



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



INSTITUTO DE INGENIERÍA DE
ALIMENTOS PARA EL DESARROLLO

**INCORPORACIÓN DE ACEITES ESENCIALES EN LA
CONSERVACIÓN DEL CAQUI “ROJO BRILLANTE” Y MELÓN
“PIEL DE SAPO” MÍNIMAMENTE PROCESADOS**

Presentada por:

Celia Almela Camañas

Dirigida por:

Dra. María Dolores Ortolá Ortolá

Dra. María Luisa Castelló Gómez



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



INSTITUTO DE INGENIERÍA DE
ALIMENTOS PARA EL DESARROLLO

INSTITUTO UNIVERSITARIO DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS PARA EL DESARROLLO

Dra. MARÍA DOLORES ORTOLÁ ORTOLÁ, y Dra. MARÍA LUISA CASTELLÓ GÓMEZ
PROFESORAS DEL DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS Y MIEMBROS DEL
INSTITUTO UNIVERSITARIO DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS PARA EL DESARROLLO DE
LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA,

CONSIDERAN: que la memoria titulada **INCORPORACIÓN DE ACEITES ESENCIALES EN LA CONSERVACIÓN DEL CAQUI “ROJO BRILLANTE” Y MELÓN “PIEL DE SAPO” MÍNIMAMENTE PROCESADOS** que presenta **D.ª CELIA ALMELA CAMAÑAS**, para aspirar al grado de Doctora por la Universidad Politécnica de Valencia, y que ha sido realizada bajo su dirección en el Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo 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.

Valencia, V de 2012

Fdo. : Dra. María Dolores Ortolá Ortolá
Directora de la tesis doctoral

Fdo. : Dra. María Luisa Castelló Gómez
Directora de la tesis doctoral

AGRADECIMIENTOS

Mis directoras, Loles y Marisa... por su apoyo incondicional.

Mi familia, especialmente a mis padres y a Javi... por estar siempre a mi lado.

Paco... por dedicarme parte de su tiempo y de sus consejos.

Mis amigos... por los momentos buenos y los no tan buenos.

Ana, Diana, Estela, Irene, José, Laura, Lucía, María... por compartir estos años.

Ángela, Elena, Jorge, Laia, María, Nacho... por los momentos en el laboratorio.

Por último y no por ello menos importante...

a todos aquellos que en algún momento confiaron en mí, y me dieron la oportunidad de estar aquí.

RESUMEN

Actualmente existe una tendencia creciente hacia el consumo de productos mínimamente procesados, debido a las necesidades actuales de la sociedad. En todo producto mínimamente procesado se persigue mantener las características nutricionales, sensoriales, organolépticas de las frutas, hortalizas y verduras enteras de las que se obtienen. A su vez, deben ser seguros a nivel microbiológico. No obstante, los productos mínimamente procesados presentan una vida útil corta que limita su comercialización.

Existen numerosas técnicas encaminadas a mantener e intentar prolongar la calidad y seguridad de los productos mínimamente procesados.

En esta tesis, el caqui persimon (*Diospyros kaki* L.) "Rojo Brillante" y el melón (*Cucumis melo* L.) "Piel de Sapo" se han utilizado en la elaboración de este tipo de productos. El persimon se caracteriza por su corta estacionalidad, produciéndose una gran cantidad en muy poco tiempo debido al desarrollo de las técnicas de eliminación de la astringencia, lo que hace necesario crear nuevas formas de diversificar su comercialización. Por otro lado, el melón, se presenta en forma de grandes piezas dificultando su manejo, lo que conlleva al desarrollo de nuevas formas de presentación que permitan una manipulación más cómoda y sencilla. Concretamente, en este trabajo se ha estudiado la influencia de distintas técnicas en la conservación de los productos mínimamente procesados como son las atmósferas ricas en CO₂, el lavado con lactato cálcico, el envasado en atmósfera modificada pasiva junto con la utilización de aceites esenciales.

La aplicación de una atmósfera rica en CO₂ en las láminas de persimon implicó un aumento en el consumo de O₂ en las muestras lavadas tanto con agua como con lactato cálcico, reduciendo considerablemente la producción de CO₂.

Asimismo, se ha modelizado el comportamiento respiratorio de ambas frutas frescas cortadas a diferentes temperaturas utilizando un modelo de regresión lineal y otro no lineal, observándose que sólo el primero se ajustó bien en ambos casos.

Por otro lado, se estudió la combinación del envasado en atmósfera modificada con el uso de aceites esenciales. En el caso del persimon, los aceites esenciales (limón y tomillo) se aplicaron de manera diferente, bien directamente en el envase o bien mediante la inmersión de los trozos de frutas en una solución donde el aceite esencial se encontraba disperso. La aplicación directa del aceite esencial de limón en el envase a altas concentraciones, tuvo un efecto negativo en la capacidad antioxidante y en el contenido en fenoles totales, lo cual podría estar relacionado con el mayor pardeamiento observado en estas muestras. No obstante, presentó un mayor efecto antimicrobiano que el aceite esencial de tomillo.

Al aplicar los aceites esenciales de canela en hoja y limón junto con el envasado en atmósfera modificada en el melón cortado, se observó una mayor capacidad antioxidante en las muestras tratadas con canela a mayor concentración. A nivel microbiológico, el aceite esencial de limón obtuvo mejores resultados respecto a los microorganismos aerobios mesófilos mientras que el de canela tuvo una mejor actividad antifúngica a altas concentraciones.

ABSTRACT

Nowadays there is a rising trend towards the consumption of minimally processed, due to the current needs of society. Any minimally processed product should be safe, from the microbiological point of view, and keep nutritional and sensory properties from whole fruits and vegetables. However, minimally processed products have a short shelf life which limits its commercialization.

There are many techniques to try to maintain and extend the quality and safety of minimally processed products.

Persimmon (*Diospyros kaki* L.) "Rojo Brillante" and melon (*Cucumis melo* L.) "Piel de Sapo" have been used in this thesis. Persimmon is characterized by its short seasonal. Moreover the recent techniques to remove the astringency have increased its production. As a consequence, it is necessary to create new ways to diversify their marketing. On the other hand, melon has a very big shape which implies remarkable difficulties to manage it. This is the reason why new forms of melon presentation are searched to offer a more convenient ready-to-eat product. Specifically in this work, the influence of different techniques in the conservation of minimally processed products such as CO₂-rich atmospheres, washing with calcium lactate, passive modified atmosphere packaging along with the use of essential oils (EOs) has been studied.

The application of a CO₂-rich atmosphere in sliced persimmon implied an increase in O₂ consumption not only in washed with water samples but with calcium lactate. Besides it significantly reduced CO₂ production.

The respiratory behavior as a function of temperature of both fresh-cut fruit was fitted accurately to a linear regression model but not to the non-linear model.

Furthermore, the combination of modified atmosphere packaging with the use of essential oils has been studied. In the case of persimmon, essential oils (lemon and thyme) were applied in a different way, either directly in the container or by dipping pieces of fruit in a solution where the essential oil was dispersed. The direct application of lemon essential oil at high concentrations in the container had a negative effect on the antioxidant capacity and total phenol content, which could be related to a greater browning observed in these samples. However, thyme essential oil showed antimicrobial effect at high concentrations.

The highest cinnamon leaf essential oil concentration applied in fresh-cut melon implied a greater antioxidant capacity.

According to the microbiological results, lemon essential oil controlled better the growth of mesophilic aerobic whereas cinnamon essential oil had better antifungal activity at high concentrations.

RESUM

Actualment hi ha una tendència creixent cap al consum de productes mínimament processats, per les necessitats actuals de la societat. En tot producte mínimament processat es persegueix mantindre les característiques nutritives, sensorials, organolèptiques de les fruites, hortalisses i verdures senceres de les que s'obtenen. Al seu torn, han de ser segurs a nivell microbiològic. No obstant això, els productes mínimament processats presenten una vida útil curta que limita la seua comercialització. Hi ha nombroses tècniques encaminades a mantindre e intentar prolongar la qualitat i seguretat dels productes mínimament processats.

En esta tesis, caqui persimon (*Diospyros kaki* L.) "Rojo Brillante" i meló (*Cucumis melo* L.) "Piel de Sapo" s'han utilitzat per l'elaboració d'aquest tipus de productes. El persimon es caracteritza per la seua curta estacionalitat, produint-se una gran quantitat en molt poc de temps com a conseqüència del desenvolupament de les tècniques d'eliminació de l'astringència, la qual cosa fa necessari crear noves formes de diversificar la seua comercialització. D'altra banda, el meló, es presenta en forma de grans peces dificultant la seua manipulació, la qual cosa comporta al desenvolupament de noves formes de presentació que permeten una manipulació més còmoda i senzilla. Concretament, en aquest treball s'ha estudiat la influència de distintes tècniques en la conservació dels productes mínimament processats com són les atmosferes riques en CO₂, el llavat amb lactat càlcic, l'envasament en atmosfera modificada passiva junt amb la utilització d'olis essencials (OEs).

L'aplicació d'una atmosfera rica en CO₂ en les làmines de persimon va implicar un augment en el consum d'O₂ en les mostres llavades tant amb aigua com amb lactat càlcic, reduint considerablement la producció de CO₂. Així mateix,

s'ha modelitzat el comportament respiratori de les dos fruites fresques tallades a diferents temperatures utilitzant un model de regressió lineal i un altre no lineal, observant-se que només el primer es va ajustar bé en ambdós casos.

D'altra banda, es va estudiar la combinació de l'envasament en atmosfera modificada amb l'ús d'olis essencials. En el cas del persimon, els olis essencials (llima i timó) es van aplicar de manera diferent, bé directament en l'envàs o bé per mitjà de la immersió dels trossos de fruita en una solució on l'oli essencial es trobava dispers. L'aplicació directa de l'oli essencial de llima en l'envàs a altes concentracions, va tindre un efecte negatiu en la capacitat antioxidant i en el contingut en fenols totals, la qual cosa podria estar relacionada amb el major enfosquiment observat en estes mostres. No obstant això, va presentar un major efecte antimicrobià que l'oli essencial de timó.

Al aplicar els olis essencials de canella en full i llima junt amb l'envasament en atmosfera modificada en el meló tallat, es va observar una major capacitat antioxidant en les mostres tractades amb canella a major concentració. A nivell microbiològic, l'oli essencial de llima va obtindre millors resultats respecte als microorganismes aerobis mesófilos mentre que el de canella va tindre una millor activitat antifúngica a altes concentracions.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

JUSTIFICACIÓN E INTERÉS DEL ESTUDIO	1
I.INTRODUCCIÓN	3
1.FRUTAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS (FMP)	5
1.1.Importancia económica del sector	6
1.2.Procesos degradativos	7
1.3.Respiración de los productos cortados	9
2.TÉCNICAS PARA AUMENTAR LA VIDA ÚTIL DE LAS FMP	11
2.1.Envasado en atmósfera modificada (MAP)	11
2.2.Tratamientos protectores de la textura	13
2.3.Lavado con diferentes agentes antipardeantes	15
2.4.Tratamientos desinfectantes	18
2.4.1.Cloro	18
2.4.2.Ácidos orgánicos	20
2.4.3.Soluciones a base de calcio	21
2.4.4.Peróxido de hidrógeno	21
2.4.5.Ozono	22
3.ACEITES ESENCIALES	24
3.1.Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales y/o de sus componentes	25
3.2.Actividad antioxidante de los aceites esenciales y/o de sus componentes	29
3.3.Efectos organolépticos de los aceites esenciales y/o de sus componentes	31

II.OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO	33
1.OBJETIVOS	35
1.1.Objetivo general	35
1.2.Objetivos específicos	35
1.2.1.Objetivos específicos en caqui	35
1.2.2.Objetivos específicos en melón	37
2.PLAN DE TRABAJO	38
III.ESTUDIOS EN CAQUI	43
1.INTRODUCCIÓN	45
2.MATERIALES Y MÉTODOS	48
2.1.Materias primas	48
2.1.1.Caqui	48
2.1.2.Aceites esenciales	48
2.2.Preparacion de las muestras	48
2.3.Tratamientos	49
2.3.1.Estudio del metabolismo respiratorio en función de la modificación de la atmósfera del espacio de cabeza y de la aplicación de lactato cálcico	50
2.3.2.Modelización del comportamiento respiratorio del caqui mínimamente procesado en función de la temperatura y del tipo de corte geométrico	51
2.3.3.Estudio de la incorporación del aceite esencial en el caqui mínimamente procesado	51
2.4.Análisis composicional	52
2.4.1.Humedad	52
2.4.2.Sólidos solubles	53

2.4.3.Actividad de agua	53
2.4.4.pH	54
2.4.5.Acidez titulable	54
2.5.Determinación de componentes con actividad antioxidante	54
2.5.1.Capacidad antioxidante	54
2.5.2.Fenoles totales	56
2.6.Determinación de la tasa respiratoria	57
2.7.Modelización del comportamiento respiratorio	57
2.7.1.Modelo I	58
2.7.2.Modelo II	58
2.8.Evolución de gases en el espacio de cabeza en envases semipermeables	59
2.9.Propiedades ópticas	61
2.10.Propiedades mecánicas	63
2.11.Análisis microbiológico	64
2.12.Análisis estadístico	66
3.RESULTADOS Y DISCUSIÓN	67
3.1.Estudio del metabolismo respiratorio en función de la modificación de la atmósfera del espacio de cabeza y de la aplicación de lactato cálcico como agente de lavado	67
3.1.1.Estudio de las propiedades composicionales	67
3.1.2.Efecto de la concentración de CO ₂ en el espacio de cabeza y de la aplicación de agentes de lavado sobre el metabolismo respiratorio	71
3.1.3.Estudio de las propiedades ópticas	73
3.1.4.Estudio de las propiedades mecánicas	76
3.2.Modelización del comportamiento respiratorio del caqui	

persimon “Rojo Brillante” en función de la temperatura y del tipo de corte geométrico	79
3.2.1.Estimación de parámetros: Modelo I	81
3.2.2.Estimación de parámetros: Modelo II	86
3.2.3.Verificación del modelo	89
3.3.Influencia de la aplicación del aceite esencial de limón y tomillo en caqui mínimamente procesado	93
3.3.1.Influencia de la incorporación del aceite esencial directamente en el envase	93
3.3.1.1.Evolución de las características composicionales	95
3.3.1.2.Análisis de la capacidad actividad antioxidante y de los fenoles totales	96
3.3.1.3.Evolución de la atmósfera en el interior del envase	101
3.3.1.4.Evolución de las propiedades ópticas	105
3.3.1.5.Evolución de las propiedades mecánicas	110
3.3.1.6.Análisis microbiológico	112
3.3.2.Influencia de la incorporación del aceite esencial en el agua de lavado	115
3.3.2.1.Evolución del análisis composicional	116
3.3.2.2.Evolución del análisis de la capacidad actividad antioxidante y de los fenoles totales	117
3.3.2.3.Evolución de la atmósfera en el interior del envase	120
3.3.2.4.Evolución de las propiedades ópticas	123
3.3.2.5.Evolución de las propiedades mecánicas	126

