

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS
INSTITUTO DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS
PARA EL DESARROLLO



APLICACIÓN DE MÉTODOS COMBINADOS PARA EL
CONTROL DEL DESARROLLO DEL PARDEAMIENTO
ENZIMÁTICO EN PERA (variedad *BLANQUILLA*)
MÍNIMAMENTE PROCESADA.

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

D^a. Laura Eugenia Pérez Cabrera

Dirigida por:

Dra. Chelo González Martínez

Dra. Amparo Chiralt Boix

Valencia 2003



DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS
UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA

D^a AMPARO CHIRALT BOIX, CATEDRÁTICA Y D^a CHELO GONZÁLEZ MARTÍNEZ PROFESORA TITULAR DE UNIVERSIDAD, DEL DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA.

CONSIDERAN: que la memoria titulada **APLICACIÓN DE MÉTODOS COMBINADOS PARA EL CONTROL DEL DESARROLLO DEL PARDEAMIENTO ENZIMÁTICO EN PERA (variedad BLANQUILLA) MÍNIMAMENTE PROCESADA** que presenta D^a. **LAURA EUGENIA PÉREZ CABRERA** para aspirar al grado de Doctora por la Universidad Politécnica de Valencia, y que ha sido realizada bajo su dirección en el Departamento de Tecnología de Alimentos de la Universidad Politécnica de Valencia, reúne las condiciones adecuadas para constituir su tesis doctoral, por lo que **AUTORIZAN** a la interesada para su presentación.

Septiembre del 2003, Valencia

Fdo.: Amparo Chiralt Boix
Directora de Tesis

Fdo.: Chelo González Martínez
Directora de Tesis.

*Te den, oh Dios, gracias los pueblos,
todos los pueblos te den gracias
Salmo 67*

Una Etapa Más,

*Hoy tu mente y corazón
ven realizado un proyecto, un sueño.
Interminables días de esfuerzo
que siempre lograste vencer,
nada te hizo claudicar.
Todos los que te queremos
cada día te admiramos mas.
Nunca estas lejos de nosotros.
Ahora, tienes en tus manos
un futuro lleno de promesas
Que sé vas a lograr.*

*Siempre recuerda
la sabiduría de los que te guiaron.
La amistad de quienes te tendieron la mano
y el corazón de los que te dieron su cariño,
adonde vallas irán contigo.*

*Eres muy joven y faltan montañas por escalar
Tu futuro encierra otras ilusiones,
por las que vas a luchar.
Que tu vida siga llena de realizaciones personales
y profesionales*

*Te quiero,
L aura Cabrera S iordia*

Agradecimientos,

A mis estupendas directoras, Chelo y Amparo por su increíble capacidad de trabajo, por permitirse compartir sus conocimientos conmigo, por su paciencia y su entusiasmo ya que con su apoyo han hecho posible la realización de este proyecto.

A Chelo por su constante e incondicional apoyo, invaluable y cálida amistad. Por ser un ejemplo a seguir.

A todos y cada uno de los miembros del Departamento de Tecnología de Alimentos, en especial a Pedro Fito Mapouey por permitirme realizar este proyecto.

A todos mis compañeros y amigos con los que compartí esta experiencia,

A Dafna por ser mi hermana en España,

A Cris Bilbao por compartir sus conocimientos, por su incondicional amistad, por ser como eres,

A Batiste por nunca negarse a escucharme, por su entusiasmo y por su ayuda

A Asela y Fidel por abrirme las puertas de su hogar y ser como mi familia, por su amistad y confianza

A Eugenia por su amistad, por sus consejos, por su cariño

A Ana Albors, por su amistad y ayuda incondicional

A Arturo por su bondad y cariño

A Sneyder y a su familia por su amistad y por su fortaleza en todo momento

A Xue por permitirme conocer su cultura y hacerme reír siempre

A Marisa Castelló por su dulzura y compañerismo

A Germán mi paisano por su todos sus detalles y su apoyo

A Carolina, Lorena Atares y Cristina Barrera, por su compañerismo, ayuda y entusiasmo

A Deth por su entereza y por traer a Neni a saludarme al laboratorio

A Ruth y Juan por ser inigualables, por ayudarme a solucionar situaciones difíciles

A la gente que en su momento quiso compartir sus conocimientos y ser parte de este proyecto
Suna Hasete, Trini Cerdan, Raul Martínez y Rosa Anquela, gracias equipo de trabajo

Al personal del Laboratorio de Control de Calidad por su Calidad humana en momento, en especial a Isa, a Ana, a Mario, a Rebeca, a Lorena G, a Juan S, a Isabel,.....

Al personal del Laboratorio de Cárnicas por su ayuda en todo momento, en especial a Luis Puente, a Alberto, a Chus.....

A Clara Pastor per la seua amistat, entusiasme, i per donar-me sempre el seu recolzament

A Silvia, i a Amparo Romani, per el seu somriure i per ajudar-me amb la traducció al valencià

A Maite per estar ahí a cada moment

A Luis, a Ricardo, a Antonio, a Cata, a Alfredo, a Diego, a Pablo.....por compartir esta etapa

A todos los Profesores de este departamento por su conocimientos y por su sonrisa a Marisa, a

Daniel, a Javi, a Puri, a Nuria, a Ana Andrés, a José, a Loles, a José Luis, a Raúl, a Pau, a Noelia,.....

A Angel y Pedro por su buena onda y sentido del humor en todo momento

A Sofía Dimitripoulo por su simpatía y sus consejos de cocina
A Silvia por su amistad y cariño y a Susana*, eres inolvidable estes donde estes
A Carlos Rubio por su haber estado conmigo en este camino y por su cariño
A Víctor por su disposición incondicional

A Juan y Kristien por su alegría de vivir y su actitud de apertura hacia el mundo

A Vicent y Yolanda por ser el primer contacto con Valencia, por su amistad
À mes amis Nath et Eleonora merci beaucoup pour son aide et amitié
A Anna, Antonio y Amalia molte grazie per su amistad

I would like to express my deepest gratitude to Yishaw, Huiyi and Toto for being my family in Paris and also for sharing their freindship and experience with me

A Rubén mi querido padre, a Laura mi inigualable madre, a mis hermanos Rocio, Rubén y Betty y a mis alegres sobrinas Florencia y Beatriz, gracias por estar en la distancia conmigo

A Luis por su amor

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la confianza depositada en mi al concederme la Beca-Crédito para la financiación de mis estudios.

A todo el apoyo humano que recibí de la UPV, en especial a los chicos de Secretaria del DTA, Juan, Rafa, Merce y Ana y al Servicio de Seguridad por las atenciones brindadas

Gràcies a totes Thanks to all Merci à tous Gràcies a tots



DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS
UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA

Tesis Doctoral

Directoras

Dra. Chelo González Martínez
Dra. Amparo Chiralt Boix

APLICACIÓN DE MÉTODOS COMBINADOS PARA EL CONTROL DEL DESARROLLO DEL PARDEAMIENTO ENZIMÁTICO EN PERA (variedad *BLANQUILLA*) MÍNIMAMENTE PROCESADA

RESUMEN

En este estudio se aplicaron distintos métodos combinados para controlar el desarrollo del pardeamiento enzimático en pera variedad *Blanquilla* mínimamente procesada. En primer lugar, se evaluó el efecto de tratamientos térmicos aplicados con vapor y por inmersión en disolución acuosa a 87 °C, a través del estudio de las propiedades de color y mecánicas en cilindros de fruta fresca y almacenada en diferentes condiciones. Los resultados muestran que ambos tratamientos provocaron cambios significativos en el comportamiento mecánico y en el color de las muestras, tanto más cuanto mayor fue el tiempo de tratamiento.

Posteriormente, se estudio la efectividad de la aplicación de agentes antipardeantes (ácido cítrico y ascórbico) en medios osmóticos e isotónicos, evaluándose los cambios del color durante el almacenamiento en refrigeración. Los resultados obtenidos muestran que los parámetros luminosidad (L^*) y tono (h_{ab}^*) son los mejores indicadores del nivel de pardeamiento en pera. Los medios osmóticos (que llevan asociados la deshidratación parcial del producto) no resultaron beneficiosos para inhibir el pardeamiento enzimático, posiblemente por potenciar el estrés osmótico en el tejido. Además, ni el ácido cítrico ni el ascórbico resultaron eficaces en la inhibición del pardeamiento de pera *Blanquilla*.

Finalmente, se analizó la efectividad de varios agentes antipardeantes (cítrico, ascórbico, 4-HR, EDTA y solución isotónica) con y sin lactato de calcio aplicados mediante la técnica de impregnación a vacío con soluciones a pH neutro, evaluándose diferentes parámetros de calidad (color, mecánicas, evaluación sensorial, vida útil, tasa respiratoria, gases volátiles y estabilidad microbiológica) durante su almacenamiento en refrigeración. Los resultados mostraron que la utilización de compuestos antipardeantes combinados con sales de calcio no resultó beneficiosa para el mantenimiento del color de las muestras. No obstante, el empleo de dichas combinaciones tiende a disminuir el impacto del procesamiento, al ralentizarse la respiración y aumentar la estabilidad microbiológica de las muestras.

Palabras Clave: pera mínimamente procesada, color, agentes antipardeantes y métodos combinados.



DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS
UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA

Tesis Doctoral

APLICACIÓ DE MÈTODES COMBINATS PER AL CONTROL DEL DESENVOLUPAMENT DEL PARDEJAMENT ENZIMÀTIC EN PERA (*varietat BLANQUILLA*) MÍNIMAMENT PROCESSADA

RESUM

En aquest estudi es van aplicar distints mètodes combinats per controlar el desenvolupament del pardejament enzimàtic en pera varietat *Blanquilla* mínimament processada. En primer lloc, s'avalua l'efecte dels tractaments tèrmics aplicats amb vapor i per immersió en dissolució aquosa a 87 °C, a través de l'estudi de les propietats de color i mecàniques en cilindres de fruita fresca i enmagatzenada en diferents condicions. Els resultats mostren que aquests dos tractaments van provocar canvis significatius al comportament mecànic i al color de les mostres, molt més quant major va ser el temps del tractament.

Seguidament es va estudiar l'efectivitat de l'aplicació d'agents antipardejants (àcid cítric i ascorbic) en mitjos osmòtics i isotònics, avaluant-se els canvis de color durant l'enmagatzament en refrigeració. Els resultats obtinguts mostren que els paràmetres lluminositat (L^*) i tó (h_{ab}^*) són els millors indicadors del nivell de pardejament en pera. Els mitjans osmòtics (que porten associats la deshidratació parcial del producte) no van resultar beneficiosos per a inhibir el pardejament enzimàtic, possiblement per potenciar l'estrès osmòtic al teixit. A més, ni l'àcid cítric ni l'ascòrbic van resultar eficaços en la inhibició del pardejament de pera *Blanquilla*.

Finalment, s'analitzà l'efectivitat de diversos agents antipardejants (cítric, ascorbic, 4-HR, EDTA i solució isotònica) amb i sense lactat de calci aplicats mitjançant la tècnica d'impregnació a buit amb solucions de pH neutre, avaluant-se diferents paràmetres de qualitat (color, mecàniques, avaluació sensorial, vida útil, tasa respiratòria, gasos volàtils i estabilitat microbiològica) durant el seu enmagatzament en refrigeració. Els resultats van mostrar que la utilització de compostos antipardejants combinats amb sals de calci no va resultar beneficiosa per al manteniment del color de les mostres. No obstant, això, la utilització d'aquestes combinacions tendix a disminuir l'impacte del processament, al ralentitzar-se la respiració i augmentar l'estabilitat microbiològica de les mostres.

Paraules claus: pera mínimament processada, color, agents antipardejants i mètodes combinats.



DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS
UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA

Doctoral Thesis

**APPLICATION OF COMBINED METHODS FOR ENZYMATIC BROWNING CONTROL OF
MINIMALLY PROCESSED PEAR (variety *BLANQUILLA*)**

ABSTRACT

In this study different combined methods were applied for development of enzymatic browning control in minimally processed pears (variety *Blanquilla*).

First of all, effects of thermal treatments applied with vapour and water solutions immersions at 87°C were evaluated through colour and mechanical properties in fresh fruits cylinders and stored at different conditions. Results do show that both treatments produced significant changes in samples colour and mechanical behaviour. The longer the treatment time, the greater the changes.

Subsequently, effectiveness of antibrowning agents application (citric and ascorbic acids) in osmotic and isotonic media was studied, by colour changes evaluation during refrigerated storage. The obtained results show that lightness (L^*) and hue (h_{ab}^*) parameters are the best indicators of browning degree in pear. Osmotic media (which are associated to produce partial dehydration) were not suitable for enzymatic browning inhibition, possibly by enhancing tissue osmotic stress. Moreover, neither citric or ascorbic acid resulted effective for *Blanquilla* pear enzymatic browning inhibition.

Finally, effectiveness of various antibrowning agents (citric, ascorbic, 4HR, EDTA and isotonic solution) with and without calcium lactate, applied using the vacuum impregnation technique with neutral pH solutions, was analysed. Different quality parameters such as colour, mechanical properties, sensorial evaluation, shelf life, respiratory rate, volatile production and microbiological stability during refrigerated storage, were evaluated. Results showed that the use of antibrowning compounds combined with calcium salts were not effective to keep sample colour stability throughout the storage time. Nevertheless, application of such combinations leads to diminish impact process by slowing down respiration and enhancing microbiological stability of samples.

Key Words: Minimally processed pear, colour, antibrowning agents, combined methods

ÍNDICE DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN	1
1. Calidad de frutas mínimamente procesadas	5
1.1 Factores que afectan a la calidad de FMP	7
1.1a Variedad, región de crecimiento y estación	7
1.1b Tamaño de la fruta y rendimiento	8
1.1c Daños por frío	9
1.1d Grado ó nivel de procesado	10
1.1e Carga microbiana	12
2. Aceptación sensorial de FMP	13
2.1 Calidad visual	15
3. Pardeamiento enzimático	18
3.1 Enzimas responsables	21
3.2 Substratos de la reacción	24
3.3 Mecanismo y productos de reacción	32
3.4 Factores que condicionan el proceso de pardeamiento	36
4. Control del pardeamiento enzimático	38
4.1 Métodos físicos	39
4.1.1 Tratamientos térmicos	39
4.1.1a Aplicación de alta temperatura	40
4.1.1b Empleo de bajas temperaturas	40
4.1.1c Ondas electromagnéticas	41
4.1.2 Aplicación de tecnologías no térmicas	42
4.1.2.1 Reducción de la disponibilidad de oxígeno	42
4.1.2.1a Atmósferas modificadas	43
4.1.2.1b Recubrimientos comestibles	44
4.1.2.2 Irradiación	45
4.1.2.3 Altas presiones	46
4.1.2.4 Pulsos eléctricos	47
4.1.2.5 Modificaciones genéticas	48
4.1.2.6 Alternativos	49
4.2 Métodos químicos	50
4.2.1 Efectos sinérgicos	53
4.3 Métodos enzimáticos	55
4.4. Métodos combinados	56
4.4.1 Deshidratación osmótica e impregnación a vacío	57
5. Deshidratación osmótica	58
5.1 Factores que afectan el proceso de DO	60

5.2 Aplicación de la DO en frutas MP	62
5.2.1 Efecto sobre el crecimiento microbiano	63
5.2.2 Efecto sobre la actividad enzimática de la PPO	64
5.2.3 Efecto sobre el color	65
5.2.4 Efecto sobre la calidad sensorial	65
6. Impregnación a vacío	66
6.1 Mecanismos de acción: Modelo Hidrodinámico	67
6.1.1 Factores que afectan a la efectividad del mecanismo	68
6.1.2 Cambios provocados por la IV	69
6.2 Aplicación de la IV en frutas mínimamente procesadas	69
ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS	72
JUSTIFICACIÓN E INTERÉS DEL TRABAJO	78
CAPÍTULO I	
EFFECTIVIDAD DEL TRATAMIENTO TÉRMICO EN EL CONTROL DEL PARDEAMIENTO ENZIMÁTICO	82
I.1 Introducción	84
I.1.1 El escaldado	84
I.1.1.1 Cambios que provoca el escaldado en el tejido vegetal	86
I.1.1.2 Cambios que provoca el escaldado en el color	89
I.1.1.2.1 Evaluación del color	89
I.1.1.3 El escaldado y los productos mínimamente procesados.	90
I.2 Interés y Objetivos del Estudio	91
I.3 Materiales y Metodos	92
I.3.1 Materia prima	92
I.3.2 Obtención de las muestras	93
I.3.3 Soluciones empleadas	93
I.3.4 Aplicación de los tratamientos	93
I.3.5 Análisis físicos	94
I.3.5.1 Determinación del color	94
I.3.5.2 Determinación de las propiedades mecánicas	95

Índice de Contenidos

I.4 Resultados y Discusión	97
I.4.1 Caracterización de la materia prima	97
I.4.2 Efecto del escaldado en las muestras	99
I.4.2.1 Cambios en el color	99
I.4.2.1.1 Cinética de los cambios de color	104
I.4.2.2 Cambios en los parámetros mecánicos	107
I.4.2.2.1 Cinética de cambios de las propiedades mecánicas	110
I.4.3 Cambios producidos en el color debido al almacenamiento	112
I.4.3.1 Refrigeración	112
I.4.3.2 Congelación	113
I.5 Conclusiones y Recomendaciones	115
I.6 Bibliografía	116

CAPÍTULO II

APLICACIÓN DE ANTIPARDEANTES EN MEDIOS OSMÓTICOS E ISOTÓNICOS	122
II.1 Introducción	124
II.1.1 Conservación de frutas de alta humedad	124
II.1.2 Los ácidos ascórbico y cítrico como agentes antipardeantes	125
II.1.3 Respuesta del tejido vegetal frente al procesamiento mínimo.	127
II.1.4 Cambios de las propiedades ópticas en tejido vegetal durante DO	129
II.2 Interés y Objetivos del Estudio	131
II. 3 Materiales y Métodos	133
II.3.1 Materia prima	133
II.3.2 Obtención de las muestras	133
II.3.3 Soluciones empleadas	133
II.3.4 Metodología aplicada	134
II.3.5 Determinaciones analíticas	135
II.3.5.1 Humedad	135
II.3.5.2 Sólidos solubles	135
II.3.5.3 Actividad de agua	135
II.3.5.4 pH	136
II.3.5.5 Acidez	136
II.3.5.6 Contenido en ácido ascórbico	136

II.3.6 Determinación de las propiedades ópticas _____	136
II.3.7 Análisis estadísticos _____	138
II. 4 Resultados y Discusión _____	138
II.4.1 Propiedades ópticas de las muestras frescas _____	138
II.4.2 Cambios de composición en las muestras tratadas _____	140
II.4.3 Estudio de las propiedades ópticas de muestras tratadas y controles _____	143
II.4.3.1 Efecto del carácter isotónico u osmótico de la solución sobre el color de las muestras _____	144
II.4.3.2 Serie isotónica _____	145
II.4.3.2a Efecto del tiempo de almacenamiento _____	145
II.4.3.2b Efecto del tipo de tratamiento _____	146
II.4.3.2c Efecto del tiempo de inmersión _____	149
II.4.3.3 Serie osmótica _____	150
II.4.3.3a Efecto del tiempo de almacenamiento _____	150
II.4.3.3b Efecto del tipo de tratamiento _____	153
II.4.3.3c Efecto del tiempo de inmersión _____	154
II. 5 Conclusiones y Recomendaciones _____	156
II.6 Bibliografía _____	157
 CAPÍTULO III	
EFFECTIVIDAD DE TRATAMIENTOS ANTIPAR-DEANTES APLICADOS POR IMPREGNACIÓN A VACÍO _____	
III.1 Introducción _____	164
III.1.1 4-Hexylresorcinol _____	164
III.1.2 Etilendiaminotretaacético (EDTA) _____	167
III.1.3 pH de las soluciones antipardeantes _____	168
III.1.4 Efecto del calcio sobre el tejido vegetal _____	169
III.1.5 Seguridad microbiológica de FMP _____	173
III.1.6 Evaluación sensorial de FMP _____	174
III.1.7 Tasa respiratoria de FMP _____	175
III.1.7.2 Envasado en atmósferas modificadas _____	177
III.2 Interés y Objetivos del Estudio _____	178

Índice de Contenidos

III.3 Materiales y Métodos	180
III.3.1 Materia prima	180
III.3.2 Soluciones empleadas	180
III.3.3 Preparación de las muestras	181
III.3.4 Aplicación del tratamiento	181
III.3.5 Determinaciones físicos-químicas	182
III.3.5.1 Capacidad de retención de fase líquida	182
III.3.5.2 Daño en la membrana celular	183
III.3.6 Análisis microbiológicos	183
III.3.7 Análisis sensoriales	184
III.3.8 Determinación de la tasa respiratoria	185
III.3.9 Evolución durante el almacenamiento de la composición gaseosa en el interior de los envases	186
III.3.9.1 Determinación de O ₂ y CO ₂	187
III.3.9.2 Determinación de volátiles	188
III.3.10 Análisis estadísticos	188
III.4 Resultados y Discusión	189
III.4.1 Efecto de la impregnación a vacío sobre las propiedades ópticas y mecánicas de las muestras.	189
III.4.1.1 Propiedades ópticas	189
III.4.1.2 Propiedades mecánicas	190
III.4.2 Efecto del tratamiento y del tiempo de almacenamiento sobre las propiedades ópticas de las muestras.	192
III.4.2.1. Luminosidad.	193
III.4.2.2. Tono	195
III.4.2.3. Croma	197
III.4.2.4. Cinética de pardeamiento de las muestras durante el almacenamiento.	199
III.4.2.5. Cambios totales de color	201
III.4.3. Efecto de los tratamientos y del almacenamiento sobre las propiedades las mecánicas de las muestras.	202
III.4.3.1 Homogeneidad de la materia prima	202
III.4.3.2 Tensión lineal y de fractura y modulo de deformabilidad.	204
III.4.3.3 Deformación lineal y de fractura	206
III.4.4 Respuesta del tejido vegetal durante el almacenamiento.	210
III.4.4.1 Evaluación del estado del tejido de las muestras tratadas.	210
III.4.4.2 Análisis de la tasa de respiración.	212
III.4.4.2.1 Tasa respiratoria	213
III.4.4.2.2 Efecto del tratamiento	215
III.4.5 Evolución de la composición del espacio de cabeza de las muestras envasadas.	217
III.4.5.1 Gases	218
III.4.5.2 Volátiles	220

III.4.6 Efecto en la calidad microbiológica	223
III.4.7 Evaluación de los atributos sensoriales	226
III.4.7.1 Efecto del tratamiento de impregnación	226
III.4.7.2 Efecto de los agentes antipardeantes	228
III.5 Conclusiones y Recomendaciones	232
III.6 Bibliografía	236
BIBLIOGRAFÍA	243

ÍNDICE DE FIGURAS

INTRODUCCIÓN

Figura 1. Daño a nivel celular originado por la operación de corte (Adaptado de Wiley, 1994).	11
Figura 2. Algunos ejemplos de cambios en la apariencia de frutas y hortalizas.	17
Figura 3. Estructuras del ácido quínico y el ácido shiquímico (Adaptado de Cheftel y Cheftel, 1976)	24
Figura 4. Estructuras química y clasificación de algunos compuestos fenólicos (Adaptado de Robards <i>et al.</i> , 1999)	26
Figura 5. Biosíntesis de compuestos fenólicos (Adaptado de Lee, 1992).	27
Figura 6. Reacciones catalizadas por la polifenol oxidasa (Adaptado de Walker, 1977)	33
Figura 7. Polímeros formados en el pardeamiento enzimático (Cheftel y Cheftel, 1976)	35
Figura 8. Reacciones de las o-quinonas con compuestos no fenólicos (Nicolas <i>et al.</i> , 1994).	36
Figura 9. Esquema del fenómeno osmótico (Adaptado de Albors, 2002)	59
Figura 10. Evolución del tejido vegetal durante el contacto con la solución concentrada (Adaptado de Le Maguer, 1997)	63
Figura 11. Etapas en el proceso de transferencia de materia en un alimento poroso sumergido en un líquido (Adaptado de Fito, 1994)	68

CAPÍTULO I

EFFECTIVIDAD DEL TRATAMIENTO TÉRMICO EN EL CONTROL DEL PARDEAMIENTO ENZIMÁTICO

Figura I.1 Curva general del comportamiento de muestras cilíndricas de pera sometidas a una compresión uniaxial con una velocidad de 1 mm s^{-1} (Adaptado de Chiralt <i>et al.</i> , 2001)	97
--	----

Figura I.2. Representación de las coordenadas cromáticas b^* vs. a^* (a) y L^* vs. a^* (b) de las muestras escaldadas por inmersión, a los diferentes tiempos de tratamiento. _____	101
Figura I.3. Representación de las coordenadas cromáticas b^* vs. a^* (a) y L^* vs. a^* (b) de las muestras escaldadas con vapor, a los diferentes tiempos de tratamiento. _____	101
Figura I.4. Cambios en tono, pureza y diferencia de color ocasionados en las muestras por los tratamientos con vapor e inmersión a diferentes tiempos de exposición. _____	103
Figura I.5. Ajuste del modelo cinético de primer orden de los parámetros L^* (a) y h_{ab}^* (b), para los tratamientos de vapor e inmersión. _____	106
Figura I.6. Cinéticas de cambio de la deformación de fractura en los tratamientos con vapor e inmersión. _____	111
Figura I.7. Cinéticas de cambio de la tensión de fractura en los tratamientos con vapor e inmersión. _____	111
Figura I.8. Cinéticas de cambio del modulo de la deformación en los tratamientos con vapor e inmersión _____	111
Figura I.9. Cambios en el tono, pureza, diferencia de color y luminosidad de muestras escaldadas durante su almacenamiento en refrigeración. _____	113
Figura I.10. Cambios en luminosidad, tono, pureza, diferencia de color y luminosidad de muestras escaldadas durante su congelación-descongelación. _____	114

CAPÍTULO II

APLICACIÓN DE ANTIPARDEANTES EN MEDIOS OSMÓTICOS E ISOTÓNICOS

Figura II.1. Esquema general de la reacción de reducción de o-quinonas a o-difenoles por el ácido ascórbico (Adaptado de Hie-Joon, 1995) _____	126
Figura II.2. Estados osmóticos de la célula vegetal, para diferentes situaciones osmóticas del medio externo (Adaptado de Barceló <i>et al.</i> , 2001) _____	128

Figura II.3. Luz incidente en la superficie del tejido vegetal. (Adaptado de Abbott, 1999)	130
Figura II.4. Evolución de L^* en función del tiempo de almacenamiento para los diferentes tiempos de inmersión de las muestras de la serie isotónica.	146
Figura II.5. Evolución del h_{ab}^* en función del tiempo de almacenamiento para los diferentes tiempos de inmersión de las muestras de la serie isotónica.	147
Figura II.6. Evolución del C_{ab}^* en función del tiempo de almacenamiento para los diferentes tiempos de inmersión de las muestras de la serie isotónica.	148
Figura II.7. Evolución de L^* en función del tiempo de almacenamiento para los diferentes tiempos de inmersión de las muestras de la serie osmótica.	151
Figura II.8. Evolución del h_{ab}^* en función del tiempo de almacenamiento para los diferentes tiempos de inmersión de las muestras de la serie osmótica.	152
Figura II.9. Evolución del C_{ab}^* en función del tiempo de almacenamiento para los diferentes tiempos de inmersión de las muestras de la serie osmótica.	153

CAPÍTULO III

EFFECTIVIDAD DE TRATAMIENTOS ANTIPARDEANTES APLICADOS POR IMPREGNACIÓN A VACÍO

Figura III.1. Estructura química del 4-hexylresorcinol (Adaptado de Gutiérrez, 2001)	165
Figura III.2. Modelo de "la caja de huevos" (Adaptado de Grant <i>et al.</i> , 1973)	171
Figura III.3. Regulación de la concentración intracelular de Ca^{++} , que se acumula en la vacuola en forma de oxalato, carbonato, etc., pero también en el retículo endoplasmático (RE) y en el cloroplasto. (Adaptado de Azcón-Bieto y Talón, 2000)	173
Figura III.4. Rutas metabólicas del piruvato durante la fermentación (Adaptado de Wills, 1998)	177
Figura III.5. Espectro de reflectancia y relación K/S para muestra fresca e impregnada.	190
Figura III.6. Curvas típicas tensión-deformación de Hencky para muestra fresca y muestra impregnada.	192

Figura III.7. Evolución de la luminosidad (L^*) durante el almacenamiento. _	195
Figura III.8. Evolución del tono (h_{ab}^*) durante el almacenamiento. _____	197
Figura III.9. Evolución del croma (C_{ab}^*) durante el almacenamiento. _____	199
Figura III.10. Cinéticas de cambio en el tono (h_{ab}^*), en las muestras. _____	201
Figura III.11. Diferencia total de color (ΔE^*) para las muestras a los 17 días de almacenamiento _____	202
Figura III.12. Propiedades mecánicas del lote de muestras frescas. _____	203
Figura III.13. Evolución de la tensión lineal, la tensión de fractura y modulo de la deformación durante el almacenamiento. _____	206
Figura III.14. Evolución de la deformación lineal y de fractura durante el almacenamiento. _____	207
Figura III.15. Gráfico discriminante para todos los tipos de muestras analizados a 17 días de almacenamiento, comparándose muestras recién impregnadas. _____	209
Figura III.16. Capacidad de retención de fase líquida después de 17 días en almacenamiento. _____	211
Figura III.17. Conductividad de las muestras después de 17 días en almacenamiento. _____	212
Figura III.18. Tasa respiratoria obtenida para las diferentes muestras. _____	214
Figura III.19. Cociente respiratorio de pera var. <i>Blanquilla</i> determinado a 10°C. _____	215
Figura III.20. Cambios en la tasa respiratoria ocasionados por el tipo de compuesto antipardecante impregnado. _____	216
Figura III.21. Cociente respiratorio de muestras impregnadas con diferentes compuestos antipardecantes. _____	216
Figura III.22. Evolución del O_2 en el espacio de cabeza de las muestras envasadas durante el almacenamiento a 4°C. _____	219
Figura III.23. Evolución del CO_2 en el espacio de cabeza, durante el almacenamiento a 4°C. _____	219
Figura III.24. Concentración de etanol en el espacio de cabeza del envase durante el almacenamiento a 4°C. _____	221

Figura III.25. Concentración de acetaldehído en el espacio de cabeza del envase durante el almacenamiento a 4°C. _____	222
Figura III.26. Recuento de aerobios mesófilos en función del tiempo para pera MP almacenada 4°C. _____	224
Figura III.27. Recuento de psicrótrofos en función del tiempo para pera MP almacenada 4°C. _____	225
Figura III.28. Resultados obtenidos en el análisis sensorial para los atributos sensoriales de muestras de pera impregnada respecto a la muestra fresca.	228
Figura III.29. Gráficos de medias con intervalo LSD para los distintos atributos analizados en la evaluación sensorial de pera MP. _____	232

ÍNDICE DE TABLAS

INTRODUCCIÓN

Tabla 1. Espectro de los sistemas de conservación de alimentos en relación con las frutas y hortalizas refrigeradas mínimamente procesadas (Adaptado de Wiley, 1994). _____ 3

Tabla 2. Diferentes presentaciones de FMP comúnmente comercializadas (Adaptado de Pérez *et al.*, 2003a) _____ 4

Tabla 3 Requisitos importantes en el procesado mínimo de frutas y hortalizas (Adaptado de Ahvenainen, 1996). _____ 5

Tabla 4. Enzimas y microorganismos involucrados en el deterioro de FMP (Adaptado de Pérez *et al.*, 2003a) _____ 12

Tabla 5. Métodos denominados no-térmicos utilizados en alimentos (Adaptado de Yousef, 1996) _____ 46

Tabla 6. Aditivos de interés para el procesamiento de FMP (Adaptado de Pérez *et al.*, 2003b) _____ 52

Tabla 7. Criterios para una definición práctica de los procesos osmóticos en base a su duración (Adaptado de Lazarides *et al.*, 1999a y b) _____ 60

CAPÍTULO I

EFFECTIVIDAD DEL TRATAMIENTO TÉRMICO EN EL CONTROL DEL PARDEAMIENTO ENZIMÁTICO

Tabla I.1. Características del ácido cítrico empleado en el control del pardeamiento de frutas y hortalizas (Adaptado de Whitaker, 1996; McEvily *et al.*, 1992) _____ 86

Tabla I.2. Esquema de las condiciones de operación para cada tratamiento aplicado. _____ 94

Tabla I.3. Color y propiedades mecánicas de las muestras control _____ 98

Tabla I.4. Constantes cinéticas y coeficientes de correlación encontrados para el modelo de primer orden para los parámetros de color. _____ 105

Tabla I.5. Efecto del tratamiento con Vapor en las propiedades mecánicas.	108
Tabla I.6. Efecto del tratamiento con Inmersión en las propiedades mecánicas	109
Tabla I.7. Constantes cinéticas y coeficientes de correlación encontrados para el modelo de primer orden para los parámetros mecánicos.	112

CAPÍTULO II

APLICACIÓN DE ANTIPARDEANTES EN MEDIOS OSMÓTICOS E ISOTÓNICOS

Tabla II.1. Características del ácido ascórbico y sus derivados empleados en el control del pardeamiento de frutas y hortalizas (Adaptado de Sapers <i>et al.</i> , 1989)	126
Tabla II.2. Composición, a_w y pH de las soluciones empleadas	134
Tabla II.3. Propiedades ópticas de las muestras control	139
Tabla II.4. Cambios composicionales en las muestras tratadas de la serie osmótica	140
Tabla II.5. Contenidos de ácido cítrico de en las muestras tratadas de la serie osmótica	141
Tabla II.6. Contenidos de ácido ascórbico de en las muestras tratadas de la serie osmótica	141
Tabla II.7. pH de las muestras tratadas en la serie osmótica	142

CAPÍTULO III

EFFECTIVIDAD DE TRATAMIENTOS ANTIPARDEANTES APLICADOS POR IMPREGNACIÓN A VACÍO

Tabla III.1. Características del 4-hexylresorcinol empleado en el control del pardeamiento de frutas, hortalizas y crustáceos (Adaptado de McEvily <i>et al.</i> , 1991a)	165
Tabla III.2. Características del EDTA empleado en el control del pardeamiento de frutas y hortalizas (Adaptado de Wiley, 1994; Fennema, 2000)	167

Tabla III.3. Tasa respiratoria (mL CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹) de diferentes variedades de pera MP almacenadas en aire a diferentes temperaturas (Adaptado de Gorny, 1998).	176
Tabla III.4. Composición, a _w , pH y °Brix de las soluciones	181
Tabla III.5. Cambios en las propiedades ópticas ocasionados por la IV.	189
Tabla III.6. Cambios en las propiedades mecánicas ocasionados por la IV.	192
Tabla III.7. Constantes cinéticas y coeficientes de correlación encontrados para el tono.	200

NOMENCLATURA

°Bx. Grados Brix	EC. Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology
4-HR. 4-Hexilresorcinol	Ed. Modulo de deformabilidad o elasticidad (Pa)
a*. Coordenada cromática (rojo-verde)	EDTA. Etilendiaminotetracético sódico 2-hidrato
AA. Ácido ascórbico	F. Fuerza (N)
AC. Ácido cítrico	FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
AOAC. Association of Analytical Chemists	FDA. Food and Drugs Administration
APHA. American Public Health Association	FMP. Frutas mínimamente procesadas
a _w . Actividad de agua	GRAS. Generally Recognized as Safe
b*. Coordenada cromática (amarillo-azul)	h _{ab} *. Coordenada psicrométrica tono
BOE. Boletín Oficial del Estado (Ministerio de la Presidencia Española)	HDM. Mecanismo hidrodinámico
Ca ⁺⁺ . Calcio	IFMP. Industria de frutas mínimamente procesadas
C _{ab} *. Coordenada psicrométrica cromática o saturación	IUPAC. International Union of Pure and Applied Chemistry
CIE. Comission Internationale de l'Eclairage	IV. Impregnación a vacío
CO ₂ Dióxido de carbono	K. Coeficiente de absorción
CR. Cociente respiratorio	k. Constante cinética
CRA. Capacidad de retención de agua (%)	K/S. Relación absorción/dispersión
d. Distancia (mm)	L*. Coordenada cromática Luminosidad
DO. Deshidratación osmótica	L. Liquido exudado
Ec. Ecuación	Ln. Logaritmo neperiano ó natural

Log ₁₀ . Logaritmo en base 10	T. Temperatura
M. Masa (kg ó g)	t. Tiempo
MAP. Envasado en atmósfera modificada	TCD. Detector de conductividad térmica
MAPA. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación	TR. Tasa respiratoria (mL/kg h)
MF. Materia fresca	ufc. Unidad formadora de colonia
MicroGC. Microcromatógrafo de gases	UNE. Asociación Española de Normalización y Certificación.
MP. Mínimamente procesado	V. Volumen en el espacio de cabeza
ms. Mili	var. Variedad
N ₂ . Nitrógeno	X _{AA} . Fracción másica de ácido ascórbico
NaAA. Ascorbato de sodio	X _{AC} . Fracción másica de ácido cítrico
NaCA. Citrato de sodio	X _{SS} . Fracción másica de sólidos solubles
nm. nano metros	X _w . Fracción másica de agua (Humedad)
O ₂ . Oxígeno	Δ. Incremento (absoluto)
OMS. Organización Mundial de la Salud	ΔE. Diferencia de color
PAL. Fenilalanina amonioliasa	α. Velocidad de respiración
PDO. Peroxidasa	ε _H . Deformación
PEHD. Polietileno de alta densidad	ε _{HF} . Deformación de fractura
pH. Concentración de hidrogeniones	ε _{HLL} . Deformación lineal
PME. Pectin metilesterase	μs. Micro
ppm. Partes por millón (v/v)	σ _F . Tensión de fractura
PPO. Polifenol oxidasa	σ _L . Tensión lineal
R. Muestra de referencia	σ. Tensión (Pa)
RD. Real Decreto (Legislación Española)	
RT. Reflectancia total	
S. Coeficiente de dispersión (Scatering)	

Introducción

La terminología que define a los *alimentos mínimamente procesados* se ha transformado, recientemente, en un concepto mucho menos restrictivo en su significado (Welti-Chanes *et al.*, 1997; Wiley, 1994). Dicho concepto se unió originalmente a la carne fresca y a sus productos, y venía caracterizado por la presencia de tejidos vivos. La producción de frutas y hortalizas mínimamente procesadas comenzó aproximadamente hace 30 años, por la demanda existente y principalmente por empresas de *catering* y de comida rápida (Nguyen y Carlin, 1994). Este tipo de productos ha recibido numerosas denominaciones, según los países y el modo de preparación. En países francófonos se les llama productos cuarta gama (*4ème Gama*) y en países anglosajones se les denominan productos mínimamente procesados (*minimally*

processed, slightly processed o *partially processed*) o listos para su consumo (*ready to eat* o *ready to use*) o recién cortados (*fresh-cut*).

Este tipo de productos están listos para su consumo en fresco, son estables y contienen características muy similares al producto original, permaneciendo vivos después del procesado. Generalmente han sufrido exclusivamente tratamientos físicos simples de preparación y para su conservación y distribución se someten únicamente a refrigeración (Rolle y Chism, 1987; Shewfelt, 1987). Huxsoll y Bolin (1989) introdujeron una modificación importante en el concepto anterior, ya que sugieren que el requisito del que los tejidos continúen estando vivos no es necesario, si la frescura se mantiene. Wiley (1994) definió a los productos hortofrutícolas mínimamente procesados como aquellos alimentos a los que se les ha modificado sólo ligeramente su apariencia original, mostrando un aspecto fresco tanto en sus características como en su calidad, y que mantienen tejidos vivos, aunque éstos no presentan las mismas respuestas fisiológicas que los vivos sin tratar, debido a las operaciones sufridas. (calor, radiación, aplicación de conservadores, entre otros) (Tabla I.1). Artés (1999) propone la denominación de productos vegetales procesados en fresco a los elaborados a partir de frutas, hortalizas o plántulas, que han sufrido uno o varios tratamientos suaves en su acondicionamiento y preparación para el consumo, en los que el hecho diferenciador clave reside en que el producto elaborado permanece vivo. La preparación de los productos vegetales procesados en fresco se basa en la aplicación de tratamientos simples o combinados que salvaguarden con eficacia al vegetal frente a las alteraciones, fundamentalmente las de origen físico o mecánico como deshidratación, golpes, magulladuras entre otros, alteraciones microbiológicas ocasionadas por hongos, levaduras y bacterias, a alteraciones bioquímicas como pardeamiento enzimático, oxidaciones de lípidos, alteraciones del aroma, sabor y textura, y a alteraciones nutricionales como la pérdida de vitaminas. (Artés *et al.*, 1999; Artés y Artés, 2000). Finalmente, según Ohlsson (1994) y para los propósitos de este trabajo, el término el “procesado mínimo de frutas y hortalizas” ha evolucionado e incluye

Clase de Conservación	Fresco no conservado	Refrigerado mínimamente procesado	Conservado por el frío	Irradiado o Escaldado	Deshidratado	Conservado por calor
Calidad del producto	Fresco	Casi fresco*	Ligeramente modificado*	Ligeramente modificado*	Ligeramente o totalmente modificado*	Totalmente modificado
Proceso y método de conservación	Normalmente no requiere procesado o métodos de conservación	Requiere procesado mínimo y métodos de conservación	Requiere procesado y conservación por frío, congelación, refrigeración	Requiere procesado y conservación por irradiación o escaldado	Requiere procesado y deshidratación	Requiere procesado y conservación por calor
Almacenamiento y vida útil	Puede o no estar refrigerado	Requiere temperatura de refrigeración	Requiere temperaturas de refrigeración o congelación	Requiere refrigeración o puede ser estable a temperatura ambiente	Normalmente estable a temperaturas ambiente o refrigeradas	Estable a temperatura ambiente
Envasado	Puede o no estar envasado	Requiere envasado	Requiere envasado	Requiere envasado	Requiere envasado	Requiere envasado hermético

(*) Frescura en el producto

Tabla I.1 Espectro de los sistemas de conservación de alimentos en relación con las frutas y hortalizas refrigeradas mínimamente procesadas (Adaptado de Wiley, 1994).

una amplia gama de métodos y tecnologías para incrementar la corta vida útil de estos productos, y al mismo tiempo, minimizar los cambios que disminuyen sus características de frescura y mantener sus atributos de calidad nutricional, organoléptica y microbiológica.

Tabla I.2. Diferentes presentaciones de FMP comúnmente comercializadas (Adaptado de Pérez *et al.*, 2003a)

Presentación	Frutas	Geometría	Peso (g)	Tipo de envase	Vida útil*	Punto de Venta**
Una sola Fruta	Piña, Melón, Papaya var. <i>Maradol</i>	Cubos	650-680	Tarrinas	1	Supermercados: Marcas blancas
	Naranja	Rodajas	120	Bandejas	1	Servicios de <i>Catering</i> y Restauración
	Bayas: Frambuesas, Arándanos, Grosellas, Moras.	Enteras	200-300	Tarrinas / Bandejas	5	Supermercados: Marcas blancas
	Pera, Manzana, Kiwi, Pomelo, Mango, Piña, Papaya,	Tacos, rodajas, cubos, laminas,	175	Tarrinas	5	Supermercados: Marcas registradas
Macedonias	Manzana, Piña, Naranja, Uvas, Nectarina, Nectar de frutas	Cubos, rectángulos, trapezoides,	280	Tarrinas	8	Supermercados: Marcas blancas y registradas

* Dias ** Temperatura de almacén y venta 0 a 5°C

Para nuestro estudio, se ha creído conveniente formar un concepto que retoma algunas de las características anteriormente mencionadas. Definiremos a las frutas denominadas procesadas en fresco o mínimamente procesadas (FMP) como productos *listos para comer* o *parcialmente preparados*, que se caracterizan por presentar una fácil e inmediata utilización, estar libres de defectos, poseer un estado de madurez óptimo y unas características muy similares a la materia fresca. Este tipo de producto proporciona además a los consumidores la posibilidad de comprar pequeñas porciones de frutas de alta calidad, y a los productores una apertura en los canales de comercialización.

Estas FMP han sufrido uno o varios tratamientos suaves en su acondicionamiento y preparación y mantienen una apariencia y calidad próximas al producto original. La Tabla I.2 muestra una clasificación de los diferentes tipos de FMP encontradas actualmente en el mercado, según su forma de presentación, vida útil y puntos de venta.

1. Calidad de frutas mínimamente procesadas

El propósito de los alimentos vegetales mínimamente procesados es proporcionar al consumidor un producto fresco, con una vida útil prolongada y, al mismo tiempo garantizar la inocuidad de los mismos, manteniendo una alta calidad nutritiva y sensorial. La calidad de las frutas mínimamente procesadas es función de la de los frutos enteros de su grado de madurez cuando se cortan o trocean, del método de preparación y de las condiciones posteriores de manipulación y por último de las posibilidades del mantenimiento de esta calidad hasta el momento del consumo. La Tabla I.3 resume algunos de los requisitos fundamentales para el mantenimiento de la calidad durante el procesamiento de frutas y hortalizas mínimamente procesadas (MP).

Tabla I.3 Requisitos importantes en el procesado mínimo de frutas y hortalizas (Adaptado de Ahvenainen, 1996).

Requisitos de las materias primas
<ul style="list-style-type: none">• <i>Alta calidad de las materias primas: elección apropiada de la variedad, adecuadas prácticas de cultivo y correctas condiciones de cosecha y almacenamiento</i>• <i>Lavado y/o limpieza antes del procesamiento</i>
Requisitos durante el procesamiento
<ul style="list-style-type: none">• <i>Temperaturas de procesamiento (<10°C), locales climatizados</i>• <i>Operaciones de pelado, corte, o troceado con instrumentos afilados de acero inoxidable (evitando el aporte de iones metálicos)</i>• <i>Aplicación estricta del código alimentario, en cuanto a buenas prácticas de manipulación y/o higiene</i>
Requisitos del producto terminado
<ul style="list-style-type: none">• <i>Uso de métodos de envasado y materiales de envases adecuados</i>• <i>Control apropiado de temperatura y humedad durante su distribución y comercialización</i>

La madurez y calidad inicial apropiada de fruta es esencial (Watada y Ling,1999). Sin embargo, una vez procesada, la calidad es normalmente solamente evaluada visualmente. La apariencia visual es la determinante para el establecimiento de la vida comercial. Con lo que respecta a los cambios en la calidad nutricional, se ha demostrado que existe una pérdida muy pequeña de vitamina C y de carotenos durante un corto plazo, aproximadamente una semana, en frutas MP almacenadas en refrigeración (Wright y Kader, 1997a y b), aunque algunos atributos de calidad durante este periodo todavía pueden tener una calidad aceptable, en términos globales de aroma, así como de sabor y textura.

La capacidad de crecimiento y desarrollo de las de frutas mínimamente procesadas y por consiguiente de las industrias de frutas MP (IFMP), se puede decir que esta limitada por factores intrínsecos y extrínsecos (Bett, 2000). Los factores intrínsecos son relativamente complejos, ya que engloban los cambios fisiológicos y bioquímicos que acompañan al procesado y almacenamiento de los productos que se elaboran. Dentro de éstos, destacan primeramente la actividad respiratoria y la emisión de etileno, ya que a mayor respiración y producción de etileno, menor vida comercial. En segundo lugar, destaca que la mayoría de los microorganismos relacionados con FMP crecen mejor a pH cerca de la neutralidad. El crecimiento de algunas bacterias está limitado a condiciones de neutralidad pero la mayoría pueden crecer a valores pH de alrededor de 4.5 o superiores (Brackett, 1994). Las frutas, debido a que tienen normalmente un valor $pH < 4.0$, en general es inhibido el crecimiento bacteriano, no obstante, se desarrollan los géneros fúngicos y las bacterias acidófilas. En tercer lugar y último, hay que destacar la importancia de la actividad de agua, ya que si es muy elevada (entre 0.95 y 1) facilita el crecimiento de los microorganismos y dificulta la difusión de gases de los tejidos vegetales, con el riesgo de procesos fermentativos y producción de etanol y acetaldehído que alteran el aroma y el sabor (Artés, 2000). Los factores extrínsecos hacen referencia a diferentes controles de procesado como es la aplicación del código alimentario, en cuanto a buenas prácticas de manipulación y/o higiene, con

algunas especificaciones. El desafío de las IFMP es considerablemente alto debido a la necesidad de mantener las frutas cortadas con una apariencia, textura, sabor y valor nutritivo semejante al de las frutas que no han sido procesadas. Así, para poder mantener la calidad de los productos y extender su vida útil, las IFMP han tenido que poner a punto nuevas técnicas de procesado, la mayoría basadas en la aplicación de métodos combinados, junto con el desarrollo de nuevos materiales de envasado y sistemas de control. Todo ello ha permitido llegar a soluciones óptimas desde el punto de vista de la calidad.

1.1 Factores que afectan a la calidad de FMP

Los principales factores que afectan la calidad de frutas MP son la variedad (Kim *et al.*, 1993a y b), las prácticas agronómicas de precosecha (Romig, 1995), el estado de madurez durante cosecha (Gorny *et al.*, 1998a), las condiciones fisiológicas del producto fresco (Brecht, 1995), el manejo durante la postcosecha y el almacenamiento (Watada *et al.*, 1996), las técnicas de procesamiento (Bolin *et al.*, 1977; Saltveit, 1997; Wright y Kader, 1997b), la higienización (Hurst, 1995), el envasado (Cameron *et al.*, 1995; Solomos, 1994) y el adecuado manejo de las temperaturas durante la distribución y la comercialización (Brecht, 1999). A continuación se comentan algunos de los factores citados anteriormente, como son:

1.1a Variedad, región de crecimiento y estación

Las compañías de semillas y numerosos procesadores de vegetales mínimamente procesados son conscientes de que una variedad determinada tiene un crecimiento óptimo en ciertas regiones, y a menudo, la calidad de estos productos durante la postcosecha es atribuible a las prácticas agronómicas, al clima, a la estación y a la madurez. Por ejemplo, el contenido de aceites volátiles deseables en piña fresca es más alto en frutas de verano (Haagen-Smit *et al.*, 1945), y las proporciones dominantes de compuestos volátiles en manzana varían dependiendo la estación (López *et al.*, 1998). Las

interacciones anteriormente mencionadas, deben estar de acuerdo con engendrar variedades con rasgos específicos para perfeccionar e incrementar la vida útil de los productos, y este factor debe ser considerado cuando se desarrollan variedades para la industria del vegetales MP (Romig, 1995). Diferentes trabajos han documentado que ciertas variedades contribuyen a la calidad de estos productos y al mismo tiempo al de su vida útil (Cantwell y Portela, 1997; Gorny *et al.*, 1999; Kim *et al.*, 1993a y b; Lange, 1998). Sin embargo, no existe un estudio que abarque todas las variedades deseables. Además, no se puede seleccionar la *variedad perfecta*, ya que su desarrollo esta ligado al crecimiento de la semilla y a culminantes variaciones climatéricas y estacionales.

Basándose en un estudio de calidad visual en pera MP Gorny *et al.*, (1998a) apreciaron diferencias significativas en rodajas de 4 diferentes variedades (*Bosc*, *Bartlett*, *Anjou* y *Red Anjou*) almacenadas en aire a 10°C. *Bosc* y *Bartlett* tuvieron la vida útil más larga (3 y 4 días respectivamente), con respecto a *Anjou* y *Red Anjou* que resultan tener una vida útil muy corta (<2 días), debido a la presencia de un severo pardeamiento. No obstante, *Bosc* y *Bartlett* experimentaron una mayor pérdida de firmeza después del corte y almacenamiento que las otras variedades.

1.1b Tamaño de la fruta y rendimiento

Normalmente, los procesadores de frutas MP utilizan frutas de tamaño muy grande o muy pequeño para aumentar al máximo rendimientos o para reducir el costo de los ingredientes frescos. Por ejemplo, los procesadores de melón MP usualmente utilizan piezas muy grandes, ya que estas están a menudo disponibles a los precios más bajos en el mercado y su rendimiento casi siempre es mayor. El trabajo que implica el procesar una fruta de gran tamaño es a menudo menor que el de procesar varias frutas de menor tamaño. Existen pocas investigaciones que documenten los efectos del tamaño de fruta en la calidad y en la vida útil de frutas MP. Un estudio realizado por Gorny *et al.*, (2000), en rodajas de peras con tratamiento mínimo provenientes de la

variedad *Bartlett* de diferentes tamaños (122 a 135 o 152 g) resultó no tener un efecto significativo en la vida útil del producto. Sin embargo, se observó que si en lugar de cortar las peras en rodajas se cortaba en dos únicos trozos, la fruta con el tamaño más pequeño (122-135 g) pardeaba más rápidamente que los trozos procedentes de las frutas más grandes (152 g). Así mismo, la fruta de menor tamaño registró menor cantidad de sólidos solubles totales, con lo que dicho aspecto podría afectar a la calidad sensorial del producto. Los hallazgos demuestran que, sólo en algunos casos, puede evitarse el uso de fruta entera de menor tamaño, que a menudo recibe precios más bajos en el mercado de productos en fresco.

1.1c Daños por frío

La gran mayoría de frutas MP no son susceptibles a daños por frío. Algunas de éstas como la piña, melón, sandía, melocotón, nectarina y mango entre otras, son altamente sensibles a daños por frío (<12°C), cuando están intactas. Los daños por frío se manifiestan mediante un aceleramiento de las lesiones fisiológicas y un aumento en la incidencia de patologías, donde las alteraciones se registran principalmente en las zonas exteriores del fruto, como la piel. Para las frutas MP la temperatura recomendable de almacenamiento es 0°C, ya que proporciona una vida útil óptima al mismo tiempo que reduce el crecimiento de microorganismos. Actualmente no existen estudios relacionados con el impacto en la biosíntesis de aromas y sabores de frutas MP almacenadas a bajas temperaturas.

Por último, comentar que la elección de una variedad genéticamente adecuada y el conocimiento de las prácticas agronómicas y de post-recolección de la materia prima utilizada para el procesamiento de FMP es crucial para asegurar su calidad. La composición de substratos fenólicos de frutas está determinada por factores externos e internos tales como variedad, estado de madurez, almacenamiento, medioambientales y genéticos (Nicolas *et al.*, 1994). También se conoce que existe un incremento significativo en el nivel de compuestos fenólicos de la planta como respuesta hacia infecciones

fitopatógenas (Lattanzio *et al.*, 1994). Con respecto a las prácticas agronómicas, se ha demostrado que la aplicación de pesticidas y fertilizantes específicos pueden regular el incremento o disminución de la concentración fenólica (Daniel *et al.*, 1999; Lee, 1992). El almacenamiento de frutas y verduras rojas a bajas temperaturas y el tipo de contenedores utilizados durante los tratamientos de post-recolección también puede alterar el contenido fenólico y la calidad del fruto (Tomás-Barberán y Espín, 2001), debido a la potenciación de ciertas rutas bioquímicas no deseables.

1.1d Grado ó nivel de procesado

Aunque las frutas y hortalizas mínimamente procesadas adquieren un rápido protagonismo en los puestos de venta por la comodidad de uso que conllevan y por su apariencia de fresca y naturalidad, se trata de productos generalmente más perecederos que el material original del que provienen. Es importante considerar que gran parte de las técnicas de conservación de alimentos estabilizan el producto y alargan su vida útil. Sin embargo, en las frutas y hortalizas mínimamente procesadas, aumenta significativamente su carácter perecedero (Watada *et al.*, 1996; Schlimme, 1994; Cantwell, 1992). Esto es debido a que las frutas y hortalizas mínimamente procesadas continúan siendo órganos vivos, y por consiguiente, cualquier operación durante su elaboración produce un impacto fisiológico, tanto más grande cuanto mayor es el grado de procesado, aumentando su velocidad de deterioro y reduciendo su periodo de vida útil con respecto al producto que las originó. Los daños al tejido por las simples operaciones de corte o pelado, estimulan la actividad respiratoria y la producción de etileno, lo que induce la biosíntesis de enzimas asociadas a un incremento en la velocidad de los procesos metabólicos y de otras reacciones bioquímicas responsables del cambio de color, aroma, textura y valor nutritivo que conducen a la senescencia de los tejidos vegetales (Cantwell, 1992). El corte de los tejidos vegetales provoca también la descompartimentación celular, que permite la entrada en contacto de enzimas de localización citoplasmática con substratos de localización vacuolar. Igualmente se produce una fuerte pérdida de jugos celulares,

incrementándose la actividad de agua y el área de superficie por unidad de volumen. Esto puede acelerar la pérdida de agua y, además, el exudado constituye un medio muy favorable para el desarrollo de microorganismos (Figura I.1) (Carlin *et al.*, 1990; Izumi *et al.*, 1996). Además, las operaciones de preparación de productos mínimamente procesados incrementan la contaminación microbiológica por transferir la microflora de la piel y de los utensilios utilizados a los tejidos del fruto, disminuyendo la estabilidad del mismo (Pittia *et al.*, 1999).

Aunque el deterioro de la mayoría de los alimentos ha sido atribuido únicamente a microorganismos, es un hecho que las pérdidas en postcosecha de frutas y hortalizas pueden reducirse no sólo controlando el crecimiento de estos microorganismos, sino inactivando las enzimas endógenas que continúan actuando en los frutos procesados y almacenados (Ashie *et al.*, 1996). Estos cambios fisiológicos generalmente están acompañados por pérdidas de sabor y aroma, decoloración de superficies, pérdida de color, deterioro del tejido, incremento de la velocidad de pérdida de vitaminas, ablandamiento del tejido y pérdidas de la turgencia y volumen, lo cual conduce a una vida útil muy corta.



Figura I.1 Daño a nivel celular originado por la operación de corte (Adaptado de Wiley, 1994)

La Tabla I.4 recoge algunos de las principales enzimas y microorganismos responsables de la mayor parte de las alteraciones en FMP, junto con el efecto que producen y el tipo de medidas preventivas de control más utilizadas. Dentro del control del crecimiento microbiano, la temperatura es el factor más eficaz (0-1°C), ya que las FMP no reciben tratamientos severos con calor, y generalmente, el empleo de aditivos para su conservación es poco frecuente (Artés y Artés, 2000).

Tabla I.4. Enzimas y microorganismos involucrados en el deterioro de FMP (Adaptado de Pérez *et al.*, 2003a)

Agente de Deterioro	Tipo de Agente	Efectos	Prevención/Control
Enzimas	Cholofilasas Antocianinasas	Perdida del color Original	Alta calidad en materias primas Variedades adecuadas Aplicación de procesos y envasados adecuados Mantener bajas temperaturas Utilización de agentes antipardeantes
	Polifenoloxidasa	Pardeamiento enzimático Descenso del valor nutritivo Perdida de la calidad comercial	
	Peroxidasa	Alteración de sabores y aromas Pardeamiento	
	Pectinmetilesterasa Poligalacturonasa	Ablandamiento de tejidos, pérdida de firmeza	
	Acidoascorbico-oxidasa	Destrucción de Vit C	
	Microorganismos	Patógenos <i>Salmonella</i> <i>E. coli</i> <i>Y. Enterocolitica</i> <i>L. monocytogenes</i> <i>S. aureus</i> <i>Cl. botulinum</i>	
Otros Microorganismos <i>Pseudomonas</i> especies <i>Erwinia</i> especies Bacterias ácido lácticas Levaduras		Podredumbre blanda bacteriana Producción de metabolitos	Uso de buenas practicas de manufactura Evitar creación de medios anaerobios
Mohos Rhizopus Fusarium, y otros		Podredumbre mohosa gris, negra y blanda acuosa	

1.1e Carga microbiana

El daño microbiano puede ser la mayor fuente de trastornos en frutas y hortalizas MP (Brackett, 1987; 1994). El daño microbiano de frutas MP puede

ocurrir más rápidamente, debido a los altos niveles de azúcares encontrados en la mayoría las frutas. Sin embargo, la acidez del tejido de las frutas junto con la naturaleza de los ácidos orgánicos que contienen, usualmente ayuda a suprimir el crecimiento bacteriano, pero no el de levaduras y hongos. No existe ninguna evidencia para sugerir que bajos recuentos en placa de microorganismos totales, aerobios, anaerobios, o mohos y levaduras, inmediatamente después del procesado, estén correlacionados con el incremento en la vida útil de frutas y hortalizas MP. Los microorganismos asociados predominantemente con trastornos en hortalizas MP son bacterias (i.e. *Pseudomonads spp*), en tanto que los microorganismos considerados como predominantes causantes de trastornos en frutas MP, son las levaduras y los hongos. En las frutas MP ácidas, las levaduras y los hongos son típicamente asociados con alteraciones del producto. Una reducción en los recuentos iniciales de levaduras y hongos, así como retraso en su crecimiento provocado por el almacenamiento a bajas temperaturas (<5°C), produce un impacto positivo en la vida útil del producto (O'Connor-Shaw *et al.*, 1994; Qi *et al.*, 1998). En las frutas con un pH neutro, como el melón MP, las bacterias son la fuente principal de alteración (Lamikanra *et al.*, 2000).

2. Aceptación sensorial de FMP

La aceptación por parte del consumidor hacia frutas MP esta ligado frecuentemente a su apariencia, al sabor innato y a la textura de éstas, ya que raramente se acompañan con salsas o aderezos. El contenido de azúcares en FMP esta generalmente correlacionado positivamente con el sabor. Ocasionalmente demasiado dulzor es percibido negativamente. Por ejemplo, el rango de 10 a 13°Brix resulto ser el óptimo para melón MP, ya que fuera de este rango los catadores detectaron un dulzor desagradable (Anónimo, 2000).

Una apreciación visual aceptable no necesariamente implica que un producto posea una calidad que satisfaga la cualidad de un sabor agradable. La calidad visual excelente y la aceptación por parte de los consumidores se

dan a menudo en frutas MP inmaduras. Por ejemplo, en trabajos realizados con melocotones y nectarinas inmaduros MP, los productos mostraron una apariencia y calidad visual excelente durante largos periodos de almacenamiento. No obstante, ambas muestras mostraron un excesivo endurecimiento y una pobre calidad comestible, lo que limita su utilización (Beaulieu *et al.*, 1999; Gorny *et al.*, 1998b).

La calidad del sabor y aroma son también atributos importantes para los consumidores, con lo que dichos atributos deberán también examinarse de forma minuciosa para determinar la vida útil y la calidad de frutas MP. En contraposición, la calidad de hortalizas y frutas intactas (frescas) es a menudo determinada casi exclusivamente basándose en su apariencia e ignorando su calidad en cuanto a sabor y textura (Sapers *et al.*, 1997).

Existe abundante variabilidad en la literatura con respecto al grado de aceptabilidad de FMP basándose en evaluaciones sensoriales, y esta variabilidad puede atribuirse a menudo a diseños experimentales diversos, al tipo de análisis sensorial o a los prejuicios culturales. Es difícil establecer los límites de la calidad global de FMP durante su vida útil, en cuanto a su sabor y aroma, debido a la gran variabilidad del producto inicial. Los diferentes tratamientos a los que se somete la fruta durante su acondicionamiento y envasado, son en gran medida, responsables de los cambios sufridos en el sabor de FMP.

Durante la maduración de la fruta uno de los cambios más notables es el ablandamiento, que está relacionado con las alteraciones bioquímicas de la pared celular, de la lamina media y a niveles de la membrana. A pesar de que dicha manifestación se ha atribuido a enzimas tales como poligalacturonasas y pectin-metilesterasas, el mecanismo preciso todavía es incierto. Tras las operaciones de pelado, corte, troceado, etc. se produce una pérdida de firmeza en los tejidos que puede deberse a la hidrólisis de los componentes de la pared celular por enzimas proteolíticos y pectinolíticos (Wiley, 1994). La actuación de

enzimas pectinohidrolasas, degradan la estructura péctica y como consecuencia, modifican la textura del producto. La firmeza de frutas MP es un importante atributo de calidad que está afectado por estas enzimas que causan el ablandamiento de los tejidos de frutas (Varoquaux *et al.*, 1990) y una disminución de la turgencia debido a la pérdida de agua. La firmeza del mesocarpio de las frutas MP puede ser preservada por aplicación de tratamientos con sales de calcio. Inmersiones en soluciones de 0.5 a 1% de cloruro de calcio resultan ser muy eficaces en el mantenimiento de la firmeza en productos mínimamente procesados (Ponting *et al.*, 1971; Ponting *et al.*, 1972) Sin embargo, el cloruro de calcio puede conferir sabores amargos o apagamiento de sabores en algunos productos (Luna-Guzmán y Barrett, 2000).

Además del empleo de agente conservadores de la firmeza, la elección de la variedad y la temperatura de almacenamiento adecuadas puede ser determinante. Así Kim *et al.*, (1993b) encontraron que la firmeza de rodajas de 12 variedades de manzana sin tratamiento y almacenadas a 2°C disminuyó gradualmente durante 7 días y posteriormente decreció. En cambio, algunas variedades de manzanas tratadas con temperaturas moderadas retienen la firmeza durante el almacenamiento (Kim *et al.*, 1994). La firmeza algunas veces puede ser preservada por almacenamiento en atmósferas controladas. La pérdida de firmeza promedio en cilindros de melón después de 12 días de almacenamiento en aire a 5°C fue de 10 N, mientras que el almacenamiento en atmósferas controladas (aire + 15% CO₂) redujo significativamente la pérdida de firmeza (Portela y Cantwell, 1998; Qi *et al.*, 1999).

2.1 Calidad visual

Los alimentos contienen sustancias naturales que son responsables de su color característico. Los pigmentos propios de vegetales pueden estar constituidos por uno o varios de los siguientes grupos de compuestos: carotenos, antocianos, clorofilas y compuestos fenólicos. Las frutas y hortalizas son altamente atractivas y llamativas debido a la riqueza de pigmentos que éstas contienen. La preservación del color verde de la clorofila en hortalizas,

del rojo al púrpura de los antocianos, amarillo, naranja y rojo de los carotenoides, es de vital importancia para mantener la calidad de frutas y hortalizas. Los cambios de color (Figura 1.2) en frutas y hortalizas pueden tener orígenes diferentes. La disminución de la pigmentación verde hacia colores amarillos, por ejemplo en lechuga puede ser el resultado de la senescencia, exposición al calor o a la acidificación; la decoloración o pardeamiento de hongos, de rodajas de manzanas y peras es provocado a través de la acción de enzimas como la polifenol oxidasa. Por otro lado, en hortalizas procesadas como, las zanahorias, es frecuentemente observar el desarrollo de una capa blanquecina, asociada a la presencia de lignina, cicatrizante natural de los tejidos (Bolin y Huxsoll, 1991), aunque también se ha vinculado a la deshidratación de las células muertas (Avena-Bustillos *et al.*, 1994).

El color de las frutas y hortalizas frescas que han sido procesadas se ve alterado por: (Dorantes-Álvarez y Chiralt, 2000)

- oxidación de compuestos fenólicos catalizada por la polifenol oxidasa
- conversión de clorofilas en feofitinas por acidificación
- modificación de antocianos por oxidación y acidificación del medio
- el contenido de carotenos totales se afecta por acidificación y tratamientos térmicos suaves sólo moderadamente

La importancia del color del producto alimentario comercial es indiscutible, pues en los puntos de venta se valora el alimento sólo por la apariencia. Generalmente es asumido "*Que si luce bien, sabe bien*". El parámetro de calidad que contribuye a la primera impresión del producto alimentario es su apariencia visual, determinada por el color y la forma. Sólo en segundo lugar, cuando el alimento se ha evaluado con los ojos y juzgado seguro para comer, éste se valora a través de otros sentidos al saborearse, paladearse y olerse, momento en que otros componentes de la calidad sensorial, flavor y textura, se convierten en criterios de valoración. Además el producto puede ser rechazado si la impresión visual que nos produce no coincide con el estándar al que estamos acostumbrados. La cualidad del color acusa especialmente este fenómeno de rechazo (Clydesdale, 1993). Además, el color es el único criterio

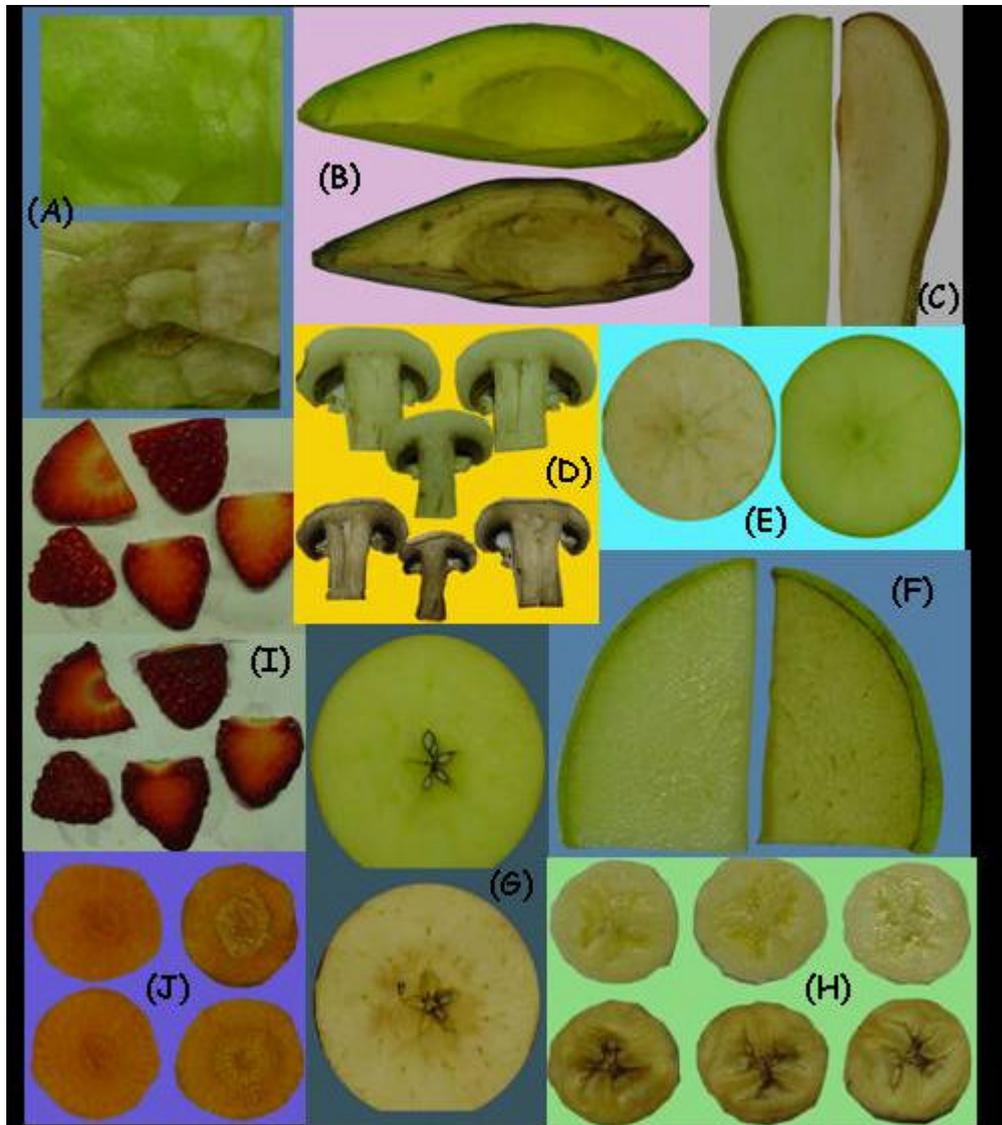


Figura 2. Algunos ejemplos de cambios en la apariencia de frutas y hortalizas, almacenadas durante 24h a 10°C. El pardeamiento se observa en las fotos A-H; (A) lechuga var. *Iceberg*, (B) aguacate var. *Hass*, (C) pera var. *Conferencia*, (D) champiñón var. *Lange*, (E) manzana var. *Granny Smith*, (F) pera var. *Blanquilla*, (G) manzana var. *Royal gala*, (H). La pérdida de antocianos en fresa var. *Camarosa*, (I). La presencia de coloración blanca en zanahoria var. *Nantes* (J).

de elección que actúa como indicador cuantificador de la vida útil del producto (Brennan *et al.*, 2000). También el color, es uno de los principales criterios por los que los consumidores juzgan la frescura y calidad de muchos alimentos. Es totalmente decisivo al comprar un producto. Por ejemplo, se asocia el color marrón con tejidos excesivamente maduros, heridos o almacenados por tiempo excesivo. Al contrario, colores amarillos, verdes o rojos claros y brillantes son los preferidos (Pérez *et al.*, 2001).

Entre las modificaciones indeseables del color sufridas en FMP, el pardeamiento es una de las alteraciones más frecuentes (Eckert, 1978). Con algunas excepciones (ciruelas pasas, dátiles y higos, entre otros), los cambios que se producen como consecuencia del pardeamiento perjudican la calidad de los frutos, tanto desde el punto de vista organoléptico como el nutricional (Mayer y Harel, 1979; Mauron, 1990; Friedman, 1996; Ahvenainen, 1996; 2000). En el siguiente apartado (3. Pardeamiento enzimático) donde, se especificaran los fundamentos del proceso de pardeamiento, así como las enzimas responsables y los factores que lo condicionan.

3. Pardeamiento enzimático

La alteración del color de los productos hortofrutícolas está fundamentalmente relacionada con el pardeamiento enzimático (Sapers, 1993; Nicolas *et al.*, 1994), siendo éste uno de los principales factores que limitan la vida útil de los productos MP. Las reacciones enzimáticas en vegetales mínimamente procesados producen alteraciones sensoriales tales como mal olor, pérdida de firmeza y decoloración. El pardeamiento enzimático de la fruta se debe bien a procesos fisiológicos que tiene lugar durante la maduración, bien a procesos asociados a la recolección, o bien a tratamientos tecnológicos de postrecolección. El proceso de pardeamiento se desencadena cuando, tras la operación de corte se produce una pérdida de la integridad celular en las superficies de las frutas. Esto provoca una destrucción de la compartimentación de enzimas y substratos, con lo que se catalizan las reacciones y se produce la

formación de metabolitos secundarios no deseados (Burns, 1995). Para que el fenómeno de pardeamiento enzimático tenga lugar se requiere de la presencia de cuatro diferentes compuestos: el oxígeno molecular, substratos apropiados, la polifenol oxidasa y la presencia de cobre en el centro activo de la enzima. Estos factores determinan la velocidad de pardeamiento, que puede tener lugar muy rápidamente, incluso en 30 min (Laurila *et al.*, 1998). Esta velocidad dependerá de factores tales como la concentración y actividad de la enzima, la cantidad y naturaleza de los compuestos fenólicos, pH, temperatura, actividad del agua y de la cantidad de oxígeno disponible en el entorno del tejido vegetal (Mayer, 1987; Vámos-Vigyázó, 1981). Otros factores intrínsecos que influyen en la intensidad del pardeamiento son: la especie, la variedad y el estado fisiológico de los frutos (Amiot *et al.*, 1992).

Las especies cultivadas comercialmente importantes, como peras y manzanas, así como sus productos tales como zumos o néctares son muy sensibles al pardeamiento enzimático debido a su alta concentración en polifenoles y polifenol oxidasa. En vinos y uva, el oscurecimiento también es causa significativa de pérdida de calidad. Otras frutas particularmente sensibles a la oxidación enzimática son los albaricoques, melocotones, aguacates, plátanos, lichis o mangos, y también hortalizas como champiñones y patatas. Aparentemente, ciertas frutas como los cítricos o la piña contienen relativamente pocos substratos fenólicos, no contienen polifenol oxidasa o su actividad es tan baja que se acepta que, el pardeamiento enzimático no causa problemas de coloraciones (Robards *et al.*, 1999). Estos problemas también se consideran ausentes en otros frutos como el melocotón variedad *Sunbeam*, que contienen las enzimas, pero no los substratos de reacción (Cheftel y Cheftel, 1976).

Sin embargo, la formación de este color oscuro no es siempre un inconveniente. Así, se busca un ligero pardeamiento en la maduración de los dátiles, en la preparación de la sidra, fermentación del té, secado de los granos fermentados del cacao, o en el secado del tabaco (McEvily *et al.*, 1992). Ya sea

una consecuencia indeseable del procesado de frutas o un efecto buscado en ciertos productos, el pardeamiento enzimático es un fenómeno que caracteriza los alimentos de origen vegetal.

Se ha interpretado de varias formas la función que la polifenol oxidasa y el oscurecimiento pueden jugar en la fisiología vegetal. Cheftel y Cheftel (1976) aseguran que las reacciones de pardeamiento enzimático poseen un papel de protección contra microorganismos. En efecto, se considera que los polímeros coloreados que se forman cuando un tejido se lesiona, pueden constituir una defensa contra la penetración de microorganismos, o incluso retrasar su proliferación (Cheftel y Cheftel, 1976). Valero-Ruiz (1993) considera que la participación de la polifenol oxidasa en procesos fisiológicos tan diversos como la biosíntesis de ligninas, la esclerotización de la cutícula de artrópodos y la biosíntesis de melaninas se debe a la gran variedad de posibles sustratos y la elevada reactividad de las *o*-quinonas, productos primarios de reacción generados por la actividad de esta enzima.

El pardeamiento enzimático no ocurre en los alimentos de origen animal. No obstante, los alimentos de origen animal sí pueden modificar su color debido a otro pardeamiento no enzimático que conlleva también alteraciones de la tonalidad en elaborados de frutas. El pardeamiento no enzimático también se conoce como reacción de *Maillard*, caramelización o formación de melanoidinas (Primo, 1997).

La denominación de pardeamiento no enzimático designa un conjunto de reacciones muy complejas que conducen en diversos alimentos a la formación de pigmentos pardos o negros llamados melanoidinas, así como a modificaciones, favorables o no, del olor y sabor. Los sustratos de estas reacciones son compuestos carbonilo y grupos amino libres. Entre los compuestos que contienen funciones carbonilo, los más implicados en las reacciones de *Maillard* son azúcares reductores, pero también intervienen el ácido ascórbico, la vitamina K, aromas naturales o productos de oxidación de

lípidos. Los grupos amino que se combinan con los carbonilo provienen de aminoácidos y proteínas. La condensación entre funciones carbonilo y grupos aminos supone un descenso de la disponibilidad nutricional de amino ácidos esenciales como la lisina, así como una menor solubilidad y digestibilidad de las proteínas.

3.1 Enzimas responsables

El pardeamiento enzimático está mayoritariamente asociado con la acción de las polifenol oxidasas (PPO), sin embargo existen otras enzimas responsables es menor grado. La principal catalizadora de la alteración del color en los alimentos, la polifenol oxidasa (PPO) es una enzima ampliamente distribuida en la escala filogenética, encontrándose tanto en organismos procariotas como eucariotas. Recibe distintos nombres según el material biológico del que proceda. Así, se denomina tirosinasa en animales y procariotas, y polifenol oxidasa en vegetales (Valero-Ruiz, 1993). La polifenol oxidasa se localiza siempre en orgánulos celulares, concretamente en cloroplastos y mitocondrias. Se puede hallar de dos formas distintas, bien unida a membranas, como a la membrana tilacoidal de los cloroplastos, o bien en forma soluble. Es de destacar el hecho de que la proporción de fracción soluble de PPO aumenta durante la maduración del fruto. El nivel de actividad de la PPO depende del tipo de tejido. Aunque se asume que esta afirmación es cierta, existe cierta controversia al respecto ya que en manzana algunos autores han encontrado que la actividad enzimática era mayor en la piel que en el mesocarpio y otros estudios constatan lo contrario (Nicolas *et al.*, 1994).

Según la Comisión para la Nomenclatura Enzimática, todas las enzimas pueden agruparse en seis clases. Las enzimas involucradas en el pardeamiento enzimático pertenecen al grupo 1 o grupo de las oxidoreductasas, constituido por deshidrogenasas, reductasas, oxidasas, transhidrogenasas, peroxidasas y oxigenasas. Es conveniente distinguir entre dos subclases de enzimas, las oxigenasas y las oxidasas. Las oxigenasas

catalizan la incorporación tanto de átomos de oxígeno como de oxígeno molecular en el sustrato, dando lugar en la mayoría de los casos a la formación de grupos hidroxilo. Pueden incorporar un átomo de oxígeno por mol de sustrato (se denominan entonces monooxigenasas) o dos átomos de oxígeno (dioxigenasas). Las oxidasas, sin embargo, catalizan la transferencia de electrones desde su sustrato al oxígeno, reduciendo este último a peróxido, superóxido o agua, pero sin incorporar ningún átomo de oxígeno al sustrato. Las oxidasas son frecuentemente metaloproteínas.

Las polifenol oxidasas son metaloenzimas que contienen un 0.2% de cobre, elemento que se puede separar por diálisis mediante EDTA. Para que la enzima actúe sobre el sustrato fenólico, el Cu^{+2} ha de encontrarse reducido a Cu^{+} , estado en el que la enzima puede ligar oxígeno (Mayer, 1961; Mayer y Harel, 1979; Dorantes-Álvarez y Chiralt, 2000). El cobre, situado en el centro activo del enzima, es esencial para la actividad de la polifenol oxidasa y su acomplejamiento da lugar a la inhibición de la misma. Bajo la genérica denominación de polifenol oxidasa, quedan comprendidas dos tipos de enzimas. El primer tipo lo constituyen las catecol oxidasas (E.C. 1.10.3.1) y el segundo tipo las lacasas (E.C.1.10.3.2.). Las primeras catalizan dos reacciones distintas:

- a) Reacción 1 o *Actividad cresolasa*: hidroxilación de monofenoles en la posición *orto* para obtener *o*-difenoles.
- b) Reacción 2 o *Actividad catecolasa*: oxidación de *o*-difenoles a sus correspondientes *o*-quinonas.

Estas dos reacciones enzimáticas consumen oxígeno y son conocidas en la literatura por el apelativo de *actividad monofenolasa* (o *cresolasa*) y *actividad o-difenolasa* (o *catecolasa*). La actividad cresolasa de la enzima es reflejo de un comportamiento de oxigenasa, mientras que la actividad catecolasa es un claro exponente de la actividad enzimática de una oxidasa. Esta doble vertiente de la polifenol oxidasa desemboca en pluralidad de calificaciones. Veamos las distintas nomenclaturas asociadas a esta enzima que ratifican la afirmación

anterior; a saber, la hidroxilación de monofenoles (reacción1) es propia de una *monofenol monooxigenasa* o *tirosinasa*, *monofenolasa* o *cresolasa* y la oxidación a quinonas (reacción 2) propia de una *difenol oxidasa*, *difenolasa* o *catecolasa*. Es por ello que en las publicaciones especializadas aparece la denominación E.C. 1.14.18.1 junto a la de E.C. 1.10.3.1 para referirse ambas a la enzima que cataliza la hidroxilación de monofenoles (Nicolas *et al.*, 1994).

Un segundo tipo de enzimas catalogadas también bajo el término genérico de polifenol oxidasas son las lacasas (E.C. 1.10.3.2), quienes tienen la peculiaridad de oxidar tanto *o*-difenoles como *p*-difenoles a sus correspondientes *o*-quinonas (Walker y McCallion, 1980) con un pH óptimo entre 4 y 7.5. Se ha cuestionado que las lacasas estén involucradas en los procesos de pardeamiento enzimático ya que están ausentes en la mayoría de los vegetales, se ha descrito su presencia en melocotones (Harel *et al.*, 1970), albaricoques (Dijkstra y Walter, 1991), tomate y champiñones (Vámos-Vigyázó, 1981).

Las peroxidasas (EC.1.11.1.7.) (POD) son un grupo de enzimas ampliamente distribuidas en plantas, que contienen hierro en su grupo prostético y cuya primera función es oxidar los donantes de hidrógeno a expensas de los peróxidos. Se asume que las peroxidasas también pueden desempeñar cierta función en el pardeamiento puesto que utilizan las formas quinónicas como sustratos peróxidos, o incluso son capaces de aceptar una amplia gama de donantes de hidrógeno, incluidos los mono y difenoles (Richard-Forget y Gauillard, 1997). Éstos últimos sustratos altamente potenciales (Robinson, 1991), en el oscurecimiento del litchi o el pardeamiento interno de la piña (Richard-Forget y Nicolas, 1989; López-Serrano y Ros-Barceló, 1995). Esta hipótesis se ve posibilitada por el hecho de que la polifenol oxidasa, cualquiera que sea el sustrato empleado, genera peróxido de hidrógeno, la cantidad de cual varía en función de la estructura fenólica de partida (Robards *et al.*, 1999). La POD es responsable de la aparición de sabores extraños y olores desagradables, pero su implicación en el proceso de

pardeamiento ésta muy limitada debido a la baja disponibilidad de H_2O_2 en el interior de las células vegetales (Robinson, 1991). La peroxidación enzimática de los ácidos grasos insaturados es el ejemplo más grave de las modificaciones bioquímicas del aroma de este tipo productos. Esta peroxidación está catalizada por lipoxidasas y da origen a la formación de numerosos aldehídos como el *n*-hexanal. Debido a su gran termoestabilidad, el control de su actividad suele utilizarse como indicador de la eficacia del escaldado en frutas y hortalizas.

3.2 Substratos de la reacción

La gran diversidad estructural y funcional característica de los compuestos fenólicos y polifenoles ha dificultado la tarea de definir este extenso conjunto de sustancias naturales a las que se agrupó por el hecho de poseer un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilo, como queda reflejado literalmente en su nomenclatura. Esta definición, basada en la estructura bioquímica, no se ajusta por varios motivos a la totalidad de compuestos que tradicionalmente se consideran polifenoles. En primer lugar, existen compuestos fenólicos que ni siquiera contienen un anillo aromático, como el ácido shiquímico, el ácido quínico y el elenólico (Figuras I.3 y I.4). En segundo lugar, la denominación de "poli"fenoles no es acertada porque no todos ellos son derivados polihidroxilo; por ejemplo, el ácido gálico, el ácido ferúlico y el sinápico junto con el ligstrósido son compuestos que tan sólo poseen un grupo $-OH$.

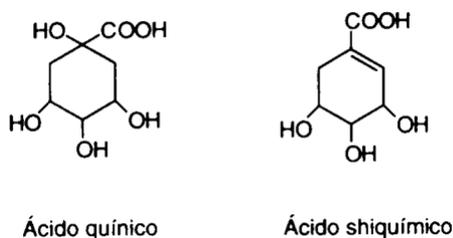
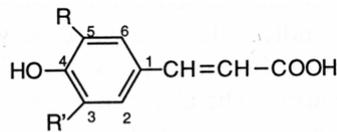


Figura I.3 Estructuras del ácido quínico y el ácido shiquímico (Adaptado de Cheftel y Cheftel, 1976)

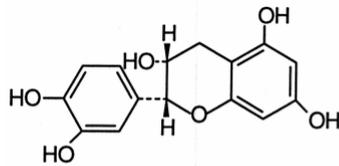
En tercer lugar, con esta definición incluiríamos en la clase polifenólica a hormonas como las estronas, que son verdaderos terpenos. Visto que la definición bioestructural es insatisfactoria podemos decir, según Robards *et al.* (1999), que los polifenoles son “aquellas sustancias que derivan del ácido shiquímico y del metabolismo del ácido fenilpropanoico”. Esta definición está basada en el origen metabólico de estos compuestos (Robards *et al.*,1999).

ÁCIDOS HIDROXICINÁMICOS:

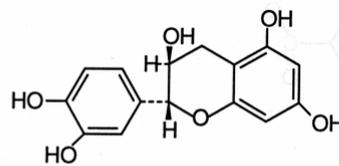


Ácido p-cumárico
 Ácido cafeico
 Ácido ferúlico
 Ácido sinápico

R=R'=H
 R=OH R'=H
 R=OMe R'=H
 R=R'=OMe

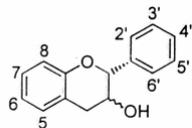


(+) catequina



(-) epicatequina

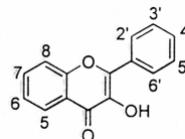
FLAVONOIDES:



a)

a) Flavanoles

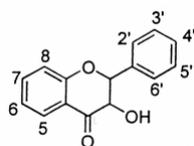
Catequina : 5=7=3'=4'=OH
 Epicatequina : 5=7=3'=4'=OH
 Epigallocatequina :5=7=3'=4'=5'=OH



b)

b) Flavonoles

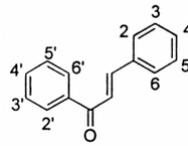
Quercitina : 5=7=3'=4'=OH
 Isoramnetina : 5=7=4'=OH, 3'=OCH₃
 Kaempferol :5=7=4'OH



c)

c) Flavanonoles

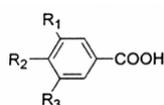
Dihidroquercitina : 5=7=3'=4'=OH



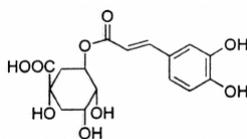
d)

d) Chalconas

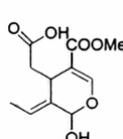
Chalconaringenina : 2'=4'=6'=4=OH



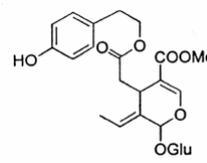
ácidos benzoicos



ácido clorogénico



ácido elenólico



ligstrósido

Figura I.4. Estructuras química y clasificación de algunos compuestos fenólicos (Adaptado de Robards *et al.*, 1999)

Los compuestos fenólicos constituyen una de las principales clases de metabolitos secundarios. Los metabolitos secundarios de origen vegetal son compuestos a los que se ha considerado no esenciales para la supervivencia de la planta entera o ciertas partes de ella, aunque su biosíntesis sí es necesaria para la función de relación entre el ser vivo vegetal y el medio ambiente (Tomás-Barberán y Espín, 2001). Aun derivando de un número limitado de precursores como el acetato, piruvato, fosfoenolpiruvato, algunos aminoácidos, el acetil-CoA y el malonil-CoA, los polifenoles presentan gran diversidad estructural (Lee, 1992) (Figura I.5).

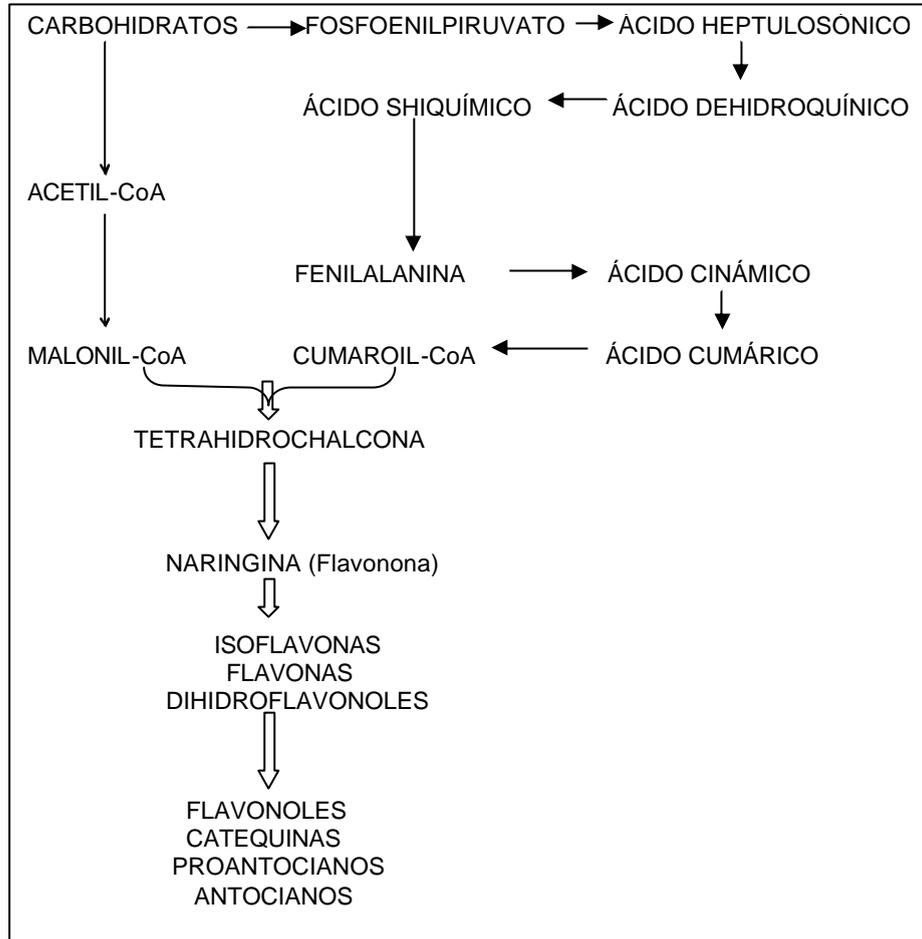


Figura I.5. Biosíntesis de compuestos fenólicos (Adaptado de Lee, 1992).

