos grasos

Los datos obtenidos al analizar el perfil lipídico se pueden observar en la **Tabla 4** se obtuvo un total de 14 ácidos grasos, de los cuales 7 de ellos no presentaron diferencias significativas.

**Tabla 4.** Perfil de ácidos grasos de los aceites de oliva expresado en g/100 g de aceite de oliva.

Compuesto	Concentración (g/100 g aceite de oliva)				
	ANOVA <sup>†</sup>	T1	T2	T3	T4
1 Ácido tetradecanoico (Ácido mirístico)	NS	0,038	0,029	0,028	0,027
2 Ácido hexadecanoico (Ácido palmítico)	*	14,61 ab <sup>‡</sup>	14,11 b	14,29 b	15,31 a
3 Ácido <i>cis</i> -6-hexadecenoico (Ácido sapiénico)	NS	0,154	0,145	0,153	0,154
4 Ácido <i>cis</i> -9-hexadecenoico (Ácido palmitoleico)	***	1,576 c	1,652 bc	1,916 a	1,876 ab
5 Ácido heptadecanoico (Ácido margárico)	**	0,069 b	0,083 ab	0,095 a	0,087 a
6 Ácido <i>cis</i> -9-heptadecenoico	***	0,155 c	0,168 bc	0,193 ab	0,198 a
7 Ácido octadecanoico (Ácido esteárico)	NS	1,931	1,698	1,805	1,862
8 Ácido <i>cis</i> -9-octadecenoico (Ácido oleico)	**	49,28 b	47,69 b	48,84 b	52,52 a
9 Ácido <i>cis</i> -11-octadecenoico	NS	10,03	10,19	9,455	10,61
10 Ácido 9,12-octadecadienoico (Ácido rinológico)	***	12,14 ab	11,27 bc	10,77 c	12,29 a
11 Ácido eicosanoico (Ácido araquídico)	NS	0,362	0,328	0,362	0,369
12 Ácido <i>cis</i> -11-eicosenoico (Ácido gondoico)	NS	0,273	0,248	0,265	0,269
13 Ácido 9,12,15-octadecatrienoico (Ácido α-linolénico)	***	0,640 a	0,564 b	0,570 ab	0,617 ab
14 Ácido docosanoico (ácido behénico)	NS	0,111	0,099	0,129	0,105
Σ AGSs	*	17,12 ab	16,35 b	16,72 ab	17,76 a
Σ AGMIs	**	61,47 b	60,10 b	60,82 b	65,63 a
Σ AGPIs	***	12,78 a	11,84 b	11,34 b	12,91 a

<sup>†</sup> NS no hay diferencias estadísticas significativas; \*, \*\* y \*\*\* diferencias estadísticas significativas cuando  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  y  $p < 0,001$  respectivamente. <sup>‡</sup> Letras diferentes en la misma fila significa diferencias estadísticas significativas. AGSs: ácidos grasos saturados; AGMIs: ácidos grasos monoinsaturados; AGPIs: ácidos grasos poliinsaturados.

En la **Tabla 4** se puede apreciar que en todos los aceites de oliva bajo estudio el ácido graso mayoritario fue el ácido oleico, a pesar de existir diferencias significativas

entre los tratamientos; siendo el tratamiento 4 el que obtuvo un valor mayor al resto de tratamientos, 52,52 g en 100 g de aceite. Estos datos concuerdan con los obtenidos por Sánchez-Rodríguez, Kranjac, et al. (2019) para la misma variedad de aceituna, aunque son más bajos de lo esperado para un aceite de oliva, ya que por la bibliografía consultada, el contenido en ácido oleico suele estar en torno al 60% (BEDCA, 2019). Esta variación puede deberse principalmente a la variedad de aceituna empleada, ya que cada una tiene una composición diferente (Pérez-Arquillué c., 2003); en el caso del presente estudio la variedad fue Arbequina, mientras que en el estudio de Pérez-Arquillué c. (2003) la variedad empleada fueron Empeltre, Arbequina, que mostró resultados similares, y una mezcla de diversas variedades.