3.3.2.6.Análisis microbiológico	128
IV.ESTUDIOS EN MELÓN	131
1.INTRODUCCIÓN	133
2.MATERIALES Y MÉTODOS	136
2.1.Materias primas	136
2.1.1.Melón	136
2.1.2.Aceites esenciales	136
2.2.Preparación de muestras	136
2.3.Tratamientos	137
2.4.Análisis composicional	138
2.5.Modelización del comportamiento respiratorio	139
2.6.Evolución del espacio de cabeza en envases semipermeables	139
2.7.Propiedades ópticas	140
2.8.Propiedades mecánicas	140
2.9.Análisis microbiológico	141
2.10.Análisis estadístico	141
3.RESULTADOS Y DISCUSIÓN	142
3.1.Modelización del comportamiento respiratorio del melón “Piel de Sapo” en función de la temperatura	142
3.1.1.Estimación de parámetros: Modelo I	144
3.1.2.Estimación de parámetros: Modelo II	147
3.1.3.Verificación del modelo	150
3.2.Influencia de la aplicación de aceite esencial en la operación de lavado en el melón mínimamente procesado	153
3.2.1.Evolución de las características composicionales	153
3.2.2.Evolución de la atmósfera en el interior del envase	158

3.2.3.Evolución de las características ópticas	164
3.2.4.Evolución de las propiedades mecánicas	169
3.2.5.Análisis microbiológico	173
V.CONCLUSIONES	179
1.Conclusiones de los estudios en caqui	181
2.Conclusiones de los estudios en melón	185
VI.BIBLIOGRAFÍA	187

ÍNDICE DE FIGURAS

III. ESTUDIOS EN CAQUI

Figura III.1. Tasas respiratorias en términos de consumo de O ₂ (A) y emisión de CO ₂ (B) para cada uno de los tratamientos aplicados y concentración de CO ₂ empleado en el espacio de cabeza.	71
Figura III.2. Representación de los planos cromáticos (L*-a*) [A] y (b*-a*) [B] de las rodajas de caqui con diferentes concentraciones de CO ₂ en el espacio de cabeza y diferentes tratamientos de lavado. Los símbolos oscuros corresponden a los valores de las coordenadas de las muestras iniciales.	75
Figura III.3. Diferencias de color de las rodajas de caqui con diferentes concentraciones de CO ₂ en el espacio de cabeza y diferentes tratamientos de lavado.	76
Figura III.4. Propiedades mecánicas de las rodajas de caqui con diferentes concentraciones de CO ₂ en el espacio de cabeza y diferentes	

tratamientos de lavado al inicio y fin del ensayo.	78
Figura III.5. Variación de la concentración de gases en el espacio de cabeza de las muestras de caqui cortadas en cubos a lo largo del tiempo de almacenamiento y en función de la temperatura.	80
Figura III.6. Tasas respiratorias en términos de consumo de O ₂ (A) y emisión de CO ₂ (B) junto con el coeficiente respiratorio (C) en función de las temperaturas empleadas y según del tipo geométrico de corte. La línea discontinua en la figura C indica CR=1 como referencia del cambio metabólico en la respiración del producto.	82
Figura III.7. Ajuste de la ecuación linealizada de Arrhenius según del tipo geométrico de corte para modelo I.	84
Figura III.8. Forma linealizada de la ecuación de Arrhenius de los coeficientes a y b para las láminas de caqui. A y B: coeficientes en términos de consumo de O ₂ , C y D: coeficientes en términos de emisión de CO ₂ .	88
Figura III.9. Forma linealizada de la ecuación de Arrhenius de los coeficientes a y b para los cubos de caqui. A y B: coeficientes en términos de consumo de O ₂ , C y D: coeficientes en términos de emisión de CO ₂ .	88
Figura III.10. Comparación de las tasas respiratorias experimental y predicha realizada a 7 °C para cada uno de los tipos geométricos de corte con el modelo II.	92
Figura III.11. Evolución del contenido en humedad (A) y sólidos solubles (B) de las muestras caqui cortado con aceite esencial de tomillo (AET) y aceite esencial de limón (AEL) incorporado directamente en el envase a lo largo del almacenamiento. La línea discontinúa representa la evolución del control.	95

Figura III.12. Evolución del pH de las muestras caqui cortado con aceite esencial de tomillo (AET) y aceite esencial de limón (AEL) incorporado directamente en el envase a lo largo del almacenamiento. La línea discontinúa representa la evolución del control. 96

Figura III.13. Evolución del % de DPPH inhibido (A) y contenido en fenoles totales (B) expresado en mg de equivalentes de ácido gálico de las muestras caqui cortado con aceite esencial de tomillo (AET) y aceite esencial de limón (AEL) incorporado directamente en el envase a lo largo del almacenamiento. La línea discontinúa representa la evolución del control. 97

Figura III.14. Ejemplo de la evolución de gases (%O₂ y %CO₂) con respecto al tiempo de almacenamiento de las muestras de caqui mínimamente procesado con aceite esencial de tomillo (AET) incorporado en el envase (B, C y D) junto a su control (A). 102

Figura III.15. Ejemplo de la evolución de gases (%O₂ y %CO₂) con respecto al tiempo de almacenamiento de las muestras de caqui mínimamente procesado con aceite esencial de limón (AEL) incorporado en el envase (B, C y D) junto a su control (A). 103

Figura III. 16. Evolución de la luminosidad (L*) de las muestras caqui cortado con aceite esencial de tomillo (AET) y aceite esencial de limón (AEL) incorporado directamente en el envase a lo largo del almacenamiento. La línea discontinúa representa la evolución del control. 106

Figura III.17. Evolución de las coordenadas a* (A) y b* (B) de las muestras caqui cortado con aceite esencial de tomillo (AET) y aceite esencial de limón (AEL) incorporado directamente en el envase a lo largo del almacenamiento. La línea discontinúa representa la evolución del

control.	108
Figura III.18. Evolución del tono (h^*) y del croma (C^*) de las muestras caqui cortado con aceite esencial de tomillo (AET) y aceite esencial de limón (AEL) incorporado directamente en el envase a lo largo del almacenamiento. La línea discontinúa representa la evolución del control.	110
Figura III.19. Evolución de la fuerza (F) máxima expresada en Newton (N) y de la distancia (d) a la cual se produce la misma expresada en milímetros (mm) de las muestras caqui cortado con aceite esencial de tomillo (AET) y aceite esencial de limón (AEL) incorporado directamente en el envase a lo largo del almacenamiento. La línea discontinúa representa la evolución del control.	111
Figura III.20. Evolución del crecimiento de microorganismos aerobios mesófilos de las muestras caqui cortado con aceite esencial de tomillo (AET) y aceite esencial de limón (AEL) incorporado directamente en el envase a lo largo del almacenamiento. La línea discontinúa representa la evolución del control.	112
Figura III.21. Evolución del contenido en humedad (A) y sólidos solubles (B) de las muestras lavadas con aceite esencial de tomillo (AET) y aceite esencial de limón (AEL) a lo largo del almacenamiento. Las línea discontinúas representan los valores de las condiciones iniciales de la materia prima.	116
Figura III.22. Evolución del pH de las muestras lavadas con aceite esencial de tomillo (AET) y aceite esencial de limón (AEL) frente a las lavadas con agua a lo largo del almacenamiento. La línea discontinúa representa el valor inicial de pH de la materia prima.	117
Figura III.23. Evolución del % de inhibición de DPPH (A) y fenoles totales	

(B) expresados como miligramos de equivalentes de ácido málico por 100 gramos de muestra, de las muestras lavadas con aceite esencial de tomillo (AET) y aceite esencial de limón (AEL) frente a las lavadas con agua a lo largo del almacenamiento. Las líneas discontinúas indica los valores de las condiciones iniciales de la materia prima.	119
Figura III.24. Ejemplos de la evolución de gases (%O ₂ y %CO ₂) con respecto al tiempo de almacenamiento de las muestras de caqui mínimamente procesado lavadas con agua (A) y aceite esencial de tomillo (AET: B y C) y de limón (AEL: D y E).	121
Figura III.25. Evolución de la luminosidad de las muestras de caqui mínimamente procesado lavadas con agua y aceite esencial de tomillo (AET) y de limón (AEL) a lo largo del almacenamiento.	123
Figura III.26. Evolución de las coordenadas a* (A) y b* (B) de las muestras de caqui mínimamente procesado lavadas con agua y aceite esencial de tomillo (AET) y de limón (AEL) a lo largo del almacenamiento. La figura C representa el diagrama cromático b*-a* de las muestras lavadas con agua y con los aceites esenciales en el día de su elaboración y al final del almacenamiento, así como la materia prima sin tratar.	124
Figura III.27. Evolución del tono (A) y croma (B) de las muestras de caqui mínimamente procesado lavadas con agua y aceite esencial de tomillo (AET) y de limón (AEL) a lo largo del almacenamiento.	125
Figura III.28. Evolución de la fuerza máxima (N) y la distancia a la que se produjo la misma (B) de las muestras de caqui mínimamente procesado lavadas con agua y aceite esencial de tomillo (AET) y de limón (AEL) a lo largo del almacenamiento.	126

IV. ESTUDIOS EN MELÓN

- Figura IV.1.** Porcentaje de producción de melón en la Comunidad Valenciana del año 2010 (adaptación de los datos de la estadística agrícola de la Conselleria d'Agricultura, Pesca, Alimentació i Aigua, 2012). 133
- Figura IV.2.** Ejemplos de la variación de la concentración de gases en el espacio de cabeza de las muestras de melón cortadas en cubos a lo largo del tiempo de almacenamiento y en función de la temperatura. 143
- Figura IV.3.** Tasas respiratorias (TR) en términos de consumo de O₂ y emisión de CO₂ junto con el coeficiente respiratorio (CR) en función de las temperaturas empleadas. La línea discontinua indica CR=1 como referencia del cambio metabólico en la respiración del producto. 144
- Figura IV.4.** Ajuste de la ecuación linealizada de Arrhenius para el modelo I, tanto en términos de consumo de O₂ (A) como de producción de CO₂ (B). 146
- Figura IV.5.** Forma linealizada de la ecuación de Arrhenius de los coeficientes a y b para los cubos de melón. A y B: coeficientes en términos de consumo de O₂, C y D: coeficientes en términos de emisión de CO₂. 149
- Figura IV.6.** Comparación de las tasas respiratorias de O₂ y CO₂ experimentales (exp) y predichas (pred) realizada a 10 °C con el modelo II. 152
- Figura IV.7.** Evolución de la humedad de las muestras lavadas con aceite esencial de canela (AEC) (A) y aceite esencial de limón (AEL) (B) a lo largo del almacenamiento. Las líneas discontinúas representan la evolución de los controles. 154
- Figura IV.8.** Evolución del contenido en sólidos solubles de las muestras

lavadas con aceite esencial de canela (AEC) (A) y aceite esencial de limón (AEL) (B) a lo largo del almacenamiento. Las líneas discontinúas representan la evolución de los controles. 155

Figura IV.9. Evolución del pH de las muestras lavadas con aceite esencial de canela (AEC) (A) y aceite esencial de limón (AEL) (B) a lo largo del almacenamiento. Las líneas discontinúas representan la evolución de los controles. 156

Figura IV.10. Evolución del porcentaje del DPPH inhibido de las muestras lavadas con aceite esencial de canela (AEC) (A) y aceite esencial de limón (AEL) (B) a lo largo del almacenamiento. Las líneas discontinúas representan la evolución de los controles. 157

Figura IV.11. Ejemplos de la evolución de gases (%O₂ y %CO₂) con respecto al tiempo de almacenamiento de las muestras de melón mínimamente procesado con las distintas concentraciones de aceite esencial de canela (AEC) empleadas (C=100 µL/L, D=250 µL/L, E=500 µL/L y F=1000 µL/L). Las figuras A y B corresponden a los controles no lavado y lavado agua, respectivamente. 159

Figura IV.12. Ejemplos de la evolución de gases (%O₂ y %CO₂) con respecto al tiempo de almacenamiento de las muestras de melón mínimamente procesado con las distintas concentraciones de aceite esencial de limón (AEL) empleadas (C=100 µL/L, D=250 µL/L, E=500 µL/L y F=1000 µL/L). Las figuras A y B corresponden a los controles no lavado y lavado agua, respectivamente. 161

Figura IV.13. Evolución del índice de blancura (IB) de las muestras lavadas con aceite esencial de canela (AEC) (A) y aceite esencial de limón (AEL) (B) a lo largo del almacenamiento. Las líneas discontinúas representan la evolución de los controles. 164

- Figura IV.14.** Evolución de la luminosidad (L^*) de las muestras lavadas con aceite esencial de canela (AEC) (A) y aceite esencial de limón (AEL) (B) a lo largo del almacenamiento. Las líneas discontinúas representan la evolución de los controles. 165
- Figura IV.15.** Evolución de la coordenada a^* de las muestras lavadas con aceite esencial de canela (AEC) (A) y aceite esencial de limón (AEL) (B) a lo largo del almacenamiento. Las líneas discontinúas representan la evolución de los controles. 167
- Figura IV.16.** Evolución de la coordenada b^* de las muestras lavadas con aceite esencial de canela (AEC) (A) y aceite esencial de limón (AEL) (B) a lo largo del almacenamiento. Las líneas discontinúas representan la evolución de los controles. 168
- Figura IV.17.** Evolución de la fuerza (F) máxima expresada en newton (N) de las muestras lavadas con aceite esencial de canela (AEC) (A) y aceite esencial de limón (AEL) (B) a lo largo del almacenamiento. Las líneas discontinúas representan la evolución de los controles. 170
- Figura IV.18.** Evolución de la distancia expresada en milímetros (mm) de las muestras lavadas con aceite esencial de canela (AEC) (A) y aceite esencial de limón (AEL) (B) a lo largo del almacenamiento. Las líneas discontinúas representan la evolución de los controles. 172
- Figura IV.19.** Recuento microbiano de microorganismos aerobios mesófilos expresado como logaritmo decimal de las unidades formadoras de colonia por gramo de producto ($\log \text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$) de las muestras lavadas con aceite esencial de canela (AEC) (A) y aceite esencial de limón (AEL) (B) a lo largo del almacenamiento. Las líneas discontinúas representan la evolución de los controles. La línea continúa roja inferior indica el límite por encima del cual no es satisfactorio y la

superior señala y el límite de caducidad según el RD 3484/2000. 174

Figura IV.20. Recuento microbiano de mohos y levaduras expresadas como logaritmo decimal de las unidades formadoras de colonia por gramo de producto ($\log \text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$) de las muestras lavadas con aceite esencial de canela (AEC) (A) y aceite esencial de limón (AEL) (B) a lo largo del almacenamiento. Las líneas discontinúas representan la evolución de los controles. La línea roja indica el límite establecido por Pascual y Calderón (2000). 176

ÍNDICE DE TABLAS

III. ESTUDIOS EN CAQUI

Tabla III.1. Valores de humedad y contenido en sólidos solubles en las rodajas de caqui al inicio y final de cada ensayo en función de cada tratamiento de lavado y porcentaje de CO_2 en el espacio de cabeza. 68

Tabla III.2. Valores de pH de las rodajas de caqui al inicio y final de cada ensayo en función de cada tratamiento de lavado y porcentaje de CO_2 en el espacio de cabeza. 69