Se han distinguido numerosos tipos de polifenoles clasificados por el número de átomos de carbono constitutivos. Los que tienen como esqueleto básico seis carbonos (C_6) se denominan compuestos fenólicos simples y cuentan con compuestos tan abundantes como el catecol o la hidroquinona, que han servido como sustratos enzimáticos para estudiar los complejos mecanismos de reacción en soluciones modelo. Los de estructura C_6-C_1 , o ácidos fenólicos, también se hallan ampliamente distribuidos entre las frutas. El esqueleto C_6-C_3 se reconoce fácilmente en el conjunto llamado ácidos cinámicos, como lo son el ácido cafeico y el ferúlico. No obstante, el grupo más

vasto y diverso de polifenoles lo constituyen los flavonoides, construidos a partir de un esqueleto $C_6-C_3-C_6$, que se diferencian entre ellos por el grado de insaturación y el grado de oxidación del segmento tricarbonado. Dentro del grupo de los flavonoides es posible hacer subgrupos basándose en la naturaleza y número de los sustituyentes unidos a cada anillo carbonado como las flavonas, isoflavonas, flavanonas, flavanoles y flavonoles. Algunos subgrupos pueden presentar además enlaces glucosídicos, como las flavanonas glicosiladas tan típicas de los cítricos. Otro subgrupo lo constituyen los antocianos, que son los pigmentos que colorean frutas como las uvas tintas, ciruelas, fresas, cerezas, manzanas rojas. Como puede verse en la Figura I.4, las estructuras de algunos subgrupos de flavonoides son muy similares. Por último mencionar que también taninos y ligninas se clasifican como componentes fenólicos. Las ligninas tienen una estructura $(C_6-C_3)_2$. Los taninos pueden agruparse en taninos hidrosolubles o pirogálicos, que resultan de la esterificación de cinco funciones alcohólicas de glucosa por diversos ácidos fenólicos (gálico, digálico, elágico y luteico); y los taninos condensados o catéquicos, cuya composición química es similar a la de los antocianos (Cheftel y Cheftel, 1976).

El papel de los polifenoles en la alimentación engloba aspectos bien diferentes, todos ellos de importancia capital para la industria agroalimentaria. Son compuestos con notable repercusión en la calidad sensorial del alimento, a muchos niveles. Hablando del sabor, los ácidos fenólicos proporcionan acidez, las dihidrochalconas sabor dulce, ciertas flavonas como la naringina aportan amargor, y los taninos son responsables de la astringencia de muchos productos. Los atributos olorosos del vino, la vainillina o los característicos olores de ahumados o especias se deben también a compuestos fenólicos (Cheynier, 1999). El papel de los polifenoles en la percepción organoléptica del alimento se complementa con su implicación en la cualidad del color, importantísima en vegetales y que es foco de especial atención en este trabajo.

Por otro lado, los compuestos fenólicos contribuyen a la salubridad alimentaria debido a sus propiedades antibacterianas. Así, se ha constatado que los polifenoles son más eficaces sobre las bacterias Gram+ que sobre las Gram-, las formas agliconas son más activas en la inhibición del crecimiento microbiano que sus correspondientes formas glicosiladas, las quinonas tienen más actividad antibacteriana que las formas no oxidadas, y la presencia de grupos –OH libres en posición C5 o C7 del anillo A de los flavonoides favorece el poder antibacteriano de los mismos (Berset, 1999).

Otra de las funciones características de los polifenoles surge de sus probadas propiedades antioxidantes. La eficacia de estos antioxidantes naturales reside en un mecanismo antirradicales libres (Robards *et al.*, 1999)

Sin duda, las últimas propiedades atribuidas a los compuestos fenólicos han tenido gran repercusión social por estar relacionadas con la salud pública. Así se ha descrito que ciertos flavonoides pueden modificar la metabolización de moléculas precursoras de tumores o ciertos ácidos fenólicos se combinan con agentes mutágenos interrumpiendo procesos oncológicos (Le Bon, 1999). Ello permitiría calificar a los compuestos fenólicos como agentes anticancerígenos.

Por último, tras distintas experiencias *in vitro* se conoce la implicación de los polifenoles en la prevención de enfermedades cardiovasculares. De manera general, todos los compuestos capaces de limitar los fenómenos de oxidación son potencialmente partícipes en la prevención de este tipo de patologías. Tomando como ejemplo concreto un fenol presente en vinos tintos, el resveratrol, que previene la oxidación de los complejos lipoproteicos LDL implicados en el transporte del colesterol y en las primeras fases de la formación de la placa aterosclerótica. Otros flavonoides disminuyen la tasa de colesterol circulante y poseen una acción beneficiosa en la agregación de plaquetas (Blache, 1999).

Los compuestos fenólicos son ubicuitarios en el reino vegetal, encontrándose en todas las partes de la planta, pero con una distribución cuantitativa que varía entre los diferentes órganos de ésta, así como con distintas poblaciones de la misma planta. En el caso de la manzana, dentro de la célula, el 97% de los polifenoles se localizan en el interior de las vacuolas y el 3% en el espacio intercelular, no hallándose nunca en el citoplasma cuando los tejidos están sanos e intactos (Nicolas *et al.*, 1994). El contenido de polifenoles en frutas y verduras varía ampliamente en función de la especie, de la variedad, de la estación del año, y de la región de la que provenga el vegetal (Lee, 1992). Por ejemplo, las lechugas *var. Iceberg* son pobres en flavonoides y derivados del ácido cafeico, mientras que en otras variedades de lechuga abundan estos mismos compuestos (Tomás-Barberán y Espín, 2001). Por otra parte, la concentración de polifenoles disminuye al madurar el fruto, aunque el contenido total fenólico siga aumentando, debido a que los incrementos en volumen de agua son muy superiores.

El tipo de substratos fenólicos determinan la coloración de los compuestos formados en la reacción enzimática. Así se tendrá que manzanas, albaricoques, melocotones y peras se oscurecerán en tonos marrones, pero nunca negros. Los plátanos y patatas al principio tomarán una coloración rosada, después pasarán a marrones y eventualmente negros (Robards *et al.*, 1999). La rapidez e intensidad con que en las frutas se desarrollan pigmentos pardos depende estrictamente de la cantidad de oxígeno disponible y del contenido de los compuestos polifenoles endógenos (Amiot *et al.*, 1995).

La composición fenólica de las frutas está determinada por factores ambientales y genéticos. Por ejemplo, algunas prácticas culturales, como el uso de pesticidas que contengan dodina o el empleo de fertilizantes con los tres elementos básicos, N-P-K, afectan significativamente al contenido fenólico en manzanas (Nicolas *et al.*, 1994). La disponibilidad del Boro también afecta al contenido fenólico de la planta. Por otro lado, diferentes estudios sobre los efectos de herbicidas en el cultivo de la soja, concluyeron que los compuestos

fenólicos se incrementaron en esta especie con el empleo de “rimsulfuron” y disminuyen con el de “trifluralín” y “atrazine” (Lee, 1992).

A pesar de la determinación genética, la composición fenólica puede ser modificada tanto a priori, como a posteriori durante el procesamiento o almacenamiento, no siempre de forma controlada. Cuando se examina el contenido fenólico de especies frutales, se admite que los factores genéticos y ambientales son responsables de la variación en la distribución cualitativa, mientras que la variación cuantitativa se debe a la variedad, estado de madurez y también a las condiciones ambientales. Por ejemplo, la conservación de frutas y verduras a bajas temperaturas puede alterar el contenido fenólico y la calidad del fruto, según el envase y la temperatura de almacenamiento. En vegetales de tonalidades rojas, las bajas temperaturas producen un incremento de antocianos. Esto se ha observado en fresas, uvas y granadas. En algunos casos se ha constatado también que las bajas temperaturas de almacén aumentan el contenido de derivados del ácido hidroxicinámico en alcachofas (Tomás-Barberán y Espín, 2001).

El estrés y el daño mecánico, así como la presencia de etileno, estimulan el metabolismo de compuestos fenólicos en el tejido de vegetal. Los daños mecánicos y el etileno son proporcionales a la actividad de la enzima fenilalanina amonioliasa (PAL) la cual es participe en la síntesis de los compuestos fenólicos, cuya actividad se ve notablemente incrementada por el daño y el incremento en la producción de etileno y esta íntimamente relacionada con la senescencia (Hyodo *et al.*, 1978), para su biosíntesis es necesaria la presencia de cuatro factores: O₂, PPO, cobre y compuestos fenólicos.

El contenido fenólico ha sido analizado en muchas frutas y hortalizas incluyendo la pera. Normalmente se procede a un aislamiento e identificación, elucidando las estructuras fenólicas del extracto mediante la técnica HPLC (*High-Performance Liquid Chromatography*), tanto para la separación como

para la cuantificación individual de estos compuestos. Aun así, la cuantificación total no puede ser precisa debido a que: por un lado, los métodos de extracción no garantizan la solubilización de todos los compuestos; y por otro lado, los polifenoles son tan reactivos que los métodos de análisis por absorción no paralizan el sistema a analizar que se encuentra en continua evolución (Nicolas *et al.*, 1994).

Los estudios en pera (*Pyrus communis*) han concluido que los compuestos fenólicos mayoritarios son, en primer lugar, el ácido clorogénico, y después la epicatequina y la catequina. También los ácidos cinámicos, flavonoles y flavanoles están presentes en esta fruta. Su pulpa es rica en ácidos cinámicos y flavanoles, mientras que en la piel abundan los flavanoles y flavonoles. Además de estos monómeros, las formas oligoméricas también están presentes (Robards *et al.*, 1999). El grupo de investigadores de Amiot *et al.*, (Oleszek *et al.*, 1994) identificó algunos compuestos característicos de esta especie frutal, aislando cuatro ésteres del ácido hidroxicinámico y ocho flavonoles glicosilados. Los ácidos cinámicos son el 5'-cafeoilquínico *, *p*-umaroilquínico, *p*-cumaroilmálico y ésteres dicafeoilquínicos. La mezcla de flavonoles incluía tres quercitinas y cinco isoramnetinas glicosiladas (Oleszek *et al.*, 1994). La susceptibilidad de las peras frente al pardeamiento es más elevada en la piel que en la pulpa (Macheix *et al.*, 1990). Además en esta especie en particular, la sensibilidad al oscurecimiento depende más de la variedad que del estado de madurez del fruto (Amiot *et al.*, 1995).

3.3 Mecanismo y productos de reacción

El pardeamiento enzimático puede contemplarse como una transformación que conlleva dos etapas, una catalizada por enzimas y otra posterior no enzimática. La primera fase enzimática se traduce en una conversión de monofenoles en quinonas. Esta transformación tiene lugar en dos pasos:

*El ácido 5'-cafeoilquínico, según la IUPAC, es más conocido por ácido clorogénico

hidroxilación de monofenoles en *o*-difenoles, y oxidación de estos *o*-difenoles a *o*-quinonas, que corresponden a las dos actividades consecutivas realizadas por la polifenol oxidasa (Figura I.6). Se necesita aquí oxígeno molecular, indispensable para que actúe la enzima.

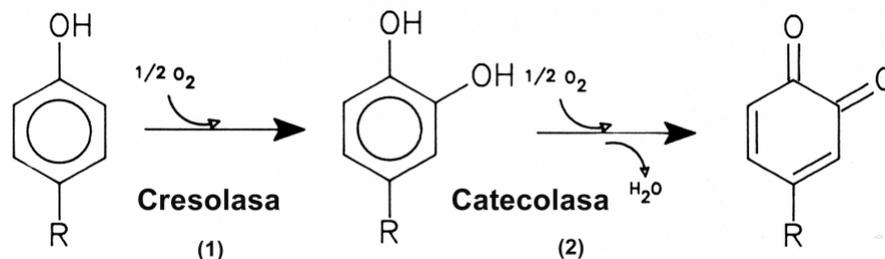


Figura I.6. Reacciones catalizadas por la polifenol oxidasa (Adaptado de Walker, 1977)

Existen compuestos fenólicos, como los glicósidos de flavonoles y antocianinas, que no son sustrato de la polifenol oxidasa pero sí son igualmente degradados; esto ocurre en reacciones posteriores acopladas (Robards *et al.*, 1999). El primer producto de la oxidación enzimática son las *o*-quinonas. Estas moléculas tienen diferentes propiedades espectrales y su color depende básicamente del pH y del fenol que lo origina. Así por ejemplo, tras la oxidación, la catequina es amarilla brillante con un máximo de absorbancia a 380 nm, el ácido clorogénico es amarillo anaranjado suave con su máximo a 420 nm, y la *o*-dihidroxifenilalanina es rosa con el máximo cercano a 480 nm (Nicolas *et al.*, 1994). Las reacciones que se suceden a partir de las *o*-quinonas son similares sin reparar en si la quinona se formó enzimáticamente o por oxidación no enzimática. La única diferencia real entre estas dos posibles vías es cinética, pues enzimáticamente el pardeamiento siempre ocurre a mayor velocidad (Robards *et al.*, 1999).

La segunda fase del pardeamiento, que no es de carácter enzimático, presenta mayor complejidad, pues las *o*-quinonas producidas en la primera fase son inestables en disolución acuosa e increíblemente reactivas. Para

entender como se desencadena el oscurecimiento se han empleado, en combinación con otros métodos analíticos, soluciones modelo que contienen uno o dos compuestos fenólicos. Estas soluciones modelo han sido especialmente útiles para establecer los productos resultantes de la oxidación. El conjunto de reacciones que componen el pardeamiento de vegetales desembocará en la formación de pigmentos llamados melaninas. Pero este mecanismo de reacción de pardeamiento en sus fases no enzimáticas aún no ha sido elucidado. De todos modos, las reacciones que se suceden de oxidación y polimerización se han clasificado según si involucran o no a compuestos fenólicos de nuevo. Las reacciones en cadena posteriores en las que sí se implican los compuestos fenólicos dependen de los potenciales de oxidación de las diferentes parejas de fenol/quinona presentes. Este tipo de reacciones nos puede llevar tanto a condensaciones de gran peso molecular (polímeros) como a la regeneración del fenol originario o de una *o*-quinona diferente a la primaria por una oxidación en cadena. Las *o*-quinonas son tan reactivas que al reaccionar con otro fenol pueden dar lugar a dímeros del fenol de partida. Estos dímeros están sujetos a una reoxidación bien enzimáticamente, bien con otra quinona, dando pues lugar a oligómeros con colores de intensidad diferente. Estas reacciones pueden ser extraordinariamente rápidas. Si concretamos para la pera, sabemos que los dos compuestos fenólicos mayoritarios en esta fruta, el ácido clorogénico y la epicatequina, son los mejores substratos endógenos de la polifenol oxidasa característica de esta especie. Los flavonoles también particularmente presentes en ellas, se degradan durante la oxidación contribuyendo al desarrollo de polímeros coloreados pardos, oscuros, marrones y negros. Algunos oligómeros como las procianidinas están también especialmente implicadas en el pardeamiento enzimático de las peras (Amiot *et al.*, 1995).

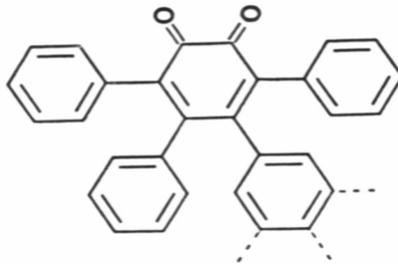


Figura I.7. Polímeros formados en el pardeamiento enzimático (Cheftel y Cheftel, 1976)

Las quinonas reaccionan con el agua y dan trihidroxibencenos; éstos reaccionan posteriormente con otras quinonas para formar hidroxiquinonas, que en realidad son la base de una condensación oxidativa, donde todavía se consume oxígeno, que conduce a polímeros del tipo que presenta la Figura I.7

Además de reaccionar consigo mismas para formar melaninas y polímeros, las *o*-quinonas se pueden transformar combinándose con compuestos no fenólicos como los que muestra la Figura I.8:

- aniones inorgánicos
- grupos tiol
- grupos amino de aminoácidos y proteínas
- agentes reductores

y dentro de la misma especie, entre variedades y diferentes estados de desarrollo (la actividad enzimática es más elevada en frutos jóvenes que en los maduros), aunque la causa de estas diferencias pueda deberse exclusivamente a los diferentes resultados de la extracción y purificación de la polifenol oxidasa, cuya metodología no ha sido muy homogénea hasta la fecha (Robards *et al.*, 1999).

Las posibles vías bioquímicas de pardeamiento que comprenden la degradación de *o*-quinonas dependen del pH, el fenol implicado, la concentración relativa de reactivos y la cantidad de oxígeno disponible (Richard-Forget *et al.*, 1992). Se ha publicado frecuentemente que el pH óptimo para la actuación del enzima comprende valores entre 5.0 y 7.0, mientras que en arándanos se ha estimado que este pH óptimo ronda un valor de 4.0 (Kader *et al.*, 1997). Ashie *et al.* (1996) afirmaron que generalmente las polifenol oxidasas procedentes de varias fuentes son inactivadas a valores de pH inferiores a 4. El factor pH es determinante en el pardeamiento enzimático. La intensidad y croma resultante del oscurecimiento varían ampliamente dependiendo del fenol precursor y de las condiciones químicas ambientales, entre ellas el pH (Nicolas *et al.*, 1994). Así para las quinonas surgidas del 4-metilcatecol pueden observarse varias vías de reacción. A pH ácidos, tras la hidroxilación, siguen oxidaciones acopladas con otra *o*-quinona y se regenera el metilcatecol de partida. Sin embargo, con valores de pH más altos se favorecen las reacciones de polimerización (Robards *et al.*, 1999) y con ellas, lógicamente, los colores oscuros, pardos. Por otro lado, la eficiencia de los antipardeantes depende estrechamente del pH (Janovitz-Klapp *et al.*, 1990a).

Algunos trabajos han puesto de manifiesto, que el pardeamiento enzimático aumenta con la actividad de agua en el caso de la uva (Aguilera *et al.*, 1987) y observaciones peculiares, como que durante la recolección del champiñón la disminución en el tamaño del estípite, reduce el pardeamiento enzimático, aunque se desconoce el mecanismo de este hecho (Ajlouini *et al.*, 1992).

La polifenol oxidasa no es muy estable frente al calor, comparada con otras enzimas responsables de alteraciones en alimentos. De todos modos, su actividad no se utiliza como índice de escaldado por no juzgarse adecuado. El efecto que causa la temperatura en el enzima ha sido estudiado en numerosas investigaciones. Por ejemplo, una inactivación al 50% de un extracto purificado de polifenol oxidasa de manzana necesita 12 min a 65°C, destruyéndose el enzima a 80°C (Nicolas *et al.*,1994).

Algunas prácticas agronómicas como la fertilización, el riego y el estrés salino del suelo afectan a la actividad de la polifenol oxidasa y de la peroxidasa. El efecto general es un aumento de la actividad de ambas enzimas en respuesta a las situaciones de estrés, por ejemplo, excesivos o deficientes contenidos de potasio, falta de irrigación, altas concentraciones de cloruro de sodio o fósforo (Tomás-Barberán y Espín, 2001).

Las condiciones climáticas en las que se realiza el cultivo pueden afectar al pardeamiento enzimático. Por ejemplo, la temperatura, o más concretamente la diferencia entre la temperatura nocturna y diurna, puede producir una acusada acumulación de antocianos en la piel de manzanas durante su desarrollo en el árbol. Este efecto también se observa en fresas, ciruelas, uvas o granadas (Tomás-Barberán y Espín, 2001).

4. Control del pardeamiento enzimático

Los diferentes métodos desarrollados para controlar, minimizar o inhibir el proceso de pardeamiento enzimático suelen ser preventivos. Se pueden describir de dos maneras diferentes los múltiples métodos de inhibición que se han utilizado o ensayado para limitar el pardeamiento enzimático en vegetales. La primera corresponde a la típica descripción de procedimientos de inhibición enzimática, que comprende cuatro categorías según si la práctica inhibitoria actúa sobre la enzima, el sustrato, la disponibilidad de O₂ o sobre los productos de la reacción, bien según el tipo de control que ejerzan, inhibición

química y/o física. La segunda atiende al modo en que los tecnólogos de alimentos acostumbramos a ordenar los métodos de conservación de los productos alimentarios, esto es, distinguiendo entre: métodos físicos de conservación como los térmicos, y métodos químicos de conservación como la adición de productos químicos. El modo de descripción seguido es este último, ya que suele ser más práctica si se considera que, por ejemplo, algunos inhibidores químicos pueden actuar simultáneamente sobre varios de los componentes de la reacción y serían de muy difícil clasificación.

4.1 Métodos físicos

El creciente interés por parte del consumidor a tratamientos alternativos a la aplicación de agentes químicos, ya que son considerados gran parte de ellos como perjudiciales para el hombre y el medio ambiente ha creado la necesidad de buscar alternativas a su aplicación. Entre las innovaciones más destacadas en este campo, además de la aplicación de calor y la conservación en refrigeración, podemos citar la conservación bajo una atmósfera variable, controlada y programada y los recubrimientos comestibles.

4.1.1 Tratamientos térmicos

El tratamiento térmico es generalmente considerado como el método más efectivo para la inactivación de la PPO y, consecuentemente para la inhibición del pardeamiento (Goldan-Goldhirsh y Whitaker, 1984; McEvily *et al.*, 1992). Las técnicas convencionales actuales para prevenir el pardeamiento incluyen los métodos de autoclave y escaldado con temperaturas de 75-95°C por tiempos de 1 a 10min, dependiendo de los requerimientos de los productos y procesos. Estos procesos convencionales están inherentemente relacionados a importantes pérdidas de peso y calidad nutricional del producto (Konanayakam y Sastry, 1988).

4.1.1a Aplicación de alta temperatura

El tratamiento de inactivación enzimática por calor causa la desnaturalización de proteínas y ha sido uno de los más estudiados, ya que con este es posible observar el comportamiento de la enzima expuesta a distintas temperaturas. La desnaturalización de las enzimas es provocada por numerosos factores, usualmente es irreversible y se ajusta a una cinética de primer orden (Stauffer, 1989). A pesar de la eficacia del tratamiento térmico, normalmente su utilización sólo se recomienda cuando se trata de inhibir el pardeamiento en frutas o vegetales que son destinadas a congelación y a producciones en conserva debido a los efectos de cocción, causantes de pérdidas de textura y al desarrollo de reacciones de pardeamiento no enzimático (Ashie *et al.*, 1996). Sin embargo, existen algunos trabajos donde se ha estudiado la aplicación de tratamientos térmicos de baja intensidad en pera mínimamente procesada mediante la inmersión en soluciones isotónicas a bajo pH (2.5) o por la exposición a vapor (Pittia *et al.*, 1999; Pérez *et al.*, 2001). En el primero de estos estudios, se observó que con los tratamientos de inmersión a temperatura de 95°C durante 3 min se obtiene una buena estabilidad enzimática y microbiológica durante el almacenamiento del producto, manteniendo una textura aceptable. A través de estudios previos de viabilidad, se puede llegar a determinar las condiciones adecuadas de procesado térmico que reduzcan al máximo las pérdidas de calidad, con la obtención de resultados viables, si el grado de sensibilidad del producto al calor es aceptable. También, se ha utilizado con éxito un pretratamiento térmico (45°C durante 2h) aplicado en manzanas antes del corte para disminuir el pardeamiento enzimático una vez procesadas en rodajas (Kim *et al.*, 1993a).

4.1.1b Empleo de bajas temperaturas

Una de las medidas normalmente usadas para controlar la actividad enzimática de productos frescos es el uso de bajas temperaturas durante el manejo, el procesamiento y el almacenamiento de frutas y hortalizas MP. A temperaturas bajas, no sólo se reduce o inactiva las actividades enzimáticas que son responsables del pardeamiento, de manera que se

preserve la calidad del producto, sino que además las velocidades metabólicas descienden significativamente, ambas disminuciones contribuyen a incrementar la vida útil del producto. Asimismo, durante el procesamiento total de frutas y hortalizas MP, es decir desde su recolección hasta su venta, resulta ineludible el mantenimiento de bajas temperaturas para moderar o impedir el desarrollo de microorganismos (Cantwell, 1992; Cantwell *et al.*, 1996).

4.1.1c Ondas electromagnéticas

El principio básico del calentamiento mediante microondas es debido a la interacción de moléculas polares con el componente eléctrico del campo electromagnético, lo que genera calor debido a la fricción producida cuando las moléculas intentan orientarse en el interior del campo oscilante. El agua y las sales son los principales determinantes de la absorción de las microondas en la mayoría de los sistemas alimenticios (Kermasha *et al.*, 1993). El efecto de la energía de microondas en la inactivación enzimática ha sido generalmente atribuido a efectos térmicos, aunque hay alguna evidencia de efectos no-térmicos (Porcelli *et al.*, 1997). Estos últimos efectos son considerados como controvertidos, ya que la energía asociada a las microondas es varios órdenes de magnitud menor que la requerida para romper enlaces covalentes. Sin embargo la energía microondas puede romper interacciones moleculares como los puentes de hidrógeno entre la proteína y moléculas de agua asociadas a su estructura. Sin embargo, son necesarios más estudios para determinar si los índices de inactivación más rápidos al usar microondas son debidos a efectos térmicos o no-térmicos. El efecto inhibitorio de las radiaciones de microondas sobre la PPO sí ha sido objeto de varias investigaciones. En el control del pardeamiento de rodajas de plátano, el tratamiento de inactivación a 650 W durante 2 minutos mostró grandes variaciones de eficiencia según la madurez del producto tratado (Cano *et al.*, 1990). Con un tratamiento a 475 W durante 60 segundos se obtuvo una inactivación del 70% de la PPO en purés de kiwi y fresa. La disminución de la actividad polifenol oxidasa en ambos productos fue casi lineal a la potencia utilizada en el tratamiento. No obstante, el color de los productos tratados térmicamente con microondas se modificó como

consecuencia de la alteración que la radiación provocó sobre las clorofilas en kiwi y sobre los antocianos en fresa (de Ancos *et al.*, 1999). En el caso de champiñón, se ha propuesto un tratamiento combinado con microondas y baño de agua caliente para conseguir satisfactoriamente la completa inactivación a tiempos cortos de la PPO (Devece *et al.*, 1999).

4.1.2 Aplicación de tecnologías no térmicas

En un contexto en el que el consumidor demanda productos más naturales, mínimamente procesados y exentos de agentes químicos potencialmente perjudiciales para él y el medio ambiente, los métodos no-térmicos tienen su actuación.

4.1.2.1 Reducción de la disponibilidad de oxígeno

El modo más satisfactorio de inhibir el pardeamiento enzimático es eliminando por completo el oxígeno. Esto puede obtenerse por desoxigenación a vacío, borboteo de nitrógeno o apelando a la acción combinada de la glucosa oxidasa y la catalasa (Cheftel y Cheftel, 1976). Sin embargo, es importante considerar que el oxígeno es un requisito de los tejidos vivos. En el caso de sólidos, como las porciones de frutas y hortalizas, la eliminación del oxígeno más sencilla es por inmersión en soluciones como jarabe, salmueras o agua para retardar la difusión del oxígeno. Sin embargo, el tejido pardeará cuando entre en contacto nuevamente con el aire. Además, durante el tiempo el cual en el que el tejido está inmerso, el equilibrio osmótico puede producir una pérdida de solutos y la imbibición de la solución de inmersión, en algunas ocasiones no deseada. Otra alternativa sería el envasado del producto en atmósfera inerte. Pero el desarrollo de metabolismo anaerobio alteraría las propiedades organolépticas de las frutas hace este tratamiento inaplicable. Frecuentemente se usan atmósferas modificadas para la comercialización de frutas y hortalizas MP.

4.1.2.1a Atmósferas modificadas

El confinamiento en atmósferas modificadas resulta ser la tecnología idónea del envasado de los productos vegetales mínimamente procesados (Fonseca *et al.*, 2002) Ésta es una técnica aplicada a alimentos metabólicamente activos, los cuales son reclusos en una atmósfera esencialmente empobrecida en O₂, entre el 2 y el 8%, y enriquecida en CO₂ entre el 5 y 15% con respecto al aire respirable (Gorny *et al.*, 1998b). La inyección de mezclas conocidas de gases (O₂, CO₂, CO y/o N₂) o la generación interna de atmósferas, por parte del la interacción producto-envase prolonga generalmente la vida útil (Cantwell, 1992; Ahvenainen, 1996; Varoquaux *et al.*, 1996) La modificación de las concentraciones relativas de ambos gases resulta posible, económica y fácil mediante el empleo de envases sellados, herméticos y fabricados con polímeros de permeabilidad selectiva a los gases (Gil *et al.*, 1996). Al disminuir la concentración de O₂ se inhiben o reducen las reacciones enzimáticas del pardeamiento, y al aumentar la concentración de CO₂ se inhibe la síntesis de metabolitos fenólicos (Ke y Saltveit, 1989; Mateos *et al.*, 1993). La excesiva producción de CO₂ (>10%) por parte del metabolismo propio de las FMP o por inyección, dan lugar a la atenuación de sabores y olores característicos, mientras que bajas concentraciones de O₂ (<5%) promueven la creación de medios anaerobios, que conllevan la formación de metabolitos de fermentación indeseables tales como etanol (Lou y Barbosa-Canovas, 1996) y acetaldehídos (Gil *et al.*, 1998).

Por ejemplo, Rocha y Morais (2001) consiguieron una inhibición significativa de la actividad de la PPO en cubos de manzana *var.* Jonagored, envasada en 2% O₂ y 12% CO₂. Cartaxo *et al.*, (1997; 1998) estudiaron la aplicación de atmósferas modificadas (5% O₂ y 10% CO₂) junto con un almacenamiento a 3°C, en cubos de sandía MP, obteniendo un 50% más de extensión de vida útil (15 días) con respecto al control, además de presentar una buena calidad sensorial. Aguayo y Artés (2001), estudiaron la aplicación de atmósferas

modificadas en melón MP obteniendo 10 días de vida útil a 5°C con plástico de policloruro de vinilo orientado, aunque la aplicación de esta técnica no fue suficiente para detener la pérdida de firmeza.

Se debe tener siempre presente que la acción sinérgica del frío y de la atmósfera modificada, ya que bajo condiciones adecuadas, inhibe el desarrollo fúngico y bacteriano. En casos muy excepcionales, esta combinación de tratamientos tiene efectos letales significativos sobre los microorganismos.

4.1.2.1b Recubrimientos comestibles

Otro posible método de envasado para evitar el pardeamiento en frutas MP es la aplicación de películas o recubrimientos, que son considerados como ingredientes o aditivos alimentarios dependiendo de la actividad que desempeñen (Guilbert *et al.*, 1996). Su función primordial es la de estabilizar y extender la vida útil de frutas MP. Los diferentes tipos de recubrimientos poseen en su mayoría la función de crear una micro-atmósfera controlada que restringe el intercambio de gases. Esto conlleva la limitación de entrada al O₂, una disminución de la tasa de respiración, retraso en la producción de etileno, reducción en las pérdidas de humedad y de compuestos volátiles deseables (Baldwin *et al.*, 1995b). Generalmente los compuestos utilizados para la formulación de los distintos tipos de recubrimientos son: lípidos, proteínas, polisacáridos e hidrocoloides, entre otros. Además, una ventaja adicional de los recubrimientos comestibles es que pueden utilizarse como soporte para determinados agentes antioxidantes y acidulantes (Baldwin *et al.*, 1996) y también de fungicidas y bactericidas (Torres y Karel, 1985) que pueden coadyuvar en la prevención del pardeamiento y del crecimiento de microorganismos, respectivamente.

Los cambios en la temperatura y humedad relativa durante el almacenamiento tienen efectos significativos tanto en las propiedades de los recubrimientos, en lo que concierne al intercambio y/o formación de barreras

para gases, como en el grado de adhesividad con el producto que se desea recubrir (Debeaufort *et al.*, 1998). Se han empleado diferentes formulaciones de estos recubrimientos en pera (Olivas *et al.*, 2002; Sakane *et al.*, 1990), manzana (Baldwin *et al.*, 1996; Wong *et al.*, 1994), patatas (Baldwin *et al.*, 1996) y zanahorias (Baldwin *et al.*, 1995a) con resultados prometedores en cuanto a la inhibición del pardeamiento, así como en el control de las pérdidas de agua y en la reducción de la concentración de etanol interno. Recientemente, se ha desarrollado una patente para la formulación de recubrimientos comestibles a base de las propias frutas o vegetales (McHugh *et al.*, 1996). McHugh y Senesi (2000), incorporaron puré de manzana en la formulación de recubrimientos comestibles para rectángulos de manzana MP, obteniendo la preservación del color durante 12 días a 5°C y una significativa reducción en las pérdidas de humedad y pardeamiento con respecto a rectángulos control. Este tipo de recubrimientos son de gran utilidad ya que alargan la vida útil del producto a la vez que aumentan su valor nutricional, con la ventaja de presentar un mayor aceptabilidad por parte de los consumidores.

4.1.2.2 Irradiación

La aplicación de irradiaciones (radiación ionizante) a frutas y a hortalizas se emplea para la desinfestación de insectos y control de enfermedades, así como para retardar la maduración, el crecimiento y la germinación, como en el caso de los tubérculos. Recientemente, la irradiación ha sido propuesta como método para la obtención de frutas y hortalizas mínimamente procesadas (Gunes *et al.*, 2000). Varios autores han encontrado que además del control microbiológico, la irradiación reduce significativamente la tasa de respiración y la producción de etileno en zanahorias (Chervin *et al.*, 1992; Hagenmaier y Baker, 1998) y en hojas de lechuga (Hagenmaier y Baker, 1998). Sin embargo, estudios realizados en trozos de manzana indicaron que los resultados obtenidos durante la irradiación se ven afectados por el grado de madurez. Además durante el tratamiento se incrementó la tasa de respiración de las frutas. Los autores concluyen que son necesarias dosis altas (>2.4kGy) para

obtener efectos satisfactorios (Gunes *et al.*, 2000). No obstante la *Food Drug Administration* (FDA) ha limitado la dosis a 1kGy para productos frescos.

Parece que las actividades enzimáticas que provocan la degradación del tejido vegetal como lo son la poligalacturonasa, la pectilmetilesterasa y la beta-galactosidasa se ven reducidas por la aplicación de irradiación en rebanadas de papaya (D'Innocenzo y Lajolo, 2001). Por otra parte, Mayer y Harel (1991) aseguran que el pardeamiento enzimático puede ser estimulado por los tratamientos de irradiación, ya que éstos pueden alterar la permeabilidad de los compartimentos celulares y de esta manera favorecer el contacto entre la PPO y sus sustratos.

La aplicación de tecnologías denominadas alternativas están siendo investigadas actualmente por los tecnólogos de alimentos, e incluyen tratamientos de altas presiones o pulsos eléctricos entre otros (Tabla 1.5).

Tabla 1.5 Métodos denominados no-térmicos utilizados en alimentos
(Adaptado de Yousef, 1996)

Método	Modo de Actuación
Pulsos eléctricos	Ruptura de la membrana celular
Pulsos luminosos	Luz ultravioleta
Radiación ionizante	Daño en el ADN
Altas presiones	Desnaturalización de proteínas
Bacteriocinas	Daño de la membrana celular

4.1.2.3 Altas presiones

Se trata de una técnica prometedora ya que inactiva microorganismos y enzimas dejando las propiedades nutritivas y la calidad del alimento prácticamente intactas (Weemaes *et al.*, 1998). Provoca una inactivación enzimática irreversible, y por lo tanto, es una alternativa a la elevación de temperatura. Pero debe tenerse en cuenta que el pH, la adición de solutos, azúcares u otros compuestos y la temperatura a la que se procesa condicionan los parámetros del tratamiento con altas presiones (Hendrickx *et al.*, 1998). A

partir de ahora podemos hablar ya, al igual que de la termosensibilidad o termoestabilidad de las enzimas, de su estabilidad frente a altas presiones. El grupo de investigación de Weemaes (1998) ha determinado dicha estabilidad para la polifenol oxidasa en aguacates, ciruelas, uvas, manzanas y peras. En concreto, la PPO de pera se inactivó con 900 MPa a una temperatura ambiental de 25°C. Como la enzima se consideró, en comparación con la de otras frutas, relativamente estable frente a las altas presiones, se propuso un tratamiento combinado con calor moderado a 35°C, resultando en una reducción de la presión de inhibición a un tercio de la anterior citada (Weemaes *et al.*, 1998). Palou *et al.*, (1999) estudiaron la efectividad del uso combinado de la aplicación altas presiones junto con un escaldado. Los tratamientos provocaron una reducción en la actividad polifenolasa de puré de plátano, dando como resultado una disminución de los cambios de color durante el almacenamiento, y permitiendo mantenerlo por periodos largos de almacenamiento a una temperatura de 25°C con un color aceptable.

Además de la inactivación de la PPO por altas presiones, también se ha observado una inducción de la actividad enzimática estimulada por bajas presiones tanto en manzana y pera, como en fresa o cebolla (Hendrickx *et al.*, 1998). Sin embargo Préstamo y Arroyo (2000) concluyen que las enzimas polifenoloxidasa y peroxidasa no se inactivan por la acción de las altas presiones, resultando ser enzimas baro-resistentes.

4.1.2.4 Pulsos eléctricos

El uso de campos eléctricos pulsantes es una reciente tecnología que se ha planteado para la inactivación de microorganismos y de enzimas, donde se da un aumento mínimo de temperatura con lo cual es conservada la calidad nutricional de los productos. Los productos alimenticios se comportan como conductores eléctricos por su alta concentración de iones y su capacidad para transportar cargas eléctricas. El mecanismo de inactivación se basa en la electroporación de la membrana celular, es decir, en la rotura eléctrica de la

membrana (Dovenspeck, 1960). La aplicación de campos eléctricos pulsantes genera estrés y desestabiliza la membrana celular (Zimmermann, 1986; Jin *et al.*, 1998), y en algunos casos el daño en la membrana celular es irreversible (Calderón-Miranda *et al.*, 1999). Esta lesión altera los procesos de transporte de iones (Kim *et al.*, 2001) y cambia la conformación de la estructura de las enzimas (Vega-Mercado *et al.*, 1997) con esta técnica se han conseguido diferentes porcentajes de inactivación (30 al 99%) de enzimas responsables de importantes alteraciones en alimentos tales como tripsina, lactato deshidrogenasa, galactosidasas, plasminas, proteasas, fosfatasa alcalina, lipasas, glucosa oxidasa, α -amilasa, peroxidasa, polifenol oxidasa, pectin metilesterasa y papaina (Vega-Mercado *et al.*, 1997; 2001; Ho *et al.*, 1997; Yeom *et al.*, 1999; Giner *et al.*, 2000; Castro *et al.*, 2001; Palomeque *et al.*, 2001; Van Loey *et al.*, 2002). Dichos niveles de inactivación enzimática son considerados el resultado de los cambios en las estructuras secundarias y terciarias de las proteínas, que modifican ciertas uniones moleculares en los centros activos y la configuración globular. Concretamente en el caso de nuestro producto, Giner *et al.*, (2000) expusieron extractos enzimáticos de pera (*var. Blanquilla*) y melocotón (*var. Miraflores*) a campos eléctricos pulsantes obteniendo una inactivación del 62 y 70% respectivamente.

4.1.2.5 Modificaciones genéticas

La modificación genética puede ser una estrategia para limitar el pardeamiento enzimático. Esta modificación comprende dos opciones: nuevas variedades sin polifenol oxidasa o peroxidasa, que no presenten dichas actividades enzimáticas o al menos su actividad sea mucho menor (Murata *et al.*, 1995; Coetzer *et al.*, 2001) o la selección de variedades pobres en substratos fenólicos. La aplicación de la tecnología denominada en inglés *antisense*, (en la cual se produce un ARN mensajero de secuencia complementaria al del ARN mensajero, que al ser traducido da lugar a la proteína cuya formación se pretende evitar) para bloquear la expresión normal

de ambas enzimas, peroxidasa y polifenol oxidasa se ha publicado para la obtención de variedades con menor susceptibilidad al pardeamiento.

La producción de un ARN mensajero complementario al producido por la pauta de lectura abierta del gen que codifica para la PPO se ha utilizado en tomate. Sin embargo, esta manipulación genética produjo un aumento considerable de la susceptibilidad a ataques por parte de patógenos lo cual confirma el papel de la oxidación de los compuestos fenólicos mediante la PPO en la defensa de la planta (Thipyapong y Steffens, 1997). Bachem *et al.*, (1994) también lograron inhibir el pardeamiento enzimático en tubérculos como la patata, al reducir significativamente la actividad de la PPO mediante la producción del ARN mensajero *antisense*.

4.1.2.6 Alternativos

Desde hace tiempo se sabe que muchas sustancias naturales poseen propiedades antioxidantes. Este es el caso de los aminoácidos, del látex procedente del higo, de los productos de reacciones de *Maillard* o el zumo de piña y ruibarbo, o incluso ciertos microorganismos.

Por ejemplo, el zumo de ruibarbo al 20% mostró excelentes resultados antipardeantes en rodajas de manzana. Esto puede deberse a la elevada concentración de ácido oxálico del ruibarbo, característica que comparte este vegetal con las espinacas o la remolacha (Son *et al.*, 2000). Los extractos de papaína también dieron magníficos resultados, al impedir la actividad de la polifenol oxidasa de endivia, champiñón y manzana. Mediante HPLC se demostró la existencia de cisteína y otra sustancia con propiedades antioxidantes, capaz de atrapar quinonas en los extractos de papaína (Richard-Forget *et al.*, 1998).

Ciertas mieles provenientes de diferentes flores son capaces de dificultar la acción de la polifenol oxidasa de frutas y verduras, reduciendo de un 2 a un

45% su actividad. La miel contiene sustancias que se podían calificar de “conservantes” naturales como son los tocoferoles, ácido ascórbico, flavonoides, otros compuestos fenólicos, glucosa oxidasa y catalasa. Algunos de éstos deben su aptitud conservante a la actividad antioxidante que presentan. El contenido antioxidante de la miel varía con su origen y está estrechamente relacionado con su color. Así, la miel de soja resultó particularmente efectiva comparada con la de miel de trébol (Chen *et al.*, 2000). Incluso se ha demostrado que la actividad polifenol oxidasa está inhibida por desconocidas moléculas entre 2 y 5 KDa provenientes de polvo de crisálida de mosca (Yoruk, 2001). Así mismo, dicha característica también la posee un péptido que se obtiene de los micelios del *Dactilyum dendroides* (Richard-Forget *et al.*, 1994). Además se ha observado cierto poder inhibitorio sobre la PPO de microorganismos como *Saccharomices Cerevisiae* y *Bacillus Cereus* (Ferrar y Walker, 1999).

4.2 Métodos químicos

La metodología más extendida para evitar el pardeamiento, y una de las de mayor utilidad en este trabajo, consiste en la utilización de agentes químicos que actúan como inhibidores, interaccionando directamente sobre las enzimas, los substratos o los productos de las reacciones enzimáticas. La existencia de compuestos químicos que poseen propiedades antipardeantes ha llevado al desarrollo y aplicación de métodos adecuados para la disminución del pardeamiento en FMP. Su aplicación esta reglamentada por los organismos correspondientes (FAO/OMS; Codex Alimentarius, FDA, etc.,) y su dosificación o aplicación están restringidos total o parcialmente en algunos de ellos, por consideraciones toxicológicas y/o impactos organolépticos en sabor, aroma, color y textura. También existen agentes considerados antipardeantes que no tienen aplicación industrial debido a su poca disponibilidad comercial, a un alto costo o a un método de aplicación no rentable. Un agente antipardeante apropiado es un factor clave para permitir la industrialización de FMP sin la necesidad del uso de otros métodos de control.

Con las desventajas mostradas por parte de los sulfitos en el ámbito de la salud humana surge la necesidad de encontrar nuevos agentes que actúen sobre componentes implícitos en el fenómeno de pardeamiento y que sean seguros para los consumidores (Anónimo, 1996). Recientemente, se han encontrado diversos productos naturales que actúan como agentes antipardeantes, con los que se han obtenido resultados satisfactorios en la reducción del pardeamiento y del deterioro organoléptico de varias frutas y hortalizas MP (Ahvenainen, 1996; 2000). En la tabla I.6 se han recopilado aquellos que presentan un mayor potencial de uso en la industria de frutas mínimamente procesadas (IFMP), junto con su función en el producto y mecanismo de acción. La forma de aplicación más extendida es la inmersión de la fruta en disoluciones que contengan estos compuestos, aunque algunos de estos aditivos pueden aplicarse más eficientemente por infiltración a presión (Sapers *et al.*, 1990).

Los antipardeantes se pueden clasificar según actúen sobre la enzima, sobre los substratos o sobre los productos de reacción, y su efecto puede ser temporal, irreversible o reversible (Weemaes *et al.*, 1999). Cada compuesto posee con respecto a la acción antipardeante, sus puntos fuertes y débiles, en términos de efectividad variable, disponibilidad, seguridad y costo, siendo su efectividad altamente dependiente del tipo de sistema al que se pretenda proteger (Sapers y Ziolkowski, 1987).

Los compuestos utilizados como antipardeantes actúan como agentes antioxidantes, quelantes o como acidulantes. Los ácidos policarboxílicos (cítrico, málico, tartárico, oxálico y succínico), polifosfatos, el EDTA y otras macromoléculas como proteínas y porfirinas se utilizan para secuestrar el cobre del centro activo del enzima. Bajando el pH, con agentes acidulantes, a valores inferiores a 3 también se inhibe la acción de la enzima, aunque el control del pH en frutas es complejo, ya que se puede alterar el tejido y causar rupturas celulares que derivan en la potenciación del pardeamiento junto con la

Introducción

aparición de sabores residuales (Sapers y Ziolkowski, 1987). Los agentes reductores o antioxidantes actúan reduciendo las quinonas, los difenoles o formando con las quinonas productos de adición menos coloreados.

Tabla I.6 Aditivos de interés para el procesamiento de FMP (Adaptado de Pérez *et al.*, 2003b)

Compuesto	Clasificación	Función	Mecanismo de Acción
4-hexilresorcinol (4-HR)	E-586 ⁽¹⁾	Agente de retención de color y antioxidante	Inhibición directa de la enzima
Acido ascórbico (AA) y su sal (NaA)	E-300 ⁽¹⁾ 1611 ⁽²⁾	Antioxidante	Reduce o-quinonas a difenoles incoloros de baja reactividad
Acido isoascórbico (ácido eritórbico ER) y su sal (NaE)	E-315 ⁽¹⁾ 2057 ⁽²⁾		
Etilendiami-notetraacético (EDTA)	E-386 ⁽¹⁾ 405 ⁽²⁾	Antioxidante, conservante sinérgico y secuestrante.	Quelante del centro activo Cu ⁺⁺
Propionato cálcico	E-282 ⁽¹⁾ 1817 ⁽²⁾	Conservador	Antimicrobiano de superficie (antimohos)
Cloruro de calcio	E-509 ⁽¹⁾ 1792 ⁽²⁾	Agente de firmeza regulador de acidez	Formación de pectatos de Calcio insolubles
Lactato de calcio (LC)	E-327 ⁽¹⁾ 1804 ⁽²⁾		
Acido cítrico (AC)	E-330 ⁽¹⁾ 1937 ⁽²⁾	Antioxidante, regulador de acidez y secuestrante	Acidulante del medio y secuestrador de iones metálicos (Cu ⁺⁺)
Ácido Oxálico (AO)	-----	Secuestrante y regulador de acidez	
L-cisteína L-cistina (Acis)	284 ⁽²⁾ 287 ⁽²⁾	Antioxidantes sulfhidrilos	Reduce o-quinonas a difenoles de baja coloración
Acido tartárico	E-334 ⁽¹⁾ 1617 ⁽²⁾	Antioxidante sinérgico, regulador de acidez y secuestrante	Acidulante del medio
Sorbato de potasio (KS)	E-202 ⁽¹⁾ 2606 ⁽²⁾	Conservante	Antimicrobianos (fungicidas)
Benzoato de sodio	E-211 ⁽¹⁾ 2725 ⁽²⁾		

⁽¹⁾INSFA: Class names and the international numbering system for food additives.

⁽²⁾FDA: Food and Drug Administration. (EAFUS: Everything Added to Food in the USA)

La eficacia de los compuestos utilizados depende también del pH del medio. Sapers y Miller (1998) concluyeron que la efectividad de diferentes antipardeantes como el AA, ascorbato sódico (NaA), eritorbato sódico (NaE), 4-HR y L-cisteína en la prevención del pardeamiento de peras cortadas de variedades *Anjou* y *Bartlett* fue mayor en sistemas de pH's neutros que en pH's ácidos, en coherencia con lo encontrado en estudios previos (Ponting *et al.*, 1972; Sapers y Miller, 1998).

Por último, se ha encontrado que los ácidos carboxílicos son inhibidores competitivos de la PPO por su gran semejanza estructural con los sustratos fenólicos. Janovitz-Klapp *et al.*, (1990b) compararon la eficacia de una serie de ácidos carboxílicos en la prevención del pardeamiento de manzana, hallando que el más eficaz fue el ácido cinámico, seguido del benzoico, fenilpropanoico y fenilacético. Para cada uno de ellos, la inhibición aumentó con sustituyentes *p*-hidroxi y disminuyó con sustituyentes metilo *m*-meta.

4.2.1 Efectos sinérgicos

La utilización de mezclas de varios agentes al mismo tiempo puede promover un mecanismo de acción sinérgica. Estos mecanismos de acción implican la penetración en el tejido y alteración del centro activo de la PPO, disminución del pH y la aparición de procesos competitivos entre inhibidores-enzima-sustratos. Son *et al.*, (2001) evaluaron la reducción de la luminosidad (ΔL^*) en rodajas de manzana MP sumergidas 3 min en diferentes agentes antipardeantes solos o combinados durante 3h a 4°C. Encontraron que el ácido oxálico (AO) es un potente inhibidor, que muestra una notable eficacia a concentraciones tan bajas como 0.05%. Al mismo tiempo, mostró un fuerte efecto sinérgico en concentraciones del 0.02% con 1% de ácido eritórbico (ER), ascórbico (AA) o cítrico (AC). Así, González-Aguilar *et al.*, (2000) encontraron que la combinación de 4-Hexilresorcinol (4-HR) con ER y sorbato potásico (KS), en concentraciones de 0.001, 0.5 y 0.05 M respectivamente, aplicadas a

láminas de mango, prolongaba su vida útil en 7 días más con respecto al control, sin afectar su calidad sensorial. También existen combinaciones que pueden potenciar el pardeamiento. Por ejemplo, tratamientos de inmersión de 1 min con AA 2.5 mM, ácido etilendiamino-tetra-acético (EDTA) 10 mM y $MnCl_2$ 2.5 mM en rodajas de melón dieron lugar a una inhibición de la capacidad del AA para reducir la actividad de la POD durante su almacenamiento a 4°C (Lamikanra y Watson, 2001).

Para preservar la firmeza y el turgencia característica de la materia fresca en FMP, es frecuente incluir sales de calcio como componente de las combinaciones utilizadas (Hills *et al.*, 1947). Así, Buta *et al.*, (1999) estudiaron la efectividad de diferentes sales de calcio en rodajas de manzana sumergidas en una mezcla base de agentes antipardeantes formada por 4-HR 0.001 M, ER 0.5 M y L-cisteína 0.025 M. Los resultados mostraron que el uso de propionato cálcico incrementó significativamente el tiempo de vida útil de las rodajas de manzana, con respecto a los demás tipos de sales. Dicho incremento puede ser atribuido a una disminución de las rupturas fisiológicas en el tejido (Scott y Wills, 1979) y a la fuerte efectividad de sales de propionato en la inhibición del crecimiento microbiano (Freese *et al.*, 1973).

La impartición de sabores extraños o la atenuación de los sabores característicos de la fruta por parte de agentes antipardeantes también ha sido objeto de estudio (Dong *et al.*, 2000; Pittia *et al.*, 1999). Habitualmente, esto está ocasionado por el empleo de estos compuestos en elevadas concentraciones o por la falta de aplicación de sustancias que enmascaren o atenúen su sabor. Es necesario, por tanto, realizar estudios previos con un panel de catadores para conocer las posibilidades de uso comercial de las diferentes mezclas. Dong *et al.*, (2000) aplicaron por inmersión durante 2 min, una mezcla de agentes antipardeantes con efecto sinérgico (4-HR 0.01%, AC 0.5%, lactato de calcio (LC) 1%) a rodajas de distintas variedades de pera MP analizando el contenido residual de 4HR. Se observó una disminución de la concentración de éste a lo largo de 14 días de almacenamiento a 2 a 5°C. Sin

embargo, dicho descenso fue insuficiente, ya que los panelistas detectaron diferencias organolépticas entre las peras tratadas y el control.

4.3 Métodos enzimáticos

Es posible utilizar la actividad desarrollada por ciertas enzimas, que se pueden aportar al sistema, con objeto de prevenir la actividad no deseada de otras enzimas presentes en el producto. Esta técnica ha sido aplicada con éxito en la inhibición del pardeamiento enzimático de varias formas. Sin embargo, hay que destacar que en todos los casos experimentados se ha señalado que la puesta en práctica de este procedimiento a nivel comercial tendría un coste demasiado elevado, no asumible por la industria alimentaria actual (McEvily *et al.*, 1992).

Por ejemplo, para la prevención del oscurecimiento de zumos de manzana, se han utilizado dos enzimas distintas que provocan la modificación irreversible de los sustratos fenólicos. Así, la enzima *o-metil transferasa* es capaz de transformar el ácido clorogénico y cafeico (principales sustratos de la PPO en manzana) en ácido ferúlico y en ácido feruloilquínico, que tienen propiedades inhibitorias respecto a la enzima. También para tratar zumo de manzana, se ha propuesto el empleo de una enzima bacteriana, conocida por *PC asa* (protocatechuate-3,4-dioxigenasa), que cataliza la apertura del anillo aromático y la *orto*-fisió de catecoles (Ashie *et al.*, 1996).

La utilización de proteasas es otra opción para inhibir el pardeamiento de frutas y jarabes. Estas proteasas proceden, a veces, de extractos de frutas como en el caso de la *ficina* del higo, convirtiendo su empleo en una alternativa más natural que la adición de antipardeantes químicos. De este modo se ha mostrado que un 0.5% (p/v) de ficina durante 5 min es tan efectiva como el empleo de 1.25% (p/v) de sulfitos en lo que a evitar el oscurecimiento se refiere en frutas cortadas y gambas (McEvily *et al.*, 1992). Sin embargo, otras proteasas ensayadas, como el tratamiento superficial con lisozima de clara de

huevo (E.C.3.2.1.17) sobre pera mínimamente procesada preparada en cubos, no logró aumentar la estabilidad del producto ni mantener el color (Pittia *et al.*, 1999).

4.4. Métodos combinados

El uso exclusivo de tratamientos físicos o químicos generalmente no permite alargar en la forma deseada la vida de los productos mínimamente procesados, por ello la combinación de estos tratamientos con frecuencia suele ser imprescindible para mantener la calidad de frutas y hortalizas MP (Artés *et al.*, 1998). El empleo de la tecnología denominada métodos combinados o de obstáculos es una técnica que busca la conservación de alimentos a través de la unión de factores conjuntos de control, como pueden ser la modificación del pH y la reducción en la a_w , el empleo agentes antimicrobianos, el uso de envases o envolturas apropiadas y el mantenimiento de bajas temperaturas durante almacenamiento. En general la combinación de inmersiones de calcio (0.5-4%), envasado en atmósferas modificadas o controladas (3-5% O_2 y 3-15% CO_2) y almacenamiento a bajas temperaturas ($<5^\circ C$) es utilizada para incrementar la vida útil de frutas y hortalizas MP. A continuación se describen algunos ejemplos de empleo conjunto tecnologías para FMP:

Gil *et al.*, (1998) estudiaron el comportamiento de rodajas de manzana (var. *Fuji*) durante 16 días, expuestas a una inmersión en ácido ascórbico (2% p/v), un envasado en una atmósfera modificada (0% O_2 y 100% N_2) y almacenadas a $10^\circ C$, concluyendo que dicha unión de factores mantiene una calidad organoléptica óptima es decir, ausencia de pardeamiento y de la pérdida de sabores y olores característicos, así mismo, inhibe la producción de metabolitos no deseados.

Agar *et al.*, (1999) determinaron que la unión de los siguientes factores: la temperatura del almacenamiento ($0-2^\circ C$), el mantenimiento de la firmeza del tejido (1-2% sales de calcio) y la composición de la atmósfera modificada (2-4%

O₂ y 5-10% CO₂) son determinantes para la retención de calidad de rodajas de kiwi MP.

La combinación de irradiación (1.5 Gy), películas comestibles (caseinatos, proteínas lácteas y cloruro de calcio) y el almacenamiento a baja temperatura (4°C) resulta ser efectiva para el mantenimiento de fresas MP incrementando su vida útil en ausencia de mohos y levaduras (Vachon et al., 2003).

4.4.1 Deshidratación osmótica e impregnación a vacío

La forma más extendida de aplicación de métodos combinados en FMP es mediante el empleo de tratamientos de deshidratación osmótica por periodos cortos combinando o no con pulso de vacío. La unión de ambas técnicas resulta ser una herramienta excelente para lograr una modificación ligera de la actividad de agua del producto, además de permitir la incorporación de aditivos (agentes antimicrobianos, agentes antipardeantes, agentes acidulantes y/o agentes de firmeza) al tejido de la superficie. A continuación se citan solo algunos ejemplos donde la deshidratación osmótica con o sin pulso de vacío prolongan la vida útil de FMP, ya que se discutirán ampliamente ambas técnicas junto con su aplicación a FMP en los apartados 5. Deshidratación osmótica y 6. Impregnación a vacío.

Monsalve-González *et al.*, (1993) sometieron rodajas de manzana a tratamientos de DO durante 1, 3 y 10 h a diferentes temperaturas (25, 30, 35 y 45° C), cuya una solución que incluía sacarosa (52 °Brix) y distintos compuestos para el control del pardeamiento durante el almacenamiento. La mezcla con mejores resultados contenía un agente antioxidante (AA 0.25% p/v), un antipardeante (4-HR 0.02% p/v), un acidulante (AC 0.2% p/v) y un antimicrobiano (ácido sórbico 0.15% p/v).

Navarro y Orozco, (2000) determinaron las condiciones optimas de procesamiento de piña MP las cuales combinaban dos agentes químicos: ácido cítrico y ácido ascórbico, un agente antimicrobiano: sorbato potasico, todos

ellos en una proporción de 0.1% p/p y disueltos en una solución osmótica de 46°Brix de sacarosa, las muestras fueron impregnados con un pulso de 10 min y posteriormente deshidratadas osmóticamente durante 60 min a 40°C, se envasaron en condiciones de vacío y se almacenaron a 8°C obteniéndose características sensoriales y microbiológicas aceptables durante 15 días.

Tovar *et al.*, (2001) estudiaron la estabilidad de rodajas de mango MP inmersas durante 5 min en una solución de cloruro de calcio (2g/L) y posteriormente sometidas a una deshidratación osmótica con pulso de vacío de 65°Brix durante 30 min a 30°C, continuando con inmersiones en diferentes soluciones : ácido cítrico (5g/L) durante 5 min, peróxido de oxígeno (25 mL/L) durante 1 min y benzoato de sodio (20g/L) durante 4 min y envasadas en bolsas de polietileno de alta densidad a diferentes temperaturas (24, 13 y 5°C). Los autores concluyen que la deshidratación osmótica con pulso provoca una disminución significativa en la tasa de respiración con respecto a rodajas control, así como la ausencia de producción de etileno en rodajas almacenadas a 5°C.

5. Deshidratación osmótica

En los últimos años se han desarrollado técnicas de conservación de frutas con altas actividades de agua (0.95-0.98), donde el objetivo principal es disminuir la actividad de agua (a_w) a un valor crítico, donde los microorganismos y las enzimas no pueden actuar (Ponting, 1973a y b). Uno de los fundamentos más utilizados en dichas técnicas es la reducción de la actividad de agua de forma controlada, mediante la aplicación de deshidratación osmótica (Fito y Chiralt, 1997).

La deshidratación osmótica (DO) permite establecer un flujo de un solvente (agua en este caso) desde una solución diluida contenida dentro de una membrana semipermeable hacia una solución más concentrada que rodea dicha membrana y la entrada de solutos al interior de la misma. Ya que la

membrana es selectiva, el agua puede pasar libremente a través de ella, mientras que otros componentes de la solución lo harán mucho más lentamente. La transferencia de agua por DO es aplicable a alimentos donde su estructura celular actúa de forma similar a una membrana semipermeable (Figura I.9). El fenómeno osmótico tiene lugar como consecuencia de la diferencia de potencial químico establecido (el potencial químico del agua de una solución azucarada es menor que el potencial químico del agua pura), debido a que la magnitud de la presión osmótica establecida al poner en contacto estas dos soluciones con diferente concentración a través de una membrana permeable, es función de la concentración de solutos, al menos en soluciones diluidas. Es decir el agua fluirá desde el alimento hacia el medio osmótico, el soluto (agente osmótico) se transferirá desde la disolución osmótica al producto, y por último, saldrán solutos propios del alimento como azúcares, ácidos, minerales, entre otros hacia el medio osmótico.

Debido a que el mecanismo osmótico puede tener actuación en intervalos de temperaturas moderadas en los cuales el tejido vegetal se encuentra vivo, su aplicación se adapta al procesado mínimo de frutas (Tabla I.7). El producto, en este caso frutas pueden llegar a perder agua sin ningún cambio de fase, lo que implica, en el caso de los sistemas biológicos, una preservación de las estructuras celulares (Raoult-Wack, 1994). Además, ofrece la posibilidad de introducir la cantidad deseada de un soluto adecuado, por ejemplo, solutos de interés sensorial, como los antipardeantes o sales de calcio.

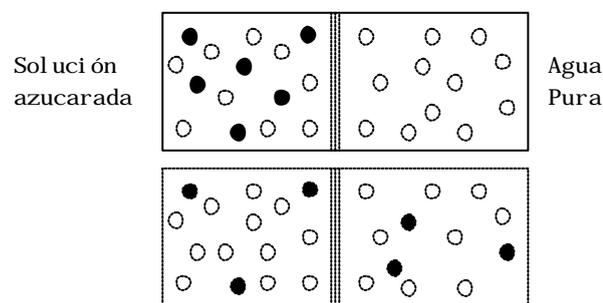


Figura I.9 Esquema del fenómeno osmótico (Adaptado de Albors, 2002)

Tabla I.7 Criterios para una definición práctica de los procesos osmóticos en base a su duración (Adaptado de Lazarides *et al.*, 1999a y b)

Proceso	Escala de tiempo	Operaciones	Usos o aplicación	Mecanismos de control
Proceso de tiempos muy cortos (VSTP) ¹	Minutos	Impregnación a vacío y/o pre-concentración osmótica	Productos mínimamente procesados o pretratados	Mecanismo hidrodinámico, pseudodifusión al y deformación de la matriz
Proceso de tiempos cortos (STP) ²	Horas			
Proceso de tiempos largos (LTP) ³	Horas/días	Excesiva deshidratación osmótica	Productos deshidratados osmóticamente estables	Relajación de la matriz
Proceso de tiempos muy largos (VLTP) ⁴	Días/semanas		Productos deshidratados osmóticamente muy estables	

(1) *very short time process*, (2) *short time process*, (3) *long time process*, (4) *very long time process*.

5.1 Factores que afectan el proceso de DO

Durante la transferencia de agua-soluto(s) que ocurre el proceso de DO, uno de los factores determinantes es la naturaleza, estructura y tamaño/geometría del tejido a deshidratar que esta dada por la especie, la variedad y el estado de madurez. El estado de madurez tiene un efecto significativo sobre la estructura del tejido en términos de estructura de la membrana celular, espacios intracelulares, compactación del tejido, aire ocluido, cantidad de sólidos insolubles, entre otros. Un ejemplo de la influencia del tipo tejido, es el estudio realizado por Lazarides *et al.*, (1997) al comparar tejidos de manzana y patata durante el proceso de DO en el cual se encontraron diferencias significativas debido a la alta porosidad intracelular del tejido de manzana comparado con el tejido de patata.

Por otro lado, a mayor superficie disponible para la D.O., más eficaz será el proceso. Las geometrías que ofrecen una mayor relación superficie/volumen son las más comúnmente utilizadas (cubos>cilindros>esferas).

Además, de las condiciones que integran el proceso como son el tipo de agente osmótico, la temperatura del proceso, la duración del tratamiento osmótico y la concentración de la disolución osmótica, también determinan la eficacia del proceso tal y como se comenta a continuación.

Agente osmótico

Se han utilizado gran variedad de agentes osmóticos, principalmente azúcares, como sacarosa, maltosa, glucosa, fructosa, lactosa, maltodextrinas, y trealosa entre otros o mezclas de ellos. El impacto de los diferentes solutos en la cinética de deshidratación en función de la concentración utilizada ha sido objeto de estudio de varios autores (Le Maguer, 1988; Chafer *et al.*, 2000). De los agente osmóticos anteriormente mencionados, el más utilizado para la deshidratación de frutas es la sacarosa (Barat *et al.*, 2001). Un estudio realizado por Bolin *et al.*, (1983b) sobre diferentes soluciones demuestra que un panel de catadores prefieren la sacarosa como agente osmótico.

En cuanto a la cinética, se ha demostrado que la pérdida de agua en frutas sometidas a DO aumenta al incrementarse la concentración de solutos en la solución osmótica, siendo las soluciones entre 50 y 70°Brix las de mayor utilización. La presencia de iones de calcio en la disolución osmótica durante la deshidratación de paralepípedos de papaya muestra mayores coeficiente de difusión del azúcar lo cual indicó que el calcio puede reforzar la proporción de ganancia de soluto osmótico (Rodríguez *et al.*, 2003)

Temperatura

En general temperaturas comprendidas entre 20 y 40°C son consideradas como las más óptimas porque no afectan la integridad de los tejidos, preservan la calidad nutricional del producto y son las de mayor interés a nivel económico (Lerici *et al.*, 1977). Youn *et al.*, (1996) afirman que el empleo de bajas temperaturas y elevadas concentraciones osmóticas favorecen a la retención de ácidos orgánicos y nutrientes. Varios autores han observado que la velocidad del proceso osmótico se ve significativamente afectada por el

aumento de la temperatura (Lenart y Flink, 1984; Conway *et al.*, 1983), reflejado por un incremento en la eliminación de agua y en la ganancia de azúcar. No obstante, en la mayoría de los casos se observa una escasa ganancia de azúcar, debido a la formación de una capa externa de células colapsada, impidiendo el flujo de componentes (Lazarides *et al.*, 1995). Ponting *et al.*, (1966) observaron que a temperaturas superiores a 50°C, se dieron daños en el color de la fruta debido a un oscurecimiento, además de un deterioro en el sabor y aroma. Sin embargo, existen estudios los cuales demuestran que tratamientos a altas temperaturas (70 a 90°C) durante tiempos cortos (combinando el efecto osmótico con un escaldado), se produce una inactivación enzimática, suficiente para evitar la aparición de colores pardos (Lerici *et al.*, 1986; Lenart y Flink, 1984).

Tiempo de inmersión

En general la DO se realiza manteniendo constante la concentración de azúcar en la solución osmótica. En estas condiciones, el aumento del tiempo de contacto se traduce, normalmente, en un incremento de la pérdida de agua siendo la velocidad de dicha pérdida decreciente debido a que el gradiente de potencial osmótico es cada vez menor (Ponting *et al.*, 1966; Farkas y Lazar, 1969). Además, la ganancia de azúcar por parte de la fruta aumenta también con el tiempo de tratamiento.

5.2 Aplicación de la DO en frutas MP

El uso de la deshidratación osmótica (DO) durante tiempos cortos de procesado y temperaturas moderadas para la obtención de FMP es una práctica usual descrita por diversos autores (Ponting, 1973a; Alzamora *et al.*, 1993; Fito, 1994). La reducción conveniente de la a_w a valores entre 0.97-0.90, manteniendo el producto con alta humedad (65-85%), y la modificación de la estructura de los tejidos (Figura I.10) implican cambios en la velocidad de las reacciones bioquímicas y fisicoquímicas, así como en los fenómenos de transferencia de materia durante el procesado de los mismos. En la mayoría de

los casos, la técnica de DO a temperaturas moderadas se combina con el empleo de agentes acidulantes, conservantes, antipardeantes etc., en las soluciones osmóticas para conseguir los resultados deseados.

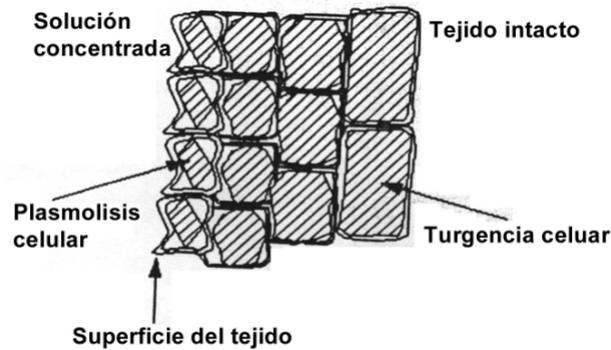


Figura I.10 Evolución del tejido vegetal durante el contacto con la solución concentrada (Adaptado de Le Maguer, 1997)

5.2.1 Efecto sobre el crecimiento microbiano

La baja actividad de agua, principalmente en las superficies de los productos MP deshidratados osmóticamente hace posible, en algunos casos y bajo unas condiciones de operación determinadas, la inhibición del crecimiento microbiano (Fellows, 1988; Navarro y Corzo, 2000). La resistencia a la alteración, sobre todo cuando se combina con bajas temperaturas y métodos de envasado adecuadas. Por ejemplo, se han observado resultados interesantes sobre la reducción en la velocidad del crecimiento microbiano ocasionado por un tratamiento osmótico de corto tiempo en kiwi (Dalla Rosa *et al.*, 1999; Gianotti *et al.*, 2000), aún cuando los valores de actividad de agua alcanzados (a_w 0.99-0.98) no fueran suficiente para inhibir el crecimiento microbiano. Este hecho podría relacionarse con la impregnación superficial por la solución osmótica, que ocasionó un incremento suficiente de la viscosidad del sistema, pero con un efecto despreciable en actividad de agua (Gianotti *et al.*, 2001).

La carga microbiana inicial juega un papel fundamental en la evaluación de la vida útil de los productos mínimamente procesados, y su magnitud está determinada por los fenómenos de contaminación que ocurren a nivel medio ambiental o durante la recolección y/o el procesamiento. El proceso osmótico, y en particular el estado higiénico de la solución, influye en la contaminación del producto osmodeshidratado, y así su calidad y periodo de vida útil.

Existe un interés creciente en la capacidad de los microorganismos a adherirse a las superficies de los alimentos formando *biofilms* capaces de reforzar su resistencia a la separación de las superficies y a su inactivación. Dicho fenómeno puede ser observado durante la DO debido a las condiciones del proceso. Gianotti *et al.*, (2001) concluyeron que las altas concentraciones del soluto osmótico durante la DO por periodos cortos en rodajas de kiwi MP son un obstáculo a la adherencia de los microorganismos es decir para la formación de *biofilms*, esto es debido probablemente a una reducción de la movilidad por el aumento de la viscosidad de la solución.

5.2.2 Efecto sobre la actividad enzimática de la PPO

Durante el proceso de deshidratación osmótica, las frutas pueden sufrir cambios en su color debido a los fenómenos de pardeamiento enzimático y/o no enzimático. La disminución o la inactivación de la PPO es atribuible a la reducción en la actividad de agua, debida a la salida de agua y salida en menor medida, de otros compuestos que pudieran ser sustratos enzimáticos. Así como, de la limitación de oxígeno disponible discutido en el apartado 4.1.2.1. Estudios realizados por Waliszewki *et al.*, (2000) en rodajas de plátano deshidratado osmóticamente, donde además del agente osmótico se incluía o no agentes antipardeantes (4HR y/o sulfitos) muestran que la actividad polifenol oxidasa fué 2.4 veces mayor en el centro que en el borde de la rodaja. Además, dicha actividad disminuyó en ambas regiones a medida que aumentaba el tiempo del proceso osmótico y con el uso de antipardeantes. Sin embargo, siempre se encontró una actividad enzimática residual. Moreno *et al.*,

(1998) concluyeron que el tratamiento osmótico (65°Brix, a 30°C, durante 4 h) combinado con un pulso de vacío (5 min 50 mbar) previo a un tratamiento de inactivación enzimática (vapor o microondas) aumenta la efectividad del proceso de inactivación en fresas MP.

5.2.3 Efecto sobre el color

Las alteraciones de color durante la DO han sido objeto de estudio por diferentes autores (Krokida *et al.*, 2000a; Sa y Sereno, 1999; Chafer *et al.*, sin publicar), según los autores los cambios de color se ajustan adecuadamente a modelos cinéticos de primer orden. El mecanismo de estos cambios posiblemente sea debido a la alteración física del material como por ejemplo cambios en la opacidad, que afectan al índice de refracción. Los estudios donde la DO se ha utilizado como tratamiento previo al secado por aire caliente muestran que los productos obtenidos son de excelente calidad, dado que se minimiza el daño por calor y se reduce la decoloración del producto final sin necesidad de aditivos (Ponting, 1973b; Maltini y Torreggiani, 1991; Biswal y Le Maguer, 1984).

Krokida *et al.*, (2000a y b) estudiaron los cambios de color ocasionados por la deshidratación osmótica utilizada como pretratamiento al secado con aire caliente, concluyendo que el pretratamiento osmótico puede usarse para prevenir la pérdida del color original de rodajas de manzana y plátano, ya que las frutas no tratadas mostraron un extenso pardeamiento durante su secado con aire caliente. Dicha alteración tuvo un carácter significativo, dando lugar a una reducción de la luminosidad y un aumento en la formación de compuestos pardos.

5.2.4 Efecto sobre la calidad sensorial

Durante la DO se produce una pérdida de ácidos y una ganancia de azúcares, obteniéndose un producto más dulce y suave (Ponting *et al.*, 1966;

Lazarides *et al.*, 1999a y b). Por ello, se puede decir que, en general, la DO puede incrementar la aceptabilidad por parte del consumidor de frutas mínimamente procesadas, al proporcionar al producto por una parte, sabores más agradables al paladar en el caso de frutas ácidas como rodajas de kiwi (Bereiter, 2001), rectángulos de mango (Panadés *et al.*, 2001) y guayaba (Panadés *et al.*, 1993), y por otra, una mejor retención de compuestos volátiles (Scalzo *et al.*, 2001) y de ácidos orgánicos (Mata-Montes de Oca *et al.*, 2000) o mayor producción de aromas al potenciarse la actividad de enzimas clave (Zabetakis, 1997; Zabetakis y Holden, 1997; Escriche *et al.*, 2000). Sin embargo, se ha detectado un incremento en la velocidad de respiración, y por tanto un incremento en la emisión de CO₂ de mango MP deshidratado osmóticamente (Tovar *et al.*, 2001) y un incremento en la velocidad de madurez (Mata-Montes de Oca *et al.*, 2000).

Por otra parte, la utilización de la deshidratación osmótica como pretratamiento antes de un proceso de secado, además de disminuir el consumo energético reduciendo el tiempo de secado (Jayamaran y Das-Gupta, 1992; Karathanos *et al.*, 1995; Park *et al.*, 2022), puede llegar a mejorar la calidad sensorial y nutricional del producto final. La preconcentración que tuvo lugar durante la DO limita el daño causado por la elevadas temperaturas, mejora la calidad textural, la retención de vitaminas, el mantenimiento de sabor y aroma y estabiliza el color (Bolin y Huxsoll, 1993a; Krokida *et al.*, 2000c; Riva *et al.*, 2001).

Por todo lo expuesto anteriormente se puede considerar que la aplicación de DO en frutas permite abrir un abanico de posibilidades en el desarrollo, tanto de FMP, como de nuevos productos, proporcionando una buena estabilidad del producto con una mínima pérdida de calidad del mismo.

6. Impregnación a vacío

La técnica de impregnación a vacío (IV) puede permitirnos incorporar cualquier ingrediente en un producto poroso, modificando su composición para

proveerle cualidades que incrementen su calidad y proporcionarle cierta estabilidad adecuando su composición, de una manera rápida y simple. La técnica de impregnación a vacío (IV) permite un cambio rápido en la composición del tejido poroso debido a la sustitución de la fracción de gas por una disolución, lo que implica por una parte, un nivel de desgasificación de la estructura porosa del alimento en función de la presión aplicada, y por otra, una penetración de líquido por capilaridad una vez alcanzado el equilibrio en el sistema, que hace que los espacios intercelulares o poros se llenen parcialmente de líquido (Fito, 1994), dicha técnica se basa en la acción del mecanismo hidrodinámico (ver 6.1).

6.1 Mecanismos de acción: Modelo Hidrodinámico

Basándose en la estructura porosa de muchos alimentos, Fito y Pastor (1994) explican el fenómeno de la operación de impregnación a vacío a través del denominado Mecanismo Hidrodinámico (MHD). Este mecanismo se describe y modeliza (Fito, 1994) como un fenómeno de transferencia de materia que ocurre en operaciones sólido-líquido y es especialmente importante cuando se trabaja en condiciones de vacío. Según los autores, este proceso tiene lugar cuando un producto poroso es sumergido en una fase líquida externa a una presión subatmosférica (P_2) durante un período de tiempo (t_1), para después restablecer la presión atmosférica (P_1) durante un período (t_2). En este proceso, el gas ocluido en los poros del producto es reemplazado por el líquido externo en una proporción que depende de la relación de compresión ($=P_2/P_1$) (Figura I.11) (Fito, 1994).

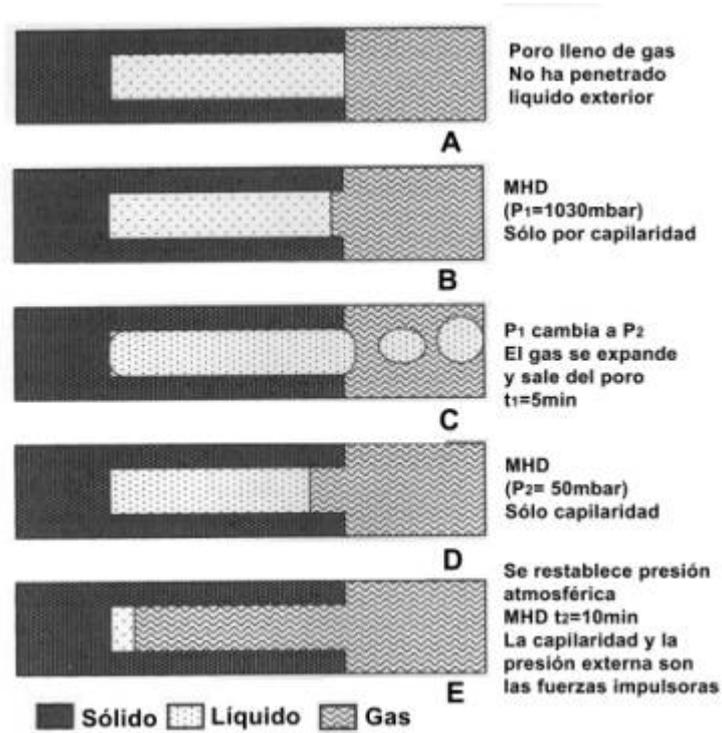


Figura I.11 Etapas en el proceso de transferencia de materia en un alimento poroso sumergido en un líquido (Adaptado de Fito, 1994)

6.1.1 Factores que afectan a la efectividad del mecanismo

La cantidad de líquido impregnado en el producto dependerá del nivel de desgasificación y, por tanto, de la presión de trabajo. Esta penetración de líquido puede ser reversible y está controlada por la compresión o expansión del gas ocluido en los poros (espacios intercelulares en la fruta). También la composición de la disolución es un factor a considerar ya que por ejemplo, cuando el líquido de impregnación tiene una viscosidad elevada, la difusión a través de los espacios intercelulares se hace muy lenta (Martínez-Monzó *et al.*, 1998). Por otro lado, las características intrínsecas del producto como su porosidad, tamaño de los poros, características viscoelásticas del material, entre otros también juegan un papel importante.

6.1.2 Cambios provocados por la IV

Los cambios estructurales y físicos de frutas impregnadas dependen del nivel de impregnación y de la composición de la disolución. En cuanto a los cambios estructurales el más relevante provocado por la impregnación es el llenado de los poros con un líquido externo, lo que comporta un aumento de la opacidad de las muestras con la consiguiente disminución de la reflectancia superficial. Además, debido al intercambio gas-líquido las propiedades viscoelásticas, se ven generalmente afectados comportando una pérdida de turgencia celular. La propiedad física que es claramente afectada por la IV es la densidad del producto, la subsecuentemente salida de aire de los poros reemplazado por líquido, provoca un aumento en la densidad. Así como, de afectar a la conductividad térmica (Mártinez-Monzó *et al.*, 2000)

Por otra parte la modificación de dichas propiedades físicas del producto tiene ventajas para otros procesos como los son la DO, el secado por aire caliente, el secado por aire caliente-microondas, entre otros.

6.2 Aplicación de la IV en frutas mínimamente procesadas

La impregnación a vacío puede ser considerada como una herramienta en el desarrollo de frutas y hortalizas MP ya que dicha operación, modifica su composición original convenientemente sin la ruptura de la estructura celular (Chiralt *et al.*, 1999).

La porosidad efectiva de frutas varía grandemente de acuerdo con el tipo de tejido y en menor medida con la variedad del fruto, a pesar de esto las frutas

son consideradas tejidos altamente porosos, lo que oferta la posibilidad de ser impregnadas por una disolución (Mújica-Paz, 2003). La disolución de impregnación puede contener sustancias disueltas y/o en suspensión de carácter tecnológico y/o nutricional. Por tanto, la IV puede ser utilizada para introducir eficientemente en un alimento con prácticamente cualquier tipo de sustancia (Fito *et al.*, 2001) o de componente nutricional (Gras *et al.*, 2003) e incluso de microorganismos probióticos (Betoret *et al.*, 2003). y modificar su pH o actividad de agua (Muntada *et al.*, 1998), utilizando disoluciones concentradas de ácidos, conservantes o solutos de alto peso molecular. La IV permite el uso de pequeñas concentraciones en comparación con tratamientos de inmersión a presión atmosférica (Sapers y Miller, 1998).

La impregnación a vacío ha sido empleada, para garantizar la eficacia del calcio, éste debe aplicarse directamente a la superficie de la fruta imitando así, el transporte que ocurre de forma natural desde las hojas al interior de los frutos (Chamel, 1989). Por esta razón la impregnación a vacío es comúnmente el tratamiento más efectivo de aplicación. La impregnación a vacío de cloruro de calcio es comercialmente utilizada para reforzar el almacenamiento de manzanas e incrementar su vida útil (Rajapakse *et al.*, 1992).

La aplicación de IV a frutas MP ha sido objeto de estudio de algunos autores (García-Rendon, 1997; García-Pichi, 1998; Sousa, 1996; Acosta, 1996; Chafer *et al.*, 2001 Mújica-Paz *et al.*, 2003).

Sapers *et al.*, (1990) estudiaron el efecto en el color de la impregnación a presiones atmosféricas y de vacío (34kPa) en manzanas MP deshidratadas osmóticamente por un periodo muy corto junto con ascorbato sódico y cloruro cálcico, obteniendo que las muestras no impregnadas presentaron pardeamiento mucho antes que las muestras impregnadas. No obstante,

algunos autores (Arteca, 1982; Drake y Spayd, 1983) han documentado que el uso de técnicas de impregnación a vacío en FMP conduce a una translucidez y apariencia húmeda no aceptables, en algunos casos, por el consumidor.

Antecedentes Bibliográficos

La pera es una fruta de alta calidad nutricional y una buena fuente de energía por su alto contenido en azúcares, ácidos, vitaminas, minerales y fibra (Primo, 1997), y además presenta una gran disponibilidad a lo largo del año por sus buenas propiedades de conservación como fruta entera en atmósferas y condiciones controladas (Joana, 1991; Herreros, 1991; Sansavini, 1991; Larrigaudiere *et al.*, 1998).

En España, la variedad *Blanquilla* es la de mayor importancia económica, con producción anual de 245.730 tn (MAPA, 1999). Esta variedad también es llamada “*pera de agua*” o “*blanca de Aranjuez*”, se caracteriza por ser la primera variedad nacional de peras ocupando el 32% de la producción total

(MAPA, 1999). Así mismo, posee características sensoriales inigualables como un tamaño regular, una epidermis lisa, fina, brillante y verdosa. Carne (mesocarpio) fúndente blanca, muy jugosa y agradable, de sabor dulce, fino y delicado con corazón pequeño y granuloso (Carrera, 2000). Además la *var. Blanquilla* se aviene perfectamente con el frío industrial permitiendo su almacenamiento hasta 6 o 7 meses en cámaras de atmósfera controlada, con lo que su disponibilidad en el mercado se extiende prácticamente a todo el año. En el territorio español, las zonas de producción se extienden principalmente en las comunidades de Cataluña, Aragón, Murcia, la Rioja, Extremadura y Valencia. Por ejemplo sólo en la provincia de Lleida se producen 111.306 tn (MAPA, 1999), es decir, el 15% de la producción total anual. Además esta variedad cuenta con la denominación de origen de "Peras de Rincón de Soto" regidas por la Asociación para la promoción de la Pera de Rincón de Soto de la Rioja.

No obstante, se trata de una especie que posee una gran riqueza en compuestos fenólicos susceptibles de oxidación por la acción enzimática. Estos compuestos fenólicos corresponden al grupo de los ésteres hidroxicinámicos, (+)-catequina y (-)-epicatequina más otras formas oligómeras de éstas y flavonoles en forma de glicósidos o malonil-glicósidos de quercitina o isoramnetina (Oleszek *et al.*, 1994). Entre éstos, se ha demostrado que los mejores sustratos de la polifenol oxidasa (PPO) de la pera son la catequina y epicatequina (Walter, 1964; Rivas y Whitaker, 1973), al igual que en un gran número de frutas. Incluso, se ha observado en manzana que todos los compuestos fenólicos presentes en la fruta se degradan, lo que sugiere que los compuestos que no son sustratos de la PPO podrían oxidarse también a través de reacciones acopladas. Por el contrario, el ácido *p*-cumárico aparece como un inhibidor de la PPO de pera (Rivas y Whitaker, 1973).

Los flavonoles son considerados como los peores sustratos de la PPO (Macheix *et al.*, 1990; Nicolas *et al.*, 1993). Así mismo, se ha observado que éstos flavonoles inhiben la oxidación del ácido ascórbico (Robards *et al.*, 1999).

Dentro del grupo de los compuestos fenólicos, los flavonoides juegan también un papel importante en el pardeamiento enzimático. En primer lugar, los compuestos oxidados de flavonoles pueden disminuir la cantidad de quinonas resultante de otros compuestos fenólicos como hidroxicinámicos y flavanoles. En segundo lugar, los pigmentos resultantes de los flavonoles pueden dar lugar a una amplia gama de valores de L^* , a^* y b^* (Robards *et al.*, 1999; Nicolas *et al.*, 1994).

Estudios previos en diferentes variedades de pera, de diferentes cosechas, y analizadas con diferente grado de madurez, ponen de manifiesto que las mayores diferencias en composición fenólica aparecen debido a la variedad. El ácido 5'-cafeoil-quinico y la (-)-epicatequina fueron los compuestos fenólicos mayoritarios en siete variedades de pera (sin incluir la variedad Blanquilla) y fueron además los mejores substratos endógenos de las polifenol oxidasas en pera (Amiot *et al.*, 1995; Richard-Forget y Gauillard, 1997). Así mismo, los flavonoles resultaron fuertemente degradados durante la oxidación, por reacciones acopladas a la acción de la PPO y por tanto, contribuyeron en gran medida al desarrollo de pigmentos pardos. La degradación de los derivados del ácido cinámico es también muy intensa, por lo que la contribución de los mismos al pardeamiento puede considerarse también muy sustancial (Amiot *et al.*, 1995).

Otra perturbación importante y de la cual no esta exenta la pera, es la degradación de los componentes de las paredes celulares. Estos cambios son la causa del reblandecimiento general, o pérdida de firmeza, observado en frutos maduros, sobremaduros o dañados. El cambio se debe a la acción hidrolítica de un grupo de enzimas cuya presencia se incrementa a medida que avanza su maduración continuando su actividad en el período de senescencia del fruto. Estas enzimas varían según la variedad, entre ellas se encuentran la pectina metilesterasa, la cual al desestirificar las pectinas las prepara para su hidrólisis por la galacturonasa o la pectatoliasa.

Por lo tanto la obtención de pera mínimamente procesada, se centra en dos objetivos primordiales, el primero la inhibición del pardeamiento enzimático y el segundo la prevención del ablandamiento en el tejido, aunados al mantenimiento de la calidad global y de las cualidades del producto. Con este fin se han encontrado varios estudios que detallan diversas combinaciones de métodos de conservación con diferentes grados de efectividad, dependiendo de la variedad objeto de estudio y de las condiciones de los tipos de tratamientos ensayados.

Por ejemplo, de la variedad *Anjou* se previno el pardeamiento, aunque no el ablandamiento, durante 30 días a una temperatura de 2 a 5°C, mediante una inmersión en una disolución con 1% de ácido ascórbico (AA) más 1% lactato de calcio (CaLa). Combinando 0.5% de AA y 1% de CaLa con 0.01% de 4 hexilresorcinol (4-HR), durante 2 min de inmersión, se consiguió extender la vida media de peras *Anjou*, *Barlett* y *Bosc* durante 30 días, aunque sensorialmente se detectaron los residuos de 4HR en las peras tratadas, además de resultar insuficiente para el mantenimiento de la firmeza, tal vez debido a las condiciones de vacío parcial durante el almacenamiento (Dong *et al.*, 2000). Peras cortadas de las variedades *Anjou* y *Barlett* pudieron mantenerse con buenas propiedades de frescura, sin pardeamiento y sin aparente deterioración de la firmeza y del sabor, durante 12-14 días a 4°C tratadas con una inmersión por 1 min en una disoluciones de eritorbato sódico al 4%, CaCl₂ (0.2%) y 4-HR (50-400 ppm), envasadas en atmósfera modificada (14% O₂ y 3% CO₂). Sin embargo, las peras de la var. *Bosc* pardearon en todas las mezclas probadas que incluían: a) 1% AA + 0.2% CaCl₂ (pH 3.3); b) 1.13% NaAA (ascorbato de sodio) + 0.2% CaCl₂ (pH 7.7); c) 4% NaE (eritorbato de sodio) + 0.2% CaCl₂; d) 4% NaE + 5-400 ppm 4-HR; e) 4% NaE + 0.2% CaCl₂ + 50-100 ppm 4-HR; f) 4% NaE + 0.2% cisteína. En todos los casos, se vió que las muestras con pHs neutros fueron más efectivas en la prevención del pardeamiento (Sapers y Miller, 1998), en coherencia con lo encontrado en estudios previos (Sapers, 1992; Pointing *et al.*, 1972). Es remarcable que en estudios con ácido ascórbico o ascorbato sódico, la inhibición del pardeamiento

en peras *Anjou* fue sólo efectiva cuando se utilizó un medio neutro con ascorbato sódico. Otras mezclas probadas con efectividad para prevenir el pardeamiento y la firmeza de peras *Anjou*, *Barlett* y *Bosc* a 5°C durante 14 días sin aparente crecimiento de microorganismos, fueron 4-HR (0.001M), ácido isoascórbico (0.5M), *n*-acetilcisteína (0.025M) y sorbato de potasio (0.05M) (Buta y Abbott, 2000).