Los siguientes compuestos con un mayor contenido fueron el ácido palmítico y el ácido rinológico, presentando ambos diferencias significativas entre los niveles de estrés alcanzados. En el caso del ácido palmítico, se alcanzó una concentración mayor en el tratamiento 4 (15,31 g/100 g de aceite), mientras que para el ácido rinológico el tratamiento con mayor cantidad fue también el tratamiento 4, con 12,29 g/100 g de aceite. Estos datos coinciden con los reflejados por (BEDCA, 2019; Sánchez-Rodríguez, Lipan, et al., 2019)

Respecto al número de insaturaciones de los ácidos grasos, el grupo mayoritario, como era de esperar, fue el de ácidos grasos monoinsaturados (AGMIs), con un valor máximo de 65,63 g/100 g de aceite en las muestras del Tratamiento 4, no encontrándose diferencias significativas en el resto de tratamientos (media de 60.8 g/100 g de aceite). Este alto porcentaje de AGMIs conlleva ciertos beneficios para la salud del consumidor, como la protección de las membranas mitocondriales de las neuronas (Rumora et al., 2019), siendo el principal responsable de esta diferencia el ácido oleico. El segundo grupo mayoritario fue el formado por los ácidos grasos saturados (AGSs), encontrando diferencias significativas entre el tratamiento de riego T2, con un menor contenido (16,35 g/100g de aceite), y el tratamiento T4, que presentó el mayor contenido de AGSs (17,76 g/100 g de aceite).

Por último, los ácidos grasos poliinsaturados (AGPIs) mostraron un descenso en su contenido en los tratamientos T2 y T3 (16,35 g/100 g y 16,75g/100 g de aceite, respectivamente) frente al T1 o tratamiento control (17,12 g/100 g de aceite), mientras que el tratamiento T4 se mantuvo significativamente igual (17,76 g/100 g de aceite)

Por tanto, se puede concluir que la aplicación de riego deficitario controlado puede mejorar el perfil lipídico del aceite de oliva, sobre todo cuando éste se mantiene durante todo el proceso de formación de la aceituna, al aumentar los ácidos grasos monoinsaturados.

### **d. Compuestos volátiles**

Los compuestos volátiles obtenidos en los análisis se recopilan en la **Tabla 5**. Se identificaron un total de 22 compuestos presentes en todos los tratamientos. De ellos, destacó el compuesto *trans*-2-hexanal como el compuesto mayoritario, presentando diferencias significativas entre los diferentes tratamientos, siendo los tratamientos 1 y 3 los que mayor concentración obtuvieron (91,67 y 96,28 mg/100 g de aceite

respectivamente), mientras que el tratamiento 4 conllevó 56,08 mg/100 g de aceite. El segundo compuesto con mayor presencia fue el *trans*-2-hexen-ol, entre 38,06 y 47,46 mg/100g de aceite. Estos dos compuestos están relacionados con aromas verdes y florales (Sánchez-Rodríguez, Kranjac, et al., 2019).

