

**DISEÑO DE UNA METODOLOGÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE AZÚCARES EN PULPA DE OLIVAS POR HPLC CON DETECTOR IR**

Taylor C.<sup>1\*</sup>, Sepúlveda B.<sup>2</sup>, Tapia F.<sup>3</sup>, Saavedra J.<sup>4</sup>, Romero N.<sup>1</sup>

1 Departamento Ciencias de los Alimentos y Tecnología Química, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. \*camila.taylor@ug.uchile.cl  
2 Educación continua/Postítulo, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.  
3 INIA Intihuasi, La Serena, Chile.  
4 Escuela de Alimentos, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile.

**Introducción:**

Los azúcares en la oliva (*Olea europaea*), son precursores en la formación de los ácidos grasos y del aceite, su contenido y perfil varía dependiendo de parámetros como el riego, la fertilización y el estado de maduración de la oliva (Conde y cols., 2008). La pulpa de oliva contiene aproximadamente entre 20-30% de aceite y 4-3% de azúcares (Barranco y cols., 2008). Se ha considerado para la determinación de azúcares en la oliva, una metodología de separación que permita la purificación de la fase que contenga los azúcares por medio del método Bligh & Dyer, previa a la determinación por cromatografía líquida.

**Objetivo:**

Diseñar una metodología para la determinación del contenido de azúcares y manitol en pulpa de olivas variedad Arbequina, por HPLC con detector IR.

**Materiales:**

- Columna Shodex SUGAR SC1011 Sulfo (Ca<sup>2+</sup>), 300 x 8.0 mm, 6 μm de tamaño de partícula.
- Cromatógrafo líquido de alta resolución con bomba modelo L-6200, Merck Hitachi.
- Índice de refracción (IR) LaChrom.
- Horno L-7350, Merck Hitachi.