Gorny *et al.*, (2002 y 1998a) determinaron que diferentes composiciones de atmósferas modificadas, bajas concentraciones de oxígeno (0.25 o 0.5 kPa) junto con elevadas concentraciones de dióxido de carbono (5, 10, o 20 kPa), o altas concentraciones de O₂ (40, 60, o 80 kPa) no son eficaces para controlar el pardeamiento ni la pérdida de firmeza de rodajas de pera MP *var. Bartlett*, incluso se observó que atmósferas con alto contenido en CO₂ (>10 kPa) resultaron acelerar el pardeamiento, la necrosis del tejido y el ablandamiento del tejido, indicando alta susceptibilidad al CO₂ semejante al que ocurre en peras enteras. No obstante el almacenamiento durante 7 días a 2.5°C de rodajas de pera de la misma variedad, inmersas en una disolución de 1% CaCl₂, por algunos minutos y envasadas en 0.5% O₂, mostraron una disminución en la tasa de producción de CO₂ y de etileno, además de minimizar el pardeamiento y el ablandamiento del tejido (Rosen y Kader, 1989).

Sin embargo, si las rodajas eran inmersas durante 5 min a 20°C en una disolución de ácido ascórbico (2% p/v), lactato de calcio (1% p/v) y cisteína (0.5% p/v) ajustada a pH 7 y almacenadas durante 10 días a 0°C con un flujo (100 mL min⁻¹) de aire humificado, se logra una inhibición significativa del pardeamiento y de la pérdida de firmeza, con respecto a rodajas control (inmersas en agua). Un análisis sensorial al término del almacenamiento, indicó una alta aceptabilidad de las rodajas por parte de un panel de catadores (82%), además de poseer un sabor agradable (72%) (Gorny *et al.*, 2002).

Soliva-Fortuny *et al.*, (2002a y 2002b) evaluaron los cambios en el color, las propiedades mecánicas, la estructura, la actividad polifenolasa residual y la

composición de los gases en el espacio de cabeza, provocados por diferentes condiciones de almacenamiento durante 60 o 75 días a 4°C en pera *var. Conferencia* MP. Cubos de pera fueron inmersos en una disolución de ácido ascórbico (10g/L) y de CaCl₂ (5g/L) durante 1 min, y posteriormente envasados en bolsas de polietileno de baja y media permeabilidad al O₂, conteniendo una mezcla de gases (90.5% N₂, 7%CO₂ y 2.5% O₂) o un solo componente gaseoso (100% N₂). La pérdida de la luminosidad, expresada como pardeamiento, las variaciones en las concentraciones de O₂ y de CO₂, y la disminución de la firmeza resultaron adaptarse a modelos cinéticos de primer orden, así mismo, el incremento en la actividad PPO a modelos de orden cero. Los autores concluyeron que todos los parámetros estudiados están altamente influenciados por las condiciones iniciales del envasado. Además de existir una correlación entre la luminosidad, el incremento en la concentración de CO₂ y la actividad PPO. El envasado en N₂ (100%) con bolsas baja permeabilidad al O₂ mantuvo la estructura celular evitando parcialmente el daño en la membrana y la acumulación de exudado en los espacios intracelulares, lo que supuso cambios no significativos a lo largo del periodo de almacenamiento en la firmeza y en el color.

Justificación e Interés del Trabajo

En una escala del 1 al 10, el consumidor actual elige a las frutas y hortalizas como el alimento perfecto “10”, es decir, los considera como los alimento más saludables, seguido de los cereales, el yogur y la pasta. Así mismo, más del 60% de los consumidores afirma que intenta incrementar su consumo (<http://www.fresh-cut.org>).

El presente estudio surge con la inquietud de desarrollar un producto que, por un lado aporte al mercado de las frutas frescas, en este caso pera, una alternativa de consumo o la ampliación de sus canales de comercialización en fresco, y por otro lado, permita introducir un nuevo producto al mercado. Por consiguiente, resulta necesario la aplicación de metodologías que utilizan los

alimentos mínimamente procesados, ya que sus características son altamente apreciadas por el consumidor.

El cambio en los hábitos de consumo tanto en EE.UU. como en Europa, ligados a la exigencia de simplificación de las comidas ante el escaso tiempo disponible para su preparación, aunado al cambio en los hábitos de la alimentación con una tendencia hacia el consumo de alimentos preparados, semipreparados o listos para el consumo ha potenciado el consumo de productos mínimamente procesados. Todo ello, unido a la general estima de los productos vegetales frescos como comida sana y saludable, como se ha mencionado anteriormente, permite concluir que los vegetales mínimamente procesados son alimentos que satisfacen la demanda de los consumidores en cuanto a conveniencia, debido a que reducen muchas de las etapas tediosas de preparación asociadas a los alimentos de origen vegetal y aumentan el acceso de los consumidores a productos de una calidad más y uniforme y consistente. Además, su aprovechamiento es total, debido a que los envases únicamente contienen producto comestible, sin generación de residuos.

El consumidor cada día demanda más alimentos naturales frescos, ya preparados, fáciles de presentar en la mesa para consumo inmediato, y, sobre todo, prefiere la presencia exclusiva de ingredientes naturales. En España no se dispone de datos fiables de consumo de productos procesados en fresco, aunque Artés y Artés, (2000) reflejan ciertas estimaciones aproximadas para el consumo de productos de marca, que se puede establecer entre 1.5 a 2 kg per capita en 1999, constituyendo una de las preparaciones alimenticias con mayor potencial de crecimiento.

Actualmente, existe un incremento en la demanda de frutas mínimamente procesadas por parte de servicios de *catering*, comidas rápidas, restaurantes, etc. y de pequeños consumidores, donde el consumo de frutas listas para comer se ve asociado a una ritmo de vida determinado.

Se espera que las frutas y hortalizas mínimamente procesadas satisfagan dos requisitos: primero, mantener la apariencia del producto fresco, es decir, intentar conservar unas características semejantes a las del producto intacto, al que el consumidor consideraba sano y natural; segundo, la vida útil del producto ha de posibilitar su distribución sin que por ello existan pérdidas nutricionales importantes. Por limitaciones microbiológicas, sensoriales y nutricionales, la vida útil de un vegetal mínimamente procesado oscila entre 4 y 7 días y en casos especiales hasta los 21 días. En cuanto a la calidad nutritiva, son las pérdidas de ácido ascórbico y carotenos los principales factores limitantes (Ahvenainen, 1996).

La frescura y la conveniencia son los factores que promueven este tipo de productos en el mercado, además de la búsqueda de un aumento de la calidad, el valor y la vida útil del producto, así como la disminución en las pérdidas postcosecha y el aumento en la eficiencia de la comercialización (O'Connor *et al.*, 1994; Ahvenainen, 1996). Este tipo de productos aporta diversas ventajas hacia el consumidor, entre las que se destacan: (Cantwell, 1992; Artés, 2000; Jacxsens *et al.*, 1999)

- Reducen el tiempo de preparación
- Aumentan el acceso a productos más saludables
- Requieren menor espacio de almacenamiento y son fáciles de almacenar
- Proporcionan una calidad más uniforme y consistente
- Requieren menor manipulación al estar preparados para su consumo inmediato
- Proporcionan pocos residuos al ser habitualmente comestibles en su totalidad y el aprovechamiento es óptimo.
- Presentan casi idénticas características correspondientes al estado fresco

Sin embargo, Cantwell *et al.*, (1996) menciona los siguientes inconvenientes:

- Se producen variaciones en la calidad y en el periodo de vida útil sobre lo esperado
- Necesitan un estricto control de temperatura
- Exigen estrictos requerimientos higiénicos y sanitarios

- Requieren de gran calidad del producto, en especial de aroma, sabor y nutricional

La mayoría de los trabajos encontrados en la bibliografía sobre FMP, se centran en analizar las condiciones de preparación y almacenamiento óptimas para el desarrollo de un producto de calidad con un tiempo de vida aceptable, normalmente con la ayuda de agentes conservadores. Estos estudios son numerosos en frutas como manzana, piña, kiwi, mango, melón, fresas, papaya, naranja y pomelo, entre otros. Solo algunos grupos de investigación se han dedicado a un producto como la pera, seguramente por su difícil manipulación, asociada a su gran facilidad para el desarrollo de coloraciones pardas indeseadas.

El presente trabajo tiene como objetivo contribuir al desarrollo de productos MP, teniendo como materia prima pera *var. Blanquilla*, a través del estudio de las condiciones óptimas de conservación en refrigeración, teniendo en cuenta las características de calidad del producto sin procesamiento como son: color, textura y evaluación sensorial, junto con su calidad microbiológica.

Capítulo I

Efectividad del tratamiento térmico en el control del pardeamiento enzimático

La efectividad de *métodos combinados* para la conservación y extensión de la vida útil de productos mínimamente procesados ha sido evaluada para diferentes tipos de alimentos. La elección de un método óptimo de factores combinados es muy difícil debido a la variedad y complejidad de los cambios bioquímicos y microbiológicos que se pretende inhibir o controlar.

Estas tecnologías están atrayendo un considerable interés en los últimos años, ya que evitan la aplicación de un sólo factor de conservación en forma severa, con la consiguiente mejora en la calidad organoléptica y nutricional del alimento.

Por otra parte, permiten la formulación de productos mínimamente procesados, con características similares a las del producto fresco, con menos aditivos y listos para consumir, satisfaciendo las demandas actuales del consumidor. Para emplear racionalmente nuevas tecnologías múltiples y/o optimizar procesos ya existentes, es necesario conocer el mecanismo de acción de los factores individuales y sus interacciones sobre los microorganismos y enzimas del producto en cuestión.

Aunque los tratamientos térmicos son generalmente eficaces en la inhibición de reacciones enzimáticas y en la reducción de los niveles microbianos, éstos se usan ocasionalmente para la estabilización de frutas y hortalizas mínimamente procesadas, debido a sus efectos negativos sobre determinados parámetros de calidad como son aroma, textura y apariencia fresca.

La aplicación de tratamientos térmicos convenientes, asociados con impactos negativos bajos, podría ser de gran interés en el desarrollo de frutas y hortalizas mínimamente procesadas al extender su vida útil.

A continuación, se analizara la efectividad de algunos tratamientos térmicos sobre la calidad de pera mínimamente procesada.

I.1 INTRODUCCIÓN

I.1.1 El escaldado

Como ya se ha mencionado (apartado 4.1.1a Aplicación de alta temperatura) el escaldado o blanqueo es una importante operación unitaria en el procesado de frutas y hortalizas, siendo desde hace mucho tiempo una práctica común. El objetivo principal del escaldado es la desnaturalización de enzimas responsables del pardeamiento y de la alteración de aromas, efectos que pueden llegar a hacer al producto inaceptable comercialmente. También el escaldado protege a los alimentos frente al deterioro microbiano durante su almacenamiento, ya que las formas vegetativas de los microorganismos son destruidas, en general, a temperaturas más bajas que la mayoría de las enzimas. Por ejemplo, el proceso de escaldado a bajas temperaturas en ensaladas de hoja (lechuga, tipos de escarola, radicchio, etc.) redujo los recuentos en placa de microorganismos mesófilos iniciales tres órdenes de magnitud y de recuentos del género *Enterobacteriaceae* a $<1\text{ufc/g}$, obteniéndose así, un alimento seguro además de la prolongación de su vida útil (Gärtner *et al.*, 1997). Además, el escaldado puede ayudar a disminuir la contaminación de naturaleza química, ocasionada por pesticidas residuales presentes en frutas y hortalizas. En este sentido, el trabajo realizado por Elkins *et al.*, (1968) muestra una reducción de entre el 50% y el 70% de compuestos como DDT (diclorodifeniltricloroetano) y carbaril, respectivamente, durante el escaldado comercial de judías verdes.

Algunas de las consecuencias de la aplicación de la técnica de escaldado son la pérdida de sólidos solubles, la desnaturalización de enzimas, la desgasificación del tejido, la hidrólisis y solubilización de polímeros estructurales como protopectina, además de la gelatinización del almidón, dando lugar a un aumento considerable del tamaño de los gránulos (Oikku y Rha, 1978). Por tales motivos, el escaldado puede aplicarse no sólo para evitar

el pardeamiento enzimático, sino también, para proporcionar cambios estructurales al producto que mejoren su calidad textural.

El escaldado tiene aplicación comercial siempre y cuando no se dañe en exceso la calidad del producto. Se utiliza principalmente en productos hortícolas para inactivar enzimas que alteran el color de las superficies cortadas como son la fenilalanina amonioliasa (PAL), la peroxidasa (PDO) y la polifenol oxidasa (PPO).

La operación de escaldado, se lleva a cabo comúnmente mediante la inmersión o rociado de los productos vegetales en agua caliente, en soluciones calientes y/o hirvientes que contienen generalmente ácidos, sales (Bolin y Huxsoll, 1991; Bolin, 1992; Severini *et al.*, 2003), o azúcares (Pittia *et al.*, 1999), mediante la exposición al vapor (Williams *et al.*, 1986; Howard *et al.*, 1994) o bien por el uso de microondas durante varios segundos o minutos (Ramaswamy y Van de Voort, 1990; Ponne *et al.*, 1994; Kidmose y Martens, 1999; Severini *et al.*, 2001).

Además de la aplicación de calor, el control del pardeamiento enzimático se logra frecuentemente a través del uso combinado de uno o varios tipos de agentes antipardeantes (como se ha mencionado en el apartado 4.2 de la Introducción). Tal es el caso de agentes químicos que actúan como acidulantes, siendo el ácido cítrico el de mayor aplicación debido a sus características, expuestas en la Tabla I.1.2. El ácido cítrico es ampliamente utilizado en la reducción del pH superficial de frutas mínimamente procesadas (FMP) como naranja (Pao y Petracek, 1997), manzana (Rocha *et al.*, 1998) melocotón, albaricoque, kiwi (Senesi y Pastine, 1996), aguacate (Dorantes-Alvarez *et al.*, 1998) y plátanos (Moline *et al.*, 1999).

Tabla I.1.2. Características del ácido cítrico empleado en el control del pardeamiento de frutas y hortalizas (Adaptado de Whitaker, 1996; McEvily *et al.*, 1992)

Efecto / Acción	Ventajas y Desventajas	Observaciones	Dosis usual (p/v)
»Descenso del pH »Posible efecto quelante del Cu ⁺⁺	»Bajo costo »Efecto sensorial residual	»Teóricamente la inhibición del pardeamiento enzimático puede lograrse a pH <2 »Uso frecuente en combinación con otros agentes o tratamientos	0.5 a 5%

Frecuentemente se emplean acidulantes en combinación con otros tipos de agentes o de tratamientos, ya que es difícil lograr una inhibición eficaz del pardeamiento únicamente a través del control del pH. Además, existen variaciones del efecto inhibitorio de los diferentes ácidos frente a la PPO. Por ejemplo, resultados obtenidos por Ponting (1960) mostraron que el ácido málico es más eficaz que el ácido cítrico en la prevención del pardeamiento en zumo de manzana.

Aun cuando se ha descrito que el pH óptimo para la PPO oscila entre valores ácidos a neutros, en la mayoría las frutas y hortalizas, la actividad óptima de la PPO se ha observado a valores de pH 6.0 a 6.5, mientras que su actividad se ve reducida por debajo de valores de pH 4.5 (Whitaker, 1994). Además, según Richardson y Hyslop (1985), se puede lograr una inactivación irreversible de la PPO con valores de pH inferiores a 3.0. Por otro lado, otros autores (Nicolas *et al.*, 1994) encontraron que extractos de PPO de manzana son bastante tolerantes a la acidez, ya que a un pH alrededor de 3.0 mantuvieron un 40% de su actividad inicial.

I.1.1.1 Cambios que provoca el escaldado en el tejido vegetal

La pared celular es el elemento estructural básico de los tejidos vegetales, y por lo tanto, juega un papel determinante en el mantenimiento de las características texturales en este tipo de alimentos. Por ello, los cambios que

se pueden producir en dicha pared, tendrán una importancia fundamental en el ablandamiento de los tejidos vegetales.

El calentamiento de los tejidos a temperaturas de 60-70°C, provoca la ruptura de las membranas, la descompartimentación de los componentes celulares y la degradación de las pectinas de la lamina media y de la pared celular, siendo dichos fenómenos más acusados en frutas y hortalizas de baja acidez, contribuyendo más aun a la pérdida de su firmeza (Van Buren, 1986). Sin embargo, estos calentamientos moderados confieren a algunos productos vegetales una textura más firme (Wu y Chang, 1990). Se cree que esta firmeza inducida por el calor se debe a daños o lesiones que sufren las membranas celulares y a un aumento de su permeabilidad. Como consecuencia de estos daños en la membrana, se produce: (i) la liberación de calcio y su difusión de la lámina media de la pared celular. (ii) la activación de la pectinmetilesterasa (PME) y la desesterificación de las pectinas y (iii) el establecimiento de puentes iónicos entre el calcio (y/o magnesio) y los grupos carboxílicos de las pectinas. Al incrementarse la actividad de la enzima pectinmetilesterasa (PME) endógena, se produce cierta desmetilación de las pectinas, creándose pectinas de bajo grado de metilación o bajo metoxilo, que gelifican formando puentes de entrecruzamiento en presencia de iones calcio, dando lugar a estructuras más firmes y resistentes. Así, diversas frutas registran mejoras en el mantenimiento de la textura cuando se escaldan a temperaturas que refuerzan la actividad de la PME endógena o exógena, como por ejemplo manzana (Valle-del *et al.*, 1999; Degraeve *et al.*, 2003) fresas, frambuesas, (Degraeve *et al.*, 2003) melocotones, (Javeri *et al.*, 1991) y cerezas (Alonso *et al.*, 1995 y 1997).

El almidón, como componente sólido mayoritario de algunas frutas verdes, también juega un papel relevante en los cambios de textura, cuando éstas son sometidas a tratamientos térmicos. Durante el calentamiento tiene lugar la gelatinización del almidón y su retrogradación y la unión, mediante los iones calcio, de los residuos del ácido urónico de las cadenas de pectinas en las paredes celulares y en la lamina media (Verlinden *et al.*, 2000)

Como se ha detallado, la relación entre la actividad de la PME y la firmeza es inherentemente compleja (Tijskens *et al.*, 1999), ya que es dependiente de las condiciones de operación tiempo-temperatura. En general se puede decir que durante el escalado y procesado, la actividad PME aumenta la firmeza del producto final (esterilizado o pasteurizado) (Klein *et al.*, 1995; McFeeters *et al.*, 1985; Wu y Chang, 1990). Sin embargo, durante el almacenamiento de fruta y hortalizas enteras escaldadas frescas, la PME parece no afectar a la firmeza (Awad y Young, 1979; Jen y Robinson, 1984), o bien, es la causante de una pequeña disminución (Wiley, 1994).

El mecanismo de mantenimiento de la firmeza debido a la reducción del pH, ha sido escasamente estudiado en comparación con el mecanismo de actuación del calcio (Stanley *et al.*, 1995). Los datos disponibles indican que el ablandamiento de los tejidos vegetales es muy rápido en medios neutros y en medios muy ácidos, encontrándose un mínimo de pérdida de firmeza y rigidez en la región de pH alrededor de 4 (Doesburg, 1961).

Sterling (1968) analizó el comportamiento de la textura en zanahorias cocidas a distintos valores de pH entre 3.0 y 8.0, concluyendo que la firmeza del tejido decrece linealmente con el incremento del pH. Observaciones al microscopio mostraron que a pH's bajos, las células parenquimáticas se mantienen unidas y presentan una estructura hermética entre ellas, mientras que a pH's altos las células se separan y la estructura se colapsa. Efectos similares fueron observados en el grado de solubilidad y en la fuerza de geles de pectina (Sterling, 1968). Van Buren *et al.* (1988), también encontraron que el incremento de pH en el rango de 4.0 a 7.0 dio lugar a una disminución de la firmeza en guisantes cocidos. Este efecto también puede minimizarse mediante la adición de cationes monovalentes, como el sodio, en el agua de cocción, evitando así la formación de pectatos cálcicos que confieren rigidez a las paredes celulares (Primo, 1997).

I.1.1.2 Cambios que provoca el escaldado en el color

Existen numerosos trabajos donde se estudian los beneficios encontrados en el mantenimiento o mejora del color original de frutas y hortalizas, como consecuencia de la aplicación de tratamientos de escaldado. Así, Agblor y Scanlon (2000) encontraron que tratamientos de escaldado con altas temperaturas y tiempos cortos incrementaron la luminosidad de patatas. Howard *et al.*, (1994) concluyen que el escaldado con vapor retarda la decoloración de zanahorias mínimamente procesadas, manteniendo el índice de blancura, reduciendo la producción de compuestos fenólicos y la formación de lignina, además de inactivar a las enzimas PAL y POD. También se ha estudiado el efecto que produce el escaldado sobre el color, cuando éste es utilizado como pretratamiento a la deshidratación osmótica. Así, Moreno *et al.*, (2000) no encontraron diferencias en la luminosidad (L^*) y tono (h_{ab}^*) de fresas MP, cuando fueron tratadas con vapor o microondas utilizado como pretratamiento a la deshidratación osmótica. Sin embargo, el croma (C_{ab}^*) sí que disminuyó significativamente como consecuencia del tratamiento. Krokida *et al.*, (2000) concluyeron que el pretratamiento de escaldado, en agua o vapor, mantuvo una alta calidad en el color de patatas durante el secado por aire caliente, permaneciendo los valores L^* , a^* y b^* constantes o con poca variación, con respecto a muestras no tratadas. Por otro lado, de Ancos *et al.*, (1999) no encontraron diferencias significativas en el color de varias frutas (kiwi, papaya y fresa) escaldadas con microondas (475kW durante 30 a 60s) con respecto al original, consiguiéndose una reducción enzimática del 75%. Kidmose y Martens (1999) concluyen que la aplicación de una potencia de microondas de 10kW en rodajas de zanahorias disminuye la pérdida de carotenos y azúcares, frente al escaldado convencional.

I.1.1.2.1 Evaluación del color

Varios son los factores responsables de la alteración del color durante el procesado de los alimentos. Entre éstos se incluyen los fenómenos de

pardeamiento enzimático y/o no enzimático, las condiciones de procesado y almacenamiento como pH, acidez, temperatura y el material del envase (Ahmed y Shivhare, 2001a y 2001b), entre otros.

El color es posible expresarlo en variables que se corresponden con la percepción de la visión del ser humano. Los métodos objetivos más utilizados para la medición del color se basan en la técnica de reflectometría de luz visible o colorimetría triestímulo, y para ello, se utilizan espectrofotómetros y espectrocolorímetros. Estos equipos permiten la obtención de las coordenadas triestímulo XYZ definidas por la CIE (*Comisión Internationale de l'Eclairage*) en el año 1931 con el fin de normalizar la medición del color. La CIE, en el año 1971, propuso un nuevo espacio cromático (CIE-L*a*b*) que incluía coordenadas cilíndricas y rectangulares, en un espacio de color uniforme. El sistema CIE-L*a*b* es empleado frecuentemente como un método versátil y fiable para evaluar el color de frutas y hortalizas, así como también los cambios ocurridos durante su maduración, procesamiento, almacenamiento, etc.

I.1.1.3 El escaldado y los productos mínimamente procesados.

El escaldado es generalmente aplicado como pretratamiento para promover la calidad de ciertos productos con destino a ser deshidratados por aire caliente (Maté *et al.*, 1998), por deshidratación osmótica (Moreno *et al.*, 2000), cocción (Verlinden *et al.*, 2000) o congelación, y recientemente, se estudia su aplicación bajo ciertas condiciones de operación para productos MP (Mayer-Miebach *et al.*, 2003a y 2003b; Howard *et al.*, 1994).

Se considera que la aplicación del escaldado a productos MP causa una disminución de la tasa de respiración, más no un cese de ésta (Barrett y Theerakulkait, 1995). Por lo tanto, los productos MP escaldados pueden conservar su calidad y seguridad higiénica durante mayor tiempo, una o dos semanas de almacenamiento en refrigeración, o durante uno o dos años de almacenamiento en congelación.

Uno de los efectos de mayor importancia promovidos durante el escaldado de productos MP es la salida del aire y de otros gases de los espacios intercelulares de los tejidos, con lo que se reduce el potencial de los vegetales a llevar a cabo reacciones de oxidación.

I.2 INTERÉS Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO

Las variables de procesado pH, temperatura y disponibilidad de oxígeno, son factores determinantes en la velocidad del pardeamiento enzimático. Por tal motivo se procedió a formular tratamientos combinados que incluyeran algunas de estas variables anteriormente mencionadas. Se integraron dos tipos de tratamientos, basándose su actuación en las siguientes reflexiones: (i) La PPO es considerada como una enzima de baja termoestabilidad, a pesar de que existen marcadas diferencias según la especie vegetal de la cual se trate (Zawistowski *et al.*, 1991), siendo temperaturas superiores a 50°C, junto con un tiempo adecuado de tratamiento, las que permiten una disminución en su actividad (Schwimmer, 1981) y a 80°C, su completa destrucción (Vámos-Vigyázó, 1981). (ii) El pH óptimo de actuación varía con la procedencia de la enzima y del substrato en una amplia gama. Sin embargo, en la mayoría los casos, el intervalo de pH óptimo está comprendido entre 4 y 7. La mayor parte de los estudios en extractos de PPO de distintas variedades de pera muestra el pH óptimo en 4.3, 5.0, 5.5, 5.6 - 5.9 para las variedades *Blanquilla*, *Bosc*, *Red*, y *d'Anjou*, respectivamente (Espin *et al.*, 1997; Siddiq *et al.*, 1993; Smith y Montgomery, 1985). (iii) El ablandamiento de los tejidos vegetales disminuye significativamente mediante la reducción del pH del tejido antes del tratamiento térmico (Walter *et al.*, 1992). (iv) La inmersión del producto en agua durante la operación de escaldado da lugar a la pérdida de componentes solubles del producto y a una hidratación del mismo; en este sentido, la utilización de medios isotónicos supondrá una minimización de algunos de estos efectos (Selman, 1992). (v) Diversos autores (Primo, 1997; Cheftel y Cheftel, 1992)

mencionan que durante la inmersión de frutas en agua o en soluciones de sacarosa, después del pelado y corte, se limita el contacto con el oxígeno y la penetración del mismo en el tejido. Y por último, (vi) Las células abiertas del tejido durante el corte experimentan un lavado durante la inmersión de las enzimas y sustratos responsables del pardeamiento.

El objetivo general de este trabajo es analizar y comparar la efectividad de los tratamientos térmicos aplicados con vapor y por inmersión en disolución acuosa a 87°C en el control del pardeamiento enzimático de pera mínimamente procesada (MP) var. *Blanquilla*, previamente tratada con ácido cítrico.

Para lograr este objetivo general, se establecieron los siguientes objetivos específicos: (i) Estudio y evaluación de los cambios registrados en el color de las muestras por la aplicación de los tratamientos. (ii) Análisis del efecto de los tratamientos aplicados en las propiedades mecánicas del tejido. (iii) Estudio de la estabilidad del color de las muestras tratadas durante el almacenamiento en refrigeración y en congelación.

I.3 MATERIALES Y METODOS

I.3.1 Materia prima

La fruta empleada en todas las experiencias que componen este trabajo fue pera (*Pyrus communis* L) variedad *Blanquilla* procedente de Lleida, España, de calibre mínimo 60 mm y de categoría Extra (según los Reglamentos (CEE) N°. 487/90 y 888/97). Las peras fueron adquiridas en varios lotes en un supermercado local, conservándose desde el momento de la compra y hasta su procesado en una cámara frigorífica a 4°C (COPELAN, Modelo de AT41/DKSJ150)

I.3.2 Obtención de las muestras

Las peras fueron lavadas con agua clorada (100ppm) durante 5 min y posteriormente se eliminaron los casquetes superior e inferior de las peras, correspondientes al pedúnculo y a la base. Con ayuda de un pie de rey digital electrónico y un cuchillo de acero inoxidable, se cortó transversalmente la pera, obteniéndose tres secciones de 2 cm de altura. Las peras cuyas secciones mostraron aspectos anómalos, tales como pardeamientos internos, pulpa anormalmente traslúcida o algún otro tipo de desorden fisiológico, fueron descartadas. De cada sección, se extrajeron cilindros de 2 cm de diámetro por medio de un sacabocados.

Para las determinaciones efectuadas fueron utilizadas 11 peras, de las cuales se obtuvieron 121 muestras (11 cilindros por pera), de tal forma que fue posible evaluar el efecto de los diferentes tiempos de exposición a los tratamientos aplicados en una misma pera, para facilitar las comparaciones, realizándose repeticiones de los mismos en diferentes peras.

I.3.3 Soluciones empleadas

Para los tratamientos se emplearon dos tipos de soluciones, denominadas: solución I que contenía ácido cítrico anhidro (PRS Panreac, Barcelona) al 5% p/p, y la solución II que contenía 17°Bx de sacarosa comercial y 0.5% p/p de ácido cítrico anhidro (PRS Panreac, Barcelona).

I.3.4 Aplicación de los tratamientos

Las muestras cilíndricas fueron sometidas a dos tratamientos combinados, denominados vapor (V) e inmersión (I), en tres etapas (1 a 3), según muestra la Tabla I.3.1. En el tratamiento denominado vapor, las muestras fueron sumergidas en la solución I a 25°C durante tres minutos y posteriormente, expuestas a una corriente de vapor saturado, generado por un autoclave

(Autester Selecta, Modelo 437-G) durante un tiempo máximo de 3 minutos (Tabla I.3.1). Para el tratamiento inmersión, las muestras fueron sumergidas en la solución II a 25°C durante tres minutos y posteriormente en la misma solución a 87°C, manteniendo la temperatura constante en un baño termostataado con agitación (Selecta, Modelo PrecisTerm), utilizando los tiempos especificados en la Tabla I.3.1.

Tabla I.3.1. Esquema de las condiciones de operación para cada tratamiento aplicado.

Tratamiento	1 Pre-inmersión	2 Aplicación de calor	3 Enfriamiento
Vapor (V)	Solución I* 25°C t=3min	Corriente vapor t= 0, 40, 60, 120 y 180 s	Solución I (pH 2.0) 0°C t= 3min
Inmersión (I)	Solución II** 25°C t=3min	Inmersión en Sol. II a 87°C t= 0, 40, 60, 120 y 180 s	Solución II (pH 3.5) 0°C t= 3min

(*)Solución I: ácido cítrico anhidro purísimo 5% p/p.

(**)Solución II: sacarosa comercial con 17°Bx y 0.5% p/p de ácido cítrico.

Tras el tratamiento térmico, las muestras fueron enfriadas en su solución correspondiente, a la temperatura de 0°C durante tres minutos.

Una vez sometidas las muestras a los diferentes tratamientos, fueron analizadas inmediatamente y tras su almacenamiento en refrigeración a 4°C durante 24h y después de 1 mes de almacenamiento en congelación. Las muestras fueron almacenadas en bolsas de polietileno de alta densidad (PEHD) con cierre de seguridad suministradas por DeltaLab®.

Las condiciones de congelación fueron: congelación hasta -40°C a una velocidad 2.1°C min⁻¹ (congelador DYCOMETAL S.L Modelo ACR-45/87) y posterior almacenamiento a -18°C. La descongelación previa al análisis se realizó en cámara a 4°C durante 10h.

I.3.5 Análisis físicos

I.3.5.1 Determinación del color

El color de muestras cilíndricas se midió por reflexión con un espectrocolorímetro (Modelo CM-1000 Minolta Camera CO.LTD Japón), previa

calibración, utilizando como sistema de referencia al iluminante D65/observador 10°. A partir del espectro de reflexión de las muestras se obtuvieron las coordenadas rectangulares CIE-L*a*b*, donde L* es la luminosidad (0, negro; 100, blanco), y a* indica la proporción de componente rojo-verde en el color medido, para valores positivo y negativo respectivamente y, de forma similar, b*, para el componente amarillo-azul. A partir de estas coordenadas se calcularon mediante las ecuaciones I.1 y I.2, las coordenadas cilíndricas croma (C_{ab}*), que indica la intensidad o saturación del color y tono (h_{ab}*), donde 0° (ó 360°) indica coloraciones rojo-púrpura, 90° amarillas, 180° verdes y 270° azules (Hutchings, 1999). Así mismo, se calculó la diferencia del color (ΔE^*) entre las muestras tratadas ó almacenadas con respecto a muestras control, mediante la ecuación I.3.

Las mediciones se realizaron por triplicado sobre una de las superficies planas de las muestras cilíndricas.

$$C_{ab}^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (\text{Ec. I.1})$$

$$h_{ab}^* = \tan^{-1} (b^* / a^*) \quad (\text{Ec. I.2})$$

$$\Delta E^* = \sqrt{(L_1^* - L_0^*)^2 + (a_1^* - a_0^*)^2 + (b_1^* - b_0^*)^2} \quad (\text{Ec. I.3})$$

(1) Valor de muestras tratadas o almacenadas

(0) Valor de muestras control

I.3.5.2 Determinación de las propiedades mecánicas

Se realizó un ensayo de compresión simple uniaxial, a temperatura ambiente (22°C) aplicando una deformación máxima del 80% a las muestras cilíndricas (2 cm diámetro y 2 cm de altura), con una velocidad de avance de 1 mm s⁻¹. El equipo utilizado fue una prensa universal (Stable Micro Systems Modelo TA-XT2, Inglaterra) con una célula de carga de 250 N y un émbolo plano de 75 mm de diámetro. Las curvas obtenidas fuerza-distancia, se transformaron en curvas tensión-deformación de Hencky (Peleg, 1979),

mediante las ecuaciones I.4 y I.5 respectivamente. Las mediciones se realizaron en todos los casos por cuadruplicado.

La tensión de compresión $\sigma(t)$ fue calculada considerando que el volumen de la muestra permanece constante durante el ensayo (Peleg, 1983), según la ecuación I.4:

$$s(t) = \frac{F(t)}{A(t)} = \frac{F(t)}{(\pi \cdot r_0^2 \cdot h_0)} (h_0 - d(t)) \quad (\text{Ec. I.4})$$

donde $F(t)$ es la fuerza de la compresión a tiempo t , en N; $A(t)$ es la superficie de la muestra en contacto con el émbolo de la prensa a tiempo t , en m^2 y r_0 es el radio inicial de las muestras, en m

La deformación se calculó a partir de la ecuación I.5:

$$\epsilon_H = \ln \frac{h_0}{h_0 - d(t)} \quad (\text{Ec. I.5})$$

donde ϵ_H es la deformación de Hencky, h_0 es la altura inicial de las muestras en mm y $d(t)$ la variación de la altura de la muestra en mm a cada tiempo del ensayo de compresión.

Los valores $\sigma(t)$ y ϵ_H obtenidos fueron representados (Figura I.3.1), y a partir de las curvas, se obtuvieron los siguientes parámetros mecánicos: el módulo de deformabilidad o elástico (E_d), correspondiente a la pendiente de la zona lineal de la curva, como indicador de la rigidez de la muestra; la tensión de fractura (σ_F), determinada a partir del punto de la curva donde la tensión es máxima y a partir del cual la curva empieza a caer, relacionado con la dureza de las muestras y con su resistencia a la fractura; la deformación de fractura (ϵ_{HF}) relacionada con la capacidad de la muestra para ser deformada antes de la fractura, que es determinada en el punto de σ_F ; y por último, los límites lineales de tensión (σ_L) y de deformación (ϵ_{HL}), que se corresponden con los puntos finales del primer tramo lineal de la curva que indican la resistencia límite de la muestra a la deformación elástica.

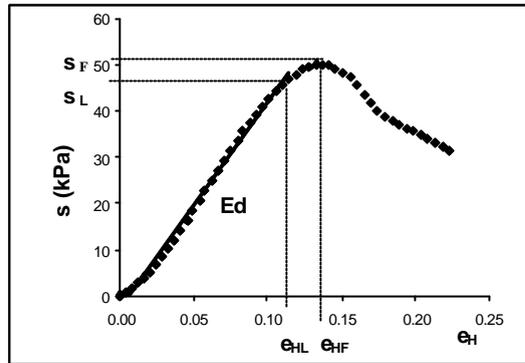


Figura I.3.1 Curva general del comportamiento de muestras cilíndricas de pera sometidas a una compresión uniaxial con una velocidad de 1 mm s^{-1} (Adaptado de Chiralt *et al.*, 2001)

I.3.6 Análisis estadísticos

El análisis estadístico de los datos se realizó a través del análisis de la varianza, utilizando un nivel de confianza del 95%, analizando la homogeneidad de las muestras con un test (ANOVA) LSD. Los cálculos correspondientes se efectuaron con el programa estadístico Statgraphics® Plus en su versión 5.1 para *Windows*.

I.4 RESULTADOS Y DISCUSION

I.4.1 Caracterización de la materia prima

Para caracterizar el color y las propiedades mecánicas de la materia prima se utilizaron los parámetros descritos en la Tabla I.4.1, donde se muestran los valores medios y desviaciones obtenidas.

El color fue definido por cinco coordenadas (L^* , a^* , b^* , h_{ab}^* y C_{ab}^*), frecuentemente utilizadas en materiales vegetales (Voss, 1992). El color del

mesocarpio de las peras presenta una luminosidad elevada, alrededor de 70, donde el blanco ideal viene dado por el valor de 100. La cromaticidad a^* es ligeramente negativa, denotando cierta coloración verdosa y el tono es superior a 95° , lo que indica tonalidades amarillo-verdosas. Los valores de b^* y de croma son muy similares debido al pequeño valor de a^* .

Tabla I.4.1. Color y propiedades mecánicas de las muestras control

Parámetros Cromáticos ^X				
L^*	a^*	b^*	C_{ab}^*	h_{ab}^*
70.3±1.5	-1.4±0.2	11.4±0.9	11.5±0.9	97.0±0.9
Parámetros Mecánicos ^Y				
s_L (kPa)	e_{HL}	s_F (kPa)	e_{HF}	Ed (kPa)
46±3	0.08±0.03	51±3	0.09±0.03	644±233

x media de siete determinaciones
y media de cuatro determinaciones

En cuanto a las propiedades mecánicas, éstas tienen siempre como finalidad estimar o evaluar la magnitud de algún aspecto relacionado con la textura de los alimentos. En la determinación de la textura, uno de los puntos importantes es determinar cómo y cuándo se rompe el alimento (Bourne, 1975). En frutas, la firmeza y dureza son los indicadores más importantes de calidad (Dewolf, 1999). La dureza es la máxima fuerza producida en la compresión de las muestras antes de la fractura. A partir del análisis de las curvas fuerza-distancia de un ensayo de compresión, se pueden obtener parámetros relacionados con las sensaciones percibidas durante la masticación (Rizvi y Tong, 1997). En las curvas registradas de la compresión uniaxial de las muestras, la fuerza máxima registrada fue de 15 ± 2 N para la materia prima (Anexo I, Figura AI.1.1). La materia prima mostró una conducta muy reproducible a la compresión mecánica, registrándose desviaciones en los parámetros relativamente bajas (Tabla I.4.1). Al comparar los valores de los parámetros mecánicos obtenidos para pera var. *Blanquilla* con otras frutas encontradas en la bibliografía, se pone de manifiesto la mayor dureza y rigidez

de esta fruta frente, por ejemplo, al kiwi y mango, con valores de tensión de fractura y modulo de rigidez de 31kPa y 200 kPa para el kiwi y 20-40kPa y 10-300 kPa para el mango, respectivamente (Chiralt *et al.*, 2001). De igual forma, las deformaciones de fractura para estas frutas son bastante superiores (alrededor de 0.2-0.6) a la de la pera, que rompe a deformaciones cercanas al 1%.

Las figuras AI.2 y AI.3 del anexo muestran las curvas tensión-deformación de la materia prima y de las muestras tratadas por vapor e inmersión, respectivamente. Ambos gráficos muestran, en la curva correspondiente a la muestra fresca, el comportamiento típico observado en frutas sometidas a un ensayo de compresión, con un primer tramo lineal y un punto máximo donde tiene lugar la fractura. La aplicación de los tratamientos da lugar a un descenso en las relaciones esfuerzo-deformación, mostrando el ablandamiento del tejido producido por la pérdida de turgencia celular.

I.4.2 Efecto del escaldado en las muestras

I.4.2.1 Cambios en el color

Existen numerosos trabajos en la bibliografía que analizan los cambios producidos en los parámetros L^* y a^* para evaluar el pardeamiento en tejidos vegetales con mesocarpio blanco-luminoso como son manzana, pera, patata y melón, entre otros (Burda *et al.*, 1990; Sapers *et al.*, 1990; Goupy *et al.*, 1995). Rocha *et al.*, (1998); Rocha y Morais (2003). Sapers y Douglas (1987) recomiendan el empleo de estos parámetros para evaluar el pardeamiento enzimático en rodajas de manzana.

Para analizar cómo afectan los tratamientos al color de las muestras, en las Figuras I.4.1 y I.4.2 se han representado los valores obtenidos para cada una durante los tratamientos de inmersión y vapor en los planos cromáticos b^* vs. a^* y L^* vs. a^* . Se puede observar que ambos tratamientos provocaron alteraciones de color similares en las muestras, donde un mayor tiempo de

exposición al tratamiento térmico dio lugar a un mayor descenso en la luminosidad L^* y coloraciones más amarillentas, menos verdosas (mayor a^*). Este desarrollo de la coloración fue mas acusada a tiempos largos de tratamiento, ya que a tiempos menores de 40s no se observaron diferencias significativas entre las muestras, para ambos tipos de tratamiento. La caída acusada en los valores de L^* a medida que se incrementa el tiempo de exposición resultó ser de carácter significativo para ambos tratamientos, pasando de valores iniciales ($t=0s$) 68.6 ± 1.1 y 69.3 ± 1.4 , a valores finales ($t=180s$) 60.5 ± 2.2 y 56.9 ± 2.3 para los tratamientos de V e I, respectivamente. Dado que la coordenada L^* cuantifica la luminosidad, el descenso de este parámetro puede tomarse como un indicador del grado de oscurecimiento de las muestras, y por tanto, como una medida del avance del pardeamiento (Labuza *et al.*, 1990). No obstante, también este descenso esta relacionado con el desarrollo de translucidez en las muestras, como resultado de la pérdida de gas provocada por el escaldado (Selman, 1992; Chiralt, 2002). Otros autores (Chafer *et al.*, 2003), también señalaron un descenso en la luminosidad de pera *var. Blanquilla*, al aplicar un tratamiento de escaldado con vapor durante 1 min como pretratamiento a la deshidratación osmótica.

La coordenada a^* también es adecuada para evaluar el pardeamiento (Castañer *et al.*, 1996), por evaluar el cambio verde-rojo. En las Figuras I.4.4 y I.4.5 se observa como a^* tiende a aumentar con el tiempo de tratamiento, partiendo de valores negativos para las muestras con tratamiento de pre-inmersión pero no tratadas térmicamente ($t=0s$) hasta alcanzar el valor máximo positivo (~ 1.0) en las muestras escaldadas 180s. Los valores tomados por a^* indican la evolución del tono desde un amarillo-verdoso a más amarillo, lo cual puede estar relacionado, en parte, con el efecto desgasificante del tratamiento térmico y su influencia en los valores de reflectancia.

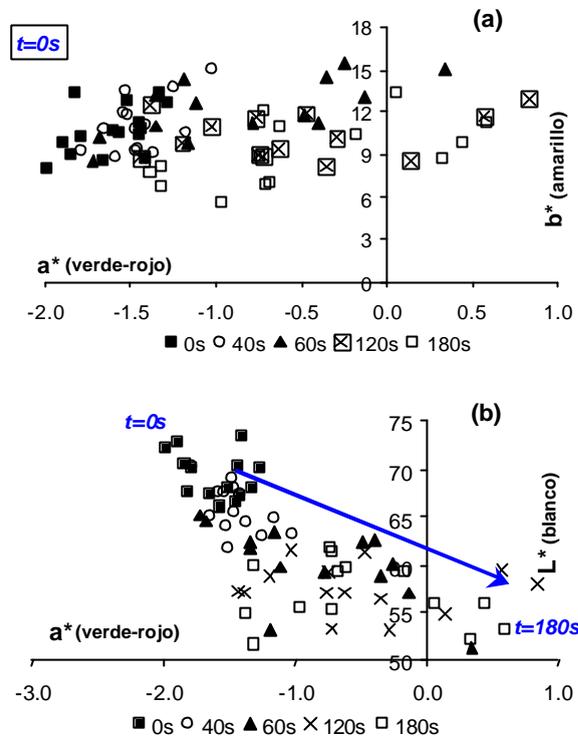
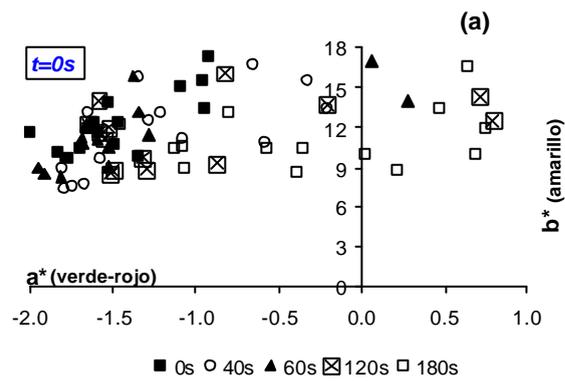


Figura I.4.1 Representación de las coordenadas cromáticas b^* vs. a^* (a) y L^* vs. a^* (b) de las muestras escaldadas por inmersión, a los diferentes tiempos de tratamiento.



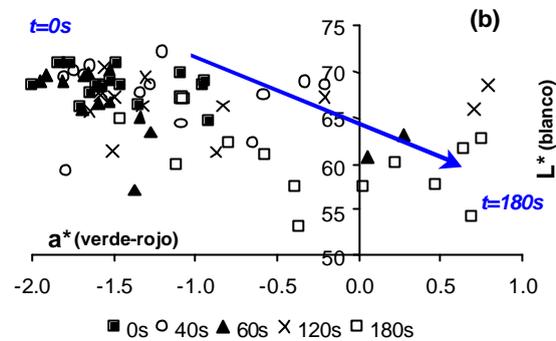


Figura I.4.2 Representación de las coordenadas cromáticas b^* vs. a^* (a) y L^* vs. a^* (b) de las muestras escaldadas con vapor, a los diferentes tiempos de tratamiento.

La variación del parámetro b^* no fue tan marcada como en el caso del parámetro cromático a^* , registrándose una ligera disminución con el tiempo de tratamiento. Así, para el tratamiento vapor, la variación del parámetro b^* con el tiempo de tratamiento no resultó significativa, tomando valores medios de 12.4 ± 1.3 para el tiempo 0s y un valor de 11.1 ± 1.1 para 180s. Sin embargo, en el tratamiento de inmersión, la disminución fue significativa, desde valores de 12.3 ± 0.8 a 0s hasta 9.1 ± 1.2 a 180s.

La Figura I.4.3 ilustra como influye el tipo y el tiempo de tratamiento, en la variación de las coordenadas cilíndricas croma (C_{ab}^*) y tono (h_{ab}^*), así como en la diferencia de color (ΔE^*) con respecto a la muestras fresca. Se puede observar como disminuyen los valores de h_{bb}^* a medida que avanza el tiempo de tratamiento, en coherencia con la aparición de tonalidades más amarillentas. Para el tratamiento V, dicha disminución fue significativa a partir de 120s de tratamiento (Tabla AI.1, del Anexo I). Para el tratamiento I, los cambios significativos se dan a tiempos menores ($t=60s$).

Los valores de C_{ab}^* cambiaron muy ligeramente, tendiendo hacia colores un poco menos puros o saturados ($\Delta C_{ab}^* < 0$) cuando aumenta el tiempo de exposición. Para el tratamiento V, no se registraron diferencias significativas a

lo largo del tiempo de tratamiento. En el tratamiento I, se observaron cambios en el croma más acusados y con efecto significativo del tiempo de tratamiento (Anexo I, Tablas IA.1.1 y IA.1.2). Diversos trabajos encontrados en la bibliografía, muestran observaciones similares en productos vegetales como consecuencia del tratamiento térmico en kiwi (Maskan, 2001), puré de plátano (Palou *et al.*, 1999) y pasta de tomate (Barreiro *et al.*, 1997).

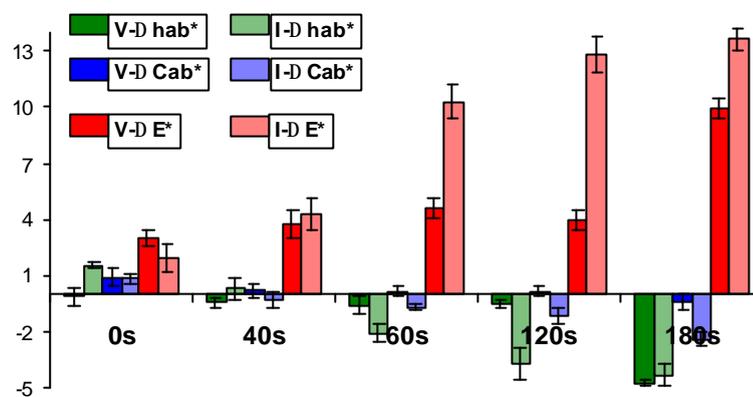


Figura I.4.3 Cambios en tono, pureza y diferencia de color ocasionados en las muestras por los tratamientos con vapor e inmersión a diferentes tiempos de exposición.

Uno de los mejores parámetros para describir la variación del color es la diferencia de color (ΔE^*), ya que refleja el cambio total en todos los parámetros L^* , a^* y b^* (Ec.1.3). Como se muestra en la Figura I.4.3, la diferencia de color entre las muestras tratadas y las muestras control aumenta significativamente con el tiempo de exposición, para ambos tratamientos (Tablas AI.1 y AI.2, del Anexo I). Dado que ΔE^* es >1 , en la mayoría de los casos, los cambios ocurridos fueron perceptibles visualmente (Moreno *et al.*, 2000). Para ambos tratamientos, se obtuvo una diferencia máxima de color a 180s de exposición, registrando valores de 9.9 ± 0.5 para V y 13.6 ± 0.6 para I. Las menores ΔE^* se producen con tiempos de exposición cortos ($t < 40s$) en el caso de inmersión, y menores de 120s, en el tratamiento con vapor.

Al aplicar a los diferentes parámetros de color un ANOVA multifactor (tiempo y tipo de tratamiento) se observaron diferencias significativas no sólo debidas al tiempo (ya comentadas anteriormente) sino también debidas al tipo de tratamiento, detectándose interacciones significativas tipo tratamiento-tiempo (Tabla AI.3, del Anexo I), lo cual es coherente con lo comentado acerca del mayor impacto en el color del tratamiento de inmersión. Por consiguiente, el efecto del tiempo en las coordenadas se analizó en términos cinéticos de forma independiente para cada tratamiento.

Diversos autores confirman que el uso del escaldado por inmersión es mucho más agresivo, ya que ocasiona una mayor pérdida de constituyentes del tejido vegetal, tales como vitamina C en guisantes y espinacas, carotenos en pimientos y zanahorias y sustancias pecticas en patatas (Selman, 1992), junto con efectos de cocción, desarrollo de reacciones de pardeamiento no enzimático resultantes del contacto directo de las muestras con la solución a temperatura elevada (Ashie *et al.*, 1996), penetración de solución por capilaridad cerca de la superficie de la muestra y desgasificación del tejido (Chiralt, 2002).

I.4.2.1.1 Cinética de los cambios de color

La mayoría de las transformaciones de los pigmentos vegetales en el tejido vegetal, durante la aplicación de tratamientos térmicos, son generalmente ajustables a cinéticas de primer orden (Hutchings, 1999). Para determinar la velocidad de los cambios en el color debido al tiempo de exposición a los tratamientos térmicos de vapor e inmersión, se ajustaron los datos a un modelo de primer orden definido por la ecuación I.6

$$\ln(C/C_0) = \pm K_t \cdot t_t \quad (\text{Ec. I.6})$$

donde C es el parámetro a evaluar, C_0 es el valor inicial correspondiente, K_t es la constante de velocidad del cambio (s^{-1}) para cada parámetro, t_t es el

tiempo de exposición al tratamiento (s), y los signos positivo/negativo indican la formación o degradación de la variable estudiada.

En el presente estudio, las variaciones de L^* y de h_{ab}^* con el tiempo de tratamiento fueron ajustadas al modelo cinético de primer orden mencionado anteriormente, ya que fueron las variables en las que se registraron los cambios más importantes. Ibarz *et al.*, (1999) y Lozano y Ibarz (1997) aplicaron el mismo modelo para la pérdida de L^* en purés de pera, manzana, melocotón y ciruela tratados térmicamente. Los valores de los parámetros cinéticos obtenidos de este ajuste se muestran en la Tabla I.4.2, siendo significativos a un nivel de confianza del 95%. Como se puede observar, existen diferencias significativas entre las constantes cinéticas que definen el cambio en los parámetros L^* y h_{ab}^* , siendo los valores significativamente más altos en el caso del cambio de L^* y h_{ab}^* para los tratamientos de inmersión.

Tabla I.4.2 Constantes cinéticas y coeficientes de correlación encontrados para el modelo de primer orden para los parámetros de color X, Y .

Tratamiento	Parámetro	K_t ($10^4; s^{-1}$)	R^2
Inmersión	L^*	-6.8 ± 0.6^a	0.9230
Vapor		-14.1 ± 1.4^b	0.9601
Inmersión	h_{ab}^*	-4.7 ± 0.7^a	0.9740
Vapor		-3.0 ± 0.2^b	0.9512

x media de tres determinaciones
y letras diferentes expresan diferencias significativas ($p < 0.05$)

La Figura I.4.4 muestra los puntos experimentales junto con el ajuste realizado, utilizando las constantes cinéticas de la Tabla 14.2, donde queda reflejado la bondad de los ajustes. El tratamiento de inmersión presentó las velocidades de pérdida de L^* , más altas coherentemente con lo comentado anteriormente acerca del mayor efecto del tratamiento de inmersión. Esto puede explicarse por el mayor incremento en translucidez provocado por el tratamiento de inmersión en medio líquido. En este como además de la desgasificación inducida por la expansión térmica del gas intercelular, se

produce la entrada capilar del líquido externo en el tejido. Esto comporta una mayor homogeneidad del índice de refracción en la zona externa del tejido, aumentando la transparencia de la misma y la disminución de la reflexión lo que tiene mayor impacto sobre la coordenada L^* .

Con lo que respecta a h_{ab}^* se tiene que ambos tratamientos comportaron un cambio de tonalidades amarillo-verdosas a amarillas ($\approx 90^\circ$). El tratamiento inmersión presentó mayores velocidades de cambio, lo que indujo a un mayor y rápido amarilleo de las muestras.

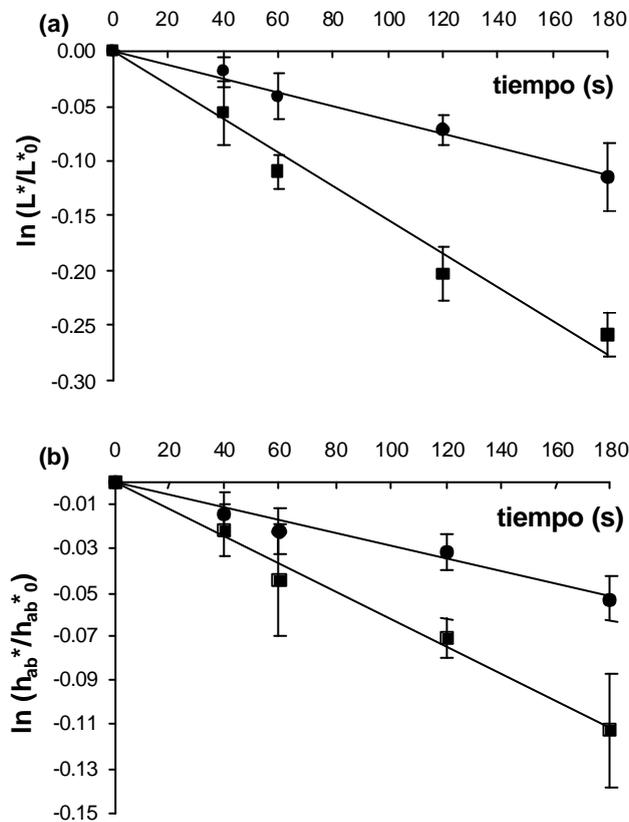


Figura I.4.4 Ajuste del modelo cinético de primer orden de los parámetros L^* (a) y h_{ab}^* (b), para los tratamientos de vapor e inmersión, I-0d (■); V-0d (●).

I.4.2.2 Cambios en los parámetros mecánicos

En muchos casos, cuando se estudian cambios en la textura durante el ablandamiento del tejido vegetal, se utiliza sólo un parámetro mecánico. A menudo dicha propiedad se basa en la fuerza máxima, obtenida mediante un ensayo de compresión relacionado con la dureza del producto (Huang y Bourne, 1983). Se puede decir que, en general, la respuesta del tejido vegetal a la compresión mecánica muestra un patrón típico (Figura I.3.1) dado por una relación de tensión-deformación, que es lineal al inicio (respuesta elástica) hasta un nivel de la deformación crítico y que presenta desviación de la linealidad y cambio brusco cuando en el material comienzan los fenómenos de ruptura. Los valores de tensión (σ_F) y deformación (ϵ_{HF}) obtenidos en el ensayo en el punto máximo o de fractura dependen principalmente del turgor de los tejidos y de la forma de fractura durante compresión (Chiralt *et al.*, 2001). Numerosos autores han utilizado los parámetros mecánicos tensión (σ_F), deformación (ϵ_{HF}) y modulo de deformabilidad (E_d) para analizar los efectos producidos por los tratamientos de escaldado (vapor, agua y/o microondas) en frutas y hortalizas como patatas (Verlinden *et al.*, 2000; Maté *et al.*, 1998), espárragos (Rodríguez-Arcos *et al.*, 2002) y manzanas (Lurie y Nussinovitch, 1996), entre muchas otras.

Las Figuras AI.2 y AI.3, del Anexo I muestran las curvas típicas tensión-deformación para cada tiempo y tipo de tratamiento. Se puede observar la influencia del tiempo de tratamiento sobre las curvas, que tienden a ser más planas y con menor extensión de la parte lineal inicial. Esto está relacionado con tensiones fractura cada vez menores, que aparecen a mayores deformaciones y con una disminución en el parámetro E_d . Por otro lado, también se pueden observar diferencias importantes en el comportamiento mecánico de las muestras escaldadas por V o I frente a las no escaldadas. Dichas observaciones concuerdan con las mostradas por Verlinden *et al.*,

(2000 y 1996), los cuales concluyen que el escaldado de los tejidos vegetales provoca una pérdida en la tensión de turgencia y rigidez de los tejidos, mostrándose más flexibles y de fácil manejo mecánico.

Estos resultados se han reflejado cuantitativamente en las Tablas I.4.3 y I.4.4, que muestran los valores de los parámetros mecánicos a cada tiempo de tratamiento, para el escaldado por vapor e inmersión, respectivamente. En estas Tablas (I.4.3 y I.4.4) se observa que debido a la aplicación de los tratamientos térmicos (V o I) se produce una pérdida de la firmeza y rigidez y las muestras se vuelven más largas, es decir, fracturan a deformaciones mayores. Estas tendencias se acentúan con el incremento del tiempo de exposición de las muestras al tratamiento térmico. Es decir, a medida que aumenta el tiempo de tratamiento, las muestras se vuelven significativamente menos firmes (menor σ_F), menos rígidas (menor Ed) y más largas (mayor ϵ_{HF}) con respecto a las muestras no escaldadas. Aguilera y Stanley (1990) afirman que un calentamiento superior a 50°C provoca la pérdida de turgencia en el tejido, como consecuencia del daño producido en las membranas celulares y alteración de los mecanismos de transporte de agua. Verlinden *et al.*, (2000) también obtuvieron similares resultados al escaldar patatas en agua, observándose una disminución en la firmeza y en la fuerza máxima en comparación con muestras no escaldadas.

Tabla I.4.3 Efecto del tratamiento con Vapor en las propiedades mecánicas^{XY}

Tratamiento	σ_L (kPa)	ϵ_{HL}	σ_F (kPa)	ϵ_{HF}	Ed (kPa)
V-0s	30 ± 1 ^a	0.064 ± 0.01	35 ± 4 ^a	0.083 ± 0.006 ^a	560 ± 20 ^a
V-40s	26 ± 1 ^a	0.066 ± 0.01	28 ± 2 ^b	0.090 ± 0.029 ^a	476 ± 21 ^a
V-60s	22 ± 1 ^b	0.070 ± 0.01	25 ± 2 ^b	0.098 ± 0.005 ^a	345 ± 62 ^b
V-120s	18 ± 3 ^c	0.073 ± 0.01	20 ± 3 ^c	0.115 ± 0.018 ^a	253 ± 68 ^{bc}
V-180s	13 ± 1 ^d	0.086 ± 0.01	18 ± 3 ^c	0.183 ± 0.045 ^b	172 ± 28 ^c
ANOVA _p	0.0006	0.1890	0.0003	0.0267	0.0014

x la media de cuatro determinaciones ± derivación estándar

y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Tabla I.4.4 Efecto del tratamiento con Inmersión en las propiedades mecánicas^{XY}

Tratamiento	σ_L (kPa)	ϵ_{HL}	σ_F (kPa)	ϵ_{HF}	Ed (kPa)
I-0s	37 ± 5 ^a	0.069 ± 0.022	39 ± 3 ^a	0.083 ± 0.023 ^a	502 ± 61 ^a
I-40s	31 ± 6 ^a	0.074 ± 0.020	34 ± 6 ^a	0.098 ± 0.006 ^a	330 ± 40 ^b
I-60s	21 ± 3 ^b	0.087 ± 0.013	22 ± 1 ^b	0.106 ± 0.001 ^a	289 ± 19 ^b
I-120s	15 ± 1 ^b	0.088 ± 0.029	16 ± 2 ^b	0.138 ± 0.004 ^b	133 ± 38 ^c
I-180s	12 ± 3 ^b	0.119 ± 0.026	13 ± 3 ^b	0.162 ± 0.007 ^b	110 ± 73 ^c
ANOVA _p	0.0049	0.0549	0.0024	0.0040	0.0003

x la media de cuatro determinaciones ± derivación estándar

y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Así, para muestras escaldadas 180s, se produjo una disminución en σ_F y en Ed con respecto a las muestras 0s del 56 y 69% para V y 68 y 78% para I, respectivamente. La inmersión en la solución antipardeante correspondiente también supuso variaciones con respecto a la muestra recién cortada en las propiedades mecánicas.

El ANOVA multifactor reveló que la interacción doble tipo de tratamiento-tiempo no resultó significativa en ninguno de los casos (Tabla AI.4, del Anexo I). En cambio, el factor tiempo de exposición resultó significativo para todos los parámetros mecánicos. El factor tipo de tratamiento (V o I) fue significativo sólo en el parámetro Ed, donde las muestras escaldadas con el tratamiento V presentaron los mayores valores. Es por tanto el escaldado con vapor el que parece preservar una mejor turgencia celular y por tanto, la textura del tejido vegetal.

Resumiendo, se puede decir que los tratamientos térmicos V e I analizados en este trabajo dieron lugar a cambios indeseables en las propiedades mecánicas de las muestras, en concordancia con lo registrado por numerosos autores. Dichos cambios son responsables de cambios en la calidad del tejido vegetal, particularmente en la textura (Reeve, 1970; Lee *et al.*, 1979). Estos cambios están probablemente asociados con: (i) pérdida de la turgencia celular

resultante de la degradación térmica de las membranas celulares, (ii) separación de las células debido al adelgazamiento o a la degradación de la lamina media de las paredes celulares, (iii) expulsión del aire de los tejidos, ya que el aire que se expande debido al tratamiento térmico desde los espacios intracelulares hacia el exterior, puede causar también daños celulares (Bourne, 1987; Aguilera y Stanley, 1990).

I.4.2.2.1 Cinética de cambios de las propiedades mecánicas

La alteración de la textura del tejido vegetal, durante la aplicación de tratamientos térmicos, son generalmente ajustables a cinéticas de primer orden (Shin y Bhowmik, 1995). Al igual que en el color, la evolución de los parámetros mecánicos con el tiempo de tratamiento se ajustó a un modelo cinético de primer orden (Ec. 1.6). En las Figuras I.4.5 – I.4.7 se puede observar el ajuste de los datos experimentales, obteniéndose valores aceptables de R^2 de 0.9277 hasta 0.9881 (Tabla I.4.5). El análisis estadístico de los valores de K reveló que, las cinéticas de pérdida de rigidez (E_d) y de firmeza (σ_F) fueron significativamente diferentes dependiendo del tipo de tratamiento utilizado (Tabla I.4.5). Así, los valores fueron menores en el tratamiento V, probablemente por el menor daño en la pared celular. Esto es atribuible por un lado, a los mayores valores de los coeficientes de transferencia de calor en fase líquida, lo que llevaría a un mayor calentamiento de la muestra en el tratamiento I. Por otro lado, el medio acuoso puede solubilizar y contribuir a la degradación de compuestos de la pared celular, tales como sustancias pécticas.

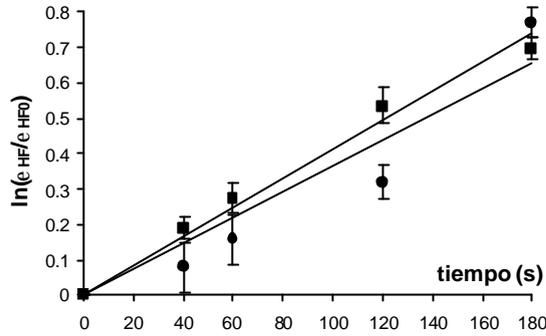


Figura I.4.5 Cinéticas de cambio de la deformación de fractura (ϵ_{HF}), en los tratamientos con vapor e inmersión, I(■) V(●).

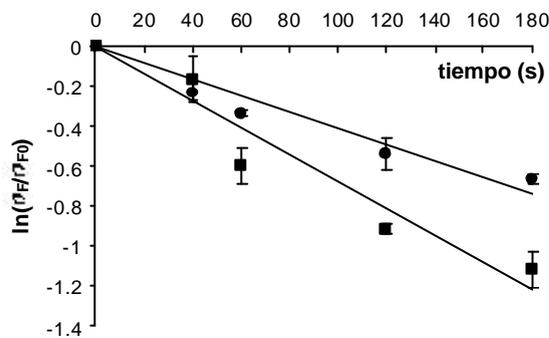


Figura I.4.6 Cinéticas de cambio de la tensión de fractura (σ_{HF}), en los tratamientos con vapor e inmersión, I(■) V(●).

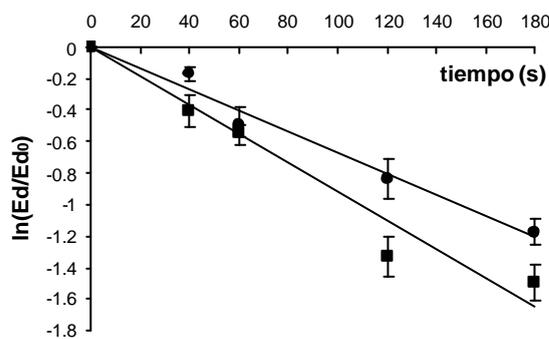


Figura I.4.7 Cinéticas de cambio del módulo de la deformación (E_d), en los tratamientos con vapor e inmersión, I(■) V(●).

Tabla I.4.5 Constantes cinéticas y coeficientes de correlación encontrados para el modelo de primer orden para los parámetros mecánicos ^{X,Y}.

Tratamiento	Parámetro	K_t ($10^3; s^{-1}$)	R^2
Vapor	e_{HF}	4.2 ± 0.6^a	0.9301
Inmersión		3.9 ± 0.8^a	0.9881
Vapor	S_F	-3.6 ± 0.6^a	0.9549
Inmersión		-6.4 ± 1.4^b	0.9277
Vapor	Ed	-6.7 ± 0.3^a	0.9765
Inmersión		-8.8 ± 1.5^b	0.9540

x media de cuatro determinaciones
y letras diferentes expresan una diferencia significativa al 95%

I.4.3 Cambios producidos en el color debido al almacenamiento

I.4.3.1 Refrigeración

La Figura I.4.8 muestra los cambios registrados en los parámetros de color de muestras tratadas como consecuencia de su almacenamiento en refrigeración durante 24h a 4°C. El almacenamiento en refrigeración provocó un ligero aumento del croma y una disminución del tono y luminosidad de las muestras, induciendo el avance del pardeamiento como consecuencia de la insuficiente inactivación enzimática lograda con los tratamientos aplicados.

No se encontraron diferencias significativas en los parámetros de color de las muestras tratadas a los diferentes tiempos mediante el tratamiento V, y en el escaldado por inmersión sólo a tiempos superiores a 120s, seguramente debido al mayor daño producido en el tejido vegetal (Anexo I, Tablas IA.1.5 y IA.1.6).

El tipo de tratamiento utilizado no influyó marcadamente en los resultados obtenidos, aunque las muestras escaldadas por inmersión presentaron los tonos más pardos, seguramente debido a la mayor severidad de este

tratamiento que puede estar potenciando una mayor descompartimentación celular y el contacto enzima-sustrato.

El menor cambio con respecto a las muestras control se registró en muestras no tratadas térmicamente, es decir, V-0s e I-0s, para los parámetros L^* , a^* , h_{bb}^* y ΔE^* , aunque las diferencias con el resto de muestras no fueron significativas. Esto sugiere que, en cierta medida, el pretratamiento de inmersión, sin escaldado posterior, consigue disminuir la actividad de la PPO durante el almacenamiento en refrigeración al limitar el contacto con el oxígeno del aire y la penetración del mismo en los tejidos, producir cierta solubilización y lixiviación del contenido celular expuesto como consecuencia del corte, y provocar los menores daños en el tejido vegetal. Además, el bajo pH utilizado en la solución (mediante la adición de ácido cítrico) también puede estar contribuyendo a reducir el pardeamiento enzimático (Ibarz *et al.*, 1997).

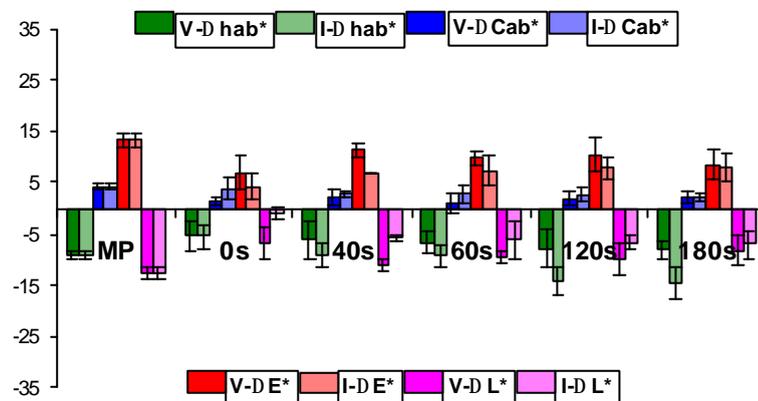


Figura I.4.8 Cambios en el tono, pureza, diferencia de color y luminosidad de muestras escaldadas durante su almacenamiento en refrigeración.

I.4.3.2 Congelación

A temperaturas de congelación la actividad de la PPO se ve disminuida, pero la descompartimentación celular producida durante la congelación-

descongelación del tejido, puede favorecer la actividad enzimática en el tejido descongelado (Cheftel y Cheftel, 1992).

La Figura I.4.9 muestra la evolución de los parámetros de color de muestras tratadas por V e I congeladas-descongeladas. Se puede observar que los cambios producidos por la congelación presentan la misma tendencia que los producidos por la refrigeración (Figura I.4.8), pero son más acusados (Anexo I, Tablas IA.1.7 y IA.1.8).

En todos los casos, las variaciones en el color fueron significativamente menores que los que presenta la muestra sin tratamiento al ser congelada-descongelada, lo cual sólo es explicado por el cierto grado de inactivación conseguido en la enzima mediante la aplicación de los tratamientos. De hecho los cambios son menores a medida que aumenta la severidad del tratamiento térmico, en coherencia con la mayor proporción de inactivación de la enzima.

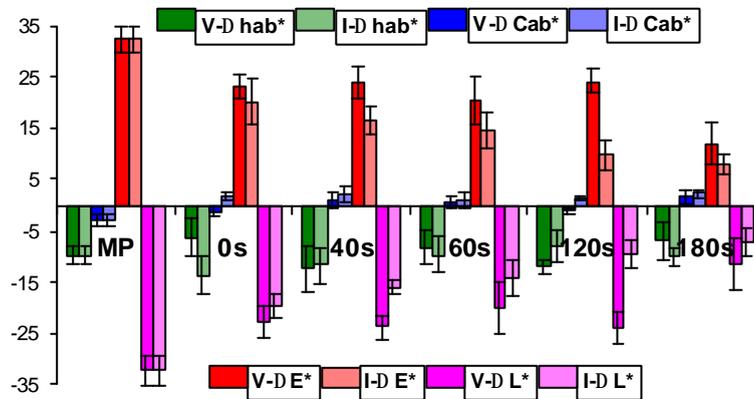


Figura I.4.9 Cambios en luminosidad, tono, pureza, diferencia de color y luminosidad de muestras escaldadas durante su congelación-descongelación.

I.5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

A partir del análisis de los resultados anteriores se han llegado a las siguientes conclusiones:

(i) Los tratamientos de escaldado por vapor e inmersión provocaron cambios significativos en las muestras tanto en el comportamiento mecánico como en el color, sobretodo cuando los tiempos de tratamiento fueron superiores a 120 s.

(ii) Debido a los tratamientos aplicados, las muestras se volvieron significativamente menos firmes, menos rígidas y más largas, cambios explicados por la pérdida de turgor celular, la salida y expansión de gases intracelulares y cambios en la estructura y composición de la pared celular. En cuanto al color, las muestras presentaron una menor luminosidad L^* y coloraciones más amarillentas.

(iii) Al comparar los dos tratamientos de escaldado (V e I), se observó que el escaldado por inmersión provocó mayores pérdidas de calidad de las muestras, en cuanto a color y textura, tanto más cuanto mayor fue el tiempo de tratamiento.

(iv) La variación de los parámetros mecánicos y de color con el tiempo de tratamiento siguió una cinética de primer orden. La velocidad de cambio de los parámetros estudiados fue mayor en el escaldado por inmersión, considerándose por tanto el tratamiento más severo.

(v) El análisis del color de las muestras escaldadas y almacenadas en refrigeración y congelación, reflejó unas tendencias de cambio similares a las provocadas por los tratamientos térmicos, incluso en las muestras sometidas a los mayores tiempos de tratamiento térmico, debido probablemente a una incompleta inactivación de la PPO.

(vi) En refrigeración, las muestras que mejor mantuvieron el color fueron las sometidas al tratamiento de pre-inmersión con solución de sacarosa y ácido cítrico sin escaldado posterior. En cambio, las muestras escaldadas

presentaron las menores variaciones de color tras su congelación-descongelación, coherentemente con una mayor inactivación de la enzima.

(vii) Resumiendo, los tratamientos aplicados de pre-inmersión y escaldado provocaron pérdidas de calidad en la apariencia y textura de la fruta tratada. Sin embargo, son recomendables en el caso de que se pretenda almacenar la fruta cortada en congelación, al minimizarse los cambios indeseables que se producen en estos tejidos.

I.6 BIBLIOGRAFIA

A

- Agblor, A.; Scanlon, M. G. (2000) Processing conditions influencing the physical properties of French fried potatoes. *Potato Research*, 43(2): 163-178.
- Aguilera, J. M.; Stanley, D. W. (1990) Microstructural principles of food processing and engineering. London ; New York : Elsevier.
- Ahmed, J.; Shivhare, U. S. (2001a) Thermal kinetics of colour change, rheology, and storage characteristics of garlic puree/paste. *Journal of Food Science*, 66(5): 754-757.
- Ahmed, J.; Shivhare, U. S. (2001b) Thermal kinetics of colour degradation and storage characteristics of onion paste. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 34(6): 380-383.
- Alonso, J.; Canet, W.; Rodriguez, T. (1997) Thermal and calcium pretreatment affects texture, pectinesterase and pectic substances of frozen sweet cherries. *Journal of Food Science*, 62(3): 511-515.
- Alonso, J.; Rodriguez, T.; Canet, W. (1995) Effect of calcium pretreatments on the texture of frozen cherries. Role of pectinesterase in the changes in the pectic materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(4): 1011-1016.
- Ashie, I. N. A.; Simpson, B. K.; Smith J. P. (1996) Mechanisms for controlling enzymatic reactions in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 36(1/2): 1-30.
- Awad, M.; Young, R. E. (1979) Postharvest variation in cellulase, polygalacturonase, and pectimethylesterase in avocado (*Persea americana* Mill, cv. Fuerte) fruits in relation to respiration and ethylene production. *Plant Physiology*, 64(2): 306-308.

B

- Barreiro, J. A.; Milano, M.; Sandoval, A. J. (1997) Kinetics of colour change of double concentrated tomato paste during thermal treatment. *Journal of Food Engineering*, 33(3/4): 359-371.
- Barrett, D. M.; Theerakulkait, C. (1995) Quality indicators in blanched, frozen, stored vegetables. *Food Technology*, 49(1): 62, 64-65.
- Bolin, H. R. (1992) Retardation of surface lignification on fresh peeled carrots. *Journal of Food Processing and Preservation*, 16(2): 99-104.
- Bolin, H. R.; Huxsoll, C. C. (1991) Control of minimally processed carrot (*Daucus carota*) surface discoloration caused by abrasion peeling. *Journal of Food Science*, 56(2): 416-418.
- Bourne, M. C. (1975) Method for obtaining compression and shear coefficients of foods using cylindrical punches for measuring textural quality. *Journal of Texture Studies*, 5(4): 459-469.
- Bourne, M. C. (1987) Effect of blanch temperature on kinetics of thermal softening of carrots and green beans. *Journal of Food Science*, 52(3): 667-668.
- Burda, S.; Oleszek, W.; Lee, C. Y. (1990) Phenolic compounds and their changes in apples during maturation and cold storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 38(4): 945-948.

C

- Castaner, M.; Gil, M. I.; Artés, F.; Tomas-Barberan, F. A. (1996) Inhibition of browning of harvested head lettuce. *Journal of Food Science*, 61(2): 314-316.
- CIE (1976) Official Recommendations on Uniform Color Spaces. Color difference Equations and Metric Color Terms, Suppl. No. 2. CIE Publications No. 15 Colorimetry. *Commission Internationales de L'eclairage*, París.
- Cháfer, M.; González-Martínez, C.; Fernández, B.; Pérez, L.; Chiralt, A. (2003) Effect of blanching on osmotic dehydration of pear. *Food Science and Technology International*, X(X): XXX-XXX. (En prensa)
- Cheftel, J. C.; Cheftel, H. (1992) Pardeamiento enzimático y Tratamientos físicos en *Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos*, (1) 309-318 (2) 175-202 Editorial Acirbia, España
- Chiralt, A. (2002) Cambios en las propiedades ópticas durante el procesado de vegetales. *Actas del 2º Congreso Español de Ingeniería de Alimentos (CESIA-2002)* [cd-rom]. (2002). Lleida: Universitat de Lleida. ISBN 84-8409-162-7.
- Chiralt, A.; Martínez-Navarrete, N.; Martínez-Monzo, J.; Talens, P.; Moraga, G.; Ayala, A.; Fito, P. (2001) Changes in mechanical properties throughout osmotic processes: Cryoprotectant effect. *Journal of Food Engineering*, 49(2/3): 129-135.

D

- de Ancos, B.; Cano, P.; Hernandez, A.; Monreal, M. (1999) Effects of microwave heating on pigment composition and colour of fruit purees. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(5): 663-670.
- Degraeve, P.; Saurel, R.; Coutel, Y. (2003) Vacuum impregnation pretreatment with pectinmethylesterase to improve firmness of pasteurized fruits. *Journal of Food Science*, 68(2): 716-721.
- del Valle, J. M.; Aranguiz, V.; Leon, H. (1998) Effects of blanching and calcium infiltration on PPO activity, texture, microstructure and kinetics of osmotic dehydration of apple tissue. *Food Research International*, 31(8): 557-569.
- Dewulf, W.; Jancsok, P.; Nicolai, B.; de Roeck, G.; Briassoulis, D. (1999) Determining the firmness of a pear using finite element modal analysis. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 74(3): 217-224.
- Doesburg, J. J. (1961) Relation between the behaviour of pectic substances and changes in firmness of horticultural products during heating. *Quality of Plant and Material Vegetal*, 8: 115.
- Dorantes-Alvarez, L.; Parada-Dorantes, L.; Ortiz-Moreno, A.; Santiago-Pineda, T.; Chiralt-Boix, A.; Barbosa-Cs, G. (1998) Effect of anti-browning compounds on the quality of minimally processed avocados. *Food Science and Technology International*, 4(2): 107-113.

E

- Elkins, E. R.; Lamb, F. C.; Farrow, R. P.; Cook, R. W.; Kawai, M.; Kimball, J. R. (1968) Removal of DDT, malathion and carbaryl from green beans by commercial and home preparation procedures. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 16: 962-966.
- Espin, J. C.; Morales, M.; Varon, R.; Tudela, J.; Garcia-Cs, F. (1997) Monophenolase activity of polyphenol oxidase from Blanquilla pear. *Phytochemistry*, 44(1): 17-22.

G

- Gärtner, U.; Mayer-Miebach, E.; Spiess, W. E. L. (1997) Controlling the microbial load on ready-to-use sliced salads by low-temperature blanching. En: *Proceedings of the Seventh International Congress on Engineering and Food -ICEF 7-* (Jowitt, R. eds.), Sheffield Academic Press: J41-42.
- Goupy, P.; Amiot, M. J.; Richard-Forget, F.; Duprat, F.; Aubert, S.; Nicolas, J. (1995) Enzymatic browning of model solutions and apple phenolic extracts by apple polyphenoloxidase. *Journal of Food Science*, 60(3): 497-501

H

- Howard, L. R.; Griffin, L. E.; Lee, Y. (1994) Steam treatment of minimally processed carrot sticks to control surface discoloration. *Journal of Food Science*, 59(2): 356-358.
- Huang, Y. T.; Bourne, M. C. (1983) Kinetics of thermal softening of vegetables Green beans, white beans, beets, carrots. *Journal of Texture Studies*, 14(1): 1-9.
- Hutchings, J.B. (1999) Food Colour and Appearance. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland.

I

- Ibarz, A.; Martin, O.; Barbosa-Cs, G. V. (1997) Non-enzymatic browning kinetics of concentrated pear juice. *Food Science and Technology International*, 3(3): 213-218.
- Ibarz, A.; Pagan, J.; Garza, S. (1999) Kinetic models for colour changes in pear puree during heating at relatively high temperatures. *Journal of Food Engineering*, 39(4): 415-422.

J

- Javeri, H.; Toledo, R.; Wicker, L. (1991) Vacuum infusion of citrus pectinmethylesterase and calcium effects on firmness of peaches. *Journal of Food Science*, 56(3): 739-742.
- Jen, J. J.; Robinson, M. L. (1984) Pectolytic enzymes in sweet bell peppers (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Food Science*, 49(4): 1085-1087.

K

- Kidmose, U.; Martens, H. J. (1999). Changes in texture, microstructure and nutritional quality of carrots slices during blanching and freezing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79: 1747-1753.
- Klein, J. D.; Hanzon, J.; Irwin, P. L.; Ben-Shalom, N.; Lurie, S. (1995) Pectin esterase activity and pectin methyl esterification in heated Golden Delicious apples. *Phytochemistry*, 39(3): 491-494.
- Krokida, M. K.; Kiranoudis, C. T.; Maroulis, Z. B.; Marinou-Kouris, D. (2000) Effect of pretreatment on color of dehydrated products. *Drying Technology*, 18 (6): 1239-1250.

L

- Labuza, T. P.; Massaro, S. A. (1990) Browning and amino acid loss in model total parenteral nutrition solutions. *Journal of Food Science*, 55(3): 821-826.
- Lee, C. Y.; Bourne, M. C.; Van-Buren, J. P. (1979) Effect of blanching treatments on the firmness of carrots. *Journal of Food Science and Technology*, 44 (2) :615-616.
- Lozano, J. E.; Ibarz, A. (1997) Colour changes in concentrated fruit pulp during heating at high temperatures. *Journal of Food Engineering*, 31(3): 365-373
- Lurie, S.; Nussinovitch, A. (1996) Compression characteristics, firmness, and texture perception of heat treated and unheated apples. *International Journal of Food Science and Technology*, 31(1): 1-5.

M

- Maskan, M. (2001) Kinetics of colour change of kiwifruits during hot air and microwave drying. *Journal of Food Engineering*, 48(2): 169-175.
- Maté, J. I.; Quartaert, C.; Meerdink, G.; Riet, K. (1998) Effect of blanching on structural quality of dried potato slices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(2): 676-681.
- Mayer-Miebach, E.; Gaertner, U.; Grossmann, B.; Wolf, W.; Spiess, W. E. L. (2003b) Influence of low temperature blanching on the content of valuable substances and sensory properties in ready-to-use salads. *Journal of Food Engineering*, 56(2/3): 215-217.
- Mayer-Miebach, E.; Gaertner, U.; Spiess, W. E. L. (2003a) Minimal processing of ready-to-serve leafy salads. *Food Technology International*, 47, 48, 50
- McEvily, A. J.; Iyengar, R.; Otwell, W. S. (1992) Inhibition of enzymatic browning in foods and beverages. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32(3): 253-273.

- McFeeters, R.F.; Fleming, H. P.; Thompson, R. L. (1985) Pectinesterase activity, pectin methylation, and texture changes during storage of blanched cucumber slices. *Journal of Food Science*, 50(1): 201-205.
- Moline, H. E.; Buta, J. G.; Newman, I. M. (1999) Prevention of browning of banana slices using natural products and their derivatives. *Journal of Food Quality*, 22(5): 499-511.
- Moreno, J.; Chiralt, A.; Escriche, I.; Serra, J. A. (2000) Effect of blanching/osmotic dehydration combined methods on quality and stability of minimally processed strawberries. *Food Research International*, 33(7): 609-616.

N

- Nicolas, J. J.; Richard-Forget, F. C.; Goupy, P. M.; Amiot, M. J.; Aubert, S. Y. (1994) Enzymatic browning reactions in apple and apple products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34(2): 109-157.

O

- Olkku, J.; Rha, C. K. (1978) Gelatinization of starch and wheat flour starch. *Food Chemistry*, 3(4): 293-317

P

- Palou, E.; Lopez-Malo, A.; Barbosa-Cs, G. V.; Welti-Chanes, J.; Swanson, B. G. (1999) Polyphenoloxidase activity and colour of blanched and high hydrostatic pressure treated banana puree. *Journal of Food Science*, 64(1): 42-45.
- Pao, S.; Petracek, P. D. (1997) Shelf life extension of peeled oranges by citric acid treatment. *Food Microbiology*, 14(5): 485-491.
- Peleg, M. (1979) Characterization of stress relaxation curve of solid foods. *Journal of Food Science*, 44, 277-281.
- Peleg, M. (1983) Stress and strain activated fracture elements: Phenomenological rheological models of foods. *Journal of Texture Studies*, 14(2): 87-98.
- Pittia, P., Nicoli, C., Comi, G.; Massini R. (1999) Shelf-life extension of fresh-like ready-to-use pear cubes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79: 955-960.
- Ponne, C.; Baysal, T.; Yuksel, D. (1994) Blanching leafy vegetables with electromagnetic energy. *Journal of Food Science*, 59(5): 1037-1041,1059.
- Ponting, J. D. (1960) Control of enzymatic browning of fruits. En Schultz, H. W. *Food Enzymes*. Avi, Westport Conn.
- Primo-Yúfera, E. (1997) Química de los alimentos. Editorial Síntesis. Madrid, España.

R

- Ramaswamy, H.; Van de Voort, F.R. (1990) Microwave applications in food processing. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 23(1): 17-21.
- Reeve, R. M. (1970) Relationships of histological structure to texture of fresh and processed fruits and vegetables. *Journal of Texture Studies*, 1(3): 247-84.
- Richarson, T.; Hyslop, D. B. (1985) Enzymes. En Fennema, O. P. *Food Chemistry*. Marcel Dekker, New York: 371-476.
- Rizvi, A. F.; Tong, C. H. (1997) Fractional conversion for determining texture degradation kinetics of vegetables. *Journal of Food Science*, 62(1): 1-7.
- Rocha, A. M. C. N.; Brochado, C. M.; Morais, A. M. M. B. (1998) Influence of chemical treatment on quality of cut apple (cv. Jonagored). *Journal of Food Quality*, 21(1): 13-28.
- Rocha, A. M. C. N.; Morais, A. M. M. B. (2003) Shelf life of minimally processed apple (cv. Jonagored) determined by colour changes. *Food Control*, 14 (1): 13-20.
- Rodriguez-Arcos, R. C.; Smith, A. C.; Waldron, K. W. (2002) Mechanical properties of green asparagus. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(3): 293-300.

S

- Sapers, G. M.; Douglas, F. W. (1987) Measurement of enzymatic browning at cut surfaces and in juice of raw apple and pear fruits. *Journal of Food Science*, 52 (5): 1258-1262.
- Sapers, G. M.; Garzarella, L.; Pilizota, V. (1990) Application of browning inhibitors to cut apple and potato by vacuum and pressure infiltration. *Journal of Food Science*, 55(4): 1049-1053.
- Schwimmer, S. (1981) Source book of food enzymology. AVI sourcebook and handbook series Westport, Conn. AVI Pub. Co.
- Selman, J. D. (1992a) Blanching. En Hui, Y. H. *Encyclopaedia of Food Science and Technology*. A Wiley-Interscience Publication (1):211-219.
- Senesi, E.; Pastine, R. (1996) Pre-treatments of ready-to-use fresh cut fruits. *Industrie Alimentari*, 35(353): 1161-1166.
- Severini, C.; Baiano, A.; De Pilli, T.; Romaniello, R.; Derossi, A. (2003) Prevention of enzymatic browning in sliced potatoes by blanching in boiling saline solutions. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, XX(X): XXX-XXX. (En Prensa)
- Severini, C.; Pilli, T.; Baiano, A.; Mastrocola, D.; Massini, R. (2001) Preventing enzymatic browning of potato by microwave blanching. *Sciences des Aliments*, 21(2): 149-160.
- Shin, S.; Bhowmik, S. R. (1995) Thermal kinetics of colour changes in pea puree. *Journal of Food Engineering*, 24(1): 77-86.
- Siddiq, M.; Cash, J.N.; Sinha, N.K.; Akhter, P. (1993) Characterization and inhibition of polyphenol oxidase from pears (*Pyrus communis* L. cv Bosc and Red) *Journal of Food Biochemistry*, 17 :327-337.
- Smith, D. M.; Montgomery, M. W. (1985) Improved methods for the extraction of polyphenol oxidase from d'Anjou pears. *Phytochemistry*, 24(5): 901-904.
- Stanley, D. W.; Bourne, M. C.; Stone, A. P.; Wismer, W. V. (1995) Low temperature blanching effects on chemistry, firmness and structure of canned green beans and carrots. *Journal of Food Science*, 60(2): 327-333.
- Sterling, C. (1968) Effect of solutes and pH on the structure and firmness of cooked carrot. *Journal of Food Technology*, 3(4): 367-71.

T

- Tijskens, L. M. M.; Rodis, P. S.; Hertog, M.; Proxenia, N.; Van Dijk, C. (1999) Activity of pectin methyl esterase during blanching of peaches. *Journal of Food Engineering*, 39(2): 167-177.

V

- Vamos-Vigyazo, L. (1981) Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 15(1): 49-127.
- Van Buren, J. P. (1986) Softening of cooked snap beans and other vegetables in relation to pectins and salts. En *Chemistry and function of pectins*. ACS Symposium Series, 310: 190-199.
- Van Buren, J. P.; Kean, W. P.; Wilkinson, M. (1988) Influence of salts and pH on the firmness of cooked snap beans in relation to the properties of pectin. *Journal of Texture Studies*, 19(1): 15-25.
- Verlinden, B. E.; de Barys, T.; de Baerdemaeker, J.; Deltour, R. (1996) Modelling the mechanical and histological properties of carrot tissue during cooking in relation to texture and cell wall changes. *Journal of Texture Studies*, 27(1): 15-28.
- Verlinden, B. E.; Yuksel, D.; Baheri, M.; Baerdemaeker, J.; Dijk, C. (2000) Low temperature blanching effect on the changes in mechanical properties during subsequent cooking of three potato cultivars. *International Journal of Food Science and Technology*, 35(3): 331-340.
- Voss, D. H. (1992) Relating colorimeter measurement of plant colour to the Royal Horticultural Society colour chart. *HortScience*, 27(12) :1256-1260.