**Tabla 5.** Composición volátil de los aceites analizados

Compuesto	Tiempo de retención (RT)	Concentración (mg/100 g aceite de oliva)				
		ANOVA <sup>†</sup>	T1	T2	T3	T4
1 Etanol	2.263	*	12,850 a <sup>‡</sup>	7,100 b	7,868 b	7,158 b
2 Ácido acético	3.383	ND	3,137 a	3,645 a	1,964 a	3,831 a
3 3-Pentanona	4.381	ND	1,247 a	1,244 a	1,089 a	0,937 a
4 Ácido propaonico	4.677	ND	0,277 a	0,438 a	0,884 a	0,720 a
5 Metil-d3 1-Dideuterio-2-propenil éter	5.253	*	8,080 a	6,762 ab	5,320 b	5,988 ab
6 2,4 Pentadienal	6.688	ND	4,258 a	3,504 a	3,430 a	3,670 a
7 <i>trans</i> -2-Hexenal	8.903	**	91,673 a	70,694 b	96,280 a	56,082 c
8 <i>trans</i> -2-Hexen-1-ol	9.157	*	47,219 a	47,460 a	43,984 ab	38,060 b
9 Heptanal	10.267	*	0.45 a	0.22 ab	0.14 b	0.25 ab
10 1,1-dimetil-2-(2-metil-2-propenil)-Ciclopropano	10.640	ND	1,765 a	1,735 a	2,308 a	1,451 a
11 2-cloro-4,6-di(2'-tiazolyl)pirimidina	11.936	ND	1,266 a	1,119 a	0,980 a	1,065 a
12 4,8-Dimetil-1,7-nonadieno	12.998	ND	1,667 a	1,720 a	2,544 a	1,696 a
13 Benzaldeído	13.893	*	2,113 b	7,477 a	1,404 b	1,965 b
14 3-Hexen-1-ol, acetato	14.579	*	9,523 b	4,618 c	14,570 a	11,523 ab
15 Hexil acetato	14.806	*	3,482 a	0,581 b	4,175 a	2,748 ab
16 Ácido Hexanoico	15.571	*	1,034 a	0,426 b	0,376 b	0,633 ab
17 <i>trans</i> - $\beta$ -Ocimeno	16.005	***	0,563 b	2,191 a	0,640 b	0,611 b
18 Benzil alcohol	18.621	*	2,660 a	0,151 b	0,985 ab	2,145 ab
19 1-Octanol	18.967	ND	0,474 a	0,283 a	0,061 a	0,256 a
20 Acetofenona	19.628	**	0,321 b	4,696 a	0,417 b	0,361 b
21 Ácido benzoico	27.670	**	3,890 a	1,038 b	2,497 ab	3,666 a
22 Ácido nonanoico	31.899	ND	1,301 a	1,563 a	1,152 a	2,235 a

<sup>†</sup> NS no hay diferencias estadísticas significativas; \*, \*\* y \*\*\* diferencias estadísticas significativas cuando  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  y  $p < 0,001$  respectivamente. <sup>‡</sup> Letras diferentes en la misma fila significa diferencias estadísticas significativas.

Otro compuesto destacable fue el etanol, con concentraciones entre los 7,15 y 12,85 mg/100 g de aceite. La presencia de etanol en el aceite se debe, según Masella et al. (2019), a una fermentación de la pasta durante el procesado o a una aceituna que llega dañada en exceso a la almazara. Otro aspecto importante en la presencia de etanol es el tiempo que pasan las aceitunas desde la recolección hasta la molienda, por lo que una mejora en los sistemas de transporte y en la velocidad de procesado en la almazara también podría reducir su cantidad. El contenido en etanol es importante ya que reacciona con los ácidos grasos libres, generando ésteres etílicos, que reducen la calidad del aceite, como se recoge en la normativa COI/T.15/NC n° 3, del Consejo Oleícola Internacional (COI, 2007). Sin embargo, parte del etanol encontrado puede generarse durante el proceso de extracción de los compuestos volátiles, que se realizan de modo anaeróbico.

### e. Actividad antioxidante total y contenido fenólico total

Los resultados obtenidos al analizar el contenido total de polifenoles y la actividad antioxidante se recogen en la **Tabla 6**.

Respecto a la actividad antioxidante total, en dos de los tres métodos empleados no se obtuvieron diferencias significativas, **ABTS<sup>+</sup> DPPH<sup>•</sup>**, en los que se obtuvo una media de 0,262 y 0,179 mmol equivalentes de Trolox/L, respectivamente. El comportamiento de la actividad antioxidante en función del tratamiento de riego aplicado coincide con Sena-Moreno et al. (2018). En el caso del tercer método de análisis de actividad antioxidante, **FRAP**, sí se encontraron diferencias significativas entre los cuatro tratamientos, siendo el T4 el que mayor actividad antioxidante presentó, 0,335 mmol equivalentes de Trolox/L de aceite, frente a los 0,083 mmol equivalentes de Trolox/L de aceite que presentó el tratamiento control. Estas diferencias se deben a que durante la formación del fruto se generó estrés, y la planta desarrolló un mecanismo de defensa que comportó la acumulación de compuestos bioactivos con actividad antioxidante.