Tabla III.3. Valores de acidez titulable (expresada en gramos de ácido málico en 100 gramos de producto) de las rodajas de caqui al inicio y final de cada ensayo en función de cada tratamiento de lavado y porcentaje de CO_2 en el espacio de cabeza. 70

Tabla III.4. Valores de luminosidad (L^*) y de las coordenadas cromáticas a^* y b^* en las rodajas de caqui al inicio de cada ensayo antes de ser envasadas en las cámaras de respiración. 73

Tabla III.5. Contenido en humedad (x^w), sólidos solubles (x^{ss}) y pH de los

lotes de caqui empleados para cada una de las temperaturas empleadas.	79
Tabla III.6. Valores de la energía de activación, la constante preexponencial y coeficiente de correlación obtenidos de la ecuación de Arrhenius según el tipo geométrico de corte.	85
Tabla III.7. Valores de los coeficientes de regresión (a y b) para el O ₂ y CO ₂ en función de la temperatura y tipo de corte geométrico.	87
Tabla III.8. Valores de la energía de activación (kJ·mol ⁻¹), la constante preexponencial (mL·kg ⁻¹ h ⁻¹) y coeficiente de correlación obtenidos de la ecuación de Arrhenius según del tipo geométrico de corte.	89
Tabla III.9. Tasas respiratorias de O ₂ y CO ₂ obtenidas a nivel experimental y teórica mediante la aplicación del modelo de Arrhenius a 7 °C.	91
Tabla III.10. Fracción másica de agua (x ^w), fracción másica de sólidos solubles (x ^{ss}), pH, fenoles totales expresados en mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) y capacidad antioxidante (% DPPH inhibido).	94
Tabla III.11. Propiedades ópticas en términos de luminosidad (L*) y coordenadas a*y b*y propiedades mecánicas en términos de fuerza (F) máxima expresada en Newton (N) y distancia (d) a la que se produce la misma expresada en milímetros (mm).	94
Tabla III.12. Velocidad de cambio en la concentración de O ₂ (N _{O₂}) y de CO ₂ (N _{CO₂}) en el interior del envase y la relación entre ambas (N _{CO₂} /N _{O₂}).	105
Tabla III.13. Fracción másica de agua (x ^w), fracción másica de sólidos solubles (x ^{ss}), pH, fenoles totales expresados en mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) y capacidad antioxidante (% DPPH inhibido).	115
Tabla III.14. Velocidad de cambio en la concentración de O (N _{O₂}) y de CO ₂ (N _{CO₂}) en el interior del envase y la relación entre ambas (N _{CO₂} /N _{O₂}).	122

Tabla III.15 Recuento de microorganismos aerobios mesófilos de la muestras de caqui lavadas con agua y con aceites esenciales a diferentes concentraciones en el mismo día de fabricación y al final del almacenamiento.	128
---	-----

IV. ESTUDIOS EN MELÓN

Tabla IV.1. Fracción másica de agua (x^w), fracción másica de sólidos solubles (x^{ss}), pH de los lotes de melón empleados para cada una de las temperaturas.	142
---	-----

Tabla IV.2. Valores de la energía de activación (E_a), la constante preexponencial (k) y coeficiente de correlación (R^2) obtenidos de la ecuación de Arrhenius.	146
---	-----

Tabla IV.3. Valores de los coeficientes de regresión (a y b) para el O_2 y CO_2 en función de la temperatura.	148
--	-----

Tabla IV.4. Valores de la energía de activación (E_a), la constante preexponencial (k) y coeficiente de correlación (R^2) obtenidos de la ecuación de Arrhenius.	150
---	-----

Tabla IV.5. Tasas respiratorias de O_2 y CO_2 obtenidas a nivel experimental y teórica mediante la aplicación del modelo de Arrhenius a $10\text{ }^\circ\text{C}$.	151
---	-----

Tabla IV.6. Velocidad de cambio en la concentración de O_2 (N_{O_2}) y de CO_2 (N_{CO_2}) en el interior del envase y la relación entre ambas (N_{CO_2}/N_{O_2}).	163
--	-----

JUSTIFICACIÓN E INTERÉS DEL ESTUDIO

El actual ritmo de vida en el que hay un escaso tiempo para la preparación de comidas, donde el número de personas que conforman las familias es cada vez menor, junto con la preocupación por unos alimentos frescos y saludables, han dado a lugar a los productos mínimamente procesados.

Los productos mínimamente procesados, también llamadas listos para usar, productos frescos cortados o productos IV de gama, son frutas, verduras y hortalizas frescas que han sido lavadas, peladas, cortadas en rodajas, picadas o cortadas en tiras, antes de ser envasadas para su consumo (Izumi y Watada, 1994; Barry-Ryan y O'Beirne, 1998a; Degl'Innocenti et al., 2007).

El principal problema que conlleva este tipo de productos, es el rápido deterioro comparado con el de la pieza intacta. Los productos frescos cortados son sometidos a un estrés físico como el cortado, pelado, cortado en rebanadas, triturado y eliminación de células epidérmicas protectoras (Watada et al., 1996).

Los cambios en la textura y la apariencia de los productos frescos cortados son dos factores fundamentales que van a determinar su aceptabilidad (Toivonen y Brummel, 2008). De igual importancia es evitar el desarrollo de aromas y sabores extraños, así como asegurar la estabilidad microbiológica de los mismos.

Por tanto, para obtener productos de calidad, seguros y con un alto valor nutricional, las industrias necesitan implementar estrategias de mejora, introduciendo o combinando técnicas, especialmente en los procedimientos estándar de sanidad (Artés et al., 2009).

Existen numerosos estudios encaminados a mejorar y prolongar la vida útil de los productos mínimamente procesados (Montero-Calderón et al., 2008; Marrero y Kader, 2006; Soliva-Fortuny et al., 2004; Rojas-Graü et al., 2007; Aguayo et al., 2008; Luna-Guzmán y Barrett, 2000).

El uso del envasado en atmósfera modificada (MAP) en frutas ha sido efectivo en el mantenimiento de la calidad de las frutas, aunque la concentración de CO₂ dentro de los envases puede no ser lo suficientemente alta para actuar como fungicida y bactericida (Serrano et al., 2008). No obstante, la utilización del MAP junto con otros agentes (como sales de calcio o sustancias antioxidantes e incluso agentes antimicrobianos), pueden mejorar aún más la vida útil de estos productos.

El empleo de aceites esenciales puede ser muy útil debido a sus propiedades antioxidantes (Lee et al., 2005; Sacchetti et al., 2005) y antimicrobianas (Dorman et al., 2000; Fisher y Phillips, 2006; Goñi et al., 2009).

En concreto, en esta tesis se ha evaluado el efecto del aumento en la concentración de CO₂, la influencia del tratamiento con lactato cálcico, la modelización de los cambios gaseosos en el espacio de cabeza y la incorporación de distintos aceites esenciales en caqui y melón mínimamente procesado con la finalidad de mantener su calidad y estabilidad.

I.INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

1. FRUTAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS (FMP)

Los productos mínimamente procesados surgieron para atender a una creciente demanda por los consumidores de alimentos frescos, naturales, sin aditivos y de consumo fácil e inmediato (Artés-Hernández et al., 2004). Además, los consumidores esperan que éstos no presenten defectos y estén en un estado óptimo de madurez y fresca, con unas condiciones de apariencia, textura/firmeza, sabor y calidad nutricional (Watada y Qi, 1999).

Estos productos han sido sometidos a diferentes operaciones como limpieza, lavado, cortado y envasado, siendo el cortado el principal responsables del deterioro durante el almacenamiento (Degl'Innocenti et al., 2007). Las heridas en los tejidos inducen a una serie de desórdenes fisiológicos que han de ser minimizados para obtener un producto fresco de calidad (Soliva-Fortuny y Martín Belloso, 2003). Por otro lado, los productos mínimamente procesados tienen una estructura física que los hacen susceptibles a la invasión microbiológica, lo cual implica que la actividad microbiológica junto con la fisiológica tendría un papel importante en la degradación de la calidad durante el almacenamiento (Ragaert et al., 2007). Por tanto, la presencia de superficies cortadas, la estabilidad microbiológica y el metabolismo activo del tejido son factores que van a afectar a este tipo de productos, siendo el deterioro de los mismos al mismo tiempo autolítico y microbiológico (Jacksens et al., 2004).

Con la finalidad de alargar la vida útil y mantener la calidad de estos productos se pueden aplicar distintas técnicas de conservación. No obstante, el estado de madurez junto con la temperatura de almacenamiento son factores también importantes en el mantenimiento de la calidad (Gorny et al., 1998). De hecho,

Barry-Ryan y O'Beirne (1998b), obtuvieron una mayor retención de ácido ascórbico total durante el almacenamiento a 3 °C frente a 8 °C en lechuga rallada y por otro lado, también es importante la temperatura para reducir la velocidad del crecimiento microbiano. Izumi y Watada (1994) registraron un aumento en el recuento microbiano durante el almacenamiento de zanahoria cortada en tiras para todas las temperaturas empleadas, siendo este aumento mayor a mayor temperatura. Por otro lado, la madurez es un atributo importante en la calidad de la fruta fresca cortada, ya que las frutas inmaduras carecen de una buena calidad sensorial, mientras que la fruta madura en exceso tiene una vida útil limitada (Watada y Qi, 1999).

1.1. Importancia económica del sector

Según datos del 2005, el mercado de productos de IV Gama se encontraba liderado por Estados Unidos con el 85% de ventas frente al 7% registrado en Europa (López, 2010). No obstante, su expansión en Europa ha sido mucho más rápida en el mercado francés e inglés que en España (Fruit logística, 2011). A nivel nacional, la IV Gama se inició en los años 80 en Navarra, extendiéndose al resto de las comunidades y adquiriendo una mayor importancia dentro del sector hortofrutícola nacional, de modo que en los últimos años se ha extendido a otras zonas de producción como la Comunidad Valenciana, Andalucía, Cataluña y Murcia (Fruit logística, 2008). En España estos productos tienen una gran demanda para empresas de catering y restaurantes, tanto de comidas rápidas y preparadas, como de elevada categoría, para comedores de empresas, centros de enseñanza, hospitales o cuarteles y cada vez más para los propios hogares (Artés-Hernández et al., 2004).

AFHORLA es la Asociación Española que agrupa a los fabricantes de Frutas y Hortalizas lavadas, listas para su empleo. Esta Asociación nació en el 2005 para responder a las necesidades productivas y económicas. Está integrada por empresas relacionadas con el sector y que representan más del 95% del mercado español de IV Gama (AFHORLA, 2012).

En la producción española de IV Gama, la lechuga supondría un 60% del comercio, seguido de las ensaladas (17%) y espinacas (7%), según datos de Artés-Hernández et al. (2004).

En el 2008 (según datos de AFHORLA), unos 7,7 millones de hogares españoles compraron, al menos una vez al año, productos de IV Gama, situándose la media de compra entorno a los 2,8 kg al año (Fruit logística, 2010). En el periodo de enero a agosto del 2011, las ventas de frutas y verduras de IV Gama en España ascendieron a 54,6 millones de kilos, alcanzando los 303,8 millones de euros, lo cual implicó un 5,5 % más que en el 2010 durante el mismo periodo (Fruit logística, 2012).

1.2. Procesos degradativos

La calidad de un producto se diferencia por las propiedades sensoriales, como el color, firmeza y sabor, por lo que cambios en estas propiedades podrían influir en la vida útil y aceptabilidad (Krasaekoopt y Bhandari, 2011).

Si un producto se presenta con una apariencia blanda o flácida puede conllevar al rechazo de los consumidores antes de su consumo (Rico et al., 2007a). La textura está relacionada en gran medida por la anatomía de física del tejido, particularmente por el tamaño, forma y empaquetado celular, el espesor y la fuerza de la pared celular y el grado de adhesión célula a célula, junto con el estado de turgencia (Toivonen y Brummell, 2008).

Los cambios en la textura están relacionados tanto con procesos enzimáticos como no enzimáticos (Rico et al., 2007a). Enzimas como la pectinmetilesterasa (PME) y la poligalacturonasa (PG) pueden degradar la pectina dando a lugar a productos de textura blanda. Sin embargo, la adición de cationes como el Ca^{2+} en forma de cloruro de calcio o de lactato de calcio mejora la textura ya que permite la formación de enlaces entre el calcio y la pectina (Krasaekoopt y Bhandari, 2011). En este sentido, la combinación de cloruro cálcico o lactato cálcico con las enzimas puede retardar el ablandamiento del producto. De hecho, la PME elimina grupos metil-éster haciendo que, el homogalacturonano que forma parte de las pectinas se cargue negativamente, por lo que en presencia de calcio, los residuos de ácido galacturónico cargados negativamente de diferentes moléculas de homogalacturonano se asocian a través del Ca^{2+} formando el pectato de calcio que se suma a la fuerza de la pared celular y proporciona mayor fuerza intercelular (Toivonen y Brummell, 2008). No obstante, la pectina es desmetilada parcialmente por la acción de la PME y posteriormente despolimerizada por la PG provocando la pérdida de firmeza (Vu et al., 2004).

Las heridas producidas en los productos frescos cortados, como pueden ser el cortado en rodajas, cubos, triturado o el pelado, son unos de los principales factores de estrés (Hodges y Toivonen, 2008). Las heridas pueden inducir el metabolismo de los fenilpropanoides y dar como resultado la acumulación de compuestos fenólicos y el pardeamiento de los tejidos (Saltveit et al., 2000).

Por otro lado, el procesado de este tipo de productos implica una serie de operaciones que permite a los enzimas (clorofilasa, peroxidasa y polifenoloxidasas) entrar en contacto con los sustratos, principalmente sobre la superficie de los productos, produciendo reacciones enzimáticas relacionadas con el deterioro del color (Dorantes-Álvarez y Chiralt, 2000). Las células y

tejidos de las frutas y verduras, contienen sustancias naturales responsables del color, como son los antocianos, clorofilas y compuestos fenólicos, que podrían verse afectados por diferentes reacciones químicas y bioquímicas durante el procesado y almacenamiento (Dorantes-Álvarez y Chiralt, 2000).

Además, en los productos frescos cortados se produce una pérdida de peso como consecuencia de la exposición de tejidos internos y la ausencia de piel o cutícula, por lo que es importante que la humedad relativa de los films de envasado sea alta (Watada y Qi, 1999).

Junto con los procesos de deterioro autolítico (fisiológico), han de tenerse en cuenta los microbiológicos. En general, los recuentos de la población microbiológica de los productos mínimamente procesados oscilan desde 3,0 a 6,0 log UFC·g⁻¹ (Ragaert et al., 2007). El alto contenido en azúcares de las frutas implica un deterioro más rápido de las mismas cuando son cortadas que en el caso de las verduras de IV gama. No obstante, la mayor acidez de las frutas podría ayudar a suprimir el crecimiento bacteriano, pero no el de mohos y levaduras (Beaulieu y Gorny, 2001).