W

- Walter, K. (1992) Steam pressing: plants in operation, quality of products, future possibilities *The Institute Rotorua*, (177): 52-63.
- Whitaker, J. R. (1994) Principles of enzymology for the food sciences. 2nd Eds. En *Food science and technology* Marcel Dekker, Inc. New York.

- Whitaker, J. R. (1996) Enzymes. En Fennema, O. P. *Food Chemistry*. Marcel Dekker, New York: 431-530.
- Wiley, R. C. (1994) Minimally processed refrigerated fruits and vegetables. Chapman & Hall.
- Williams, C. E. (1986) High humidity steam cooker with continuously running conveyor (for processing large quantities of foods such as meat, fish and poultry). *United States Patent*.
- Wu, A.; Chang, W.H. (1990) Influence of precooking on the firmness and pectic substances of three stem vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*, 25(5): 558-568.

Z

- Zawistowski, J.; Bilideris, C. G.; Eskin, N. A. M. (1991) Polyphenol oxidase. En Robinson, D. S. R.; Eskin, N. A. M. *Oxidative Enzymes in Foods*. London, Elsevier Applied Sciences: 217-273.

Anexo I

Efectividad del tratamiento térmico en el control del pardeamiento enzimático

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura AI.1 Gráfico fuerza vs. distancia para los tratamientos vapor e inmersión. _____ I

Figura AI.2 Gráfico tensión vs. deformación. Efecto del tiempo de exposición al tratamiento vapor. _____ I

Figura AI.3 Gráfico tensión vs. deformación. Efecto del tiempo de exposición al tratamiento inmersión. _____ I

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla AI.1 Variación de color con diferentes tiempos de vapor _____ II

Tabla AI.2 Variación de color con diferentes tiempos de inmersión _____ II

Tabla AI.3 Análisis multifactorial para los parámetros de color _____ II

Tabla AI.4 Análisis multifactorial para los parámetros mecánicos _____ III

Tabla AI.5 Cambios de color de las muestras tratadas con vapor después de 24h en refrigeración _____ III

Tabla AI.6 Cambios de color de las muestras tratadas con inmersión después de 24h en refrigeración _____ III

Tabla AI.7 Cambios de color de las muestras tratadas con vapor después de congelación-descongelación _____ IV

Tabla AI.8 Cambios de color de las muestras tratadas con inmersión después de congelación-descongelación _____ IV

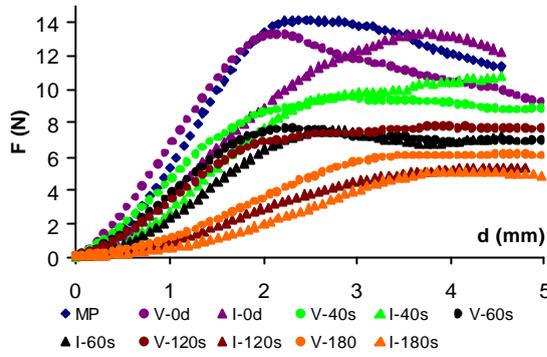


Figura AI.1 Gráfico fuerza vs. distancia para los tratamientos vapor e inmersión.

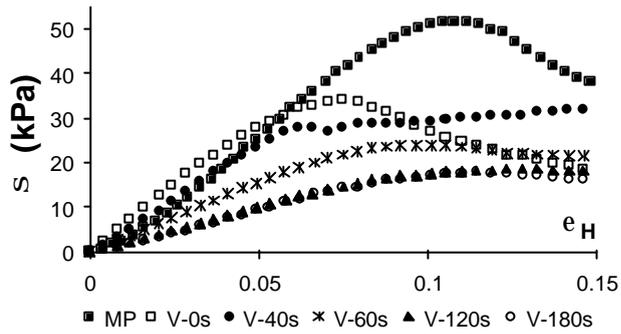


Figura AI.2 Gráfico tensión vs. deformación. Efecto del tiempo de exposición al tratamiento vapor.

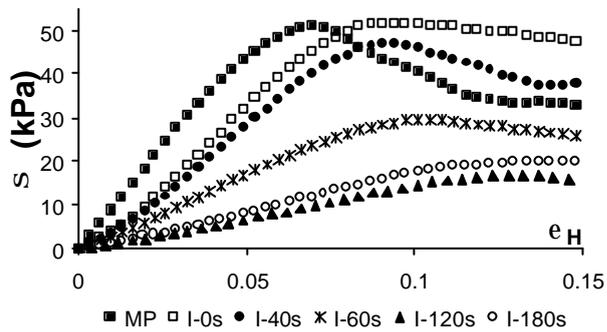


Figura AI.3 Gráfico tensión vs. deformación. Efecto del tiempo de exposición al tratamiento inmersión.

Tabla AI.1 Variación de color con diferentes tiempos de vapor^{XY}

Tratamiento	ΔL^*	Δa^*	Δb^*	Δh_{ab}^*	ΔC_{ab}^*	ΔE^*
V-0s	-1.9 ± 0.2^a	0.1 ± 0.1^a	0.9 ± 0.5	-0.1 ± 0.5^a	0.9 ± 0.5^a	3.1 ± 0.4^a
V-40s	-2.7 ± 0.9^{ab}	0.1 ± 0.2^a	0.2 ± 0.5	-0.4 ± 0.3^a	0.2 ± 0.4^b	3.8 ± 0.8^{ab}
V-60s	-3.6 ± 0.6^{bc}	0.2 ± 0.2^{ab}	0.2 ± 0.3	-0.5 ± 0.5^a	0.2 ± 0.2^b	4.6 ± 0.5^b
V-120s	-4.0 ± 0.7^c	0.2 ± 0.2^b	0.2 ± 0.6	-0.6 ± 0.2^a	0.2 ± 0.3^b	4.0 ± 0.6^{ab}
V-180s	-9.6 ± 1.7^d	1.0 ± 0.3^c	-0.4 ± 0.7	-4.8 ± 0.2^b	-0.4 ± 0.4^b	9.9 ± 0.5^c
ANOVA _p	0.0001	0.0000	0.1446	0.0000	0.0223	0.0001

x la media de siete determinaciones \pm derivación estándar

y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

$\Delta J = J_1 - J_0$; J_0 : muestra control; J_1 : después del tratamiento de Vapor.

Tabla AI.2 Variación de color con diferentes tiempos de inmersión^{XY}

Tratamiento	ΔL^*	Δa^*	Δb^*	Δh_{ab}^*	ΔC_{ab}^*	ΔE^*
I-0s	-0.8 ± 0.9^a	-0.2 ± 0.1^a	0.9 ± 0.9^a	1.6 ± 0.9^a	0.9 ± 0.9^a	1.9 ± 0.7^a
I-40s	-4.3 ± 0.4^b	0.0 ± 0.1^b	-0.3 ± 0.8^b	0.3 ± 0.9^a	-0.3 ± 0.7^b	4.4 ± 0.3^b
I-60s	-10.0 ± 0.7^c	0.7 ± 0.1^c	-0.7 ± 0.2^{cb}	-2.1 ± 0.5^b	-0.7 ± 0.2^{cb}	10.3 ± 0.9^c
I-120s	-12.6 ± 1.0^d	0.8 ± 0.1^c	-1.1 ± 0.4^{bc}	-3.7 ± 0.8^c	-1.2 ± 0.4^c	12.8 ± 0.9^d
I-180s	-13.3 ± 0.5^d	1.0 ± 0.1^d	-2.3 ± 0.9^d	-4.3 ± 0.6^c	-2.3 ± 0.9^d	13.6 ± 0.5^d
ANOVA _p	0.000	0.000	0.0098	0.0001	0.0004	0.000

x la media de siete determinaciones \pm derivación estándar

y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

$\Delta J = J_1 - J_0$; J_0 : muestras control; J_1 : después del tratamiento de Inmersión.

Tabla AI.3 Análisis multifactorial para los parámetros de color, considerando los factores tiempo de tratamiento (0-180s) y el tipo de tratamiento (V ó I)

Parámetro	Factor Tiempo	Factor Tratamiento	Interacción
L*	0.0000	0.0000	0.0000
a*	0.0000	0.0000	0.0000
b*	0.0005	0.0011	0.0811
h_{ab}*	0.0000	0.1298	0.0000
C_{ab}*	0.0000	0.0000	0.0058
DE*	0.0000	0.0000	0.0000

Tabla AI.4 Análisis multifactorial para los parámetros mecánicos, considerando los factores tiempo de tratamiento (0-180s) y el tipo de tratamiento (V ó I)

Parámetro	Factor Tiempo	Factor Tratamiento	Interacción
S _F	0.0000	0.6231	0.0582
e _{HF}	0.0002	0.6471	0.5057
Ed	0.0000	0.0005	0.4137

Tabla AI.5 Cambios de color de las muestras tratadas con vapor después de 24h en refrigeración^{XY}

Tratamiento	?L*	?a*	?b*	?h _{ab} *	?C _{ab} *	?E*
MP	-12.6±1.4	2.0±0.0	4.2±0.6	-9.1±0.7	4.1±0.6	13.4±1.5
V-0s	-6.8±3.2	1.1±0.4	1.4±1.0	-5.3±2.8	1.3±1.0	7.0±3.4
V-40s	-11.0±1.3	1.3±0.5	2.4±1.4	-6.1±3.7	2.4±1.5	11.5±1.3
V-60s	-9.4±1.2	1.7±0.6	1.1±1.9	-6.7±2.3	1.1±1.9	9.8±1.4
V-120s	-10.2±3.1	1.5±1.2	1.8±1.4	-7.8±3.6	1.7±1.4	10.6±3.2
V-180s	-8.2±2.9	1.9±0.2	2.0±1.0	-8.0±1.6	2.2±1.0	8.7±2.8
ANOVA _P	0.1078	0.5327	0.1288	0.7776	0.1367	0.0872

x la media de tres determinaciones ± derivación estándar
 y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05
 $\Delta J = J_1 - J_0$; J₀: antes de refrigeración; J₁: después de refrigeración.

Tabla AI.6 Cambios de color de las muestras tratadas con inmersión después de 24h en refrigeración^{XY}

Tratamiento	?L*	?a*	?b*	?h _{ab} *	?C _{ab} *	?E*
MP	-12.6±1.4 ^a	2.0±0.0	4.2±0.6	-9.1±0.7	4.1±0.6	13.4±1.5 ^a
I-0s	-0.9±1.1 ^c	0.9±0.6	3.9±2.2	-5.5±2.4	3.8±2.2	4.1±2.4 ^b
I-40s	-5.7±0.7 ^b	1.9±0.9	2.9±0.5	-9.1±2.3	2.9±0.5	6.8±0.1 ^b
I-60s	-6.2±4.6 ^b	2.9±2.1	2.5±1.6	-9.2±2.1	2.8±1.8	7.4±3.0 ^b
I-120s	-6.7±1.9 ^b	3.2±1.6	2.6±1.2	-14.2±2.9	2.8±1.3	7.9±2.2 ^b
I-180s	-7.1±2.6 ^b	2.9±1.3	1.9±0.9	-14.6±2.9	2.1±0.7	8.0±2.8 ^b
ANOVA _P	0.0020	0.3358	0.3180	0.1489	0.5077	0.0309

x la media de tres determinaciones ± derivación estándar
 y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05
 $\Delta J = J_1 - J_0$; J₀: antes de refrigeración; J₁: después de refrigeración.

Tabla AI.7 Cambios de color de las muestras tratadas con vapor después de congelación-descongelación^{XY}

Tratamiento	?L*	?a*	?b*	?h _{ab} *	?C _{ab} *	?E*
MP	-32.4±4.0 ^a	1.9±0.2 ^{ab}	-3.0±1.3 ^a	-9.8±1.7 ^{ab}	-3.1±1.2 ^a	32.5±2.5 ^a
V-0s	-22.9±3.1 ^b	1.3±0.6 ^a	-1.2±1.3 ^{ab}	-6.3±3.7 ^b	-1.3±1.2 ^{ab}	23.0±2.4 ^b
V-40s	-23.9±2.3 ^b	2.3±0.6 ^b	1.1±2.6 ^{cd}	-12.3±4.5 ^a	1.0±1.5 ^{cd}	24.1±3.2 ^b
V-60s	-20.2±5.2 ^b	1.4±0.8 ^a	0.7±1.1 ^{bcd}	-8.3±3.4 ^{ab}	0.5±1.1 ^{bcd}	20.3±4.6 ^b
V-120s	-24.1±3.0 ^b	2.4±0.5 ^b	-1.0±0.8 ^{abc}	-12.0±1.4 ^a	-1.0±0.7 ^{abc}	24.2±2.3 ^b
V-180s	-11.6±5.0 ^c	1.4±1.1 ^a	1.6±1.8 ^d	-7.1±3.8 ^b	1.6±1.3 ^d	11.9±4.0 ^c
ANOVA _p	0.0000	0.0156	0.0027	0.0444	0.0026	0.0000

x la media de cuatro determinaciones ± derivación estándar

y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

ΔJ = J₁ - J₀; J₀: antes de congelación; J₁: después de congelación-descongelación.

Tabla AI.8 Cambios de color de las muestras tratadas con inmersión después de congelación-descongelación^{XY}

Tratamiento	?L*	?a*	?b*	?h _{ab} *	?C _{ab} *	?E*
MP	-32.4±4.0 ^a	1.9±0.2	-3.0±1.3 ^a	-9.8±1.7	-3.1±1.2 ^a	32.5±2.5 ^a
I-0s	-19.7±2.4 ^b	2.7±1.0	1.8±0.7 ^b	-13.9±3.9	1.8±0.8 ^b	20.1±4.5 ^b
I-40s	-16.2±1.4 ^b	2.5±0.9	2.1±1.6 ^b	-11.8±3.6	2.1±1.6 ^b	16.5±2.7 ^b
I-60s	-14.3±3.5 ^{bc}	2.1±1.7	1.0±1.7 ^b	-9.7±3.5	1.0±1.4 ^b	14.6±3.6 ^{bc}
I-120s	-9.5±2.7 ^{cd}	1.6±1.0	1.2±0.5 ^b	-8.0±3.2	1.3±0.6 ^b	9.8±2.9 ^{cd}
I-180s	-7.4±2.9 ^d	1.6±0.5	2.2±0.9 ^b	-10.3±1.8	2.2±0.7 ^b	8.0±2.0 ^d
ANOVA _p	0.0000	0.4971	0.0000	0.4589	0.0000	0.0000

x la media de cuatro determinaciones ± derivación estándar

y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

ΔJ = J₁ - J₀; J₀: antes de congelación; J₁: después de congelación-descongelación.

Capítulo II

Aplicación de antipardeantes en medios osmóticos e isotónicos.

El objetivo de la conservación de los alimentos mantener la calidad de la material prima, sus propiedades físico-químicas y su funcionalidad, así como el proporcionar productos seguros que posean un bajo potencial hacia el ataque por microorganismos. En realidad, el concepto de métodos combinados tiene un significado más amplio, ya que involucra también la utilización de factores que actúan sobre algún microorganismo o enzima específico del medio o del alimento.

Actualmente, existe un interés significativo en la utilización de tratamientos físicos alternativos menos severos, como es la deshidratación osmótica, que de cierta manera y bajo determinadas condiciones reemplaza el clásico

tratamiento térmico (Dalla Rosa *et al.*, 1995). El progreso de esta técnica se ha ampliamente discutido por Le Maguer (1989), Raoult-Wack (1994), Fito y Chiralt (1997), Alzamora *et al.*, (1998) y Lazarides *et al.*, (1999).

La deshidratación osmótica (DO) puede reducir la actividad de agua a valores en los que los microorganismos no pueden permanecer metabólicamente activos y presumiblemente tiene efectos inhibitorios sobre la actividad enzimática. La combinación de tratamientos de conservación donde se incluye la deshidratación osmótica, permite lograr un nivel adecuado de protección al tiempo que mantiene diferentes atributos asociados a la calidad organoléptica del producto como son, el color, el sabor, la textura y el valor nutritivo. Algunos, autores apuntan que la deshidratación osmótica, en determinadas condiciones de proceso es capaz de prevenir la deformación de la pared celular. Y favorecer la compactación de aquellas células que están en contacto con la solución osmótica, y como consecuencia, mantener la integridad de la célula dentro de los tejidos, contribuyendo a una mejor conservación de los mismos (Lazarides; 1994; Le Maguer y Yao, 1995; Shi y Le Maguer, 2002).

II.1 INTRODUCCION

En el apartado 5 de la Introducción, se discute ampliamente la aplicación de técnicas de DO a FMP, así como los efectos que esta técnica promueve en la estabilidad microbiológica, sobre la actividad enzimática y la calidad sensorial. Por tal motivo, esta introducción se centra en otros conceptos o factores que se emplearan en este estudio.

II.1.1 Conservación de frutas de alta humedad

Los denominados alimentos de alta humedad (AAH), dentro de los cuales se situaría a las FMP, están caracterizados por poseer altos valores de a_w (0.95-0.98). La aplicación de técnicas de procesamiento mínimo hace necesario la acción conjunta de varios factores de forma reducida, que hacen diferir esta técnica de otras que aplican un sólo factor con gran intensidad (Leistner y Rödel, 1976), con la consiguiente mejora en la calidad organoléptica y nutricional (Welti y Bermúdez, 2002). En este sentido, la DO se aplica como una técnica más dentro de los métodos combinados, para reducir la a_w del producto, tanto por la pérdida de agua, como por la incorporación de solutos depresores (Alzamora *et al.*, 1997). De este modo, la estabilidad microbiológica puede obtenerse a altas a_w utilizando simultáneamente varios factores de conservación, sin alterar apreciablemente las características naturales de la fruta. Cuando la a_w del medio externo se reduce por DO, la tasa de crecimiento microbiano se ve reducida por el proceso de acumulación de solutos, ya que se consume energía y en consecuencia se reduce la energía disponible para el crecimiento, disminuyendo el rendimiento y la velocidad de multiplicación de los microorganismos (Gould *et al.*, 1983). La aplicación de tecnologías simples basadas en la combinación de factores ha sido ampliamente utilizada en gran variedad de frutas, por diversos autores (Sajur, 1985; Alzamora *et al.*, 1989 y 1993; Argaiz *et al.*, 1995; Nieto *et al.*, 1998; Fito y Chiralt, 1997; Tapia *et al.*, 1996), basándose en la obtención de productos de alta calidad de

características similares a las de las frutas frescas, con un consumo mínimo de energía para su procesado.

II.1.2 Los ácidos ascórbico y cítrico como agentes antipardeantes

Como se ha mencionado en el Capítulo I, el ácido cítrico es el acidulante más comúnmente utilizado como agente antipardeante, debido a su capacidad de modificación del pH, siendo ésta uno de los procedimientos más directos para inhibir la actividad enzimática ya que es modificado el intervalo de pH en el que se desarrolla la actividad enzimática.

Por otra parte la adición de compuestos reductores, promueve la transformación de las *o*-quinonas (compuestos pardos) en *o*-difenoles (compuestos incoloros), permitiendo de esta manera retardar o impedir el pardeamiento enzimático y otras reacciones oxidativas. Además de su función como nutriente esencial, el ácido ascórbico se utiliza ampliamente como ingrediente/aditivo alimentario, debido a sus propiedades antioxidantes y reductoras. Se aplica principalmente a frutas y hortalizas cortadas, ya que en las enteras, aunque estén peladas, su penetración es demasiado lenta. Así mismo, se emplea de manera regular en la fabricación de zumos o néctares de frutas y hortalizas.

El ácido ascórbico es un compuesto reductor moderadamente fuerte, de naturaleza ácida, formador de sales neutras con los álcalis y altamente soluble en agua. El ácido ascórbico y sus distintas sales neutras y otros derivados, están generalmente reconocidos como antioxidantes autorizados por la legislación alimentaria de diversos países. En la Tabla II.1.1 se recogen algunas características del ácido ascórbico y sus derivados.

Tabla II.1.1. Características del ácido ascórbico y sus derivados empleados en el control del pardeamiento de frutas y hortalizas (Adaptado de Sapers *et al.*, 1989)

Efecto / Acción	Ventajas y Desventajas	Observaciones	Dosis usual (p/v)
»Reducción de o-quinonas a o-difenoles	»Efecto temporal »Puede causar pérdida de sabor original »Limitada penetración en los tejidos	»Uso frecuente en combinación con otros agentes o tratamientos »Su isómero (ácido eritóbico) y sus derivados poseen propiedades similares	0.5 a 2%

Sapers y Ziolkowski, (1987) utilizaron diferentes derivados del ácido ascórbico, en el control del pardeamiento enzimático de rodajas de manzanas MP de las variedades *Red Delicious* y *Winesap* y en el zumo de las variedades *Red Delicious* y *Granny Smith*. Las mezclas de ácido ascórbico o sus derivados con ácido fosfórico ajustadas a un pH=2.0 redujeron con gran efectividad el pardeamiento enzimático de patatas, incrementando su vida útil por 7 días (Sapers y Miller, 1992).

El ácido ascórbico se oxida a la forma de ácido deshidroascórbico al reducir las o-quinonas a o-difenoles, eliminando el oxígeno del alimento (Figura II.1.1). Sin embargo, este tipo de inhibición sólo será eficaz mientras exista suficiente ácido ascórbico disponible.

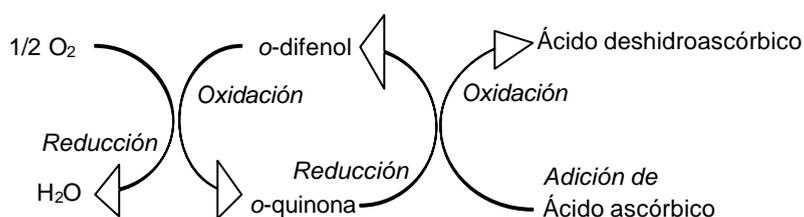


Figura II. 1 Esquema general de la reacción de reducción de o-quinonas a o-difenoles por el ácido ascórbico (Adaptado de Hie-Joon, 1995)

Las mezclas de compuestos antipardeantes más utilizadas en sustitución de los bisulfitos, están compuestas por ácido ascórbico o isoascórbico junto

con ácido cítrico (ver Tabla I.1.2 del Capítulo I) u otros agentes quelantes. Tanto el ácido ascórbico como el ácido cítrico son productos con un precio asequible y una buena disponibilidad comercial para su uso combinado como agentes antipardeantes. La combinación de ambos compuestos tiende a mantener un pH más ácido, uno de los factores básicos en la conservación de alimentos, ya que afecta a la conformación de las proteínas, la síntesis enzimática y los productos finales del metabolismo. Además, los ácidos débiles, tales como ácido cítrico, ácido sórbico, entre otros, penetran a través de las membranas celulares y actúan como transportadores de protones al citoplasma. El efecto primario es la disminución del pH intracelular pero además, el anión del ácido disociado puede tener efectos inhibitorios específicos en el metabolismo activo de los microorganismos potencialmente alterantes, potenciando el efecto del pH (Corlett y Brown, 1980).

II.1.3 Respuesta del tejido vegetal frente al procesamiento mínimo.

Las frutas MP poseen la peculiaridad de que el tejido vegetal permanece vivo a lo largo de su acondicionamiento, y por tanto, está sometido frecuentemente a situaciones de estrés. El tejido vegetal esta, por ejemplo, expuesto a estrés mecánico inducido por el corte, pelado, troceado etc., al estrés por parte de agentes patógenos (bacterias, hongos y virus) y a un estrés físico-químico u osmótico, cuando los tejidos son sumergidos en disoluciones acuosas de azúcares con alta o baja presión osmótica, debido a la dificultad que tienen las células para intentar compensar los valores negativos del potencial hídrico (ψ) de la solución. En la Figura II.2 se pueden distinguir tres estados osmóticos diferentes para la célula vegetal, según la concentración de solutos de medio externo. En un medio hipotónico, el gradiente de potencial hídrico ($\Delta\psi$), determina un flujo de agua desde el medio externo a la vacuola celular, con lo que el citoplasma en una célula adulta, presiona la pared celular (situación de turgencia celular), provocando un aumento de volumen por la elasticidad de la membrana plasmática. En un medio hipertónico, el gradiente

de ψ determina la salida del agua desde las vacuolas al exterior. Como consecuencia del descenso del volumen vacuolar, junto con el tonoplasto, se retrae el citoplasma, que en parte se desprende de la pared celular, provocando la plasmólisis. Se entiende por plasmólisis incipiente la concentración osmótica externa que inicia la separación del citoplasma de la pared celular y suele tipificarse cuando el fenómeno aparece en el 50% de las células en observación. En condiciones isotónicas, no existe gradiente de potencial ($\Delta\psi=0$), por lo que se establece un equilibrio estacionario, sin cambios aparentes en el volumen celular.

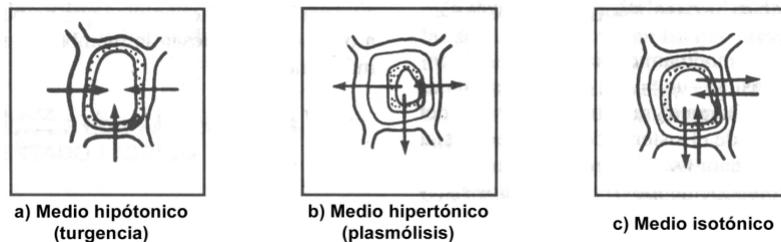


Figura II.2 Estados osmóticos de la célula vegetal, para diferentes situaciones osmóticas del medio externo (Adaptado de Barceló *et al.*, 2001)

Las diferentes situaciones de estrés a las que se somete el tejido vegetal durante el procesamiento mínimo le obligan a ralentizar o detener sus funciones fisiológicas básicas, reduciendo su vigor y pudiendo llegar a provocar la aparición de daños irreversibles e incluso, la senescencia de la célula.

Igualmente, bajo un severo estrés, la célula pone en marcha vías metabólicas alternativas, en su intento de frenar los cambios que se producen en su entorno. Estas vías metabólicas pueden dar lugar a compuestos que potencian la aparición de aromas/sabores no deseados, de reacciones adversas o la acumulación de diversas sustancias que se denominan genéricamente metabolitos de estrés (Haard, 1983). En algunos casos, la acumulación de metabolitos de estrés solamente se produce cuando además del daño mecánico, concurren otros factores como la presencia de etileno, la

exposición a bajas temperaturas o condiciones de osmolaridad (Arcón-Bieto y Talón, 2000; Fennema, 2000). Entre estos metabolitos se encuentran compuestos químicos muy diversos como isoflavonoides, antocianinas, diterpenos, glicoalcaloides, poliacetilenos, entre otros. La presencia de algunos de estos compuestos puede actuar como precursor del pardeamiento enzimático, al aparecer como substratos de la PPO.

Por último comentar que algunos autores durante el estudio de fisiopatías inducidas en tejidos de frutas, han descrito el pardeamiento enzimático como un mecanismo de protección de la célula frente a posibles agresiones (Pérez-Herrera, 2003).

II.1.4 Cambios de las propiedades ópticas en tejido vegetal durante DO

Las propiedades ópticas de un cuerpo están determinadas por la rugosidad de su superficie, por la estructura del tejido como por ejemplo, nivel de empaquetamiento celular y contenido y distribución de fase gas en los espacios intercelulares, el nivel de homogeneidad del mismo, presencia de grupos cromóforos, etc. Szczesniak (1983) señaló cuatro formas que tiene la luz de interaccionar con los objetos, dando lugar a los fenómenos de reflexión, refracción, transmisión y absorción selectiva de la luz incidente. La luz emitida por el objeto en forma de reflexión o transmisión es transformada a través de la percepción visual en atributos de color, opacidad-tranparencia-translucidez y brillo. Estos atributos de los alimentos pueden ser observables a través de visión humana (Figura II.2) y su cuantificación objetiva puede realizarse a través de medidas físicas del espectro de reflexión o transmisión regular o difusa y su transformación en diferentes parámetros correlacionados con distintos atributos de la percepción visual. Si tenemos una importante cantidad de luz reflejada sobre una superficie pulida, ésta aparecerá brillante. Cuando la transmisión interna a través del material es limitada, los productos son opacos, donde se produce una absorción selectiva de luz cerca de la superficie de incidencia. Cambios en el espesor del material donde se da esta absorción

selectiva por modificaciones en su estructura, comportaran cambios en su nivel de opacidad, en la luz emitida y por tanto en el color del mismo.

Cuando una fruta u hortaliza es expuesta a un haz de luz, aproximadamente el 4% de la luz incidente es reflejada al exterior, causando la reflexión especular o brillo, y el 96% restante de la energía incidente es transmitida a través de la superficie hacia el interior de la estructura celular del producto donde ésta es dispersada por las pequeñas interfases dentro del tejido o bien, es absorbida por los constituyentes celulares (Birth, 1976).

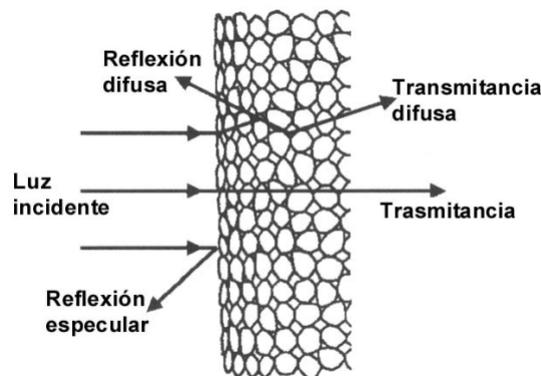


Figura II. 2 Luz incidente en la superficie del tejido vegetal. (Adaptado de Abbott, 1999)

La compleja estructura física de los tejidos vegetales crea un producto ópticamente denso difícil de penetrar y que además, altera la trayectoria del haz luz, de manera que la cantidad del tejido involucrado no es conocida con certeza. La mayoría de la energía luminosa penetra sólo a una distancia muy corta y el color vendrá dado por la cantidad de luz emitida por el cuerpo. En algunos casos, penetra más profundamente (normalmente unos milímetros, dependiendo de la densidad óptica) y es modificada, debido a fenómenos de absorción selectiva a diferentes longitudes de onda por parte de grupos cromóforos del tejido vegetal antes de su salida del producto, determinando el color en base a la suma de todas las radiaciones no absorbidas.

Durante la inmersión del tejido vegetal en soluciones osmóticas e isotónicas se promueve, la penetración de la solución, en mayor grado de la osmótica, por capilaridad cerca de la superficie de la muestra (2 a 3 mm) (Nieto *et al.*, 2003), causando el desplazamiento del gas del interior del tejido, responsable del desarrollo de translucidez en las muestras. Esto es debido al establecimiento de un índice de refracción más homogéneo a lo largo del espesor de la muestra, al disminuir la diferencia del índice de refracción entre la superficie y el aire, por la incorporación de fase líquida en los poros (Chiralt, 2002). Este hecho provoca un aumento del espesor efectivo de la muestra que es atravesado por la luz incidente, y por tanto, de los niveles de absorción selectiva de luz (Hutchings, 1999). Estos cambios han sido señalados por diversos autores durante la DO de rodajas de kiwi (Talens *et al.*, 2002), cortezas de naranja y mandarina (Cháfer *et al.*, 2001a y 2001b), calabaza (Mayor y Sereno, 2002), o por el abuso en el tiempo de inmersión en soluciones antipardeantes de productos MP como lechuga (Artés *et al.*, 2002), melón (Portella y Cantwell, 1998) y manzana (Buta *et al.*, 1999).

II.2 INTERÉS Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO

En el seguimiento de la investigación para el desarrollo para MP, como producto de alta calidad, es fundamental para continuar el estudio tener en cuenta los resultados y recomendaciones del capítulo anterior (Capítulo I). Por consiguiente, se planteó un diseño experimental que incluía la inmersión de las muestras en soluciones isotónicas y osmóticas, ambas en combinación con distintas concentraciones de dos agentes considerados como antipardeantes, como son el ácido cítrico (acidulante /quelante), ya utilizado anteriormente, y el ácido ascórbico (antioxidante).

La acción conjunta de los diferentes factores que se consideraron para este estudio se basaron en las siguientes reflexiones: (i) Las combinaciones de agentes antipardeantes inhiben y/o controlan el pardeamiento enzimático por

diferentes mecanismos y son consideradas especialmente prometedoras frente a la actuación individual de los compuestos, ya que éstas promueven la posibilidad de interacciones sinérgicas (Duxbury, 1988; Sapers *et al.*, 1994). (ii) Los diferentes tiempos de inmersión en los dos tipos de soluciones determinarían el binomio tiempo-tratamiento más adecuado para la obtención de pera MP, ya que un incremento en el tiempo de inmersión conduce a una mayor difusión del agente(s) antipardeciente(s) hacia el interior tejido vegetal (Lombardi y Zaritzky, 1996; Giannuzzi *et al.*, 1995) aunque por otro lado, más tiempo estará el tejido sometido a condiciones de estrés osmótico. (iii) El efecto de la actividad de agua sobre la inhibición del pardeamiento enzimático es insignificante o nula dentro de los límites del rango de 0.95-0.99 (Petriella *et al.*, 1985), no pudiéndose por tanto utilizar la a_w como variable control en el caso de productos MP de apariencia fresca, como es el caso. Sin embargo, la entrada de la solución a los espacios intracelulares de las capas de células más cercanas a la interfase podría causar una salida del gas interior, limitando las reacciones oxidativas (Tovar *et al.*, 2001), y promoviendo una disminución en el intercambio metabólico de las células (Stanley, 1991).

Por consiguiente, el objetivo general de este trabajo es estudiar la efectividad del uso del ácido cítrico y ascórbico sobre el control del pardeamiento enzimático en pera *var. Blanquilla*, aplicados mediante el empleo de soluciones isotónicas y osmóticas. Para lograr este objetivo general, se establecieron los siguientes objetivos específicos: (i) Diseño experimental de los tratamientos con diferentes mezclas del agente quelante y del agente antioxidante, incluyendo o no la disminución de la actividad de agua de las muestras y variando el tiempo de inmersión en la solución. (ii) Control del pardeamiento a través de las propiedades ópticas (espectro de reflexión y las coordenadas de color) de muestras control y tratadas durante el almacenamiento en refrigeración a diferentes tiempos. (iii) Análisis del efecto de los diferentes tratamientos en los cambios de color o pardeamiento de las peras. (vi) Análisis de los cambios de composición inducidos por los tratamientos osmóticos.

II. 3 MATERIALES Y METODOS

II.3.1 Materia prima

Se utilizaron peras variedad *Blanquilla*, tal como se describe en el Apartado I.3.1 (Capítulo I), con un contenido medio de sólidos solubles de 13.0 ± 0.4 °Bx.

II.3.2 Obtención de las muestras

Para la preparación de las muestras, en cada una de las experiencias se procedió como se describe en el Apartado I.3.2 del Capítulo I. Cada uno de los cilindros se pesó en una balanza con sensibilidad 0.01g y fue perfectamente identificado para su posterior seguimiento.

II.3.2 Soluciones empleadas

Las soluciones utilizadas en los tratamientos antipardeantes tuvieron como base una solución isotónica u osmótica de sacarosa de 14 y 45°Bx respectivamente, con diferentes concentraciones de ácido cítrico anhidro (AC) y L(+)-ácido ascórbico (AA) (PRS Panreac, Barcelona). En la Tabla II.3.1 se muestra el diseño experimental de los tratamientos empleados, con la composición, a_w y pH de las soluciones utilizadas en cada caso. La cantidad de solución utilizada en cada tratamiento estuvo en proporción 20:1, respecto al peso de la fruta tratada.

Tabla II.3.1 Composición, a_w y pH de las soluciones empleadas

Tratamiento	Ácido ascórbico (% p/p)	Ácido cítrico (% p/p)	Sacarosa			
			Serie osmótica (45°Bx)		Serie isotónica (14°Bx)	
			a_w	pH	a_w	pH
T1	0	0	0.954	6.6	0.992	6.5
T2	0	0.5	0.950	2.1	0.992	2.2
T3	0	1	0.949	1.8	0.991	2.1
T4	0.5	0	0.952	2.6	0.991	2.8
T5	1	0	0.950	2.4	0.990	2.6
T6	0.5	0.5	0.949	2.0	0.990	2.1
T7	0.75	0.25	0.949	2.2	0.990	2.4
T8	0.25	0.75	0.949	1.9	0.991	2.1

II.3.3 Metodología aplicada

Cada cilindro previamente identificado se sumergió en las distintas soluciones (T1-T8) a 25 °C con agitación, con un tiempo de residencia en las soluciones de 10, 20, 40 y 60 min La muestra control fue inmersa durante 6-8 segundos en agua destilada (T9). El diseño experimental contempló la utilización de una misma pera para todos los tratamientos (T1-T8), para un tiempo de residencia y serie (osmótica o isotónica) determinados. Al término del tiempo de inmersión, los cilindros fueron almacenados a 4 °C en bolsas de polietileno de alta densidad (PEHD) con cierre de seguridad para su posterior medición del color a las 24, 48, 72 y 96 horas.

En el caso de las experiencias para estudiar los cambios en la composición de las muestras sólo se analizaron los tratamientos con soluciones osmóticas, ya que se consideró que en los tratamientos isotónicos no se iban a producir cambios composicionales significativos. Para ello, un mismo tratamiento se aplicó a cilindros de una misma pera y se repitió en tres peras diferentes, utilizándose una misma pera para dos tratamientos distintos. Las muestras tratadas osmóticamente y sus respectivos controles se congelaron con una velocidad de $2.1^{\circ}\text{C min}^{-1}$ (DYCOMETAL, Modelo ACR-45/87) hasta una

temperatura de -40°C y fueron almacenadas en un congelador a -18°C (COPELAN, Modelo AQ41/ DKL 150), hasta su posterior análisis.

II.3.3 Determinaciones analíticas

II.3.3.1 Humedad

La determinación del contenido en agua de las muestras se realizó siguiendo el método AOAC 20.013 (AOAC, 1980) para frutas ricas en azúcar. Este método consiste en la determinación de la pérdida de peso del producto en una estufa de vacío a una presión de 80 mmHg y a una temperatura no superior a 63 °C, dejándose secar hasta obtener un peso constante. Se utilizó una estufa de vacío (Gallenkamp, Modelo OVJ.570.010J) y una balanza digital de 0.0001g de precisión (Metter-Toledo, Modelo AE100). Las muestras se trituraron con un Ultra-Turrax (Modelo T25 IKA) y después fueron colocadas en pesa-sustancias para la determinación.

II.3.3.2 Sólidos solubles

La determinación de sólidos solubles se efectuó mediante la medida del índice de refracción del jugo de la muestra con un refractómetro (ABBE, Modelo 3T ATAGO) termostatado a 20 °C. Se efectuaron tres lecturas de cada muestra, y posteriormente, se calculó el valor medio.

II.3.3.3 Actividad de agua

La a_w se midió en un equipo Decagón (Aqua Lab, Modelo CX-3) en el intervalo de temperaturas entre 25–30 °C, previa calibración del mismo con una disolución de $K_2Cr_2O_7$ sobresaturada (a_w 0.981±0.003). Las muestras trituradas se colocaron en el portamuestras y se procedió a su lectura.

II.3.3.4 pH

Se determinó con un pH-metro (Crison, Modelo Microph 2001) con compensación automática de temperatura, previa calibración con dos soluciones tampón de valores de pH 7.0 y 4.0. Se realizaron tres mediciones de cada una de las muestras trituradas.

II.3.3.5 Acidez

Se utilizó el método AOAC 942.15 (AOAC,1995) para la determinación de la acidez valorable en derivados de frutas. El porcentaje de acidez fue determinado por valoración de la muestra triturada con una disolución de NaOH utilizando fenoftaleína como indicador, asumiendo que 1ml de NaOH (0.1N) neutraliza 0.064g de ácido cítrico. La valoración fue controlada mediante un pH-metro hasta un pH de 8.1-8.2. La acidez se expresó en g de ácido cítrico por 100 g de muestra.

II.3.3.6 Contenido en ácido ascórbico

El ácido ascórbico (AA) se determinó por un método colorimétrico utilizando un kit enzimático Boehringer, basado en la capacidad del ácido ascórbico para reducir sal de bromo (MTT) en presencia de metasulfato. La reacción de oxidoreducción da como productos ácido dehidroascórbico y MTT-formazan, cuya absorbancia se midió a 578 nm mediante un espectrofotómetro (CECIL, Modelo 2021), antes y después de la oxidación del ácido ascórbico de la muestra. La cantidad de ácido ascórbico se expresó en mg AA por 100 g de muestra.

II.3.4 Determinación de las propiedades ópticas

El color de los cilindros de pera se midió por reflexión con un espectrocolorímetro (Minolta, Modelo CM-1000) colocando las muestras sobre

fondo blanco y negro, para corregir los efectos de translucidez. Se obtuvieron los espectros de reflexión entre 400-700 nm, cada 10 nm, sobre fondo blanco y negro, de reflectancia conocida. A partir de estos espectros, se calcularon los correspondientes a muestras de espesor infinito (R_{∞}) mediante las ecuaciones II.1, II.2 y II.3 y, a partir de éstos, las coordenadas CIEL-L*, a*, b* (Apartado I.3.5.1, Capítulo I). El equipo fue calibrado en blanco y negro antes de cada serie de medidas. Todas las medidas se realizaron en el centro de una de las caras planas de las muestras por triplicado.

$$R_{\infty} = a - b \quad (\text{Ec. II.1})$$

$$a^* = 1/2 [R + (R_0 - R + R_g) / (R_0 - R_g)] \quad (\text{Ec. II.2})$$

$$b^* = (a^2 - 1)^{1/2} \quad (\text{Ec. II.3})$$

donde: R es la reflectancia sobre un fondo blanco de reflectancia R_g conocida, R_g es la reflectancia del fondo blanco estándar y R_0 es la reflectancia del fondo negro estándar.

A partir de las coordenadas CIE-L*a*b*, se calcularon el tono (h^*_{ab}) y croma (C^*_{ab}) mediante las ecuaciones I.1 y I.2 (Apartado I.3.5.1, Capítulo I).

La translucidez de las muestras a cada tiempo se determinó aplicando la teoría de Kubelka-Munk (Hutchings, 1999) mediante el espectro de reflexión obtenido sobre fondos blanco y negro para cada muestra. La luz que interacciona con un cuerpo es absorbida o reflejada con un coeficiente de absorción (K) o con un coeficiente de dispersión (S), dependiendo de la naturaleza del material. El coeficiente de K/S, que mide la relación entre la absorción y la dispersión de la luz, se obtiene mediante las medidas de reflectancia de una muestra sobre fondo blanco y negro, utilizando la ecuación II.4:

$$K/S = (1 - R_{\infty})^2 / 2 R_{\infty} \quad (\text{Ec. II.4})$$

Bajos valores de K/S se asocian con estructuras cerradas y materiales opacos, mientras que valores de K/S altos, se relacionan con estructuras abiertas y materiales transparentes. Asimismo se determinó la reflectancia total (RT) de las muestras entre 400-700 nm por integración de la curva de reflexión obtenida en el equipo.

II.3.5 Análisis estadísticos

El análisis estadístico de los datos se realizó a través del análisis de la varianza (ANOVA) y el análisis de correlación de Pearson, utilizando un nivel de confianza del 95%. Los cálculos correspondientes se efectuaron con los programa estadístico Statgraphics® Plus en su versión 5.1 y SPSS® en su versión 10.0.6 para Windows.

II. 4 RESULTADOS Y DISCUSION

II.4.1 Propiedades ópticas de las muestras frescas

El color de la materia prima se caracterizó mediante siete parámetros L^* , a^* , b^* , h^*_{ab} , C^*_{ab} , la reflectancia total (RT) y el coeficiente a 600nm ($K/S\lambda_{600}$), que expresa la translucidez de las muestras. En la Tabla II.4.1 se muestran los valores medios junto con su desviación. La Tabla AII.1 (del Anexo II) presenta los valores individuales de los parámetros para cada uno de los cilindros control de las 24 peras utilizadas.

Tabla II.4.1. Propiedades ópticas de las muestras control^y

Serie Isotónica ^x						
L*	a*	b*	h _{ab} *	C _{ab} *	K/S _λ 600	RT
75.1±1.9	-1.70±0.4 ^a	15.30±2.0	96.5±2.1 ^a	15.4±2.0	0.77±0.03	119.2±1.5
Serie Osmótica ^x						
L*	a*	b*	h _{ab} *	C _{ab} *	K/S _λ 600	RT
74.5±1.8	-1.30±0.3 ^b	15.4±1.5	95.0±1.1 ^b	15.5±1.6	0.77±0.04	127.6±10.2

^x media de doce determinaciones ± derivación estándar
^y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras del 95%.

Dado que las peras empleadas en las experiencias correspondían a dos lotes distintos, que se adquirieron en semanas diferentes (las 12 primeras peras tratadas en la serie isotónica y las 12 restantes en la serie osmótica), se analizó el color de ambos grupos con el fin de comprobar su homogeneidad. El ANOVA realizado sobre los dos lotes de peras (Tabla AII.1 del Anexo II y Tabla II.4.1) reflejó diferencias significativas en los parámetros a* y h_{ab}*, siendo el lote de peras destinado a la serie isotónica ligeramente más verdoso. Las diferencias encontradas pueden atribuirse al estado de madurez o al origen de las peras que componen cada lote. A partir de estos resultados, se consideró adecuado realizar el análisis de ambos lotes por separado.

Por otro lado, el análisis de correlación realizado entre los parámetros de color puso de manifiesto que, la luminosidad L* presentó una fuerte correlación con la translucidez, expresada como K/S_λ600, con un coeficiente de correlación de Pearson r=0.979, significativo con un nivel de confianza (n.c.) del 99%; la coordenada a* y el h_{ab}* se mostraron significativamente correlacionados con r=0.921 y n.c.=99% y los parámetros b* y C_{ab}* totalmente correlacionados con r= 1.000. La reflectancia total (RT) se mostró significativamente correlacionada con los parámetros b*, h_{ab}*, C_{ab}* y K/S_λ600, con coeficientes de correlación de 0.852, 0.596, 0.845 y 0.424, respectivamente (Tabla AII.2 y Figura AII.1, del Anexo II).

II.4.3 Cambios de composición en las muestras tratadas

Para el control de los cambios composicionales inducidos por los tratamientos, se analizó el contenido en humedad, sólidos solubles, ácido cítrico y ascórbico, así como el pH y la actividad de agua de las muestras de la serie osmótica, ya que para las muestras tratadas isotónicamente, no se esperaban cambios relevantes en la humedad o sólidos solubles. Por otro lado, se asumió que los contenidos de ácido cítrico y ascórbico de la serie isotónica se modificarían paralelamente a lo obtenido en la serie osmótica. La Tabla II.4.2 muestra los valores medios obtenidos de los análisis de las muestras sometidas a diferentes tiempos de inmersión para todos los tratamientos, ya que no se encontraron diferencias significativas en el contenido de humedad y en los grados Brix entre las muestras sometidas a los diferentes tratamientos, durante un mismo tiempo. Esto se explica por la escasa modificación que supone la incorporación del ácido ascórbico y el ácido cítrico en la fuerza impulsora del tratamiento osmótico. Tampoco la a_w global de la muestra difirió, a un tiempo dado, para los distintos tratamientos, aunque cabe esperar que los cambios en la superficie de las muestras fueran más notables.

Tabla II.4.2 Cambios composicionales en las muestras tratadas de la serie osmótica (g/100 g muestra) ^x

Tiempo (min)	X_w	$^{\circ}\text{Bx}$	a_w
0	0.866±0.010	11.6±0.6	0.988±0.001
10	0.848±0.008	13.5±0.7	0.987±0.002
20	0.841±0.007	14.1±0.7	0.984±0.001
40	0.822±0.007	15.3±0.7	0.986±0.001
60	0.823±0.007	15.8±0.7	0.985±0.001

^x media de tres determinaciones ± derivación estándar

Como puede observarse en la Tabla II.4.2, al cabo de una hora de inmersión las muestras presentaron un mayor contenido en solutos y una ligera pérdida de agua, que sólo supuso una escasa modificación de la actividad de agua de las mismas.

Las Tablas II.4.3 y II.4.4 presentan el contenido medio de ácido cítrico y ascórbico, respectivamente, alcanzado según el tiempo de inmersión de las muestras para cada tratamiento y sus desviaciones. Los valores en la columna de cero minutos, se corresponden con las cantidades de ácido cítrico y ascórbico encontrados en la materia prima analizada.

Tabla II.4.3 Contenidos de ácido cítrico de en las muestras tratadas de la serie osmótica (g/g muestra)^{xy}

X _{AC}	0 min	10 min	20 min	40 min	60 min
T1	0.125±0.027	0.157±0.008 ^b	0.136±0.033 ^a	0.167±0.005 ^{ab}	0.149±0.025 ^a
T2	0.125±0.027	0.180±0.011 ^b	0.215±0.013 ^b	0.194±0.040 ^{bc}	0.248±0.024 ^{bc}
T3	0.138±0.038	0.217±0.024 ^{cd}	0.223±0.002 ^b	0.260±0.006 ^{de}	0.313±0.029 ^d
T4	0.138±0.038	0.118±0.008 ^a	0.123±0.020 ^a	0.141±0.027 ^a	0.150±0.029 ^a
T5	0.178±0.018	0.174±0.031 ^b	0.200±0.034 ^b	0.193±0.006 ^{abc}	0.156±0.025 ^a
T6	0.178±0.018	0.222±0.036 ^d	0.200±0.039 ^b	0.285±0.029 ^e	0.294±0.040 ^{cd}
T7	0.171±0.023	0.185±0.016 ^{bc}	0.220±0.017 ^b	0.229±0.030 ^{cd}	0.229±0.024 ^b
T8	0.171±0.023	0.271±0.011 ^e	0.226±0.035 ^b	0.262±0.056 ^{de}	0.300±0.040 ^d
Anova	0.0955	0.0000	0.0008	0.0002	0.0000

x la media de tres determinaciones ± derivación estándar
y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Tabla II.4.4 Contenidos de ácido ascórbico de en las muestras tratadas de la serie osmótica (g/g muestra)^x

X _{AA} 10 ⁶	0 min	10 min	20 min	40 min	60 min
T1	2.18±0.01	2.20±0.01	2.15±0.01	2.18±0.01	2.19±0.01
T2	2.18±0.01	2.21±0.01	2.25±0.01	2.22±0.01	2.28±0.01
T3	2.77±0.25	2.26±0.01	2.27±0.01	2.32±0.01	2.31±0.01
T4	2.77±0.25	4.92±0.40	3.47±0.33	7.05±0.69	0.76±0.10
T5	1.47±0.16	1.58±0.22	4.99±0.15	6.24±0.83	2.89±0.25
T6	1.47±0.16	2.28±0.16	2.66±0.03	1.81±0.24	1.88±0.25
T7	2.44±0.20	1.47±0.06	2.37±0.16	4.46±0.05	1.19±0.80
T8	2.44±0.20	2.04±0.11	2.87±0.25	2.26±0.08	1.15±0.11

x media de tres determinaciones ± derivación estándar

Los contenidos de ácido ascórbico no alcanzaron en ningún caso el contenido de 1mg de ácido ascórbico por 100 gramos de muestra, presentando concentraciones inferiores a las encontradas en la bibliografía para pera fresca

(0.5-23 mg/100g; Primo, 1997). Los incrementos en ácido ascórbico que cabía esperar derivados de aumentar el tiempo de inmersión del tratamiento, no se han llegado a registrar posiblemente debido a la pérdida de esta vitamina durante la congelación de las muestras previa al análisis (González y Pujolá, 1995). Aun así, en los tratamientos que sólo contenían este agente antipardeante, T4 (45°Bx+0.5%AA) y T5 (45°Bx+1%AA), sí parece observarse un incremento de las cantidades de ácido con el tiempo de inmersión. También el T7 (45°Bx+0.75%AA+0.25%AC) muestra, como el T5, un aumento de X_{AA} hasta los 40 min de inmersión, para disminuir a los 60 min. Por otra parte, estas pequeñas variaciones medidas podían deberse al efecto de concentración al incrementarse la deshidratación de la muestra.

Por otra parte, los análisis del contenido en ácido cítrico de las muestras (Tabla II.4.3) a diferentes tiempos de inmersión, sí que registraron un ligero aumento de este ácido con el avance del proceso, más acusado en aquellos tratamientos con mayor proporción de ácido cítrico en la solución de inmersión (T3 y T8).

La Tabla II.4.5 muestra los valores medios y las desviaciones del pH de las muestras sometidas a diferentes tiempos de inmersión para cada tratamiento.

Tabla II.4.5 pH de las muestras tratadas en la serie osmótica^x

pH	0 min	10 min	20 min	40 min	60 min
T1	4.87±0.03	4.86±0.11	4.95±0.18	4.76±0.14	4.84±0.09
T2	4.87±0.03	4.59±0.05	4.50±0.13	4.42±0.15	4.42±0.13
T3	4.80±0.06	4.45±0.13	4.30±0.08	4.15±0.13	4.14±0.11
T4	4.80±0.06	4.77±0.05	4.74±0.03	4.73±0.14	4.60±0.07
T5	4.67±0.03	4.73±0.06	4.62±0.11	4.64±0.11	4.62±0.06
T6	4.67±0.03	4.42±0.06	4.38±0.10	4.29±0.06	4.26±0.04
T7	4.65±0.02	4.51±0.10	4.50±0.05	4.37±0.07	4.35±0.08
T8	4.65±0.02	4.36±0.04	4.31±0.13	4.14±0.10	3.85±0.12

x media de tres determinaciones ± derivación estándar

Excepto en los tratamientos que no incorporan ácido cítrico (T1 (45°Bx), T4 (45°Bx+0.5%AA) y T5 (45°Bx+1%AA)), el pH de las muestras disminuye al aumentar el tiempo de inmersión, para un tratamiento dado. Este efecto de disminución del pH en los tratamientos con ácido cítrico a medida que se aumenta el tiempo de inmersión debe estar provocado por la ganancia de este ácido por las muestras, ya que las mayores variaciones de pH se detectaron en los tratamientos con mayor proporción del mismo (T3 y T8). Sin embargo, dado que las ganancias de ácido cítrico al aumentar el tiempo de inmersión son de un orden de magnitud como máximo del 1% g AC ganado respecto a la masa inicial, se asume que no se han podido registrar los cambios de composición, que tienen lugar sobre todo a nivel superficial de la muestra, al analizar el conjunto de la misma. El estudio de la difusión del ácido cítrico con el tiempo o en función de la concentración en la disolución, no ha sido posible ya que las ganancias de ácido cítrico medidas fueron del orden del error experimental.

II.4.3 Estudio de las propiedades ópticas de muestras tratadas y controles

Para el estudio de las muestras tratadas isotónica u osmóticamente junto con sus respectivos controles, se procedió a realizar un estudio de la matriz de correlación de los siete parámetros colorimétricos L^* , a^* , b^* , h_{ab}^* , C_{ab}^* , $K/S\lambda_{600}$ y RT para todos los cilindros tratados con ambas series y para cada día de almacenamiento (Tabla AII.3, del Anexo II), con el objetivo de verificar si las correlaciones mostradas por las peras control a tiempo cero de almacenamiento se mantenían a lo largo de éste. Este estudio se mostró semejante al realizado para las muestras control, con las siguientes conclusiones:

- (i) Los análisis mostraron primeramente para la serie isotónica (Figuras AII.2 y AII.3 del Anexo II), que el parámetro L^* continuó presentando una fuerte correlación ($r=0.984$) con la translucidez ($K/S\lambda_{600}$). La coordenada a^* y el tono

(h_{ab}^*) también se mostraron significativamente correlacionados ($r=-0.976$), así como los parámetros b^* y C_{ab}^* ($r=1.000$), y ambos con la RT ($r=0.713$).

(ii) para la serie osmótica se encontraron también correlacionados L^* y $K/S\lambda 600$ ($r=0.911$), a^* inversamente correlacionado ($r=-0.938$) con h_{ab}^* y b^* con C_{ab}^* ($r=1.000$) y ambos con RT ($r=0.854$).

Estos resultados indican que el color de cada cilindro puede ser perfectamente caracterizado sobre la base de solo tres coordenadas: L^* , h_{ab}^* y C_{ab}^* , con la ventaja de que dichos parámetros se corresponden, en mayor grado, con los atributos de percepción visual y el carácter psicométrico del color (Hutchings, 1999).

II.4.3.1 Efecto del carácter isotónico u osmótico de la solución sobre el color de las muestras

El diseño experimental considerado contempla para las experiencias de color cuatro factores, (i) tipo de solución (isotónica u osmótica), (ii) tratamiento (T1-T9), (iii) tiempo de inmersión (10, 20, 40 y 60 min) y (iv) tiempo de almacenamiento (0 a 96h) a temperatura de refrigeración. El análisis de la varianza para los parámetros L^* , h_{ab}^* y C_{ab}^* con los cuatro factores muestra que todos los factores resultaron significativos, así como sus interacciones, excepto tratamiento-inmersión-almacenamiento y la interacción de los cuatro factores (Tabla AII.4 del Anexo II). A partir de la magnitud de los valores de significación (valores de F) se concluyó que el factor "tipo de solución" es el más significativo y el factor "tratamiento", el menos (Figura AII.4, del Anexo II). A partir de estas conclusiones obtenidas del estudio estadístico, se tomó la decisión de analizar los resultados de las series isotónica y osmótica por separado, tal y como se realiza a continuación.

II.4.3.2 Serie isotónica

II.4.3.2a Efecto del tiempo de almacenamiento

La evolución de L^* , h_{bb}^* y C_{ab}^* de las muestras de la serie isotónica a lo largo del almacenamiento se representa en las Figuras II.4.1, II.4.2 y II.4.3. Se ha limitado el estudio a dichos parámetros por los motivos expuestos en el apartado anterior.

Como se puede observar, la luminosidad L^* y el tono h_{bb}^* descienden a medida que aumenta el tiempo de almacenamiento, reflejando la pérdida de blancura ($\Delta L^* = 17.8$, diferencia máxima entre 0 a 96h) y la formación de coloraciones pardo-rojizas ($\Delta h_{ab}^* = -4.6$, diferencia máxima entre 0 a 96h).

La luminosidad presentó una marcada caída (50% del total) a las 24 horas de almacenamiento, significativa en todos los tratamientos y en el control. A partir de 24 hasta 96h, los descensos fueron de carácter significativo para todos los tratamientos excepto para T1 (14°Brix) y T9 (control) (Tabla AII.5, del Anexo II). Estos resultados fueron similares a los encontrados por Dong *et al.*, (2000) quienes registraron una caída exponencial en L^* durante las primeras etapas del almacenamiento en refrigeración de rodajas de pera MP var. *Bartlett*, *Bosc* y *Anjou* tratadas con soluciones antipardeantes, que contenían en su formulación ácido ascórbico (1%). Indistintamente del tiempo de almacenamiento, los cilindros controles (T9) mostraron una L^* superior a los demás tratamientos, seguido del T1(14°Brix).

En cuanto al tono (Figura II.4.2), las muestras control sufrieron una brusca caída al cabo de 24h de almacenamiento (Tabla AII.5, del Anexo II). A partir de aquí, los cambios en h_{ab}^* de las muestras control no fueron, en general, significativos. Para las muestras tratadas el descenso fue más gradual hasta las 48h y a partir de ese tiempo, el tono en las muestras tratadas no varió

significativamente (Tabla AII 5, del Anexo II). Por tanto, se puede decir que, la evolución del tono de las muestras y los controles fue similar, siendo más rápida en los controles.

La evolución del C_{ab}^* fue diferente para los controles y las muestras tratadas (Figura II.4.3). Los controles aumentaron ligeramente la pureza de color a lo largo del almacenamiento, mientras que en general en las muestras tratadas disminuyó. Estas variaciones no fueron significativas, excepto para el T2 (0.5% de AC) (Tabla AII. 5, del Anexo II).

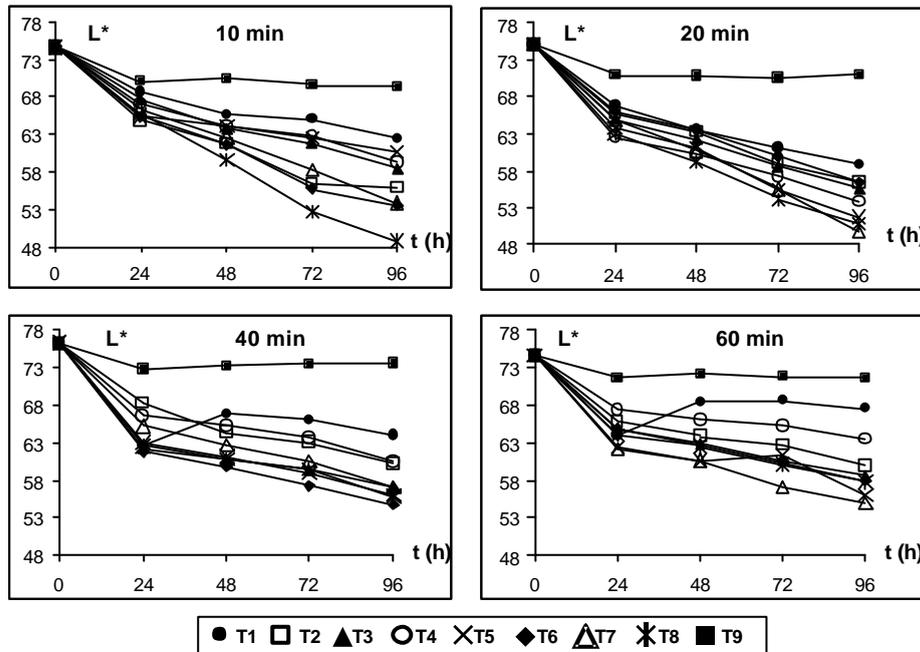


Figura II.4.1 Evolución de L^* en función del tiempo de almacenamiento para los diferentes tiempos de inmersión de las muestras de la serie isotónica.

II.4.3.2b Efecto del tipo de tratamiento

A partir de las Figuras II.4.1, II.4.2 y II.4.3, se puede observar que los distintos tratamientos dieron lugar a una evolución del color diferente.

En cuanto a la L^* (Figura II.4.1), el tratamiento control (T9) presentó los mayores valores de L^* , a cualquier tiempo de inmersión (Tabla AII.7, del Anexo II). Parece que la operación de inmersión de las muestras en las disoluciones, da lugar, por sí mismo, a cambios importantes en L^* , lo que podría deberse al bajo pH de las mismas. Tijskens *et al.*, (2001) encontraron que el color en brócoli escaldado era altamente dependiente de pH del medio. Así, a pH's ácidos (pH 3 a 4) se produjo una pérdida muy rápida del color original, explicado por la gran capacidad de los ácidos para introducirse a través de las membranas celulares, alterando el pH interno y causando desordenes bioquímicos.

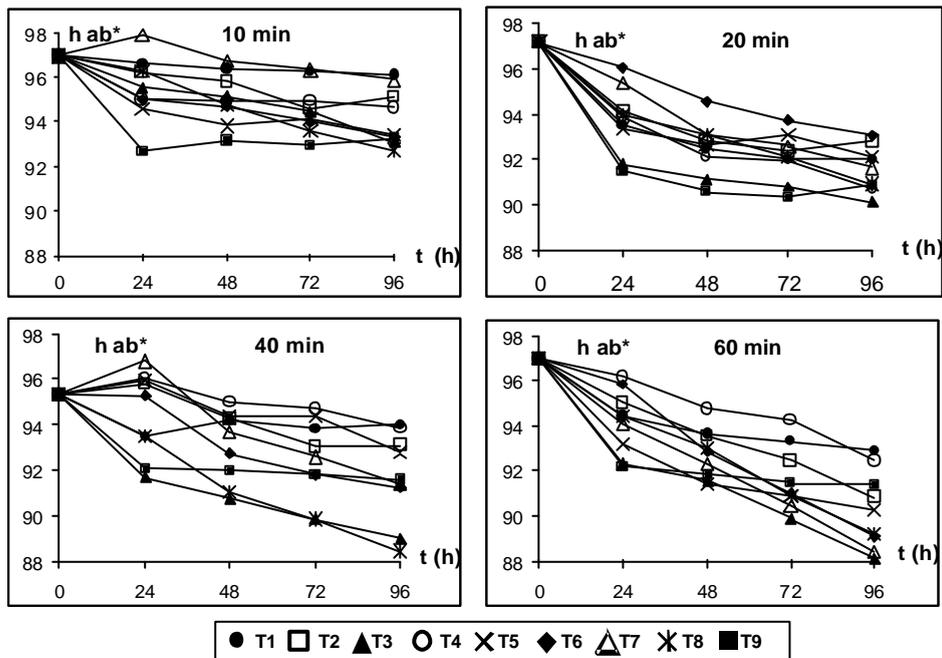


Figura II.4.2 Evolución del h_{ab}^* en función del tiempo de almacenamiento para los diferentes tiempos de inmersión de las muestras de la serie isotónica.

A las 24h de almacenamiento no se apreció ninguna diferencia significativa entre los tratamientos (T1-T8) para L^* , pero a partir de 48h, T1 (14°Brix con pH de 6.5) presentó los valores significativamente más elevados de L^* con

respecto a los demás (Tabla AII.6, del Anexo II), seguramente por su pH más elevado (6.5) (Tabla II.3.1)

Durante todo el almacenamiento, no existieron diferencias significativas de L^* entre los tratamientos T2, 3, 4, 5 entre sí (que contenían 0.5 y 1% de AC y 0.5 y 1% de AA, respectivamente) ni entre los tratamientos T6, 7, 8 entre sí (con combinaciones de AC y AA) (Tabla AII.6, del Anexo II). Por tanto, según los valores encontrados para L^* , se puede establecer el siguiente orden de preferencia para los tratamientos: T9 (control) > T1 > T2 a T5 > T6 a T8. Esto indica que el progreso del oscurecimiento fue menor en muestras no tratadas (sin AC ni AA), y contrariamente a lo esperado, la combinación de ambos da lugar a un mayor oscurecimiento de las muestras.

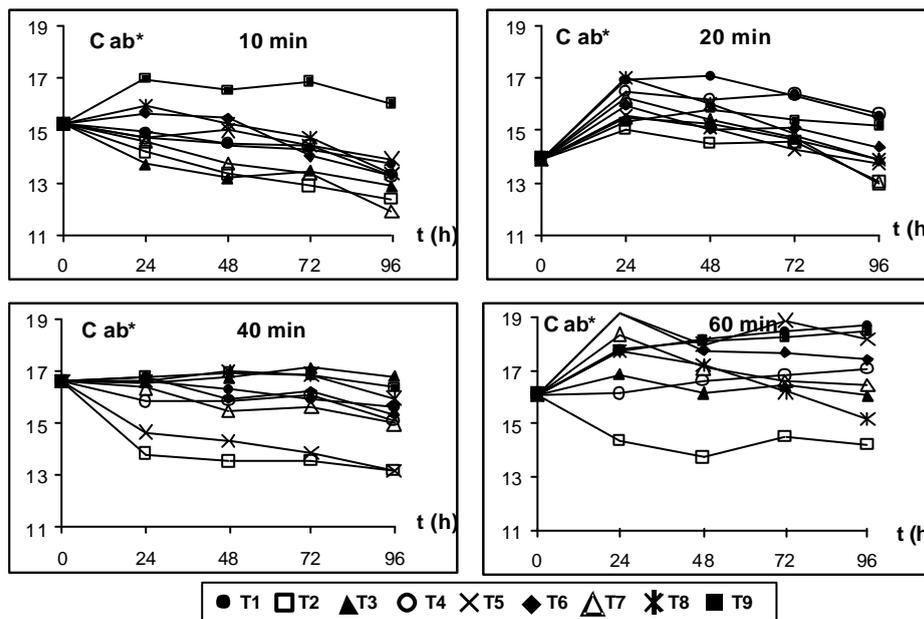


Figura II.4.3 Evolución del C_{ab^*} en función del tiempo de almacenamiento para los diferentes tiempos de inmersión de las muestras de la serie isotónica.

Por otro lado, todos los cilindros tratados presentaron a las 24h (Tabla AII.6, del Anexo II) un tono similar, y significativamente menos rojo que el control,

excepto el T3 (1% AC) que no mostró diferencias significativas con el mismo. Para el resto de tiempos de almacenamiento, el menor desarrollo de tonos rojizos fue para los tratamientos T1, 2, 4 y 7 a 48h, T1, 4 y 7 a 72h y a 96h.

Con lo que respecta al C_{ab}^* (Figura II.4.3), no se han encontrado diferencias significativas importantes entre los diferentes tratamientos (Tabla AII.6, del Anexo II).

De todos estos resultados se puede concluir que el cambio tan prejudicial en el color de las muestras tratadas podría estar potenciado por el pH de las soluciones (2.1 a 2.8). Según Blanco y Caballero (2002) y Primo (1997), en pera fresca, existen compuestos dímeros derivados de los antocianos tales como antocianidinas, cianidinas o leucoantocianidinas (encontrándose estos últimos hasta el 1% en algunas variedades de peras), que aunque incoloros, en determinadas ocasiones se pueden oxidar a compuestos que proporcionan colores rosados o rojizos (como las antocianinas) a los tejidos. Dichos compuestos pueden experimentar una escisión de carácter irreversible a bajos valores de pH, dando lugar a la formación de compuestos α -difenoles con una estructura muy similar al catecol (el sustrato por excelencia de la PPO), viéndose altamente beneficiadas las reacciones de pardeamiento enzimático (Jiang, 2000; Richarson y Finley, 1985).

II.4.3.2c Efecto del tiempo de inmersión

Como se observa en la Figura II.4.1, la luminosidad L^* presenta valores muy semejantes a lo largo de los cuatro tiempos de inmersión empleados. Sin embargo, a partir de un tiempo de inmersión de 20 min, se empiezan a detectar aumentos significativos en el parámetro L^* respecto a los otros tiempos de inmersión (Tabla AII.6 y Figura AII.4, del Anexo II).

La influencia del tiempo de inmersión en el h_{ab}^* (Figura II.4.2) muestra que, inmersiones de 10 min dieron lugar a cilindros significativamente menos

enrojecidos, a cualquier tiempo de almacenamiento, mientras que las diferencias entre inmersiones de 20, 40 y 60 min no fueron apreciables (Tabla AII.7, del Anexo II). Del análisis de la varianza resulta significativa la interacción tratamiento-tiempo de inmersión (Tabla AII.4, del Anexo II). No obstante, el conjunto de los tratamientos no presentó una pauta en general definida, ya que por ejemplo, al aumentar el tiempo de inmersión, el h_{ab}^* aumenta o disminuye. Así se deduce que para el h_{ab}^* , el efecto del factor tiempo de inmersión tiene menor peso que el factor tratamiento.

El efecto del tiempo de inmersión sobre el croma (Figura II.4.3) muestra que al aumentar éste, se obtienen valores significativamente más elevados. Dentro de un mismo tratamiento, el tiempo de inmersión provocó cambios significativos en el croma de las muestras en los tratamientos T1, 3, 5, 6 y 7 (Tabla AII.7, del Anexo II). Es de destacar que muestras con inmersiones de 40 y 60 min y el control desarrollaron colores más puros, e inmersiones de 10 y 20 min originaron colores menos puros (Figura AII.4, del Anexo II).

II.4.3.3 Serie osmótica

A continuación se detallan los efectos producidos por las soluciones osmóticas sobre el color de las muestras. En general, se puede afirmar que los cambios ocasionados debido a los tratamientos siguieron las mismas tendencias encontradas para la serie isotónica, aunque los cambios producidos fueron bastante más pronunciados.

II.4.3.3a Efecto del tiempo de almacenamiento

Al igual que para la serie isotónica, en las muestras tratadas con soluciones osmóticas se detectó un descenso en L^* y h_{ab}^* a medida que avanzó el tiempo de almacenamiento, manifestándose el oscurecimiento y pardeamiento de las muestras ($\Delta L^*_{\text{máximo}}=-33.79$; $\Delta h_{ab}^*_{\text{maximo}}=-5.0$) (Figuras II.4.4 y II.4.5).

Dichos cambios fueron graduales y de carácter significativo para L^* de 0 a 96h y para h_{ab}^* de 24 a 96h (Tabla AII.8, del Anexo II).

La mayor caída (60%) se observó durante las primeras 24h, al igual que en la serie isotónica. La evolución de L^* de las muestras con el tiempo de almacenamiento fue dependiente del tiempo de inmersión de las mismas, de modo que tratamientos cortos de inmersión (10-20 min) dieron lugar a los descensos más suaves, prácticamente constantes durante el periodo de 24 a 96h. En cambio, tratamientos de inmersión de 40-60 min, provocaron los descensos más abruptos y acusados, con carácter significativo a lo largo de todo el almacenamiento.

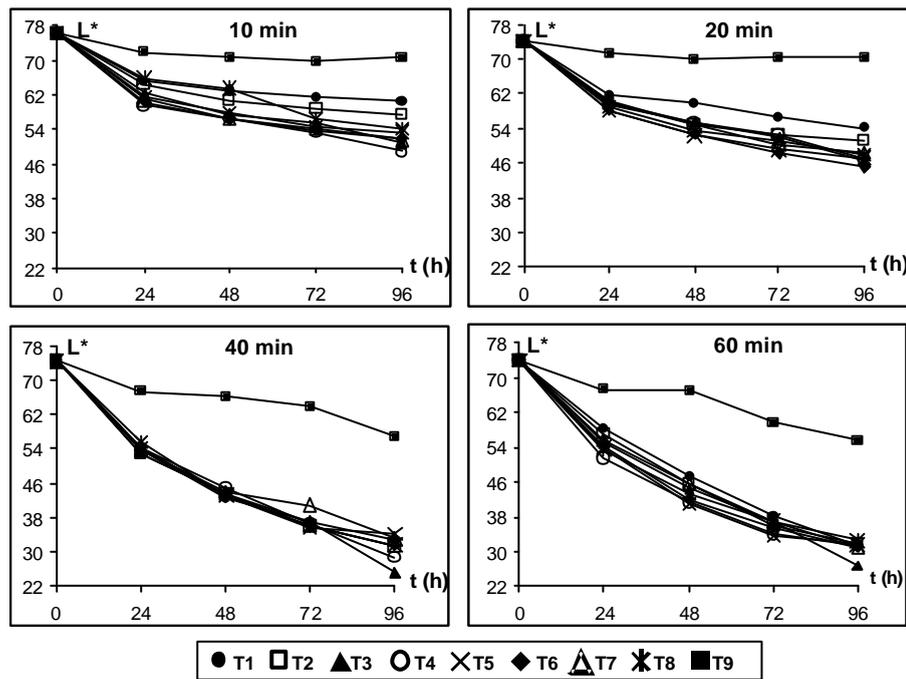


Figura II.4.4 Evolución de L^* en función del tiempo de almacenamiento para los diferentes tiempos de inmersión de las muestras de la serie osmótica.

En cuanto al parámetro h_{ab}^* , la Figura II.4.5 muestra como a medida que avanza el tiempo de almacenamiento, el tono de las muestras vira de

coloraciones amarillo-verdosas a tonalidades amarillo-rojizas para todos los tratamientos (Figura AII.4, del Anexo II). Las muestras control fueron las que mostraron mayores coloraciones pardo-rojizas, hasta las 72h de almacenamiento (Tabla AII.9, del Anexo II).

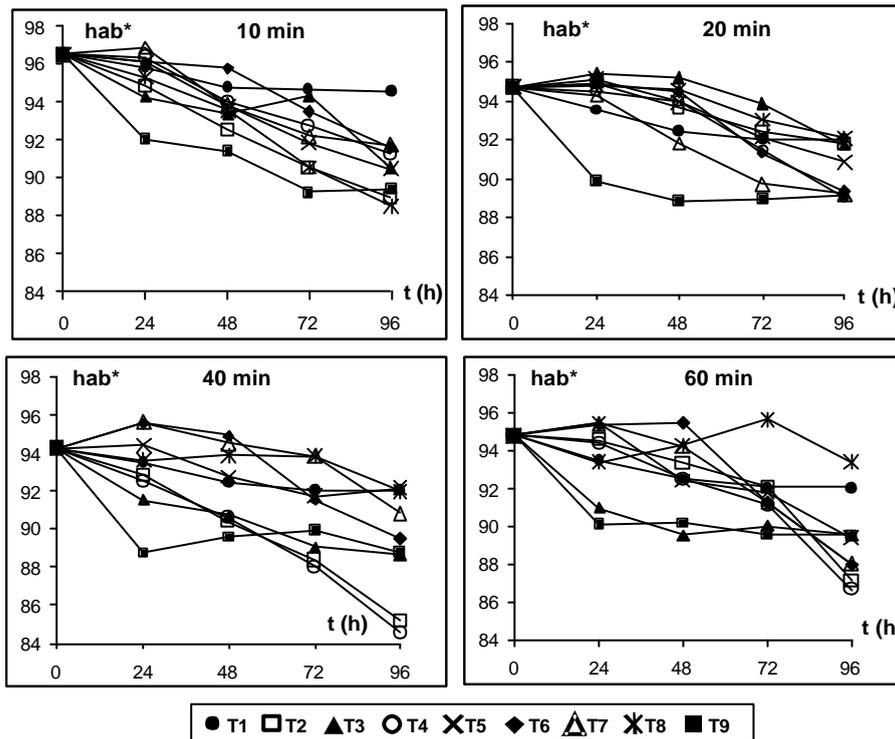


Figura II.4.5 Evolución del h_{ab}^* en función del tiempo de almacenamiento para los diferentes tiempos de inmersión de las muestras de la serie osmótica.

Como se observa en la Figura II.4.6, la evolución del croma de las muestras durante el almacenamiento fue dependiente del tiempo de inmersión de las muestras. Los tratamientos cortos (10-20 min) dieron lugar a variaciones similares del croma, presentando ligeras disminuciones durante el almacenamiento (Figura AII.4, del Anexo II). Por el contrario, en los tratamientos largos de inmersión (40-60 min) se produjo un descenso pronunciado del croma a partir de las primeras 24h en todos los tratamientos, excepto en el T1 (14° Brix) y en el control (T9). Así, estos tratamientos T1 y T9

presentaron las menores variaciones en el croma durante el almacenamiento, independientemente del tiempo de inmersión de las muestras (Tabla AII.8, del Anexo II).

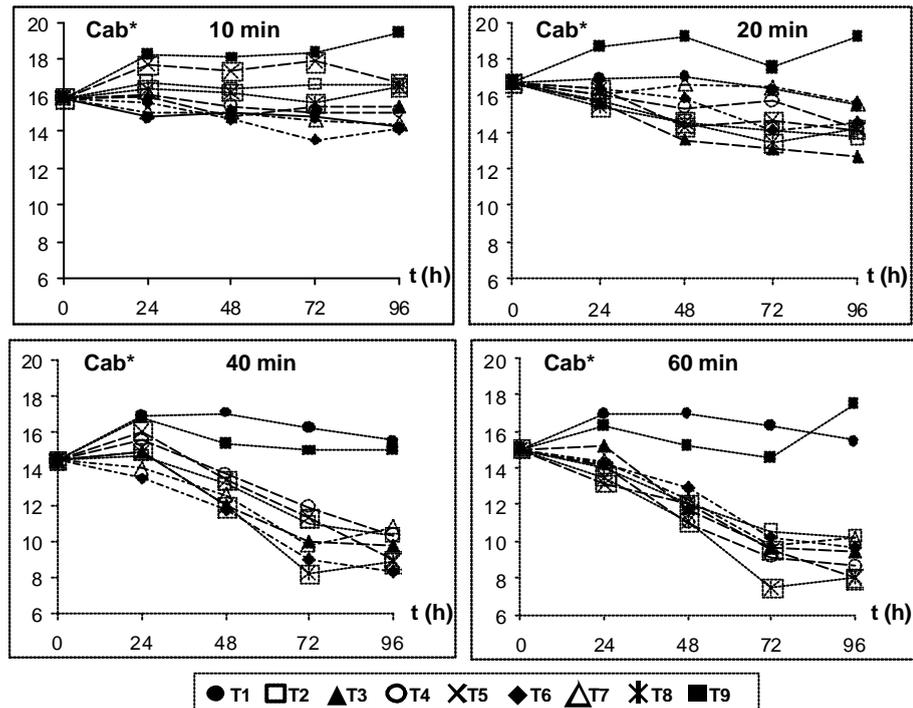


Figura II.4.6 Evolución del C_{ab}^* en función del tiempo de almacenamiento para los diferentes tiempos de inmersión de las muestras de la serie osmótica.

II.4.3.3b Efecto del tipo de tratamiento

Del mismo modo que para la serie isotónica, las mayores diferencias significativas se encontraron entre la muestra control (T9) y el resto de tratamientos (Tabla AII.9, del Anexo II). La muestra control presentó una mayor luminosidad, un tono más rojizo y colores más saturados (Figuras II.4.1 – II.4.3).

Entre el resto de tratamientos, no se apreciaron, en general, diferencias significativas ($p > 0.05$) que dieran lugar a un mejor mantenimiento de la luminosidad, tono o croma de las muestras (Tabla AII.9, del Anexo II).

II.4.3.3c Efecto del tiempo de inmersión

El efecto del tiempo de inmersión sobre las variables cromáticas estudiadas L^* , h_{ab}^* y C_{ab}^* , fue dependiente de su magnitud. Por un lado, tratamientos de inmersión cortos (10-20 min), al compararlos con los tratamientos largos, dieron lugar a cambios significativamente menores, sobre todo en L^* y C_{ab}^* . Los tratamientos largos de inmersión de las muestras (40-60 min) provocaron las disminuciones de L^* , h_{ab}^* y C_{ab}^* más acusadas a cada tiempo de almacenamiento, dando lugar a colores más oscuros, pardos y menos saturados (Tabla AII.10, del Anexo II).

De estos resultados se concluye que el aumento del tiempo de inmersión incrementa los efectos osmóticos sobre el tejido vegetal, dando lugar a una potenciación del pardeamiento enzimático. Parece que el mayor estrés del tejido, junto con el efecto del pH de la solución, están implicados en la activación de este tipo de reacciones. Resultados similares han sido obtenidos por Monsalve-González *et al.*, (1993) en rodajas de manzana MP donde se combinaba la técnica de deshidratación osmótica (52°Bx de sacarosa) y la eficacia de agentes antipardeantes (ácido cítrico, ácido ascórbico y 4-hexilresorcinol), o antimicrobianos (ácido sórbico). Estos autores encontraron que el aumento del tiempo de inmersión (1, 3 y 10h) intensifica el oscurecimiento de las muestras, reflejado por la disminución en el valor de la coordenada L^* a lo largo del almacenamiento, siendo más pronunciado en muestras que contenían en su formulación ácido cítrico (0.2%p/v) y ácido ascórbico (0.25%p/v). Del mismo modo, Rodríguez *et al.*, (2003) muestran un descenso significativo de L^* en papaya MP durante la primera hora de tratamiento osmótico a 50°C, con una solución que contenía 70°Bx de sacarosa, ácido cítrico (0.1M) y lactato de sodio (0.4M).

El estrés osmótico también puede ser la causa de una mayor producción de antocianinas. Suzuki (1995) y Sato *et al.*, (1996), encontraron en estudios realizados sobre células de uva, que el aumento de la concentración del agente osmótico (manitol o sacarosa) causaba un incremento en la producción de antocianinas, más acusada a bajos valores del pH del medio (4.5) frente a pH neutros (7.0).

El efecto del descenso de la a_w encontrado en el estudio es coherente con lo encontrado para otros tipos de tejidos. Sajnin *et al.*, (2003) observan en pepinos que la actividad de varias enzimas se incrementó después de la inmersión en soluciones hipertónicas de polietilenglicol, probablemente como resultado del daño en el tejido. Observaciones similares han sido publicadas también por Tovar *et al.*, (2001) para rodajas de mango deshidratado osmóticamente durante 30 min a 30°C con sacarosa 65°Bx, en las cuales parece incrementarse la actividad de algunos enzimas.

Cuando la célula se encuentra rodeada por una solución hipertónica (con contenido en solutos más elevado y un potencial osmótico más negativo), la eliminación continuada del agua concentra el contenido vacuolar (Le Maguer, 1997), disminuye a cero la presión de turgencia, se produce un colapsamiento celular (Fito y Chiralt, 1997), se altera la pared celular, se produce una separación de la lamina media y se presentan alteraciones en la funcionalidad de la membrana plasmática (Alzamora *et al.*, 1997). Estos fenómenos podrían también estar implicados en el acusado pardeamiento desarrollado por las muestras de pera *var. Blanquilla* de este estudio.

II. 5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El fenómeno de pardeamiento se traduce en un descenso de la luminosidad, una evolución del tono hacia valores más próximos al rojo y una variación de la saturación que puede ir hacia valores mayores (desde el pequeño valor de la pera inicial blanca), o hacia valores menores por la gran concentración de pigmentos o por su carácter negruzco. La translucidez de las muestras, evaluada por el cociente $K/S_{\lambda 600}$, presentó una elevada correlación con el parámetro L^* , lo que indica que las muestras se hacen tanto más opacas a medida que se oscurecen. Atendiendo a estas consideraciones, los parámetros L^* y h^*_{ab} son los mejores indicadores del nivel de pardeamiento de la pera. De todos los factores analizados sobre el pardeamiento de la pera *var. Blanquilla* se deducen las siguientes conclusiones:

- (i) Se da una gran influencia de la materia prima en el pardeamiento del producto, evolucionando de forma diferente lotes distintos de producto.
- (ii) Contrariamente a lo esperado la deshidratación parcial del producto y la consecuente disminución de la a_w superficial de las muestras no resultó beneficiosa para inhibir el pardeamiento enzimático, posiblemente por la liberación de las enzimas de las membranas celulares ya que, al resultar éstas alteradas por la deshidratación, se favorece la acción enzimática. Además, el estrés osmótico al que está sometido el tejido puede ocasionar un incremento en la concentración de substratos altamente sensibles a la reacción de pardeamiento.
- (iii) El efecto del ácido cítrico fue en el sentido de potenciar el pardeamiento tanto en tratamientos osmóticos como en isotónicos. Esto indica que ni el efecto del descenso del pH, ni el efecto quelante del compuesto fueron efectivos en la inhibición del pardeamiento.
- (iv) El efecto del ácido ascórbico no resultó tampoco eficaz en la inhibición del pardeamiento de pera *var. Blanquilla*.

(v) Asimismo, las mezclas ácido ascórbico-ácido cítrico no inhibieron el pardeamiento enzimático en pera *var. Blanquilla*.

(vi) En cuanto a la influencia del tiempo de inmersión de las muestras en las diferentes disoluciones de tratamiento, fue diferente para la serie isotónica y para la osmótica, siendo en ésta última más acusada por el progreso de la deshidratación. Se observa que a medida que aumenta el tiempo de tratamiento, con el consecuente descenso de la a_w de la muestra, se potencia más el pardeamiento. Así el progreso del pardeamiento con el almacenamiento fue mucho más intenso para tiempos de tratamiento osmótico de 40 y 60 min que para tiempos de tratamiento de 10 y 20 min, observándose un incremento progresivo de la cinética de pardeamiento a medida que aumenta el tiempo de tratamiento osmótico de 10 a 40 min. A partir de 40 min no se observa un mayor efecto.

A partir de estos resultados, se recomienda para el procesado mínimo de pera *var. Blanquilla* el ensayo de tratamientos antipardeantes en medio neutro e isotónico y utilizando otras sustancias antipardeantes como el 4-hexylresorcinol, cisteína, ácidos carboxílicos, sales de compuestos halogenados, etc. Asimismo el uso de sales de calcio para reducir la rotura y el ablandamiento del tejido podría ser de interés.

II.6 BIBLIOGRAFIA

A

- Abbott, J. A. (1999) Quality measurement of fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 15(3): 207-225.
- Alzamora, S. M.; Gerschenson, L. N.; Cerrutti, P.; Rojas, A. M. (1989) Shelf-stable pineapple for long-term non-refrigerated storage. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 22(5): 233-236.
- Alzamora, S. M.; Gerschenson, L. N.; Vidales, S. L.; Nieto, A. (1997) Structural changes in minimal processing of fruits: some effects of blanching and sugar impregnation. En *Food Engineering 2000*, Fito, P.; Ortega-Rodríguez, E.; Barbosa-Canovas, G. Eds., Chapman and Hall, New York. 117-139.
- Alzamora, S. M.; Tapia, M. S.; Argaiz, A.; Welli, J. (1993) Application of combined methods technology in minimally processed fruits. *Food Research International*, 26(2): 125-130.
- Alzamora, S. M.; Tapia, M. S.; Welti-Chanes, J. (1998) New strategies for minimally processed foods. The role of multitarget preservation. *Food Science and Technology*, 4(5): 353-361.

- AOAC (1980) (1995) Official Methods of Analysis 13th y 17th Eds. Washington, D. C. *Association of Analytical Chemists International*. [cd-roms].
- Argaiz, A. López-Malo, A. Welti, J. (1995) Considerations for the development and the stability of high moisture fruit products during storage. En *Fundamentals and Applications of Food Preservation by Moisture Control*. Barbosa-Cánovas, G. V. & Welti, J. Eds., Isopow Practium II. Lancaster, Technomic Publishing Co., 729-760.
- Artés, F.; Gomez, P. A.; Artes-Hernandez, F. (2002) Physical, physiological and microbial changes in processed fresh fruit and vegetables. *Alimentaria*, (335): 69-74.
- Azcon-Bieto, J.; Talon, M. (2000) Fisiología de las plantas y el estrés. En *Fundamentos de fisiología vegetal*. 481-498. McGraw-Hill Interamericana: Barcelona: Eds., Universitat de Barcelona.

B

- Barceló, J.; Nicolás, G.; Sabater, B.; Sánchez, R. (2001) Relaciones hídricas en la célula. En *Fisiología Vegetal*, 49-57. Eds., Pirámide, España.
- Birth, G. S. (1976) How light interacts with foods. En *Quality detection in foods*. J. J. Caffney, 6-11.
- Blanco, C.; Caballero, I. (2002) Decoloration of fruits during storage and processing. *Alimentaria*, (331): 77-82.
- Buta, J. G.; Moline, H. E.; Spaulding, D. W.; Wang, C. Y. (1999) Extending storage life of fresh-cut apples using natural products and their derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(1): 1-6.

C

- Chafer, M.; Gonzalez-Martinez, C.; Ortola, M. D.; Chiralt, A. (2001a) Long term osmotic dehydration processes of orange peel at atmospheric pressure and by applying a vacuum pulse. *Food Science and Technology International*, 7(6): 511-520.
- Chafer, M.; Gonzalez-Martinez, C.; Ortola, M. D.; Chiralt, A.; Fito, P. (2001b) Kinetics of osmotic dehydration in orange and mandarin peels. *Journal of Food Process Engineering*, 24(4): 273-289.
- Chiralt, A (2002) Cambios en las propiedades ópticas durante el procesado de vegetales. *Actas del 2º Congreso Español de Ingeniería de Alimentos (CESIA-2002)* [cd-rom]. (2002). Lleida: Universitat de Lleida. ISBN 84-8409-162-7.
- Corlett, D. A.; Brown, M. H. (1980) pH y acidez. En *Ecología Microbiana de los Alimentos*, Silliker, J. H.; Elliot, R. P.; Baird-Parker, A. C.; Bryan, F. L. Eds., Acribia Zaragoza, España.

D

- Dalla Rosa, M.; Bressa, F.; Mastrocola, D.; Pitita, P. (1995) Use of osmotic treatments to improve the quality of high moisture minimally processed fruits. *Proceedings of the Second International Symposium on Osmotic Preconcentration of Fruits and Vegetables*, p. 69 Warsaw, Poland.
- Dong, X.; Wrolstad, R. E.; Sugar, D. (2000) Extending shelf life of fresh-cut pears. *Journal of Food Science*, 65(1): 181-186.
- Duxbury, D. D. (1988) Stabilizer blend extends shelf life of fresh fruit and vegetables. *Food Processing*, 49(9): 98-102.