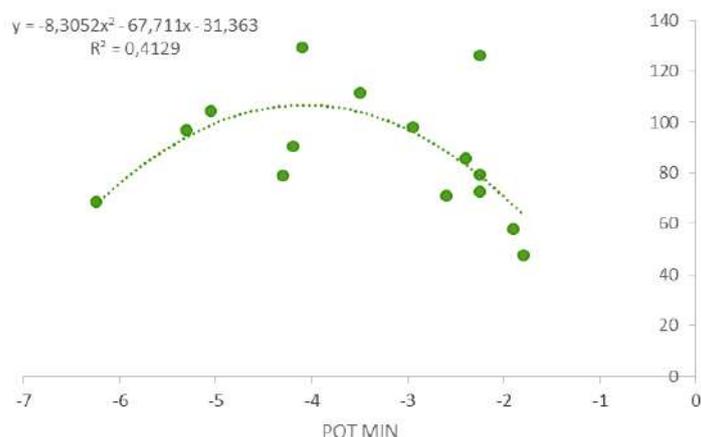
**Tabla 6.** Actividad antioxidante expresada mediante tres métodos (**ABTS<sup>+</sup>**, **DPPH<sup>•</sup>** y **FRAP**) y polifenoles totales (**TPC**) de los aceites de oliva bajo estudio.

Muestra	ABTS <sup>+</sup> mmol Trolox/L	DPPH <sup>•</sup> mmol Trolox/L	FRAP mmol Trolox/L	TPC mg ácido gálico/L
ANOVA <sup>†</sup>				
	NS	NS	*	*
Test de Rangos Múltiples Tukey				
T1	0,198	0,089	0,083 b <sup>‡</sup>	58,97 b
T2	0,341	0,193	0,275 ab	90,38 ab
T3	0,220	0,196	0,280 ab	91,86 ab
T4	0,289	0,239	0,355 a	103,4 a

<sup>†</sup> NS no hay diferencias estadísticas significativas; \*, diferencias estadísticas significativas cuando  $p < 0,05$ . <sup>‡</sup> Letras diferentes en la misma columna significa diferencias estadísticas significativas.

Respecto a los polifenoles totales (**Tabla 6**), existen diferencias significativas entre los diferentes métodos de riego. El tratamiento de riego que mayor cantidad de compuestos fenólicos presentó el T4, con 103,4 mg de ácido gálico/L, mientras que el tratamiento de riego que generó una menor cantidad de compuestos fenólicos fue el tratamiento control (58,97 mg de ácido gálico/L). De esta forma, como ya observaron Marra et al. (2016), el contenido en polifenoles aumenta con un riego deficitario, aunque si dicho riego es excesivamente intenso, se produce el efecto contrario. Este fenómeno se puede observar en la **Ilustración 6**, en el que los polifenoles totales alcanzan su punto óptimo en un potencial de tallo mínimo cercano a -4 MPa, momento en el que obtiene una concentración mayor de polifenoles; una situación similar fue observada por Ahumada-Orellana et al. (2018), alcanzando potenciales de tallo mínimos similares a los del presente estudio. Además, un riego deficitario muy intenso podría influir en la producción, reduciéndola en mayor medida que la posible mejora de las cualidades del aceite. Esto se debe a que las plantas generan estos compuestos como respuestas a diferentes tipos de estrés, como el hídrico o el biológico (Dag et al., 2015; Tognetti et al., 2007).