**Metodología:**

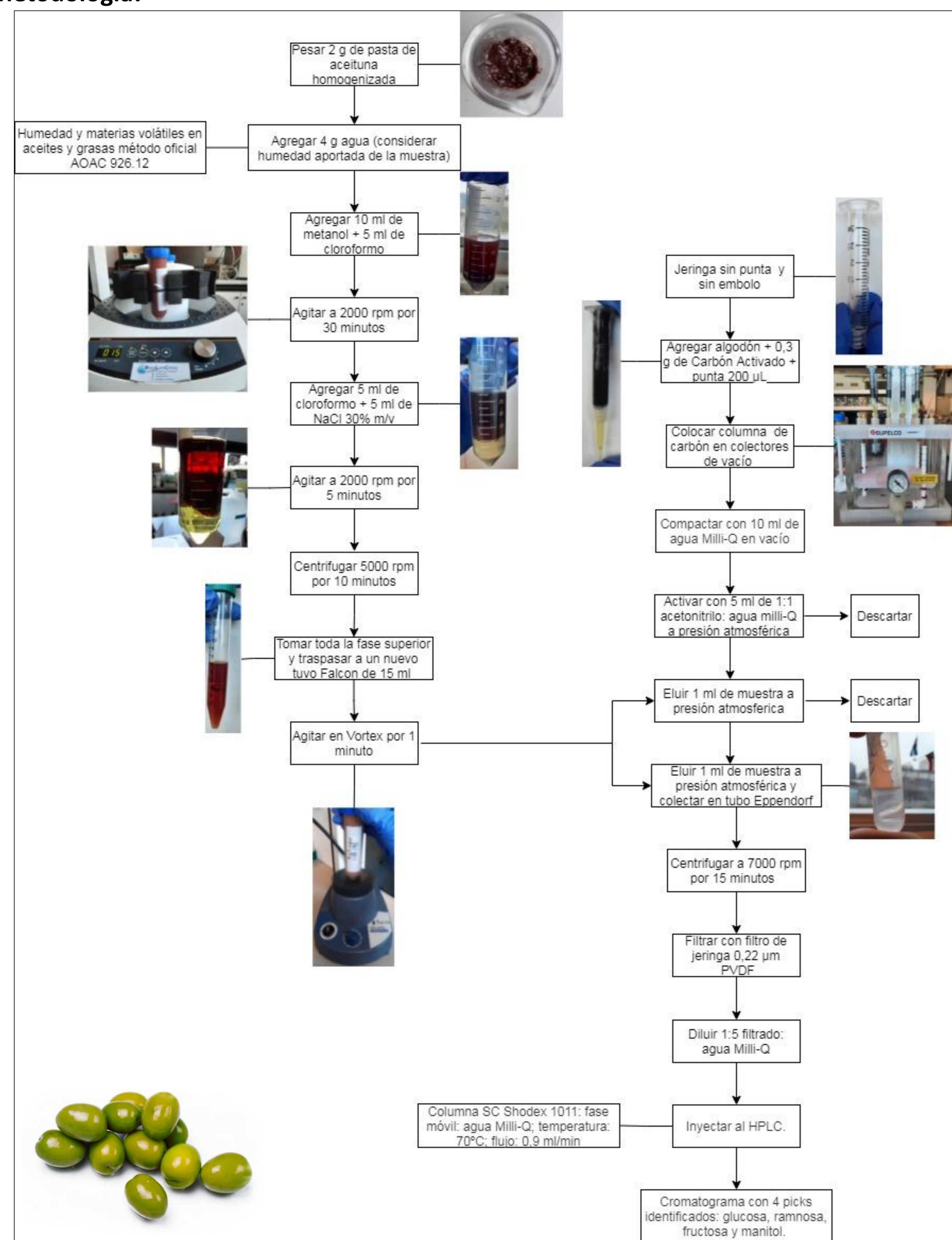


Fig. 1 Diagrama de flujo del diseño experimental

**Resultados y discusión**

Con la metodología Bligh y Dyer para la extracción de azúcares en la muestra de olivas, se obtienen fases bien separadas permitiendo recolectar fácilmente la fase interés metanol/ Agua milli-Q. Con la columna de carbón activado se logra eliminar el interferente antocianinas, obteniendo una muestra transparente.