1.3. Respiración de los productos cortados

El metabolismo respiratorio permite la producción de energía necesaria para los procesos bioquímicos de las plantas. La respiración aerobia implica la oxidación de estas reservas orgánicas (carbohidratos, lípidos y ácidos orgánicos) a otras más simples, la formación de agua y CO₂ así como la liberación de energía (Fonseca et al., 2002a). La respiración está relacionada con la producción de energía y de moléculas intermedias que permiten el mantenimiento de múltiples reacciones anabólicas que son esenciales para el mantenimiento de la organización celular e integridad de las membranas de las

células vivas. Además, el proceso global de la respiración aeróbica implica la regeneración de trifosfato de adenosina (ATP) a partir de difosfato de adenosina (ADP) y fosfato inorgánico (Pi) (Kader y Saltveit, 2002).

La glicólisis, el ciclo de los ácidos tricarbónicos, y el sistema de la cadena de transporte electrones son rutas de la respiración aeróbica (Fonseca et al., 2002a).

La respiración anaerobia implica la transformación de hexosas en CO₂ y alcohol en ausencia de O₂. El piruvato que se forma en la glicólisis es descarboxilado y se forma CO₂ y acetaldehído y éste es convertido en etanol y se regenera el nicotinamida adenina dinucleótido (NAD⁺). En algunos casos, el NAD⁺ es regenerado durante la conversión de piruvato a lactato (Kader y Saltveit, 2002).

La respiración metabólica postcosecha de los productos frescos depende de la temperatura de almacenamiento así como de la composición de gases y etileno (Mahajan y Goswami, 2001).

Un factor a tener en cuenta, es la clasificación de los frutos como climatéricos o no. Los frutos climatéricos (como el persimon, melón, manzana, kiwi y tomate) presentan un incremento en las tasas de CO₂ y etileno coincidiendo con la maduración, mientras que las no climatéricas (como la fresa, cereza, limón, granada) no muestran cambios generalmente en su producción de CO₂ y etileno durante la maduración (Kader, 2002).

Watada et al. (1996) compararon las tasas respiratorias de los productos intactos y recién cortados de varias frutas y verduras, a diferentes temperaturas. Las tasas de respiración obtenidas en los productos frescos cortados fueron en general mayores a las de las piezas intactas y además se incrementaron con la temperatura. Por otro lado, García et al. (2000) midieron la intensidad respiratoria en términos de producción de CO₂ de naranjas

cortadas en rodajas de 1 cm de espesor y en granos de granada pelada, mantenidos a 4 °C. La intensidad respiratoria fue mayor en las rodajas de naranjas. Esto fue relacionado con el mayor procesamiento de las naranjas que fueron cortadas mientras que los granos de la granada permanecieron intactos. El estrés físico estimuló la intensidad respiratoria de los productos frescos.

Por otro lado, daños en las células y tejidos inducen una elevada tasa de producción de etileno, lo que podría estimular la respiración y consecuentemente acelerar el deterioro y la senescencia y promover la maduración de las frutas climatéricas (Brecht, 1995). Además, existe en general una relación inversa entre las tasas respiratorias y la vida postcosecha de los productos. A mayor tasa de respiración, más precedero es el producto y por tanto, un vida postcosecha menor (Kader y Saltveit, 2002; Kader, 2002).

2. TÉCNICAS PARA AUMENTAR LA VIDA ÚTIL DE LAS FMP

2.1. Envasado en atmósfera modificada (MAP)

El envasado en atmósfera modificada (MAP) es una de las técnicas más utilizadas en la conservación de los productos mínimamente procesados. Las frutas y verduras son productos que continúan respirando, por lo que en el MAP es muy importante la interacción entre el material de envasado con el producto, ya que si la permeabilidad del film para los gases (O_2 y CO_2) se adapta a la respiración del producto, se puede establecer una atmósfera de equilibrio en el envase y se incrementará la vida útil del producto (Sandhya, 2010).

Por tanto, este tipo de envasado implica cambios gaseosos en el espacio de cabeza del envase durante el almacenamiento, debido a la respiración del producto y a la permeabilidad del envase a los gases. El MAP reduce la tasa de respiración y la producción de etileno, retrasa el ablandamiento y los cambios que se producen en el producto, ya que crea y mantiene una microatmósfera óptima en el interior del envase (Lee et al., 1991). Este tipo de envasado difiere de la atmósfera controlada (AC), ya que en la primera no se produce un control externo en la concentración de gases que rodea al producto sino que depende del equilibrio dinámico entre el metabolismo del fruto y la permeabilidad del envase (Romojaro et al., 1996).

Factores que influyen en la atmósfera de equilibrio son la intensidad respiratoria del fruto (existen variaciones entre especies, variedades y el estado de madurez), temperatura (la intensidad respiratoria aumenta en función directa con la temperatura) y la permeabilidad del film (Romojaro et al., 1996).

El crecimiento microbiano en los alimentos depende tanto de factores intrínsecos del propio alimento como extrínsecos asociados con el ambiente de almacenamiento. La temperatura y la composición gaseosa del ambiente son dos factores extrínsecos muy importantes que pueden ser controlados con el MAP para retrasar el deterioro y aumentar la vida útil (Parry, 1993). Soliva-Fortuny et al. (2004) estudiaron el efecto del MAP sobre la microbiología de cubos de manzanas de la variedad "Golden Delicious". Una atmósfera pobre en O₂ o/y rica en CO₂, no tuvieron efectos fungicidas ni bactericidas, aunque el producto fue estable microbiológicamente para 30 días de almacenamiento bajo 0 kPa de O₂ y envasadas con un film de 15 cm³·m⁻²·24 h⁻¹·bar⁻¹. El almacenamiento a altas concentraciones en CO₂ fue efectivo en la

conservación microbiológica pero pudo dar a lugar a un crecimiento en la flora anaerobia, lo que limitaría la comerciabilidad.

2.2. Tratamientos protectores de la textura

La aplicación de tratamientos de calor ha sido utilizada para la estabilización de alimentos sin utilizar productos químicos, debido a la capacidad de destruir microorganismos e inactivar enzimas (Martín–Diana et al., 2007). Los tratamientos sobre la firmeza obtenida con tratamientos por calor, bien aplicados solo o en combinación con sales de calcio, se ha atribuido a la activación de la pectinmetilesterasa por calor (PME) o por el incremento de la difusión del calcio dentro de los tejidos a temperaturas más altas (Bartolome y Hoff, 1972; García et al., 1996). La activación de la PME por calor suave en verduras, desmetila las pectinas de la pared celular y mejora la firmeza del tejido (Anthon y Barret, 2006) ya que forma grupos aniónico COO^- que se combinan con el catión Ca^{+2} , formando enlaces (García et al., 1996). De esta manera, Martín–Diana et al. (2007) mediante la aplicación de vapor consiguieron mantener mejor las propiedades de textura así como la apariencia en la lechuga cortada frente al tratamiento con cloro. Por otro lado, Aguayo et al. (2008) trataron el melón cortado con cloruro de calcio (CaCl_2) al 0,5% tanto en agua fría (4 °C) como en agua caliente (60 °C) durante 1 minuto, comparándolo con los trozos de melón tratados con agua destilada en las mismas condiciones. Al aplicar CaCl_2 a 60 °C, consiguieron retrasar la pérdida de firmeza frente al resto de los tratamientos y presentaron la mayor concentración de calcio unido. Rico et al. (2007b) compararon el efecto del agua clorada con el tratamiento de lactato de calcio a 25 y 50 °C sobre zanahoria cortada en rodajas. La actividad de la PME fue menor en las

muestras tratadas con cloro frente a las tratadas con lactato de calcio. Además las tratadas con lactato de calcio a 50 °C, presentaron valores mayores de PME en comparación a las lavadas a 25 °C. Por otro lado, la microscopía óptica reveló una mayor definición de la pared celular en las muestras tratadas con lactato de calcio a 50 °C tras 10 días de almacenamiento. El microscopio electrónico de barrido (Cryo-SEM) mostró una mayor turgencia de las células y un menor grado de contracción en las muestras lavadas con lactato de calcio a 50 °C tras 10 días. También Martín-Diana et al. (2006) observaron mediante Cryo-SEM, una mayor pérdida de turgencia en las muestras de lechuga cortadas y tratadas con cloro en contraposición a las tratadas con lactato de calcio tanto a temperatura ambiente como a 50 °C, tras 1 día de almacenamiento. Esto lo asociaron al efecto que el calcio ejerce en el mantenimiento de la estructura de la pared celular mediante su interacción con el ácido péctico para formar pectato cálcico en la pared celular. Además, tras 10 días de almacenamiento a 4 °C, las muestras tratadas con cloro presentaron una reducción en el tamaño celular posiblemente asociado a la pérdida de turgencia. También observaron un avanzado estado de plasmólisis y/o de contracción de las células tratadas con cloro y con lactato de calcio a temperatura ambiente, mientras que las tratadas a 50 °C con lactato cálcico mantuvieron mejor la estructura al final del almacenamiento.

Por otro lado, también existen numerosos estudios en los que se ha empleado sales de calcio, sin aplicar calor, para mantener la textura de los productos frescos cortados (Rosen y Kader, 1989; Luna-Guzmán y Barret, 2000; Saftner et al., 2003; Alandes et al., 2009). Así por ejemplo, Alandes et al. (2009) fortificaron la estructura de las peras cortadas en cubos de la variedad “Flor de Invierno” con lactato de calcio, manteniendo el paquete fibrilar de la pared celular y reforzando el contacto célula a célula, lo cual se relacionó con la

formación de pectato de calcio que contrarrestó el aumento de la actividad de la PME.

2.3. Lavado con diferentes agentes antipardeantes

El pardeamiento tisular es una de las mayores causas de pérdida de calidad en los productos frescos cortados, estando influenciado por la concentración de componentes fenólicos y otros factores como la actividad de la polifenoloxidasas (PPO) y la peroxidasa (POD). Así, Rico et al. (2007c) estudiaron el efecto del lavado con ozono (O_3), el tratamiento con lactato de calcio a 50 °C y la combinación de éstos sobre la lechuga fresca cortada. Las muestras tratadas con O_3 y la combinación de O_3 y lactato de calcio disminuyeron la actividad enzimática de la PPO frente al tratamiento únicamente con lactato. Este efecto lo atribuyeron al alto potencial de oxidación del O_3 en comparación al lactato. Las muestras tratadas con O_3 y las del tratamiento combinado obtuvieron también una menor actividad de la POD, pero solamente durante los 3 primeros días de almacenamiento.

Por otro lado, el ácido ascórbico o sus derivados han sido utilizados en numerosos estudios en frutas en concentraciones comprendidas entre el 0,5% y el 4% (Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2003). El ácido ascórbico es un gran inhibidor del pardeamiento enzimático, ya que es capaz de reducir las o-quinonas formadas por la oxidación de los polifenoles debido a la acción de la PPO. Como consecuencia, el ácido ascórbico es oxidado a ácido dehidroascórbico (Piližota y Šubarić, 1998). La familia de los eritorbatos, el ácido eritórbico y eritorbato sódico son estereoisómeros de los ascorbatos y tienen una función antioxidante similar, actuando como agentes reductores, oxidándose en los alimentos (Lambrecht, 1995). Son et al. (2001) analizaron el

efecto de las disoluciones de ácido ascórbico y sus derivados (al 1%) en rodajas de manzanas. Al principio, todos parecían ser muy efectivos inhibiendo el pardeamiento. Sin embargo, cuando el poder reductor del ácido ascórbico se agotó en 20 minutos, un color marrón se desarrolló rápidamente. No obstante, el ácido ascórbico 2-fosfato fue el más potente tras 3 horas, con mejores resultados.

Por otro lado, el 4-hexilresorcinol reacciona con la PPO y detiene la reacción enzimática en su fase más temprana (Piližota y Šubarić, 1998). Son et al., (2001) observaron que el tratamiento con una disolución de 4-hexilresorcinol (0,1%) de rodajas de manzanas fue muy efectivo previniendo su pardeamiento transcurridas 3 horas, sin provocar cambios en los valores de luminosidad. La cisteína es otro agente reductor que puede formar compuestos al reaccionar con sustratos fenólicos como el catecol y además, reduce a las quinonas (Dorantes-Álvarez y Chiralt, 2000).

Además, los ácidos carboxílicos como el ácido cítrico, oxálico y málico han mostrado efectos inhibitorios sobre el pardeamiento enzimático. Son et al., (2001), midieron el pardeamiento de rodajas de manzanas tras 3 horas de haber sido tratadas previamente con diferentes disoluciones de ácidos carboxílicos a la misma concentración (1%). La aplicación de los ácidos oxálico, oxalacético, tartárico y malónico fueron los más efectivos inhibiendo el pardeamiento y además, mostraron un ligero cambio en el color. Los efectos inhibitorios de estos ácidos, fueron mejores que el del ácido ascórbico a la misma concentración. Del mismo modo, el ácido oxálico y oxalacético presentaron una actividad antipardeante mucho más potente que el ácido cítrico, por lo que podrían ser utilizados en concentraciones más bajas en rodajas de manzanas.

Existen muchos estudios donde se combinan distintos agentes antipardeantes con la finalidad de alargar la vida útil de los productos frescos cortados (Sapers y Miller, 1998; Sanchís et al., 2011). Como ejemplo, Gorny et al. (2002) consiguieron inhibir el oscurecimiento de rodajas de peras durante 8 días de almacenamiento a 0 °C mediante el tratamiento de éstas con disoluciones que contenían ácido ascórbico, lactato de calcio y cisteína y estaban ajustadas a un pH de 7. Por otro lado, Buta et al. (1999) para evitar el pardeamiento de rodajas de manzanas debido a la oxidación de los compuestos fenólicos, las trataron con disoluciones de 4-hexilresorcinol, ácido isoascórbico, N-acetilcisteína junto con el propionato de calcio. Este tratamiento dio a lugar a un incremento significativo en el tiempo de almacenamiento, manteniendo la apariencia de las mismas esencialmente sin cambios durante 4 semanas a 5 °C. El propionato de calcio permitió aumentar la duración del almacenamiento en frío para las dos temperaturas empleadas (5 y 10 °C) en comparación a la misma formulación pero con CaCl₂. Son et al. (2001), observaron un efecto sinérgico cuando trataron las rodajas de manzanas con distintos agentes antipardeantes. Precisamente, cuando se combinó las disoluciones de ácido oxálico al 0,2% junto con un 1% de ácido ascórbico o de ácido eritórbico hubo un fuerte efecto sinérgico sin cambios en el color a las 3 horas del tratamiento. Sin embargo, la combinación del ácido oxálico con el ácido cítrico fue menos efectiva que las anteriores a pesar de presentar efecto sinérgico.