Desde el punto de vista del consumidor, el contenido en polifenoles del aceite de oliva puede suponer un beneficio para la salud. Hay que tener en cuenta que el aceite de oliva es el único alimento para el que se puede indicar que protege de la oxidación de los lípidos sanguíneos (UE, 2012); por ello, un aumento en el contenido polifenólico del aceite al generar estrés hídrico repercute en la mejora del perfil saludable del aceite de oliva. Por otro lado, los polifenoles presentes en el aceite de oliva influyen de manera positiva en la microflora intestinal (Gavahian et al., 2019); por ello, un aumento del contenido polifenólico total del aceite de oliva puede llegar a repercutir de forma positiva en la salud del consumidor.



**Ilustración 6.** Correlación cuadrática entre el contenido total de polifenoles y Potencial de tallo mínimo ( $Min \Psi_{stem}$ ) expresado en MPa

Estos resultados apuntan a una mayor estabilidad de los aceites obtenidos de forma hidroSOStenible, lo que supone un mayor mantenimiento de la calidad y, por lo tanto, una ventaja para el consumidor, ya que se oxidan con mayor dificultad.

#### f. Análisis sensorial

El resultado del análisis sensorial realizado a las muestras se refleja en la **Tabla 7**. En ella se puede observar que existen diferencias significativas en todos los parámetros estudiados salvo en los defectos, ya que en ninguno de los análisis realizados se encontró ninguno de los defectos mencionados por el COI (2007). Respecto al resto de atributos analizados, el que mejor valoración obtuvo fue el T3, mientras que, estadísticamente hablando, el tratamiento control obtuvo resultados más bajos. Respecto al frutado, uno de los parámetros que desde el punto de vista del consumidor es de gran importancia, el tratamiento 3 fue el que generó un estrés superior, obteniéndose un valor muy superior al tratamiento control; este hecho comportaría, a nivel general, que el aceite procedente del tratamiento 3 tuviese una mayor aceptación en el mercado español, ya que en general el consumidor español busca aceites con un elevado nivel de frutado.

El amargo, que se relaciona directamente con el estado fisiológico en el que se recolecta la aceituna, y uno de los atributos incluidos por el COI en la hoja de cata oficial, obtuvo la máxima valoración en el tratamiento 4 (2,7, en una escala de 0 a 10), mientras que el resultado más bajo obtenido fue en el tratamiento control o T1 (1,2). Estos datos se relacionan directamente con los obtenidos en el atributo “estado”, en el que se refleja el posible estado de recolección de la aceituna para la extracción del aceite.

**Tabla 7.** Resultados del análisis sensorial del aceite por un panel de cata entrenado

<b>Muestra</b>	<b>Frutado</b>	<b>Amargo</b>	<b>Picante</b>	<b>Defectos</b>	<b>Estado <sup>(1)</sup></b>
<b>ANOVA†</b>					
	***	***	*	NS	*
<b>Test de Rangos Múltiples Tukey</b>					
T1	3,2 c#	1,2 c	0,4 c	0	2,5 a
T2	4.2 b	2,0 b	1,4 b	0	1,9 a
T3	4.1 b	1,9 b	1,3 b	0	1,8 a
T4	5.1 a	2,7 a	2,7 a	0	1,0 b

† NS no hay diferencias estadísticas significativas; \*, \*\* y \*\*\* diferencias estadísticas significativas cuando  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  y  $p < 0,001$  respectivamente. ‡ Letras diferentes en la misma fila significa diferencias estadísticas significativas. <sup>(1)</sup> estado de recolección de la aceituna: 1=verde a 3=madura.

En este sentido, el aceite correspondiente a los tres primeros tratamientos de riego generó la sensación de haber sido elaborado con aceitunas con un grado de maduración mayor, mientras que en el cuarto tratamiento la sensación fue de un aceite elaborado con aceitunas menos maduras (Jiménez Herrera et al., 2012).