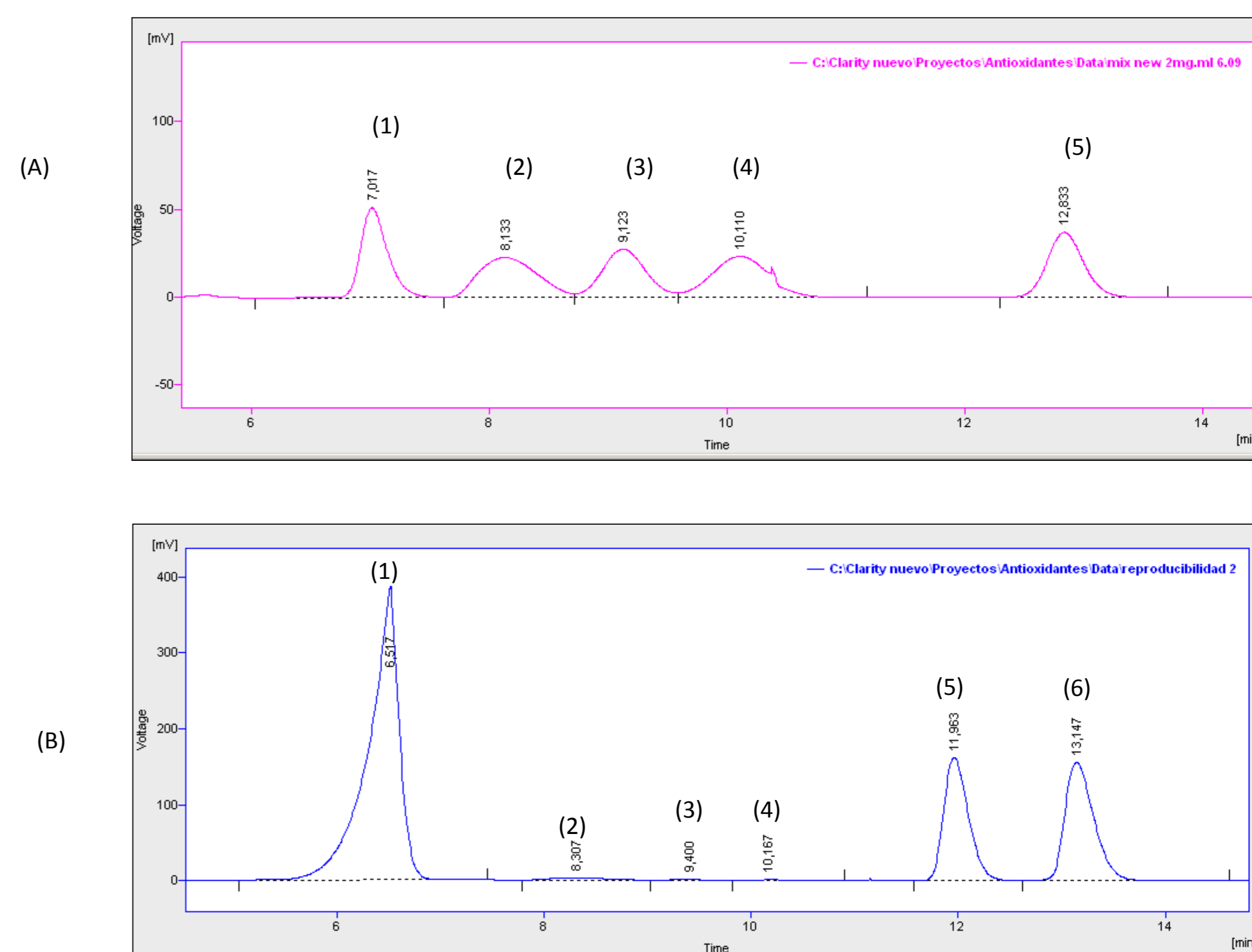


Fig. 2 Cromatograma HPLC/IR correspondiente a: (A) estándares Sigma concentración 2mg/ml: (1) Sacarosa. (2) Glucosa. (3) Ramnosa. (4) Fructosa. (5) Manitol; (B) extracción de azúcares en olivas: (1) No identificado. (2) Glucosa. (3) Ramnosa. (4) Fructosa. (5) No identificado. (6) Manitol.

En la Fig. 2 A se observan 5 picos correspondientes a 5 estándares Sigma en concentración 2mg/ml, en orden de elución: (1) Sacarosa; (2) Glucosa; (3) Ramnosa; (4) Fructosa; (5) Manitol. Se obtiene buena resolución de picos con las condiciones de HPLC propuestas y un tiempo de elusión de aproximadamente 14 minutos.

En la Fig. 2 B se observa el cromatograma de la muestra tratada con la metodología y con las condiciones de HPLC propuestas, en donde se obtiene buena resolución de picos y un tiempo de elusión total de aproximadamente 14 minutos. Se identifican por medio de tiempos de retención de estándares Sigma los siguientes azúcares, trazas de: glucosa (2), ramnosa (3) y fructosa(4) y un pico de mayor concentración manitol (6). Sin embargo, hay dos picos, (1) y (5), aún por identificar, posiblemente sean otros azúcares presentes en la pulpa de oliva.