F

- Fennema, O. R. (2000) Agua y hielo. En *Química de los alimentos*, p. 19-103. Owen R. Fennema Eds., Acribia, Zaragoza.
- Fito P., Chiralt A., (1997) Osmotic dehydration. An approach of the modelling of solid food liquid operations. En: *Food Engineering 2000*, Fito P., Ortega-Rodríguez E., Barbosa-Cánovas G.V. Eds., 231-252. New York: Chapman and Hall.

G

- Giannuzzi, L.; Lombardi, A. M.; Zaritzky, N. (1995) Diffusion of citric and ascorbic acids in pre-peeled potatoes and their influence on microbial growth during refrigerated storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 68(3): 311-317.

- Gonzalez, C.; Pujola, M. (1995) Changes in sugars, organic acids and vitamin C in Blanquillas pears during refrigerated storage. *Alimentaria*, (268): 49-52.
- Gould, G. W.; Brown, M. H.; Fletcher, B. C. (1983) Mechanisms of action of food preservation procedures. En *Food Microbiology: Advances and prospects*. Roberts, T. A. & Skinner, F. A., Eds., Academic Press, London.

H

- Haard, N. F. (1983) Stress metabolites. Plant immunity, New York: Plenum Press. (46): 299-314.
- Hie-Joon, Kim (1995) Inhibition of enzymatic browning reaction by sulfite. *Journal of Chemical Education*, 72(3): 242-243.
- Hutchings, J. B.: (1999) Food colour and appearance. 2nd Ed. Gaithersburg, Md. Aspen Publishers

J

- Jiang, Y. (2000) Role of anthocyanins, polyphenol oxidase and phenols in lychee pericarp browning. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(3): 305-310.

L

- Lazarides, H. N. (1994) Osmotic dehydration: developments and prospects. En *Minimal Processing and Process Optimisation of Foods: an interface*, p. 73. Singh R. P. & Oliveira, F. Eds., CRC Press Boca Raton, Fl.
- Lazarides, H. N.; Fito, P.; Chiralt, A. Gekas, A.; Lenart, H. (1999) Advances in osmotic dehydration. En *Processing Foods: quality optimisation and process assessment*. Eds., CRC Press LLC, 11: 175-199.
- Le Maguer, M. (1989) Osmotic dehydration: Review and future directions. En *Proceedings of the International Symposium on Progress in Food Preservation* (1): 283, Brussels, Belgium.
- Le Maguer, M. (1997) Mass transfer modelling in structured foods. En *Food Engineering 2000*, Fito, P.; Ortega-Rodríguez, E.; Barbosa-Canovas, G. Eds., Chapman and Hall, New York. 253-269.
- Le Maguer, M.; Yao, Z. (1995) Mass transfer during osmotic dehydration at the cellular level. En *Food Preservation by Moisture Control, Fundamentals and Application*. (Barbosa-Canovas, G.; Welti-Chanes, J. eds) Lancaster: Technomic Publishing Co., Inc.
- Leistner, L.; Rodel, W. (1976) The stability of intermediate moisture foods with respect to microorganisms. En *Intermediate Moisture Foods*. R. Davies, G. G. Birch & K.J. Parker, Eds., 120-137.
- Lombardi, A. M.; Zaritzky, N. E. (1996) Simultaneous diffusion of citric acid and ascorbic acid in prepeeled potatoes. *Journal of Food Process Engineering*, 19(1): 27-48.

M

- Mayor L., Sereno A. M. (2002) Kinetics of Colour Changes during Continuous Osmotic Dehydration of Pumpkin. En Cao, C. W.; Liu, X. D.; Pan, Y. K.; Qu, Y. X.; 'Drying' 2002 *Proceedings of the 13th International Drying Symposium (IDS' 2002)* (27-30 August, Beijing, China), Volume B: 978-985.
- Monsalve-Gonzalez, A.; Barbosa-Canovas, G. V.; Cavalieri, R. P.; McEvily, A. J.; Iyengar, R. (1993) Control of browning during storage of apple slices preserved by combined methods. 4-hexylresorcinol as anti-browning agent. *Journal of Food Science*, 58(4): 797-800, 826.

N

- Nieto, A. B.; Salvatori, D. M.; Castro, M. A.; Alzamora, S. M. (2003) Structural changes in apple tissue during glucose and sucrose osmotic dehydration: shrinkage, porosity, density and microscopic features. *Journal of Food Engineering*, XX(XX): XX En Prensa.
- Nieto, A.; Salvatori, D.; Castro, M. A.; Alzamora, S. M. (1998) Air drying behaviour of apples as affected by blanching and glucose impregnation. *Journal of Food Engineering*, 36(1): 63-79.

P

- Pérez-Herrera M. (2003) Caracterización fisiológica del bitter pit: patrón de proteínas e isoenzimas. *Trabajo fin de Carrera (TFC)*, ETSIA, Universidad Politécnica de Valencia, España.
- Petriella, C.; Resnik, S. L.; Lozano, R. D.; Chirife, J. (1985) Kinetics of deteriorative reactions in model food systems of high water activity. *Journal of Food Science*, 50(3): 622-626.
- Portela, S. I.; Cantwell, M. I. (1998) Quality changes of minimally processed honeydew melons stored in air or controlled atmosphere. *Postharvest Biology and Technology*, 14(3): 351-357.
- Primo-Yúfera, E. (1997) Química de los alimentos. Editorial Síntesis. Madrid, España.

R

- Raoult-Wack, A. L. (1994) Recent advances in the osmotic dehydration of foods. *Trends in Food Science and Technology*, 5(8): 255-260.
- Richardson, T.; Finley, J. W., (1985) Chemical changes in food during processing. *Institute of Food Technologists, IFT basic symposium series*. Westport, Conn.: AVI Pub. Co.,
- Rodrigues, C. C.; Cunha, R. L.; Hubinger, M. D. (2003) Rheological properties and colour evaluation of papaya during osmotic dehydration processing. *Journal of Food Engineering*, XX(XX): XX-XX En Prensa.

S

- Sajnin, C.; Gamba, G.; Gerschenson, L. N.; Rojas, A. M. (2003) Textural, histological and biochemical changes in cucumber (*Cucumis sativus* L) due to immersion and variations in turgor pressure. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(7): 731-740.
- Sajur, S. (1985) Preconservación de duraznos por métodos combinados MS Tesis. Universidad Nacional de Mar del Plata.
- Sapers, G. M.; Hicks, K. B.; Phillips, J. G.; Garzarella, L.; Pondish, D. L.; Matulaitis, R. M; McCormack, T. J.; Sondey, S. M.; Seib, P. A.; El-Atawy, Y. S. (1989) Control of enzymatic browning in apple with ascorbic acid derivatives, polyphenol oxidase inhibitors, and complexing agents. *Journal of Food Science*, 54(4): 997-1002, 1012.
- Sapers, G. M.; Miller, R. L. (1992) Enzymatic browning control in potato with ascorbic acid-2-phosphates. *Journal of Food Science*, 57(5): 1132-1135.
- Sapers, G. M.; Miller, R. L.; Miller, F. C.; Cooke, P. H.; San-Won, C. (1994) Enzymatic browning control in minimally processed mushrooms. *Journal of Food Science*, 59(5): 1042-1047.
- Sapers, G. M.; Ziolkowski, M. A. (1987) Comparison of erythorbic and ascorbic acids as inhibitors of enzymatic browning in apple. *Journal of Food Science*, 52(6): 1732-1733, 1747.
- Sato, K.; Nakayama, M.; Shigeta, J. (1996) Culturing conditions affecting the production of anthocyanin in suspended cell cultures of strawberry. *Plant Science*, 113(1): 91-98.
- Sereno A. M.; Mayor, (2001) Proceedings of the Drying'2001 Chine,
- Shi, J.; Le-Maguer, M. (2002) Osmotic dehydration of foods: mass transfer and modelling aspects. *Food Reviews International*, 18(4): 305-335.
- Stanley, D. W. (1991) Biological membrane deterioration and associated quality losses in food tissues. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 30(5): 487-553.
- Suzuki, M. (1995) Enhancement of anthocyanin accumulation by high osmotic stress and low pH in grape cells (*Vitis* hybrids). *Journal of Plant Physiology*, 147(1): 152-155.
- Szczesniak, A. S. (1983) Physical properties of foods: What they are and their relation to other food properties. En *Physical Properties of Foods*, Eds., Peleg, M. & Bagley, E. B. 142. AVI Publishing Co.,

T

- Talens, P.; Martínez-Navarrete, N.; Fito, P.; Chiralt, A. (2002) Changes in optical and mechanical properties during osmodehydrofreezing of kiwi fruit. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 3(2): 191-199.
- Tapia de Daza, M. S.; Alzamora, S. M.; Welti-Chanes, J. (1996). Combination of Preservation Factors Applied to Minimal Processing of Foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 36(6): 629-659.

- Tijsskens, L. M. M.; Barringer, S. A.; Biekman, E. S. A. (2001) Modelling the effect of pH on the colour degradation of blanched broccoli. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2(4): 315-322.
- Tovar, B.; García, H. S.; Mata, M. (2001) Physiology of pre-cut mango. I ACC and ACC oxidase activity of slices subjected to osmotic dehydration. *Food Research International*, 34(2/3): 207-215.

W

- Welti-Chanes, J.; Bermúdez-Aguirre, D. (2002) Nuevas tendencias en el procesamiento de alimentos. *Actas del 2º Congreso Español de Ingeniería de Alimentos (CESIA-2002)* [cd-rom]. (2002). Lleida: Universitat de Lleida. ISBN 84-8409-162-7.

Anexo II

**Aplicación de antipardeantes en
medios osmóticos e isotónicos.**

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura AII.1. Matriz de dispersión entre parámetros de color de las muestras control. _____	II
Figura AII.2 Matriz de dispersión entre parámetros de color de las muestras tratadas de la serie isotónica para todos los tiempos de almacén. _____	III
Figura AII.3 Matriz de dispersión entre parámetros de color de las muestras tratadas de la serie osmótica para todos los tiempos de almacén. _____	III
Figura AII.4 Influencia del carácter de la solución en los parámetros de color para cada factor de estudio. _____	VI

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla AII.1 Caracterización colorimétrica de las muestras control _____	I
Tabla AII.2 Coeficientes de correlación entre los parámetros de color en cilindros control. _____	II
Tabla AII.3 Estudio de correlación entre los parámetros de color de la serie isotónica y de la serie osmótica. _____	IV
Tabla AII.4 Análisis multifactorial para L^* , h_{ab}^* , C_{ab}^* contemplando cuatro factores. _____	VII
Tabla AII.5 Efecto del tiempo de almacenamiento para la serie isotónica _____	VII
Tabla AII.6 Efecto del tipo de tratamiento para la serie isotónica _____	X
Tabla AII.7 Efecto del tiempo de inmersión para la serie isotónica _____	XII
Tabla AII.8 Efecto del tiempo de almacenamiento para la serie osmótica _____	XIV
Tabla AII.9 Efecto del tipo de tratamiento para la serie osmótica _____	XVI
Tabla AII.10 Efecto del tiempo de inmersión para la serie osmótica _____	XVIII

Tabla AII.1 Caracterización colorimétrica de las muestras control (0 horas).

Pera	L*	a*	b*	h* _{ab}	C* _{ab}	RT	K/S I ₆₀₀
Serie Isotónica							
1	75.85	-1.90	15.07	97.17	15.19	115.10	0.74
2	72.72	-2.29	12.55	100.36	12.75	96.75	0.75
3	75.17	-1.04	17.75	93.34	17.78	148.80	0.74
4	77.58	-1.92	14.61	97.49	14.73	117.98	0.76
5	72.95	-2.14	12.96	99.36	13.13	91.08	0.77
6	74.50	-1.11	13.86	94.56	13.91	112.25	0.78
7	76.84	-1.47	15.87	95.28	15.94	135.35	0.81
8	75.99	-1.90	17.07	96.36	17.18	126.15	0.84
9	75.92	-1.25	16.59	94.31	16.63	125.08	0.78
10	77.47	-2.40	15.45	98.83	15.64	123.23	0.71
11	74.96	-1.62	13.16	97.00	13.26	99.53	0.81
12	71.28	-1.71	19.38	95.04	19.46	139.45	0.79
Media	75.10	-1.70	15.30	96.50	15.40	119.2	0.77
±	1.9	0.4	2.0	2.1	2.0	17.5	0.03
Serie Osmótica							
13	75.46	-1.73	16.18	96.10	16.27	128.66	0.79
14	76.95	-1.60	16.15	95.65	16.23	136.85	0.75
15	76.04	-2.03	14.90	97.76	15.04	128.54	0.76
16	73.45	-1.30	16.90	94.39	16.95	130.59	0.76
17	71.67	-0.98	14.01	93.99	14.04	117.83	0.85
18	76.61	-1.90	19.03	95.70	19.12	142.34	0.77
19	76.74	-0.92	14.15	93.73	14.18	121.79	0.77
20	75.52	-1.20	15.24	94.50	15.28	136.44	0.71
21	71.42	-1.13	13.83	94.66	13.88	113.85	0.84
22	73.35	-1.26	15.24	94.71	15.29	124.60	0.76
23	75.32	-1.13	16.34	93.95	16.38	139.22	0.71
24	74.49	-1.31	13.33	95.61	13.39	110.49	0.74
Media	74.50	-1.30	15.4	95.0	15.50	127.6	0.77
±	1.8	0.3	1.5	1.1	1.6	10.2	0.04
Anova p	0.660	0.043	0.915	0.043	0.961	0.168	0.723

p expresa una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05
 ± derivación estándar

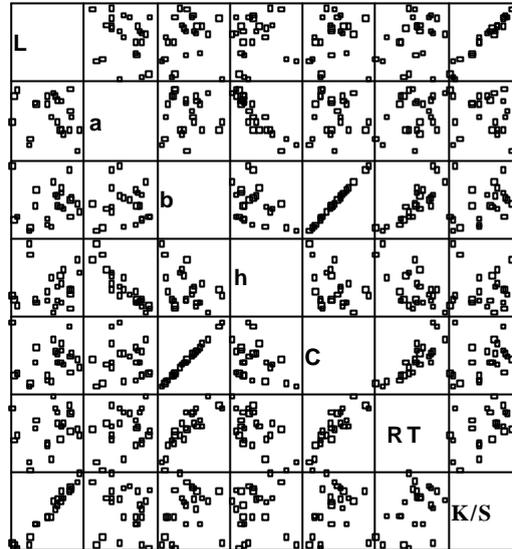


Figura AII.1. Matriz de dispersión entre parámetros de color de las muestras control.

Tabla AII.2 Coeficientes de correlación entre los parámetros de color en cilindros control.

		Correlaciones						
		L	A	B	H	C	AREA	traslucidez
L	Correlación de Pearson	1,000	-,218	,174	,093	,179	,317	,979*
	Sig. (bilateral)	,	,306	,415	,665	,402	,131	,000
	N	24	24	24	24	24	24	24
A	Correlación de Pearson	-,218	1,000	,027	-,921**	,000	,291	-,147
	Sig. (bilateral)	,306	,	,901	,000	1,000	,168	,494
	N	24	24	24	24	24	24	24
B	Correlación de Pearson	,174	,027	1,000	-,400	1,000**	,852**	,290
	Sig. (bilateral)	,415	,901	,	,053	,000	,000	,170
	N	24	24	24	24	24	24	24
H	Correlación de Pearson	,093	-,921**	-,400	1,000	-,376	-,596**	-,018
	Sig. (bilateral)	,665	,000	,053	,	,071	,002	,935
	N	24	24	24	24	24	24	24
C	Correlación de Pearson	,179	,000	1,000**	-,376	1,000	,845**	,292
	Sig. (bilateral)	,402	1,000	,000	,071	,	,000	,165
	N	24	24	24	24	24	24	24
AREA	Correlación de Pearson	,317	,291	,852**	-,596**	,845**	1,000	,424*
	Sig. (bilateral)	,131	,168	,000	,002	,000	,	,039
	N	24	24	24	24	24	24	24
traslucidez	Correlación de Pearson	,979**	-,147	,290	-,018	,292	,424*	1,000
	Sig. (bilateral)	,000	,494	,170	,935	,165	,039	,
	N	24	24	24	24	24	24	24

** . La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* . La correlación es significante al nivel 0,05 (bilateral).

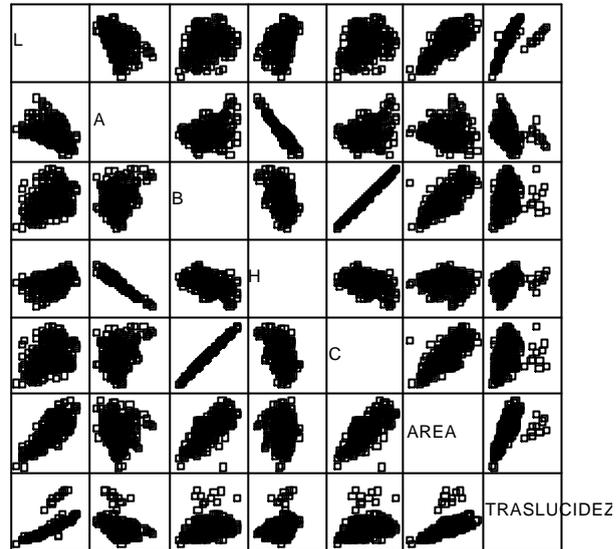


Figura AII.2 Matriz de dispersión entre parámetros de color de las muestras tratadas de la serie isotónica para todos los tiempos de almacén.

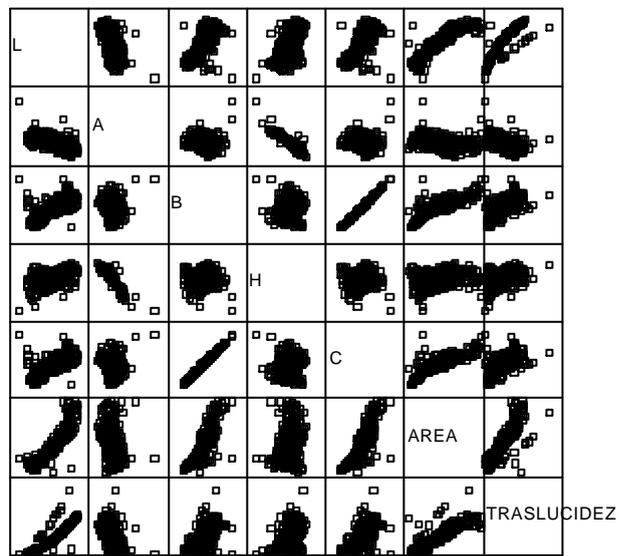


Figura AII.3 Matriz de dispersión entre parámetros de color de las muestras tratadas de la serie osmótica para todos los tiempos de almacén.

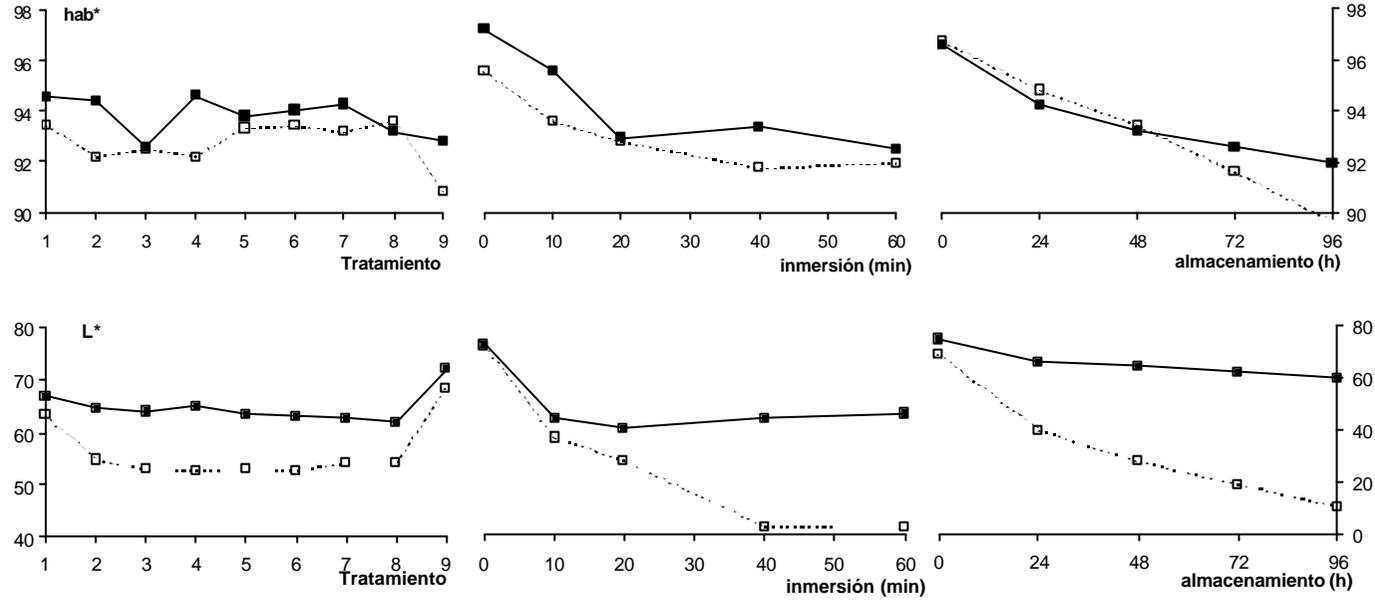
Tabla AII.3 Estudio de correlación entre los parámetros de color de la serie isotónica y de la **serie osmótica**.

CORRELACIÓN DE PEARSON	L*	a*	b*	h* _{ab}	C* _{ab}	RT	K/SI ₆₀₀	
L*	24		-0.204*	-0.181	0.234*	-0.176	0.520**	0.932**
	48		-0.291**	0.072	0.239*	0.077	0.731**	0.986**
	72		-0.212*	0.274**	0.140	0.277**	0.840**	0.980**
	96		-0.199*	0.438**	0.099	0.440**	0.902**	0.982**
	Todos los tiempos		-0.487**	0.225**	0.430**	0.235**	0.776**	0.984**
a*	24	-0.074		0.281**	-0.964**	0.260**	0.212*	-0.143
	48	0.097		0.487**	-0.976**	0.476**	0.199*	-0.183
	72	-0.169		0.504**	-0.981**	0.497**	0.162	-0.161
	96	0.232*		0.447**	-0.976**	0.442**	0.077	-0.176
	Todos los tiempos	0.548**		0.307**	-0.976**	0.294**	-0.111*	-0.364*
b*	24	0.535**	0.158		-0.505**	1.000**	0.610**	-0.058
	48	0.814**	-0.024		-0.621**	1.000**	0.670**	0.096
	72	0.811**	-0.001		-0.613**	1.000**	0.683**	0.315**
	96	0.672**	0.166		-0.516**	1.000*	0.700**	0.468**
	Todos los tiempos	0.690**	-0.125		-0.457**	1.000**	0.707**	0.216*
h* _{ab}	24	0.013	-0.981**	-0.324**		-0.458**	-0.346**	0.146
	48	0.001	-0.961**	-0.128		-0.610**	-0.311**	0.155
	72	0.114	-0.911**	-0.120		-0.605**	-0.257*	0.086
	96	0.207*	-0.905**	-0.118		-0.556**	-0.190	0.069
	Todos los tiempos	0.482**	-0.938**	0.053		-0.444**	-0.010	-0.317*
C* _{ab}	24	0.543**	0.133	1.000**			0.610**	-0.054
	48	0.815**	-0.036	1.000**	-0.116		0.672**	0.100
	72	0.812**	-0.006	1.000**	-0.116		0.685**	0.318**
	96	0.666**	0.177	1.000**			0.701**	0.470**
	Todos los tiempos	0.690**	-0.127*	1.000**	0.056		0.713**	0.223*
RT	24	0.899**	0.201*	0.761**	-0.297**	0.761**		0.637**
	48	0.942**	0.080	0.882**	-0.191*	0.881**		0.357*
	72	0.935**	-0.014	0.898**	-0.053	0.898**		0.878**
	96	0.938**	-0.022	0.815**	0.024	0.810**		0.927**
	Todos los tiempos	0.908**	-0.321**	0.854**	0.245**	0.853**		0.614**
K/SI ₆₀₀	24	0.991**	0.011	0.562**	-0.074	0.568**	0.928**	
	48	0.960**	-0.047	0.774**	0.774**	0.774**	0.891**	
	72	0.858**	-0.085	0.739**	0.081	0.739**	0.866**	
	96	0.972**	-0.141	0.696**	0.127	0.691**	0.970**	
	Todos los tiempos	0.911**	-0.456**	0.666**	0.412**	0.666**	0.873**	

* diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.01

** diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Anexos II Tratamientos isotónicos y osmóticos



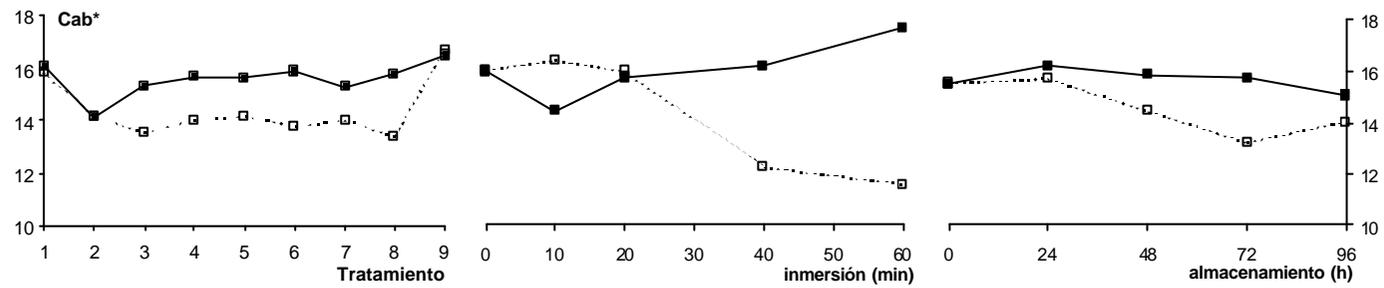


Figura AII.4 Influencia del carácter de la solución en los parámetros de color para cada factor de estudio, serie isotónica (—), serie osmótica (·····).

Tabla AII.4 Análisis multifactorial para L*, h_{ab}*, C_{ab}* contemplando cuatro factores.

EFEECTO	F	Grados de libertad de la hipótesis	Grados de libertad (g.l.) del error	Significación
Intercept	498242.09	3	620	0.000
Solución	301.65	3	620	0.000
Tratamiento	6.30	21	1866	0.000
Inmersión	28.58	9	1866	0.000
Almacenamiento	35.38	12	1866	0.000
Solución * Tratamiento	5.51	21	1866	0.000
Solución * Inmersión	40.34	9	1866	0.000
Solución * Almacenamiento	8.50	12	1866	0.000
Tratamiento * Inmersión	1.59	63	1866	0.002
Tratamiento * Almacenamiento	1.54	63	1866	0.004
Inmersión * Almacenamiento	1.51	27	1866	0.043
Solución * Tratamiento * Inmersión	2.047	63	1866	0.000
Solución * Tratamiento * Almacenamiento	1.38	63	1866	0.026
Solución * Inmersión * Almacenamiento	3.51	27	1866	0.000
Tratamiento * Inmersión * Almacenamiento	0.29	189	1866	1.000
Solución * Tratamiento * Inmersión * Almacenamiento	0.34	189	1866	1.000

Tabla AII.5 Efecto del tiempo de almacenamiento para la serie isotónica^y

Almacenamiento	L*	h _{ab} *	C _{ab} *
Tratamiento 1			
0	74.99±1.99 ^a	96.47±2.27	15.50±2.07
24	65.53±3.30 ^b	94.51±2.29	16.57±2.40
48	66.17±4.11 ^b	94.18±2.36	16.49±2.07
72	65.19±4.99 ^b	93.85±2.64	16.25±2.19
96	63.24±6.23 ^b	93.76±2.57	15.89±2.52
ANOVA	0.0000	0.0521	0.7614
Tratamiento 2			
0	74.99±1.99 ^a	96.47±2.27 ^a	15.50±2.07 ^a
24	66.12±3.23 ^b	95.27±1.59 ^{ab}	14.34±1.10 ^{ab}
48	63.34±3.51 ^{bc}	94.11±1.79 ^{bc}	13.78±0.97 ^b
72	60.27±5.57 ^{cd}	93.12±1.71 ^c	13.87±1.37 ^b
96	58.13±6.35 ^d	92.97±1.91 ^c	13.19±1.79 ^b
ANOVA	0.0000	0.0001	0.0074

y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Anexos II Tratamientos isotónicos y osmóticos

Tratamiento 3			
0	74.99±1.99 ^a	96.47±2.27 ^a	15.50±2.07
24	64.97±3.79 ^b	92.83±3.67 ^b	15.64±2.11
48	62.35±4.43 ^{bc}	92.13±3.92 ^b	15.33±2.46
72	60.08±4.83 ^{cd}	91.24±3.99 ^b	15.39±2.43
96	57.38±5.34 ^d	90.09±3.63 ^b	14.90±2.56
ANOVA	0.0000	0.0008	0.9510
Tratamiento 4			
0	74.99±1.99 ^a	96.47±2.27 ^a	15.50±2.07
24	65.86±2.97 ^b	95.26±1.60 ^b	15.78±2.29
48	63.85±3.37 ^{bc}	94.22±2.27 ^{bc}	15.80±2.52
72	62.23±4.59 ^{cd}	93.99±2.37 ^{cd}	15.91±2.51
96	59.25±6.03 ^d	92.92±2.77 ^d	15.25±3.31
ANOVA	0.0000	0.0000	0.9705
Tratamiento 5			
0	74.99±1.99 ^a	96.47±2.27 ^a	15.50±2.07
24	63.63±3.88 ^b	94.27±2.14 ^b	16.01±2.49
48	61.73±4.67 ^{bc}	93.04±2.01 ^{bc}	15.61±2.29
72	59.54±6.02 ^{bc}	93.13±2.01 ^{bc}	15.35±2.78
96	57.77±7.62 ^c	92.14±2.07 ^c	15.49±2.48
ANOVA	0.0000	0.0001	0.9724
Tratamiento 6			
0	74.99±1.99 ^a	96.47±2.27 ^a	15.50±2.07
24	64.51±3.38 ^b	95.55±1.64 ^a	16.88±2.05
48	61.91±4.07 ^b	93.71±2.06 ^b	16.05±1.78
72	58.37±5.02 ^c	92.62±2.28 ^{bc}	15.75±2.30
96	55.67±5.83 ^c	91.67±2.47 ^c	15.10±2.68
ANOVA	0.0000	0.0000	0.3588
Tratamiento 7			
0	74.99±1.99 ^a	96.47±2.27 ^a	15.50±2.07
24	64.62±3.51 ^b	96.02±3.44 ^a	16.37±2.94
48	61.68±3.78 ^b	93.93±3.32 ^{ab}	15.43±2.58
72	57.86±5.51 ^c	92.98±3.49 ^b	15.08±2.58
96	53.84±6.79 ^d	91.82±3.69 ^b	14.07±2.91
ANOVA	0.0000	0.0038	0.3230

y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Anexos II Tratamientos isotónicos y osmóticos

Tratamiento 8			
0	74.99±1.99 ^a	96.47±2.27 ^a	15.50±2.07
24	63.85±2.48 ^b	94.55±2.15 ^{ab}	16.84±2.22
48	60.54±3.13 ^c	92.97±3.19 ^{bc}	16.34±2.44
72	56.61±5.38 ^d	91.60±2.74 ^{cd}	15.66±2.58
96	53.33±5.47 ^e	90.31±2.78 ^d	14.59±2.82
ANOVA	0.0000	0.0000	0.2196
Tratamiento 9			
0	74.99±1.99 ^a	96.47±2.27 ^a	15.50±2.07
24	71.39±2.34 ^b	92.11±1.75 ^b	16.71±2.10
48	71.66±2.74 ^b	91.89±2.09 ^b	16.84±2.04
72	71.34±3.13 ^b	91.65±2.24 ^b	16.82±2.08
96	71.39±2.94 ^b	91.77±2.12 ^b	16.51±2.00
ANOVA	0.0043	0.0000	0.4792
Tratamientos 1-9			
0	74.99±0.09 ^a	96.47±0.07 ^a	15.50±0.05 ^{bc}
24	65.61±2.33 ^b	94.48±1.28 ^b	16.13±0.81 ^a
48	63.69±3.40 ^c	93.35±0.89 ^c	15.74±0.89 ^{ab}
72	61.28±4.54 ^d	92.69±0.99 ^c	15.57±0.82 ^{abc}
96	58.89±5.55 ^e	91.94±1.20 ^d	15.00±0.98 ^c
ANOVA	0.0000	0.0000	0.0104
Tratamientos 1-8			
0	74.99±0.09 ^a	96.47±0.07 ^a	15.50±0.05 ^a
24	64.89±0.91 ^b	94.78±0.99 ^b	16.05±0.83 ^a
48	62.70±1.74 ^c	93.54±0.75 ^c	15.60±0.85 ^a
72	60.02±2.70 ^d	92.82±0.97 ^c	15.41±0.72 ^{ab}
96	57.33±3.17 ^e	91.96±1.28 ^d	14.81±0.86 ^b
ANOVA	0.0000	0.0000	0.0077

y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Tabla AII.6 Efecto del tipo de tratamiento para la serie isotónica^y

Tratamiento	L*	h _{ab} *	C _{ab} *
<i>0-96 h (T1-T9)</i>			
1	67.02±4.59 ^b	94.55±1.11 ^a	16.14±0.44 ^{cd}
2	64.57±6.57 ^{bcd}	94.39±1.48 ^a	14.14±0.87 ^a
3	63.95±6.78 ^{cdde}	92.55±2.42 ^d	15.35±0.28 ^{bc}
4	65.24±5.97 ^{bc}	94.57±1.35 ^a	15.65±0.27 ^{bc}
5	63.53±6.78 ^{cdde}	93.81±1.67 ^{abc}	15.59±0.25 ^{bc}
6	63.09±7.46 ^{cdde}	94.01±1.99 ^{ab}	15.85±0.67 ^{bcd}
7	62.60±8.03 ^{de}	94.24±1.98 ^{ab}	15.29±0.83 ^b
8	61.87±8.34 ^e	93.18±2.42 ^{bcd}	15.79±0.86 ^{bcd}
9	72.15±1.59 ^a	92.78±2.07 ^{cd}	16.48±0.56 ^d
ANOVA	0.0000	0.0001	0.0000
Tratamiento	L*	h _{ab} *	C _{ab} *
<i>0-96 h (T1-T8)</i>			
1	67.02±4.59 ^a	94.55±1.11 ^a	16.14±0.44 ^a
2	64.57±6.57 ^{abc}	94.39±1.48 ^a	14.14±0.87 ^c
3	63.95±6.78 ^{bc}	92.55±2.42 ^c	15.35±0.28 ^{ab}
4	65.24±5.97 ^{ab}	94.57±1.35 ^a	15.65±0.27 ^{ab}
5	63.53±6.78 ^{bc}	93.81±1.67 ^{ab}	15.59±0.25 ^{ab}
6	63.09±7.46 ^{bc}	94.01±1.99 ^{ab}	15.85±0.67 ^{ab}
7	62.60±8.03 ^{bc}	94.24±1.98 ^{ab}	15.29±0.83 ^b
8	61.87±8.34 ^c	93.18±2.42 ^{bc}	15.79±0.86 ^{ab}
ANOVA	0.0074	0.0016	0.0002
Tratamiento	L*	h _{ab} *	C _{ab} *
<i>24 h</i>			
1	65.53±3.30 ^a	94.51±2.29 ^{ab}	16.57±2.40
2	66.12±3.23 ^a	95.27±1.59 ^a	14.34±1.10
3	64.97±3.79 ^a	92.83±3.67 ^{bc}	15.64±2.11
4	65.86±2.97 ^a	95.26±1.60 ^a	15.78±2.29
5	63.63±3.88 ^a	94.27±2.14 ^{ab}	16.01±2.49
6	64.51±3.38 ^a	95.55±1.64 ^a	16.88±2.05
7	64.62±3.51 ^a	96.02±3.44 ^a	16.37±2.94
8	63.85±2.48 ^a	94.55±2.15 ^{ab}	16.84±2.22
9	71.39±2.34 ^b	92.11±1.75 ^c	16.70±2.10
ANOVA	0.0000	0.0013	0.1439

y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Anexos II Tratamientos isotónicos y osmóticos

48 h			
1	66.17±4.11 ^b	94.18±2.36	16.49±2.07
2	63.34±3.51 ^{bcd}	94.11±1.79	13.78±0.97
3	62.35±4.43 ^{cd}	92.13±3.92	15.33±2.46
4	63.85±3.37 ^{bc}	94.22±2.27	15.80±2.52
5	61.73±4.67 ^{cd}	93.04±2.01	15.61±2.29
6	61.91±4.07 ^{cd}	93.71±2.06	16.05±1.78
7	61.68±3.78 ^{cd}	93.93±3.32	15.43±2.58
8	60.54±3.13 ^d	92.97±3.19	16.34±2.44
9	71.65±2.74 ^a	91.88±2.09	16.84±2.04
ANOVA	0.0000	0.2232	0.0533
72 h			
1	65.19±4.99 ^b	93.85±2.64	16.25±2.19
2	60.27±5.57 ^{cd}	93.12±1.71	13.87±1.37
3	60.08±4.83 ^{cd}	91.24±3.99	15.39±2.43
4	62.23±4.59 ^{bc}	93.99±2.37	15.91±2.51
5	59.54±6.02 ^{cd}	93.13±2.01	15.35±2.78
6	58.37±5.02 ^{cd}	92.62±2.28	15.75±2.30
7	57.86±5.51 ^d	92.98±3.49	15.08±2.58
8	56.61±5.38 ^d	91.60±2.74	15.66±2.58
9	71.34±3.13 ^a	91.65±2.24	16.81±2.08
ANOVA	0.0000	0.1279	0.1804
96 h			
1	63.24±6.23 ^b	93.76±2.57 ^a	15.89±2.52
2	58.13±6.35 ^{cd}	92.97±1.91 ^{ab}	13.19±1.79
3	57.38±5.34 ^{cd}	90.09±3.63 ^b	14.90±2.56
4	59.25±6.03 ^{bc}	92.92±2.77 ^{ab}	15.25±3.31
5	57.77±7.62 ^{cd}	92.14±2.07 ^{ab}	15.49±2.48
6	55.67±5.83 ^{cd}	91.67±2.47 ^{ab}	15.10±2.68
7	53.84±6.79 ^d	91.82±3.69 ^{ab}	14.07±2.91
8	53.33±5.47 ^d	90.31±2.78 ^b	14.59±2.82
9	71.39±2.94 ^a	91.78±2.12 ^{ab}	16.51±2.01
ANOVA	0.0000	0.0252	0.1049

y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Tabla AII.7 Efecto del tiempo de inmersión para la serie isotónica^y.

Tiempo Inmersión	L*	h _{ab} *	C _{ab} *
<i>0-96 h (T1-T9)</i>			
10	61.35±6.14 ^{ab}	95.07±1.83 ^a	14.04±1.51 ^a
20	59.78±5.59 ^a	92.69±2.04 ^{bc}	15.22±2.17 ^b
40	61.45±5.22 ^b	93.06±2.91 ^b	15.64±2.13 ^b
60	62.36±6.16 ^b	92.28±3.73 ^c	16.98±2.85 ^c
ANOVA	0.0208	0.0000	0.0000
<i>24 h</i>			
10	66.39±2.55	95.90±1.91	14.79±1.43 ^a
20	64.75±2.11	94.00±1.69	16.07±1.83 ^b
40	63.99±3.42	94.80±2.39	15.89±1.73 ^{ab}
60	64.42±4.44	94.43±3.46	17.46±3.13 ^c
ANOVA	0.0639	0.0564	0.0006
<i>48 h</i>			
10	62.96±3.69	95.29±1.74 ^a	14.35±1.35 ^a
20	61.70±2.94	92.73±1.77 ^b	15.57±1.97 ^b
40	62.67±4.08	93.23±2.67 ^b	15.63±2.06 ^b
60	63.46±5.40	92.89±3.52 ^b	16.86±2.80 ^c
ANOVA	0.5134	0.0021	0.0014
<i>72 h</i>			
10	59.42±6.04 ^{ab}	94.79±1.64 ^a	13.93±1.34 ^a
20	57.65±4.33 ^a	92.34±1.88 ^b	15.10±1.99 ^{ab}
40	61.02±4.97 ^b	92.50±2.87 ^b	15.64±2.18 ^b
60	61.98±6.41 ^b	91.64±3.46 ^b	16.96±2.84 ^c
ANOVA	0.0416	0.0003	0.0001
<i>96 h</i>			
10	56.62±6.52	94.29±1.71 ^a	13.06±1.43 ^a
20	55.00±6.25	91.68±2.17 ^b	14.13±2.46 ^{ab}
40	58.11±6.29	91.72±2.89 ^b	15.38±2.59 ^{bc}
60	59.58±7.27	90.15±3.29 ^c	16.66±2.73 ^c
ANOVA	0.1017	0.0000	0.0000

y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Anexos II Tratamientos isotónicos y osmóticos

Tiempo Inmersión	L*	h _{ab} *	C _{ab} *
<i>T1</i>			
10	65.47±4.40	96.36±1.26 ^a	14.35±1.03 ^a
20	53.82±4.74	75.32±2.54 ^b	27.60±2.16 ^b
40	52.18±5.65	72.02±1.17 ^b	35.38±0.93 ^b
60	50.57±3.41	67.59±2.58 ^b	42.77±2.53 ^b
ANOVA	0.1362	0.0002	0.0001
<i>T2</i>			
10	59.81±6.01	95.45±0.86 ^a	13.16±1.27
20	61.13±4.34	93.02±1.17 ^b	14.28±1.66
40	63.89±5.90	94.05±1.87 ^b	13.52±1.40
60	63.03±5.77	92.96±2.44 ^b	14.21±0.83
ANOVA	0.2793	0.0023	0.1255
<i>T3</i>			
10	62.99±4.67	94.55±3.18 ^a	13.29±1.75 ^a
20	60.31±5.40	90.96±1.69 ^b	14.81±1.36 ^{ab}
40	59.76±3.35	90.33±3.11 ^b	16.78±2.17 ^c
60	61.72±7.15	90.45±5.17 ^b	16.39±2.30 ^{bc}
ANOVA	0.4521	0.0147	0.0002
<i>T4</i>			
10	63.25±4.46 ^b	94.90±0.56 ^b	14.20±1.62
20	58.51±4.47 ^a	92.16±2.58 ^a	16.17±3.52
40	63.92±3.87 ^b	94.89±2.01 ^b	15.69±1.74
60	65.50±4.30 ^b	94.43±2.74 ^b	16.68±2.71
ANOVA	0.0017	0.0083	0.1054
<i>T5</i>			
10	63.15±5.34	93.99±1.30 ^a	14.49±1.07 ^a
20	59.67±5.69	92.81±0.88 ^{ab}	14.67±1.40 ^a
40	59.72±5.48	94.33±1.40 ^a	14.74±1.81 ^a
60	60.14±7.24	91.44±3.07 ^b	18.57±2.54 ^b
ANOVA	0.4338	0.0017	0.0000
<i>T6</i>			
10	59.12±7.21	94.25±1.20	14.61±1.22 ^a
20	61.47±5.24	94.35±1.43	15.11±1.79 ^a
40	58.40±4.66	92.76±3.08	16.05±1.80 ^a
60	61.48±5.21	92.21±3.25	18.01±2.53 ^b
ANOVA	0.4243	0.0853	0.0004

y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Anexos II Tratamientos isotónicos y osmóticos

T7			
10	60.29±5.08	96.71±0.97 ^a	13.38±1.20 ^a
20	57.67±7.52	93.16±2.02 ^b	14.83±2.07 ^{ab}
40	61.33±4.65	93.59±2.67 ^b	15.61±3.22 ^{bc}
60	58.71±7.89	91.29±5.50 ^b	17.14±3.04 ^c
ANOVA	0.5199	0.0021	0.0065
T8			
10	56.71±7.75	94.33±2.04 ^a	14.80±1.99
20	56.83±5.72	92.53±2.19 ^{ab}	15.41±2.25
40	59.66±4.80	90.69±3.74 ^b	16.61±1.81
60	61.14±3.49	91.88±3.22 ^b	16.60±3.68
ANOVA	0.1631	0.0279	0.2265

y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Tabla AII.8 Efecto del tiempo de almacenamiento para la serie osmótica^y.

Almacenamiento	L*	h _{ab} *	C _{ab} *
Tratamiento 1			
0	74.75±1.90 ^a	95.06±1.15 ^a	15.50±1.61
24	59.69±5.93 ^b	93.21±2.66 ^{ab}	15.07±1.78
48	53.06±10.44 ^{bc}	92.34±2.49 ^b	13.81±2.84
72	48.24±12.87 ^{cd}	90.91±3.46 ^{bc}	12.64±3.92
96	44.60±14.55 ^d	89.76±3.95 ^c	12.85±3.50
ANOVA	0.0000	0.0004	0.0619
Tratamiento 2			
0	74.75±1.90 ^a	95.06±1.15 ^a	15.50±1.61 ^a
24	58.67±5.49 ^b	94.29±2.28 ^{ab}	15.30±1.90 ^a
48	51.13±8.26 ^c	92.49±2.51 ^{bc}	14.03±2.12 ^{ab}
72	45.87±11.61 ^{cd}	90.83±2.81 ^c	13.07±3.07 ^b
96	43.00±12.98 ^d	88.30±3.80 ^d	12.74±3.31 ^b
ANOVA	0.0000	0.0001	0.0239
Tratamiento 3			
0	74.75±1.90 ^a	95.06±1.15 ^a	15.50±1.61 ^a
24	57.64±4.64 ^b	93.06±2.74 ^{ab}	15.42±1.03 ^a
48	50.27±7.30 ^c	92.20±3.31 ^{bc}	13.06±2.06 ^b
72	45.39±9.63 ^c	91.81±4.19 ^{bc}	11.94±3.03 ^b
96	37.25±12.92 ^d	90.53±1.92 ^c	16.67±2.25 ^a
ANOVA	0.0000	0.0053	0.0000

y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Anexos II Tratamientos isotónicos y osmóticos

Tratamiento 4			
0	74.75±1.90 ^a	95.06±1.15 ^a	15.50±1.61
24	56.12±5.22 ^b	94.45±3.01 ^a	15.43±1.36
48	49.62±8.68 ^{bc}	92.74±2.78 ^{ab}	13.87±2.59
72	44.02±11.14 ^{cd}	90.82±3.80 ^b	12.94±3.57
96	38.94±12.69 ^d	87.88±5.38 ^c	15.65±6.43
ANOVA	0.0000	0.0000	0.2645
Tratamiento 5			
0	74.75±1.90 ^a	95.06±1.15 ^a	15.50±1.61
24	57.01±4.62 ^b	95.25±1.30 ^b	15.83±2.49
48	48.65±8.52 ^{bc}	93.22±1.82 ^{bc}	14.27±2.86
72	43.30±10.86 ^{bc}	91.89±2.05 ^{bc}	13.36±4.06
96	41.57±11.13 ^c	91.21±3.44 ^c	11.95±4.32
ANOVA	0.0000	0.0000	0.2920
Tratamiento 6			
0	74.75±1.90 ^a	95.06±1.15 ^a	15.50±1.61 ^a
24	56.71±4.38 ^b	95.45±1.34 ^a	14.93±1.61 ^a
48	48.45±7.86 ^c	95.17±1.65 ^a	13.82±2.10 ^a
72	43.37±9.67 ^{cd}	91.92±3.47 ^b	11.74±3.05 ^b
96	39.82±10.52 ^d	89.61±5.05 ^b	11.68±3.52 ^b
ANOVA	0.0000	0.0000	0.0004
Tratamiento 7			
0	74.75±1.90 ^a	95.06±1.15 ^a	15.50±1.61 ^a
24	57.74±4.47 ^b	95.53±2.42 ^a	14.88±1.12 ^a
48	50.17±7.30 ^c	93.58±2.88 ^{ab}	14.14±2.05 ^{ab}
72	47.18±10.57 ^{cd}	91.76±3.71 ^{bc}	12.65±3.70 ^b
96	41.01±10.80 ^d	89.95±2.58 ^c	12.75±3.25 ^b
ANOVA	0.0000	0.0000	0.0259
Tratamiento 8			
0	74.75±1.90 ^a	95.06±1.15 ^a	15.50±1.61 ^a
24	58.48±6.53 ^b	94.29±2.20 ^a	15.06±1.91 ^a
48	50.91±10.64 ^{bc}	94.06±2.40 ^a	13.45±3.01 ^{ab}
72	45.07±10.94 ^{cd}	93.25±3.76 ^{ab}	11.18±4.32 ^b
96	41.53±12.22 ^d	91.49±4.04 ^b	11.88±4.30 ^b
ANOVA	0.0000	0.0447	0.0054
Tratamiento 9			
0	74.75±1.90 ^a	95.06±1.15 ^a	15.50±1.61
24	69.52±3.62 ^{ab}	90.17±1.90 ^b	17.53±1.36
48	68.36±4.29 ^{bc}	90.02±1.72 ^b	17.00±2.16
72	65.95±7.52 ^{bc}	89.41±1.47 ^b	16.37±2.30
96	63.42±11.22 ^c	89.38±1.88 ^b	17.01±4.00
ANOVA	0.0017	0.0000	0.3255

y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Anexos II Tratamientos isotónicos y osmóticos

Tratamientos 1-9			
0	74.75±0.05 ^a	95.06±0.09 ^a	15.50±0.05 ^a
24	59.06±4.07 ^b	93.97±1.68 ^b	15.49±0.82 ^a
48	52.29±6.18 ^c	92.87±1.43 ^c	14.16±1.13 ^b
72	47.60±7.08 ^d	91.40±1.07 ^d	12.88±1.48 ^c
96	43.46±7.79 ^e	89.79±1.20 ^e	13.69±2.14 ^b
ANOVA	0.0000	0.0000	0.0000
Tratamientos 1-8			
0	74.75±0.05 ^a	95.06±0.09 ^a	15.50±0.05 ^a
24	57.76±1.16 ^b	94.44±0.95 ^a	15.24±0.32 ^a
48	50.28±1.48 ^c	93.22±1.02 ^b	13.81±0.39 ^b
72	45.31±1.77 ^d	91.65±0.81 ^c	12.44±0.75 ^c
96	40.96±2.31 ^e	89.84±1.27 ^d	13.27±1.86 ^b
ANOVA	0.0000	0.0000	0.0000

y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Tabla AII.9 Efecto del tipo de tratamiento para la serie osmótica^y.

Tratamiento	L*	h _{ab} *	C _{ab} *
0-96 h (T1-T9)			
1	56.07±11.87 ^a	92.26±2.05 ^{bc}	13.98±1.28 ^{bcd}
2	54.68±12.70 ^a	92.19±2.73 ^b	14.13±1.26 ^{bcd}
3	53.06±14.21 ^a	92.53±1.68 ^{bcd}	14.52±1.95 ^{bc}
4	52.69±13.89 ^a	92.19±2.92 ^b	14.68±1.21 ^b
5	53.06±13.54 ^a	93.33±1.82 ^{bcd}	14.18±1.59 ^{bcd}
6	52.62±13.90 ^a	93.44±2.58 ^{cd}	13.53±1.77 ^{cd}
7	54.17±12.98 ^a	93.18±2.33 ^{bcd}	13.98±1.27 ^{bcd}
8	54.15±13.18 ^a	93.63±1.36 ^d	13.41±1.90 ^d
9	68.40±4.25 ^b	90.81±2.40 ^a	16.68±0.78 ^a
ANOVA	0.0000	0.0001	0.0000

y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Anexos II Tratamientos isotónicos y osmóticos

Tratamiento	L*	h _{ab} *	C _{ab} *
<i>0-96 h (T1-T8)</i>			
1	56.07±11.87	92.26±2.05	13.98±1.28
2	54.68±12.70	92.19±2.73	14.13±1.26
3	53.06±14.21	92.53±1.68	14.52±1.95
4	52.69±13.89	92.19±2.92	14.68±1.21
5	53.06±13.54	93.33±1.82	14.18±1.59
6	52.62±13.90	93.44±2.58	13.53±1.77
7	54.17±12.98	93.18±2.33	13.98±1.27
8	54.15±13.18	93.63±1.36	13.41±1.90
ANOVA	0.9049	0.0643	0.3142

Tratamiento	L*	h _{ab} *	C _{ab} *
<i>24 h</i>			
1	59.69±5.93 ^a	93.21±2.66 ^b	15.07±1.78 ^a
2	58.67±5.49 ^a	94.29±2.28 ^{ab}	15.30±1.90 ^a
3	57.64±4.64 ^a	93.06±2.74 ^b	15.42±1.03 ^a
4	56.12±5.22 ^a	94.45±3.01 ^{ab}	15.43±1.36 ^a
5	57.01±4.62 ^a	95.25±1.30 ^a	15.83±2.49 ^a
6	56.71±4.38 ^a	95.45±1.34 ^a	14.93±1.61 ^a
7	57.74±4.47 ^a	95.53±2.42 ^a	14.88±1.12 ^a
8	58.48±6.53 ^a	94.29±2.20 ^{ab}	15.06±1.91 ^a
9	69.52±3.62 ^b	90.16±1.90 ^c	17.52±1.36 ^b
ANOVA	0.0000	0.0000	0.0064

Tratamiento	L*	h _{ab} *	C _{ab} *
<i>48 h</i>			
1	53.06±10.44 ^a	92.34±2.49 ^a	13.81±2.84 ^a
2	51.13±8.26 ^a	92.49±2.51 ^a	14.03±2.12 ^a
3	50.27±7.30 ^a	92.20±3.31 ^a	13.06±2.06 ^a
4	49.62±8.68 ^a	92.74±2.78 ^a	13.87±2.59 ^a
5	48.65±8.52 ^a	93.22±1.82 ^{ab}	14.27±2.86 ^a
6	48.45±7.86 ^a	95.17±1.65 ^b	13.82±2.10 ^a
7	50.17±7.30 ^a	93.58±2.88 ^{ab}	14.14±2.05 ^a
8	50.91±10.64 ^a	94.06±2.40 ^{ab}	13.45±3.01 ^a
9	68.36±4.29 ^b	90.02±1.72 ^c	17.00±2.16 ^b
ANOVA	0.0000	0.0003	0.0149

y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

72 h			
1	48.24±12.87 ^a	90.91±3.46	12.64±3.92 ^a
2	45.87±11.61 ^a	90.83±2.81	13.07±3.07 ^a
3	45.39±9.63 ^a	91.81±4.19	11.94±3.03 ^a
4	44.02±11.14 ^a	90.82±3.80	12.94±3.57 ^a
5	43.30±10.86 ^a	91.89±2.05	13.36±4.06 ^a
6	43.37±9.67 ^a	91.92±3.47	11.74±3.05 ^a
7	47.18±10.57 ^a	91.76±3.71	12.65±3.70 ^a
8	45.07±10.94 ^a	93.25±3.76	11.18±4.32 ^a
9	65.95±7.52 ^b	89.41±1.47	16.36±2.30 ^b
ANOVA	0.0000	0.2788	0.0371
96 h			
1	44.60±14.55 ^a	89.76±3.95	12.85±3.50 ^{bc}
2	43.00±12.98 ^a	88.30±3.80	12.74±3.31 ^{bc}
3	37.25±12.92 ^a	90.53±1.92	16.67±2.25 ^a
4	38.94±12.69 ^a	87.88±5.38	15.65±6.43 ^{ab}
5	41.57±11.13 ^a	91.21±3.44	11.95±4.32 ^c
6	39.82±10.52 ^a	89.61±5.05	11.68±3.52 ^c
7	41.01±10.80 ^a	89.95±2.58	12.75±3.25 ^{bc}
8	41.53±12.22 ^a	91.49±4.04	11.88±4.30 ^c
9	63.42±11.22 ^b	89.38±1.88	17.01±4.00 ^a
ANOVA	0.0000	0.2887	0.0018

y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Tabla AII.10 Efecto del tiempo de inmersión para la serie osmótica^y.

Tiempo Inmersión	L*	h _{ab} *	C _{ab} *
0-96 h (T1-T9)			
10	57.79±7.39 ^a	93.29±3.22 ^a	15.84±2.27 ^a
20	53.60±8.10 ^b	92.52±3.29 ^{ab}	15.44±2.62 ^a
40	41.52±9.41 ^c	91.57±3.80 ^b	12.04±3.10 ^b
60	41.39±9.60 ^c	91.77±3.81 ^b	11.44±2.52 ^b
ANOVA	0.0000	0.0032	0.0000

y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Anexos II Tratamientos isotónicos y osmóticos

Tiempo Inmersión	L*	h _{ab} *	C _{ab} *
<i>24 h</i>			
10	62.52±4.38 ^a	95.70±2.41 ^a	16.02±1.61 ^a
20	59.59±4.59 ^b	94.43±2.41 ^{ab}	16.14±1.64 ^a
40	53.89±2.46 ^c	93.53±2.15 ^b	14.73±1.33 ^b
60	55.02±3.46 ^c	94.11±2.23 ^b	14.07±1.15 ^b
ANOVA	0.0000	0.0131	0.0000
<i>48 h</i>			
10	59.00±6.31 ^a	93.96±2.51	15.64±1.89 ^a
20	54.88±6.81 ^b	93.58±2.70	15.23±2.43 ^a
40	43.46±2.85 ^c	92.42±2.43	12.40±1.52 ^b
60	43.80±3.15 ^c	92.94±2.70	11.96±1.05 ^b
ANOVA	0.0000	0.1806	0.0000
<i>72 h</i>			
10	56.08±7.24 ^a	92.54±3.09	15.44±2.42 ^a
20	51.51±7.67 ^b	91.72±3.05	14.78±2.90 ^a
40	37.71±6.36 ^c	90.83±3.83	9.94±2.06 ^b
60	35.93±2.36 ^c	91.51±3.65	9.60±1.91 ^b
ANOVA	0.0000	0.3868	0.0000
<i>96 h</i>			
10	53.57±8.21 ^a	90.96±2.92	16.26±2.97 ^a
20	48.41±8.55 ^b	90.37±3.42	15.60±3.20 ^a
40	31.04±4.17 ^c	89.51±4.98	11.11±4.27 ^b
60	30.83±2.40 ^c	88.52±4.03	10.12±2.68 ^b
ANOVA	0.0000	0.1602	0.0000
Tiempo Inmersión	L*	h _{ab} *	C _{ab} *
<i>T1</i>			
10	62.49±6.84 ^a	94.95±3.15 ^a	14.74±2.16 ^a
20	58.00±8.34 ^a	90.36±2.21 ^b	16.80±2.22 ^b
40	41.44±8.42 ^b	90.87±1.60 ^b	10.92±2.20 ^c
60	43.66±10.86 ^b	90.04±3.74 ^b	11.92±2.21 ^c
ANOVA	0.0000	0.0002	0.0000
<i>T2</i>			
10	60.40±6.58 ^a	91.74±3.47 ^{ab}	16.55±1.09 ^a
20	54.68±5.76 ^a	93.19±2.02 ^a	14.57±1.79 ^b
40	40.93±9.16 ^b	89.20±4.17 ^b	12.29±2.81 ^c
60	42.67±10.32 ^b	91.78±3.53 ^{ab}	11.73±2.11 ^c
ANOVA	0.0000	0.0460	0.0000

y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Anexos II Tratamientos isotónicos y osmóticos

T3			
10	56.53±6.47 ^a	93.13±3.05 ^a	16.16±2.21 ^a
20	53.54±6.90 ^a	94.04±2.05 ^a	14.59±2.06 ^{ab}
40	39.69±10.74 ^b	90.41±2.07 ^b	13.33±3.36 ^b
60	40.78±11.19 ^b	90.02±3.55 ^b	13.02±2.77 ^b
ANOVA	0.0000	0.0013	0.0237
T4			
10	54.67±7.83 ^a	93.57±3.12	16.40±2.20 ^{ab}
20	53.50±10.23 ^a	92.24±5.00	16.76±3.69 ^a
40	41.05±10.82 ^b	88.94±5.25	14.00±4.13 ^b
60	39.48±8.54 ^b	91.14±3.34	10.73±2.70 ^c
ANOVA	0.0001	0.0712	0.0001
T5			
10	56.92±6.15 ^a	93.03±3.62	17.40±3.16 ^a
20	51.72±9.42 ^a	93.01±2.92	14.87±2.47 ^b
40	41.81±8.31 ^b	93.27±1.72	12.45±2.92 ^c
60	40.07±9.28 ^b	92.25±2.48	10.69±2.39 ^c
ANOVA	0.0000	0.8186	0.0000
T6			
10	55.50±6.06 ^a	94.25±2.57	14.53±1.96 ^a
20	51.03±8.22 ^a	92.51±2.67	15.28±2.02 ^a
40	41.09±9.43 ^b	92.88±4.50	10.61±2.62 ^b
60	40.74±9.49 ^b	92.52±5.60	11.75±2.48 ^b
ANOVA	0.0001	0.6852	0.0000
T7			
10	55.80±7.42 ^a	93.66±2.65	14.82±1.17 ^a
20	53.39±6.99 ^a	91.23±4.05	16.19±2.06 ^a
40	44.63±10.45 ^b	93.71±2.81	11.77±2.57 ^b
60	42.28±10.25 ^b	92.22±4.17	11.64±2.14 ^b
ANOVA	0.0009	0.2500	0.0000
T8			
10	60.03±9.40 ^a	91.97±3.64	16.12±2.36 ^a
20	52.92±8.52 ^a	93.62±3.37	14.43±3.32 ^a
40	41.55±9.74 ^b	93.32±3.59	10.98±2.97 ^b
60	41.49±8.78 ^b	94.18±2.44	10.04±2.72 ^b
ANOVA	0.0000	0.4115	0.0000

y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Capítulo III

Efectividad de tratamientos antipar- deantes aplicados por impregnación a vacío.

En los alimentos porosos la aplicación de la técnica de impregnación a vacío implica la salida parcial del gas del interior de los poros y su posterior sustitución por un líquido externo. Por consiguiente, en el alimento tendrán lugar cambios importantes tanto en sus propiedades físico-químicas como en las estructurales (Fito *et al.*, 2001).

La impregnación a vacío puede mejorar la velocidad de transmisión de materia en muchos procesos donde los sistemas sólido-líquido están implicados como son los procesos de salado, deshidratación osmótica, acidificación, adición de conservantes, etc. Por consiguiente dicha técnica nos permite introducir el ingrediente del alimento deseado directamente en el producto a lo largo de sus poros, de una manera controlada, según explica el modelo hidrodinámico.

En nuestro caso, se ha utilizado esta técnica para intentar mejorar la eficacia de agentes antipardeantes en pera mínimamente procesada.

III.1 INTRODUCCION

En el apartado 6 de la Introducción, se discute ampliamente la técnica de impregnación a vacío incluyéndose, su mecanismo de acción, los factores que afectan su efectividad, los cambios que promueve en el tejido vegetal y su aplicación a FMP. En este capítulo se emplea esta técnica para la aplicación de diferentes compuestos antipardeantes. Tal como se mencionó en los capítulos anteriores, los derivados de los ácidos cítrico y ascórbico, han sido ampliamente utilizados en el control del pardeamiento enzimático de frutas y hortalizas MP. La efectividad de otros compuestos como el 4-Hexylresorcinol o el EDTA también ha sido también probada, a continuación se detallan las principales características de estos compuestos.

III.1.1 4-Hexylresorcinol

En la búsqueda de nuevos compuestos antipardeantes, se ha utilizado recientemente un compuesto perteneciente a la familia de los resorcinoles, el 4-hexylresorcinol (4-HR) (4-hexyl-1,3-dihidroxibenceno $C_{12}H_{18}O_2$) (Figura III.1), que posee una estructura análoga a los substratos utilizados por la polifenol oxidasa (PPO). Además ha sido reconocido como aditivo GRAS (*Generally Recognized as Safe*) en el control de la melanosis de crustáceos. En la Tabla III.1 se detallan las principales características de este compuesto.

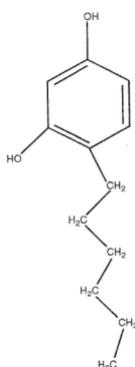


Figura III.1. Estructura química del 4-hexylresorcinol (Adaptado de Gutiérrez, 2001)

Tabla III.1. Características del 4-hexylresorcinol empleado en el control del pardeamiento de frutas, hortalizas y crustáceos (Adaptado de McEvily *et al.*, 1991a)

Ventajas y Desventajas	Observaciones	Dosis usual (p/v)
»Alta efectividad a bajas concentraciones	»Es soluble en agua, no tóxico, no mutagénico y no cancerígeno	0.005 a 0.03%
»Inhibición irreversible	»Posible acción antimicrobiana	

El 4-HR ha proporcionado excelentes resultados en diferentes tipos de alimentos (Montero *et al.*, 2001). En frutas y hortalizas MP, el 4HR ha sido utilizado en los últimos años por diversos grupos de investigación (McEvily *et al.*, 1991a y b; Monsalve-González *et al.*, 1993 y 1995; Frankos *et al.*, 1991). Por ejemplo, Monsalve-González *et al.*, (1993) observaron como el uso combinado de 4HR (0.02%) con el ácido ascórbico (0.25%) resultó ser más efectivo en el control del pardeamiento que el sulfito sódico durante la inmersión a 25°C de rodajas de manzanas MP var. *Red Delicious*. Sin embargo, estos tratamientos resultaron ineficaces cuando se realizaron a temperaturas superiores a 35°C. También Son *et al.*, (2001) observaron que inmersiones durante 3 min en 0.1% de 4HR resultaron muy efectivas en la prevención del pardeamiento de rodajas de manzana MP, almacenadas durante 3h a temperatura ambiente, no apreciándose cambios en la luminosidad ($\Delta L^*=0$).

En su empleo el 4-HR se combina generalmente con otros agentes antipardeantes. La mezcla de 4HR (0.001M), sorbato de potasio (0.05M) y ácido isoascórbico (0.5M) provocó una reducción en el pardeamiento y en el deterioro de rodajas de mango MP envasadas en atmósfera modificada durante 14 días a 10°C (González-Aguilar *et al.*, 2000). También la mezcla de 4HR (0.001g/L), sorbato potasio (0.05g/L) y N-acetilcisteína (0.025g/L) fue efectiva en la prevención del deterioro de rodajas de rábanos durante 18 días a 10°C (González-Aguilar *et al.*, 2001).

Además, el 4-HR posee un efecto antimicrobiano debido a su acción antiséptica (BIAM, 1992). Soto *et al.*, (2000) observaron un doble efecto, antimicrobiano-antipardeante, ocasionado por el 4-HR (200ppm) en el procesamiento mínimo mediante métodos combinados de pulpa de la fruta de la pasión, siendo ésta estable por más de 60 días a 30°C.

Con lo que respecta a la fruta objeto de este estudio, Buta y Abbott (2000) y Buta *et al.*, (1999) concluyen que tratamientos que contienen en su formulación 4-hexylresorcinol junto con otros compuestos como ácido isoascórbico, N-acetilcisteína y sales de calcio fueron altamente eficientes en el mantenimiento de la calidad visual y produjeron una reducción significativa de la pérdida de firmeza de rodajas MP de peras *var. Anjou, Bartlett* y *Bosc* y de manzana *var. Red Delicious* almacenadas durante 14 días a 5°C.

No obstante, existe cierta controversia sobre la efectividad de este compuesto. Existen varios estudios donde su efectividad limita, condiciona, e incluso, potencia el pardeamiento. Sapers y Miller (1998) concluyen que la utilización de 4hexylresorcionol elimina incluso el pardeamiento de la zona central de varias variedades de peras MP, exceptuando la *var. Bosc* que sufrió un severo pardeamiento independientemente del tipo de tratamiento, del estado de madurez o de las condiciones de envasado. Por otro lado, en ausencia del ácido ascórbico, el 4-hexylresorcinol fué incapaz de inhibir el pardeamiento de rodajas de pera MP *var. Bosc* (Dong *et al.*, 2000) y de rodajas de manzana MP *var. Delicious* (Luo y Barbosa-Canovas, 1995). La inmersión de rodajas de manzana MP *var. Delicious* en 4-HR (0.005%) provocó pardeamiento, principalmente en los haces vasculares después de dos días de almacenamiento en refrigeración (Luo y Barbosa-Canovas, 1995). En el mismo sentido, inmersiones de 5-120 s en concentraciones inferiores a 50 y/o iguales a 100 ppm indujeron un inmediato y severo pardeamiento en rodajas de champiñón MP. Por otro lado, concentraciones de 500 ppm fueron la causa de la aparición de coloraciones amarillentas y de un colapso del tejido, así como

de desarrollo de pardeamiento a lo largo del almacenamiento a 4°C (Sapers *et al.*, 1994).

III.1.2 Etilendiaminotretaacético (EDTA)

Uno de los agentes quelantes o secuestrantes más comúnmente utilizados en los alimentos son el ácido cítrico (Tabla I.1, del Capítulo I), diferentes fosfatos y las sales del ácido etilendiaminotretaacético (EDTA). El EDTA-disódico es reconocido como aditivo GRAS, y se emplea para mejorar el color, el flavor y mantener la textura, además de ser utilizado como conservador. En la Tabla III.2, se recogen las principales características del EDTA.

Tabla III.2. Características del EDTA empleado en el control del pardeamiento de frutas y hortalizas (Adaptado de Wiley, 1994; Fennema, 2000)

Efecto / Acción	Ventajas y Desventajas	Observaciones	Dosis usual (p/v)
» Formación de complejos altamente estables al secuestra al ion Cu^{++} del centro activo	» Forma quelatos de gran estabilidad con el Ca^{++} » Puede originar agotamiento de Ca^{++} en el tejido si se añade en exceso	» Máxima eficacia secuestrante a pH neutros, donde los grupos carboxilos están disociados » Antioxidante sinergista, ya que eliminan los iones metálicos que catalizan el proceso de oxidación » Antimicrobiano (Gram ⁻)	0.2 a 0.5%

Castañer *et al.*, (1996) observaron que inmersiones de 5 s en EDTA (5 g/L) previene el pardeamiento de tallos de lechuga MP *var. Iceberg*. El EDTA es generalmente utilizado en combinación con otros agentes antipardeantes (McEvily *et al.*, 1992). Así, se ha sido utilizado en por ejemplo en patatas (Sapers *et al.*, 1989) melón (Lamikanra y Watson, 2001) champiñón (Sapers *et al.*, 1994) y aguacate (Dorantes-Alvarez, 1996; Soliva-Fortuny *et al.*, 2002) MP.

Varios autores han confirmado la capacidad de inhibición del EDTA en extractos enzimáticos de PPO de champiñón (Weemaes *et al.*, 1999), de patata (Duangmal y Owusu, 1999) y melocotón (Luh y Phithakpol, 1972). Sin

embargo, el estudio realizado por Almeida y Nogueira (1995) ha nueve extractos de frutas y hortalizas diferentes, concluye que el EDTA posee una pobre actividad inhibitoria hacia la PPO.

III.1.3 pH de las soluciones antipardeantes

La mayoría de las soluciones empleadas, para la inhibición del pardeamiento enzimático son ácidas (McEvily *et al.*, 1992). Sin embargo, Ponting *et al.*, (1972) y Sapers y Miller (1998) demostraron que se consigue un aumento de un incremento en la efectividad de los antipardeantes más comúnmente utilizados con valores neutros de pH. De esta manera, consiguieron una reducción considerable del pardeamiento de manzana y la pera MP.

Otros estudios en pera MP *var. Bartlett*, Gorny *et al.*, (2002) concluyeron que inmersiones de 5 min a 20 °C con ácido ascórbico (2% p/v), lactato de calcio (1% p/v) y cisteína (0.5% p/v) ajustadas con NaOH a pH 7.0, incrementaron su vida útil al lograr disminuir significativamente el pardeamiento y la pérdida de firmeza, comparadas con formulaciones homologas a pH de 3.7. También Sapers y Miller (1998) observaron que inmersiones en medios neutros son mejores que los medios ácidos en la inhibición del pardeamiento de diferentes variedades de pera MP, mostrando incluso un incremento en la coordenada L* y un muy ligero incremento en la coordenada a*, durante 7 días de almacenamiento a 4°C.

El uso de pH cercanos a la neutralidad son necesarios para la disociación de grupos carboxilo del EDTA con un pK_2 cercano a 2.6 (Cesaro *et al.*, 1982). A pH alrededor de 6.0 la mayoría de los grupos carboxilo están cargados negativamente, de forma que pueden ligar al calcio provocando la inhibición de sus efectos reafirmantes en el tejido. Por lo tanto, cuando el pH es bajo, la efectividad del calcio como agente de preservación de la firmeza sería mayor.

III.1.4 Efecto del calcio sobre el tejido vegetal

El efecto del calcio sobre el tejido vegetal ha sido objeto de numerosos estudios. A principios de los años sesenta, Ginzburg (1961) señaló que el calcio se podía considerar como un puente de unión intermolecular en la estabilización pectina-proteína en la lamina media de los tejidos vegetales. Más tarde, Barceló *et al.*, (2001) demostraron que el calcio puede actuar en las plantas bajo dos formas: como componente estructural de las paredes y membranas celulares, y como cofactor de varias enzimas.

A continuación, se analiza el papel que desempeña el calcio en la textura y consistencia del tejido vegetal, así como su mecanismo de acción y la influencia de su adición sobre algunos aspectos de la calidad de frutas y hortalizas mínimamente procesadas.

El calcio es esencial para el mantenimiento de la estructura y el funcionamiento de las paredes y membranas celulares (Izumi y Watada, 1994). El mantenimiento de la estructura de la pared celular depende particularmente del enlace del calcio con los componentes pécticos de la lamina media (Bangert, 1979; Poovaiah, 1986a y b). El complejo calcio-pectina actúa como un cemento intracelular que proporciona firmeza al tejido vegetal (Alonso *et al.*, 1995)

La mayoría del calcio en el tejido vegetal se acumula en las paredes celulares, y se enlaza a las pectinas mediante la unión del grupo carboxílico o de los grupos hidroxílicos a diversos polisacáridos, mediante uniones electrostáticas o coordinadas formando una red que incrementa su fuerza mecánica (Van Buren, 1979). El calcio puede alterar la estructura de la membrana debido a su habilidad para inducir una distribución asimétrica negativa de los fosfolípidos en la bicapa de la membrana (Krebs *et al.*, 1979) y alterar la fluidez de la misma (Paliyath *et al.*, 1984). Asimismo, los iones calcio también pueden contribuir a la firmeza del tejido mediante un incremento en la

integridad de la membrana, consiguiéndose el mantenimiento o incremento de la presión de turgencia en la célula (Mignani *et al.*, 1995).

Según el modelo de “la caja de huevos” (Figura III.2) (Grant *et al.*, 1973), la asociación entre las pectinas de bajo grado de metilación y los iones de calcio provoca la formación de estructuras poliméricas con alta reticulación. Como consecuencia, los productos vegetales que contiene pectinas con un grado bajo de metilación, después de los tratamientos con calcio, muestran consistencias más altas o, si es fluido, una viscosidad aparente más alta (Van Buren, 1979; Guillou *et al.*, 1992).

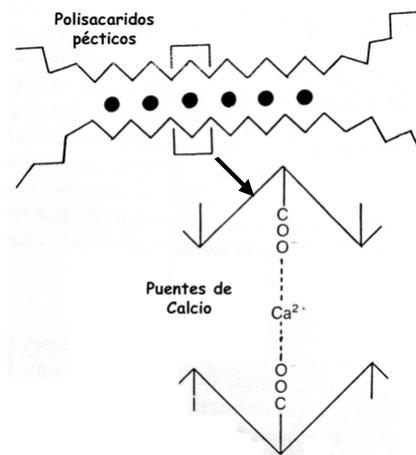


Figura III.2. Modelo de “la caja de huevos” (Adaptado de Grant *et al.*, 1973)

Micrografías electrónicas de paredes celulares de frutas tratadas con calcio muestran un denso paquete de fibrillas y la lamina media es visible como una región más electro-densa. En las paredes celulares de frutas sin tratar se observó una disolución de la región de la lamina media y, en general, una mayor ruptura de la estructura de la pared celular (Glenn *et al.*, 1988), lo cual confirma la actuación del calcio como un agente ligador intermolecular estabilizando los complejos pectina-proteína de la lamina media (Ginzberg, 1961; Brinson *et al.*, 1988).

De esta forma tratamientos con sales de calcio reducen el ablandamiento del tejido vegetal en rodajas de fresas mejor que enteras (Morris *et al.*, 1985). El calcio solo o en combinación con otros aditivos como ácido cítrico, ácido ascórbico o cisteína conservan la firmeza de rodajas de pera, fresa (Rosen y Kader, 1989) y zanahoria (Bruemmer, 1987). En contraste, durante el almacenamiento de lechuga troceada (Bolin *et al.*, 1977) o cortada (Krahn, 1977) la extensión en la vida útil se vio severamente reducida por la aplicación de calcio. Inmersiones de cubos de melón mínimamente procesado en agua clorada con propionato de calcio dieron como resultado productos con características antimicrobianas excelentes, además de prevenir la translucidez durante 7 días a 10°C. Los análisis de calidad demostraron que tratamientos con propionato de calcio disminuyen la tasa de respiración y la producción de etileno, mantienen la firmeza del tejido, conservan el brillo y la luminosidad de las superficies, asimismo preservan el aroma y la calidad global visual durante su almacenamiento. De igual forma, el uso de propionato de calcio no impartió o indujo ningún aroma o sabor no característico. En rodajas de calabacín mínimamente procesadas los efectos beneficiosos del calcio fueron reforzados por la adición de 100 ppm de hipoclorito, mostrando un efecto sinérgico (Izumi y Watada, 1995).

La actuación del calcio como agente preservante de la firmeza de los tejidos vegetales da lugar, además, a la aparición de otros efectos derivados de éste, como son la disminución del pardeamiento enzimático y del crecimiento microbiano en el tejido, dependiendo del tipo de sal utilizada.

Con lo que respecta al papel del calcio en la disminución del pardeamiento enzimático, se sustenta en la teoría de que su acción fortalece a las paredes y membranas celulares (McGuire y Kelman, 1984), y como resultado de dicho fortalecimiento, se produce una menor liberación de la polifenol oxidasa o de sus substratos a las superficies cortadas. Así se ha observado como

consecuencia de la adición de calcio la reducción del pardeamiento enzimático en rodajas de manzana (Ponting *et al.*, 1972) y de pera (Rosen y Kader, 1989).

Además, la estabilización y/o reforzamiento de las paredes celulares provocados por el calcio puede intensificar la resistencia del tejido celular a los ataques bacterianos (Conway y Sams, 1984; Bolin y Huxsoll, 1989).

Luna-Guzmán y Barrett, (2000) observaron que el lactato de calcio produjo un efecto de secado en las superficies de melón mínimamente procesado, lo que redujo el crecimiento bacteriano, probablemente debido a la reducción en la disponibilidad del agua superficial (Lund, 1983), observándose posibles efectos antimicrobianos en recuentos totales y hongos y levaduras. Izumi y Watada (1994) concluyeron que debido a que el efecto del calcio fue observado únicamente después de varios días de almacenamiento de zanahoria mínimamente procesada, la ausencia del crecimiento microbiano es probablemente debida al incremento de la resistencia del tejido celular a la infección bacteriana y no a la acción bactericida por parte de las sales de calcio.

En el caso de la utilización de lactato de calcio, los estudios de su acción específica en la célula microbiana están limitados, pero se han propuesto por lo menos dos posibles mecanismos; el primero se basa en la habilidad de los ácidos lipofílicos débiles para atravesar la membrana celular en su forma no disociada, y disociarse dentro de la célula acidificando el interior (Freese *et al.*, 1973); el segundo mecanismo se basa en la capacidad específica del lactato de calcio para deprimir la actividad de agua (Loncin, 1975).

Por último, los tratamientos con iones divalentes como el calcio reducen la tasa respiratoria (Bangerth *et al.*, 1972; Faust y Shear, 1972; Poovaiah, 1986b) y por lo tanto pueden prolongar el periodo de almacenamiento de la fruta (Glenn *et al.*, 1988) y suprimir la producción de etileno, siendo dicha supresión más efectiva a bajas temperaturas (0-12°C) (Poovaiah, 1986b; Dilley, 1990;

Paliyath *et al.*, 1984). Esta reducción es debida a que concentraciones superiores a $1\mu\text{M}$ de calcio citosólico pueden inhibir la acción de muchas enzimas (Azcón-Bieto y Talón, 2000). El calcio citosólico juega un papel importante en la regulación de la actividad respiratoria, estando inversamente relacionados (Slocum y Roux, 1982). Las corrientes citoplasmáticas también se ven inhibidas con concentraciones por encima de $1\mu\text{M}$, y además se favorece la formación de sales de calcio insolubles con ATP y otros fosfatos orgánicos (Figura III.3)

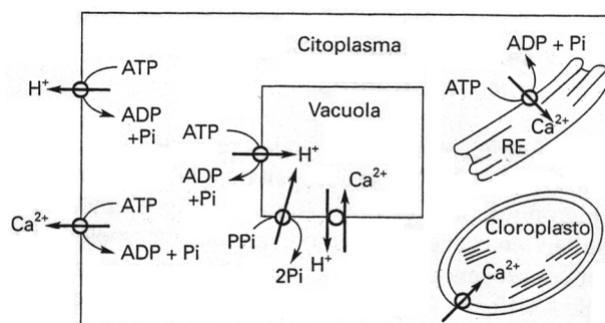


Figura III.3. Regulación de la concentración intracelular de Ca^{++} , que se acumula en la vacuola en forma de oxalato, carbonato, etc., pero también en el retículo endoplasmático (RE) y en el cloroplasto. (Adaptado de Azcón-Bieto y Talón, 2000)

III.1.5 Seguridad microbiológica de FMP

Con el procesado, la presencia de células dañadas y la disponibilidad de nutrientes celulares provee condiciones favorables para el desarrollo de numerosos microorganismos. Los géneros y especies, así como la cantidad de microorganismos presentes en los productos mínimamente procesados, varía con la fruta u hortaliza de que se trate, las prácticas de cultivo y la higiene durante la manipulación y procesado, siendo clave el correcto manejo de la temperatura. Sin embargo, a temperaturas de refrigeración existen microorganismos que puede desarrollarse con relativa rapidez, tales como *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium* y *Alcaligenes*, entre otros, (Jay, 1992).

Los microorganismos pueden afectar de forma adversa tanto a la calidad sensorial como a la seguridad de estos productos, siendo la seguridad de los alimentos vegetales MP una obligación legal de las industrias.

El establecimiento de los límites que deben cumplir las comidas preparadas envasadas a base de vegetales crudos se recoge en el Real Decreto 3484-2000 (BOE, 2001), el cual establece para el recuento total de aerobios mesófilos, y para una muestra de 5 unidades, sólo dos de ellas pueden tener un valor de entre 10^5 y 10^6 ufc/g el día de fabricación y entre 10^6 y 10^7 para el de caducidad. Así mismo, ninguna de las muestras podrá superar las 10^6 ufc/g en el primer caso y 10^7 ufc/g en el segundo.

En los alimentos perecederos, el mantenimiento de una carga microbiana a niveles satisfactorios dependerá de la elección apropiada de la materia prima y de la ejecución de unas prácticas industriales adecuadas de manipulación, procesado, envasado, almacenamiento y distribución.

III.1.6 Evaluación sensorial de FMP

Se ha propuesto por la norma UNE (87-004-79) la definición del análisis sensorial como el examen de las propiedades organolépticas de un producto realizable con los sentidos. Por tanto, intenta aislar las propiedades sensoriales de los alimentos en sí mismos, siendo una herramienta muy útil en el establecimiento de una buena aceptación sensorial por parte del consumidor.

La realización de evaluaciones de calidad por paneles de jueces, catadores, o consumidores, es de suma importancia, ya que es determinante para garantizar de la vida útil del producto y establecer la idoneidad del tratamiento utilizado.

Los parámetros sensoriales son determinantes para establecer la calidad de los productos mínimamente procesados. Evaluaciones sensoriales del color y apariencia en cubos de manzana MP *var. Jonagored* limitaron su vida útil a tres días como máximo (Rocha y Morais, 2003). También la evaluación sensorial por parte de un panel de catadores limitó la aceptabilidad de rodajas de naranja refrigeradas (4°C) a 5 días, debido a cambios producidos en el sabor y aroma. La temperatura de almacenamiento también fué un factor determinante en la calidad sensorial de piña, kiwi, melón y papaya MP (O'Connor-Shaw *et al.*, 1994).

La utilización de compuestos químicos (antimicrobianos, antipardeckantes, entre otros) para el desarrollo de frutas MP es en la mayoría de las ocasiones inevitable. Sin embargo, tales compuestos pueden provocar cambios en los productos, principalmente, en el sabor y aroma. La evaluación del impacto del tratamiento químico ha sido evaluada por diversos autores. Así, Gorny *et al.*, (2002) sometieron a un análisis sensorial a peras MP tratadas con una mezcla de distintos compuestos antipardeckantes (ácido ascórbico, lactato de calcio y cisteína) con el objetivo de que un panel de catadores evaluara la presencia de sabores u olores no característicos. La evaluación sensorial realizada por Dong *et al.*, (2000) a rodajas de peras MP de las variedades *Bartlett* y *Anjou* señaló que la presencia de 4-hexylresorcinol (0.01%) provocó un sabor no característico en las muestras.

Un análisis sensorial realizado sobre melón MP tratado con CaCl₂ determinó que concentraciones mayores a 0.5% impartieron sabores y aromas perceptibles no característicos de melón (Luna-Guzman *et al.*, 1996; Luna-Guzman y Barrett, 2000).

III.1.7 Tasa respiratoria de FMP

La respiración es un proceso metabólico fundamental en el tejido vivo, y puede describirse como la degradación oxidativa de los productos más

complejos normalmente presentes en las células, como el almidón, los azúcares y los ácidos orgánicos a moléculas más simples, como el dióxido de carbono y el agua con la consiguiente liberación de energía y otras moléculas que pueden ser utilizadas para las reacciones de síntesis celular. La respiración puede tener lugar en presencia de oxígeno (respiración aeróbica) o en su ausencia (respiración anaeróbica, a veces denominada fermentación) (Wills, 1998)

En los productos vegetales la tasa de respiración es un buen indicador de la actividad metabólica y además es un parámetro eficaz para la predicción de la vida útil. (Glenn *et al.*, 1988). En la Tabla III.3 se muestran los valores de la tasa respiratoria para diferentes variedades de pera MP.

Tabla III.3. Tasa respiratoria ($\text{mL CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) de diferentes variedades de pera MP almacenadas en aire a diferentes temperaturas (Adaptado de Gorny, 1998).

Variedad	Temperatura (°C)		
	0 a 2.5	10	20 a 23
<i>Bartlett</i>	0.0 – 5.3	12 – 16	47.4
<i>Bosc</i>	-	8 – 14	-
<i>d'Anjou</i>	-	7 – 14	-
<i>Red d' Anjou</i>	-	6 – 14	-

La fruta cortada, troceada y/o pelada sigue unas pautas en la respiración diferentes a las de la fruta entera durante el almacenamiento debido a la respuesta fisiológica al daño sufrido a causa del corte (Wiley, 1994). Las posibles manifestaciones de estas operaciones en frutas MP incluyen un aumento en la tasa de respiratoria y en la producción del etileno, una acelerada senescencia y un incremento del pardeamiento enzimático (Watada *et al.*, 1990).

Se ha observado que la operación de cortado en peras ocasiona un aumento en la producción de CO_2 , pero no en la producción de C_2H_4 que permanece similar a la de la fruta entera intacta (Rosen y Kader, 1989).

Bajo condiciones de limitación de oxígeno atmosférico, los tejidos vegetales pueden iniciar una respiración anaeróbica en la que la glucosa se convierte en piruvato por la vía EMP (Embden Meyerhof Parnas). Cuando el piruvato se transforma en ácido láctico o acetaldehído y etanol, el proceso se denomina fermentación (Figura III.4). La respiración anaeróbica produce mucha menos energía por mol de glucosa que las rutas aeróbicas, pero permite poner a disposición del tejido cierta cantidad de energía en condiciones adversas (Wills, 1998). Una tasa respiratoria y un cociente respiratorio elevados son generalmente indicativos de reacciones fermentativas.

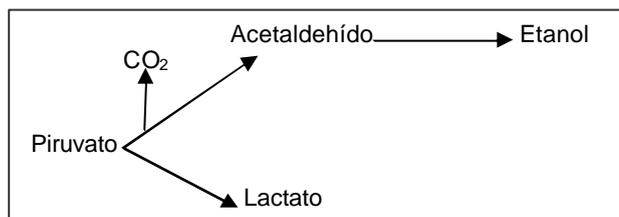


Figura III.4 Rutas metabólicas del piruvato durante la fermentación (Adaptado de Wills, 1998)

Los productos vegetales expuestos a condiciones anaeróbicas presentan pérdidas importantes en su calidad, y si la exposición es prolongada tendrá lugar la muerte del tejido vegetal. Los síntomas de la exposición y las pérdidas de calidad varían considerablemente entre los diferentes productos vegetales. Las condiciones anaeróbicas pueden producir la formación sabores y olores indeseables, alteración de la textura, pardeamiento, además de provocar un aumento en la incidencia de desórdenes fisiológicos indeseables (Kays, 1991).

III.1.7.2 Envasado en atmósferas modificadas

El envasado en polímeros plásticos de permeabilidad selectiva permiten crear una atmósfera modificada activa (se elimina el aire del envase y se reemplaza con la mezcla de gases deseada) o pasiva (se envasa el producto y la atmósfera se modifica durante la respiración) (Kader, 1992). Este tipo de envasado se emplea, generalmente, para tiempos de conservación cortos. Las condiciones de envasado y los cambios en la composición gaseosa durante el almacenamiento dependerán de: (i) la actividad respiratoria de los alimentos envasados, (ii) la temperatura de almacenamiento, (iii) la permeabilidad de los materiales del envase, (iv) la humedad relativa del ambiente (puede afectar a la permeabilidad del envase) y (v), la relación superficie de envase/cantidad de alimento (Fellows, 1994; Wiley, 1994).

Bajas concentraciones de O₂ y/o elevadas de CO₂ generados por el envasado en atmósferas modificadas de productos cortados pueden extender su vida útil mediante: (i) el retraso de reacciones de pardeamiento en las superficies de corte; (ii) reducción de las velocidades de transpiración del producto (pérdida de agua) y respiración; y (iii) la reducción de la biosíntesis del C₂H₄ (Gorny y Kader, 1997).

Sin embargo, varios autores han concluido que el envasado en atmósferas modificadas por si solo, es insuficiente para el mantenimiento de la calidad de varias variedades de pera MP (Rosen y Kader, 1989; Soliva-Fortuny *et al.*, 2002a y b; Gorny *et al.*, 2002; Gorny *et al.*, 1998).

III.2 INTERÉS Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO

Huxsoll y Bolin (1989) establecieron que la vida útil de los alimentos mínimamente procesados se puede definir como el tiempo requerido para que cualquiera de sus parámetros de calidad alcance un nivel inaceptable. Los

diferentes factores de calidad que se consideraron para este estudio se basaron en las siguientes reflexiones: (i) Para estimar la vida útil en un producto MP hay que tener en cuenta la evolución de los parámetros físico-químicos más relevantes, en este caso color y propiedades mecánicas, junto con su calidad microbiológica para procesar un producto sano y seguro, ya que, a pesar de que el almacenamiento en refrigeración retarda algunos procesos bioquímicos de frutas y hortalizas MP (Watada y Qui, 1999), el desarrollo de microorganismos, en especial psicrótrofos, y de algunas enzimas continúa. (Lamikanra *et al.*, 2000). Por tanto, el producto puede tener una carga microbiana suficientemente elevada para producir sabor y olor desagradables y la degradación de tejidos, considerándolo no apto para su consumo. (ii) El aumento de la vida útil de un alimento se logra a través del conocimiento de los factores que causan, con mayor antelación, la pérdida de calidad en el producto para así poder actuar sobre ellos, retardando o inhibiendo los procesos indeseables. Por ejemplo, la utilización de sales de calcio ha sido empleada por numerosos autores, para el incremento en la vida útil de productos vegetales MP. Además, los agentes antipardeantes y las concentraciones empleadas fueron escogidas en base a los resultados en los trabajos previos, buscando siempre un pH lo más neutro posible.