Respecto al picante, se ha determinado que aumentó al aplicarle riegos deficitarios, desde una valoración de 0,4 en el tratamiento 1 hasta 2,7 en el tratamiento 4. Al tratarse de un atributo positivo, estos valores reflejan un aumento de la calidad del aceite de oliva. En este caso, los aceites obtenidos de cada uno de los tratamientos ha alcanzado la categoría de calidad de AOVE, al aportar un frutado superior a 0 y no haber sido detectados ninguno de los defectos determinados por la normativa vigente, elaborada por el COI (2007). Comparando con otros estudios previos se observa que la aplicación del estrés hídrico, no empeora la calidad del aceite, si no que realza los atributos positivos de los mismos (Berenguer et al., 2004; Sánchez-Rodríguez, Kranjac, et al., 2019).

## 5. Conclusiones

En la **Tabla 8** se han resumido los aspectos positivos de cada uno de los tratamientos sobre los distintos parámetros evaluados. De esta forma, podremos decidir visualmente cuál o cuáles son los mejores tratamientos de riego.

**Tabla 8.** Resumen aspectos positivos de los tratamientos.

Parámetro	Tratamiento			
	T1	T2	T3	T4
Acidez ( <i>mejor cuanto menor es</i> )		+	+	++
Ácido oleico				+
Ácidos Grasos Saturados	+	++	+	
Ácidos Grasos Monoinsaturados				+
Ácidos Grasos Poliinsaturados	+			+
<i>trans</i> -2-Hexenal	+		+	
<i>trans</i> -2-Hexen-1-ol	++	++	+	
FRAP		+	+	++
TPC		+	+	++
Atributo sensorial Frutado				++
Atributo sensorial Amargo				++
Atributo sensorial Picante				++

“+” y “++” representan un valor positivo en los métodos de la tabla. Las celdas sombreadas en verde representan un mayor impacto positivo sobre la calidad del aceite.

El tratamiento que mayor cantidad de efectos positivos generó en el aceite fue el tratamiento 4, ya que cuenta con mayor número de “+”, además de tener una valoración muy superior en los atributos sensoriales. Una baja acidez libre, un elevado contenido total de polifenoles y una elevada actividad antioxidante, junto con una intensidad elevada de frutado garantizan una elevada calidad y vida útil del aceite bajo estudio. Además, los aceites del tratamiento 4 presentaron un elevado contenido de ácidos grasos monoinsaturados, debido sobre al contenido de ácido oleico, y poliinsaturados.

Por tanto, **el tratamiento de riego más recomendable para obtener un aceite de oliva de la mayor calidad nutricional y físico-química es el tratamiento 4 que consiste en el mantenimiento de riego deficitario sostenido con la lámina de agua permitida por la Confederación Hidrográfica del Guadalquivir, establecida en 2.206 m<sup>3</sup>/ha y año.**