Por otro lado, cuando el pH del medio está comprendido entre 5 y 7, la PPO presenta una actividad óptima, por lo que adicificantes podrían inhibir la acción de la enzima, aunque la disminución de pH podría afectar al sabor del producto de un modo negativo (Piližota y Šubarić, 1998). Guerrero-Beltrán et al. (2005) obtuvieron una menor actividad de la PPO, a menor pH (3,5) en el puré de mango y el cambio de color fue más lento para este pH. Por otro lado,

desinfectantes como el clorito de sodio acidificado podrían controlar la reacción de pardeamiento en manzanas frescas cortadas debido a su bajo pH ($\approx 2,5$) (Luo et al., 2011). De hecho, Luo et al. (2011) compararon el efecto de distintos agentes antipardeantes en manzanas frescas cortadas, de modo que a pesar del descenso generalizado de luminosidad en todas las muestras durante el almacenamiento, aquellas que habían sido tratadas con clorito de sodio y con la combinación de clorito de sodio y cloruro de calcio, mantuvieron los valores de luminosidad por encima de los demás tratamientos. Además, todos los tratamientos que contenían clorito de sodio (clorito de sodio, clorito de sodio acidificado, clorito de sodio junto con cloruro de calcio), cloruro de calcio o ascorbato de calcio disminuyeron significativamente la actividad de la PPO respecto a las lavadas únicamente con agua o con ácido cítrico.

2.4. Tratamientos desinfectantes

2.4.1 Cloro

Los productos químicos a base de cloro, en particular el cloro líquido e hipoclorito, son probablemente los desinfectantes más utilizados para la descontaminación de los productos frescos (Rico et al., 2007a).

El cloro tiene un amplio espectro de actividad, pudiendo actuar sobre bacterias, mohos, levaduras y virus (Krasaekoopt y Bhandari, 2011). El uso del cloro para la cloración del agua puede ser obtenida de las siguientes 3 formas: cloro gas, hipoclorito de calcio e hipoclorito de sodio (Boyette et al., 1993). Normalmente el hipoclorito de sodio es utilizado a las concentraciones 50 a 200 partes por millón (ppm) (Sapers, 2009).

La cloración es un proceso químico dinámico en el que la eficacia depende de una serie de factores como el pH, la temperatura, materia orgánica, tiempo y estado de crecimiento del patógeno (Boyette et al., 1993). Dependiendo del pH, las disoluciones de hipoclorito contienen proporciones variables del ión hipoclorito y del ácido hipocloroso, el cual tiene una gran actividad bactericida (Sapers, 2009). Sin embargo, los iones hipoclorito son relativamente inactivos (Boyette et al., 1993). El ácido hipocloroso, es un agente muy oxidante que destruye los microorganismos por la alteración de sus paredes celulares (Krasaekoopt y Bhandari, 2011).

Según Boyette et al. (1993) la actividad del cloro se incrementa a mayor temperatura de la disolución. Así, Delaquis et al. (2004), compararon el efecto antimicrobiano del agua clorada a diferentes concentraciones de cloro (0, 25, 50, 75 y 100 mg·L⁻¹ de cloro total) y a diferentes temperaturas (4 y 50 °C) en la lechuga fresca cortada. La exposición a 50 °C fue suficiente para inactivar a aquellos microorganismos más sensibles al calor, ya que las muestras tratadas sin cloro presentaron una reducción de la población microbiana respecto a las no lavadas y las tratadas sin cloro a 4 °C. Además, la aplicación de cloro a 50 °C mejoró ligeramente este efecto. La efectividad del cloro depende del tiempo de exposición, tratamientos cortos son menos efectivos que los largos, aunque exposiciones de soluciones fuertes de cloro durante tiempos prolongados pueden provocar alteraciones (Boyette et al., 1993). Delaquis et al. (2004) observaron que temperaturas más altas de 50 °C con tiempos de exposición prolongados, dieron lugar a la aparición de daño tisular en la lechuga cortada. Las consecuencias de un excesivo calor quedaron reflejadas por una apariencia traslúcida y exudación.

Por otro lado, el clorito de sodio acidificado está formado por el clorito de sodio y el ácido cítrico. Su actividad biocida es debida a la formación de ácido

cloroso, que posee una fuerte capacidad oxidante con un amplio espectro germicida (Krasaekoopt y Bhandari, 2011). Así, Luo et al. (2011) al desinfectar los trozos de manzana que habían sido inoculados con *Escherichia coli*, obtuvieron una reducción significativa de esta bacteria con los tratamientos que contenían clorito de sodio (clorito de sodio, clorito de sodio acidificado y cloruro de calcio).

Por otro lado, las disoluciones de cloro pueden ser corrosivas especialmente a pH bajo, pudiendo acortar la vida útil de tanques y equipos de acero inoxidable utilizados en las operaciones de tratamiento (Sapers, 2009). Además, el cloro puede reaccionar con distintos compuestos orgánicos, por lo que aumenta el riesgo de que se produzcan trihalometanos (THMs), compuestos carcinógenos para el ser humano (Sánchez, 2008). Esto hace necesario buscar alternativas al tratamiento con cloro de los productos mínimamente procesados.

2.4.2. Ácidos orgánicos

Los ácidos orgánicos como el ácido láctico, cítrico, acético y ascórbico pueden actuar también previniendo el crecimiento microbiano. El modo de acción de estos ácidos es atribuido a la reducción directa del pH, depresión del pH interno de las células microbianas por ionización de la molécula de ácido no disociado, o por la interrupción en el transporte de sustratos debido a la alteración de la permeabilidad de la membrana celular. Además, podrían inhibir la oxidación del NADH, eliminando el suministro de agentes reductores al sistema de transporte de electrones (Beuchat, 2000). Uyttendaele et al. (2004) evaluaron el efecto antimicrobiano del ácido láctico al 2% sobre zanahoria rallada que había sido inoculada con *Aeromonas*. Tras la descontaminación con el ácido láctico, se produjo una reducción inmediata de

Aeromonas y su crecimiento estuvo controlado durante toda su vida útil. Además, la flora psicotrónica autóctona disminuyó en comparación a las muestras control, permaneciendo a niveles más bajos durante toda la vida útil. Cabe destacar que su aplicación no produjo sabor ácido y las propiedades organolépticas fueron satisfactorias.

2.4.3. Soluciones a base de calcio

En diversos estudios se ha descrito el efecto que tienen las sales de calcio frente al crecimiento microbiano en productos vegetales mínimamente procesados. Aguayo et al. (2008) registraron un recuento menor en los trozos de melón tratados con CaCl_2 al 0,5% y a una temperatura de 60 °C tras 8 días de almacenamiento. Este efecto inhibitorio del calcio lo relacionaron con la estabilidad de la pared celular mediante el calcio iónico y las cadenas de poligalacturonasa. Este comportamiento también fue observado por Izumi y Watada (1994), quienes obtuvieron un recuento microbiano menor en zanahorias cortadas en 4-hexilresorcinol tiras y tratadas solamente con un 1% de CaCl_2 o junto con el hipoclorito sódico para todas las temperaturas estudiadas (0, 5 y 10 °C). Asimismo el calcio retardó el crecimiento microbiano en pomelo mínimamente procesado (Moraga et al., 2009), mango mínimamente procesado (Torres et al., 2008) y en rodajas de manzana (Abbott et al., 1989).

2.4.4. Peróxido de hidrógeno

El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) tiene actividad bactericida e inhibitoria debido a sus propiedades como oxidante (Parish et al., 2003). El efecto citotóxico del

H₂O₂ sería debido a su capacidad para formar especies de oxígeno reactivas y más citotóxicas como el radical hidroxilo, el cual es un gran oxidante que puede iniciar la oxidación de biomoléculas (Juven y Pierson, 1996). Se descompone lentamente en agua y O₂. Este proceso está acelerado por el incremento de la temperatura y la presencia de catalizadores como la catalasa, lactoperoxidasa y metales pesados (DeMan, 1999).

Sapers y Sites (2003) trataron con un 1% de H₂O₂, manzanas inoculadas con *E. coli*, durante 15 o 30 minutos a 20 o 40 °C, dando a lugar a una reducción de la población microbiana de 3 unidades logarítmicas (los factores tiempo de exposición y temperatura tuvieron poco o ningún efecto). Además, la aplicación de un 1% de H₂O₂ a 20 o 40°C no produjo decoloración de la piel de las manzanas. No obstante, el tratamiento (1% de H₂O₂ a 20 °C durante 15 minutos) no fue tan efectivo reduciendo la población de *E.coli* en melones cantalupos inoculados. Por otro lado, Ukuku (2004) al aplicar un lavado superficial en melones cantalupo y honeydew con un 2,5% y un 5% de H₂O₂, obtuvo inicialmente una reducción significativa de la microflora autóctona. Además la población aerobia de los trozos de melón obtenidos de las piezas enteras tratadas, fue inicialmente inferior a los obtenidos a partir de melones no tratados. El lavado con H₂O₂ antes de la preparación de productos frescos cortados redujo la transferencia de *Salmonella* de la corteza a la pulpa en melones inoculados con esta bacteria.

2.4.5. Ozono

El ozono (O₃) es una molécula triatómica altamente inestable, que se forma por la adición de un átomo de oxígeno al oxígeno molecular diatómico (O₂).

Esto se consigue haciendo pasar al O_2 a través de una carga eléctrica (Güzel-Seydim et al., 2004a).

El O_3 es un fuerte agente oxidante y un potente desinfectante, que puede ser aplicado a los alimentos en forma de gas o disuelto en el agua (Najafi y Khodaparast, 2009). Debido a su inestabilidad, se degrada rápidamente a su forma de O_2 molecular y libera un átomo libre de oxígeno (O^\bullet). Éste se puede combinar con otro O^\bullet para formar una molécula de O_2 o reaccionar con un compuesto químico causando la oxidación (Güzel-Seydim et al., 2004a).

La inactivación por O_3 es un proceso complejo que ataca a varios constituyentes de la membrana y pared celular, de modo que tanto la molécula de O_3 como los radicales libres producidos de su descomposición, juegan un papel importante en el mecanismo de la inactivación (Pascual et al., 2007).

Najafi y Khodaparast (2009) estudiaron el efecto del O_3 gas aplicado en tres concentraciones diferentes (1, 3 y 5 ppm) durante diferentes periodos de tiempo (15, 30, 45 y 60 minutos) en dátiles. Concluyeron que la aplicación de O_3 durante una hora a 5 ppm podría utilizarse para reducir las bacterias coliformes y el *S. Aureus*. No obstante, necesitarían tiempos de exposición más prolongados para eliminar las bacterias mesófilas totales así como mohos y levaduras. Khadre y Yousef (2001), demostraron la capacidad que tenía el O_3 aplicado en agua y a bajas concentraciones para reducir de forma significativa el recuento de esporas bacterianas frente al peróxido de hidrógeno. Además, la microscopía de transmisión electrónica reveló que las esporas tratadas con O_3 presentaban daños en la capa superficial, en la capa externa de la espora y en cierta medida en la capa interna.

El O_3 es un agente desinfectante de gran interés ya que, como se ha comentado, se descompone rápidamente en O_2 sin dejar residuos y al

reaccionar con componentes orgánicos, los subproductos a los que podría dar lugar son cetonas, aldehídos o ácidos carboxílicos que no plantearían problemas para la salud (Pascual et al., 2007). No obstante, se trata de un gas cuya toxicidad varía en función del tiempo de exposición y concentración (Pascual et al., 2007). Por este motivo, es importante su monitorización para aquellas personas que pudieran estar en contacto con el mismo (Pascual et al., 2007; Güzel-Seydim et al., 2004b; Shirk, 2000).

3. ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales son líquidos oleosos aromáticos obtenidos de diversas partes de las plantas (Burt, 2004). Se caracterizan por un olor fuerte y son formados por plantas aromáticas como metabolitos secundarios (Bakkali et al., 2008).

En la naturaleza, los aceites esenciales juegan un papel importante en la protección de las plantas como antibacterianos, antivirales, antifúngicos, insecticidas y también frente a herbívoros mediante la reducción de su apetito por tales plantas (Bakkali et al., 2008).

Compuestos como el linalol, eugenol, limoneno, citral, timol, carvacrol y cinamaldehído se encuentran en la lista de aromatizantes permitidos por la Comisión Europea (Decisión de la Comisión de 23 de febrero de 1999 por la que se aprueba un repertorio de sustancias aromatizantes utilizadas en o sobre los productos alimenticios elaborado con arreglo al Reglamento (CE) nº 2232/96 del Parlamento Europeo y del Consejo). No obstante, existen modificaciones posteriores, donde se eliminaron ciertos compuestos de la lista de aromatizantes por sus efectos tóxicos. Así por ejemplo, en la Decisión de la Comisión de 23 de enero de 2002 por la que se modifica la Decisión

1999/217/CE por lo que respecta al repertorio de sustancias aromatizantes utilizadas en o sobre los productos alimenticios, se notificó que el metileugenol así como el estragol deberían retirarse de la lista (Burt, 2004). Otras modificaciones posteriores en las que también se indica la retirada de sustancias, se pueden encontrar en las Decisiones 2004/357/CE, 2005/389/CE, 2006/252/CE, 2008/478/CE y 2009/163/CE.

Los aceites esenciales utilizados en esta tesis (limón, tomillo y canela en hoja) se pueden encontrar en la lista EAFUS (“Everything” Added to Food in the United States), en la que se recoge sustancias que se añaden a los alimentos y que se han aprobado como aditivos o registrados como GRAS (FDA, 2012).

3.1. Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales y/o de sus componentes

Existen numerosos estudios que revelan la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales, aunque no todos los aceites esenciales presentan la misma actividad antimicrobiana y su actividad dependería de sus componentes. En este sentido, Fisher y Phillips (2006) estudiaron la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de limón, naranja dulce y bergamota y de sus componentes principales. Mediante el método de difusión en disco, los aceites esenciales de limón y de naranja no fueron tan efectivos inhibiendo el crecimiento bacteriano como la bergamota. Además, también analizaron los componentes mayoritarios de estos aceites. La bergamota presentó un mayor contenido en linalol, que fue un componente muy efectivo, mientras que el limoneno no mostró actividad frente a las bacterias estudiadas y fue el componente principal del aceite esencial de limón y naranja.

Por otro lado, la actividad antimicrobiana de los aceites de pimienta negra, clavo, orégano, geranio, nuez moscada y tomillo fue examinada por Dorman y Deans (2000), quienes además determinaron los componentes presentes en los aceites esenciales volátiles que podrían contribuir a su actividad. El aceite con un gran espectro de acción fue el de tomillo, seguido de orégano, clavo, nuez moscada, pimienta negra y geranio. La actividad de los aceites estaría relacionada con la composición de los volátiles de los aceites de las plantas y sus grupos funcionales, y una posible interacción sinérgica entre sus componentes. Los componentes con estructura fenólica como el carvacrol, el eugenol y el timol, fueron muy efectivos frente a los microorganismos. La importancia del grupo hidroxilo en la estructura fenólica se observó cuando se compararon el carvacrol con el carvacrol metil éter, ya que el primero mostró una mayor actividad. Además, la posición del grupo hidroxilo también ejercería influencia. Por tanto, la estructura y composición de los compuestos que conforman los aceites esenciales influyen mucho en su actividad antimicrobiana.

Es conveniente comentar que también, se han estudiado los posibles efectos antagonistas, sinérgicos y aditivos que ejercerían la combinación de diferentes aceites esenciales (Gutierrez et al., 2008; Goñi et al., 2009; Burt, 2004).