Por consiguiente, el objetivo general de este trabajo es el estudio del efecto de diferentes compuestos antipardeantes aplicados mediante la técnica de impregnación a vacío a muestras de pera *var. Blanquilla*, evaluando diferentes parámetros de calidad durante su almacenamiento en refrigeración.

Para lograr este objetivo general, se establecieron los siguientes objetivos específicos: (i) Análisis de la efectividad de compuestos antipardeantes aplicados por impregnación a vacío a través de la evaluación de las propiedades ópticas y mecánicas durante su almacenamiento. (ii) Evaluación de la calidad microbiológica de las muestras impregnadas durante su almacenamiento. (iii) Determinación de la tasa respiratoria de las muestras como indicativo de su vida útil. (iv) Análisis de la composición gaseosa en el espacio de cabeza de

muestras almacenadas (v) Análisis del efecto de la técnica de impregnación a vacío sobre las características sensoriales de muestras de pera MP. (vi) Evaluación del efecto de antipardeantes en diferentes atributos sensoriales y grado de aceptación de las muestras.

III.3 MATERIALES Y METODOS

III.3.1 Materia prima

Como materia prima se utilizó pera *var. Blanquilla* tal como se describe en el Apartado I.3.1 (Capítulo I), con un contenido de sólidos solubles, medio de 12.8 ± 0.6 °Bx.

III.3.2 Soluciones empleadas

Las soluciones utilizadas en los tratamientos antipardeantes se prepararon con una solución isotónica de sacarosa de 14°Bx, además de contener los diferentes compuestos antipardeantes con diferentes concentraciones. Los compuestos utilizados fueron citrato tri-sodio 2-hidrato, L(+)-ascorbato sodio, sal disódica etilendiaminotetraacético 2-hidrato (EDTA) y lactato de calcio 5-hidrato (Ca^{++}), suministrados por Panreac Chemical Co., El 4hexylresorcinol (4-HR), adquirido por Sigma-Aldrich Chemical Co. y sacarosa suministrada por AEASA Co. La cantidad de solución utilizada en cada tratamiento estuvo en proporción 20:1 respecto al peso de la fruta tratada. En la Tabla III.4 se muestra el diseño de los tratamientos empleados, con la composición, a_w y pH de las soluciones utilizadas en cada caso.

Tabla III.4. Composición, a_w , pH y °Brix de las soluciones^{x,z}

Tratamiento	Compuesto antipardeante	Concentración % (p/p)	a_w	pH	° Brix
T1	Citrato	3	0.986±0.002	6.97±0.19	17.6±1.7
T2	Ascorbato	2	0.989±0.002	6.67±0.37	17.2±1.4
T3	EDTA	0.4	0.991±0.002	4.59±0.20	14.9±0.2
T4	4-HR	0.02	0.992±0.002	6.03±0.38	14.5±1.4
T5	Isotónico (control)		0.991±0.002	5.90±0.48	14.2±1.1
T6	Citrato+lactato de Calcio	3 / 1	0.984±0.001	6.68±0.25	18.4±1.7
T7	Ascorbato+lactato de Calcio	2 / 1	0.985±0.001	6.37±0.34	18.8±1.6
T8	EDTA+ lactato de Calcio	0.4 / 1	0.990±0.002	3.92±0.07	16.5±1.4
T9	4-HR+ lactato de Calcio	0.02 / 1	0.991±0.002	6.53±0.23	15.2±0.3
T10	Isotónico+ lactato de Calcio	1	0.989±0.002	6.62±0.13	16.5±0.3

x media ± derivación estándar

z T1-T10 contienen una solución isotónica base (14°Bx de sacarosa)

Para las determinaciones microbiológicas, de la composición gaseosa y para la evaluación sensorial la solución base (isotónica 14°Bx de sacarosa) fue esterilizada a 121°C por 15 min con el fin de no introducir a las muestras contaminación microbiana, durante la impregnación a vacío.

III.3.3 Preparación de las muestras

Para la preparación de las muestras en cada una de las experiencias se procedió de igual modo como se describe en el Apartado I.3.2 (Capítulo I). Cada uno de los cilindros se pesó en una balanza de sensibilidad 0.01g y fue identificado para su posterior seguimiento.

III.3.4 Aplicación del tratamiento

Cada muestra cilíndrica se sumergió en la solución correspondiente a una temperatura de 4°C e inmediatamente después, fue introducida en el equipo de impregnación a vacío de la planta piloto del Departamento de Tecnología de Alimentos de la UPV a una presión de 50 mbars durante 5 min. Transcurrido este tiempo, la presión atmosférica se restauró y la muestra se mantuvo en la

solución durante 10 min más con agitación. Posteriormente las muestras se extrajeron de las soluciones, se eliminó el exceso de solución superficial con papel absorbente y se pesaron en una balanza de sensibilidad (0.01g). Las muestras fueron almacenadas a 4°C en bolsas de polietileno de alta densidad (PEHD) con cierre de seguridad suministradas por DeltaLab®. para su inmediato (t=0 días de almacenamiento) o posterior análisis, almacenándose a 4°C. Las muestras destinadas a los análisis microbiológicos se almacenaron en bolsas de polietileno estériles de permeabilidad al CO₂ de 6000-7000 y al O₂ de 2000-3000 mL/m² 24h atm suministradas por SewardMediacal®. que se termosellaron.

III.3.5 Determinaciones físicos-químicas

Para las determinaciones de humedad, grados Brix, pH y a_w, propiedades mecánicas y propiedades ópticas se siguieron los protocolos descritos en el Apartado II.3 Materiales y Métodos, del Capítulo II.

III.3.5.1 Capacidad de retención de fase líquida

La capacidad de retención de fase líquida, principalmente agua (CRA) fue determinada por centrifugación de la muestra a 4000 r.p.m. (Selecta, Modelo MediFriger-BL) por 15 min a 15°C, y fue calculada utilizando la ecuación III.1, expresándose en porcentaje. Las determinaciones fueron realizadas por duplicado inmediatamente después de la aplicación del tratamiento (t=0 días) y posteriormente cada tres días hasta 17 días.

$$\%CRA = \frac{M \cdot (X_{ss} + X_w) - L}{M} \cdot 100 \quad (\text{Ec. III.1})$$

donde M es la masa de la muestra en gramos, X_{ss} es la fracción de sólidos solubles en la muestra (g_{sólidos solubles}/100g_{muestra}), X_w es la fracción de agua en la muestra (g_{agua}/100g_{muestra}) y L es el líquido exudado en mililitros.

III.3.5.2 Daño en la membrana celular

Se determino mediante el protocolo seguido por del Valle *et al.*, (1998). Colocándose los cilindros de pera en 50 mL de agua destilada a temperatura ambiente durante 4h, y se midió la conductividad inicial y final con un conductímetro (Multi-parameter Analyser, Modelo Consort C831) previa calibración con patrones de 0.01 M KCl (1332 μ s) y 0.1 M KCl (12.15ms) a 22°C. Las determinaciones fueron realizadas por triplicado inmediatamente después de la aplicación del tratamiento (t=0 días), a 1 día de almacenamiento y posteriormente cada tres días hasta 17 días.

III.3.6 Análisis microbiológicos

La determinación del recuento de microorganismos mesófilos, psicrótrofos, mohos y levaduras se llevo acabo utilizando los métodos descritos en la APHA (*American Public Health Association*, 1992), expresando los resultados como logaritmo de unidades formadoras de colonias por gramo de muestra (Log₁₀ ufc/g).

Para la aplicación del tratamiento fueron esterilizados con autoclave el material y los medios de cultivo (121°C por 15 min). El material no autoclavable, así como los envases y la campana de flujo laminar donde se realizo la siembra fueron esterilizados por luz ultravioleta durante 1 h.

Las muestras previamente envasadas fueron abiertas en condiciones asépticas y colocadas en bolsas estériles diluyéndose en agua de peptona estéril 10⁻¹ (p/p) (Merck, KGaA), para su inmediata homogeneización con un masticador (*Stomacher*) durante 1 min Posteriormente se realizaron las diluciones apropiadas utilizando agua de peptona estéril. De cada una de las diluciones se tomo 1 mL con una pipeta automática estéril y se colocó en placas petri estériles de 90 mm de diámetro, añadiéndoseles el medio de

cultivo (aproximadamente 15 mL) (Figura AIII.1, del Anexo III.1). Para microorganismos mesófilos aerobios y psicrótrofos se utilizó agar para el recuento bacteriano (PCA, Merck, KGaA). Los primeros con un periodo de incubación de 3 días a 30 °C (Selecta, Modelo Incubat-2000207), y los segundos durante 10 días a 7 °C (Selecta, Modelo Hot-Cold UL4000697). El recuento de mohos y levaduras fue realizado en agar sabouraud dextrosa (Scharlau Chemie, S. A.) adicionándosele 0.05 g L⁻¹ de cloramfenicol (Calbiochem), incubándose por 5 días a 30 °C (Selecta, Modelo Incubat-2000207). Se realizó el recuento de placas con un número de unidades formadoras de colonia (ufc) comprendido entre 30 y 300.

Los recuentos microbiológicos se realizaron por duplicado, efectuándose después de la aplicación del tratamiento (t=0 días) y posteriormente cada 5 días durante 25 días.

III.3.7 Análisis sensoriales

Para determinar la percepción de la calidad organoléptica de la pera MP, se realizaron dos tipos de evaluaciones, la primera correspondiente a una prueba de comparación pareada simple, y la segunda una prueba de comparaciones múltiples. Ambas pruebas se realizaron en la sala de catas del Departamento de Tecnología de Alimentos de la UPV, que sigue las directrices de la Norma UNE 87-004-79, y fue realizada a un panel de catadores no entrenado.

En la prueba de comparación simple los catadores indicaron mediante un test (Figura AIII.2, del Anexo III.1) cuál de las dos muestras tenía mayor intensidad de los siguientes siete atributos: aroma, firmeza, dureza, sabor, acidez, dulzor, jugosidad y preferencia global. La evaluación se realizó con los ojos tapados con el fin de evitar que los consumidores estuvieran influenciados en sus respuestas por el diferente aspecto de las muestras ocasionado por la impregnación a vacío (apariencia translúcida). Las muestras sujetas a la comparación procedían de la misma pera para evitar diferencias sensoriales

asociadas a la materia original. El análisis se realizó inmediatamente después de la aplicación de los tratamientos (t=0 días).

En la prueba de comparación múltiple se les pidió a los dieciséis catadores que compararan las muestras respecto a una de referencia, en términos de la intensidad menor (-) o mayor (+) de cada una de los atributos translucidez, pardeamiento, aroma, firmeza, jugosidad, sabor, acidez, dulzor y preferencia global. El análisis sensorial fue realizado con muestras procedentes de la misma pera recién procesadas (t=0 días), ya que esta forma se detectarían más fácilmente sabores residuales posiblemente procedentes de las soluciones de impregnación, y de minimizar el riesgo microbiológico hacia los consumidores. Se realizaron tres repeticiones, durante 3 semanas consecutivas, utilizando una hoja de test donde se codificaron las muestras (Figura AIII.3, del Anexo III.1).

III.3.8 Determinación de la tasa respiratoria

Tanto la emisión de CO₂ como el consumo de O₂ pueden ser utilizados para medir la tasa respiratoria (TR). Para la determinación de la TR se utilizó un método estático tal como lo describen Stern *et al.*, (2000), que consistió en colocar las muestras en un recipiente impermeable y cerrado (recipiente de vidrio) con una concentración de aire inicial conocida midiéndose directamente los cambios en las concentraciones internas de O₂ y CO₂ resultantes de la respiración después de un determinado periodo de tiempo. Además, a partir de la medición simultánea del intercambio gaseoso entre CO₂ y O₂ es posible calcular el cociente respiratorio (CR), que es la relación entre las moléculas de CO₂ emitido y las moléculas de O₂ utilizado.

Las muestras (145-155 g) fueron colocadas en un recipiente de vidrio (0.847 litros de capacidad) cerrado herméticamente y se colocaron en una incubadora a 10°C (Selecta, Modelo Hot-Cold UL4000697). Las concentraciones en porcentaje de O₂ y CO₂ se midieron con un analizador automático (PBI

Dansensor, Modelo 9900) que utiliza un detector de infrarrojos para el CO₂ (0.01-100%) y el O₂ es detectado por un sensor de estado sólido (0-100%). La muestra de gas (1-2 mL) fue succionada del espacio de cabeza por una jeringa a través de un septum cada 30 min durante 285 min

La tasa respiratoria (TR) (mL CO₂ ó O₂ kg⁻¹ h⁻¹) para ambos compuestos se obtuvo mediante la ecuación III.2

$$TR = \frac{\alpha \cdot V}{M \cdot 100} \quad (\text{Ec. III.2})$$

donde α es la pendiente de la variación de la fracción volumétrica en porcentaje obtenida de la representación frente al tiempo en horas en el intervalo de medición, V es el volumen del espacio de cabeza del recipiente en mL, y M es la masa de las muestras en kilogramos. Las determinaciones fueron realizadas por triplicado.

III.3.9 Evolución durante el almacenamiento de la composición gaseosa en el interior de los envases

Para determinar la evolución del O₂, CO₂ y de volátiles asociados a procesos fermentativos, acetaldehído y etanol, a lo largo del almacenamiento se prosiguió como se describe a continuación.

Las muestras impregnadas se envasaron en contenedores termoconformados rígidos (tarrinas) de polipropileno en forma de copa de 0.350 litros de capacidad total (6.5 cm de alto, 6 cm de diámetro de boca y 250 μm de espesor), cada envase contenía entre 55 a 60 g de muestra (8 ó 9 cilindros). Posteriormente, las tarrinas se termosellaron (IEM, Modelo CD-500 de 500 m/m de ancho) en su perímetro superior con una película plástica de polietileno de 76 μm de espesor (Micrómetro Palmer). Tras el sellado, la superficie de intercambio gaseoso del envase fue de 0.0113m². Las tarrinas se

conservaron a 4°C (COPELAN, Modelo de AT41/ DKSJ150) y 88% HR durante 25 días para simular unas condiciones óptimas de distribución y comercialización hasta su consumo. Se realizaron 3 replicas por tratamiento y las determinaciones correspondientes se efectuaron al inicio y, posteriormente, cada 5 días. Las pérdidas de peso durante el almacenamiento se evaluaron por la diferencia de peso (Mettler-Toledo, Modelo PG503-S).

Con el fin de cotejar el intervalo la permeabilidad de la película plástica reportado en bibliografía, esta fue determinada utilizando el método isostático descrito por Llovera *et al.*, (2002). La permeabilidad de la película plástica se determinó únicamente para el CO₂ a 4 y 20°C a una a_w igual a cero. El método consiste en colocar la película plástica en una célula de medida que posee dos compartimentos de entrada y otros dos de salida (Figura AIII.4, del Anexo III.1). Por uno de los compartimentos de entrada es introducido el gas permeante (CO₂) a una presión parcial constante, mientras que por el otro es introducido un flujo de N₂ que recoge el CO₂ que ha permeado, este último flujo es analizado por cromatografía de gases en un microcromatógrafo de gases HP (Agilent, Modelo 200) (TCD).

III.3.9.1 Determinación de O₂ y CO₂

La determinación del O₂ y CO₂ en el espacio de cabeza en los envases se llevó a cabo mediante cromatografía gaseosa. Para ello se conectó mediante una unión reductora (localizada en el envase) a un microcromatógrafo de gases HP (Agilent, Modelo 3000A), con dos detectores de conductividad térmica (TCD1 y TCD2), el O₂ fue determinado por una columna de tamiz molecular a 60°C y el CO₂ con una columna Plot Q a 60°C, previa calibración con una mezcla de gases certificada (Abello Linde, Barcelona) de 21%O₂-4%CO₂ y resto N₂. Los resultados del análisis (% de cada uno de los compuestos detectados) fueron analizados mediante el *software* Cerity QA-QC. La temperatura de las tarrinas fue controlada a 4°C en una incubadora (Selecta, Modelo Hot-Cold M4000668).

III.3.9.2 Determinación de volátiles

Se han seleccionado para este análisis el acetaldehído y el etanol, ya que ambos compuestos son indicadores de una posible fermentación del producto, lo que indicaría una alteración de las características organolépticas del mismo. La determinación de la presencia de estos compuestos se ha efectuado por cromatografía de gases, según el método descrito por Stern, (2003).

Para la detección de estos compuestos en el espacio de cabeza de los envases se utilizó un microcromatógrafo de gases HP-M (Agilent, Modelo 200) con detector del tipo estado sólido perteneciente a la familia de detectores de conductividad térmica (TCD), previa calibración con compuestos patrón certificados (Abello Linde, Barcelona) para el acetaldehído 57 ppm y para el etanol 100 ppm.

La toma de muestra gaseosa se realizó automáticamente y fue analizada por una de las dos columnas que posee el microcromatógrafo, la columna del tipo OPM-PU08 que separa entre otros compuestos al acetaldehído y al etanol, bajo las siguientes condiciones: la temperatura de la columna fue de 153°C, con una sensibilidad alta y con un tiempo de análisis de 125s. Los resultados del análisis (ppm de cada uno de los compuestos detectados) son analizados mediante el *software* HP EZChrom. La temperatura de las tarrinas fue controlada a 4°C en una incubadora (Selecta, Modelo Hot-Cold M4000668).

III.3.10 Análisis estadísticos

El análisis estadístico de los datos se realizó a través del análisis de la varianza (LSD) y el análisis de correlación de Pearson, utilizando un nivel de confianza del 95%. Los cálculos correspondientes se efectuaron con los programas estadísticos Statgraphics® Plus en su versión 5.1 y SPSS® en su versión 10.0.6 para Windows.

III.4 RESULTADOS Y DISCUSION

III.4.1 Efecto de la impregnación a vacío sobre las propiedades ópticas y mecánicas de las muestras.

III.4.1.1 Propiedades ópticas

Como ya se ha comentado en el apartado III.3 de Materiales y Métodos, muestras cilíndricas de pera fresca con $13 \pm 0.5^\circ \text{Bx}$, 0.85 ± 0.02 g agua/g muestra y un valor de a_w de 0.986 ± 0.002 y 4.79 ± 0.09 de pH, fueron sometidas al proceso de impregnación a vacío. La Tabla AIII.1 (del Anexo III.2), refleja los cambios producidos en las propiedades ópticas de las muestras como consecuencia de dicho tratamiento, al comparar los valores de los parámetros de las muestras frescas y las impregnadas con las diferentes soluciones isotónicas.

Se puede observar en la Tabla III.5 que la aplicación de vacío dio lugar a diferencias importantes en el color de las muestras. La impregnación supone una homogeneización del índice de refracción de las muestras (Martínez-Monzó *et al.*, 1998), modificando la relación absorción-dispersión de luz cuantificada a través del coeficiente de Kubelka-Munk (K/S), y, por tanto, produciendo cambios significativos en las propiedades ópticas. La aplicación de vacío supuso un incremento en la translucidez y un descenso de la luminosidad y de la pureza de color y un aumento del tono de las muestras, que vira hacia más verdoso como consecuencia de la sustitución del aire de los poros por disolución.

Tabla III.5. Cambios en las propiedades ópticas ocasionados por la IV.

Parámetro / Muestra	L*	a*	b*	h_{ab}^*	C_{ab}^*	K/S_{1600}	RT
Materia prima	71.3 ± 1.7^a	-1.6 ± 0.2^a	16.1 ± 1.8^a	95.6 ± 0.9^a	16.2 ± 1.8^a	0.83 ± 0.06^a	139.3 ± 19.8^a
Impregnada	32.6 ± 2.3^b	-1.5 ± 0.2^b	6.4 ± 1.3^b	103.5 ± 3.4^b	6.5 ± 1.2^b	6.53 ± 0.61^b	29 ± 0.5^b
Anova p	0.000	0.0477	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

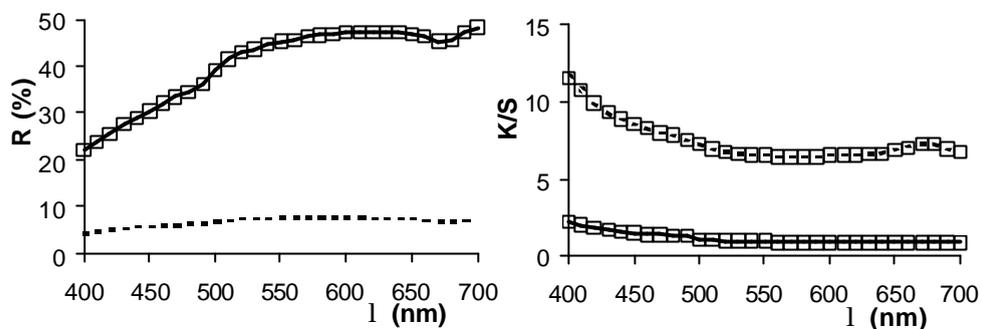


Figura III.5. Espectro de reflectancia y relación K/S para muestra fresca (—) e impregnada (---).

La Figura III.5 representa las curvas típicas de reflectancia para muestras frescas e impregnadas. La impregnación a vacío provocó un descenso muy acusado en la reflectancia total y un incremento de la relación K/S, atribuible al aumento del nivel de transparencia de las muestras impregnadas.

Cambios similares han sido mostrados por otros autores durante la impregnación de diferentes frutas, como pera, kiwi, fresa y cortezas de cítricos (Pérez *et al.*, 2002; Talens *et al.*, 2002; Chafér *et al.*, 2001)

III.4.1.2 Propiedades mecánicas

La Figura III.6 muestra un ejemplo de las curvas tensión-deformación obtenidas para muestra fresca y muestra impregnada con la solución isotónica. Se puede observar que el proceso de impregnación supone una disminución de la resistencia a la fractura, dando lugar a muestras menos resistentes (menor tensión) y donde el tramo lineal inicial de la curva es más corto. Estos resultados reflejan el comportamiento característico de frutas sometidas al proceso de IV, mostrado también por otros autores (Martínez-Monzó *et al.*, 1998), y son debidos a las deformaciones de la estructura celular de las muestras como consecuencia de los cambios de presión en el sistema (Fito *et*

al., 1996). Estas deformaciones dañan las uniones celulares y provocan la separación de las células del tejido, afectando al comportamiento mecánico (Fito *et al.*, 2001). En estas condiciones la fractura podría asociarse más con la separación de las células a través de la lamina media que con la ruptura celular. El intercambio aire-liquido en el tejido potencia el comportamiento viscoso de la muestra (flujo del liquido no compartimentado durante la compresión), aumentando la velocidad de relajación del esfuerzo y el nivel de relajación (Chiralt *et al.*, 2001).

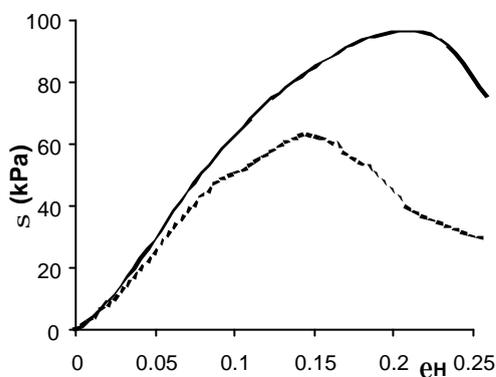


Figura III.6. Curvas típicas tensión-deformación de Hencky para muestra fresca (—) y muestra impregnada (---).

La Tabla III.6 muestra los parámetros mecánicos obtenidos a partir de las curvas anteriores para las muestras frescas e impregnadas. La IV dio lugar a muestras significativamente más débiles (menor tensión de fractura), y con una menor deformación de fractura (muestras más cortas) y con menor carácter rígido (menor E_d). Además, la tensión y deformación lineal también disminuyen. Esta disminución del tramo lineal inicial de las curvas refleja una pérdida del carácter elástico de las muestras al impregnarse, asociada al intercambio gas-liquido y a la incorporación de mayor cantidad de fase líquida (Fito *et al.*, 1996).

Tabla III.6. Cambios en las propiedades mecánicas ocasionados por la IV.

Parámetro/ Muestra	s _L (kPa)	e _{HL}	s _F (kPa)	e _{HF}	Ed (kPa)
Materia prima	72±13 ^a	0.11±0.02 ^a	80±15 ^a	0.14±0.02 ^a	786±95 ^a
Impregnada	57±18 ^b	0.09±0.02 ^b	63±20 ^b	0.11±0.02 ^b	687±89 ^a
Anova	0.0106	0.0094	0.0057	0.0142	0.0766

Resultados similares han sido encontrados por Martínez-Monzó *et al.*, (1998) y Mastrángelo *et al.*, (2000) durante la impregnación a vacío de manzana y melón, respectivamente.

III.4.2 Efecto del tratamiento y del tiempo de almacenamiento sobre las propiedades ópticas de las muestras.

El diseño experimental considerado contempla para las experiencias de color tres factores: tipo de agente antipardeckante, presencia de calcio y tiempo de almacenamiento. Cada cilindro de pera se caracterizó colorimetricamente por medio de siete parámetros L*, a*, b*, h_{bb}*, C_{ab}*, reflectancia total (RT) y el coeficiente de dispersión-absorción K/S, cuyos valores experimentales se presentan en las Tablas AIII.2 y AIII.3, (del Anexo III.2).

Los resultados del estudio de la matriz de correlación de L*, a*, b*, h_{bb}*, C_{ab}*, área RT y K/S, para todos los cilindros tratados y para el periodo de almacenamiento considerado (0-17 días) se mostraron semejantes al obtenido en el Capítulo II. Así, la luminosidad L* presentó una alta correlación con K/S_{λ600} (r=0.986), la coordenada cromática a* resultó estar inversamente correlacionada con el tono h_{bb}* (r=-0.944), la coordenada b* con el croma C_{ab}* (r=0.999) y, ambos, con la reflectancia total (RT) (con r=0.964 y r=0.962, respectivamente) (Figura AIII.2 y Tabla AIII.4, del Anexo III.2). Esto indica que cada cilindro puede venir perfectamente caracterizado por medio de las tres

coordenadas L^* , h_{ab}^* y C_{ab}^* . Por tanto, para los siguientes análisis se tendrán en cuenta sólo estos parámetros de color.

En el ANOVA multifactorial realizado sobre cada uno de los parámetros de color L^* , h_{ab}^* y C_{ab}^* para los tres factores considerados, se mostraron significativos ($p < 0.05$) los efectos de todos los factores, así como la mayoría de sus interacciones dobles, pero no la triple (Tabla AIII 5, del Anexo III.2). A partir de estos resultados, se decidió estructurar el análisis de los resultados analizando cada parámetro de color y serie experimental por separado, tal y como se comenta a continuación.

III.4.2.1. Luminosidad.

En el parámetro luminosidad, el factor de mayor peso estadístico fue el tipo de agente antipardeante y el tiempo de almacenamiento, el menor. Además, todas las interacciones dobles también resultaron significativas, donde la interacción presencia de calcio x tipo de agente antipardeante presentó el mayor nivel de significación, lo que indica que el efecto del calcio es diferente en función del sistema antipardeante.

La luminosidad de los diferentes tratamientos no presentó diferencias significativas entre los tratamientos con citrato y ascorbato y entre EDTA y los isotónicos, siendo en éstos últimos superior. Los tratamientos con 4-HR dieron lugar a las muestras significativamente más oscuras (Figura III.7).

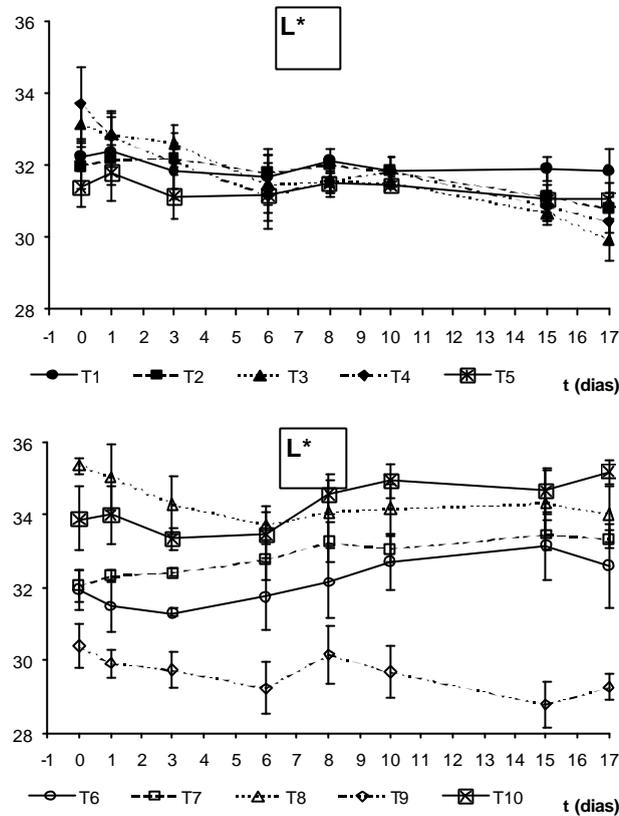


Figura III.7. Evolución de la luminosidad (L^*) durante el almacenamiento.

La adición de calcio en las soluciones provocó diferencias significativas en la luminosidad, dando lugar a muestras más luminosas, excepto para los tratamientos con 4-HR como agente antipardeante (T9) que disminuyó, y el citrato, que no presentó variaciones significativas. El aumento de la luminosidad de las muestras con calcio en las soluciones antipardeantes puede ser consecuencia del papel que juega el calcio en el fortalecimiento de la pared y membrana celular de los tejidos con la precipitación de pectatos, lo cual puede estar impartiendo opacidad al tejido y aumentando el valor de L^* . La protección mecánica promueve una menor descompartimentación celular y por tanto, podría suponer una menor liberación de la PPO o de sus substratos ((McGuire y Kelman, 1984; Sapers y Miller, 1992), contribuyendo a un mejor

mantenimiento del color de las muestras. El diferente comportamiento de los tratamientos T6 y T9 (citrato- Ca^{++} y 4-HR- Ca^{++}) podría estar relacionado, por una parte por la capacidad quelante del citrato que podría inhibir su acción en el tejido y por otra, con las posibles interacciones del 4-HR con las membranas de las células del tejido, ya que altera la permeabilidad selectiva de éstas (BIAM, 1992), seguramente debido a daños físicos en la misma. Esto explicaría el nulo efecto del calcio en este tratamiento. Por otro lado, aunque el EDTA sí que forma complejos estables con el calcio, esto no parece afectar a la influencia del catión en la L^* . No obstante, algunos autores han detectado la presencia del compuesto EDTA- Ca^{++} precipitado en la superficie de las muestras, proporcionando cierto color blanquecino a las mismas (Luna-Guzmán *et al.*, 1996), lo que podría explicar el aumento de la luminosidad de las muestras tratadas con EDTA- Ca^{++} .

El efecto observado en las muestras para la curva ascorbato- Ca^{++} también ha sido observado por otros autores en el control del pardeamiento enzimático de pera (Dong *et al.*, 2000; Gorny *et al.*, 1998 y 2002).

Por último, el almacenamiento provocó una ligera disminución de la luminosidad (L^*) en todos los tratamientos, más acusada en los tratamientos con EDTA y 4-HR con y sin calcio. Esta disminución está posiblemente ocasionada por los cambios estructurales en el tejido y el desarrollo de pardeamiento. El ligero aumento registrado en algunas muestras durante el almacenamiento podría ser debido a un posible secado superficial de las muestras o la precipitación del compuesto de calcio.

III.4.2.2. Tono

En cuanto al tono, el tipo de agente antipardeante fue el que más influye estadísticamente, junto con el tiempo de almacenamiento. Sólo la interacción doble calcio x tiempo de tratamiento no resultó significativa, presentando las

otras dos restantes un nivel de significación similar (Tabla AIII.5, del Anexo III.2)

La Figura III.8 muestra la evolución del tono de los diferentes tratamientos a lo largo del almacenamiento. Durante el almacenamiento los tratamientos que contenían ascorbato dieron lugar a los menores cambios en el tono inicial de las muestras, registrándose coloraciones muy similares a las originales. Por el contrario, las muestras que contenían 4HR mostraron coloraciones rojizas significativamente mayores al resto de los tratamientos. En general, la adición de calcio no dio lugar a diferencias significativas en los tratamientos, excepto en las muestras tratadas con ascorbato cuyo tono disminuyó.

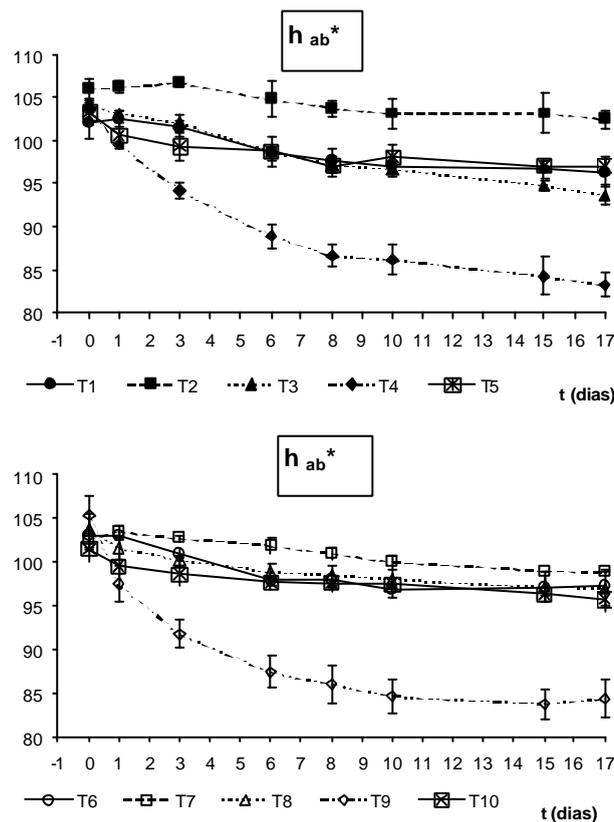


Figura III.8. Evolución del tono (h_{ab}^*) durante el almacenamiento.

El tono de las muestras se vio más afectado durante el almacenamiento que el parámetro L^* , registrándose una disminución gradual a medida que avanza el tiempo, similar en todos los tratamientos, excepto en el 4-HR que fue mucho más acusada. Esta disminución indica una evolución desde coloraciones verdes ($>90^\circ$) hacia coloraciones amarillo-rojizas ($<90^\circ$), aunque sólo en el tratamiento 4-HR el tono alcanza valores inferiores a 90° , indicando por tanto, un marcado pardeamiento enzimático en estas muestras. Tal y como muestra el análisis estadístico de la Tabla AIII.2 del Anexo III.2, los cambios más acusados se producen durante la primera semana de almacenamiento. Después la velocidad de cambio se ralentiza, no encontrándose diferencias significativas entre el tono de las muestras a partir del octavo/décimo día, dependiendo del tratamiento.

La pérdida drástica de luminosidad y el incremento excesivo en el tono y, como se ve en el punto siguiente, el aumento de croma en las muestras impregnadas con 4HR durante el almacenamiento son consecuencia de altos niveles de pardeamiento enzimático, dado principalmente en los haces vasculares. Similares observaciones han sido encontradas en manzana MP *var. Delicious* tratadas con 4HR, después de dos días de almacenamiento (Luo y Barbosa-Canovas, 1995)

III.4.2.3. Croma

En cuanto al croma, los factores con mayor nivel de significación fueron la presencia de calcio y el tipo de agente antipardeante, y únicamente la interacción calcio x tipo de agente antipardeante resultó significativa. El ANOVA multifactorial mostró dos grupos de tratamientos significativamente diferentes formados, por un lado por los tratamientos T1 (citrato) y T2 (ascorbato), y por otro por T3 (EDTA), T4 (4-HR) y T5 (isotónico), que dieron lugar a los colores más saturados en las muestras. El efecto del calcio fue dependiente del tipo de tratamiento, tal y como indica la magnitud del efecto de la interacción y no

siguió una pauta regular. Así, como se observa en la Figura III.9 y Tabla AIII.3, del Anexo III.2), el croma del tratamiento T1 (citrato) no se vió afectado significativamente por la presencia de calcio, en el T2 (ascorbato), T3 (EDTA) y T5 (isotónico) supuso un aumento del croma y, en el caso del 4-HR, provocó un marcado descenso de la pureza de color.

El parámetro de color que presentó menores cambios a lo largo del almacenamiento fue el croma (C_{ab}^*), tal y como se observa en la Figura III.9, variando en un intervalo pequeño (5-8). En general, se puede decir que el croma de las muestras disminuyó significativamente los primeros días ($t=0-3$) de almacenamiento para luego volver a aumentar ligeramente, llegándose incluso a superar los valores iniciales en el caso del 4-HR.

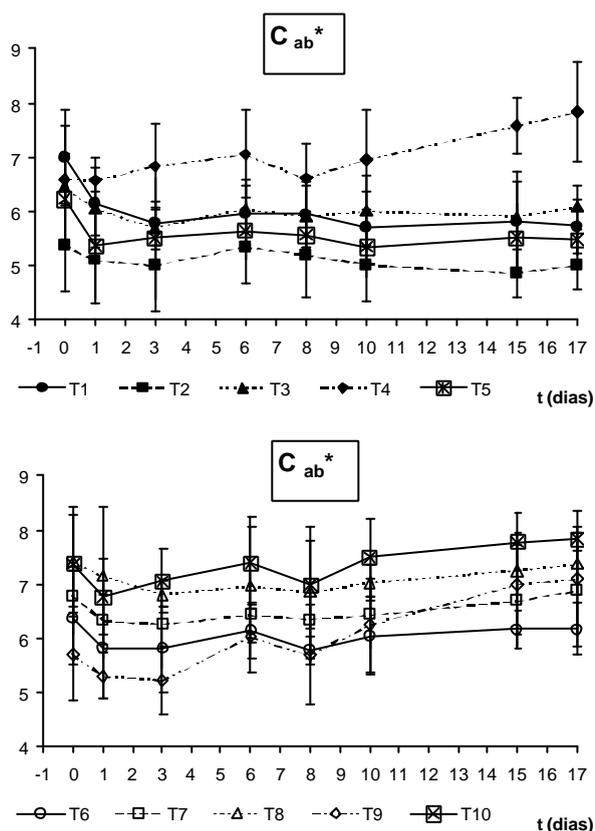


Figura III.9. Evolución del croma (C_{ab}^*) durante el almacenamiento.

III.4.2.4. Cinética de pardeamiento de las muestras durante el almacenamiento.

Tras los resultados comentados anteriormente, y teniendo en cuenta que el parámetro de color que mayor correlación tiene con la apreciación sensorial de colores pardos típicos del pardeamiento enzimático es el tono, se procedió a obtener las cinéticas de cambio de este parámetro con el tiempo de almacenamiento. Se aplicó un modelo exponencial, según muestra en la ecuación III.3:

$$h_{ab}^* = \frac{(h_{ab}^* - h_{ab}^*{}_e)}{(h_{ab}^*{}_0 - h_{ab}^*{}_e)} = \exp(-k_t) \quad (\text{Ec. III.3})$$

donde h_{ab}^* es el tono a tiempo t , $h_{ab}^*{}_0$ y $h_{ab}^*{}_e$ son los valores inicial y en equilibrio correspondientes, k_t es la constante de velocidad del cambio (día^{-1}), t es el tiempo de almacenamiento.

La Tabla III.7 muestra las constantes k_t obtenidas con el modelo para cada tratamiento, junto con el coeficiente de correlación. La Figura III.10 representa la linealización de los puntos experimentales utilizando la ecuación III.3 frente al tiempo de almacenamiento, junto con los puntos predichos por el modelo (líneas). En todos los casos se puede observar la bondad del ajuste.

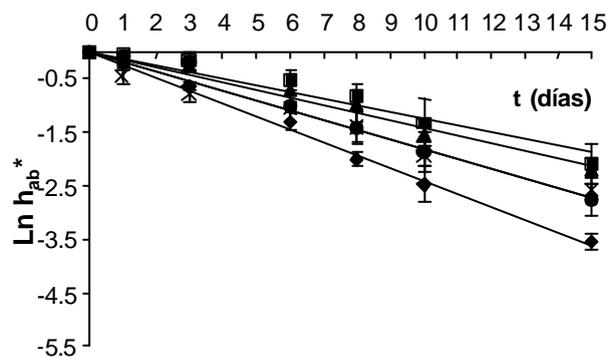
Se puede observar que la mayor constante cinética de desarrollo de colores pardos se corresponde con los tratamientos con 4-HR como agente antipardeante en presencia de calcio y la menor, al tratamiento con ascorbato independientemente de la presencia de calcio. Los demás tratamientos presentaron constantes cinéticas bastante similares. El efecto del calcio no fue beneficioso en ningún caso para la reducción del pardeamiento, resultando potenciador del mismo en el caso del tratamiento con EDTA y con 4-HR. Esto podría indicar que si bien este catión refuerza la estructura celular, la acción

enzimática no queda inhibida en mayor medida por este efecto en el caso de la pera estudiada, en contra de lo observado en otros tejidos. La acción del calcio supone un incremento en el carácter hipotónico de la solución, lo cual implica cambios en el tejido que, tal como se comentó en el Capítulo II llevan a un mayor desarrollo de pardeamiento.

Tabla III.7. Constantes cinéticas y coeficientes de correlación encontrados para el tono Y .

Muestra	k_t (10^{-2} ; día $^{-1}$)	R^2
T1 Citrato	-18.1±0.7	0.9780
T2 Ascorbato	-12.7±0.9	0.9475
T3 EDTA	-14.1±0.6	0.9778
T4 4-HR	-24.0±0.4	0.9962
T5 Isotónico	-18.0±0.9	0.9586
T6 Citrato-Ca $^{++}$	-21.5±0.7	0.9873
T7 Ascorbato-Ca $^{++}$	-13.8±1.2	0.9177
T8 EDTA-Ca $^{++}$	-19.7±0.5	0.9908
T9 4HR-Ca $^{++}$	-31.2±0.8	0.9895
T10 Isotónico-Ca $^{++}$	-17.7±1.1	0.9365

y letras diferentes expresan una diferencia significativa al 95%



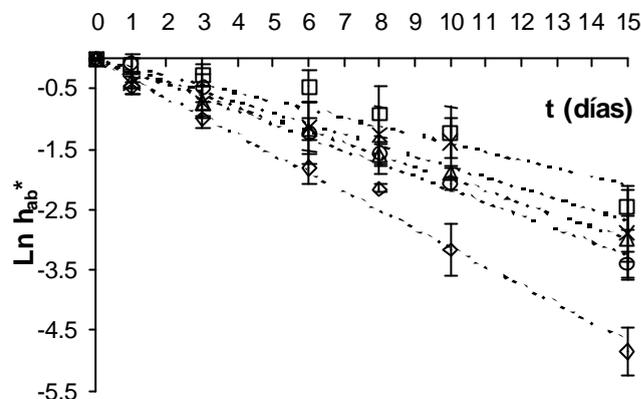


Figura III.10. Cinéticas de cambio en el tono (h_{ab}^*), en las muestras. (A) citrato (●), ascorbato (■), EDTA (▲), 4-HR (◆), y Isotónico (*); (B) citrato-Ca⁺⁺ (○), ascorbato-Ca⁺⁺ (□), EDTA-Ca⁺⁺ (△), 4-HR-Ca⁺⁺ (◇), y Isotónico-Ca⁺⁺ (×).

III.4.2.5. Cambios totales de color

Para evaluar globalmente el efecto sobre el color de diferentes tratamientos con las soluciones antipardeantes, se calculó la diferencia de color total (ΔE^*). En la Figura III.11 se da la ΔE^* inducida en la muestra a los 17 días donde los tratamientos con EDTA y 4HR presentaron las mayores diferencias de color debidas al almacenamiento.

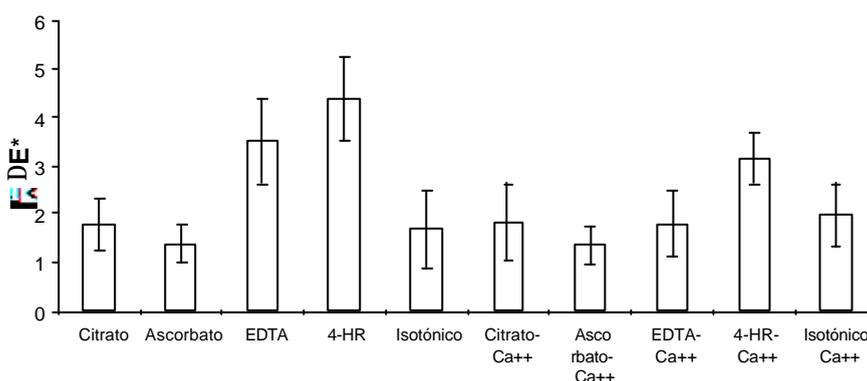


Figura III.11. Diferencia total de color (ΔE^*) para las muestras a los 17 días de almacenamiento

A través de los resultados comentados anteriormente, se puede decir que el factor que ha tenido más relevancia en la determinación del color de las muestras ha sido el tipo de agente antipardeante utilizado, siendo el tratamiento con ascorbato, con y sin calcio, el que provocó un mejor mantenimiento del color de las muestras durante su almacenamiento, tanto, por inhibir más eficazmente el pardeamiento como otros fenómenos involucrados en la variación de color total como los cambios en translucidez, que afectan en gran medida a los valores de L^* .

III.4.3. Efecto de los tratamientos y del almacenamiento sobre las propiedades las mecánicas de las muestras.

III.4.3.1 Homogeneidad de la materia prima

Para el estudio de las propiedades mecánicas a lo largo del almacenamiento se realizó un análisis de la varianza para analizar la homogeneidad del lote de peras utilizado. Las Figuras III.12 y Figura AIII.1, del Anexo III.2 muestran los valores medios de los parámetros mecánicos de las muestras frescas destinadas a sus correspondientes tratamientos. A través de ñas figuras, se puede observar que muestras destinadas al tratamiento citrato presentaron, para todos los parámetros mecánicos determinados, valores superiores que el resto de tratamientos. También las muestras destinadas al tratamiento isotónico presentaron valores de σ_F y ϵ_{HF} ligeramente superiores al resto del lote.

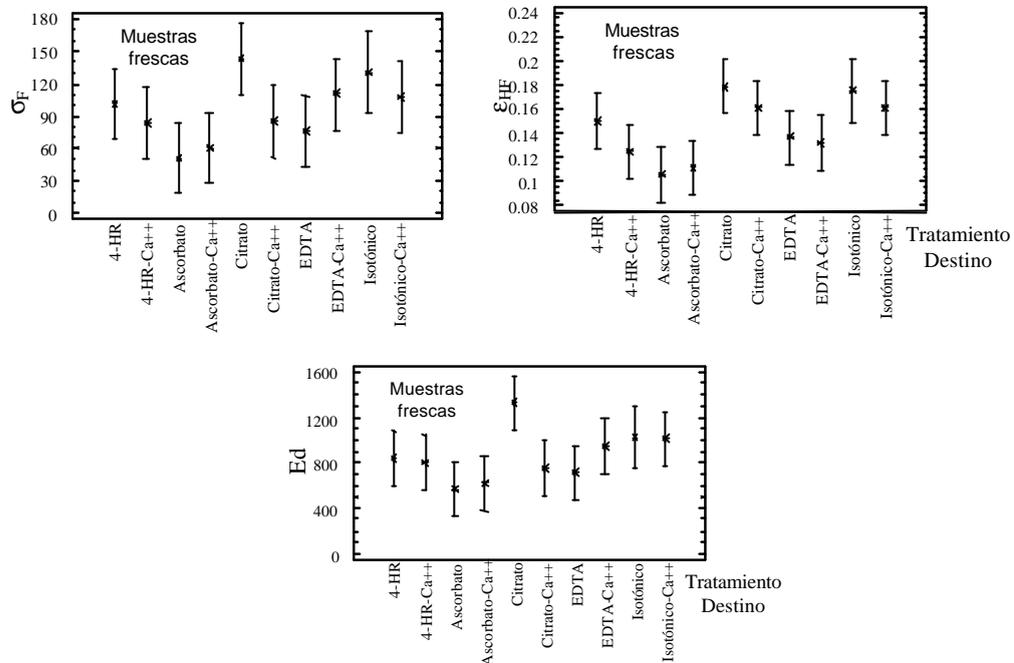


Figura III.12. Propiedades mecánicas del lote de muestras frescas.

Una vez analizado el efecto de la impregnación sobre el comportamiento mecánico de las muestras (Apartado III.4.3), se llevó a cabo un estudio de la evolución de los parámetros mecánicos de las muestras impregnadas con las diferentes soluciones (T1-10) durante un periodo de almacenamiento de 17 días (Figura AIII.3 Tablas AIII.6 y AIII.7, del Anexo III.2). Se analizaron los parámetros de tensión de fractura (σ_F), deformación de fractura (ϵ_{HF}) y modulo de la deformabilidad (E_d) mediante un ANOVA multifactorial, teniendo en cuenta los mismos factores considerados en el análisis de las propiedades de color, y además el factor pera, para poder tener en cuenta en los análisis posteriores el efecto de la variabilidad de la materia prima utilizada.

El análisis estadístico mostró que el efecto del factor tipo de agente antipardecante y la interacción doble agente antipardecante x presencia de calcio

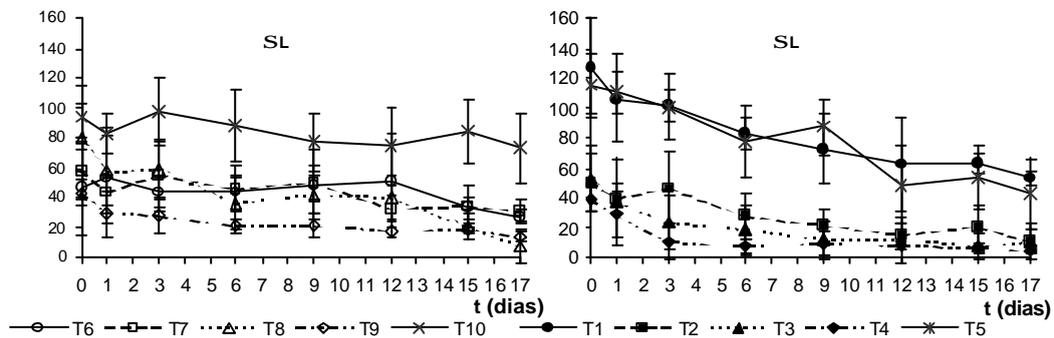
fueron significativos para todos los parámetros estudiados, presentando los mayores niveles de significación en cada caso. Sólo en el caso del parámetro ϵ_{HF} , el factor calcio fue significativo (Tabla AIII.8, del Anexo III.2). El factor pera fue significativo sólo en el caso del parámetro de deformación de fractura, donde las muestras utilizadas para las experiencias de los tratamientos T2 y T7 (ascorbato y ascorbato- Ca^{++}) mostraron valores de deformación menores y T1 y T5 (citrato e isotónico) mostraron valores mayores que el resto (Figura III.12).

Con estos resultados se decidió analizar los resultados de cada parámetro mecánico por separado.

III.4.3.2 Tensión lineal y de fractura y modulo de deformabilidad.

En estos parámetros, el efecto con mayor nivel de significación fue el tipo de agente antipardeante. El factor tiempo también fue significativo, pero no la presencia de calcio. Solo la interacción tipo de agente x presencia de calcio resultó significativa (Tabla AIII.8, del Anexo III.2).

Los gráficos de la Figura III.13 muestran la evolución de las tensiones lineales, de fractura y E_d con el almacenamiento para todos los tratamientos, respectivamente. Estos parámetros siguen una evolución similar, disminuyendo a lo largo del almacenamiento.



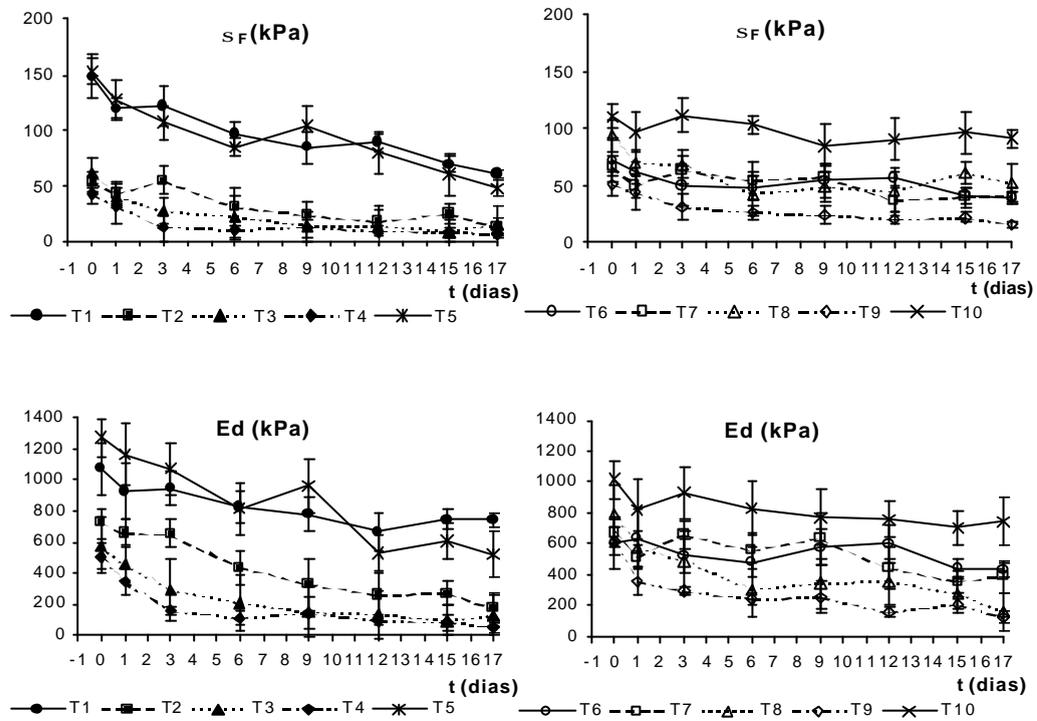


Figura III.13. Evolución de la tensión lineal (σ_L), la tensión de fractura (σ_F) y modulo de la deformación (E_d) durante el almacenamiento.

Los tratamientos isotónicos, seguidos de los que emplearon citratos, registraron los mayores valores de tensión y de E_d , dando lugar a las muestras más fuertes y rígidas. No obstante, las muestras frescas correspondientes a los tratamientos con citrato también presentan valores mayores ($p < 0.05$) de estos parámetros. En general se puede decir que los tratamientos indujeron un descenso en la tensión y de E_d , probablemente por interacciones de los componentes con la estructura y un ligero efecto hipertónico. Los menores valores se encontraron para el tratamiento con 4-HR en la solución de impregnación, probablemente ocasionado por una degradación de las membranas celulares por parte de este compuesto, descrito por BIAM (1992). El efecto del calcio, según el análisis estadístico, depende del tipo de

compuesto antipardeante utilizado. Así, en las muestras tratadas con solución isotónica, ascorbato, 4-HR y EDTA las diferencias no fueron apreciables estadísticamente, aunque las tendencias apuntan a un aumento en los valores de tensión y del modulo de deformabilidad de las mismas. Otros autores (Gras *et al.*, 2003) sí que encontraron importantes mejoras en las propiedades mecánicas de rodajas de zanahoria y berenjena al impregnar con soluciones isotónicas (33 g sacarosa / 20 g de lactato de calcio). Las tratadas con citrato y calcio aparecen como menos firmes que muestras sin calcio, pero este efecto puede deberse a la mayor firmeza de la materia prima utilizada (Apartado III.4.3.1).

III.4.3.3 Deformación lineal y de fractura

En ambos parámetros, el efecto simple con mayor nivel de significación fue, de nuevo, el tipo de agente antipardeante. El efecto del calcio también resultó significativo, pero no el del tiempo de almacenamiento. Las interacciones dobles del efecto calcio con tipo de agente y tiempo resultaron significativas al 95% (Tabla AIII.8, del Anexo III.2).

La Figura III.14 muestra la evolución similar de los parámetros e_{HL} y e_{HF} a lo largo del almacenamiento, no apreciándose variaciones significativas con el tiempo, excepto para el tratamiento con EDTA. En este caso, la aplicación de este agente antipardeante provocó un aumento significativo de la deformación de fractura, volviendo las muestras más gomosas. Esto podría deberse al efecto quelante del EDTA sobre el calcio estructural.

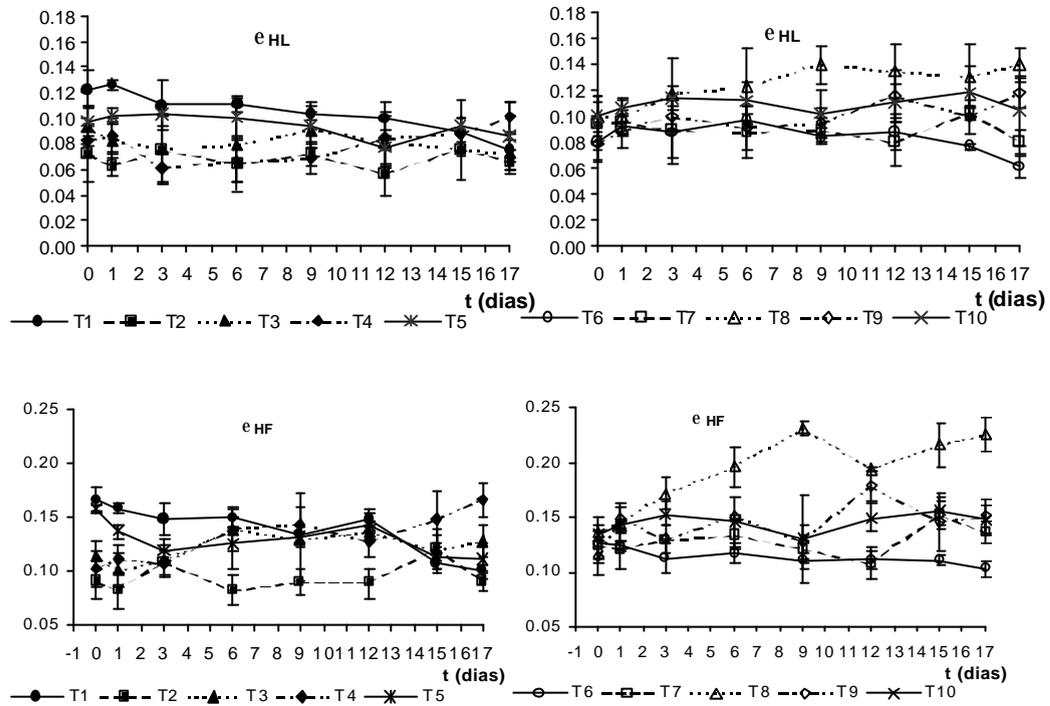


Figura III.14. Evolución de la deformación lineal (ϵ_{HL}) y de fractura (ϵ_{HF}) durante el almacenamiento.

Los tratamientos T1 y T2 (citrato y ascorbato) presentaron los menores valores de deformación, y el T3 (EDTA) los mayores. El efecto del calcio supuso aumentos significativos en la deformación lineal y de fractura para los tratamientos ascorbato y EDTA y un descenso para las muestras tratadas con citrato, también significativo. La interacción con el citrato hace que las muestras se vuelvan más frágiles y blandas, al reducirse los parámetros de carga y la deformación a la que rompen las muestras.

A partir de los resultados comentados en los apartados anteriores se puede concluir que el compuesto que mejor mantuvo las características mecánicas de las muestras fue el tratamiento isotónico, presentando mayores los parámetros de carga de forma significativa. La utilización de calcio parece mejorar las

propiedades mecánicas, aunque en este estudio, las diferencias no fueron apreciables de forma importante. El compuesto que dio lugar a una mayor pérdida de firmeza de las muestras durante el almacenamiento fue el 4-HR, seguramente debido a los efectos negativos sobre la membrana de las células.

La alteración de los parámetros mecánicos por parte de las muestras que contenían EDTA (T3 y T8), puede estar relacionada en gran medida por la actuación de este compuesto como quelante del calcio (endógeno y exógeno) de las membranas celulares, de tal forma que se tiene un derrumbamiento de las estructuras celulares, que es observable de manera significativa para la deformación de fractura (ϵ_{HF}) ocasionando muestras más largas. La eliminación de calcio mediante el agente quelante se ha utilizado como método para el aislamiento de células vegetales (Barceló *et al.*, 2001).

Para analizar el efecto global de los tratamientos sobre las propiedades mecánicas de carga (σ_F , ϵ_F y E_d) se realizó un análisis discriminante. Para el análisis se consideraron todos los tratamientos a un tiempo final de almacenamiento (17d) junto con el tratamiento isotónico a cero días de almacenamiento (muestras *Referencia*). La Figura III.15 muestra la ubicación de las diferentes tipos de muestras en el plano definido por las funciones discriminantes significativas, (F1 y F2) que permiten explicar el 95.87% de variabilidad de los datos (F1 el 78.33 % y F2 el 17.54 %), tal y como muestra la Tabla AIII.9A (Anexo III.2)

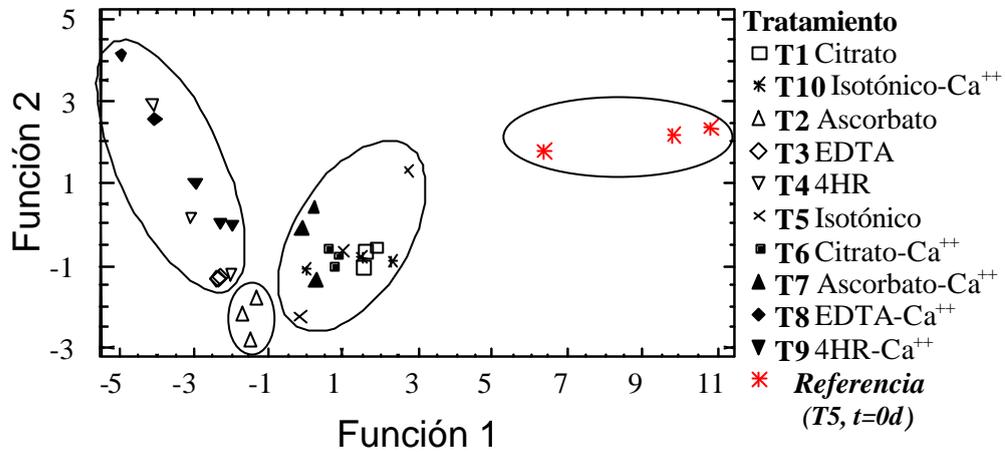


Figura III.15. Gráfico discriminante para todos los tipos de muestras analizadas a 17 días de almacenamiento, comparándose muestras recién impregnadas.

Los coeficientes estandarizados (Tabla AIII.9B, del Anexo III.2) muestran que las variables que más determinan las diferencias entre los tratamientos son σ_F y ε_{HF} , correspondiéndose con F1 y F2.

La función F1 (78.33 %) contribuye en mayor medida a la diferenciación de las muestras, basándose en su alejamiento o proximidad hacia las muestras referencia (isotónicas recién impregnadas), de tal forma que es posible distinguir de forma general tres grupos de tratamientos (Figura III.15). La función F1 agrupa a los tratamientos T1 (citrato), T6 (citrato- Ca^{++}), T5 (isotónico), T10 (isotónico- Ca^{++}) y T7 (ascorbato- Ca^{++}) como más próximos a los valores de los parámetros mecánicos originales, es decir, son los tratamientos que provocan las menores alteraciones en los parámetros mecánicos de las muestras durante el almacenamiento.

La función F2 separa a los tratamientos que contenían EDTA (T3) de los que contenían EDTA- Ca^{++} (T8). La F2 también separo a las muestras referencia del grupo de tratamientos T1, T6, T5, T10 y T7, indicando que las muestras tratadas con dichos tratamientos provocaron un mayor cambio en sus

características/propiedades mecánicas, explicado por la deformación de fractura principalmente (Tabla AIII.9B, del Anexo III.2)

Es posible distinguir como las muestras impregnadas con ascorbato (T2) al incluir calcio (T7) presentan un comportamiento intermedio a los dos grupos señalados anteriormente.

III.4.4 Respuesta del tejido vegetal durante el almacenamiento.

III.4.4.1 Evaluación del estado del tejido de las muestras tratadas.

Se han utilizado los parámetros capacidad de retención de fase líquida (CRA) y conductividad eléctrica de la solución puesta en contacto con las muestras para tratar de evaluar la integridad del tejido celular de las muestras tratadas y almacenadas. La CRA está relacionada con el nivel de compartimentación celular, ya que la ruptura o degradación de las estructuras celulares dará lugar a una salida del líquido nativo que contribuirá a una menor CRA. Este parámetro también está relacionado con la firmeza del tejido, ya que a mayor CRA, mayor será la turgencia del mismo (Luna-Guzmán y Barrett, 2000). Esta turgencia sólo estará presente si el tejido no ha sido dañado. La salida de electrolitos es una estimación de la permeabilidad e integridad de la membrana celular (Marangoni *et al.*, 1996), y en consecuencia, si la membrana está dañada físicamente, esto se traduce en un aumento en la conductividad de la solución que le rodea.

La Figura III.16 muestra los valores medios con intervalos (LSD) de la capacidad de retención de agua (%CRA) al final del periodo de almacenamiento (17d) de las muestras impregnadas con los diferentes compuestos antipardeantes. Es posible distinguir dos grandes grupos diferenciados por la presencia o ausencia de lactato de calcio. La adición de calcio provoca el incremento significativo de la CRA (Tabla AIII.10, del Anexo III.2), en todos los tratamientos, a excepción del T9 (4-HR-Ca⁺⁺), con un

comportamiento similar a los tratamientos sin calcio. Estos resultados apoyan los encontrados para las propiedades mecánicas de estas muestras.

Los tratamientos con calcio T6, T7, T8 y T10 (citrato- Ca^{++} , ascorbato- Ca^{++} , EDTA- Ca^{++} e isotónico- Ca^{++}), mostraron altos valores de CRA (>88%), indicando un mejor mantenimiento de la estructura celular. El mayor entrecruzamiento de cadenas de pectina en la lamina media como consecuencia de la presencia de calcio provoca una menor exudación de líquido proveniente del interior del tejido. Resultados similares han sido encontrados para melón MP (Luna-Guzmán y Barrett, 2000). Estos autores concluyeron que existe una correlación significativa entre el contenido de humedad, la CRA y los atributos de dureza-firmeza.

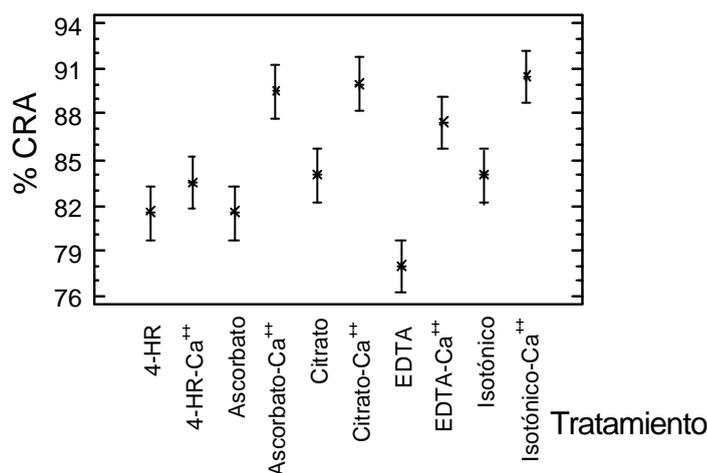


Figura III.16. Capacidad de retención de fase líquida después de 17 días en almacenamiento.

Estos resultados relacionan el efecto de firmeza promovido por el calcio y registrado por los parámetros mecánicos con un aumento en la CRA. Estas observaciones fueron confirmadas por medio de un análisis de correlación bipareada. Los coeficientes de Pearson determinaron que el %CRA está correlacionado ($p < 0.05$) con el módulo de la deformabilidad (E_d) ($r = 0.687$) y con la tensión de fractura (σ_F) ($r = 0.714$) (Tabla AIII.11, del Anexo III.2)

La Figura III.17 muestra la conductividad medida en la solución donde estaban inmersas las muestras con 17 días de almacenamiento. Como la medida de conductividad depende del tipo de sal empleada, se utilizaron estos datos únicamente para comparar los tratamientos con sus homólogos con calcio. Como se puede observar en la grafica, el calcio supuso en todos los tratamientos un descenso de la conductividad eléctrica de la solución, excepto para las muestras tratadas con 4-HR. Estos resultados confirman, de nuevo, el efecto protector del calcio sobre la estructura celular y la agresividad del 4-HR sobre los tejidos celulares.

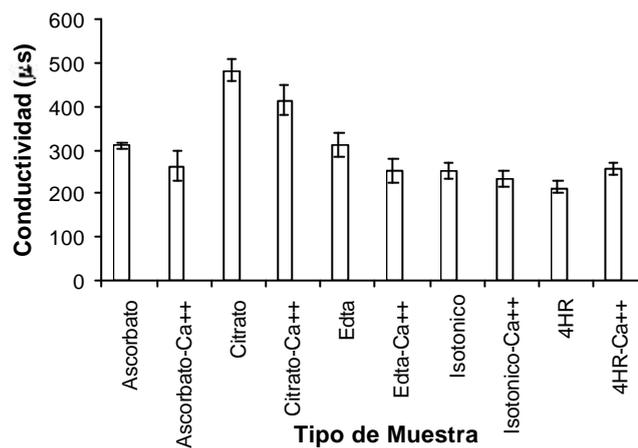


Figura III.17. Conductividad de las muestras después de 17 días en almacenamiento.

III.4.4.2 Análisis de la tasa de respiración.

Sobre la base de los resultados obtenidos, se decidió descartar a los tratamientos EDTA (T3), 4-HR (T4), EDTA-Ca⁺⁺ (T8) y 4-HR-Ca⁺⁺ (T9) para las siguientes determinaciones, ya que no son capaces de controlar el pardeamiento enzimático y tampoco ayudan a mantener las características mecánicas de las muestras. Por consiguiente, para las siguientes

determinaciones únicamente se utilizaran las siguientes soluciones: ascorbato (T2), ascorbato-Ca⁺⁺ (T7), citrato (T1), citrato-Ca⁺⁺ (T6), isotónico (T5) y ilisotónico-Ca⁺⁺ (T10).

III.4.4.2.1 Tasa respiratoria

Tanto la emisión de CO₂ como el consumo de O₂ pueden ser utilizados para medir la tasa respiratoria (TR). Además, a partir de la medición simultánea del intercambio gaseoso entre CO₂ y O₂ es posible calcular el cociente respiratorio (CR), que es la relación entre las moléculas de CO₂ emitido y las moléculas de O₂ utilizado. En el caso de la oxidación de la glucosa, el volumen de O₂ consumido es igual al volumen de CO₂ producido y el valor de CR (6CO₂/6O₂) es igual a la unidad. Si por el contrario, el compuesto oxidado es un ácido graso, por ejemplo el ácido oleico, el CR para esta relación es de 18CO₂/25.5O₂=0.71, es decir menor a la unidad. Por otro lado, si los substratos respiratorios son ácidos orgánicos, el valor de CR tendrá un valor mayor que la unidad porque el grado de oxidación de estos compuestos es mayor que el de los azúcares (Wills, 1998).

En la Figura III.18 se muestran los valores de la tasa respiratoria en términos de oxígeno (TRO₂) y del dióxido de carbono (TRCO₂) de pera *var. Blanquilla* entera, cortada o impregnada con solución isotónica, obtenidos a 10°C. El valor medio de la TRCO₂ para muestras cortadas fue 17±1 mL CO₂/kg h, valor muy similar al encontrado para pera cortada de la *var. Bartlett* (Tabla III.3) y ligeramente más alta que el publicado para otras variedades (*Bosc, Red d'Anjou y d'Anjou*).

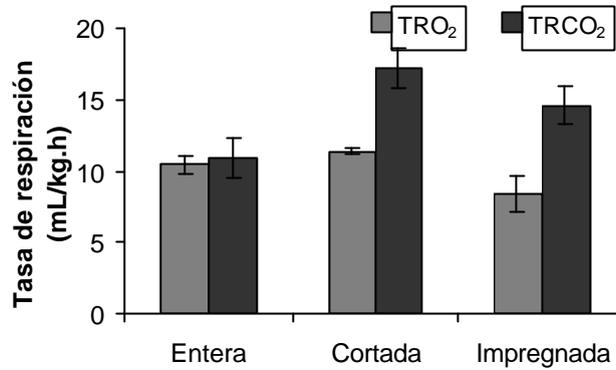


Figura III.18. Tasa respiratoria obtenida para las diferentes muestras.

Se puede observar que el proceso de corte y la impregnación provocaron un aumento significativo en la TRCO₂ (Tabla AIII.12, del Anexo III.2). Este aumento está asociado al estrés celular ocasionado por las operaciones de manipulación que provocan alteraciones en su fisiología, potenciándose tanto la cadena de transporte de electrones como el ciclo de los ácidos tricarbóxicos (Brecht, 1995).

Para muestras cortadas, este aumento también se atribuye a la gran superficie de contacto de la fruta con la atmósfera que le rodea, que provoca un mayor intercambio gaseoso. En frutas enteras, el oxígeno necesario para llevar a cabo el proceso de respiración es suministrado por la atmósfera, atravesando la piel, los espacios intracelulares y las membranas celulares hasta llegar a la mitocondria. Cuando la fruta es desprovista de la piel y/o es cortada, la velocidad de la respiración aumenta debido a la reducción de las barreras físicas para la difusión del oxígeno en tejidos y al aumento de la permeabilidad de las membranas (Rolle y Chism, 1987).

Con lo que respecta a la respuesta de las muestras impregnadas, se registró una disminución de la TRO₂ y un incremento de la TRCO₂, ambos significativos (Tabla AIII.12, del Anexo III.2). Esto está ocasionado por la entrada de líquido en los espacios intercelulares debido a la IV, limitando así el

intercambio gaseoso. La sustitución de gas por líquido en los poros del tejido tiene un efecto limitante para el intercambio gaseoso, ya que la difusividad del oxígeno en los gases es del orden de 10^5 veces su valor en los líquidos. En este sentido, la IV representa una barrera a la respiración. Castelló *et al.*, (2002) encontraron resultados similares al someter a diversas frutas al proceso de impregnación a vacío con soluciones isotónicas.

La Figura III.19 muestra los valores del cociente respiratorio de las diferentes muestras. Las muestras cortadas e impregnadas muestran valores superiores a la unidad indicando que los substratos respiratorios utilizados por las muestras son ácidos orgánicos. Esto puede estar provocado, en parte, por la limitación al transporte de oxígeno en el tejido, lo que lleva a la célula a utilizar rutas anaeróbicas para la obtención de energía.

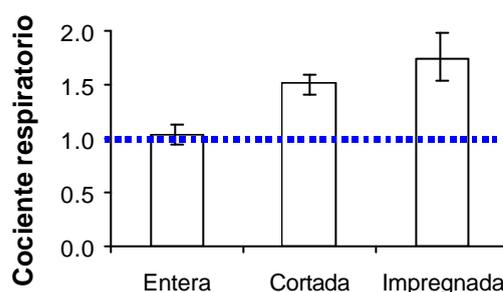


Figura III.19. Cociente respiratorio de pera *var. Blanquilla* determinado a 10°C.

III.4.4.2.2 Efecto del tratamiento

La influencia en la tasa respiratoria (TR) del CO₂ y del O₂ y el cociente respiratorio (CR) de la impregnación con las diferentes soluciones se muestra en las Figuras III.20 y III.21.

La TR del O₂ fue muy similar para todas las muestras tratadas, excepto para las muestras con citrato que presentaron un descenso significativo con respecto al resto de las muestras tratadas y también a las cortadas y enteras (Tabla AIII.13 del Anexo III.2).

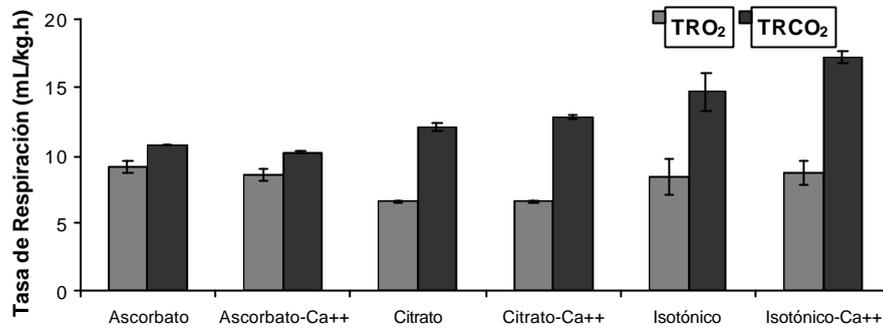


Figura III.20. Cambios en la tasa respiratoria ocasionados por el tipo de compuesto antipardeante impregnado.

La TR del CO₂ presentó diferencias significativas al 95%, encontrándose menores valores en las muestras tratadas con los agentes antipardecantes citrato y ascorbato. Las muestras tratadas con la solución isotónica (con y sin calcio) presentaron los valores mayores, similares a los de la muestra recién cortada (Figura III.20).

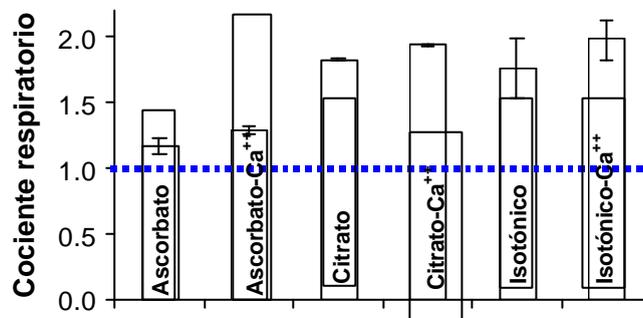


Figura III.21. Cociente respiratorio de muestras impregnadas con diferentes compuestos antipardecantes.

El CR de las muestras impregnadas fue superiores a la unidad (Figura III.21), indicando por tanto, la utilización de ácidos orgánicos como substratos de la respiración.

La menor TR del CO₂ y del O₂ para las muestras tratadas con citrato parece estar relacionada con la capacidad del citrato para inhibir la actividad de la enzima fosfofructoquinasa, que cataliza la fosforilación de fructosa-6-fosfato a fructosa 1,6-bisfosfato, interrumpiendo así la vía glucolítica de la cadena respiratoria en el citoplasma celular (Turner y Turner, 1975; Kato-Noguchi, 1997). Este compuesto también actúa como sustrato esencial en el ciclo de los ácidos tricarbónicos (ciclo de Krebs) durante la respiración en la mitocondria, pudiendo favorecer de este modo esta vía metabólica de la respiración. Sin embargo, el citrato presenta una permeabilidad muy baja hacia la mitocondria, y por tanto, no puede ser empleado como sustrato para la respiración (Wiskich y Dry, 1985).

Kato-Noguchi (1997) y Kato-Noguchi y Watada (1997) encontraron también este efecto inhibitorio del citrato sobre la TR en rodajas de zanahoria MP, cuando se utilizó a concentraciones superiores a 1mM.

Las muestras impregnadas con ascorbato mostraron una menor TR del CO₂ y menor CR con respecto al resto de las muestras impregnadas, cortadas y la pera entera, siendo esta diferencia significativa al 95%. Una posible razón que explicaría la disminución de la actividad respiratoria ocasionada por el ion ascorbato, es que este es capaz de reducir a la forma oxidada de la citocromo c oxidasa, enzima de localización mitocondrial y componente crítico de la última etapa de la cadena respiratoria. Las reacciones de la citocromo c son simples y una amplia variedad de compuestos tienen la capacidad de reducirla, siendo uno de estos compuestos el ascorbato (UARK, 2003).

III.4.5 Evolución de la composición del espacio de cabeza de las muestras envasadas.

En el almacenamiento de las muestras se ha utilizado un método dinámico en envase permeable, en el cual las concentraciones de O₂ y CO₂ cambian con el tiempo antes de alcanzar el equilibrio. Se ha considerado que el intercambio gaseoso a través del contenedor de polipropileno donde se almacenaron las

muestras no es significativo, al igual que en otros trabajos encontrados en la bibliografía (Aguayo y Artés, 2001; Almenar *et al.*, 2002; del-Valle *et al.*, 2002). Por tanto, la transmisión de gases va a tener lugar únicamente a través de la película plástica de polietileno utilizada en el sellado del envase, ya que ésta presenta una alta permeabilidad ($>6000 \text{ mL CO}_2/\text{m}^2 \text{ 24h atm a } 4^\circ\text{C}$), similar para todos los envases. Esto evitará la formación de condiciones anaeróbicas que pudieran afectar a la calidad sensorial y microbiológica de las muestras.

III.4.5.1 Gases

Las Figuras III.22 y III.23 muestran la evolución de las concentraciones de O_2 y CO_2 en el espacio de cabeza de los envases con los distintos tipos de muestras tratadas, observándose la tendencia al equilibrio dinámico para ambos compuestos. Este equilibrio se establece en el momento en que se igualan los flujos del gas (O_2 o CO_2) generados por la respiración y permeados a través del envase. Ambos flujos van cambiando con el tiempo. La velocidad de flujo del gas a través del envase aumenta con el tiempo a medida que se potencia la diferencia de concentración entre el interior y el exterior del mismo y el flujo asociado a la respiración se ve disminuido a medida que se modifican las concentraciones internas.

El tiempo de equilibrio puede establecerse en todos los casos en aproximadamente 15 días y es de destacar que esta situación corresponde con modificaciones relativamente pequeñas de la atmósfera inicial. En ningún caso se superan concentraciones de CO_2 del 1.5 % ni se reduce la concentración de O_2 por debajo del 20 %. Estos niveles no entran dentro del intervalo usualmente buscado en el envasado en atmósferas modificadas de equilibrio: 3-5% de O_2 y 3-15% de CO_2 . Esto es debido a la alta permeabilidad del film termosellado en el envase.

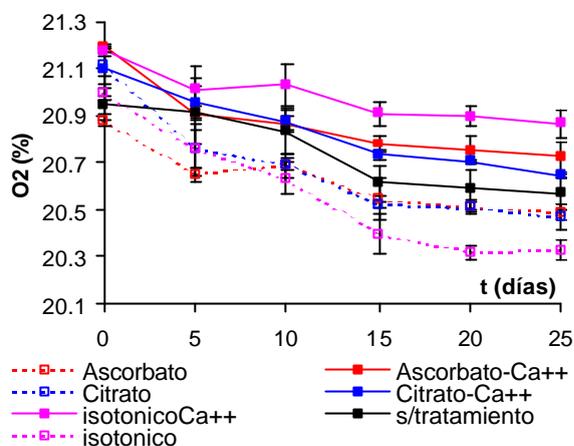


Figura III.22. Evolución del O₂ en el espacio de cabeza de las muestras envasadas durante el almacenamiento a 4°C.

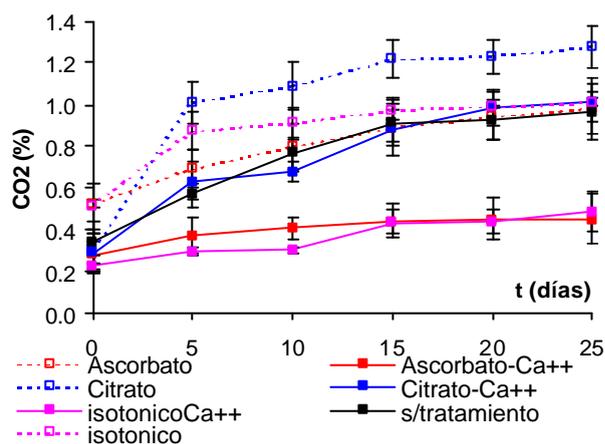


Figura III.23. Evolución del CO₂ en el espacio de cabeza, durante el almacenamiento a 4°C.

El valor de las concentraciones de equilibrio será función, entre otros factores, de la tasa de respiración inicial y de las modificaciones de la misma con el cambio de concentración. No obstante, no se observó una correlación de los estos valores (Tabla AIII.14, del Anexo III.2) con la tasa de respiración inicial, por lo que parece deducirse que las modificaciones de la misma en función del cambio en la atmósfera interna fueron sensibles al tipo de tratamiento efectuado. En este sentido es de destacar que todos los

tratamientos con calcio implicaron siempre atmósferas de equilibrio menos alteradas respecto a la inicial, lo que sugiere una mayor sensibilidad de la tasa respiratoria a la concentración de gases en estos casos. La ralentización de la actividad respiratoria al combinar los agentes antipardeantes con el calcio en la solución de impregnación puede explicarse por interferir este ion divalente en la regulación respiratoria (Saftner *et al.*, 2003; Artés *et al.*, 1999; Luna-Guzmán *et al.*, 1999).

Así mismo, se observan diferencias significativas entre los valores de equilibrio de los diferentes tratamientos, y también respecto a la muestra sin tratar. El isotónico presentó los menores niveles de O₂ de equilibrio respecto al resto de los tratamientos. Por otro lado, las muestras sin tratamiento mostraron un comportamiento intermedio entre muestras impregnadas en ausencia o presencia de calcio. Las interacciones de los componentes aplicados en el tejido parecen afectar por tanto la actividad metabólica y las rutas respiratorias.

III.4.5.2 Volátiles

En condiciones anaeróbicas, se ponen en marcha rutas metabólicas alternativas que dan lugar a procesos fermentativos que generan compuestos como etanol y acetaldehído. Estos compuestos conducen a la alteración de las características sensoriales del producto, como son el aroma y el sabor, ocasionando la pérdida de calidad del mismo. El aumento de la concentración de CO₂ desde los niveles atmosféricos normales (del 0.036%) hasta niveles de entre 1 y 5%, como es nuestro caso, causan alteraciones en las rutas respiratorias (Azcón-Bieto y Talón 2000) y en la producción de metabolitos secundarios (Kays, 1991).

El ANOVA realizado mostró de nuevo como significativos los efectos de los tres factores considerados y sus interacciones dobles (Tabla AIII.15, del Anexo III.2).

Las Figuras III.24 y III.25 muestran la evolución de etanol y acetaldehído a lo largo de 25 días de almacenamiento. Se puede observar un incremento de sus concentraciones para todas las muestras, tendiendo a alcanzar un estado estacionario. Este aumento en las concentraciones de etanol y acetaldehído se pueden atribuir al efecto conjunto de distintos factores, siendo el más importante, el inicio de procesos fermentativos (Baldwin *et al.*, 1995). No sólo el metabolismo fermentativo propio tejido del vegetal es responsable de la generación de compuestos volátiles no deseados. La contaminación microbiológica (Jacxsens *et al.*, 2003) y la propia senescencia del fruto (Kays, 1991), también podrían estar contribuyendo a la potenciación de la producción de estos volátiles durante el almacenamiento de frutas y hortalizas MP.

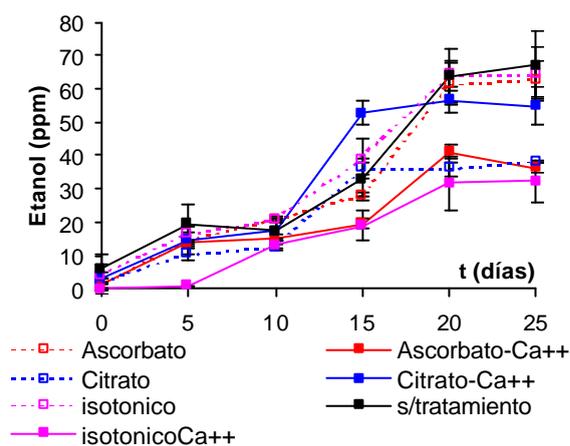


Figura III.24. Concentración de etanol en el espacio de cabeza del envase durante el almacenamiento a 4°C.

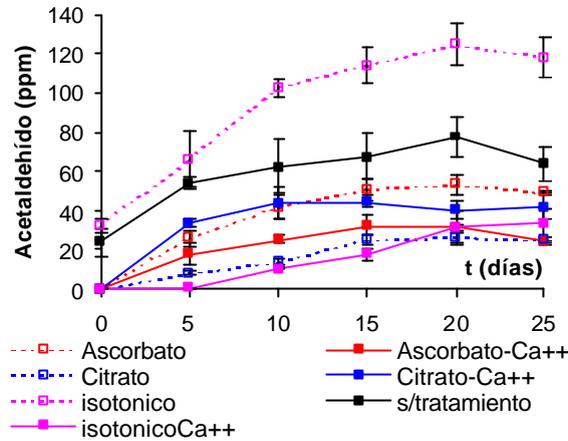


Figura III.25. Concentración de acetaldehído en el espacio de cabeza del envase durante el almacenamiento a 4°C.

El tratamiento que mayores concentraciones de acetaldehído produjo fue el isotónico. El efecto del calcio fue potenciar la aparición de compuestos volátiles en el caso del tratamiento con citrato, y disminuirla en el caso del ascorbato e isotónico.

Un análisis de correlación bipareada para cada tratamiento entre los niveles de O₂, CO₂, etanol y acetaldehído reflejo una correlación negativa significativa al 99% entre el O₂ consumido y el acetaldehído y el etanol (Tabla AIII.16, del Anexo III.2) para todas los tratamientos. Siendo destacable la alta correlación en las muestras tratadas con citrato (T1) y en el tratamiento isotónico (T5), con coeficientes de Pearson para la correlación O₂-acetaldehído de r=-0.907 y r=-0.934, respectivamente y valores de r=-0.956 y r=0.932, para la correlación O₂-etanol, respectivamente. Esta correlación también fue observada por Agar *et al.*, (1999) durante el almacenamiento de rodajas de kiwi MP, cuando se redujo la concentración de oxígeno en la atmósfera. Igualmente, los autores concluyen que la concentración de O₂ durante el almacenamiento es el factor clave en la acumulación de productos fermentativos.

En conclusión, los tratamientos antipardeantes que dieron lugar a una menor alteración de la composición del espacio de cabeza en los envases durante el almacenamiento, con un menor desarrollo de volátiles indeseables, fueron los que combinaron calcio ascorbato o la solución isotónica, potenciándose así la vida útil del producto.

III.4.6 Efecto en la calidad microbiológica

La calidad microbiológica determina la vida útil de las muestras a lo largo del almacenamiento. Por ello, se realizaron análisis microbiológicos de las muestras, que contemplaron el recuento de microorganismos aerobios mesófilos y psicotrófos. Las Figuras III.26 y III.27 muestran estos recuentos para las muestras tratadas durante su almacenamiento a 4°C.

Los análisis microbiológicos realizados a las muestras mostraron concentraciones iniciales del orden de 10^1 ufc/g para aerobios mesófilos, aerobios psicótrofos y mohos y levaduras. Los recuentos iniciales anteriormente mencionados, pueden considerarse como una carga microbiana relativamente baja. Es importante destacar que los recuentos microbiológicos en frutas pueden llegar a alcanzar concentraciones alrededor de 10^7 ufc/g, si no se aplican las adecuadas prácticas de postcosecha (Nguyen-the y Carlin, 1994) o de manufactura que contribuyan a minimizar el crecimiento microbiano (Trujillo *et al.*, 2001)

Durante todo el almacenamiento (25 d) no se detectaron concentraciones superiores a 10^1 ufc/g de mohos y levaduras para ningunas de las muestras analizadas. Esto puede ser debido a la aplicación de correctas medidas de higiene durante la manipulación de las muestras. Resultados similares han sido publicados por varios autores durante la manipulación y almacenamiento de frutas MP tales como rodajas de naranja (Pretel *et al.*, 1998) y melón (O'Connor *et al.*, 1996).

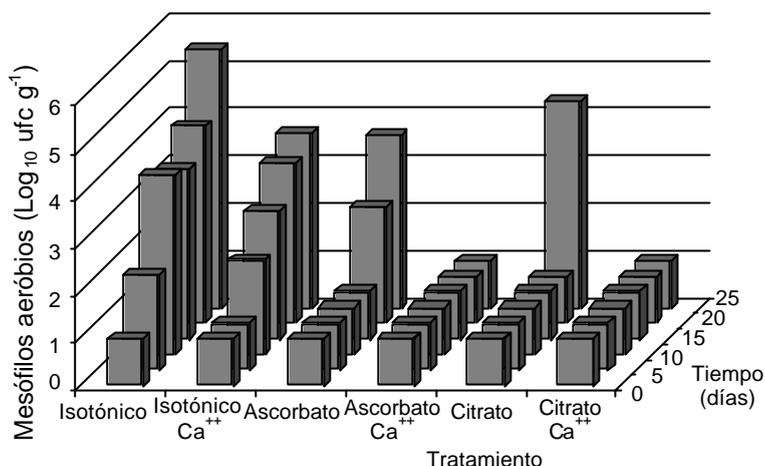


Figura III.26. Recuento de aerobios mesófilos en función del tiempo para pera MP almacenada 4°C.