## 6. Bibliografía

- Aceitedeoliva.com. (2017). Proceso de elaboración del aceite de oliva. Obtenido de: <https://www.aceitedeoliva.com/aceite-de-oliva/obtencion-aceite-de-oliva/>
- Ahumada-Orellana, L. E., Ortega-Farías, S., y Searles, P. S. (2018). Olive oil quality response to irrigation cut-off strategies in a super-high density orchard. *Agricultural Water Management*, 202, 81-88. doi:<https://doi.org/10.1016/j.agwat.2018.02.008>
- ASOLIVA. (2016). Asociación Española de la Industria y Comercio de Aceites de Oliva y Aceites de Orujo: Denominaciones de Origen. Obtenido de: [http://www.asoliva.com/denominaciones\\_origen#](http://www.asoliva.com/denominaciones_origen#)
- BEDCA. (2019). Base de datos Española de Composiciónn de Alimentos. Obtenido de: <http://www.bedca.net>
- Benzie, I. F., y Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem*, 239(1), 70-76. doi:10.1006/abio.1996.0292
- Berenguer, M. J., Grattan, S. R., Connell, J. H., Polito, V. S., y Vossen, P. M. (2004). Irrigation management to optimize olive growth, production and sensorial oil quality. *Acta Horticulturae*, 664, 79-85.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., y Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. doi:[https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Cano-Lamadrid, M., Hernández, F., Corell, M., Burló, F., Legua, P., Moriana, A., y Carbonell-Barrachina, Á. A. (2017). Antioxidant capacity, fatty acids profile, and descriptive sensory analysis of table olives as affected by deficit irrigation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(2), 444-451.
- Reglamento (CEE) nº 2568/91 de la Comisión, de 11 de julio de 1991, relativo a las características de los aceites de oliva y de los aceites de orujo de oliva y sobre sus métodos de análisis, (1991).
- COI. (2007). Consejo Oleícola Internacional: Norma comercial aplicable a los aceites de oliva y los aceites de orujo de oliva COI/T.15/NC nº 3. Obtenido de:
- COI. (2018). Consejo Oleícola Internacional: Evolución de aceite a nivel mundial y europeo. Obtenido de: <http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/131-world-olive-oil-figures>
- COI. (2019). Consejo Oleícola Internacional: El olivo. Obtenido de: <http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/76-the-olive-tree>
- Dag, A., Naor, A., Ben-Gal, A., Harlev, G., Zipori, I., Schneider, D., . . . Kerem, Z. (2015). The effect of water stress on super-high- density 'Koroneiki' olive oil quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(10), 2016-2020.
- Esencia de Olivo. (2019). Sistemas de cultivo del olivo. Obtenido de: <http://www.esenciadeolivo.es/cultura-del-olivo/cultivo/sistemas-de-cultivo-del-olivo/>
- FAO. (2019). Food and Agricultural Organization of the Unnited Nations; Lands and water. Obtenido de: <http://www.fao.org>
- Gao, X., Ohlander, M., Jeppsson, N., Bjork, L., y Trajkovski, V. (2000). Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) during maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1485-1490.
- Gavahian, M., Mousavi Khaneghah, A., Lorenzo, J. M., Munekata, P. E. S., Garcia-Mantrana, I., Collado, M. C., . . . Barba, F. J. (2019). Health benefits of olive oil and its components: Impacts on gut microbiota antioxidant activities, and prevention of noncommunicable diseases. *Trends in Food Science and Technology*, 88, 220-227.