Además, se ha estudiado la acción antimicrobiana de los aceites esenciales sobre los microorganismos y los cambios que producirían sobre éstos. Así, Rasooli et al., (2006), estudiaron los cambios morfológicos de *Listeria monocytogenes* mediante microscopía de transmisión electrónica (TEM) como resultado a la exposición de 2 aceites esenciales procedentes de la hidrodestilación de las hojas de 2 variedades de tomillo *Thymus eriocalyx* y *Thymus x-porlock*. El TEM mostró que las células de *Listeria monocytogenes* no tratadas con los aceites esenciales presentaban una pared celular continua,

delgada y lisa. A medida que la concentración del aceite esencial se incrementó, la pared celular bacteriana perdió lisura y uniformidad. La interrupción de la membrana celular y la falta de citoplasma fueron evidentes en una fase temprana del tratamiento de las células a concentraciones más bajas de aceite esencial de tomillo. El citoplasma perdió incluso su distribución y mostró aglutinación de los materiales intracelulares. Además mostraron una falta de citoplasma como resultado de la disminución de la funcionalidad de las propiedades barrera de la membrana celular. Por otro lado, Lambert et al. (2001), observaron que la adición de aceite esencial de orégano o sus componentes (timol y carvacrol) produjeron una alteración en membrana de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. Asimismo, la adición del aceite esencial de orégano, implicó la pérdida de iones en comparación al control y cambios en el pH de las células estudiadas.

El efecto de la interacción de los aceites esenciales con ingredientes alimentarios fue estudiada por Gutierrez et al. (2008). Estos autores evaluaron la actividad antimicrobiana del aceite esencial de tomillo y orégano frente a *Listeria monocytogenes* en diferentes medios de cultivo a base de extracto de ternera, almidón de patata y aceite de girasol. Observaron que concentraciones altas en proteínas promovieron el crecimiento de esta bacteria, pero en estos casos la efectividad del orégano o del tomillo también fue mayor. El medio de cultivo a base de extracto de ternera estaba constituido principalmente por peptonas, las cuales mostraron propiedades hidrofóbicas, por lo que facilitaría la disolución de los aceites en este medio. Sin embargo, la eficacia de los aceites esenciales se redujo a altas concentraciones de almidón y respecto al medio que contenía aceite de girasol. Según Holley y Pattel (2005) el pH es un factor que afectaría a la actividad de los aceites, ya que a pH bajos, la hidrofobicidad de algunos aceites

esenciales se incrementaría, y aunque tenderían a la partición en la fase lipídica de los alimentos, podrían disolverse más fácilmente en la fase lipídica de la membrana bacteriana y mejorar la acción antimicrobiana. No obstante, el efecto del pH fue estudiado también por Gutierrez et al. (2008), de modo que observaron que la fase de latencia de *Listeria monocytogenes* fue más larga en los casos donde había aceite esencial a un pH de 5 y además, la tasa de crecimiento fue menor. No obstante, el control a este pH también presentó una fase de latencia mayor. La tasa de crecimiento fue mayor, a mayor pH a pesar de la presencia o ausencia del aceite esencial.

No sólo se han realizado estudios de la actividad microbiana *in vitro*, sino también *in vivo*, aplicándolos en alimentos, como ensaladas de frutas (Belletti et al., 2008), en pimientos (Uyttendaele et al., 2004), en lechugas y zanahorias (Singh et al., 2002), en cerezas (Serrano et al., 2005), uvas de mesa (Valero et al., 2006) y en melocotones (Montero-Prado et al., 2011). En estos tres últimos casos se aplicaron en fase vapor. En este contexto, Uyttendaele et al. (2004) utilizaron una solución de aceite esencial de tomillo (0,5 y 1%) como alternativa a la descontaminación en el procesado de los pimientos picados inoculados con *Aeromonas*. Tras la descontaminación con 0,5 y 1% del aceite esencial, obtuvieron inmediatamente una reducción significativa, por debajo del límite detectable ($100 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$). Sin embargo, el agua potable (control) no logró esta reducción en los pimientos inoculados. Tampoco observaron una recuperación de *Aeromonas* tras el tratamiento, mientras que en las muestras control hubo un incremento tras 6 días de almacenamiento a 7 °C. Además, la descontaminación con aceite esencial de tomillo supuso una reducción de la flora autóctona de los pimientos, con una mayor efectividad al 1% que al 0,5%. No obstante, la flora psicotrónica, se recuperó y se multiplicó durante el tiempo de almacenamiento, pero los recuentos obtenidos tras 7 días fueron más bajos

que en el control. En el caso de la aplicación en fase vapor de los aceites esenciales, Montero-Prado et al. (2011) al aplicar aceite esencial de canela en una etiqueta de un envase activo, observaron que un 12,5% de la fruta estaba infectada frente a un 86,1% correspondiente al control a los 12 días de almacenamiento. Estos resultados ponen de manifiesto el alto poder antimicrobiano del aceite esencial de canela.

3.2. Actividad antioxidante de los aceites esenciales y/o de sus componentes

La complejidad química de los aceites esenciales, la mezcla de decenas de grupos funcionales distintos, la polaridad y el comportamiento químico podrían conducir a resultados dispersos en la respuesta antioxidante (Sacchetti et al., 2005).

Singh et al. (2007), estudiaron el efecto antioxidante del aceite esencial de canela en hoja y corteza así como en las oleorresinas en el aceite de mostaza, mostrando estas últimas una gran actividad para inhibir los productos de la oxidación primaria y secundaria lipídica a la concentración de 0,02% (v/v). Lee et al. (2005) identificaron los componentes volátiles de las hojas de albahaca y tomillo, midiendo además, las actividades antioxidantes de los compuestos aromáticos. Entre los productos químicos identificados en los extractos de albahaca y tomillo, el timol, carvacrol, 4-alifenol y eugenol mostraron una gran actividad antioxidante, inhibiendo la oxidación del hexanal en un 95-99% a 5 µg/mL (cantidad del componente volátil) a lo largo de 30 días. Además compararon los resultados obtenidos con la de otros antioxidantes conocidos como el α -tocoferol e hidroxitolueno butilado (BHT), encontrando una actividad antioxidante muy similar a los mismos.

También se ha estudiado el efecto antioxidante de los aceites esenciales midiendo la capacidad inhibitoria de éstos sobre determinados enzimas. Así, por ejemplo Montero-Prado et al. (2011) inhibieron *in vitro* la peroxidación lipídica catalizada por la lipooxigenasa mediante el aceite esencial de canela, siendo la actividad inhibitoria dosis dependiente. Sin embargo, *in vivo* la actividad de la lipooxigenasa fue estadísticamente menor a los 4, 8 y 12 días en las frutas almacenadas en envases con etiqueta activa que frente al control. Ponce et al. (2004) evaluaron la capacidad de los aceites esenciales de eucalipto, árbol de té, romero, clavo y limón a diferentes concentraciones, para reducir la actividad de la peroxidasa procedente de diferentes extractos de vegetales de hoja. La efectividad de éstos como antioxidantes naturales no fue la misma en función de la fuente de enzimas. No obstante, con la aplicación de la concentración mínima inhibitoria, el limón, clavo, romero, melisa y árbol de té mostraron una gran capacidad antioxidante. Mousavizadeh et al. (2011) también estudiaron la capacidad de los aceites esenciales de romero, cilantro y tomillo para reducir la actividad peroxidasa procedente de las coles blanca y lombarda tanto *in vivo* como *in vitro*. La reducción de la actividad de la peroxidasa de los aceites esenciales fue mayor *in vitro* que *in vivo*, para las dos variedades de coles.

Por otro lado, Fujita et al. (2006) estudiaron el efecto inhibitorio del trans-cinamaldehído sobre la fenilalanina amonio liasa (PAL) y además reprimieron el pardeamiento de la lechuga cortada durante el almacenamiento. Tannaka et al. (2011) también inhibieron el pardeamiento de la lechuga cortada con el cinamaldehído, asociándolo al hecho de que éste reprimiría la inducción del ácido ribonucleico (ARN) mensajero de la PAL.

3.3. Efectos organolépticos de los aceites esenciales y/o de sus componentes

A pesar de los beneficios que puede suponer el empleo de determinados aceites esenciales en el aumento de la vida útil de los productos mínimamente procesados, junto con la mejora en su actividad antioxidante, su uso también puede aportar a los mismos, sabores y aromas extraños, lo cual puede limitar su aplicación. Así, Lanciotti et al. (2004) indicaron que los aceites esenciales como los de mandarina, limón, lima y sidra incrementaron la vida útil y seguridad de ensaladas de frutas sin alterar las propiedades sensoriales. No obstante, Belletti et al. (2008) estudiaron el efecto del citral y del aceite esencial de limón cidra (con diferentes concentraciones) incorporado en el sirope de una ensalada de frutas. El análisis sensorial para el citral indicó que el color y la consistencia eran aceptables a concentraciones de 50 ppm o menores, pero la contribución organoléptica del citral al sabor no fue satisfactoria para ninguna de las concentraciones empleadas en la ensalada. En el caso del aceite esencial de limón cidra, la concentración de 900 ppm a nivel sensorial tuvo resultados organolépticamente negativos, mientras que concentraciones más bajas resultaron agradables. Por otro lado, Gutierrez et al. (2009) obtuvieron buenos resultados sensoriales en zanahorias cortadas tratadas con aceite esencial de orégano y una combinación de éste con el aceite esencial de tomillo, pero no sucedió lo mismo cuando se aplicó en lechuga. Uyttendaele et al. (2004) utilizaron el aceite esencial de tomillo al 0,5 y 1% para la descontaminación de pimientos picados, obteniendo a nivel sensorial propiedades adversas (intenso olor químico, ablandamiento de los tejidos, y cierta pérdida de humedad) que se detectaron al final del almacenamiento. Por otro lado, estudios donde se han aplicado aceites esenciales o componentes de aceites esenciales en el envase, como en el caso

de Valero et al. (2006) obtuvieron las mejores puntuaciones en cuanto a las características de crujencia, firmeza y aspecto de las uvas tratadas con eugenol y timol. La presencia de una combinación aroma-sabor anómala fue detectada por un 10% de los panelistas para las tratadas con timol y por un 15% para las tratadas con eugenol. Sin embargo, para las muestras control el porcentaje fue mucho mayor, aunque obtuvieron mejor puntuación en el dulzor y la jugosidad. Montero-Prado et al. (2011) concluyeron que el envasado con etiquetas activas con aceite esencial de canela en melocotones mejoraba las características sensoriales.

II. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

1. OBJETIVOS

1. Objetivo general

El objetivo general de esta tesis doctoral ha sido estudiar el efecto de la combinación del envasado en atmósfera modificada pasiva y la aplicación de aceites esenciales en caqui y melón mínimamente procesados sobre las características fisicoquímicas, fisiológicas y microbiológicas.

1.2. Objetivos específicos

Los objetivos específicos se han dividido en función de las distintas experiencias llevadas a cabo en las frutas estudiadas, presentándose los resultados siguiendo el mismo orden.

1.2.1. Objetivos específicos en caqui

a) Estudio del metabolismo respiratorio en función de la modificación de la atmósfera del espacio de cabeza y de la aplicación de lactato cálcico

- Evaluar el efecto de la aplicación de concentraciones altas en CO₂ (5 y 10 %) y de lactato cálcico (2%) sobre la tasa respiratoria y las propiedades composicionales, ópticas y mecánicas.

b) Modelización del comportamiento respiratorio del caqui mínimamente procesado en función de la temperatura y del tipo de corte geométrico

- Determinar la tasa respiratoria del caqui mediante el uso de un sistema cerrado estático a diferentes temperaturas y geometrías de corte (láminas y cubos).
- Desarrollar y verificar un modelo predictivo para la tasa respiratoria del caqui en función de las concentraciones de O₂ y CO₂, a diferentes temperaturas y geometría de corte.

c) Estudio de la incorporación del aceite esencial en el caqui mínimamente procesado

- Evaluar el efecto de la adición del aceite esencial de tomillo y limón en sus diferentes aplicaciones, bien en el agua de lavado o directamente en el interior del envase, sobre las propiedades composicionales, ópticas y mecánicas, durante el almacenamiento a 4 °C.
- Analizar la evolución de la atmósfera de envasado de los trozos de caqui durante el almacenamiento, mediante el registro de la variación de gases (%O₂ y %CO₂) en el espacio de cabeza del envase.
- Estudiar el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales aplicados junto con el envasado en atmósfera modificada pasiva durante el almacenamiento.

1.2.2. Objetivos específicos en melón

a) Modelización del comportamiento respiratorio del melón mínimamente procesado en función de la temperatura

- Determinar la tasa respiratoria del melón cortado en cubos mediante el uso de un sistema cerrado estático a diferentes temperaturas.
- Desarrollar y verificar un modelo predictivo para la tasa respiratoria del melón en función de las concentraciones de O₂ y CO₂ a diferentes temperaturas.

b) Influencia de la aplicación de aceite esencial en la operación de lavado en el melón mínimamente procesado

- Evaluar el efecto de la adición de los aceites esenciales de canela y limón en el agua de lavado sobre las propiedades composicionales, ópticas y mecánicas, durante el almacenamiento a 4 °C.
- Analizar la evolución de la atmósfera de envasado de las muestras de melón durante el almacenamiento a 4 °C mediante el registro de la variación de gases (%O₂ y %CO₂) en el espacio de cabeza del envase.
- Estudiar el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales aplicados junto con el envasado en atmósfera modificada pasiva durante el almacenamiento.

2. PLAN DE TRABAJO

De forma general se realizó una:

- Revisión bibliográfica periódica sobre técnicas de conservación de productos mínimamente procesados.
- Caracterización de la materia prima para cada uno de los estudios realizados.

El plan de trabajo se definió considerando por una parte los estudios en caqui y por otro lado los estudios en melón, ya que se han realizado los diferentes ensayos en cada una de estas frutas.

A. ESTUDIOS EN CAQUI

- i) Estudio del metabolismo respiratorio en función de la modificación de la atmósfera del espacio de cabeza y de la aplicación de lactato cálcico
 - Envasar láminas de caqui no lavadas, lavadas con agua y con una disolución 2% de lactato cálcico, modificando la atmósfera de envasado con distintos % de CO₂ (5 y 10 %) manteniendo constante el porcentaje en O₂ en todos casos.
 - Registrar los cambios gaseosos en la atmósfera de envasado hasta alcanzar un 17% de O₂.
 - Analizar la influencia de la atmósfera de envasado y la aplicación o no de lavado sobre el metabolismo respiratorio, mediante la determinación inicial y final de las propiedades

composicionales, ópticas y mecánicas, así como el efecto que ejercen ambas variables sobre la tasa respiratoria.

ii) Modelización del comportamiento respiratorio del caqui mínimamente procesado en función de la temperatura y del tipo de corte geométrico

- Registrar los cambios en los porcentajes de O₂ y CO₂ del espacio de cabeza de los envases con láminas y cubos de caqui durante 7 días, a las temperaturas de 1, 5, 7, 10 y 15 °C.
- Determinar la tasa respiratoria para cada una de las temperaturas estudiadas mediante un sistema estático y para cada tipo de corte.
- Ajustar los datos experimentales a un modelo de regresión lineal y no lineal tanto en caqui cortado en láminas como en cubos.
- Estudiar la influencia de la temperatura mediante el modelo de Arrhenius, para cada una de las geometrías consideradas.
- Verificación de los modelos aplicados mediante la comparación de los datos teóricos y experimentales a una temperatura intermedia de 7 °C.

iii) Estudio de la incorporación del aceite esencial en el caqui mínimamente procesado

- Estudio de la incorporación del aceite esencial directamente en el envase.