En las Figuras III.26 y III.27 se puede observar que los recuentos de aerobios mesófilos y psicrótrofos se mantuvieron durante los 25 días de almacenamiento dentro del intervalo sugerido por la legislación para productos vegetales mínimamente procesados ($\sim 10^6$ a 10^7 ufc/g). Estos resultados son similares a los obtenidos en otras investigaciones para melón, kiwi, papaya, piña MP (O'Connor *et al.*, 1994) y melón MP impregnada al vacío (Trujillo *et al.*, 2001) durante 11 y 16 días de almacenamiento, respectivamente.

Se puede observar (Figura III.26 y III.27) una notable diferencia en el crecimiento de aerobios mesófilos y psicótrofos con el tiempo de las diferentes muestras. Las muestras tratadas con solución isotónica (sin calcio) presentaron el mayor crecimiento microbiano ($>10^5$ ufc/g), significativo al 95% (Tabla AIII.17, del Anexo III.2), al final del almacenamiento. En cambio, las muestras impregnadas con los compuestos antipardeckantes presentaron un crecimiento relativamente bajo, mostrando una gran estabilidad durante los primeros 15 días de almacenamiento a 4°C. Estos resultados parecen indicar que los compuestos utilizados como agentes antipardeckantes están inhibiendo el crecimiento microbiano.

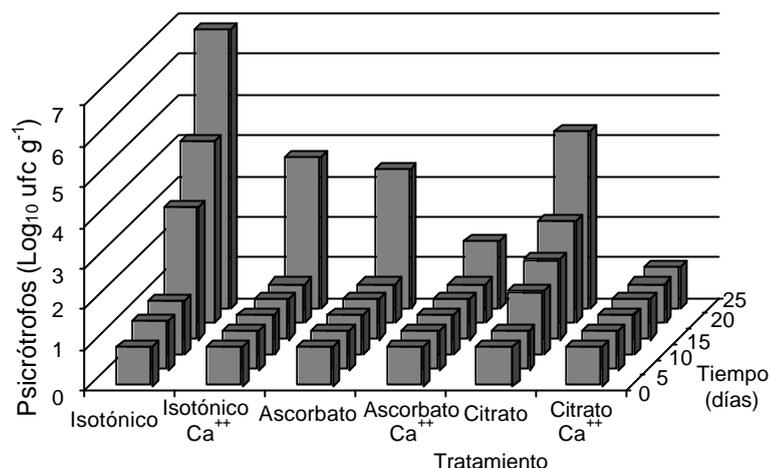


Figura III.27. Recuento de psicrótrofos en función del tiempo para pera MP almacenada 4°C.

Con respecto a los recuentos de aerobios psicrótrofos, todas las muestras tratadas con lactato de calcio y con ascorbato presentaron gran estabilidad hasta 20 días de almacenamiento. Las muestras tratadas con solución isotónica y citrato sin lactato de calcio mostraron un crecimiento microbiano significativamente mayor a lo largo del almacenamiento (Tabla AIII.17, del Anexo III.2).

Para todos los casos, las muestras que contenían calcio presentaron una menor carga microbiana con respecto a sus homologas sin calcio. Esto es debido, por una parte, al incremento de la resistencia del tejido celular a la infección bacteriana ocasionado por el calcio y por otra, al poder antimicrobiano atribuido al lactato (Shelef, 1994; Davidson y Juneja, 1990; Freese *et al.*, 1973). Esta propiedad depende de la capacidad del ácido para permanecer sin disociar en la solución. Saftner *et al.*, (2003) concluyen que la inmersión de melón MP durante 30 s en soluciones que contienen lactato de calcio reduce el crecimiento microbiano durante el almacenamiento a 10°C. Además, Purac (2001) afirma que el lactato posee propiedades bacteriostáticas para patógenos como *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes* y *E.coli* 0157:H7.

Las muestras con citrato presentaron menor contaminación microbiana respecto a las muestras isotónicas. Diversos autores han reconocido cierta actividad antimicrobiana por parte del citrato (Brul y Coote, 1999; Russel, 1991). Helander *et al.*, (1997) estudiaron el papel de los compuestos quelantes como agentes permeables de la membrana exterior de bacterias Gram negativas.

Existe una correlación entre el crecimiento de microorganismos aerobios mesófilos o psicrótrofos y la concentración de los compuestos volátiles. Estas relaciones fueron significativas con coeficientes de correlación de Pearson para la correlación entre mesófilos y etanol ($r=0.523$) y éstos con el acetaldehído ($r=0.672$). Para los microorganismos psicrótrofos se han encontrado valores de los coeficientes $r=0.561$ y $r=0.598$ para el etanol y el acetaldehído, respectivamente (Tabla AIII.18, del Anexo III.2).

Se puede concluir que la presencia de microorganismos en las muestras parece estar también relacionada con la producción de volátiles no deseados, causando alteraciones de la calidad sanitaria y sensorial en las muestras.

III.4.7 Evaluación de los atributos sensoriales

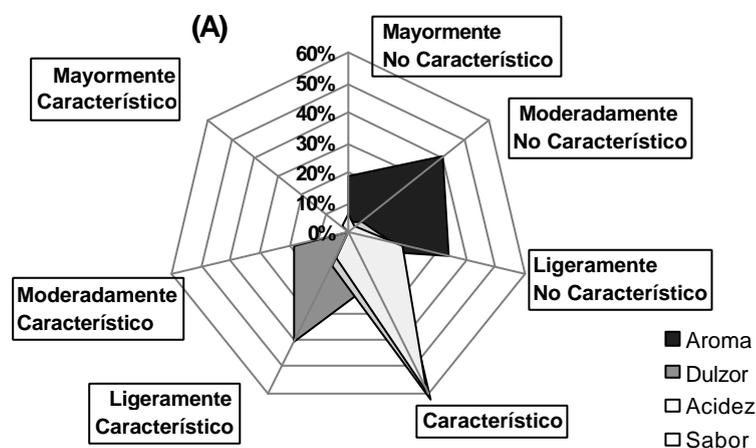
Tal y como se detalla en el apartado III.3.7 de Materiales y Métodos, se realizó un análisis de las muestras a nivel sensorial, con el objetivo de conocer la opinión de los catadores sobre la calidad de las muestras de pera MP.

III.4.7.1 Efecto del tratamiento de impregnación

Para analizar que tipo de cambios se producen en las muestras al ser sometidas al proceso de impregnación, se realizó una prueba de comparación pareada simple sobre un total de 32 catadores no entrenados, evaluándose las diferencias en cuanto a aroma, firmeza, dureza, sabor, acidez, dulzor y

jugosidad, además, de pedirles que señalaran su preferencia por alguna de las dos muestras.

La prueba de comparación mostró notables diferencias en sólo tres de los ocho parámetros sensoriales estudiados. Los resultados del análisis sensorial se muestran en las Figuras III.28A y III.28B. Los catadores solo detectaron pérdidas de carácter significativo en los atributos aroma y firmeza (Tabla AIII.19 del Anexo III.2), y no diferenciaron las muestras en el resto de atributos evaluados. Estas pérdidas son consecuencia de la aplicación de la técnica de impregnación a vacío, ya que por una parte provoca la eliminación del gas del interior de los poros del tejido y esto puede afectar a la liberación de componentes aromáticos volátiles y por otra, puede afectar a las uniones celulares disminuyendo la resistencia mecánica de las muestras. Además, la ausencia de gas en los espacios intercelulares o su baja presión en el tejido posiblemente disminuye las reacciones de oxidación responsables del desarrollo de compuestos aromáticos (Escriche *et al.*, 2000).



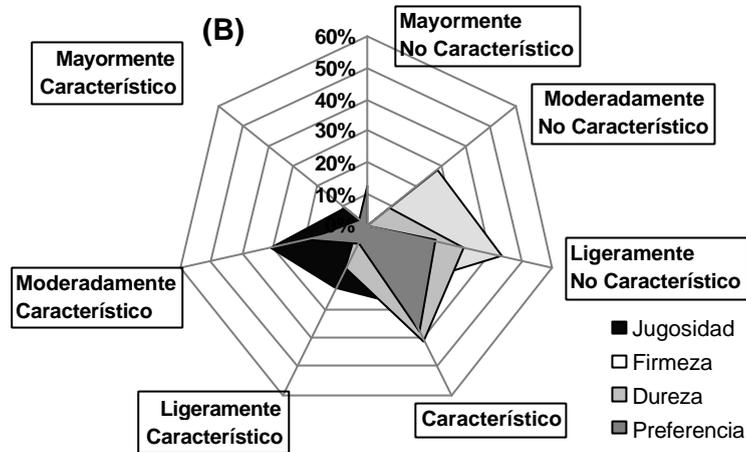


Figura III.28. Resultados obtenidos en el análisis sensorial para los atributos sensoriales de muestras de pera impregnada respecto a la muestra fresca.

Tal como se esperaba, para las muestras impregnadas se detectó un incremento en los atributos de dulzor (un 41% de las respuestas) y jugosidad (31% del total), siendo este último de carácter significativo con respecto a las muestras recién cortadas.

Con lo que respecta al grado de preferencia, no se encontró diferencia entre las muestras, lo que indica que las diferencias encontradas entre la muestra recién cortada y la impregnada son poco relevantes.

III.4.7.2 Efecto de los agentes antiparaldeantes

La evaluación sensorial se llevo a cabo mediante un test de comparación múltiple, donde la muestra isotónica (T5) fue utilizada como referencia y las muestra evaluadas fueron las tratadas con ascorbato (T2), ascorbato-calcio (T7), citrato (T1) y citrato calcio (T6) en 3 sesiones.

Los resultados de las evaluaciones sensoriales (Figura III.29) para los diferentes atributos fueron analizados mediante un ANOVA multifactorial, considerando como factores el catador, tipo de muestra y sesión (Tabla AIII.20,

del Anexo III.2). Para todos los atributos, excepto acidez, los factores catador y sesión no fueron significativos según el ANOVA, lo que indica la coherencia y buena reproducibilidad del panel.

La Figura III.29 muestra los atributos evaluados, donde es posible observar que los catadores detectaron diferencias de carácter significativo para los atributos de translucidez (a), pardeamiento (b), acidez (e), dulzor (f), aroma (g) y sabor (h). En los atributos jugosidad (c) y firmeza (d) no fueron detectadas diferencias. La evaluación sensorial fue realizada al tiempo cero de almacenamiento y seguramente, los efectos del calcio como agente de firmeza a ese tiempo son poco importantes.

Con respecto a los atributos de apariencia (translucidez y pardeamiento), los catadores encontraron que muestras impregnadas con ascorbato presentaron altos niveles de translucidez (Figura III.29a). Para el atributo pardeamiento, las muestras que contenían ascorbato también fueron evaluadas como las que menor pardeamiento desarrollaron (Figura III.29b).

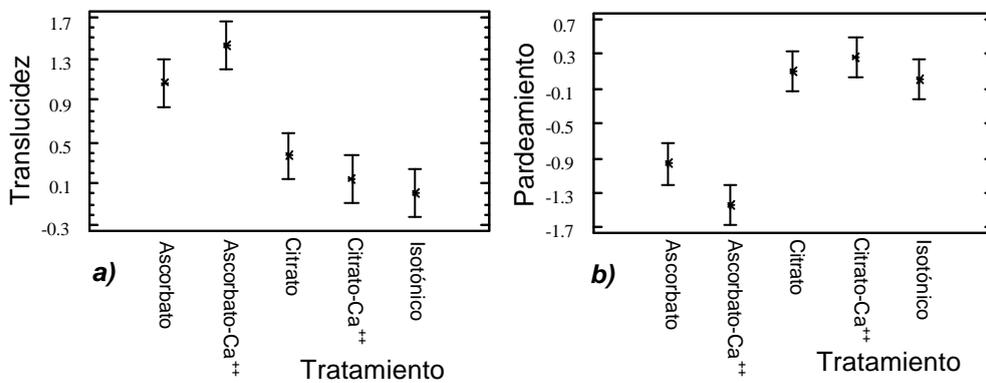
El atributo sensorial aroma es apreciado como nulo o en muy baja presencia en todas las muestras con respecto a la muestra referencia (T5) (Figura III.29g). Puede que la producción de aromas se vea afectada por los compuestos antipardeantes (calcio, ascorbato y citrato) al alterar alguna vía metabólica de vital importancia. Song y Bangerth (1993) durante la infiltración de cloruro de calcio (0.15 M) en manzanas *var. Golden Delicious* también encontraron una disminución significativa en la producción total del aroma.

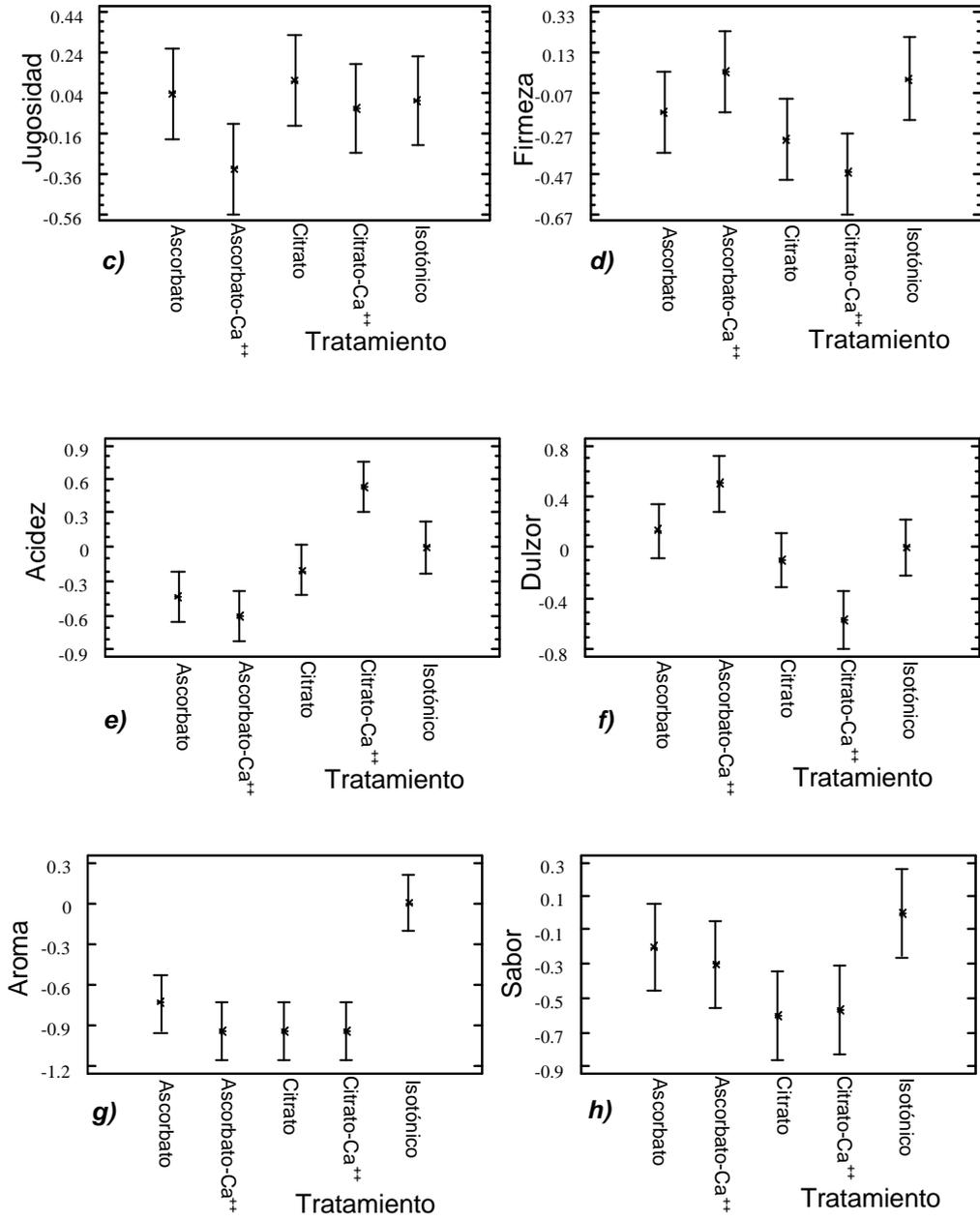
En la apreciación del sabor (Figura III.29h) se encontraron diferencias, siendo las muestras que contenían citrato las que más se alejaron del sabor característico. Es remarcable que los catadores no encontraron diferencias en la presencia o ausencia de lactato de calcio, lo que confirma que la utilización de este compuesto no introduce sabores extraños o desagradables al producto. Resultados similares fueron obtenidos por Luna-Guzmán *et al.*, (1996) y Luna-

Guzmán y Barrett (2000) en la evaluación sensorial del sabor de melón MP tratado con lactato de calcio.

En cuanto a los atributos globales del sabor (Figura III.29e y f) evaluados mediante la acidez y el dulzor, las muestras con citrato aparecen como menos dulces y más ácidas, acentuándose de manera significativa ambos atributos cuando se incluye el calcio en la formulación. Para el atributo acidez se registraron interacciones significativas entre las valoraciones de los catadores y el tipo de muestra, y esta a su vez con la sesión, indicando cierta falta de coherencia entre catadores y sesiones (Tabla AIII.20, del Anexo III.2). Las muestras que contenían ascorbato fueron evaluadas como las más dulces, con respecto a la muestra referencia (Figura III.29f).

Finalmente, los catadores establecieron su preferencia (Figura III.29i) sobre la base de los atributos anteriormente mencionados, inclinándose por las muestras que incluían ascorbato en su formulación con o sin calcio.





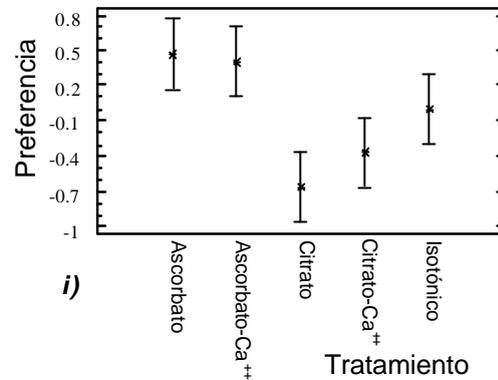


Figura III.29 Gráficos de medias con intervalo LSD para los distintos atributos analizados en la evaluación sensorial de pera MP.

III.5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

(i) La impregnación a vacío supuso cambios importantes en el color y propiedades mecánicas de las muestras. La aplicación de vacío dio lugar a un incremento en la translucidez y un descenso de la luminosidad y de la pureza de color y un aumento del tono de las muestras, que vira hacia más verdoso como consecuencia de la sustitución del aire de los poros por disolución. En cuanto a las propiedades mecánicas, las muestras registraron una disminución de todos los parámetros de carga, del carácter elástico y se volvieron significativamente más cortas, probablemente debidos a las interacciones de los compuestos utilizados con la estructura del producto y un ligero efecto hipertónico.

(ii) El factor que ha tenido más relevancia en la determinación del color de las muestras ha sido el tipo de agente antipardeante utilizado, siendo el tratamiento con ascorbato, con y sin calcio, el que provocó un mejor mantenimiento del color de las muestras durante su almacenamiento, tanto, por inhibir más eficazmente el pardeamiento como por otros fenómenos involucrados en la variación de color total como son los cambios en

translucidez, que afectan en gran medida a los valores de L^* . Por otro lado, el 4-HR ocasionó las mayores pérdidas en luminosidad, colores más pardos y saturados, reflejando un severo pardeamiento. La adición de calcio no supuso diferencias notables en los parámetros de color de las muestras, no siendo efectivo, por tanto, en el control del pardeamiento enzimático de esta fruta.

(iii) El almacenamiento provocó descensos en la luminosidad y tono de las muestras, mientras que el croma no presentó prácticamente variaciones con el tiempo. La evolución del tono de las muestras con el tiempo se ajustó a un modelo exponencial. La mayor constante cinética de desarrollo de colores pardos se corresponde con los tratamientos con 4-HR como agente antipardeante en presencia de calcio y la menor, al tratamiento con ascorbato, independientemente de la presencia de calcio.

(iv) El tipo de agente antipardeante fue el factor más determinante en los cambios de las propiedades mecánicas. Por otro lado, el análisis de las propiedades mecánicas de la materia prima reflejó diferencias significativas en el caso de las muestras destinadas al tratamiento con citrato, lo que pudo explicar su diferente comportamiento mecánico.

(v) El compuesto que mejor mantuvo las características mecánicas de las muestras fue el tratamiento isotónico, presentando los mayores parámetros de carga y el que dio lugar a una mayor pérdida de firmeza de las muestras durante el almacenamiento fue el 4-HR, seguramente debido a los efectos negativos sobre la membrana de las células. La utilización de calcio parece mejorar las propiedades mecánicas, aunque en este estudio, las diferencias no fueron apreciables de forma importante. Con el almacenamiento, las muestras se volvieron más débiles y menos rígidas, como consecuencia de la pérdida de la turgencia celular con el tiempo.

(vi) El calcio parece reforzar la estructura celular del tejido, ya que el mayor entrecruzamiento de cadenas de pectina en la lamina media provoca una

menor exudación de líquido proveniente del interior y por tanto, una mayor CRA y menor conductividad eléctrica. Sin embargo, la acción enzimática en la pera estudiada, no quedó inhibida en mayor medida por este efecto, en contra de lo observado en otros tejidos. La acción del calcio supone un incremento en el carácter hipotónico de la solución, lo cual implica cambios en el tejido que pueden conducir a un mayor desarrollo de pardeamiento.

(vii) La impregnación a vacío limita el intercambio gaseoso de las muestras, reflejado en los menores valores de la TR_{O_2} y el aumento de la TR_{CO_2} de las muestras. También, el estrés celular ocasionado por las operaciones podría potenciar tanto la cadena de transporte de electrones como el ciclo de los ácidos tricarbónicos. La tasa de respiración de CO_2 fue menor, probablemente al interferir dicho compuesto en alguna de las rutas metabólicas del proceso de respiración.

(viii) El análisis de la composición del espacio de cabeza del envase muestra que las concentraciones de O_2 y CO_2 alcanzan un estado de equilibrio aproximadamente a los 15 días de almacenamiento. Este estado de equilibrio se alcanzó con modificaciones relativamente pequeñas de la atmósfera inicial e inferiores al 1.5 % y 20 %, para el CO_2 y O_2 , respectivamente, debido a la alta permeabilidad de la película utilizada. Las diferencias encontradas entre los valores de equilibrio de los diferentes tratamientos parecen indicar que la actividad metabólica y las rutas respiratorias se ven afectadas por los mismos. La presencia de calcio implicó siempre atmósferas de equilibrio menos alteradas respecto a la inicial, lo que sugiere una ralentización de la actividad respiratoria en presencia de dicho ión.

(ix) La concentración de compuestos volátiles aumentó a lo largo del almacenamiento, tendiendo a alcanzar un estado estacionario, seguramente debido al inicio de procesos fermentativos, al crecimiento microbiano y la propia senescencia del fruto. Los tratamientos antipardeantes que dieron lugar a una menor alteración de la composición del espacio de cabeza en los envases

durante el almacenamiento, con un menor desarrollo de volátiles indeseables, fueron los que combinaron calcio con ascorbato y la solución isotónica, potenciándose así la vida útil del producto. Se encontró una correlación significativa al 99% entre el O₂ consumido y el acetaldehído y el etanol para todas los tratamientos.

(x) Los valores del recuento microbiano durante todo el almacenamiento fueron de 10¹ ufc/g para mohos y levaduras e inferiores a 10⁷ ufc/g para bacterias, valores por debajo de los máximos establecidos por la legislación para la comercialización de estos productos. Las muestras impregnadas con citrato y ascorbato presentaron un crecimiento microbiano menor, mostrando una gran estabilidad durante los primeros 15 días de almacenamiento a 4°C. Estos resultados parecen indicar que estos compuestos utilizados como agentes antipardeantes podrían estar inhibiendo el crecimiento microbiano. Este efecto se vio potenciado en presencia del calcio en las soluciones de impregnación, probablemente debido al incremento de la resistencia del tejido celular a la infección bacteriana ocasionado por el calcio y a la posible capacidad bactericida del lactato.

(xi) En el análisis sensorial, la muestra impregnada fue valorada como más jugosa y con menor aroma, al compararla con la recién cortada. La salida del gas del interior de los poros del tejido y la penetración de la solución exterior promovido por la técnica de IV empleada explican los cambios detectados a nivel sensorial. También, las muestras impregnadas fueron evaluadas como menos firmes. Estos resultados apoyan a los obtenidos durante la caracterización mecánica de estas muestras.

(xii) Al compararse los distintos tratamientos, el panel de catadores se inclinó por muestras que incluían ascorbato en su formulación con o sin calcio, por presentar un sabor más dulce y un menor desarrollo de pardeamiento en comparación con el resto.

III.6 BIBLIOGRAFIA

A

- Agar, I. T.; Massantini, R.; Hess-Pierce, B.; Kader, A. A. (1999) Postharvest CO₂ and ethylene production and quality maintenance of fresh-cut kiwifruit slices. *Journal of Food Science*, 64(3): 433-440.
- Aguayo, E.; Artés, F. (2001) Procesado en fresco del melón y evolución de su calidad sensorial. *Alimentaria*, 87-91.
- Almeida, M. E. M.; Nogueira, J. N. (1995) The control of polyphenol oxidase activity in fruits and vegetables. A study of the interactions between the chemical compounds used and heat treatment. *Plant Foods for Human Nutrition*, 47(3): 245-256.
- Almenar, E.; Valle-del, V.; Sebastián, R.; Lagarón, J. M.; Catalá, R.; Gavara, R. (2002) Extensión de la vida útil de fresas silvestres mediante el aumento de la concentración de compuestos antifúngicos presentes en su aroma, combinado con la utilización de MAP y baja temperatura. *Actas del 2º Congreso Español de Ingeniería de Alimentos (CESIA2002)* [cd-rom]. Lleida: Universitat de Lleida.
- Alonso, J.; Rodríguez, T.; Canet, W. (1995) Effect of calcium pre-treatments on the texture of frozen cherries. Role of pectinesterase in the changes in the pectic materials. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 43(4): 1011-1016.
- Artes F.; Conesa, M. A.; Hernandez, S.; Gil, M. I. (1999) Keeping quality of fresh-cut tomato. *Postharvest Biology and Technology*, 17(3): 153-162.
- Azcon-Bieto, J.; Talon, M. (1992) *Fundamentos de fisiología vegetal*. Madrid ; New York : McGraw - Hill Interamericana ; Barcelona : Edicions Universitat de Barcelona

B

- Baldwin, E. A.; Nisperos-Carriedo, M.; Shaw, P. E.; Burns, J. K. (1995) Effect of coatings and prolonged storage conditions on fresh orange flavor volatiles, degrees Brix, and ascorbic acid levels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(5): 1321-1331.
- Bangerth, F. (1979) Calcium-related physiological disorders of plants. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, Annual Reviews. 17: 97-122.
- Bangerth, F.; Dilley, D. R.; Dewey, D. H. (1972) Effect of postharvest calcium treatments on internal breakdown and respiration of apple fruits. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 97(5): 679-682.
- Banque de Données Automatisée sur les Médicaments (BIAM) (1992) Resorcinol (www.biam2.org) 18/2/1992
- Barceló, J.; Nicolás, G.; Sabater, B.; Sánchez, R (2001) Fotorrespiración. En *Fisiología Vegetal*, Eds., Pirámide, España. :225-235.
- Boletín Oficial del Estado (2001) Real Decreto 3484/2000, de 29 de diciembre, por el que se establecen las normas de higiene para la elaboración, distribución y comercio de comidas preparadas.(BOE NÚM. 11, Viernes, 12 de enero de 2001) *Artículo 7*. Condiciones del almacenamiento, conservación, transporte y venta (www.boe.es)
- Bolin, H. R.; Huxsoll, C. C. (1989) Storage stability of minimally processed fruit. *Journal of Food Processing and Preservation*, 13(4): 281-292.
- Bolin, H. R.; Stafford, A. E.; King, A. D.; Huxsoll, C. C. (1977) Factors affecting the storage stability of shredded lettuce. *Journal of Food Science*, 42(5): 1319-1321.
- Brecht, J. K. (1995) Physiology of lightly processed fruits and vegetables. *HortScience*, 30(1): 18-22.
- Brinson K.; Dey, P. M.; John, M. A.; Pridham, J. B. (1988) Post-harvest changes in *Mangifera indica* mesocarp cell walls and cytoplasmic polysaccharides. *Phytochemistry*, 27(3): 719-723.
- Bruemmer, J. H. (1987) Stability of prepared carrot sticks in storage. *Horticultural Society*, 100: 36-38.
- Brul, S.; Coote, P. (1999) Preservative agents in foods. Mode of action and microbial resistance mechanisms. *International Journal of Food Microbiology*, 50(1/2): 1-17.

- Buta, J. G.; Abbott, J. A. (2000) Browning inhibition of fresh-cut *Anjou*, *Bartlett*, and *Bosc* pears. *HortScience*, 35(6): 1111-1113.
- Buta, J. G.; Moline, H. E.; Spaulding, D. W.; Wand, C.Y. (1999) Extending storage life of fresh-cut apples using natural products and their derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(1): 1-6.

C

- Castaner, M.; Gil, M. I.; Artés, F.; Tomas-Barberan, F. A. (1996) Inhibition of browning of harvested head lettuce. *Journal of Food Science*, 61(2): 314-316.
- Castelló, M. L.; Fito, P. J.; Carvalho, C. P.; Fito, P.; Chiralt, A. (2002) Efecto de la impregnación a vacío en la respiración de frutas. *Actas del 2º Congreso Español de Ingeniería de Alimentos (CESIA2002)* [cd-rom]. Lleida: Universitat de Lleida.
- Cesaro, A.; Ciana, A.; Delben, F.; Manzini, G.; Paoletti, S. (1982) Physicochemical properties of pectic acid. I. Thermodynamic evidence of a pH-induced conformational transition in aqueous solution. *Biopolymers*, 21: 431.
- Cháfer, M.; (Sin Publicar) Kinetics of colour changes during storage of osmotic dehydrated orange peels. Ph. D. *Tesis*. (2001) Universidad Politécnica de Valencia, España.
- Chiralt, A.; Martínez-Navarrete, N.; Martínez-Monzo, J.; Talens, P.; Moraga, G.; Ayala, A.; Fito, P. (2001) Changes in mechanical properties throughout osmotic processes: Cryoprotectant effect. *Journal of Food Engineering*, 49(2/3): 129-135.
- Conway, W. S.; Sams, C. E. (1984) Possible mechanisms by which postharvest calcium treatment reduces decay in apples [*Malus domestica*, inoculation with *Penicillium expansum*]. *Phytopathology, American Phytopathological Society*. 74(2): 208-210.

D

- Davidson, P. M.; Juneja, V. K. (1990) Antimicrobial agents. En Branen, A. L.; Davidson, P. M.; Salminen, S. (Eds) *Food Additives*. Marcel Dekker, N. Y. 83-137.
- Dilley, D. R. (1990) Increasing the calcium content of apple fruits to improve storability and attenuate physiological disorders. *Annu Rep Mich State Hortic Soc. East Lansing, Mich. The Society*. :195-207.
- Dong, X., Wrolstad, R.E.; Sugar, D. (2000) Extending shelf life of fresh-cut pears. *Journal of Food Science*. 65(1): 181-186.
- Dorantes-Alvarez, L.; Parada-Dorantes, L.; Ortiz-Moreno, A.; Molina-Cortina, E. (1996) Effect of antibrowning compounds on the quality of minimally processed avocado. United States of America, Institute of Food Technologists [1996 Annual Meeting] *IFT annual meeting: book of abstracts* Conference-Proceedings, p. 55 ISSN 1082-1236.
- Duangmal, K.; Owusu-Apenten, R. K. (1999) A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var. Romano). *Food Chemistry*, 64(3): 351-359.

E

- Escrèche, I.; Chiralt, A.; Moreno, J.; Serra, J. A. (2000) Influence of blanching-osmotic dehydration treatments on volatile fraction of strawberries. *Journal of Food Science*, 65(7): 1107-1111.

F

- Faust M.; Shear, C. B. (1972) The effect of calcium on respiration of apples. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 97(4): 437-439.
- Fellows, P. (1994) Tecnología del procesamiento de alimentos: Principios y prácticas. En P. Fellows (Eds) Zaragoza : Acribia, D.L
- Fennema, O. R. (2000) Agua y hielo. En *Química de los alimentos*, p. 19-103. Owen R. Fennema Eds., Acribia, Zaragoza.
- Fito, P.; Andres, A.; Chiralt, A.; Pardo, P. (1996) Coupling of hydrodynamic mechanism and deformation-relaxation phenomena during vacuum treatments in solid porous food-liquid systems. *Journal of Food Engineering*, 27(3): 229-240.

- Fito, P.; Chiralt, A.; Barat, J. M.; Spiess, W. E. L.; Behnlian, D. (2001) Osmotic dehydration and vacuum impregnation: *Applications in Food Industries*. En Spiess, W. E. L.; Behnlian, D (Eds). Frankos, V. H.; Schmitt, D. F.; Haws, L. C.; McEvily, A. J.; Iyengar, R.; Miller, S. A.; Munro, I. C.; Clydesdale, F. M.; Forbes, A. L.; Sauer, R. M. (1991) Generally recognized as safe (GRAS) evaluation of 4-hydroxyresorcinol for use as a processing aid for prevention of melanosis in shrimp. *Regulation Toxicological Pharmacological*, RTP. Orlando, Fla Academic Press. 14 (2): 202-212.
- Freese, E.; Sheu, C. W.; Galliers, E. (1973) Function of lipophilic acids as antimicrobial food additives. *Nature*, 241: 321-325.

G

- Ginzburg, B. Z. (1961) Evidence for a protein gel structure cross-linked by metal cations in the intercellular cement of plant tissue. *Journal of Exp. Botanic*, 12: 85-107.
- Glenn, G. M.; Reddy, A. S. N.; Poovaiah, B. W. (1988) Effect of calcium on cell wall structure, protein phosphorylation and protein profile in senescing apples. *Plant and Cell Physiology*, 29: 565-572.
- González-Aguilar, G. A.; Wang, C. Y.; Buta, J. G. (2000) Maintaining quality of fresh-cut mangoes using antibrowning agents and modified atmosphere packaging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 4204-4208.
- González-Aguilar, G. A.; Wang, C. Y.; Buta, J. G. (2001) Inhibition of browning and decay of fresh-cut radishes by natural compounds and their derivatives. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 34(5): 324-328.
- Gorny, J. R.; Kader, A. A. (1997) Low oxygen and elevated carbon dioxide atmospheres inhibit ethylene biosynthesis in preclimacteric and climacteric apple fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 122(4): 542-546.
- Gorny, J. R. (1998) A summary of CA and MA recommendations for selected fresh-cut fruits and vegetables. *International Fresh-Cut Produce Association*, Davis CA, 95616 USA.
- Gorny, J. R.; Gil, M. I.; Kader, A. A. (1998) Postharvest physiology and quality maintenance of fresh-cut pears. *Acta Horticulturae*, (464): 231-236.
- Gorny, J. R.; Hess-Pierce, B.; Cifuentes, R. A.; Kader, A. A. (2002) Quality changes in fresh-cut pear slices as affected by controlled atmosphere and chemical treatments. *Postharvest Biology and Technology*, 24(3): 271-278.
- Grant, G. T.; Morris, E. R.; Rees, D. A.; Smith, P. J. C.; Thom, D. (1973) Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: the egg-box model *FEBS Letters*, 32: 195-198.
- Gras, M. L.; Vidal, D.; Betoret, N.; Chiralt, A.; Fito, P. (2003) Calcium fortification of vegetables by vacuum impregnation: interactions with cellular matrix. *Journal of Food Engineering*, 56(2): 279-284.
- Guillou, A. A.; Floros, J. D.; Cousin, M. A. (1992) Calcium chloride and potassium sorbate reduce sodium chloride used during natural cucumber fermentation and storage. *Journal of Food Science*, 57(6): 1364-1368.
- Gutiérrez, A. (2001) 4-Hydroxyresorcinol, inhibidor del pardeamiento enzimático en frutas y crustáceos. *Alimentación, equipos y tecnología*, 175: 69-71.

H

- Helander I. M.; Wright-von, A.; Mattila-Sandholm, T. M. (1997) Potential of lactic acid bacteria and novel antimicrobials against Gram-negative bacteria. *Trends in Food Science and Technology*, 8(5): 146-150.
- Huxsoll, C. C.; Bolin, H. R. (1989) Processing and distribution alternatives for minimally processed fruits and vegetables. *Food Technology*, 43(2): 124-128.

I

- Izumi, H.; Watada, A. E. (1995) Calcium treatment to maintain quality of zucchini squash slices. *Journal of Food Science*, 60(4): 789-793.
- Izumi, H.; Watada, A. E. (1994) Calcium treatments affect storage quality of shredded carrots. *Journal of Food Science*, 59(1): 106-109.

Izumi, H.; Watada, A. E.; Ko, N. P.; Douglas, W. (1996) Controlled atmospheres storage of carrot slices, sticks y shreds. *Postharvest Biology Technology*, 9: 165-172.

J

Jacxsens, L.; Devlieghere, F.; Ragaert, P.; Vanneste, E.; Debevere, J. (2003) Relation between microbiological quality, metabolite production and sensory quality of equilibrium modified atmosphere packaged fresh-cut produce. *International Journal of Food Microbiology*, 83(3): 263-280.

Jay, J. M. (1992) Microbiological food safety. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 31(3): 177-190.

K

Kays, S. J. (1991) Metabolic considerations in harvested products. En *Postharvest physiology of perishable plant products*. New York : Van Nostrand Reinhold., 75-142.

Kader, A. A. (1992) Modified atmosphere during transport and storage En Adel A Kader (Eds) *Postharvest technology of horticultural crops*,. Oakland, Calif. : University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Publication 3311: 85-92.

Kato-Noguchi, H. (1997) Effects of citrate on respiratory gas exchange and metabolism in carrot root tissues. *Phytochemistry*, 45(2): 225-227.

Kato-Noguchi, H.; Watada, A. E. (1997) Citric acid reduces the respiration of fresh-cut carrots. *HortScience (The American Society for Horticultural Science)*, 32(1): 136.

Krahn, T. R. (1977) Improving the keeping quality of cut head lettuce. *Acta Horticulturae*, 62: 79-92.

Krebs, J. J. R.; Hauser, H.; Carafoli, E. (1979) Asymmetric distribution of phospholipids in the inner membrane of beef heart mitochondria. *Journal of Biology and Chemistry*,. Baltimore, American Society of Biological Chemists 254(12): 5308-5316.

L

Lamikanra, O.; Chen, J. C.; Banks, D.; Hunter, P. A. (2000) Biochemical and microbial changes during the storage of minimally processed cantaloupe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(12): 5955-5961.

Lamikanra, O; Watson, M. A. (2001) Effects of ascorbic acid on peroxidase and polyphenoloxidase activities in fresh-cut cantaloupe melon. *Journal of Food Science*, 66(9): 1283-1286.

Llovera, A.; Ortolá, M. D.; Chiralt, A.; (2002) Recubrimientos utilizados en frutos cítricos. Una revisión. *Actas del 2º Congreso Español de Ingeniería de Alimentos (CESIA2002)* [cd-rom]. Lleida: Universitat de Lleida.

Loncin, M. (1975) Basic principles of moisture equilibrium. En Goldblith, S.; Rey, L.; Rothmayr, W. (Ed) *En Freeze Drying and Advanced Food Technology*. Academic Press, New York.

Luh, B. S.; Phithakpol, B. (1972) Characteristics of polyphenoloxidase related to browning in cling peaches. *Journal of Food Science*, 37(2): 264-268.

Luna-Guzman, I.; Barrett, D. M. (2000) Comparison of calcium chloride and calcium lactate effectiveness in maintaining shelf stability and quality of fresh-cut cantaloupes. *Postharvest Biology and Technology*, 19(1): 61-72.

Luna-Guzman, I.; Barrett, D. M.; Cantwell, M. (1996) Effects of calcium chloride dips and heat treatments on the quality of fresh-cut cantaloupe melons. United States of America, *Institute of Food Technologists [1996 Annual Meeting: book of abstracts]*:1082-1236.

Luna-Guzman, I.; Cantwell, M.; Barrett, D. M. (1999) Fresh-cut cantaloupe: effects of CaCl₂ dips and heat treatments on firmness and metabolic activity. *Postharvest Biology and Technology*, 17(3): 201-213.

Lund, B. M. (1983) Bacterial spoilage En: Denis, C. (Ed), *Postharvest Pathology of Fruits and Vegetables*. Academic Press, New York, 219-254.

Luo, Y.; Barbosa-Canovas, G. V. (1995) Enzymatic browning of new and traditional apple cultivars and the inhibition by 4-hexylresorcinol. *IFT Annual Meeting Conference-Proceedings*, 271.

M

- Marangoni, A. G.; Palma, T.; Stanley, D. W. (1996) Membrane effects in postharvest physiology. *Postharvest Biology and Technology*, 7(3): 193-217.
- Martinez-Monzo, J.; Martinez-Navarrete, N.; Chiralt, A.; Fito, P. (1998) Mechanical and structural changes in apple (var. Granny Smith) due to vacuum impregnation with cryoprotectants. *Journal of Food Science*, 63(3): 499-503.
- Mastrangelo, M. M.; Rojas, A. M.; Castro, M. A.; Gerschenson, L. N.; Alzamora, S. M. (2000) Texture and structure of glucose-infused melon. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(6): 769-776.
- McEvily, A. J.; Iyengar, R.; Gross, A. (1991) Compositions and methods for inhibiting browning in foods using resorcinol derivatives. *United States Patent*, US 5 059 438, US 537361 (19900613) [Enzytech, Cambridge, MA, USA].
- McEvily, A. J.; Iyengar, R.; Otwell, W. S. (1992) Inhibition of enzymatic browning in foods and beverages. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32(3): 253-273.
- McEvily, A. J.; Iyengar, R.; Otwell, S. (1991) Sulfite alternative prevents shrimp melanosis. *Food Technology*, 45(9): 80, 82-86.
- McGuire, R. G.; Kelman, A. (1984) Reduced severity of Erwinia soft rot in potato tubers with increased calcium content. *Phytopathology. American Phytopathological Society*. 74(10): 1250-1256.
- Mignani, I.; Greve, L. C.; Ben-Arie, R.; Stotz, H. U.; Chingying, Li.; Shackel, K. A.; Labavitch, J. M. (1995) The effects of GA₃ and divalent cations on aspects of pectin metabolism and tissue softening in ripening tomato pericarp. *Physiologia Plantarum*, 93(1): 108-115.
- Monsalve-Gonzalez, A.; Barbosa-Canovas, G. V.; Cavaliere, R. P.; McEvily, A. J.; Iyengar, R. (1993) Control of browning during storage of apple slices preserved by combined methods. 4-hexylresorcinol as anti-browning agent. *Journal of Food Science*, 58(4): 797-800, 826.
- Monsalve-Gonzalez, A.; Barbosa-Canovas, G. V.; McEvily, A. J.; Iyengar, R. (1995) Inhibition of enzymatic browning in apple products by 4-hexylresorcinol. *Food Technology*, 49(4): 110, 112-114, 116-118.
- Montero, P.; Lopez-Caballero, M. E.; Perez-Mateos, M. (2001) The effect of inhibitors and high pressure treatment to prevent melanosis and microbial growth on chilled prawns (*Penaeus japonicus*). *Journal of Food Science*, 66(8): 1201-1206.
- Morris, J. R.; Sistrunk, W. A.; Sims, C. A.; Main, G. L.; Wehunt, E. J. (1985) Effects of cultivar, postharvest storage, preprocessing dip treatments and style of pack on the processing quality of strawberries. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 110(2): 172-177.

N

- Nguyen-the, C.; Carlin, F. (1994) The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34(4): 371-401.

O

- O'Connor-Shaw, R. E.; Roberts, R.; Ford, A. L.; Nottingham, S. M. (1994) Shelf life of minimally processed honeydew, kiwifruit, papaya, pineapple and cantaloupe. *Journal of Food Science*, 59(6): 1202-1206, 1215.
- O'Connor-Shaw, R. E.; Roberts, R.; Ford, A. L.; Nottingham, S. M. (1996) Changes in sensory quality of sterile cantaloupe dice stored in controlled atmospheres. *Journal of Food Science*, 61(4): 847-851.

P

- Paliyath, G.; Poovaiah, B. W.; Munske, G. R.; Magnuson, J. A. (1984) Membrane fluidity in senescing apples: effects of temperature and calcium. *Plant and Cell Physiology*, 25(6): 1083-1087.
- Pérez, L.; González-Martínez, C.; Chafér, M.; Chiralt, A. (2002) Cambios de color en pera mínimamente procesada var. *Blanquilla*. *Actas del 2º Congreso Español de Ingeniería de Alimentos (CESIA2002)* [cd-rom]. Lleida: Universitat de Lleida.

- Ponting, J. D.; Jackson, R.; Watters, G. (1972) Refrigerated apple slices: preservative effects of ascorbic acid, calcium and sulphites. *Journal of Food Science*, 37(3): 434-436.
- Poovaiah, B. W. (1986) Calcium and fruit quality. *Wash State Horticult Assoc Proc. Wenatchee, Wash. The Association*. 82: 115-118.
- Poovaiah, B. W. (1986) Role of calcium in prolonging storage life of fruits and vegetables. *Food Technology*, 40(5): 86-89.
- Pretel, M. T.; Fernandez, P. S.; Romojaro, F.; Martinez, A. (1998) The effect of modified atmosphere packaging on 'ready-to-eat' oranges. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 31(4): 322-328.
- Purac, (2001) Studies of the effect of lactate on pathogens and spoilage organism in meta products: Sodium lactate compared with sodium citrate and sodium diacetate (www.purac.com)

R

- Rocha, A. M. C. N.; Morais, A. M. M. B. (2003) Shelf life of minimally processed apple (cv. Jonagored) determined by colour changes. *Food Control*, 14(1): 13-20
- Rolle, R.S.; Chism, G. W. (1987) Physiological consequences of minimally processed fruits and vegetables. *Journal of Food Quality*, 10(3): 157-177.
- Rosen, J. C.; Kader, A. A. (1989) Postharvest physiology and quality maintenance of sliced pear and strawberry fruits. *Journal of Food Science*, 54(3): 656-659.
- Russel, A. D. (1991) Mechanisms of bacterial resistance to non-antibiotics: food additives and food and pharmaceutical preservatives. *Journal of Applied Bacteriology*, 71: 191-201.

S

- Saftner, R. A.; Bai, J.; Abbott, J.; Lee, Y. (2003) Sanitary dips with calcium propionate, calcium chloride, or a calcium amino acid chelate maintain quality and shelf stability of fresh-cut honeydew chunks. *Postharvest Biology and Technology*, (XX): XX *En Prensa*.
- Sapers G. M.; Miller, R. (1998) Browning inhibition in fresh-cut pears. *Journal of Food Science*. 63(2): 342-346.
- Sapers, G. M.; Douglas, F. W. Jr; Bilyk, A.; Hsu, A. F.; Dower, H. W.; Garzarella, L.; Kozempel, M. (1989) Enzymatic browning in Atlantic potatoes and related cultivars. *Journal of Food Science*, 54(2): 362-365.
- Sapers, G. M.; Miller, R. L. (1992) Enzymatic browning control in potato with ascorbic acid-2-phosphates. *Journal of Food Science*, 57(5): 1132-1135.
- Sapers, G. M.; Miller, R. L.; Miller, F. C.; Cooke, P. H.; San-Won, C. (1994) Enzymatic browning control in minimally processed mushrooms. *Journal of Food Science*, 59(5): 1042-1047.
- Shelef, L. A. (1994) Antimicrobial effects of lactates: a review. *Journal of Food Protection*, 57(5): 445-450.
- Slocum, R. D.; Roux, S. J. (1982) Role of Calcium in Mediating Cellular Functions in Higher Plants. En Cheung, W. Y. (Eds) *Calcium and Cell Function*. Academic Press., N. Y. (3): 409-453.
- Soliva-Fortuny, R. C.; Biosca-Biosca, M.; Griguelmo-Miguel, N.; Martín-Belloso, O. (2002a) Browning, polyphenol oxidase activity and headspace gas composition during storage of minimally processed pears using modified atmosphere packaging. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 1490-1496.
- Soliva-Fortuny, R. C.; Elez-Martinez, P.; Sebastian-Caldero, M.; Martín-Belloso, O. (2002) Kinetics of polyphenol oxidase activity inhibition and browning of avocado puree preserved by combined methods. *Journal of Food Engineering*, 55(2): 131-137.
- Soliva-Fortuny, R. C.; Griguelmo-Miguel, N.; Hernando, I.; Lluch, M. A.; Martín-Belloso, O. (2002b) Effect of minimal processing on the texture and structural properties of fresh-cut pears. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 1682-1688.
- Son, M. S.; Moon, K. D.; Lee, C. Y. (2001) Inhibitory effects of various antibrowning agents on apple slices. *Food Chemistry*, 73: 23-30.
- Song, J.; Bangerth, F. (1993) The effect of calcium-infiltration on respiration, ethylene and aroma production of 'Golden Delicious' apple fruits. *Acta Horticultural, International Society for Horticultural Science*. (326): 131-137.
- Soto, J. G.; Gómez-López, V.; Tapia, S. (1998) Stabilization of pasión fruti pulp by combined methods and effectiveness of antibrowning agents. En: Proceedings of the *Eighth International*

Congress on Engineering and Food -ICEF 8- (Welty-Chanes J., Barbosa-Cánovas G.V., Aguilera J.M. eds.), Lancaster: Technomic Publishing Co., Inc., 989-994.

Stern, D. (2003) Desarrollo de métodos analíticos para la detección de cambios metabólicos frente a situaciones de estrés en fruta fresca. *Tesis Doctoral, Departamento de Tecnología de Alimentos*. Universidad Politécnica de Valencia.

Stern, D.; Ortolá, M. D.; Fito, P. (2000) Estudio de la influencia de distintas condiciones de almacenamiento de cítricos sobre el desarrollo de componentes volátiles indeseables y predicción de su vida útil. En Fito, P.; Chiralt, A.; Andrés, A.; Martínez-Navarrete, N. (Eds) *Serios de Ciencia e Ingeniería de Alimentos, Investigación del Postgrado del IAD-DTA* (1): 159-175.

T

Talens, P.; Martínez-Navarrete, N.; Fito, P.; Chiralt, A. (2002) Changes in optical and mechanical properties during osmodehydrofreezing of kiwi fruit. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 3(2): 191-199.

Trujillo, F.; López, S.; Tavera, V.; Tapia, M. S.; Cava, R. (2001) Estudio de la estabilidad de melón mínimamente procesado por impregnación a vacío. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 51(2): 173-179.

Turner, J. F.; Turner, D. H. (1975) The regulation of carbohydrate metabolism [in higher plants] *Annual Review in Plant Physiology*, 26: 159-186.

U

University of Arkansas (2003) Chemistry Undergraduate Course Information Fall 2003. (www.uark.edu).

V

Valle-del, J. M.; Aranguiz, V.; Leon, H. (1998) Effects of blanching and calcium infiltration on PPO activity, texture, microstructure and kinetics of osmotic dehydration of apple tissue. *Food Research International*, 31(8): 557-569.

Valle-del, V.; Almenar, E.; Sebastián, R.; Gavara, R.; Catalá, R. (2002) Evolución de compuestos volátiles en gajos de mandarina envasados en atmósfera modificada en equilibrio. *Actas del 2º Congreso Español de Ingeniería de Alimentos (CESIA2002)* [cd-rom]. Lleida: Universitat de Lleida.

Van-Buren, J. P. (1979) The chemistry of texture in fruits and vegetables. *Journal of Texture Studies*, 10(1): 1-23.

W

Watada, A. E.; Abe, K.; Yamuchi, N. (1990) Physiological activities of partially processed fruits and vegetables. *Food Technology*, 44(5): 116, 118, 120-122.

Watada, A. E.; Ling, Qi. (1999) Quality of fresh-cut produce. *Postharvest Biology and Technology*, 15(3): 201-205.

Weemaes, C. A.; Ludikhuyze, L. R.; Van den Broeck, I.; Hendrickx, M. E. (1999) Influence of pH, benzoic acid, glutathione, EDTA, 4-hexylresorcinol and sodium chloride on the pressure inactivation kinetics of mushroom polyphenol oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(9): 3526-3530.

Wiley, R. C. (1994) Minimally processed refrigerated fruits and vegetables. Chapman & Hall.

Wills, R. B. H. (1998) Postharvest : An Introduction To The Physiology & Handling Of Fruit, Vegetables & Ornamentals. 4th ed. Sydney, Australia : UNSW Press ; Wallingford, Oxon, UK ; New York : Cab International.

Wiskich, J. T.; Dry, I. B. (1985) The tricarboxylic acid cycle in plant mitochondria: its operation and regulation. *Encycl Plant Physiol New Ser*, 18 : 281-313.

Anexos III

**Efectividad de tratamientos antipar-
deantes aplicados por impregnación a
vacío.**

Anexo III.1

Materiales y Métodos

**Efectividad de tratamientos antipardeantes
aplicados por impregnación a vacío.**

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura AIII.1** Etapas del proceso de siembra y recuentos de microorganismos
(Adaptado de FAO, 1981) _____ III.1-1
- Figura AIII.2** Cuestionario para prueba de comparación pareada simple _ III.1-2
- Figura AIII.3** Cuestionario para prueba de comparación múltiple _____ III.1-3
- Figura AIII.4** Esquema de la determinación de la permeabilidad de la película
plástica (Adaptado de Llovera *et al.*, 2002) _____ III.1-4
-

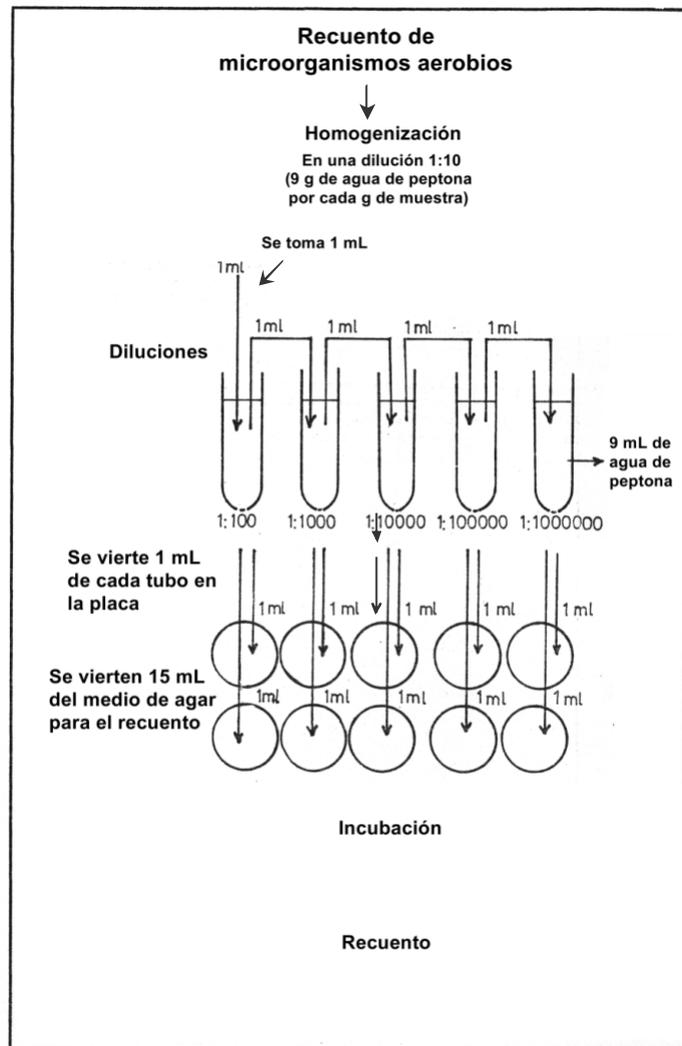


Figura AIII.1 Etapas del proceso de siembra y recuentos de microorganismos (Adaptado de FAO, 1981)



UNIVERSIDAD
POLITECNICA
DE VALENCIA

Universidad Politécnica de Valencia
Departamento de Tecnología de Alimentos
Prueba de entrenamiento

Nombre: _____ Fecha: _____

En esta prueba se comparará la muestra de referencia 746 con la muestra 502 para cada una de las propiedades enunciadas del -3 al +3. La comparación se hará en términos de la intensidad menor (-), mayor (+) o igual (=) de cada una de las propiedades. Si lo considera apropiado puede colocar ambas muestras en una misma casilla. Evalúe las propiedades, de la primera a la séptima, siguiendo el orden en que están enumeradas. La prueba debe realizarse con los ojos tapados para minimizar el efecto de la impregnación a vacío para la primera parte de este análisis.

1.	AROMA TIPICO.						
-3				=			+3
	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
2.	DUREZA-TURGOR.						
-3				=			+3
	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
3.	JUGOSIDAD.						
-3				=			+3
	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
4.	SADOR MÁS CERCANO O ALEJADO A LA MUESTRA REFERENCIA.						
-3				=			+3
	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
5.	SABOR ÁCIDO.						
-3				=			+3
	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
6.	SABOR DOLCE.						
-3				=			+3
	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
	PREFERENCIA.						
-3				=			+3
	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

COMENTARIOS: _____

MUCHAS GRACIAS POR SU COLABORACIÓN

Figura AIII.2 Cuestionario para prueba de comparación pareada simple



Universidad Politécnica de Valencia
 Departamento de Tecnología de Alimentos
 Prueba de entrenamiento

Nombre: _____ Fecha: _____

En esta prueba se comparará la muestra de Referencia **R** con las muestras **294, 937, 501, 685**, para cada una de las propiedades enunciadas del -3 al +3. La comparación se hará en términos de la intensidad menor (-), mayor (+) o igual (=) de cada una de las propiedades. Cada muestra será colocada en una casilla más o menos próxima (distancia) a la muestra de referencia en función de su parecido. Si lo considera apropiado **puede colocar varias muestras en una misma casilla**. Evalúe las propiedades, de la primera a la novena, siguiendo el orden en que están enumeradas.

1.	TRANSLUCIDEZ.						
	-3			=			+3
		<input type="text"/>	<input type="text"/>	R	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
2.	COLORES PARDOS (PARDEAMIENTO).						
	-3			=			+3
		<input type="text"/>	<input type="text"/>	R	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
3.	AROMA TÍPICO						
	-3			=			+3
		<input type="text"/>	<input type="text"/>	R	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
4.	DUREZA-TRONCÓN.						
	-3			=			+3
		<input type="text"/>	<input type="text"/>	R	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
5.	TIENDIDAD.						
	-3			=			+3
		<input type="text"/>	<input type="text"/>	R	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
6.	SABOR MÁS CERCANO AL SABOR A LA MUESTRA REFERENCIA.						
	-3			=			+3
		<input type="text"/>	<input type="text"/>	R	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
7.	SABOR ACIDE.						
	-3			=			+3
		<input type="text"/>	<input type="text"/>	R	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
8.	SABOR DULCE.						
	-3			=			+3
		<input type="text"/>	<input type="text"/>	R	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
9.	PREFERENCIA.						
	-3			=			+3
		<input type="text"/>	<input type="text"/>	R	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
COMENTARIOS:							
MUCHAS GRACIAS POR SU COLABORACIÓN							

Figura AIII.3 Cuestionario para prueba de comparación múltiple

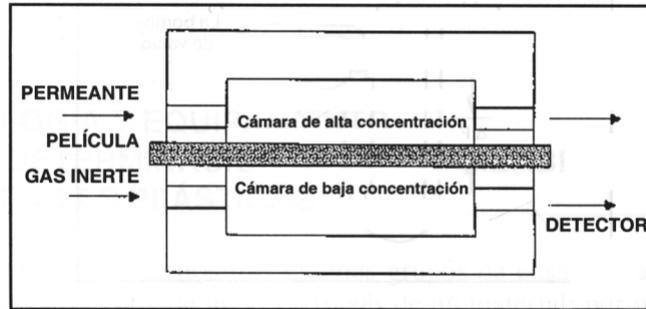


Figura AIII.4 Esquema de la determinación de la permeabilidad de la película plástica (Adaptado de Llovera et al., 2002)

Anexo III.2

Resultados y Discusión

**Efectividad de tratamientos antipardeantes
aplicados por impregnación a vacío.**

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura AIII.1 Efecto de las soluciones antipardeantes en los parámetros mecánicos. Influencia de la materia prima. _____	III.2-2
Figura AIII.2 Matriz de dispersión entre las propiedades ópticas a lo largo del almacenamiento (0-17d). _____	III.2-9
Figura AIII.3 Curvas tensión-deformación de Hencky a lo largo del almacenamiento. _____	III.2-10

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla AIII.1 Efecto de la impregnación a vacío en las propiedades ópticas. _____	III.2-1
Tabla AIII.2 ANOVA de los parámetros de color durante el almacenamiento. _____	III.2-3
Tabla AIII.3 ANOVA de los parámetros de color para cada tratamiento. _____	III.2-6
Tabla AIII.4 Coeficientes de correlación entre las propiedades ópticas para las muestras almacenadas de 0-17 días. _____	III.2-9
Tabla AIII.5 Análisis multifactorial para los parámetros de color durante el almacenamiento. _____	III.2-10
Tabla AIII.6 ANOVA de los parámetros mecánicos durante el almacenamiento. _____	III.2-12
Tabla AIII.7 ANOVA de los parámetros de color para cada tratamiento. _____	III.2-14
Tabla AIII.8 Análisis multifactorial para los parámetros mecánicos durante el almacenamiento. _____	III.2-17
Tabla AIII.9A Análisis discriminante para los parámetros mecánicos. incluidos todos los tratamientos (T1-10) al final del almacenamiento y el tratamiento <i>referencia</i> (T5) al tiempo cero de almacenamiento. _____	III.2-17
Tabla AIII.9B Coeficientes estandarizados del análisis discriminante para los parámetros mecánicos. incluidos todos los tratamientos (T1-10) al final del almacenamiento y el tratamiento <i>referencia</i> (T5) al tiempo cero de almacenamiento. _____	III.2-18
Tabla AIII.10 Capacidad de retención de fase líquida al final del almacenamiento (17d). influencia del tipo de muestra. _____	III.2-18
Tabla AIII.11 Coeficientes de correlación entre las propiedades mecánicas y la CRA para las muestras almacenadas 17 días. _____	III.2-19
Tabla AIII.12 Valores medios de la TRCO ₂ TRO ₂ y CR determinado a 10°C. impacto del procesamiento mínimo. _____	III.2-19
Tabla AIII.13 Valores medios de la TRCO ₂ TRO ₂ y CR determinado a 10°C. influencia del tipo de compuesto antipardeante. _____	III.2-19
Tabla AIII.14 Valores en equilibrio del análisis de espacio de cabeza durante el almacenamiento. _____	III.2-20
Tabla AIII.15 Análisis multifactorial para durante el almacenamiento para los gases y volátiles (0-25 días). _____	III.2-20
Tabla AIII.16 Coeficientes de correlación entre los volátiles (acetaldehído y etanol) y las concentraciones de O ₂ y CO ₂ para los diferentes tipos de muestras a lo largo del almacenamiento. _____	III.2-20
Tabla AIII.17 Valores medios de crecimiento de microorganismos a lo largo del almacenamiento (0 a 25 días) a 4°C. _____	III.2-23
Tabla AIII.18 Coeficientes de correlación entre los volátiles (acetaldehído y etanol) y los microorganismos aerobios (mesófilos y psicrótrofos) para los diferentes tipos de muestras a lo largo del almacenamiento. _____	III.2-23
Tabla AIII.19 Prueba de comparación pareada simple. _____	III.2-24
Tabla AIII.20 Prueba de comparación múltiple. _____	III.2-24

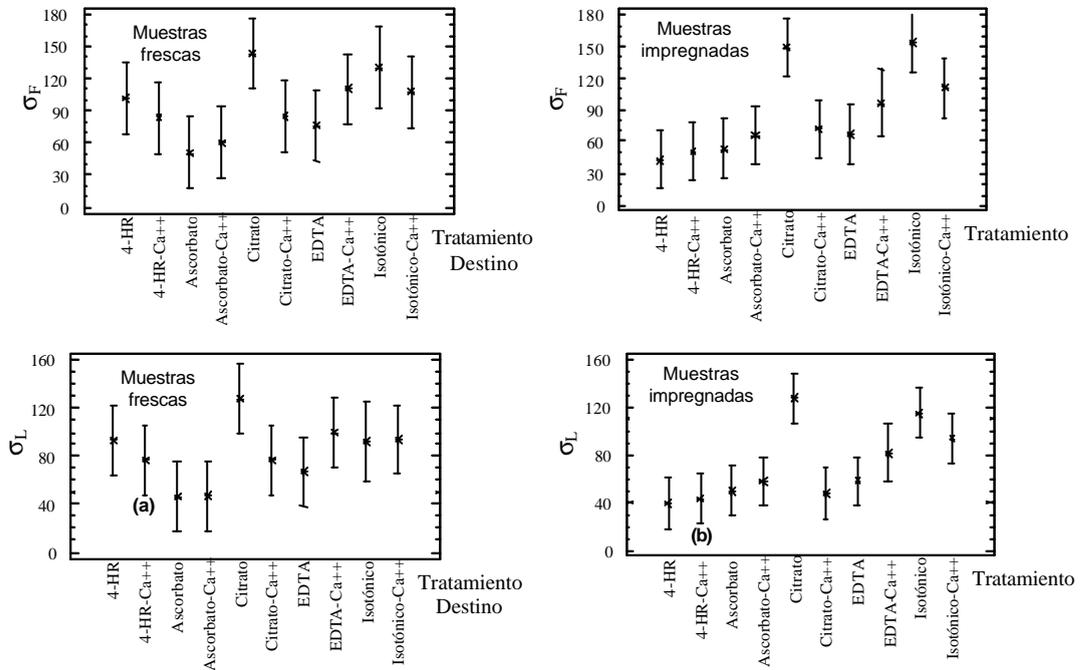
Tabla AIII.1 Efecto de la impregnación a vacío en las propiedades ópticas^{XY}

Muestra /Parámetro	ΔL^*	Δh_{ab}^*	ΔC_{ab}^*	ΔRT	$\Delta K/S_{2,600}$	ΔE^*
T1 Citrato	-37.4±1.5	6.6±3.4	-9.3±3.0	-6.0±4.7	6.6±0.7	38.7±1.9
T2 Ascorbato	-40.3±2.1	9.9±2.8	-9.7±2.8	-10.4±3.4	6.3±0.5	41.5±2.3
T3 EDTA	-36.6±4.2	8.1±4.8	-10.6±4.4	-8.0±6.8	7.1±2.0	38.3±5.1
T4 4-HR	-39.1±2.4	8.3±2.4	-9.9±2.2	-6.3±4.7	7.3±1.2	40.4±2.9
T5 Isotónico	-39.5±0.9	7.9±5.3	-10.2±2.8	-7.9±2.8	6.1±0.3	40.9±1.3
T6 Citrato-Ca ⁺⁺	-40.2±4.3	7.7±2.3	-9.2±2.8	-8.1±5.6	6.5±1.3	41.4±4.7
T7 Ascorbato-Ca ⁺⁺	-39.6±1.5	7.0±2.4	-9.2±0.4	-6.8±2.2	6.5±0.9	40.7±1.5
T8 EDTA-Ca ⁺⁺	-35.6±2.6	7.2±6.4	-8.3±3.6	-2.5±7.7	8.1±1.4	36.7±3.2
T9 4HR-Ca ⁺⁺	-40.9±2.1	9.7±4.9	-11.1±3.1	-11.4±3.0	5.7±0.6	42.4±2.8
T10 Isotónico-Ca ⁺⁺	-37.6±3.3	5.6±1.8	-8.6±2.3	-3.4±3.6	7.4±1.3	38.7±3.7
Anova p	0.1529	0.9274	0.9545	0.2662	0.1542	0.3092

x la media de cuatro determinaciones ± derivación estándar

$\Delta J = J_1 - J_0$; J_0 : muestras control; J_1 : después del tratamiento de Impregnación.

y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05



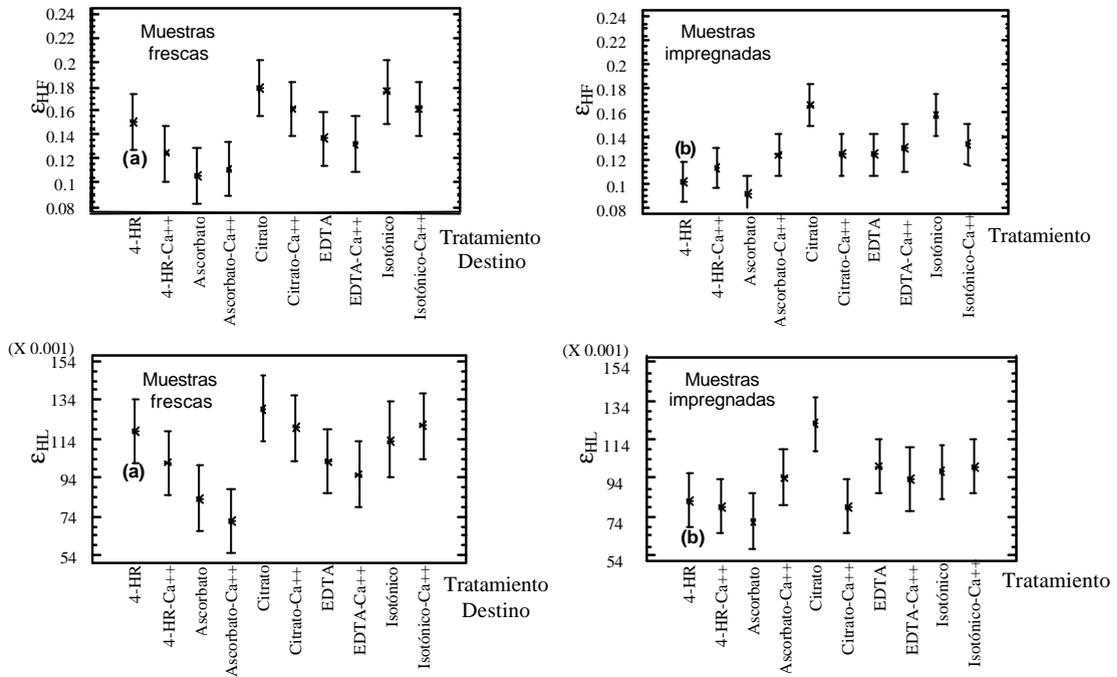


Figura AIII.1 Efecto de las soluciones antipardeantes en los parámetros mecánicos. Influencia de la materia prima^y

Tabla AIII.2 ANOVA de los parámetros de color durante el almacenamiento^{XY}

Tipo de Muestra	L*	h _{ab} *	C _{ab} *
0 días			
T1 Citrato	32.25±0.42 ^{bcd}	102.02±1.81 ^a	6.99±0.86 ^{cd}
T2 Ascorbato	31.96±0.65 ^{abc}	105.89±1.16 ^c	5.38±0.84 ^a
T3 EDTA	33.12±0.59 ^{cde}	104.16±0.69 ^{abc}	6.47±1.13 ^{bcd}
T4 4-HR	33.71±0.99 ^{de}	103.75±0.54 ^{abc}	6.59±0.48 ^{bcd}
T5 Isotónico	31.39±0.57 ^{ab}	103.21±1.40 ^{ab}	6.24±0.12 ^{abc}
T6 Citrato-Ca ⁺⁺	31.93±0.56 ^{abc}	103.14±1.70 ^{ab}	6.38±0.85 ^{bc}
T7 Ascorbato-Ca ⁺⁺	32.05±0.44 ^{bc}	102.68±0.75 ^a	6.79±0.70 ^{cd}
T8 EDTA-Ca ⁺⁺	35.36±0.22 ^f	103.70±1.97 ^{abc}	7.41±1.02 ^d
T9 4HR-Ca ⁺⁺	30.40±0.59 ^a	105.40±2.23 ^{bc}	5.71±0.87 ^{ab}
T10 Isotónico-Ca ⁺⁺	33.89±0.87 ^{ef}	101.56±1.52 ^a	7.38±0.90 ^d
ANOVA _p	0.0000	0.0392	0.0003
1 día			
T1 Citrato	32.38±0.95 ^b	102.50±0.95 ^{cd}	6.16±0.84 ^{cde}
T2 Ascorbato	32.14±0.21 ^b	106.18±0.82 ^e	5.10±0.80 ^a
T3 EDTA	32.86±0.61 ^{bc}	103.09±0.47 ^d	6.05±0.48 ^{bcd}
T4 4-HR	32.80±0.62 ^{bc}	99.52±0.36 ^{ab}	6.57±0.23 ^{def}
T5 Isotónico	31.78±0.78 ^b	100.53±1.47 ^{bc}	5.36±0.97 ^{abc}
T6 Citrato-Ca ⁺⁺	31.48±0.71 ^b	102.96±0.36 ^d	5.83±0.96 ^{abcd}
T7 Ascorbato-Ca ⁺⁺	32.31±0.18 ^b	103.47±0.83 ^d	6.33±0.67 ^{def}
T8 EDTA-Ca ⁺⁺	35.03±0.90 ^d	101.57±1.17 ^{bcd}	7.15±1.26 ^f
T9 4HR-Ca ⁺⁺	29.91±0.37 ^a	97.46±2.10 ^a	5.30±0.43 ^{ab}
T10 Isotónico-Ca ⁺⁺	34.00±0.78 ^{cd}	99.68±1.14 ^{ab}	6.77±0.70 ^{ef}
ANOVA _p	0.0000	0.0000	0.0000
3 días			
T1 Citrato	31.82±0.78 ^{bc}	101.44±0.94 ^{def}	5.80±0.40 ^{ab}
T2 Ascorbato	32.19±0.24 ^{bcd}	106.75±0.37 ^g	5.01±0.84 ^a
T3 EDTA	32.61±0.51 ^{cd}	101.97±1.11 ^{ef}	5.70±0.39 ^{ab}
T4 4-HR	32.09±0.77 ^{bcd}	94.12±0.95 ^b	6.83±0.78 ^c
T5 Isotónico	31.11±0.63 ^b	99.32±1.76 ^{cd}	5.50±1.11 ^{ab}
T6 Citrato-Ca ⁺⁺	31.30±0.11 ^{bc}	100.94±0.40 ^{cdef}	5.80±0.80 ^{ab}
T7 Ascorbato-Ca ⁺⁺	32.42±0.12 ^{bcd}	102.73±0.40 ^f	6.27±0.83 ^{bc}
T8 EDTA-Ca ⁺⁺	34.28±0.80 ^e	100.23±0.55 ^{cde}	6.82±0.25 ^c
T9 4HR-Ca ⁺⁺	29.74±0.48 ^a	91.74±1.66 ^a	5.23±0.63 ^a
T10 Isotónico-Ca ⁺⁺	33.35±0.30 ^{de}	98.68±1.33 ^c	7.06±0.59 ^c
ANOVA _p	0.0000	0.0000	0.0000

Anexos III.2 Antipardeantes por IV

Tipo de Muestra	L*	h _{ab} *	C _{ab} *
6 días			
T1 Citrato	31.66±0.77 ^{bc}	98.50±0.82 ^b	5.96±0.60 ^{ab}
T2 Ascorbato	31.79±0.49 ^{bc}	104.79±2.12 ^d	5.35±0.66 ^a
T3 EDTA	31.45±0.83 ^{bc}	98.70±0.42 ^b	6.05±0.43 ^{ab}
T4 4-HR	31.14±0.68 ^b	88.84±1.32 ^a	7.06±0.81 ^{cd}
T5 Isotónico	31.16±0.91 ^b	98.64±1.77 ^b	5.65±0.54 ^{ab}
T6 Citrato-Ca ⁺⁺	31.74±0.92 ^{bc}	97.89±0.66 ^b	6.14±0.48 ^{ab}
T7 Ascorbato-Ca ⁺⁺	32.77±0.53 ^{cd}	101.89±0.84 ^c	6.44±0.77 ^{bc}
T8 EDTA-Ca ⁺⁺	33.71±0.53 ^d	98.85±1.02 ^b	6.98±1.06 ^{cd}
T9 4HR-Ca ⁺⁺	29.24±0.72 ^a	87.41±1.79 ^a	6.02±0.66 ^{ab}
T10 Isotónico-Ca ⁺⁺	33.45±0.63 ^d	97.75±0.94 ^b	7.39±0.85 ^d
ANOVA _p	0.0000	0.0000	0.0000
8 días			
T1 Citrato	32.12±0.32 ^{bc}	97.65±1.45 ^b	5.94±0.61 ^{abc}
T2 Ascorbato	32.00±0.02 ^{bc}	103.72±0.91 ^d	5.21±0.79 ^a
T3 EDTA	31.54±0.32 ^b	97.16±1.02 ^b	5.91±0.56 ^{abc}
T4 4-HR	31.55±0.46 ^b	86.62±1.22 ^a	6.61±0.62 ^{cd}
T5 Isotónico	31.49±0.25 ^b	97.00±1.07 ^b	5.56±0.20 ^{ab}
T6 Citrato-Ca ⁺⁺	32.12±0.94 ^{bc}	98.01±0.96 ^b	5.79±0.26 ^{abc}
T7 Ascorbato-Ca ⁺⁺	33.24±0.55 ^{cd}	100.99±0.67 ^c	6.35±0.79 ^{bcd}
T8 EDTA-Ca ⁺⁺	34.08±0.86 ^{de}	98.46±1.18 ^{bc}	6.85±1.20 ^d
T9 4HR-Ca ⁺⁺	30.15±0.80 ^a	85.94±2.13 ^a	5.69±0.91 ^{ab}
T10 Isotónico-Ca ⁺⁺	34.56±0.53 ^e	97.60±1.12 ^b	6.99±0.82 ^d
ANOVA _p	0.0000	0.0000	0.0000
10 días			
T1 Citrato	31.84±0.38 ^{bc}	97.01±1.07 ^b	5.71±0.67 ^{abc}
T2 Ascorbato	31.83±0.42 ^{bc}	103.09±1.77 ^d	5.03±0.69 ^a
T3 EDTA	31.52±0.11 ^b	96.65±0.39 ^b	6.01±0.65 ^{bc}
T4 4-HR	31.81±0.12 ^{bc}	86.06±1.78 ^a	6.94±0.91 ^{def}
T5 Isotónico	31.43±0.11 ^b	97.99±1.49 ^{bc}	5.34±0.55 ^{ab}
T6 Citrato-Ca ⁺⁺	32.70±0.76 ^{bc}	96.91±0.94 ^b	6.05±0.70 ^{bcd}
T7 Ascorbato-Ca ⁺⁺	33.05±0.38 ^{cd}	99.95±0.83 ^c	6.42±0.60 ^{cde}
T8 EDTA-Ca ⁺⁺	34.18±0.69 ^{de}	98.01±1.06 ^{bc}	7.02±0.33 ^{ef}
T9 4HR-Ca ⁺⁺	29.67±0.69 ^a	84.64±1.94 ^a	6.25±0.87 ^{bcde}
T10 Isotónico-Ca ⁺⁺	34.95±0.46 ^e	97.51±1.12 ^b	7.49±0.71 ^f
ANOVA _p	0.0000	0.0000	0.0000

Tipo de Muestra	L*	h _{ab} *	C _{ab} *
15 días			
T1 Citrato	31.90±0.32 ^{bc}	96.61±1.05 ^{bc}	5.82±0.91 ^{abc}
T2 Ascorbato	31.13±0.82 ^b	103.13±2.28 ^e	4.87±0.45 ^a
T3 EDTA	30.65±0.23 ^b	94.74±0.59 ^b	5.91±0.62 ^{bc}
T4 4-HR	30.85±0.41 ^b	84.25±2.25 ^a	7.57±0.52 ^{ef}
T5 Isotónico	31.03±0.40 ^b	97.09±0.52 ^{cd}	5.52±0.62 ^{ab}
T6 Citrato-Ca ⁺⁺	33.15±0.94 ^{cd}	97.17±0.96 ^{cd}	6.17±0.34 ^{bcd}
T7 Ascorbato-Ca ⁺⁺	33.47±0.42 ^{de}	99.02±0.02 ^d	6.69±0.82 ^{cde}
T8 EDTA-Ca ⁺⁺	34.31±0.93 ^{de}	97.17±1.77 ^{cd}	7.26±0.47 ^{ef}
T9 4HR-Ca ⁺⁺	28.79±0.63 ^a	83.72±1.78 ^a	7.00±0.94 ^{def}
T10 Isotónico-Ca ⁺⁺	34.65±0.65 ^e	96.33±0.99 ^{bc}	7.78±0.54 ^f
ANOVA _p	0.0000	0.0000	0.0000
17 días			
T1 Citrato	31.83±0.58 ^{cd}	96.32±1.69 ^c	5.72±0.49 ^{ab}
T2 Ascorbato	30.80±0.71 ^{bc}	102.44±1.11 ^e	5.02±0.45 ^a
T3 EDTA	29.92±0.59 ^{ab}	93.60±1.18 ^b	6.08±0.42 ^{bc}
T4 4-HR	30.44±0.69 ^{ab}	83.21±1.43 ^a	7.83±0.92 ^e
T5 Isotónico	31.03±0.22 ^{bc}	96.98±0.95 ^{cd}	5.49±0.28 ^{ab}
T6 Citrato-Ca ⁺⁺	32.59±1.17 ^{de}	97.27±0.71 ^{cd}	6.17±0.49 ^{bcd}
T7 Ascorbato-Ca ⁺⁺	33.32±0.24 ^{ef}	98.86±0.23 ^d	6.87±0.79 ^{cde}
T8 EDTA-Ca ⁺⁺	34.03±0.77 ^{fg}	96.95±2.00 ^{cd}	7.37±0.57 ^e
T9 4HR-Ca ⁺⁺	29.26±0.35 ^a	84.40±2.09 ^a	7.08±1.25 ^{de}
T10 Isotónico-Ca ⁺⁺	35.18±0.35 ^g	95.70±1.44 ^{bc}	7.83±0.22 ^e
ANOVA _p	0.0000	0.0000	0.0000

x la media de cuatro determinaciones ± derivación estándar
y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Tabla AIII.3 ANOVA de los parámetros de color para cada tratamiento^{XY}

Día	L*	h _{ab} *	C _{ab} *
T1			
0	32.25±0.42	102.02±1.81 ^c	6.99±0.86
1	32.38±0.95	102.50±0.95 ^c	6.16±0.84
3	31.82±0.78	101.44±0.94 ^c	5.80±0.40
6	31.66±0.77	98.50±0.82 ^b	5.96±0.60
8	32.12±0.32	97.65±1.45 ^{ab}	5.94±0.61
10	31.84±0.38	97.01±1.07 ^{ab}	5.71±0.67
15	31.90±0.32	96.61±1.05 ^a	5.82±0.91
17	31.83±0.58	96.32±1.69 ^a	5.72±0.49
<i>ANOVA_p</i>	<i>0.9251</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0741</i>
T2			
0	31.96±0.65 ^c	105.89±1.16 ^{cd}	5.38±0.84
1	32.14±0.21 ^c	106.18±0.82 ^{cd}	5.10±0.80
3	32.19±0.24 ^c	106.75±0.37 ^d	5.01±0.84
6	31.79±0.49 ^{bc}	104.79±2.12 ^{bc}	5.35±0.66
8	32.00±0.02 ^c	103.72±0.91 ^{ab}	5.21±0.79
10	31.83±0.42 ^c	103.09±1.77 ^{ab}	5.03±0.69
15	31.13±0.82 ^{ab}	103.13±2.28 ^{ab}	4.87±0.45
17	30.80±0.71 ^a	102.44±1.11 ^a	5.02±0.45
<i>ANOVA_p</i>	<i>0.0005</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.5039</i>
T3			
0	33.12±0.59	104.16±0.69 ^e	6.47±1.13 ^a
1	32.86±0.61	103.09±0.47 ^{de}	6.05±0.48 ^a
3	32.61±0.51	101.97±1.11 ^d	5.70±0.39 ^a
6	31.45±0.83	98.70±0.42 ^c	6.05±0.43 ^a
8	31.54±0.32	97.16±1.02 ^{bc}	5.91±0.56 ^a
10	31.52±0.11	96.65±0.39 ^b	6.01±0.65 ^a
15	30.65±0.23	94.74±0.59 ^a	5.91±0.62 ^a
17	29.92±0.59	93.60±1.18 ^a	6.08±0.42 ^a
<i>ANOVA_p</i>	<i>0.1989</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.9766</i>

x la media de cuatro determinaciones ± derivación estándar
y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

T4			
0	33.71±0.99 ^d	103.75±0.54 ^f	6.59±0.48 ^a
1	32.80±0.62 ^{cd}	99.52±0.36 ^e	6.57±0.23 ^a
3	32.09±0.77 ^{bc}	94.12±0.95 ^d	6.83±0.78 ^a
6	31.14±0.68 ^{ab}	88.84±1.32 ^c	7.06±0.81 ^{ab}
8	31.55±0.46 ^{abc}	86.62±1.22 ^b	6.61±0.62 ^a
10	31.81±0.12 ^{abc}	86.06±1.78 ^b	6.94±0.91 ^{ab}
15	30.85±0.41 ^{ab}	84.25±2.25 ^a	7.57±0.52 ^{bc}
17	30.44±0.69 ^a	83.21±1.43 ^a	7.83±0.92 ^c
ANOVA _p	0.0008	0.0000	0.0005
T5			
0	31.39±0.57	103.21±1.40 ^c	6.24±0.12
1	31.78±0.78	100.53±1.47 ^{bc}	5.36±0.97
3	31.11±0.63	99.32±1.76 ^{ab}	5.50±1.11
6	31.16±0.91	98.64±1.77 ^{ab}	5.65±0.54
8	31.49±0.25	97.00±1.07 ^a	5.56±0.20
10	31.43±0.11	97.99±1.49 ^{ab}	5.34±0.55
15	31.03±0.40	97.09±0.52 ^a	5.52±0.62
17	31.03±0.22	96.98±0.95 ^a	5.49±0.28
ANOVA _p	0.5910	0.0012	0.4851
T6			
0	31.93±0.56	103.14±1.70 ^c	6.38±0.85
1	31.48±0.71	102.96±0.36 ^c	5.83±0.96
3	31.30±0.11	100.94±0.40 ^{bc}	5.80±0.80
6	31.74±0.92	97.89±0.66 ^{ab}	6.14±0.48
8	32.12±0.94	98.01±0.96 ^a	5.79±0.26
10	32.70±0.76	96.91±0.94 ^a	6.05±0.70
15	33.15±0.94	97.17±0.96 ^a	6.17±0.34
17	32.59±1.17	97.27±0.71 ^a	6.17±0.49
ANOVA _p	0.5728	0.0000	0.8561
T7			
0	32.05±0.44	102.68±0.75 ^{cd}	6.79±0.70
1	32.31±0.18	103.47±0.83 ^d	6.33±0.67
3	32.42±0.12	102.73±0.40 ^d	6.27±0.83
6	32.77±0.53	101.89±0.84 ^{bcd}	6.44±0.77
8	33.24±0.55	100.99±0.67 ^{abc}	6.35±0.79
10	33.05±0.38	99.95±0.83 ^{ab}	6.42±0.60

Anexos III.2 Antipardeantes por IV

15	33.47±0.42	99.02±0.02 ^a	6.69±0.82
17	33.32±0.24	98.86±0.23 ^a	6.87±0.79
<i>ANOVA_p</i>	<i>0.0696</i>	<i>0.0002</i>	<i>0.2640</i>
Día	L*	h_{ab}*	C_{ab}*
T8			
0	35.36±0.22	103.70±1.97 ^c	7.41±1.02
1	35.03±0.90	101.57±1.17 ^{bc}	7.15±1.26
3	34.28±0.80	100.23±0.55 ^{abc}	6.82±0.25
6	33.71±0.53	98.85±1.02 ^{ab}	6.98±1.06
8	34.08±0.86	98.46±1.18 ^{ab}	6.85±1.20
10	34.18±0.69	98.01±1.06 ^{ab}	7.02±0.33
15	34.31±0.93	97.17±1.77 ^a	7.26±0.47
17	34.03±0.77	96.95±2.00 ^a	7.37±0.57
<i>ANOVA_p</i>	<i>0.4778</i>	<i>0.0160</i>	<i>0.9900</i>
T9			
0	30.40±0.59 ^d	105.40±2.23 ^f	5.71±0.87 ^{ab}
1	29.91±0.37 ^{cd}	97.46±2.10 ^e	5.30±0.43 ^a
3	29.74±0.48 ^{bc}	91.74±1.66 ^d	5.23±0.63 ^a
6	29.24±0.72 ^{ab}	87.41±1.79 ^c	6.02±0.66 ^b
8	30.15±0.80 ^{cd}	85.94±2.13 ^{bc}	5.69±0.91 ^{ab}
10	29.67±0.69 ^{bc}	84.64±1.94 ^{ab}	6.25±0.87 ^b
15	28.79±0.63 ^a	83.72±1.78 ^a	7.00±0.94 ^c
17	29.26±0.35 ^{ab}	84.40±2.09 ^{ab}	7.08±1.25 ^c
<i>ANOVA_p</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>
T10			
0	33.89±0.87	101.56±1.52 ^e	7.38±0.90 ^{abc}
1	34.00±0.78	99.68±1.14 ^d	6.77±0.70 ^a
3	33.35±0.30	98.68±1.33 ^c	7.06±0.59 ^{ab}
6	33.45±0.63	97.75±0.94 ^{bc}	7.39±0.85 ^{abc}
8	34.56±0.53	97.60±1.12 ^b	6.99±0.82 ^a
10	34.95±0.46	97.51±1.12 ^b	7.49±0.71 ^{abc}
15	34.65±0.65	96.33±0.99 ^a	7.78±0.54 ^{bc}
17	35.18±0.35	95.70±1.44 ^a	7.83±0.22 ^c
<i>ANOVA_p</i>	<i>0.0646</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0500</i>

x la media de cuatro determinaciones ± derivación estándar
y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

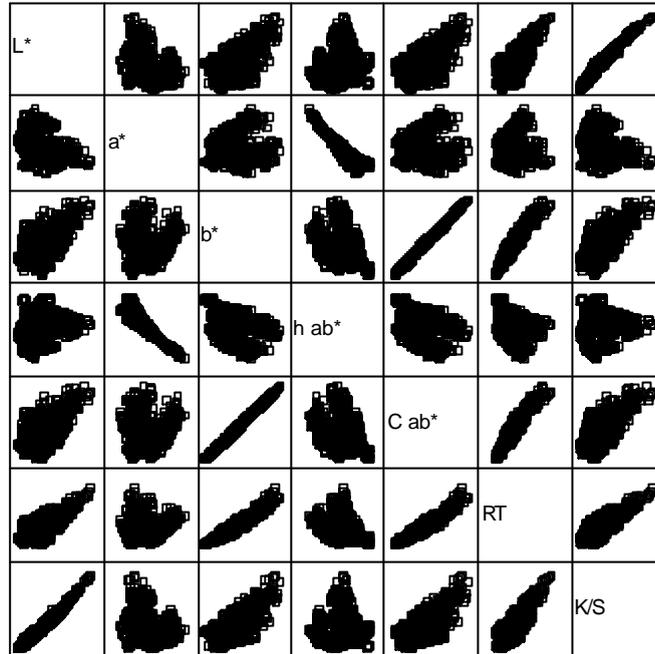


Figura AIII.2 Matriz de dispersión entre las propiedades ópticas a lo largo del almacenamiento (0-17d).

Tabla AIII.4 Coeficientes de correlación entre las propiedades ópticas para las muestras almacenadas de 0-17 días.