## Bibliografía consultada

- Goodner, K. L. (2008). Practical retention index models of OV-101, DB-1, DB-5, and DB-Wax for flavor and fragrance compounds. *LWT - Food Science and Technology*, 41(6), 951-958. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.07.007>
- Infoagro. (2016). El cultivo del olivo. Obtenido de: <https://www.infoagro.com/olivo/olivo.htm>
- ISO 12966-2: 2017. Animal and vegetable fats and oils - Gas chromatography of fatty acid methyl esters - Part 2: Preparation of methyl esters of fatty acids. , (2017).
- ISO-12966-4:2015. Animal and vegetable fats and oils - Gas chromatography of fatty acid methyl esters - Part 4: Determination by capillary gas chromatography., (2015).
- Jiménez Herrera, B., Rivas Velasco, A., Sánchez-Ortiz, A., Lorenzo Tovar, M. L., Úbeda Muñoz, M., Callejón, R. M., y Ortega Bernaldo de Quirós, E. (2012). Influence of fruit maturation process on the sensory quality of virgin olive oils from Picual, Hojiblanca and Picudo cultivars. *2012*, 63(4), 8. doi:10.3989/gya.058212
- Lipan, L., Martín-Palomo, M. J., Sánchez-Rodríguez, L., Cano-Lamadrid, M., Sendra, E., Hernández, F., . . . Carbonell-Barrachina, Á. A. (2019). Almond fruit quality can be improved by means of deficit irrigation strategies. *Agricultural Water Management*, 217, 236-242.
- Lombardo, L., Grasso, F., Lanciano, F., Loria, S., y Monetti, E. (2018). Broad-Spectrum Health Protection of Extra Virgin Olive Oil Compounds. *Studies in Natural Products Chemistry*, 57, 41-77.
- Marra, F. P., Marino, G., Marchese, A., y Caruso, T. (2016). Effects of different irrigation regimes on a super-high-density olive grove cv. "Arbequina": vegetative growth, productivity and polyphenol content of the oil. *Irrigation Science*, 34(4), 313-325.
- Masella, P., Guerrini, L., Angeloni, G., Zanoni, B., y Parenti, A. (2019). Ethanol From Olive Paste During Malaxation, Exploratory Experiments. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121(1).
- NIST. (2019). National Institute of Standards and Technology Chemistry WebBook. Obtenido de: <https://webbook.nist.gov>
- Noguera-Artiaga, L., Pérez-López, D., Burgos-Hernández, A., Wojdyło, A., y Carbonell-Barrachina, Á. A. (2018). Phenolic and triterpenoid composition and inhibition of  $\alpha$ -amylase of pistachio kernels (*Pistacia vera* L.) as affected by rootstock and irrigation treatment. *Food Chemistry*, 261, 240-245.
- Noguera-Artiaga Luis; Lipan Leontina, V.-A. L., ; Barber Xavi,; Pérez-López, David,; Carbonell-Barrachina, Ángel A. (2016). Opinion of Spanish Consumers on Hydrosustainable Pistachios. *Journal of Food Science*, 81(10), S2559-S2565. doi:10.1111/1750-3841.13501
- Pérez-Arquillué c., J. t., Valero N., Estopañan G., Ariño A., Conchello P., Herrera A.,. (2003). Estudio de la calidad del aceite de oliva virgen de Aragón. *Grasas y Aceites*, 54(2), 151-160.
- Porrás Soriano A., M. G., I., González S. de la Nieta, J. A., Redondo García, A., Porrás Piedra, A. . (2013). *Recolección mecanizada de aceituna*. Retrieved from [https://previa.uclm.es/profesorado/porrasysoriano/Recolecci%F3n de aceituna.pdf](https://previa.uclm.es/profesorado/porrasysoriano/Recolecci%F3n%20de%20aceituna.pdf)
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., y Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9), 1231-1237. doi:[https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rumora, A. E., LoGrasso, G., Hayes, J. M., Mendelson, F. E., Tabbey, M. A., Haidar, J. A., . . . Feldman, E. L. (2019). The divergent roles of dietary saturated and monounsaturated fatty acids on nerve function in murine models of obesity. *Journal of Neuroscience*, 39(19), 3770-3781.

## Bibliografía consultada

- Sánchez-Rodríguez, L., Kranjac, M., Marijanović, Z., Jerković, I., Corell, M., Moriana, A., . . . Hernández, F. (2019). Quality Attributes and Fatty Acid, Volatile and Sensory Profiles of “Arbequina” hydroSOSustainable Olive Oil. *Molecules*, 24(11), 2148.
- Sánchez-Rodríguez, L., Lipan, L., Andreu, L., Martín-Palomo, M. J., Carbonell-Barrachina, Á. A., Hernández, F., y Sendra, E. (2019). Effect of regulated deficit irrigation on the quality of raw and table olives. *Agricultural Water Management*, 221, 415-421.
- Sena-Moreno, E., Cabrera-Bañegil, M., Pérez-Rodríguez, J. M., De Miguel, C., Prieto, M. H., y Martín-Vertedor, D. (2018). Influence of Water Deficit in Bioactive Compounds of Olive Paste and Oil Content. *JAACS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 95(3), 349-359.
- Tognetti, R., D'Andria, R., Sacchi, R., Lavini, A., Morelli, G., y Alvino, A. (2007). Deficit irrigation affects seasonal changes in leaf physiology and oil quality of *Olea europaea* (cultivars Frantoio and Leccino). *Annals of Applied Biology*, 150(2), 169-186.
- Tuberoso, C. I. G., Kowalczyk, A., Sarritzu, E., y Cabras, P. (2007). Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use. *Food Chemistry*, 103(4), 1494-1501. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.08.014>
- Unión Europea. Reglamento (UE) n ° 432/2012 de la Comisión, de 16 de mayo de 2012 , por el que se establece una lista de declaraciones autorizadas de propiedades saludables de los alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños, (2012).