- Determinar las dosis de aceite esencial de tomillo (AET) y de limón (AEL) para su aplicación en el interior del envase.
 - Almacenamiento de los envases en refrigeración a 4 °C durante 13 días.
 - Analizar las propiedades composicionales (x^w , x^{ss} , pH) tras 1 día de envasado y a los 3, 6, 9, 13 días.
 - Evaluar la influencia de los tratamientos aplicados sobre la capacidad antioxidante y contenido en fenoles totales tras 1 día de envasado y a los 3, 6, 9, 13 días.
 - Determinar las propiedades ópticas y mecánicas (1, 3, 6, 9 y 13 días).
 - Registrar diariamente la evolución de gases (%O₂ y %CO₂) en el espacio de cabeza del envase mediante un analizador de gases.
 - Estudiar la estabilidad microbiológica mediante el análisis de microorganismos aerobios mesófilos, así como de mohos y levaduras, sobre la materia prima recién cortada y a los días 1, 7 y 13 días de almacenamiento.
- Estudio de la incorporación del aceite esencial en el lavado.
 - Determinar las dosis de aceite esencial de tomillo (AET) y de limón (AEL) para su aplicación en el agua de lavado.
 - Almacenamiento de los envases en refrigeración a 4 °C durante 7 días.

- Analizar las propiedades composicionales (x^w , x^{ss} y pH) inmediatamente tras el lavado y a los 3 y 7 días de almacenamiento.
- Evaluar la influencia de los tratamientos aplicados sobre la capacidad antioxidante y contenido en fenoles totales tras el lavado y a los 3 y 7 días.
- Determinar las propiedades ópticas y mecánicas tras el lavado y a los 3 y 7 días de almacenamiento.
- Registrar diariamente la evolución de gases ($\%O_2$ y $\%CO_2$) en el espacio de cabeza del envase mediante un analizador de gases.
- Estudiar la estabilidad microbiológica mediante el análisis de microorganismos aerobios mesófilos, así como de mohos y levaduras, sobre las muestras inmediatamente tras el lavado y a los 7 días de almacenamiento.

B. ESTUDIOS EN MELÓN

i) Modelización del comportamiento respiratorio del melón mínimamente procesado en función de la temperatura

- Registrar los cambios en los porcentajes de O_2 y CO_2 de los cubos de melón, hasta alcanzar una concentración de CO_2 entre un 10% y 15% a las temperaturas de 4, 8, 10, 12 y 16 °C.
- Determinar de la tasa respiratoria para cada una de las temperaturas estudiadas mediante un sistema estático.

- Ajustar los datos experimentales a un modelo de regresión lineal y no lineal. Estudiar la influencia de la temperatura mediante el modelo de Arrhenius.
- Verificación de los modelos aplicados mediante la comparación de los datos teóricos y experimentales a una temperatura intermedia de 10°C.

ii) Influencia de la aplicación de aceite esencial en la operación de lavado en el melón mínimamente procesado

- Determinar las dosis de aceite esencial de canela (AEC) y limón (AEL) para su empleo como agente de lavado.
- Almacenamiento en refrigeración a 4 °C durante 21 días.
- Análisis de las propiedades composicionales (x^w , x^{ss} , pH y capacidad antioxidante) de la fruta durante el almacenamiento a los 0, 3, 7, 14 y 21 días.
- Determinación diaria de los cambios de %O₂ y %CO₂ en el espacio de cabeza de los envases de melón.
- Análisis de las propiedades ópticas y mecánicas de las muestras no lavadas y lavadas con el aceite esencial tras el envasado y a los 3, 7, 14 y 21 días.
- Estudio de la estabilidad microbiológica mediante el análisis de microorganismos aerobios mesófilos, además de mohos y levaduras, inmediatamente tras el procesado y lavado y a los días 7, 14 y 21 días de almacenamiento.

III. ESTUDIOS EN CAQUI

1. INTRODUCCIÓN

El caqui (*Diospyros kaki* L.) pertenece a la familia Ebenaceae. En el año 2010, el principal productor mundial de caqui fue China (3.045.801 toneladas), seguido de la República de Corea, Japón, Brasil, Azerbaiyán e Italia (FAOSTAT, 2012). En España, según los datos recogidos por la Encuesta sobre Superficies y Rendimientos de Cultivos (ESYRCE) en el año 2011, la superficie destinada al cultivo del caqui fue de 7.243 hectáreas, siendo la Comunidad Valenciana la que más superficie le dedicó (6.531 hectáreas), seguida de Andalucía y Extremadura. En la ESYRCE del año 2010 las hectáreas dirigidas a este cultivo fueron de 5.827 en España (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, 2012). Por tanto, es un cultivo en expansión.

El cultivo de la variedad de caqui “Rojo Brillante” está centralizado en la Comunidad Valenciana debido a las buenas condiciones de cultivo, el rápido desarrollo, el gran rendimiento y la calidad de sus frutos (Salvador et al., 2006). Además, también ha contribuido su presentación en el mercado con una textura dura (“persimon”) en contraposición al caqui tradicional de textura blanda (“classic”). La obtención de una forma u otra depende del método de eliminación de la astringencia. Los métodos clásicos de eliminación de la astringencia se basan en la sobremaduración de los frutos, aplicándoles etileno o dejando madurar el fruto de forma natural (Salvador et al., 2006). De este modo se obtienen los caquis con la pulpa blanda. Por el contrario, en la forma persimon la astringencia se elimina cuando la pulpa está aún firme. La eliminación de la astringencia de esta variedad de caqui persimon se realiza normalmente en cámaras con una alta concentración en CO₂ (92-98% de CO₂) durante 20-24 horas a 20 °C (Arnal y del Río, 2004). Los responsables de la astringencia del persimon son los taninos solubles, de manera que en condiciones anaerobias la producción de acetaldehído hace que los taninos

pasen a su forma insoluble, eliminándose la astringencia (Matsuo e Ito, 1982; Taira et al., 1997). De este modo, se puede obtener una fruta con pulpa firme que facilita su manipulación y procesado.

El caqui es un fruta rica en hidratos de carbono y destaca su contenido en vitamina A y C, así como de potasio (Mataix et. al., 2009). Además, también es rico en compuestos fenólicos, como el ácido p-cumárico, ácido gálico y ácido ferúlico (Gorinstein et al., 2001).

La proliferación del cultivo del caqui, sus características nutricionales y la textura dura del persimon plantea su presentación como producto mínimamente procesado.

Se han realizado diversos estudios encaminados a la conservación del caqui mínimamente procesado. Así Igual et al. (2008) aplicaron la impregnación a vacío en las variedades de persimon “Picudo” y “Rojo Brillante” cortadas en cubos, con el propósito de obtener nuevas formas de comercialización. Albors et al. (2008), estudiaron el efecto de la combinación de ácido ascórbico (efecto antioxidante) junto con el lactato cálcico (efecto sobre la estructura) en el persimon “Rojo Brillante” cortado en láminas. Por otro lado, el pardeamiento enzimático del persimon “Rojo Brillante” mínimamente procesado limita su comercialización, por lo que Pérez-Gago et al. (2009) estudiaron la aplicación de diferentes compuestos antioxidantes y concentraciones en persimon mínimamente procesado. Con el mismo objetivo, Ghidelli et al. (2010) utilizaron recubrimientos comestibles a base de proteína de soja y con compuestos con actividad antioxidante junto con el envasado en atmósfera modificada activa. Además, Sanchís et al. (2011) estudiaron el efecto del estado de madurez así como la aplicación de distintos conservantes (ácido ascórbico, ácido cítrico, cisteína y cloruro de calcio) sobre la calidad nutricional

del persimon “Rojo Brillante” cortado y envasado en barquetas de polipropileno.

En el presente capítulo de esta tesis, se ha estudiado el comportamiento metabólico de las láminas de persimon “Rojo Brillante” bajo diferentes concentraciones de CO₂ y utilizando lactato cálcico como agente de lavado. Además, se ha modelizado el comportamiento respiratorio de esta misma variedad a diferentes temperaturas y utilizando dos tipos de corte geométricos. Por último, se ha estudiado los efectos de la atmósfera modificada pasiva y de los aceites esenciales de limón y de tomillo aplicados de manera diferente (directamente en el envase o en el agua de lavado) en el persimon “Rojo Brillante” procesado en fresco con el objetivo de alargar su vida útil.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materias primas

2.1.1. Caqui

Los ensayos se llevaron a cabo utilizando como materia prima caquis (*Diospyros kaki* L.) de la variedad “Rojo Brillante” adquiridos en un supermercado local y almacenados a la temperatura de ensayo correspondiente hasta su utilización. Los caquis fueron seleccionados en función del estado de madurez, color y estado general con el objetivo de obtener una mayor homogeneidad de las muestras de partida y reducir la variabilidad en los resultados.

2.1.2. Aceites esenciales

Para la realización de los ensayos correspondientes a la aplicación del aceite esencial directamente en el envase o aplicado en el agua de lavado del caqui mínimamente procesado, se utilizaron el aceite esencial de limón (*Citrus limonum* L.) y de tomillo (*Thymus vulgaris* L.) de la marca Soria Natural y adquiridos en una herboristería.

2.2. Preparación de las muestras

Antes de comenzar con el procesado de la muestra, se procedió al lavado superficial de la fruta con agua potable e hipoclorito de sodio comercial (Amukina, Laboratorios Angelini, Farma-Lepori) para poder eliminar los

posibles restos de tierra o suciedad que pudieran estar adheridos a la superficie de los caquis. Se emplearon las dosis recomendadas por el fabricante (20 mililitros de desinfectante por cada litro de agua). Una vez secas con papel absorbente, las piezas fueron cortadas en función del ensayo a realizar:

- Estudio del metabolismo respiratorio en función de la modificación de la atmósfera del espacio de cabeza y de la aplicación de lactato cálcico: corte del caqui en láminas de 1,5 cm de espesor (eliminación de la piel mediante el uso de un sacabocados).
- Estudio de la modelización del comportamiento respiratorio: corte del caqui en cubos de 2x2x1,5 cm y en láminas de 1,5 cm de espesor (eliminación de la piel mediante el uso de un sacabocados).
- Estudio de la incorporación del aceite esencial en el caqui mínimamente procesado: corte del caqui en láminas de 1,5 cm de espesor con eliminación de la piel mediante un sacabocados y división de las láminas en cuartos.

Con la finalidad de reducir la variabilidad procedente de la materia prima, tras el corte se procedió al mezclado de los distintos trozos de caqui.

2.3. Tratamientos

Tras el corte de los caquis en láminas, cubos o sectores, se procedió al tratamiento de las mismas en función del ensayo a realizar.

2.3.1. Estudio del metabolismo respiratorio en función de la modificación de la atmósfera del espacio de cabeza y de la aplicación de lactato cálcico

En este ensayo se utilizó como agente de lavado el lactato cálcico pentahidrato al 2%. La relación utilizada para el lavado fue de 3 litros de agua potable por 1 kg de fruta. La duración del lavado fue de 5 minutos y a continuación se dejaron escurrir durante 5 minutos. Como controles se utilizaron muestras lavadas sólo con agua potable y muestras no lavadas. De esto modo, se estudió también el efecto de la propia técnica de lavado.

En este ensayo, se envasaron 300 gramos de fruta en frascos de vidrio de 1,937 L de volumen. Previo a su almacenamiento a 4 °C, se modificó la composición del espacio de cabeza de los envases de vidrio utilizando un mezclador de gases (WITT- modelo KM-100-3 ME GB. WITT-GASETECHNICK), que se conectó a una válvula situada en la tapa de los frascos de vidrio, para facilitar el intercambio de atmósfera en su interior. La corriente con los gases a la concentración deseada se hizo circular durante unos 3 minutos, tras los cuales se cerraron las válvulas, e inmediatamente se midió la composición del espacio de cabeza para conocer la concentración exacta de partida.

Las atmósferas empleadas fueron aire ambiente y concentraciones altas en CO₂, de un 5 y 10%. El porcentaje de O₂ no se modificó (20%).

Los frascos se almacenaron en refrigeración hasta que la concentración de O₂ alcanzó un 17% para evitar cambios en el comportamiento metabólico como consecuencia del descenso en la disponibilidad de oxígeno.

2.3.2. Modelización del comportamiento respiratorio del caqui mínimamente procesado en función de la temperatura y del tipo de corte geométrico

Previamente, antes de cortar los caquis, éstos fueron atemperados a la temperatura de trabajo correspondiente (1, 5, 7, 10 y 15 °C). A continuación, aproximadamente 300 gramos de caqui cortados en láminas fueron introducidos en cámaras de vidrio hermético (V= 1,937 L). Por otra parte, aproximadamente 400 gramos de caqui cortados en cubos, se introdujeron en cámaras de vidrio hermético (V= 0,930 L). La duración de este ensayo fue de 7 días para cada una de las temperaturas empleadas y para ambos tipos de corte.

2.3.3. Estudio de la incorporación del aceite esencial en el caqui mínimamente procesado

Se realizaron dos ensayos en los cuales se aplicaba el aceite esencial de manera diferente:

- Aplicación del aceite esencial directamente en el envase. Para ello se utilizó una gasa estéril como soporte, situada en el interior del envase. En ella se incorporó el aceite esencial a diferentes concentraciones (50, 250 y 500 µL) para evaluar el efecto de su liberación en la atmósfera del envase. De este modo, se podría estudiar la posibilidad de utilizar el aceite esencial en un envase activo. Como control se utilizó muestras de caqui envasadas sin aceite esencial.
- Aplicación del aceite esencial en el agua de lavado de los trozos de caqui. Los trozos de caqui ya cortados fueron lavados con dos concentraciones diferentes (250 y 500 µL/L). La relación utilizada para

el lavado fue de 3 litros de agua potable por 1 kg de fruta. Durante el tiempo de lavado (2 minutos) las muestras fueron sometidas a agitación y a continuación se dejaron escurrir durante 1 minuto. El control utilizado en este caso, fueron las muestras de caqui lavadas sólo con agua potable.

En ambos ensayos se envasaron unos 150 gramos de caqui en bandejas de polipropileno (171x127x50 mm), herméticamente selladas mediante una envasadora termoselladora (VAC-STAR S220MP) y conservadas a 4 °C durante todo el tiempo de almacenamiento. La permeabilidad del oxígeno de este envase se determinó experimentalmente (4790 cm³/m²·día) en estudios preliminares ante la dificultad de obtener de las casas comerciales la permeabilidad del material de envasado (film y barqueta)

El estudio del ensayo de la aplicación del aceite esencial en el envase se realizó durante 13 días mientras que el del lavado de los trozos de fruta fue de 7 días.

2.4. Análisis composicional

Todas las determinaciones realizadas en el análisis composicional fueron realizadas por triplicado.

