

Resumen

El aceite de oliva es un producto muy valorado debido a su excelente calidad, equilibrada composición de ácidos grasos y propiedades nutricionales, por lo que alcanza un alto precio y le hace ser protagonista de fraudes alimentarios y económicos. En el presente trabajo se propone la utilización de marcadores microsatélites para detectar la presencia de aceites vegetales diferentes al olivo en mezclas de prueba. Como paso preliminar, se realizó un análisis bibliográfico de los métodos descritos para la purificación de DNA desde aceites vegetales, y se seleccionaron numerosos marcadores SSR ampliamente utilizados para caracterizar los germoplasmas del olivo, aguacate, girasol, avellana y cacahuete (especies utilizadas para generar mezclas con aceite de oliva). Un siguiente paso consistió en ensayar la universalidad (capacidad de amplificar en la mayor parte del germoplasma) y la especificidad (capacidad de amplificar exclusivamente en una única especie) dichos SSRs, utilizando para ello DNA de hojas y semillas de las especies indicadas, obtenido mediante un método de purificación seleccionado entre varias alternativas sobre la base de la cantidad de material obtenido y su pureza. De los numerosos cebadores ensayados, únicamente 7 cebadores de olivo (6 genómicos y 1 cloroplastídico), y 4 cebadores de avellana superaron adecuadamente los estrictos criterios exigidos. Los SSRs seleccionados fueron ensayados adicionalmente en cuanto a su capacidad de amplificación del DNA purificado a partir de muestras de aceites comerciales y de un aceite de avellana generado artesanalmente. Para la obtención de dicho DNA, también se utilizó un método seleccionado de entre distintas alternativas metodológicas. En este caso, se corroboró la necesidad de utilizar un método de amplificación inespecífica del número de copias de DNA obtenidas, de forma previa a la amplificación mediante PCR. Finalmente, la metodología optimizada según los criterios anteriores, fue utilizada para discriminar la presencia de DNA de olivo y avellana en mezclas controladas de aceites de ambas especies en distintas proporciones. El método propuesto fue capaz de discernir la presencia de aceite de avellana en proporciones variables de hasta un 0.5 % a 1% en las mezclas, lo que representa un notable incremento de la sensibilidad frente a otros métodos descritos en la literatura. Se discute la posible utilización del método como técnica de estandarización y control, así como las posibles mejoras a realizar con objeto de incrementar la sensibilidad y su uso en otros tipos de mezclas.

SUMMARY

Olive oil is a highly valued product because of its excellent quality, balanced fatty acid composition and nutritional properties. Is for these reasons that it reaches a high price and it becomes protagonist of food and economic fraud. In this paper, the use of microsatellite markers is proposed to detect the presence of vegetable oils other than olive in trial mixtures. As a preliminary step, a literature review was performed as regard to the methods described for the purification of DNA from vegetable oils, and to select numerous SSR markers widely used to characterize the olive, avocado, sunflower, hazelnut and peanut (species used to generate mixtures with olive oil) germplasms. A next step was aimed to test the universality (ability to amplify most of the germplasm) and specificity (ability to amplify only a single species) of such SSRs, using DNA from leaves and seeds of the indicated species, obtained by a purification method selected from various alternatives, based on the amount of DNA obtained and its purity. Of the numerous primers tested, only seven olive primers (6 genomic, 1 chloroplast) and 4 hazelnut primers properly exceeded the strict criteria required. Selected SSRs were further tested for their ability to amplify DNA samples purified from several commercial oils and a hand-made hazelnut oil. To obtain such DNA, a method selected from different methodological alternatives was also used. In this case, the need for a method for non-specific amplification of the number of DNA copies obtained, prior to the specific amplification by PCR, was agreed. Finally, the methods optimized according to the above criteria were used to discriminate the presence of olive and hazelnut DNA in controlled olive oil mixtures from both species in different proportions. The proposed method was able to detect the presence of hazelnut oil in variable proportions of up to 0.5 % to 1% in the mixtures, which represents a significant increase in sensitivity compared to other methods described in the literature. The possible use of the method as a technique for standardization and control, and possible improvements to be made in order to increase sensitivity and its use in other types of mixtures are discussed.