Correlaciones 0-17d T1-10

	L*	a*	b*	h ab*	C ab*	RT	KS
Correlación de Pearson	1.000	-.374**	.650**	.178**	.661**	.757**	.986**
L* Sig. (bilateral)	.	.000	.000	.000	.000	.000	.000
N	960	960	960	960	960	960	960
Correlación de Pearson	-.374**	1.000	.099**	-.944**	.059	.081*	-.242**
a* Sig. (bilateral)	.000	.	.002	.000	.067	.012	.000
N	960	960	960	960	960	960	960
Correlación de Pearson	.650**	.099**	1.000	-.356**	.999**	.964**	.739**
b* Sig. (bilateral)	.000	.002	.	.000	.000	.000	.000
N	960	960	960	960	960	960	960
Correlación de Pearson	.178**	-.944**	-.356**	1.000	-.315**	-.333**	.031
h ab* Sig. (bilateral)	.000	.000	.000	.	.000	.000	.334
N	960	960	960	960	960	960	960
Correlación de Pearson	.661**	.059	.999**	-.315**	1.000	.962**	.745**
C ab* Sig. (bilateral)	.000	.067	.000	.000	.	.000	.000
N	960	960	960	960	960	960	960
Correlación de Pearson	.757**	.081*	.964**	-.333**	.962**	1.000	.839**
RT Sig. (bilateral)	.000	.012	.000	.000	.000	.	.000
N	960	960	960	960	960	960	960
Correlación de Pearson	.986**	-.242**	.739**	.031	.745**	.839**	1.000
KS Sig. (bilateral)	.000	.000	.000	.334	.000	.000	.
N	960	960	960	960	960	960	960

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

Tabla AIII.5 Análisis multifactorial para los parámetros de color durante el almacenamiento (0-17 días)^x

Parámetro	Factores			Interacciones			
	Calcio (C)	Día (D)	Antipardeante (A)	C*D	C*A	D*A	C*D*A
L*	0.0000	0.0022	0.0000	0.0000	0.0000	0.0018	0.9998
h _{ab} *	0.0001	0.0000	0.0000	0.2873	0.0000	0.0000	0.7321
C _{ab} *	0.0000	0.0001	0.0000	0.0891	0.0000	0.0658	1.0000

^x diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

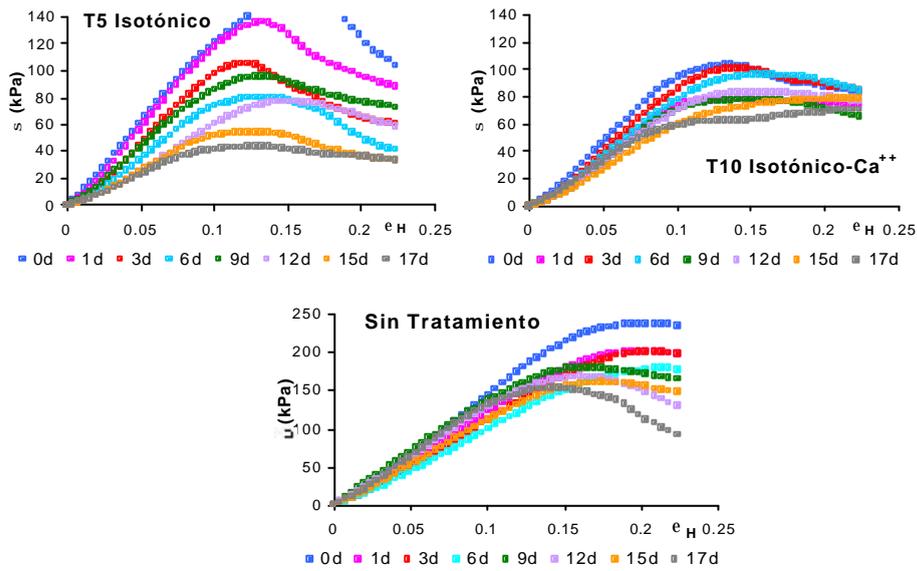


Figura AIII.3 Curvas tensión-deformación de Hencky a lo largo del almacenamiento.

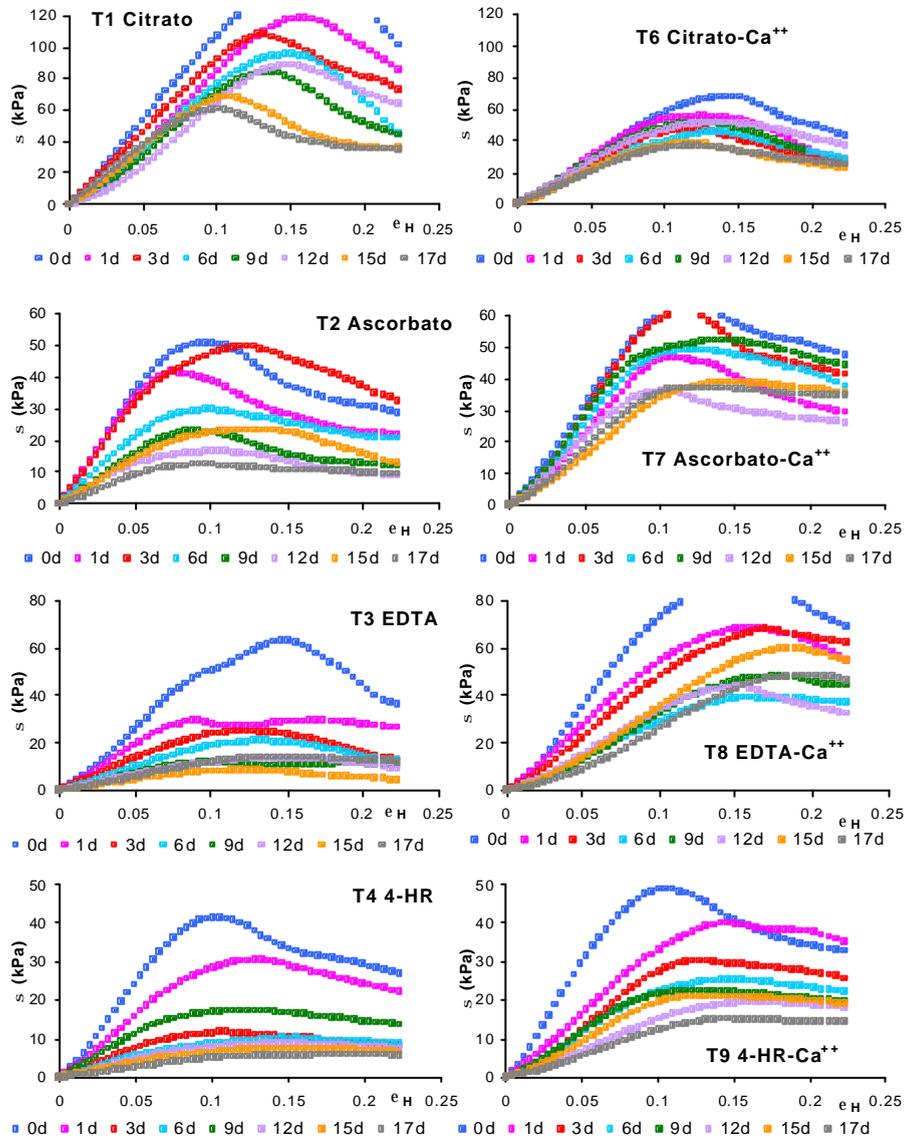


Tabla AIII.6 ANOVA de los parámetros mecánicos durante el almacenamiento^{XY}

Tipo de Muestra	S _F (kPa)	e _{HF}	Ed (kPa)
0 días			
T1 Citrato	149±19 ^c	0.166±0.022 ^e	1069±170 ^{cd}
T2 Ascorbato	53±19 ^a	0.091±0.017 ^a	721±93 ^{abc}
T3 EDTA	61±23 ^{ab}	0.115±0.032 ^{abc}	576±381 ^a
T4 4-HR	42±10 ^a	0.102±0.016 ^{ab}	510±87 ^a
T5 Isotónico	153±21 ^c	0.158±0.003 ^{de}	1271±322 ^d
T6 Citrato-Ca ⁺⁺	72±13 ^{ab}	0.125±0.028 ^{bcd}	600±165 ^a
T7 Ascorbato-Ca ⁺⁺	66±16 ^{ab}	0.125±0.018 ^{bcd}	674±212 ^{ab}
T8 EDTA-Ca ⁺⁺	94±29 ^{ab}	0.136±0.031 ^{cde}	794±404 ^{abc}
T9 4HR-Ca ⁺⁺	51±8 ^a	0.113±0.020 ^{abc}	621±210 ^a
T10 Isotónico-Ca ⁺⁺	111±25 ^{bc}	0.134±0.030 ^{bcd}	1016±283 ^{bcd}
ANOVA _p	0.0001	0.0019	0.0023
1 día			
T1 Citrato	119±10 ^a	0.158±0.005	924±182 ^{cd}
T2 Ascorbato	43±10 ^c	0.082±0.017	661±178 ^{abc}
T3 EDTA	40±31 ^c	0.101±0.025	452±217 ^a
T4 4-HR	32±16 ^c	0.111±0.013	346±88 ^a
T5 Isotónico	128±17 ^a	0.137±0.007	1166±197 ^d
T6 Citrato-Ca ⁺⁺	61±19 ^{bc}	0.124±0.029	638±210 ^{abc}
T7 Ascorbato-Ca ⁺⁺	49±11 ^c	0.120±0.030	516±180 ^{ab}
T8 EDTA-Ca ⁺⁺	70±22 ^{bc}	0.144±0.026	573±458 ^{ab}
T9 4HR-Ca ⁺⁺	44±11 ^c	0.149±0.022	358±119 ^a
T10 Isotónico-Ca ⁺⁺	97±30 ^{ab}	0.142±0.026	825±228 ^{bc}
ANOVA _p	0.0009	0.0975	0.0002
3 días			
T1 Citrato	121±18 ^e	0.148±0.044	948±106 ^{de}
T2 Ascorbato	55±13 ^{abc}	0.108±0.014	652±290 ^{cd}
T3 EDTA	27±22 ^{ab}	0.109±0.024	292±198 ^{ab}
T4 4-HR	12±12 ^a	0.107±0.031	160±125 ^a
T5 Isotónico	107±15 ^{cde}	0.119±0.012	1072±169 ^e
T6 Citrato-Ca ⁺⁺	49±15 ^{ab}	0.112±0.020	522±91 ^{bc}
T7 Ascorbato-Ca ⁺⁺	63±18 ^{bcd}	0.128±0.032	660±230 ^{cd}
T8 EDTA-Ca ⁺⁺	69±23 ^{bcd}	0.171±0.023	490±418 ^{abc}

T9 4HR-Ca ⁺⁺	30±7 ^{ab}	0.130±0.009	296±59 ^{ab}
T10 Isotónico-Ca ⁺⁺	112±25 ^{de}	0.153±0.035	930±368 ^{de}
ANOVA _p	0.0008	0.1403	0.0001

Tipo de Muestra	S _F (kPa)	e _{HF}	Ed (kPa)
6 días			
T1 Citrato	96±10 ^{bc}	0.150±0.009 ^b	824±104 ^{cd}
T2 Ascorbato	30±17 ^a	0.083±0.013 ^a	435±213 ^{ab}
T3 EDTA	21±20 ^a	0.139±0.028 ^b	214±178 ^{ab}
T4 4-HR	10±7 ^a	0.138±0.018 ^b	111±45 ^a
T5 Isotónico	84±18 ^{bcd}	0.126±0.023 ^b	814±168 ^{cd}
T6 Citrato-Ca ⁺⁺	48±18 ^{abc}	0.117±0.034 ^{ab}	485±192 ^{bc}
T7 Ascorbato-Ca ⁺⁺	54±18 ^{abcd}	0.134±0.026 ^b	556±141 ^{bcd}
T8 EDTA-Ca ⁺⁺	42±25 ^{ab}	0.196±0.039 ^c	306±308 ^{ab}
T9 4HR-Ca ⁺⁺	25±9 ^a	0.150±0.008 ^b	246±82 ^{ab}
T10 Isotónico-Ca ⁺⁺	104±28 ^c	0.146±0.034 ^b	834±542 ^d
ANOVA _p	0.0042	0.0008	0.0003

9 días			
T1 Citrato	84±15 ^{bc}	0.134±0.007 ^b	779±216 ^{cd}
T2 Ascorbato	23±11 ^{ab}	0.090±0.013 ^b	327±168 ^{ab}
T3 EDTA	13±13 ^{ab}	0.129±0.036 ^b	151±163 ^a
T4 4-HR	12±8 ^a	0.143±0.026 ^b	144±98 ^a
T5 Isotónico	103±28 ^c	0.132±0.014 ^b	963±177 ^d
T6 Citrato-Ca ⁺⁺	54±15 ^{abc}	0.110±0.024 ^b	580±182 ^{bc}
T7 Ascorbato-Ca ⁺⁺	58±15 ^{bcd}	0.121±0.042 ^b	634±150 ^{bc}
T9 4HR-Ca ⁺⁺	22±9 ^{ab}	0.145±0.029 ^b	210±105 ^{abc}
T10 Isotónico-Ca ⁺⁺	97±14 ^c	0.155±0.038 ^b	707±285 ^e
T4 4-HR	7±3 ^a	0.166±0.013 ^{bc}	54±36 ^a
T5 Isotónico	47±27 ^{abc}	0.111±0.037 ^b	522±151 ^{cd}
T6 Citrato-Ca ⁺⁺	39±15 ^{abc}	0.103±0.031 ^b	431±203 ^c
T7 Ascorbato-Ca ⁺⁺	40±7 ^{abc}	0.136±0.027 ^b	392±151 ^{bc}

Tabla AIII.7 ANOVA de los parámetros de color para cada tratamiento^{XY}

Día	S _F (kPa)	e _{HF}	Ed (kPa)
T1			
0	149±19 ^a	0.166±0.022 ^a	1069±170 ^a
1	119±10 ^{abc}	0.158±0.005 ^{ab}	924±182 ^{ab}
3	121±18 ^{ab}	0.148±0.044 ^{ab}	948±106 ^{ab}
6	96±10 ^{bcd}	0.150±0.009 ^{ab}	824±104 ^{bc}
9	84±15 ^{cd}	0.134±0.007 ^{bc}	779±216 ^{bc}
12	89±18 ^{bcd}	0.149±0.008 ^{ab}	664±223 ^c
15	69±7 ^d	0.108±0.004 ^{cd}	743±63 ^{bc}
17	61±4 ^d	0.100±0.007 ^d	741±50 ^{bc}
ANOVA _p	0.0006	0.0002	0.0191
T2			
0	53±19 ^a	0.091±0.017	721±93 ^a
1	43±10 ^{ab}	0.082±0.017	661±178 ^{ab}
3	55±13 ^a	0.108±0.014	652±290 ^{ab}
6	30±17 ^{abc}	0.083±0.013	435±213 ^{bc}
9	23±11 ^{bc}	0.090±0.013	327±168 ^c
12	17±11 ^{bc}	0.089±0.038	261±140 ^c
15	24±9 ^{bc}	0.120±0.024	273±172 ^c
17	12±8 ^c	0.091±0.010	178±100 ^c
ANOVA _p	0.0114	0.4099	0.0007
T3			
0	61±23 ^a	0.115±0.032	576±381 ^{ab}
1	40±31 ^{ab}	0.101±0.025	452±217 ^a
3	27±22 ^{ab}	0.109±0.024	292±198 ^{abc}
6	21±20 ^b	0.139±0.028	214±178 ^{bc}
9	13±13 ^b	0.129±0.036	151±163 ^c
12	14±18 ^b	0.137±0.024	133±151 ^c
15	8±10 ^b	0.119±0.019	97±98 ^c
17	14±15 ^b	0.128±0.016	129±130 ^c
ANOVA _p	0.0432	0.8324	0.0076
T4			
0	42±10 ^a	0.102±0.016	510±87 ^a
1	32±16 ^a	0.111±0.013	346±88 ^b

Anexos III.2 Antipardeantes por IV

3	12±12 ^b	0.107±0.031	160±125 ^c
6	10±7 ^b	0.138±0.018	111±45 ^c
9	12±8 ^b	0.143±0.026	144±98 ^c
12	9±4 ^b	0.128±0.014	97±32 ^c
15	7±4 ^b	0.148±0.013	81±47 ^c
17	7±3 ^b	0.166±0.013	54±36 ^c
<hr/>			
ANOVA _p	0.0000	0.2163	0.0000
<hr/>			
T5			
<hr/>			
0	153±21 ^a	0.158±0.003	1271±322 ^a
1	128±17 ^{ab}	0.137±0.007	1166±197 ^a
3	107±15 ^{abc}	0.119±0.012	1072±169 ^{ab}
6	84±18 ^{bcd}	0.126±0.023	814±168 ^{bc}
9	103±28 ^{bc}	0.132±0.014	963±177 ^{ab}
12	80±29 ^{cd}	0.142±0.024	533±417 ^c
15	60±19 ^{cd}	0.113±0.025	605±210 ^c
17	47±27 ^d	0.111±0.037	522±151 ^c
<hr/>			
ANOVA _p	0.0024	0.1839	0.0004
<hr/>			
T6			
<hr/>			
0	72±13	0.125±0.028	600±165
1	61±19	0.124±0.029	638±210
3	49±15	0.112±0.020	522±91
6	48±18	0.117±0.034	485±192
9	54±15	0.110±0.024	580±182
12	57±20	0.111±0.043	601±218
15	41±10	0.110±0.033	438±201
17	39±15	0.103±0.031	431±203
<hr/>			
ANOVA _p	0.5187	0.9719	0.6554
<hr/>			
T7			
<hr/>			
0	66±16 ^a	0.125±0.018	674±212
1	49±11 ^{abc}	0.120±0.030	516±180
3	63±18 ^a	0.128±0.032	660±230
6	54±18 ^{abc}	0.134±0.026	556±141
9	58±15 ^{ab}	0.121±0.042	634±150
12	37±13 ^c	0.108±0.011	443±177
15	40±7 ^{bc}	0.152±0.016	356±97
17	40±7 ^{bc}	0.136±0.027	392±151
<hr/>			
ANOVA _p	0.0312	0.4766	0.0887

Anexos III.2 Antipardeantes por IV

T8			
0	94±29	0.136±0.031	794±404
1	70±22	0.144±0.026	573±458
3	69±23	0.171±0.023	490±418
6	42±25	0.196±0.039	306±308
9	48±23	0.231±0.024	347±392
12	45±23	0.194±0.026	355±419
15	61±21	0.215±0.015	282±312
17	52±22	0.226±0.026	160±166
<i>ANOVA</i> _p	0.9346	0.0537	0.3647
T9			
0	51±8 ^a	0.113±0.020	621±210 ^a
1	44±11 ^a	0.149±0.022	358±119 ^b
3	30±7 ^b	0.130±0.009	296±59 ^{bc}
6	25±9 ^{bc}	0.150±0.008	246±82 ^{abc}
9	24±3 ^{bc}	0.127±0.032	256±73 ^{bc}
12	20±6 ^{bc}	0.178±0.031	161±63 ^{abc}
15	22±9 ^{bc}	0.145±0.029	210±105 ^{abc}
17	15±5 ^c	0.151±0.018	131±59 ^c
<i>ANOVA</i> _p	0.0000	0.0729	0.0000

x la media de cuatro determinaciones ± derivación estándar
y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Tabla AIII.8 Análisis multifactorial para los parámetros mecánicos durante el almacenamiento (0-17 días)^x

Parámetro	Factores			Interacciones			
	Calcio (C)	Día (D)	Antipardeante (A)	C*D	C*A	D*A	C*D*A
σ_F	0.2341	0.0000	0.0000	0.4012	0.0000	0.9999	0.9978
σ_L	0.5074	0.0000	0.0000	0.2982	0.0000	0.9997	0.9697
ϑ_{HF}	0.0000	0.5362	0.0000	0.5350	0.0000	0.0168	0.8652
ϑ_{HL}	0.0000	0.8059	0.0000	0.2488	0.0000	0.0831	0.9994
Ed	0.9991	0.0000	0.0000	0.2426	0.0000	0.9784	0.9691

x diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Tabla AIII.9A Análisis discriminante para los parámetros mecánicos. incluidos todos los tratamientos (T1-10) al final del almacenamiento y el tratamiento *referencia* (T5) al tiempo cero de almacenamiento

Función	Auto valor	% relativo	Correlación canónica	Lambda de Wilks	Chi-cuadrado	DF	Sig
1	18.19	78.33	0.97360	0.0052	131.28	30	0.0000
2	4.07	17.54	0.89602	0.1005	57.42	18	0.0000
3	0.96	4.13	0.69987	0.5101	16.82	8	0.0320

Tabla AIII.9B Coeficientes estandarizados del análisis discriminante para los parámetros mecánicos. incluidos todos los tratamientos (T1-10) al final del almacenamiento y el tratamiento *referencia* (T5) al tiempo cero de almacenamiento

Parámetro	Coeficientes		
	1	2	3
? _F	1.2881	-0.1541	-1.4701
? _{HF}	-0.5208	1.0468	0.3607
Ed	-0.3214	0.3973	1.8387

Tabla AIII.10 Capacidad de retención de fase líquida al final del almacenamiento (17d). influencia del tipo de muestra^{xy}

Tipo de Muestra	CRA (%)
T1 Citrato	84.0±0.0 ^{bc}
T2 Ascorbato	81.5±2.1 ^{ab}
T3 EDTA	78.0±1.4 ^a
T4 4-HR	81.5±0.7 ^{ab}
T5 Isotónico	84.0±1.4 ^{bc}
T6 Citrato-Ca ⁺⁺	90.0±1.4 ^d
T7 Ascorbato-Ca ⁺⁺	89.5±2.1 ^d
T8 EDTA-Ca ⁺⁺	87.5±2.1 ^{cd}
T9 4HR-Ca ⁺⁺	83.5±2.1 ^b
T10 Isotónico-Ca ⁺⁺	90.5±0.7 ^d
Anovap	0.0001

x la media de dos determinaciones ± derivación estándar
y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Tabla AIII.11 Coeficientes de correlación entre las propiedades mecánicas y la CRA para las muestras almacenadas 17 días.

Correlación CRA-Propiedades Mecánicas

		CRA	Ed	Tensión de Fractura
CRA	Correlación de Pearson	1.000	.697*	.714*
	Sig. (bilateral)	.	.025	.020
	N	10	10	10
Ed	Correlación de Pearson	.697*	1.000	.741*
	Sig. (bilateral)	.025	.	.014
	N	10	10	10
Tensión de Fractura	Correlación de Pearson	.714*	.741*	1.000
	Sig. (bilateral)	.020	.014	.
	N	10	10	10

*. La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

Tabla AIII.12 Valores medios de la TRCO₂, TRO₂ y CR determinado a 10°C. impacto del procesamiento mínimo^{XY}

Tipo de Muestra	TRCO ₂	TRO ₂	CR
	mL/kg h		
Entera	10.9±1.4 ^a	10.5±0.6 ^a	1.0±0.1 ^a
Cortada	17.2±1.3 ^b	11.4±0.2 ^a	1.5±0.1 ^b
Impregnada	14.6±1.4 ^c	8.4±1.3 ^b	1.8±0.2 ^b
<i>Anovap</i>	<i>0.0025</i>	<i>0.0108</i>	<i>0.0033</i>

x la media de tres determinaciones ± derivación estándar
y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Tabla AIII.13 Valores medios de la TRCO₂, TRO₂ y CR determinado a 10°C. influencia del tipo de compuesto antipardeante^{XY}

Tipo de Muestra		TRCO ₂	TRO ₂	CR
		mL/kg h		
T5	Isotónico	14.64±1.38 ^c	8.44±1.34	1.76±0.22 ^b
T10	Isotónico-Ca ⁺⁺	17.29±0.44 ^d	8.76±0.88	1.98±0.15 ^b
T1	Citrato	12.05±0.31 ^{ab}	6.59±0.12	1.83±0.01 ^b
T6	Citrato-Ca ⁺⁺	12.78±0.12 ^b	6.59±0.08	1.94±0.00 ^b
T2	Ascorbato	10.77±0.01 ^a	9.17±0.43	1.18±0.06 ^a
T7	Ascorbato-Ca ⁺⁺	10.28±0.04 ^a	8.59±0.39	1.29±0.02 ^a
<i>Anovap</i>		<i>0.0003</i>	<i>0.0694</i>	<i>0.0020</i>

x la media de tres determinaciones ± derivación estándar
y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Tabla AIII.14 Valores en equilibrio del análisis de espacio de cabeza durante el almacenamiento^{xy}

Tipo de Muestra	O ₂ (%)	CO ₂ (%)
T1 Citrato	20.471±0.055 ^b	1.275±0.103 ^c
T2 Ascorbato	20.494±0.033 ^b	0.979±0.143 ^b
T5 Isotónico	20.329±0.041 ^a	1.015±0.091 ^b
T6 Citrato-Ca ⁺⁺	20.646±0.008 ^c	1.014±0.020 ^b
T7 Ascorbato-Ca ⁺⁺	20.726±0.064 ^d	0.451±0.120 ^a
T10 Isotónico-Ca ⁺⁺	20.866±0.055 ^e	0.490±0.097 ^a
Sin Tratamiento	20.572±0.069 ^c	0.964±0.102 ^b
<i>Anovap</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0001</i>

x la media de tres determinaciones ± derivación estándar
y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Tabla AIII.15 Análisis multifactorial para durante el almacenamiento para los gases y volátiles (0-25 días)^x

Parámetro	Factores			Interacciones			
	Calcio (C)	Día (D)	Antipardeante (A)	C*D	C*A	D*A	C*D*A
O ₂	0.0000	0.0000	0.0060	0.0000	0.0000	0.0002	0.0000
CO ₂	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.1870
Acetaldehído	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
Etanol	0.0000	0.0000	0.0148	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000

x diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Tabla AIII.16 Coeficientes de correlación entre los volátiles (acetaldehído y etanol) y las concentraciones de O₂ y CO₂ para los diferentes tipos de muestras a lo largo del almacenamiento.

Correlaciones: Citrato

		Acetaldehído	Etanol	Oxígeno	Dioxido de Carbono
Acetaldehído	Correlación de Pearson	1.000	.971**	-.956**	.886**
	Sig. (bilateral)	.	.000	.000	.000
	N	12	12	12	12
Etanol	Correlación de Pearson	.971**	1.000	-.907**	.797**
	Sig. (bilateral)	.000	.	.000	.002
	N	12	12	12	12
Oxígeno	Correlación de Pearson	-.956**	-.907**	1.000	-.938**
	Sig. (bilateral)	.000	.000	.	.000
	N	12	12	12	12
Dioxido de Carbono	Correlación de Pearson	.886**	.797**	-.938**	1.000
	Sig. (bilateral)	.000	.002	.000	.
	N	12	12	12	12

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Correlaciones Citrato-Calcio

		Acetaldehído	Etanol	Oxígeno	Dioxido de Carbono
Acetaldehído	Correlación de Pearson	1.000	.662*	-.792**	.846**
	Sig. (bilateral)	.	.019	.002	.001
	N	12	12	12	12
Etanol	Correlación de Pearson	.662*	1.000	-.934**	.938**
	Sig. (bilateral)	.019	.	.000	.000
	N	12	12	12	12
Oxígeno	Correlación de Pearson	-.792**	-.934**	1.000	-.944**
	Sig. (bilateral)	.002	.000	.	.000
	N	12	12	12	12
Dioxido de Carbono	Correlación de Pearson	.846**	.938**	-.944**	1.000
	Sig. (bilateral)	.001	.000	.000	.
	N	12	12	12	12

*. La correlación es significante al nivel 0,05 (bilateral).

**.. La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Correlaciones Ascorbato

		Acetaldehído	Etanol	Oxígeno	Dioxido de Carbono
Acetaldehído	Correlación de Pearson	1.000	.768**	-.867**	.941**
	Sig. (bilateral)	.	.004	.000	.000
	N	12	12	12	12
Etanol	Correlación de Pearson	.768**	1.000	-.873**	.860**
	Sig. (bilateral)	.004	.	.000	.000
	N	12	12	12	12
Oxígeno	Correlación de Pearson	-.867**	-.873**	1.000	-.845**
	Sig. (bilateral)	.000	.000	.	.001
	N	12	12	12	12
Dioxido de Carbono	Correlación de Pearson	.941**	.860**	-.845**	1.000
	Sig. (bilateral)	.000	.000	.001	.
	N	12	12	12	12

**.. La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Correlaciones Ascorbato-Calcio

		Acetaldehído	Etanol	Oxígeno	Dioxido de Carbono
Acetaldehído	Correlación de Pearson	1.000	.677*	-.893**	.806**
	Sig. (bilateral)	.	.016	.000	.002
	N	12	12	12	12
Etanol	Correlación de Pearson	.677*	1.000	-.825**	.772**
	Sig. (bilateral)	.016	.	.001	.003
	N	12	12	12	12
Oxígeno	Correlación de Pearson	-.893**	-.825**	1.000	-.753**
	Sig. (bilateral)	.000	.001	.	.005
	N	12	12	12	12
Dioxido de Carbono	Correlación de Pearson	.806**	.772**	-.753**	1.000
	Sig. (bilateral)	.002	.003	.005	.
	N	12	12	12	12

*. La correlación es significante al nivel 0,05 (bilateral).

**.. La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Anexos III.2 Antipardeantes por IV

Correlaciones Isotónico

		Acetaldehído	Etanol	Oxígeno	Dióxido de Carbono
Acetaldehído	Correlación de Pearson	1.000	.870**	-.932**	.932**
	Sig. (bilateral)	.	.000	.000	.000
	N	12	12	12	12
Etanol	Correlación de Pearson	.870**	1.000	-.934**	.778**
	Sig. (bilateral)	.000	.	.000	.003
	N	12	12	12	12
Oxígeno	Correlación de Pearson	-.932**	-.934**	1.000	-.819**
	Sig. (bilateral)	.000	.000	.	.001
	N	12	12	12	12
Dióxido de Carbono	Correlación de Pearson	.932**	.778**	-.819**	1.000
	Sig. (bilateral)	.000	.003	.001	.
	N	12	12	12	12

** . La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Correlaciones Isotónico-Calcio

		Acetaldehído	Etanol	Oxígeno	Dióxido de Carbono
Acetaldehído	Correlación de Pearson	1.000	.996**	-.820**	.924**
	Sig. (bilateral)	.	.000	.001	.000
	N	12	12	12	12
Etanol	Correlación de Pearson	.996**	1.000	-.828**	.919**
	Sig. (bilateral)	.000	.	.001	.000
	N	12	12	12	12
Oxígeno	Correlación de Pearson	-.820**	-.828**	1.000	-.849**
	Sig. (bilateral)	.001	.001	.	.000
	N	12	12	12	12
Dióxido de Carbono	Correlación de Pearson	.924**	.919**	-.849**	1.000
	Sig. (bilateral)	.000	.000	.000	.
	N	12	12	12	12

** . La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Correlaciones Sin Tratamiento

		Acetaldehído	Etanol	Oxígeno	Dioxido de Carbono
Acetaldehído	Correlación de Pearson	1.000	.705*	-.644*	.922**
	Sig. (bilateral)	.	.010	.024	.000
	N	12	12	12	12
Etanol	Correlación de Pearson	.705*	1.000	-.821**	.832**
	Sig. (bilateral)	.010	.	.001	.001
	N	12	12	12	12
Oxígeno	Correlación de Pearson	-.644*	-.821**	1.000	-.829**
	Sig. (bilateral)	.024	.001	.	.001
	N	12	12	12	12
Dioxido de Carbono	Correlación de Pearson	.922**	.832**	-.829**	1.000
	Sig. (bilateral)	.000	.001	.001	.
	N	12	12	12	12

*. La correlación es significante al nivel 0,05 (bilateral).

** . La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Tabla AIII.17 Valores medios de crecimiento de microorganismos a lo largo del almacenamiento (0 a 25 días) a 4°C ^{XY}

Tipo de Muestra	Mesófilos aeróbicos	Psicrótrofos
	Log ₁₀ (Ufc/g)	
T2 Ascorbato	1.7±1.1 ^{ab}	1.4±0.9 ^a
T7 Ascorbato-Ca ⁺⁺	1.0±0.0 ^a	1.1±0.2 ^a
T1 Citrato	1.6±1.5 ^{ab}	2.1±2.0 ^{ab}
T6 Citrato-Ca ⁺⁺	1.0±1.0 ^a	1.0±1.0 ^a
T5 Isotónico	3.3±1.6 ^c	3.0±2.3 ^b
T10 Isotónico-Ca ⁺⁺	2.3±1.1 ^{bc}	1.5±1.1 ^a
<i>Anovap</i>	0.0003	0.0043

x la media de dos determinaciones ± derivación estándar
y letras diferentes expresan una diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Tabla AIII.18 Coeficientes de correlación entre los volátiles (acetaldehído y etanol) y los microorganismos aerobios (mesófilos y psicrótrofos) para los diferentes tipos de muestras a lo largo del almacenamiento.

Correlaciones

		Etanol	Acetaldehído	Mesófilos	Psicrótrofos
Etanol	Correlación de Pearson	1.000	.640**	.523**	.561**
	Sig. (bilateral)	.	.000	.001	.000
	N	36	36	36	36
Acetaldehído	Correlación de Pearson	.640**	1.000	.672**	.598**
	Sig. (bilateral)	.000	.	.000	.000
	N	36	36	36	36
Mesófilos	Correlación de Pearson	.523**	.672**	1.000	.805**
	Sig. (bilateral)	.001	.000	.	.000
	N	36	36	36	36
Psicrótrofos	Correlación de Pearson	.561**	.598**	.805**	1.000
	Sig. (bilateral)	.000	.000	.000	.
	N	36	36	36	36

** . La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Tabla AIII.19 Prueba de comparación pareada simple

Atributo	Número de Respuestas ^y			Significación ^x
	Menor	No Identifican	Mayor	
Aroma	30	2	0	Sí
Firmeza	23	7	2	Sí
Jugosidad	3	7	22	Sí
Sabor	9	19	4	No
Acidez	8	20	4	No
Dulzor	7	6	19	No
Preferencia	11	12	9	No

y 32 consumidores (catadores no entrenados)

x diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Tabla AIII.20 Prueba de comparación múltiple^x

Atributo	Factores			Interacciones		
	Muestra (M)	Consumidor (C)	Sesión (S)	M*C	M*S	C*S
Aroma	0.0149	0.8285	0.0171	0.4588	0.6557	0.0806
Acidez	0.0275	0.7227	0.5618	0.0407	0.0459	0.1121
Dulzor	0.0094	0.8400	0.0035	0.7049	0.1886	0.6363
Firmeza	0.1555	0.5171	0.1538	0.1413	0.9911	0.2340
Jugosidad	0.1844	0.8277	0.6764	0.5749	0.7019	0.3098
Pardeamiento	0.0000	0.7753	0.0007	0.1472	0.3289	0.3114
Translucidez	0.0000	0.7907	0.9282	0.4628	0.9645	0.1696
Sabor	0.0012	0.8713	0.3674	0.2075	0.7133	0.3491
Preferencia	0.0002	0.3947	0.1336	0.1384	0.1453	0.0997

x diferencia significativa entre las muestras al nivel de 0.05

Bibliografía

Introducción

Antecedentes Bibliográficos

Justificación e Interés del Trabajo

A

- Acosta, E. (1996) Deshidratación osmótica de papaya. Desarrollo de un producto mínimamente procesado. *Tesis Doctoral*, Universidad Politécnica de Valencia. España.
- Agar, I. T.; Massantini, R.; Hess-Pierce, B.; Kader, A. A. (1999) Postharvest CO₂ and ethylene production and quality maintenance of fresh-cut kiwifruit slices. *Journal of Food Science*, 64(3): 433-440.
- Aguayo, E. y Artés, F. (2001) Procesado en fresco del melón amarillo y evolución de su calidad sensorial. *Alimentaria*, Diciembre: 87-91.
- Aguilera, J. M.; Oppermann, K.; Sanchez, F. (1987) Kinetics of browning of sultana grapes. *Journal of Food Science*, 52(4): 990-993.
- Ahvenainen, R. (1996) New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruit and vegetables. *Trends in Food Science and Technology*, 7: 179-187.
- Ahvenainen, R. (2000) Ready to use fruit and vegetables. Flair Flow Europe Technical Manual, F FE 376A/00: 31.
- Ajlouni, S. O.; Beelman, R. B.; Thompson, D. B.; Jeng-Luen, Mau. (1992) Stipe trimming at harvest increases shelf life of fresh mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Journal of Food Science*, 57(6): 1361-1363.
- Albors, A. (2002) Estudio de perfiles composicionales y estructurales en tejido de manzana deshidratada. *Tesis Doctoral*, Universidad Politécnica de Valencia. España.
- Alzamora, S. M.; Tapia, M. S.; Argai, A.; Welti, J. (1993) Application of combined methods technology in minimally processed fruits. *Food Research International*, 26(2): 125-130.
- Amiot, M. J.; Tacchini, M.; Aubert, S.; Nicolas, J. (1992) Phenolic composition and browning susceptibility of various apple cultivars at maturity. *Journal of Food Science*, 57(4): 958-962.
- Amiot, M.J.; Tacchini, M.; Aubert, S.Y.; Oleszek, W. (1995) Influence of cultivar, maturity stage, and storage conditions on phenolic composition and enzymatic browning of pear fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43: 1132-1137.
- Anónimo (1996) Sulfiting agents; revocation of GRAS status for use on fruits and vegetables intended to be served or sold raw to consumers. *Federal Register*, 51 (237): 46968.
- Anónimo (2000) Supplying quality cantaloupe for fresh-cut processing. *Fresh-Cut*, January: 6-12.
- Arteca, R. N. (1982) Infiltration and movement of calcium into potatoes. *HortScience*, 17: 757.
- Artés, F. (1999) Proyecto de industria de productos vegetales procesados en fresco. *Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos*. (ETSIA), Universidad Politécnica de Valencia.
- Artés, F. (2000) Productos vegetales procesados en fresco. En *Aplicación del frío a los alimentos*, Editor: Lamúa, M. Editorial: Mundi Prensa. Cap. 5: 127-14.
- Artés, F. y Artés, F. (2000) Fundamentos y diseño de instalaciones para procesado en fresco de hortalizas. *Alimentación, equipos y tecnología*, Abril:135-141.
- Artés, F.; Castañer, M.; Gil, M. I. (1998) Enzymatic browning in minimally processed fruit and vegetables. *Food Science and Technology International*, 4(6): 377-389.
- Artés, F.; Martínez, J. A.; Marín, J. G. (1999) Quality changes in minimally processed Romaine lettuce as affected by several treatments. En *Agriculture Food Quality II. Quality Management of Fruits and Vegetables*. En The Royal Society of Chemistry. Ed: M. Hägg, R. Ahvenainen, A. M. Evers and K. Tiikkala, London U. K. 115-118.
- Ashie, I. N. A.; Simpson, B. K.; Smith J. P. (1996) Mechanisms for controlling enzymatic reactions in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 36(1 y 2): 1-30.
- Avena-Bustillos, R. J.; Cisneros-Zevallos, L. A.; Krochta, J. M.; Saltveit, M. E. (1994) Application of casein-lipid edible film emulsions to reduce white blush on minimally processed carrots. *Postharvest Biology and Technology*, 4 (4): 319-329.

B

- Bachem, C. W. B.; Speckmann, G. J.; Linde, P. C. G.; Verheggen, F. T. M.; Hunt, M. D.; Steffens, J. C.; Zabeau, M. (1994) Antisense expression of polyphenol oxidase genes inhibits enzymatic browning in potato tubers. *Biotechnology*, 12: 1101-1105.
- Baldwin, E. A.; Nisperos-Carriedo, M. O.; Baker, R. A. (1995a) Edible coatings for lightly processed fruits and vegetables. *HortScience*, 30: 35-38.

- Baldwin, E. A.; Nisperos-Carriedo, M. O.; Baker, R. A. (1995b) Use of edible coatings to preserve quality of lightly processed products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35(6): 509-524.
- Baldwin, E. A.; Nisperos-Carriedo, M. O.; Chen, X.; Hagenmaier, R. D. (1996) Improving storage-life of cut apple and potato with edible coating. *Postharvest Biology and Technology*, 9: 151-163.
- Barat J. M., Chiralt A., Fito P. (2001) Effect of osmotic solution concentration, temperature and vacuum impregnation pretreatment on osmotic dehydration kinetics of apple slices. *Food Science and Technology International*, 7(5): 451-456.
- Beaulieu, J. C.; Bett, K. L.; Champagne, E. T.; Ingram, D. A.; Miller, J. A. (1999) Flavor, sensory and postharvest evaluations of commercial-versus tree-ripe fresh-cut Bounty peaches. *HortScience*, 34: 504.
- Bereiter, M. (2001) Effect of osmodehydrofreezing on quality attributes of kiwi fruit. *Trabajo fin de carrera*, Universidad Politécnica de Valencia.
- Berset, C. *Rôle antibactérien des polyphénols*. Compte rendu de la journée " Role des polyphenols en alimentation et santé humaine", Massy, France. Fecha de consulta: 14 de Diciembre 1999.
- Betoret, N.; Puente, L.; Díaz, M. J.; Pagán, M. J.; García, M. J.; Gras, M.L.; Martínez-Monzó, J.; Fito, P. (2003) Development of probiotic-enriched dried fruits by vacuum impregnation. *Journal of Food Engineering*, 56(2): 273-277.
- Bett, K. L. (2000) Sensory quality during fresh-cut processing and storage. *IFT'S Annual Meeting*, Institute of Food Technologists.
- Biswal, R. N.; Le-Maguer, M. (1989) Mass transfer in plant materials in contact with aqueous solutions of ethanol and sodium chloride: equilibrium data. *Journal of Food Processing and Engineering*, 11(3): 159-176.
- Blache, D. *Polyphénols et maladies cardio-vasculaires*. Compte rendu de la journée " Role des polyphenols en alimentation et santé humaine", Massy, France. Fecha de consulta: 14 de Diciembre 1999.
- Bolin, H. R.; Huxsoll, C. C. (1991) Control of minimally processed carrot (*Daucus carota*) surface discoloration caused by abrasion peeling. *Journal of Food Science*, 56(2): 416-418.
- Bolin, H. R.; Huxsoll, C. C. (1993a) Partial drying of cut pears to improved freeze/thaw texture. *Journal of Food Science*, 58(2): 357-360.
- Bolin, H. R.; Huxsoll, C. C.; Jackson, R.; Ng, K. C. (1983b) Effect of osmotic agents and concentration on fruit quality. *Journal of Food Science*, 48: 202-205.
- Bolin, H. R.; Stafford, A. E.; King, A. D.; Huxsoll, C. C. (1977) Factors affecting the storage stability of shredded lettuce. *Journal of Food Science*, 42(5): 1319-1321.
- Brackett, R. E. (1987) Microbiological consequences of minimally processed fruits and vegetables. *Journal of Food Quality*, 10: 195-206.
- Brackett, R. E. (1994) Microbiological spoilage and pathogens in minimally processed refrigerated fruits and vegetables. En R. C. Wiley (ed) *Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables*, Chapman and Hall, U. K.
- Brecht, J. K. (1995) Physiology of lightly processed fruits and vegetables. *HortScience*, 30(1): 18-22.
- Brecht, J. K. (1999) Postharvest quality and safety in fresh-cut vegetables and fruits. *Coop. Reg. Res. Proj. S-294*.
- Brennan, M.; Le Port, G.; Gormley, R. (2000) Post-harvest treatment with citric acid or hydrogen peroxide to extend the shelf life of fresh sliced mushrooms. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie / FST*. 33 (4): 283-289.
- Bruns, J. K. (1995) Lightly processed fruits and vegetables: Introduction to the colloquium. *HortScience*, 30(1): 14-17.
- Buta, J. G.; Abbott, J. A. (2000) Browning inhibition of fresh-cut *Anjou*, *Bartlett*, and *Bosc* pears. *HortScience*, 35(6): 1111-1113.
- Buta, J. G.; Moline, H. E.; Spaulding, D. W.; Wand, C.Y. (1999) Extending storage life of fresh-cut apples using natural products and their derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(1): 1-6.

C

- Calderon-Miranda, M. L.; Barbosa-Canovas, G. V.; Swanson, B. G. (1999) Transmission electron microscopy of *Listeria innocua* treated by pulsed electric fields and nisin in skimmed milk. *International Journal of Food Microbiology*, 51(1): 31-38.

Bibliografía

- Cameron, A. C.; Talasila, P. C.; Joles, D. W. (1995) Predicting film permeability needs for modified-atmosphere packaging of lightly processed fruits and vegetables. *HortScience*, 30(1): 25-34.
- Cano, P.; Marín M. A.; Fuster C. (1990) Effects of some Thermal Treatments on polyphenoloxidase and peroxidase activities of banana. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 51(2): 223-231.
- Cantwell, M. (1992) Postharvest handling systems: minimally processed fruits and vegetables. Publication 3311. *Postharvest technology of horticultural crops*, Technical editor, Adel A Kader. Oakland, California, University of California, Division of Agriculture and Natural Resources: 277-281.
- Cantwell, M.; Lopez-Galvez, G.; Rovelo-Gonzalez, J.; Nie, X. (1996) Factors affecting quality of minimally processed cantaloupe melon. I. Temperature and atmosphere. *Institute of Food Technologists*, IFT annual meeting: book of abstracts Conference-Proceedings, 100 ISSN :1082-1236.
- Cantwell, M.; Portela, S. (1997) Comparing varieties and storage method. *Fresh-Cut*, (October): 14-18.
- Carlin, F.; Nguyen-The, C.; Chambroy, Y.; Reich, M. (1990) Effects of controlled atmospheres on microbial spoilage, electrolyte leakage and sugar content of fresh 'ready-to-use' grated carrots. *International Journal of Food Science and Technology*, 25(1): 110-119.
- Carrera, M. (2000) Variedades y calidad de las peras en Aragón. *Asociación Profesional de Empresarios de Productos Hortofrutícolas de la Provincia de Zaragoza*, Calatayud, Zaragoza 6-7.
- Cartaxo, C. B. C.; Sargent, S. A. (1998) Controlled atmosphere storage suppresses microbial growth on fresh-cut watermelon. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 110: 252-257.
- Cartaxo, C. B. C.; Sargent, S. A.; Huber, D. J.; Chia-Min, L. (1997) Controlled atmosphere storage suppresses microbial growth on fresh-cut watermelon. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 110: 252-257.
- Cartaxo, C. B. C.; Sargent, S. A.; Huber, D. J.; Chia-Min, Lin (1997) Controlled atmosphere storage suppresses microbial growth on fresh-cut watermelon. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 110, 252-257.
- Castro, A. J.; Swanson, B. G.; Barbosa-Canovas, G. V.; Dunker, A. K. (2000) *Pulsed electric field denaturation of alkaline phosphatase*. En G. V. Barbosa-Canovas; H. Zhang (Eds) *Electric Fields in Food Processing*. Lancaster, PA: Technomic 83-104.
- Clydesdale, F. M. (1993) Color as a Factor in Food Choice. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 33 (1): 83-101.
- Codex Alimentarius Commission. Class names and the International numbering system for food additives (I.N.S.) *Codex Standards for General Requirements*, X0T04-1999 volume 1A: 1-43.
- Coetzer, C.; Corsini, D.; Love, S.; Pavek, J.; Tumer, N. (2001) Control of enzymatic browning in potato (*Solanum tuberosum* L.) by sense and antisense RNA tomato polyphenol oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 652-657.
- Conway, J.; Castaigne, F.; Picard, G.; Vovan, X. (1983) Mass transfer considerations in the osmotic dehydration of apples. *Canadian Institute Journal of Food Science and Technology*, 16(1): 25-29.
- Cháfer M., González-Martínez C, Ortolá M.D., Chiralt A., Fito P. (2001) Kinetics of osmotic dehydration in orange and mandarin peels. *Journal of Food Process Engineering*, 24: 273-289.
- Cháfer, M.; (Sin Publicar) Kinetics of colour changes during storage of osmotic dehydrated orange peels. Ph. D. Tesis. Universidad Politécnica de Valencia, España.
- Cháfer, M.; Gonzalez-Martinez, C.; Ortolá, M. D.; Chiralt, A. Fito, P. (2000) Osmotic dehydration of mandarin and orange peel by using rectified grape must. In Proceedings of the 12th International Drying Symposium. *IDS'2000*.
- Chamel, A. R. Permeability characteristics of isolated Golden Delicious apple fruit cuticles with regard to calcium. (1989) *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 114(5): 804-809.
- Cheftel, J. C. y Cheftel, H. (1976) Pardeamiento enzimático y Tratamientos físicos en *Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos* (1) 309-318 (2) 175-202 Editorial Acribia, España
- Chen, L.; Mehta, A.; Berenbaum, M.; Zangerl, A. R.; Engeseth, N. J. (2000) Honeys from different floral sources as inhibitors of enzymatic browning in fruit and vegetables homogenates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 4997-5000.

- Chervin, C.; Boisseau, P. (1994) Quality maintenance of ready to eat shredded carrots by gamma irradiation. *Journal of Food Science*, 59: 359-361.
- Cheyner, V. *Propriétés gustatives des composés phénoliques*. Compte rendu de la journée " Role des polyphenols en alimentation et santé humaine", Massy, France. Fecha de consulta: 14 de Diciembre 1999.
- Chiralt, A.; Fito, P.; Andrés, A.; Barat, J. M.; Martínez-Monzó, J.; Martínez-Navarrete, N. (1999) Vacuum impregnation: a tool in minimally processing of foods. En Oliveira, F. A. R.; Oliveria, J. C. (Eds), Boca Raton: CRC Press, 341-356.

D

- Dalla-Rosa, M.; Mastrocola, D.; Maltini, E.; Sacchetti, G. (1999) La trasformazione industriale dell'actinidia: le possibilità per un utilizzo alternativo dei frutti. *Frutticoltura*, 12: 45-51.
- Daniel, O.; Meier, M. S.; Schlatter, J.; Frischknecht, P. (1999) Selected phenolic compounds in cultivated plants: ecologic functions, health implications, and modulation by pesticides. *Environmental and Health Perspectives*, 107: 109-114.
- de Ancos, B.; Cano, P.; Hernandez, A.; Monreal, M. (1999) Effects of microwave heating on pigment composition and colour of fruit purees. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(5): 663-670.
- Debeaufort, F.; Quezada-Gallo, J. A.; Voiley, A. (1998) Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(4): 299-313.
- Devece, C.; Rodríguez-López, J. N.; Fenoll, L. G.; Tudela, J.; Catala, J. M.; Reyes, E.; García-Canovas, F. (1999) Enzyme inactivation analysis for industrial blanching applications: comparison of microwave, conventional and combination heat treatments on mushroom polyphenoloxidase activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(11): 4506-4551.
- Dijkstra, L.; Walker, J. R. L. (1991) Enzymic browning in apricots. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 54(2): 229-234.
- D'Innocenzo, M.; Lajolo, F. M. (2001) Effect of gamma irradiation on softening changes and enzyme activities during ripening of papaya fruit. *Journal of Food Biochemistry*, 25(5): 425-438.
- Dong, X.; Wrolstad, R.E.; Sugar, D. (2000) Extending shelf life of fresh-cut pears. *Journal of Food Science*. 65(1): 181-186.
- Dorantes-Álvarez, L.; Chiralt, A. (2000) Color of minimally processed fruits and vegetables as affected by some chemical and biochemical changes. En Alzamora, S.M.; Tapia, M.S.; López-Malo, A. (Eds): *Minimally processed fruits and vegetables*. Aspen Publication: Gaithersburg, Maryland. 111-126.
- Dovenspeck, H. (1960) Verfahren und vorrichtung zur gewinnung der einzelnen phasen nus dispersen systemen. German Patent 1, 237, 541.
- Drake, S. R.; Spayd, S. E. (1983) Calcium infiltration of Golden delicious apples quality. *Journal of Food Science*, 48: 403.

E

- Eckert, J. (1978) Pathological diseases of fresh fruits and vegetables. *Journal of Food Biochemistry*, 2: 243-258.
- Escríche, I.; Chiralt, A.; Moreno, J.; Serra, J. A. (2000) Influence of blanching-osmotic dehydration treatments on volatile fraction of strawberries. *Journal of Food Science*, 65(7): 1107-1111.

F

- F.D.A., Title 21 Food and Drugs. (1995) Washington, D.C., Federal Register, U. S. *Food and Drug Administration*, Code of Federal Regulations.
- Farkas, D. F.; Lazar, M. E. (1969) Osmotic dehydration of apple pieces: effect of temperature and syrup concentration on rates. *Food Technology (Champaign)*, 23(5): 688-690.
- Fellows, P. (1988) Food processing technology. Principles and practice. New York.
- Ferrari, P. H.; Walker, J. R. L. (1999) Microorganisms as potential sources of novel diphenol oxidase inhibitors. *Journal of Food Biochemistry*, 23(1): 1-15.
- Fito P., Chiralt A., (1997) Osmotic dehydration. An approach of the modelling of solid food liquid operations. In: *Food Engineering 2000* (Fito P., Ortega-Rodríguez E., Barbosa-Cánovas G.V. eds.), 231-252. New York: Chapman and Hall.

- Fito, P. (1994) Modelling of vacuum osmotic dehydration of food. *Journal of Food Engineering*, 22(1/4): 313-328.
- Fito, P.; Chiralt, A.; Betoret, N.; Gras, M.; Chafer, M.; Martinez-Monzo, J.; Andres, A.; Vidal, D. (2001) Vacuum impregnation and osmotic dehydration in matrix engineering. Application in functional fresh food development. *Journal of Food Engineering*, 49(2/3): 175-183.
- Fito, P.; Pastor, R. (1994) Non-diffusional mechanisms occurring during vacuum osmotic dehydration. *Journal of Food Engineering*, 21(4): 513-519.
- Fonseca, S. C.; Oliveira, F. A.R.; Brecht, J. K. (2002) Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. *Journal of Food Engineering*, 52(2): 99-119.
- Freese, E.; Sheu, C. W.; Galliers, E. (1973) Function of lipophilic acids as antimicrobial food additives. *Nature*, 241: 321-325.
- Fresh-cut Organisation. IFPA Conference previews. *Fresh-cut trends for the new millennium*, IFPA speaker to focus on building your fresh-cut business in 2000 and beyond (<http://www.fresh-cut.org>) Fecha de consulta 28 de Mayo de 2003.
- Friedman, M. (1996) Food Browning and Its prevention: an overview. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, (3) 631-653.

G

- García-Pinchi, R. (1997) Deshidratación osmótica a vacío por pulso de kiwi. *Tesis Doctoral*, Universidad Politécnica de Valencia. España.
- García-Redón, E. (1997) Deshidratación osmótica de albaricoques (*Prunus armenica* L.) *Tesis Doctoral*, Universidad Politécnica de Valencia. España.
- Gianotti, A.; Sacchetti, G.; Guerzoni, M. E.; Dalla-Rosa, M. (2001) Microbial aspects on short-time osmotic treatment of kiwifruit. *Journal of Food Engineering*, 49(2/3): 265-270.
- Gianotti, A.; Sacchetti, G.; Pinnavaia, G. G.; Dalla-Rosa, M. (2000) Microbial aspects on short-time osmotic treatment of fruit: preliminary trials on minimally processed kiwifruit slices. En M. Dalla-Rosa,; W. E. L. SpieB (Eds) *Industrial application of osmotic dehydration treatments of food*, Udine, I: Forum: 71-75.
- Gil, M. I.; Artés, F.; Tomas-Barberan, F. A. (1996) Minimal processing and modified atmosphere packaging effects on pigmentation of pomegranate seeds. *Journal of Food Science*, 61(1): 161-164.
- Gil, M. I.; Gorny, J. R.; Kader, A. A. (1998) Responses of Fuji apple slices to ascorbic acid treatments and low oxygen atmospheres. *HortScience*, 33(2): 305-309.
- Giner, J.; Gimeno, V.; Barbosa-Canovas, G. V.; Martín, O. (2000) Inactivation of pear and peach polyphenoloxidase by pulsed electric fields. En: *Proceedings of the Eighth International Congress on Engineering and Food -ICEF 8-* (Welty-Chanes J., Barbosa-Cánovas G.V., Aguilera J.M. eds.), Lancaster: Technomic Publishing Co., Inc., 1489-1493.
- Golan-Goldhirsh, A.; Whitaker, J. R. (1984) Relation between structure of polyphenol oxidase and prevention of browning. *Advances in Exp. Medical Biol.* New York, N.Y.: Plenum Press. 177: 437-456.
- González-Aguilar, G. A.; Wang, C. Y.; Buta, J.G. (2000) Maintaining quality of fresh-cut mangoes using antibrowning agents and modified atmosphere packaging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 4204-4208.
- Gorny J. R.; Cifuentes, R. A.; Hess-Pierce, B.; Kader, A. A. (2000) Quality changes in fresh-cut pear slices as affected by cultivar, ripeness stage, fruit size, and storage regime. *Journal of Food Science*, 65(3): 541-544.
- Gorny, J. R.; Gil, M. I.; Kader, A. A. (1998a) Postharvest physiology and quality maintenance of fresh-cut pears. *Acta Horticulturae*, (464): 231-236.
- Gorny, J. R.; Hess-Pierce, B.; Cifuentes, R. A.; Kader, A. A. (2002) Quality changes in fresh-cut pear slices as affected by controlled atmosphere and chemical treatments. *Postharvest Biology and Technology*, 24(3): 271-278.
- Gorny, J. R.; Hess-Pierce, B.; Kader, A. A. (1998b) Effects of fruit ripeness and storage temperature on the deterioration rate of fresh-cut peach and nectarine slices. *HortScience*, 33(1): 110-113.
- Gorny, J. R.; Hess-Pierce, B.; Kader, A. A. (1999) Quality changes in fresh-cut peach and nectarine slices as affected by cultivar, storage atmosphere and chemical treatments. *Journal of Food Science*, 64(3): 429-432.

- Gras, M. L.; Vidal, D.; Betoret, N.; Chiralt, A.; Fito, P. (2003) Calcium fortification of vegetables by vacuum impregnation: interactions with cellular matrix. *Journal of Food Engineering*, 56(2): 279-284.
- Guilbert, S.; Gontard, N.; Gorris, L. G. M. (1996) Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 29: 10-17.
- Gunes, G.; Watkins, Ch. y Hotchkiss, J. (2000) Effects of irradiation on respiration and ethylene production of apple slices. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 1169-1175.

H

- Haagen-Smit, A. J.; Kirchner, J. G.; Prater, A. N.; Deasy, C. L. (1945) Chemical studies of pineapple I. The volatile flavor and odor constituents of pineapple. *Journal of American Chemical Society*, 67: 1646-1652.
- Hagenmaier, R. D.; Baker, R. A. (1997) Low-dose irradiation of cut iceberg lettuce in modified atmosphere packaging. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 45: 2864-2868.
- Harel, E.; Mayer, A. M.; Lerner, H. R. (1970) Changes in the levels of catechol oxidase and laccase activity in developing peaches. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 21(10): 542-43.
- Hendrickx, M.; Ludikhuyze, L.; de Broeck, I. V.; Weemaes, C. (1998) Effects of high pressure on enzymes related to food quality. *Trends in Food Science and Technology*, 9: 197-203.
- Herreros, A. (1991) La pera blanquilla como pera de calidad. Jornadas técnicas: El peral y el nashi. *Fundación La Caixa*, Editorial AEDOS. Barcelona, España.
- Hills, C. H.; Nevin, C. S.; Heller, M. E. (1947) Firming apple slices. *The Journal of fruit products and American Food Manufacturer*, 26(12): 356.
- Ho, S. Y.; Mittal, G. S.; Cross, J. D. (1997) Effects of high field electric pulses on the activity of selected enzymes. *Journal of Food Engineering*, 31(1): 69-84..
- Hurst, W. C. (1995) Sanitation of lightly processed fruits and vegetables. *HortScience*, 30(1): 22-24.
- Huxsoll, C. C.; Bolin, H. R. (1989) Processing and distribution alternatives for minimally processed fruits and vegetables. *Food Technology*, 43(2): 124-128.
- Hyodo, H.; Kuroda, H.; Yang, S. F. (1978) Induction of phenylalanine ammonialyase and increase in phenolics in lettuce leaves in relation to the development of russet spotting caused by ethylene. *Plant Physiology*, 62: 31-35.

I

- Izumi, H.; Watada, A. E.; Ko, N. P.; Douglas, W. (1996) Controlled atmospheres storage of carrot slices, sticks y shreds. *Postharvest Biology Technology*, 9: 165-172.

J

- Jacxsens, L.; Devlieghere, F.; Debevere, J. (1999) Validation of a systematic approach to design equilibrium modified atmosphere packages for fresh-cut produce. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 32(7): 425-432.
- Janovitz-Kalpp, A. H.; Richard, F. C.; Goupy, P. M.; Nicolas, J. J. (1990a) Inhibition studies on apple PPO. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(7): 926-931.
- Janovitz-Klapp, A. H.; Richard, F. C.; Goupy, P.; Nicolas, J. J. (1990b) Kinetic studies on apple polyphenol oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(7): 1437-1441.
- Jayaraman, K. S.; Das-Gupta, D. K. (1992) Dehydration of fruits and vegetables: recent developments in principles and techniques. *Drying Technology*, 10(1): 1-50.
- Jin, Z. T.; Qui, X.; Zhang, Q. H. (1998) Application of high speed microscopy imaging technology in evaluation of inactivation of micro-organisms by pulsed electric fields. *Institute of Food Technologies, Annual Meeting*, Paper 59C-16.
- Joana, J.M. (1991) Estado actual de la producción de peras. Jornadas técnicas: El peral y el nashi. *Fundación La Caixa*, Editorial AEDOS. Barcelona, España.

K

- Kader, F.; Rovel, B.; Girardin, M.; Metche, M. (1997) Mechanism of browning in fresh highbush blueberry fruit (*Vaccinium corymbosum* L) partial purification and characterisation of blueberry polyphenol oxidase. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 73: 513-516.
- Karathanos, V. T.; Kostaropoulos, A. E.; Saravacos, G. D. (1995) Air-drying of osmotically dehydrated fruits. *Drying Technology*, 13(5/7): 1503-1521.
- Ke, D.; Saltveit, M. E. (1989) Carbon dioxide-induced brown stain development as related to phenolic metabolism in iceberg lettuce. *Journal of American Society of Horticultural Science*, 114: 789-794.
- Kermasha, S.; Bisakowski, B.; Ramaswamy, H.; Van de Voort, F. (1993) Comparison of microwave, conventional and combination heat treatments on wheat germ lipase activity. *International Journal of Food Science and Technology*, 28: 617-623.
- Kim, D. M.; Smith, N. L.; Lee, C. Y. (1993a) Apple cultivar variations in response to heat treatment and minimal processing. *Journal of Food Science*, 58(5): 1111-1114, 1124.
- Kim, D. M.; Smith, N. L.; Lee, C. Y. (1993b) Quality of minimally processed apple slices from selected cultivars. *Journal of Food Science*, 58(5): 1115-1117, 1175.
- Kim, D. M.; Smith, N. L.; Lee, C. Y. (1994) Effect of heat treatment on firmness of apples and apple slices. *Journal of Food Process and Preservation*, 18(1): 1-8.
- Kim, H.; Ye, J.; Li, Y. (2001) Inactivation of *Listeria monocytogenes* in chilling brine using a flow through electrochemical treatment. *Institute of Food Technologies, Annual Meeting*, Paper 59H-22.
- Kononayakam, M.; Sastry, S. K. (1988) Kinetics of shrinkage of mushrooms during blanching. *Journal of Food Science*, 53(5): 1406-1411.
- Krokida, M. K.; Karathanos, V. T.; Maroulis, Z. B. (2000a) Effect of osmotic dehydration on colour and sorption characteristics of apple and banana. *Drying Technology*, 18(4/5): 937-950.
- Krokida, M. K.; Kiranoudis, C. T.; Maroulis, Z. B.; Marinos-Kouris, D. (2000b) Effect of pretreatment on color of dehydrated products. *Drying-Technology*, 18 (6): 1239-1250.
- Krokida, M. K.; Kiranoudis, C. T.; Maroulis, Z. B.; Marinos-Kouris, D. (2000c) Effect of osmotic dehydration on viscoelastic properties of apple and banana. *Drying-Technology*, 18 (4/5): 951-966.

L

- Lamikanra, O; Beaulieu, J. C. (2000) Physiological and biochemical changes curing fresh-cut fruit processing and storage. *IFT'S Annual Meeting*, Institute of Food Technologists.
- Lamikanra, O; Watson, M A. (2001) Effects of ascorbic acid on peroxidase and polyphenoloxidase activities in fresh-cut cantaloupe melon. *Journal of Food Science*, 66(9): 1283-1286.
- Lange, D. (1998) Eastern cantaloupe varieties and their potential for fresh-cut melon products. *Fresh-Cut*, (Agosto): 17-18.
- Larrigaudiere, C.; Lentheric, I.; Vendrell, M. (1998) Relationship between enzymatic browning and internal disorders in controlled-atmosphere stored pears. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 78(2): 232-236
- Lattanzio, V.; De Cicco, V.; Di Venere, D.; Lima, G.; Salerno, M. (1994) Antifungal activity of phenolics against fungi commonly encountered during storage. *Italian Journal of Food Science*, 1: 23-30.
- Laurila, E.; Kervinen, R.; Ahvenainen, R. (1998) The inhibition of enzymatic browning in minimally processed vegetables and fruits. *Postharvest news and information*, 9(4): 53-66.
- Lazarides, H. N.; Fito, P.; Chiralt, A. Gekas, A.; Lenart, H. (1999a) Advances in osmotic dehydration. En *Processing Foods: quality optimisation and process assessment*. (eds) CRC Press LLC, 11: 175-199.
- Lazarides, H. N.; Fito, P.; Chiralt, A.; Gekas, V.; Lenart, A. (1999b) Advances in osmotic dehydration. En R. P. Singh y F. A. R. Oliveira (Eds) *Minimal Processing of Foods and Process Optimization*. CRC Press, Boca Raton. 175-200.
- Lazarides, H. N.; Gekas, V.; Mavroudis, N. (1997) Apparent mass diffusivities in fruit and vegetable tissues undergoing osmotic processing. *Journal of Food Engineering*, 31(3): 315-324.
- Lazarides, H. N.; Katsanidis, E.; Nickolaidis, A. (1995) Mass transfer kinetics during osmotic pre-concentration aiming at minimal solid uptake. *Journal of Food Engineering*, 25(2): 151-166.

- Le Bon, A. M. *Polyphénols et phytoestrogènes. Rôle de l'alimentation dans la cancérogenèse*. Compte rendu de la journée " Role des polyphenols en alimentation et santé humaine", Massy, France. Fecha de consulta: 14 de Diciembre 1999.
- Le Mager, M. (1988) Osmotic dehydration: Review and future directions. En Proceedings of the International Symposium on Progress in Food Preservation Processes, 1: 283-309.
- Le Maguer, M. (1997) Mass transfer modeling in structured foods. Food Engineering 2000 /. New York: Chapman & Hall, :253-269.
- Lee, C. Y. (1992) Phenolic compounds. En Y. H. Hui: Encyclopedia of Food Science and Technology. A Wiley Interscience Publication: 2055-2061.
- Lenart, A.; Flink, J. M. (1984) Osmotic concentration of potato. II Spatial distribution of the osmotic effect. *Journal of Food Technology*, 19: 69-89.
- Lerici, C. R.; Mastrocola, D.; Pinnavaia, G. (1986) Experiments with direct high-temperature short-time osmosis. *Industria Conserve*, 61(3): 223-225.
- Lerici, C. R.; Pepe, M.; Pinnavaia, G. (1977) The osmotic dehydration of fruit. I. Results of laboratory experiments. *Industria Conserve*, 52(2): 125-129.
- López, M. L.; Lavilla, M. T.; Riba, M.; Vendrell, M. (1998) Comparison of volatile compounds in two seasons in apples: Golden Delicious and Granny Smith. *Journal of Food Quality*, 21: 155-166.
- López-Serrano, M.; Ros-Barceló, A. (1995) Peroxidase in unripe and processing ripe strawberries. *Food Chemistry*, 52: 157-169.
- Luna-Guzman, I.; Barrett, D. M. (2000) Comparison of calcium chloride and calcium lactate effectiveness in maintaining shelf stability and quality of fresh-cut cantaloupes. *Postharvest Biology and Technology*, 19(1): 61-72.
- Luo, Y.; Barbosa-Canovas, G. V.; (1996) Preservation of apple slices using ascorbic acid and 4-hexylresorcinol. *Food Science and Technology*, 2: 315-321.

M

- Macheix, J.J.; Fleuriot, A.; Billot, J. (1990). Fruit phenolics. Boca Roton, FL: CRC Press.
- Maltini, E.; Torregginai, D. (1981) A new application of osmosis: the production of shelf-stable fruits by osmosis. *Progress in Food Engineering*, 246.
- Martínez-Monzó, J.; Barat, J. M.; González-Martínez, A.; Chiralt, A.; Fito, P. (2000) Changes in thermal properties of apple due to vacuum impregnation. *Journal of Food Engineering*, 43: 213-218.
- Martínez-Monzó, J.; Martínez-Navarrete, N.; Chiralt, A.; Fito, P. (1998) Mechanical and structural changes in apple due to vacuum impregnation with cryoprotectants. *Journal of Food Science*, 63(3): 499-503.
- Mata-Montes de Oca, M.; Tovar-Gomez, B.; Garcia, H. S. (1998) Evolution of organic acids in minimally processed mango slices. *IFT'S Annual Meeting*. Institute of Food Technologists, 65A-16.
- Mateos, M.; Ke, D.; Cantwell, M.; Kader, A. A. (1993) Phenolic metabolism and ethanolic fermentation of intact and cut lettuce exposed to CO₂ enriched atmospheres. *Postharvest Biology and Technology*, 3: 225-233.
- Mauron, J. (1990) Influence of processing on protein quality. En Nutritional losses due to food preparation and possibilities of their prevention Conference-Proceedings *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 36(4) 557-569.
- Mayer, A. M. (1961) Subcellular location of sulphite reductase in plant tissues. *Plant Physiology*, 42(3): 324-326.
- Mayer, A. M. (1987) Polyphenol oxidases in plants: recent progress *Phytochemistry*, 26(1): 11-20.
- Mayer, A. M.; Harel, E. (1979) Polyphenol oxidase in plants. *Phytochemistry*, 26(11): 193.
- Mayer, A. M.; Harel, E. (1991) Phenoloxidases and their significance in fruits and vegetables. En P. F. Fox (Ed) Food Enzymology, Elsevier, London, 373-398.
- McEvily, A. J.; Iyengar, R.; Otwell, W. S. (1992) Inhibition of enzymatic browning in foods and beverages. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32(3): 253-273.
- McHugh, T. H.; Huxsoll, C. C.; Krochta, J. M. (1996) Permeability properties of fruit puree edible films. *Journal of Food Science*, 61(1): 88-91.
- McHugh, T. H.; Senesi, E. (2000) Apple wraps: A novel method to improve the quality and extend the shelf life of fresh-cut apples. *Journal of Food Science*, 65(3): 480-485.

Bibliografía

- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA) (1999) Anuario de Estadística Agroalimentaria 2001. Frutales no cítricos, apartado 14. (<http://www.mapya.es>) Fecha de consulta: 26 de Junio de 2003
- Monsalve-Gonzalez, A.; Barbosa-Canovas G. V.; Cavalieri R. P.; McEvily, A. J.; Iyengar, R. (1993) Control of browning during storage of apple slices preserved by combined methods. 4-hexylresorcinol as anti-browning agent. *Journal of Food Science*, 58: 797-800,826.
- Moreno, J.; Chiralt, A.; Escriche, I.; Serra, J. (1998) Efecto estabilizador de tratamientos combinados de inactivación enzimática y deshidratación osmótica en fresas mínimamente procesadas. *Alimentaria*, septiembre: 49-52.
- Mújica-Paz, H.; Valdez-Fragoso, A.; López-Malo, A.; Palou, E.; Welti-Chanes, J. (2003) Impregnation properties of some fruits at vacuum pressure. *Journal of Food Engineering*, 56(2): 307-314.
- Muntada, V.; Gerschenson, L. N.; Alzamora, S. M.; Castro, M. A. (1998) Solute infusion effects on texture of minimally processed kiwifruit. *Journal of Food Science*, 63(4): 616-620.
- Murata, M.; Haruta, M.; Murai, N.; Tanikawa, N.; Nishimura, M.; Homma, S.; Itoh, Y. (1995) Transgenic apple (*Malus × domestica*) shoot showing low browning potential. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 5243-5248.

N

- Navarro, P.; Corzo, O. (2000) Osmotic dehydration vacuum optimization for minimally processed pineapple. En: *Proceedings of the Eighth International Congress on Engineering and Food - ICEF 8* (Welti-Chanes J., Barbosa-Cánovas G.V., Aguilera J.M. eds.), Lancaster: Technomic Publishing Co., Inc., 1264-1269.
- Nguyen-the, C.; Carlin, F. (1994) The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34 (4): 371-401.
- Nicolas, J. J.; Richard-Forget, F. C.; Goupy, P. M.; Amiot, M. J.; Aubert, S. Y. (1994) Enzymatic browning reactions in apple and apple products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34(2): 109-157.
- Nicolas, J.J.; Cheynier, J.; Fleuriet, A.; Rouet-Mayer, M.A. (1993). Polyphenol and enzymatic browning. En Scalbert, A. (Ed): *Polyphenolic phenomena*; Ediciones INRA, Paris, Francia. 165.

O

- O'Connor-Shaw, R. E.; Roberts, R.; Ford, A. L.; Nottingham, S. M. (1994) Shelf life of minimally processed honeydew, kiwifruit, papaya, pineapple and cantaloupe. *Journal of Food Science*, 59(6): 1202-1206, 1215.
- Ohlsson, T. (1994) Minimal processing, preservation methods of the future: an overview. *Trends in Food Science and Technology*, 5(11): 341-344.
- Oleszek, W.; Amiot, M. J.; Aubert, S. Y. (1994) Identification of some phenolics in pear fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(6): 1261-1265.
- Olivas, G. I.; Rodríguez, J. J.; Barbosa-Cánovas, G. V. (2002) Effect of polysaccharide and polysaccharide-fatty acid based edible films on coated pear wedges during refrigeration storage. *Annual Meeting and Food Expo-Anaheim, California*,. 30G-30.

P

- Palomeque, L. A.; Gongora-Nieto, M. M.; Bermudez, A. S.; Barbosa-Canovas, G. V.; Swanson, B. G. (2001) Nonthermal inactivation of endoproteases by pulsed electric field technology. En G. V. Barbosa-Canovas; H. Zhang (Eds) *Electric Fields in Food Processing*, Lancaster, PA: Technomic 135-148.
- Palou, E.; López-Malo, A.; Barbosa-Cánovas, G.; Swanson, B. y Welti, J. (1999) Polyphenoloxidase activity and colour of blanched and high hydrostatic pressure treated banana puree. *Journal of Food Science*, 64: 42-45.
- Panadés, G.; Rodríguez, I.; Gonzalez, M. E.; Acosta, V. (2001) Influencia de las condiciones de operación sobre la calidad del mango mínimamente procesado por deshidratación osmótica. *Alimentaria*, octubre: 135-138.
- Panadés, G.; Tejo, T.; Perez, F. (1993) Obtaining a filling temperature of 30-37 degree C in the final chilling of aseptically preserved guava pulp. *Alimentaria*, No. 242: 73-74.

- Park, K. J.; Bin, A.; Brod, F. P. R. (2002) Drying of pear d'Anjou with and without osmotic dehydration. *Journal of Food Engineering*, 56(1): 97-103.
- Pérez, L.; González-Martínez, C.; Chafér, M.; Chiralt, A. (2001) Inhibición del pardeamiento enzimático en pera var. *Blanquilla*. *Actas del 3º Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos (CIBIA2001) Tomo IV(4): 307-312.*
- Pérez, L.; González-Martínez, C.; Chafér, M.; Chiralt, A. (2002) Cambios de color en pera mínimamente procesada var. *Blanquilla*. *Actas del 2º Congreso Español de Ingeniería de Alimentos (CESIA2002) [cd-rom]*. Lleida: Universitat de Lleida.
- Pérez, L.; González-Martínez, C.; Chafér, M.; Chiralt, A. (2003a) Calidad de frutas mínimamente procesadas I: Pardeamiento enzimático. *Alimentación, equipos y tecnología*, 180: 81-84.
- Pérez, L.; González-Martínez, C.; Chafér, M.; Chiralt, A. (2003b) Calidad de frutas mínimamente procesadas II: Control y prevención del pardeamiento enzimático. *Alimentación, equipos y tecnología*, 181: 113-119.
- Pittia, P., Nicoli, C., Comi, G.; Massini R. (1999) Shelf-life extensión of fresh-like ready-to-use pear cubes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 955-960.
- Ponting, J. D. (1973a) Osmotic dehydration of fruits: recent modifications and applications. *Process in Biochemistry*, 8(12): 18-20.
- Ponting, J. D. (1973b) Preservation of apple slices with a solution consisting of ascorbic acid, calcium chloride and sodium bicarbonate United States Patent, 3,754,938.
- Ponting, J. D.; Jackson, R.; Watters, G. (1971) Refrigerated apple slices: effects of pH, sulfites and calcium on texture *Journal of Food Science*, 36(2): 349-350.
- Ponting, J. D.; Jackson, R.; Watters, G. (1972) Refrigerated apple slices: preservative effects of ascorbic acid, calcium and sulphites. *Journal of Food Science*, 37(3): 434-436.
- Ponting, J. D.; Watters, G. G.; Forrey, R. R.; Jackson, R.; Stanley, W. L. (1966) Osmotic dehydration of fruits. *Food Technology*, 10: 125-128.
- Porcelli, M.; Cacciapuotì, G.; Fusco, S.; Massa, R.; d'Ambrosio, G.; Bertoldo, C.; De Rosa, M.; Zappia, V. (1997) Nonthermal effects of microwaves on proteins: thermophilic enzymes as model system. *FEBS Letter*, 402: 102-106.
- Portela, S. I.; Cantwell, M. I. (1998) Quality changes of minimally processed honeydew melons stored in air or controlled atmosphere. *Postharvest Biology and Technology*, 14(3): 351-357.
- Prestamo, G.; Arroyo, G. (2000) Biological response of rats fed with tofu treated with high hydrostatic pressure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10): 4641-4646.
- Primo-Yúfera, E. (1997) *Química de los alimentos*. Editorial Síntesis. Madrid, España.

Q

- Qi, L.; Watada, A. E.; Gorny, J. R. (1998) Quality changes of fresh-cut fruits in CA storage. *Postharvest Hort. Ser. No. 19 CA'97 Proceedings. 7th Intl. Control. Atmosphere. Research, Conference. Fresh-cut Fruits and Vegetables and MAP: 116-121.*
- Qi, L.; Wu, T.; Watada, A. E. (1999) Quality changes of fresh-cut honeydew melons during controlled atmosphere storage. *Journal of Food Quality*, 22 (5): 513-521.

R

- Rajapakse, N. C.; Hewett, E. W.; Banks, N. H.; Cleland, D. J. (1992) Vacuum infiltration with calcium chloride influences oxygen distribution in apple fruit flesh. *Postharvest Biology and Technology*, 1(3): 211-229.
- Raoult-Wack, A. L. (1994) Recent advances in the osmotic dehydration of foods. *Trends in Food Science and Technology*, 5(8): 255-260.
- Richard-Forget, F. C.; Cerny M. G., de Rigald D. P.; Fayad, El Dahouk N. N.; Varoquax P.J. (1998) *Antibrowning efficiency of papaine extracts*. 2nd International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry (<http://www.mdpi.org>). Fecha de consulta: 30 de Marzo 2001.
- Richard-Forget, F. C.; Goupy, P. M.; Amiot, M. J.; Aubert, S. Y. (1994) Enzymatic browning reactions in apple and apple products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34(2): 109-157.
- Richard-Forget, F. M.; Nicolas, J. J. (1989) Purification of apple peel peroxidase. Studies of some properties and specificity in relation to phenolic compounds. *Science des Aliments*, 9: 335-341.
- Richard-Forget, F.C., Gaillard, F. A. (1997) Oxidation of chlorogenic acid, catechins, and 4 methylcatechol in model solutions by combinations of pear polyphenol oxidase and peroxidase:

- a possible involvement of peroxidase in enzymatic browning. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 2472-2476.
- Richard-Forget, F.C.; Goupy, P.M.; Nicolas, J.J. (1992) Cysteine as an inhibitor of enzymatic browning 2. Kinetic studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40: 2108-2113.
- Riva, M.; Cortellino, G.; Maestrelli, A.; Torreggiani, D. (2001) Structure collapse and colour changes in osmo-air dehydrated peach cubes. *Food Science and Biotechnology*, 10(6): 598-601.
- Rivas, N.J.; Whitaker, J.R. (1973) Purification and some properties of two polyphenoloxidases from Bartlett pear. *Plant Physiology*, 52:501-507.
- Robards, K.; Prenzler, P. D.; Tucker, G.; Swatsitand, P.; Glover, G. (1999) Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66: 401-436.
- Robinson, D. S. (1991) Peroxidases and their significance in fruits and vegetables. En P. F. Fox (Ed) *Food Enzymology*, Elsevier, London, 371-476.
- Rocha, A. M. C. N.; Morais, A. M. B. (2001) Influence of controlled atmosphere storage on polyphenoloxidase activity in relation to colour changes of minimally processed Jonagored apple. *International Journal of Food Science and Technology*, 36: 425-432.
- Rodríguez, A.; Cunha, R.; Hubinger, M. (2003) Rheological properties and colour evaluation of papaya during osmotic dehydration processing. *Journal of Food Engineering*, EN PRENSA
- Rolle, R. S.; Chism, G. W. (1987) Physiological consequences of minimally processed fruits and vegetables. *Journal of Food Quality*, 10 (3): 157-177.
- Romig, W. R. (1995) Selection of cultivars for lightly processed fruits and vegetables. *HortScience*, 30(1): 38-40.
- Rosen, J. C.; Kader, A. A. (1989) Postharvest physiology and quality maintenance of sliced pear and strawberry fruits. *Journal of Food Science*, 54(3): 656-659.

S

- Sa, M. M.; Sereno, A. M. (1999) The kinetics of browning measured during the storage of onion and strawberry. *International Journal of Food Science and Technology*, 34(4): 343-349.
- Sakane, Y.; Arita, N.; Shimokana, S.; Ito, H.; Osajima, Y. (1990) Storage of shredded cabbage in plastic films using ethylene-acetaldehyde or sucrose fatty acid esters. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 37: 281-286.
- Saltveit, M. E. (1997) Physical and physiological changes in minimally processed fruits and vegetables. En F. A. Tomas-Barberan y R. J. Robins (eds) *Phytochemistry of Fruits and Vegetables*, Calderon Press, 205-220.
- Sansavini, S. (1991) Perspectivas europeas de la producción de peras y nashi en la próxima década. Jornadas técnicas: El peral y el nashi. *Fundación La Caixa*, Editorial AEDOS. Barcelona, España.
- Sapers G.; Miller, R. (1998) Browning inhibition in fresh-cut pears. *Journal of Food Science*. 63, (2) 342-346.
- Sapers, G. M. (1992) Chitosan enhances control of enzymatic browning in apple and pear juice by filtration. *Journal of Food Science*, 57(5): 1192-1193.
- Sapers, G. M. (1993) Browning of foods: Control by sulfites, antioxidants, and other means. Scientific status summary. *Food Technology*, 47: 75-84.
- Sapers, G. M. Garzarella, L.; Pilizota, V. (1990) Application of browning inhibitors to cut apple and potato by vacuum and pressure infiltration. *Journal of Food Science*, 55(4): 1049-1053.
- Sapers, G. M.; Cooke, P. H.; Heidel, A. E.; Martin, S. T.; Miller, R. L. (1997) Structural changes related to texture of pre-peeled potatoes. *Journal of Food Science*, 62(4): 797-803.
- Sapers, G. M.; Ziolkowski, M. A. (1987) Comparison of erythorbic and ascorbic acids as inhibitors of enzymatic browning in apple. *Journal of Food Science*, 52(6): 1732-1733.
- Scalzo, R.; Papadimitriou, C.; Bertolo, G.; Maestrelli, A.; Torreggiani, D. (2001) Influence of cultivar and osmotic dehydration time on aroma profiles of muskmelon (*Cucumis melo*, cv. *reticulatus* Naud.) spheres. *Journal of Food Engineering*, 49(2/3): 261-264.
- Scott, K. J.; Wills, R. B. H. (1979) Effects of vacuum and pressure infiltration of calcium chloride and storage temperature on the incidence of bitter pit and low temperature breakdown of apples. *Journal of Agricultural Research*, 30: 917-928.
- Schlimme, D. V.; Rooney, M. L. (1994) Packaging of minimally processed fruits and vegetables. En R. C. Wiley (ed) *Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables*, Chapman and Hall, U. K.

- Shewfelt, R. L. (1987) Quality of minimally processed fruits and vegetables. *Journal of Food Quality*, 10 (3): 143-156.
- Soliva-Fortuny, R. C.; Biosca-Biosca, M.; Grigelmo-Miguel, N.; Martín-Belloso, O. (2002a) Browning, polyphenol oxidase activity and headspace gas composition during storage of minimally processed pears using modified atmosphere packaging. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 1490-1496.
- Soliva-Fortuny, R. C.; Grigelmo-Miguel, N.; Hernando, I.; Lluch, M. A.; Martín-Belloso, O. (2002b) Effect of minimal processing on the texture and structural properties of fresh-cut pears. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 1682-1688.
- Solomos, T. (1994) Some biological and physical principles underlying modified atmosphere packaging. En R. C. Wiley (ed) *Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables*, Chapman and Hall, U. K.
- Son, M. S.; Moon, K. D.; Lee, C. Y. (2001) Inhibitory effects of various antibrowning agents on apple slices. *Food Chemistry*, 73: 23-30.
- Son, S. M.; Moon, K. D.; Lee, C. Y. (2000) Rhubarb juice as a natural antibrowning agent. *Journal of Food Science*, 65 (7): 1288-1289.
- Sousa, R. (1996) Aplicación de la impregnación y de la deshidratación osmótica al desarrollo de productos de banana. *Tesis Doctoral*, Universidad Politécnica de Valencia. España.
- Stauffer, C. E. (1989) Enzyme assays for food scientists. ISBN 0-442-20765-4 :317.

T

- Thipyapong, P.; Steffens, J. C. (1997) Tomato polyphenol oxidase. Differential response of the polyphenol oxidase F promoter to injuries and wound signals. *Plant Physiology*, 115: 409-418.
- Tomás-Barberán, F. A.; Espín, J. C. (2001) Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81: 853-876.
- Torres, J. A.; Karel, M. (1985) Microbial stabilisation of intermediate moisture food surfaces III Effects of surface pH control on microbial stability of an intermediate moisture cheese analogue. *Journal of Food Processing and Preservation*, 9: 107-119.
- Tovar, B.; García, H.; Mata, M. (2001) Physiology of pre-cut mango. I. ACC and ACC oxidase activity of slices subjected to osmotic dehydration. *Food Research International*, 34(2/3): 207-215.

V

- Vachon, C.; D'aprano, G.; Lacroix, M.; Letendre, M. (2003) Effect of edible coating process and irradiation treatment of strawberry on storage-keeping quality. *Journal of Food Science*, 68(2): 608-612.
- Valero-Ruiz, E. (1993) Caracterización cinética de la polifenol oxidasa de uva Airen. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Castilla-La Mancha.
- Vámos-Vigyázó, L. (1981) Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 9: 49-127.
- Van Loey, A.; Verachtert, B.; Hendrickx, M. (2002) Effects of high electric filed pulses on enzymes. *Trends in Food Science and Technology*, 12: 94-102.
- Varoquaux, P.; Lecendre, I.; Varoquaux, F.; Souty, M. (1990) Change in firmness of kiwifruit after slicing. *Sciences des Aliments*, 10(1): 127-139.
- Varoquaux, P.; Mazollier, J.; Albagnac, G. (1996) The influence of raw material characteristics on the storage life of fresh-cut butter head lettuce. *Postharvest Biology and Technology*, 9: 127-139.
- Vega-Mercado, H.; Gongora-Nieto, M. M.; Barbosa-Canovas, G. V. (2001) Advances in dehydration of foods. *Journal of Food Engineering*, 49(4): 271-289.
- Vega-Mercado, H.; Martín-Belloso, O.; Bai-Lin, Qin.; Fu-Jung, Chang.; Gongora-Nieto, M. M.; Barbosa-Canovas, G. V.; Swanson, B. G. (1997) Non-thermal food preservation: pulsed electric fields. *Trends in Food Science and Technology*, 8(5): 151-157.

Bibliografía

W

- Waliszewski, K. N.; García, R. H.; Ramírez, M.; García M. A. (2000) Polyphenol oxidase activity in banana chips during osmotic dehydration. *Drying Technology*, 18(6): 1327-1337.
- Walker, J. R. L. (1964) The polyphenoloxidase of pear fruit. *Australian Journal of Biology Science*, 17: 575.
- Walker, J. R. L. (1977) Enzymatic browning in foods: its chemistry and control. *Food Technology*, 19: 21.
- Walker, J. R. L.; McCallion, R. F. (1980) The selective inhibition of ortho and paradiphenol oxidases. *Phytochemistry*, 19: 373-376.
- Watada, A. E.; Ko, N. P.; Minott, D. A. (1996) Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. *Postharvest Biology and Technology*, 9(2): 115-125.
- Watada, A. E.; Ling, Qi. (1999) Quality of fresh-cut produce. *Postharvest Biology and Technology*, 15(3): 201-205.
- Weemaes, C. A.; Ludikhuyze, L. R.; Van den Broeck, I.; Hendrickx, M. E. (1999) Influence of pH, benzoic acid, glutathione, EDTA, 4-hexylresorcinol and sodium chloride on the pressure inactivation kinetics of mushroom polyphenol oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(9): 3526-3530.
- Weemaes, C.; Ludikhuyze, L.; de Broeck, I.V.; Hendrickx, M. (1998) High pressure inactivation of polyphenoloxidases. *Journal of Food Science*, 63 (5): 873-877.
- Welti-Chanes, J.; Vergara-Balderas, F.; Lopez-Malo, A. (1997) Minimally processed foods: state of the art and future. En *Food Engineering 2000*, New York: Chapman & Hall, :181-212.
- Wiley, R. C. (1994) Minimally processed refrigerated fruits and vegetables. Chapman & Hall.
- Wong, D. W. S.; Tillin, S. J.; Hudson, J. S.; Pavlath, A. E. (1994) Gas exchange in cut apples with bilayer coatings. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 42: 2278-2285.
- Wright, K. P.; Kader, A. A. (1997a) Effect of controlled atmosphere storage on the quality and carotenoid content of sliced persimmons and peaches. *Postharvest Biology and Technology*, 10(1): 89-97.
- Wright, K. P.; Kader, A. A. (1997b) Effect of slicing and controlled atmosphere storage on the ascorbate content and quality of strawberries and persimmons. *Postharvest Biology and Technology*, 10(1): 39-48.

Y

- Yeom, H. W.; Zhang, Q. H.; Dunne, C. P. (1999) Inactivation of enzyme papain by pulsed electric field in a continuous system. *Food Chemistry*, 67: 53-59.
- Yoruk, R. (2001) Inhibition of apple PPO by inhibitor(s) from housefly pupae. *IFT'S Annual Meeting*. Institute of Food Technologists, 59C-9.
- Youn, K. S.; Lee, J. H.; Choi, Y. H. (1996) Changes of free sugar and organic acid in the osmotic dehydration process of apples. *Korean Journal of Food Science*, 28(6): 1095-1103.
- Yousef, A. E. (1996) Pulsed light and pulsed electric fields for cold-pasteurization of foods. Presented at the Annual Meeting of the Food Research Institute, University of Wisconsin, Madison, May 30.

Z

- Zabetakis, I. (1997) Enhancement of flavour biosynthesis from strawberry (*Fragaria x ananassa*) callus cultures by *Methylobacterium* species. *Plant cell tissue organic culture*, 50(3): 179-183.
- Zabetakis, I. Holden, M. A. (1997) Strawberry flavour: analysis and biosynthesis. *Journal of Food Science*, 74(4): 421-434.
- Zimmermann, U. (1986) Electrical breakdown, electroporation and electrofusion. *Reviews on Physiological Biochemical and Pharmacology*, 105: 175-256.