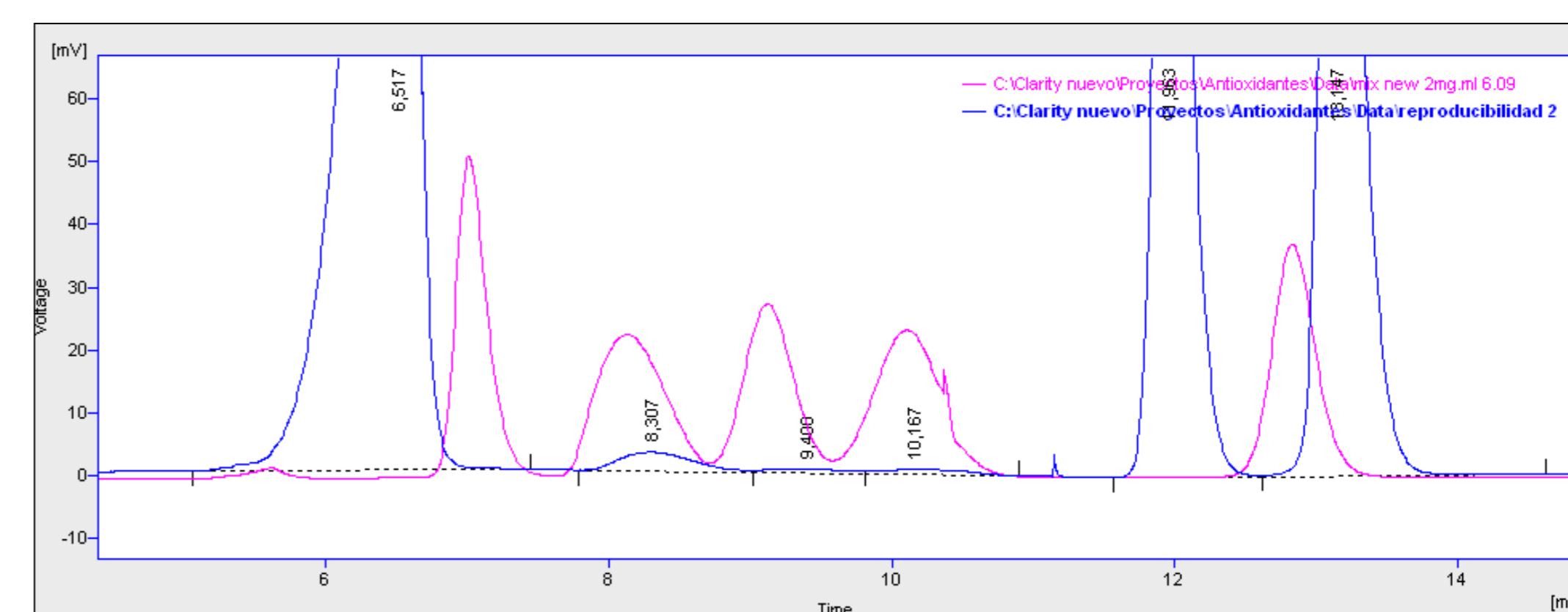


Fig. 3 Cromatograma HPLC/IR sobrepuestos: extracción de azúcares en olivas v/s estándares Sigma 2mg/ml.

En la Fig 3. se observa cromatogramas de extracción de azúcar v/s estándares Sigma 2mg/ml sobrepuestos en donde se observa que el cromatograma de extracción de muestra esta levemente desfasado por segundos, respecto a los tiempos de retención de los estándares Sigma, lo cual se puede ocasionar por variaciones de presión de la bomba.

**Conclusiones:**

El método propuesto para la extracción de azúcares y su determinación resultó adecuado para matrices de alto contenido graso, obteniendo cromatogramas con picos bien resueltos en un corto tiempo de análisis, lo que permitirá cuantificar cada uno de los azúcares presentes en muestras de oliva.

**Bibliografía**

1. BARRANCO, D., FERNÁNDEZ, R., y RALLO, L. 2008. El cultivo del olivo 6ª ed. Madrid. Mundi-Prensa Libros. 19p
2. CONDE, C., DELROT, S. y GERO'S, H. 2008. Physiological, biochemical and molecular changes occurring during olive development and ripening. Journal of Plant Physiology, 165, 1545—1562.

**Agradecimiento**

Este estudio se realizó gracias al financiamiento del proyecto FONDECYT REGULAR N° 1191682.