2.4.1. Humedad

Las muestras de caqui se homogenizaron previamente utilizando un equipo "Ultraturax" modelo T 25. Para la determinación de la humedad se siguió una adaptación del método 934.06 (AOAC, 2000) para frutas ricas en azúcar. Este método se basa en la determinación de la pérdida de peso de una muestra cuando se coloca en una estufa de vacío a una temperatura constante de 60 °C

y a una presión de 10 mmHg, permaneciendo hasta alcanzar un peso constante.

La variación de peso, antes y después del secado en estufa, referida al peso inicial de la muestra proporciona la humedad de la misma (g agua/g muestra).

2.4.2. Sólidos solubles

Para determinar el contenido de sólidos solubles de la fracción líquida del producto se realizó previamente una homogenización de la muestra en un "Ultraturrax" modelo T 25. A continuación se determinaron los °Brix de la fase líquida con ayuda de una pipeta Pasteur de punta capilar para cada muestra, empleando un refractómetro "Abbe Atago 89553" de "Zeis", termostatado a 20 °C. El contenido en sólidos solubles totales de la muestra fue expresado en fracción másica de sólidos solubles (g sólidos solubles totales/ g total) utilizando la siguiente ecuación III.1

$$x^{ss} = \frac{\frac{^{\circ}\text{Brix}}{100} \cdot x^w}{1 - \frac{^{\circ}\text{Brix}}{100}} \quad \text{III.1}$$

Donde: x^{ss} es la fracción másica de sólidos solubles totales (g sólidos solubles totales/ g total) y x^w es la fracción másica de agua (g agua/ g total).

2.4.3. Actividad de agua

Las determinaciones de actividad del agua (a_w) se realizaron a 25 °C en un higrómetro de punto de rocío (Fast-lab, GBX, Francia) de precisión $\pm 0,003$,

previamente calibrado con disoluciones salinas saturadas, sobre las muestras trituradas y homogenizadas en un "Ultraturrax" modelo T 25.

2.4.4. pH

Se determinó directamente sobre la muestra triturada y homogeneizada, con un pH-metro (Seven Easy, Mettler Toledo), con electrodo de contacto. Previamente a las medidas, el equipo fue calibrado con soluciones tampón de pH 7,00 y 4,00, a una temperatura de 25 °C.

2.4.5. Acidez titulable

La medida de la acidez se realizó mediante el método AOAC 939:05 (AOAC, 2000). La determinación de la acidez se realizó a partir de muestras trituradas. Se pesaron aproximadamente unos 9 gramos de muestra y se le añadieron 40 ml de agua destilada. La valoración se hizo con una disolución de NaOH 0,1 N hasta alcanzar un pH de 8,1 – 8,2 (Seven Easy, Mettler Toledo) ya que al ser la muestra de color oscuro no se apreciaba el viraje del indicador.

El resultado final se expresó en gramos de ácido málico por cada 100 gramos de muestra.

2.5. Determinación de componentes con actividad antioxidante

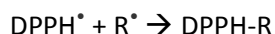
2.5.1. Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante de las muestras se determinó mediante el método del DPPH (Puupponen-Pimiä et al., 2003). Este método ha sido ampliamente

utilizado para evaluar la actividad antioxidante de diferentes compuestos de frutas y hortalizas debido a que se trata de un procedimiento simple, rápido, sensible y reproducible (Fogliano et al., 1999).

El método se basa en la capacidad de los antioxidantes para captar radicales libres. El DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) es un radical libre que puede reaccionar directamente con los antioxidantes y ser bloqueado por éstos (Smith et al., 1987; Jiménez et al., 1998; Koleva et al., 2002).

Para evaluar la actividad antioxidante de compuestos específicos o extractos, deberán reaccionar con el radical estable en disolución de metanol. La reducción a DPPH-H es controlada gracias a la disminución de su absorbancia a la longitud de onda característica en un tiempo determinado durante la reacción. En la forma radical DPPH[•], el DPPH absorbe a 515 nm, pero al ser reducido con un antioxidante (AH) o especies radicales R[•], la absorción disminuye:



Para el análisis de las muestras se tomaron 5 gramos de la muestra triturada. Se diluyeron en metanol al 80% en una relación 1:2 (p/v) y se sometieron a agitación durante 5 minutos. A continuación, los tubos de ensayo con la mezcla muestra-metanol se centrifugaron a 4000 rpm durante 5 minutos (Medifriger BL-S, P-Selecta). Por otro lado se preparó una disolución de DPPH a una concentración de 0,024 g/L. De esta disolución se tomaron 3,9 mL y se introdujeron en una cubeta, posteriormente se midió la absorbancia a 515 nm del DPPH sin muestra en un espectrofotómetro "V-630 Jasco". A continuación, se le añadió a la cubeta con DPPH un volumen de 0,1 mL procedente del

sobrenadante de la muestra con metanol y se determinó de nuevo la absorbancia pasados 30 minutos. El análisis de la capacidad antioxidante se realizó por triplicado a partir de muestra triturada y congelada (-20 °C).

Los resultados se expresaron según la ecuación III.2 que se muestra a continuación:

$$\% \text{ DPPH inhibido} = \left(\frac{A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}}}{A_{\text{control}}} \right) \cdot 100 \quad \text{III.2}$$

Donde: A_{control} es la absorbancia del DPPH a 515 nm antes de la adición de la muestra y, A_{muestra} es la absorbancia de la muestra junto con el DPPH a 515 nm después de 30 minutos.

2.5.2. Fenoles totales

Los fenoles totales fueron analizados por el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu modificado (Chang et al., 2006) mediante espectrofotometría. Los fenoles de la muestra fueron extraídos con metanol, en una relación 1:2 (p/v) y a continuación se mantuvo en agitación a 200 rpm durante una hora (agitador horizontal GFL 3005). Los tubos de ensayo se centrifugaron durante 5 minutos a 4000 rpm (Medifriger BL-S, P-Selecta), y se tomaron 125 μL del sobrenadante. A este volumen se le añadió 500 μL agua destilada y 125 μL del reactivo de Folin-Ciocalteu dejando dicha mezcla en reposo durante 6 minutos. Pasado este tiempo se añadió 1,25 mL de una disolución de carbonato de sodio al 7% y se completó hasta llegar a un volumen de 3 mL con agua destilada.

Las muestras se dejaron en reposo durante una hora y media a temperatura ambiente y se midió la absorbancia a 750 nm utilizando un espectrofotómetro (V-630 Jasco).

Se estimó la concentración de fenoles totales a partir de una curva de estándar, utilizando ácido gálico como patrón de 0 a 500 µg de ácido gálico por mL.

Los resultados fueron expresados como mg de equivalentes de ácido gálico por 100 g de muestra. La determinación de fenoles se realizó por triplicado a partir de muestra triturada y congelada (-20 °C).

2.6. Determinación de la tasa respiratoria

La tasa respiratoria (TR), en función del consumo de O₂ y de la producción de CO₂, fue analizada mediante un sistema estático cerrado. El producto fue colocado en un recipiente hermético, analizándose los cambios en las concentraciones de estos gases en el espacio de cabeza a lo largo del tiempo. Los botes de vidrio se cerraron rodeando la tapa con parafilm (Pechiney Plastic Packaging, Inc. Menasha) para asegurar la estanqueidad o hermeticidad de los botes. La toma de muestras de los gases se realizó con una aguja (0,8 mm de diámetro) conectada a un filtro y al tubo conector con un analizador de gases PBI Dansensor CheckMate II.

2.7. Modelización del comportamiento respiratorio

Todos los ensayos se llevaron a cabo por triplicado para cada temperatura y geometría de corte. Se realizaron siete medidas diarias durante 7 días para cada temperatura, registrándose la variación en la concentración de gases a lo

largo de dicho periodo de tiempo, utilizando para ello el analizador de gases PBI Dansensor CheckMate II.

2.7.1. Modelo I

La determinación de la tasa respiratoria se determinó a partir de la pendiente de la recta de regresión lineal para la variación de la concentración en O₂ y CO₂ respecto al tiempo, asumiéndose que la tasa respiratoria es constante en la atmósfera aeróbica de la cámara.

Según este modelo la tasa respiratoria se puede calcular a partir de las siguientes ecuaciones III.3 y III.4:

$$TR_{O_2} = -\frac{d(G_{O_2})}{dt} \cdot \frac{V_a}{m} \quad \text{III.3}$$

$$TR_{CO_2} = \frac{d(G_{CO_2})}{dt} \cdot \frac{V_a}{m} \quad \text{III.4}$$

Siendo $d(G_{O_2})/dt$ y $d(G_{CO_2})/dt$, la pendiente del ajuste lineal de la variación de la concentración del gas (O₂ o CO₂) con el tiempo, m es la masa de la muestra (kg) y V_a es el volumen del espacio de cabeza del frasco de vidrio (mL).

2.7.2. Modelo II

Algunos autores (Cameron et al., 1989; Hagger et al., 1992; Mahajan y Goswami, 2001; Bhande et al., 2008) utilizaron funciones de regresión no lineal para ajustar la concentración de gases frente al tiempo. Mediante el uso de los datos de respiración obtenidos a nivel experimental, dos parámetros (a y b), de una ecuación no exponencial similar al modelo de Peleg propuesto para las

curvas de sorción de humedad (Peleg, 1988), se ajustaron a las concentraciones de O₂ y CO₂ a diferentes periodos de almacenamiento. Así, las concentraciones de gases experimentales se ajustaron a ecuaciones III.5 y III.6 para determinar el valor de los coeficientes (a y b). Ajustes similares se han utilizado para manzanas (Mahajan y Goswami, 2001), bananas (Bhande et al., 2008) y mangos (Ravindra y Goswami, 2008).

$$G_{O_2} = 0,21 - \left[\frac{t}{(at+b)} \right] \quad \text{III.5}$$

$$G_{CO_2} = \frac{t}{(at+b)} \quad \text{III.6}$$

La variación de la concentración de gases con el tiempo puede entonces calcularse a partir de la primera derivada de las funciones de regresión anteriores (ecuaciones III.7 y III.8):

$$\frac{dG_{O_2}}{dt} = at(at+b)^{-2} - (at+b)^{-1} \quad \text{III.7}$$

$$\frac{dG_{CO_2}}{dt} = -at(at+b)^{-2} + (at+b)^{-1} \quad \text{III.8}$$

A cualquier tiempo dado, la tasa respiratoria en términos de O₂ consumido y CO₂ eliminado se calculó sustituyendo los valores de dG_{O₂}/dt y dG_{CO₂}/dt de las ecuaciones III.7 y III.8 en las ecuaciones III.3 y III.4, respectivamente.

2.8. Evolución de gases en el espacio de cabeza en envases semipermeables

El registro de cambios de %O₂ y %CO₂ en el espacio de cabeza del envase semipermeable se llevó a cabo mediante un analizador de gases CheckMate

9900 PBI Dansensor, (Ringsted, Dinamarca). La toma de muestra del aire del espacio de cabeza se efectuó a través un septum colocado en la parte superior del envase. Se realizaron entre 3 y 4 medidas al día en un intervalo variable entre 2 y 4 horas a una temperatura de 4 °C. El cálculo de velocidad de cambios en la atmósfera se llevó a cabo considerando sólo el tramo lineal de la representación de la evolución de los gases a lo largo del tiempo de almacenamiento. El ajuste lineal se puede expresar como (ecuaciones III.9 y III.10):

$$[\%O_2]_t = [\%O_2]_0 - \alpha_{O_2} \cdot t \quad \text{III.9}$$

$$[\%CO_2]_t = [\%CO_2]_0 + \alpha_{CO_2} \cdot t \quad \text{III.10}$$

Donde:

$[\%O_2]$: Porcentaje de la concentración volumétrica de oxígeno (% mL O₂/mL totales) en función del tiempo (subíndice t) o al inicio del envasado (subíndice 0).

$[\%CO_2]$: Porcentaje de la concentración volumétrica de dióxido de carbono (% mL CO₂/mL totales) en función del tiempo (subíndice t) o al inicio del envasado (subíndice 0).

α_{O_2} o α_{CO_2} : pendiente de la función ($100 \cdot \frac{\text{mL O}_2}{\text{mL totales} \times \text{hora}}$ o $100 \cdot \frac{\text{mL CO}_2}{\text{mL totales} \times \text{hora}}$)

t = tiempo de almacenamiento en horas

A partir de la pendiente de estos ajustes lineales se calcula la velocidad de cambio a partir de las ecuaciones III.11 y III.12.

$$N_{O_2} = \alpha_{O_2} \cdot \frac{V}{m} \quad \text{III.11}$$

$$N_{CO_2} = \alpha_{CO_2} \cdot \frac{V}{m} \quad \text{III.12}$$

Donde:

N_{O_2} y N_{CO_2} son las velocidades de en la concentración de oxígeno ($\text{mL O}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) y de dióxido de carbono ($\text{mL CO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) respectivamente.

V es el volumen del espacio de cabeza del envase en mL.

m es la masa del producto en kg.

α_{O_2} y α_{CO_2} son las pendientes de la función $(100 \cdot \frac{\text{mL O}_2}{\text{mL totales} \times \text{hora}})$ y $(100 \cdot \frac{\text{mL CO}_2}{\text{mL totales} \times \text{hora}})$ respectivamente.

Por otra parte, se determinó la relación (CN) entre las velocidades de cambio de los gases (ecuación III.13):

$$CN = \frac{N_{CO_2}}{N_{O_2}} \quad \text{III.13}$$

El análisis se realizó por triplicado en el ensayo de la incorporación directa del aceite esencial en el envase y por duplicado en el ensayo de la aplicación del aceite esencial en el agua de lavado de los trozos de caqui.

2.9. Propiedades ópticas

Para el análisis del color en las muestras de caqui persimon se utilizó un espectrocolorímetro Minolta modelo CM-3600d con se obtuvo el espectro de reflexión de las muestras Previo al análisis, el equipo se calibró con un patrón

negro y otro blanco. Se obtuvieron las coordenadas de color CIE-L*a*b* utilizando como referencia el observador 10º e iluminante D 65.

Las condiciones de trabajo variaron en función del ensayo a realizar.

Estudio del metabolismo respiratorio en función de la modificación de la atmósfera del espacio de cabeza y de la aplicación de lactato cálcico.

Se utilizó una ventana de 7 mm. La determinación de color se hizo al inicio y al final de cada ensayo, por triplicado y tomando cuatro zonas por lámina.

Se estimaron las diferencias de color (ΔE) de las láminas de caqui respecto a la muestra inicial para cada ensayo mediante la ecuación III.14.

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad \text{III.14}$$

Estudio de la incorporación del aceite esencial en el caqui mínimamente procesado.

La determinación de color se realizó cada tres días en el ensayo de incorporación del aceite esencial directamente en el envase y diaria en el caso de la aplicación de aceite esencial en el agua de lavado. Las mediciones se realizaron sobre 10-13 muestras de caqui.

A partir de los valores de la coordenada a^* y b^* , se calcularon las coordenadas tono (h^*_{ab}) y croma (C^*_{ab}) definidas por las siguientes ecuaciones III.15 y III.16:

$$h^*_{ab} = \arctg \frac{b^*}{a^*} \quad \text{III.15}$$

$$C^*_{ab} = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad \text{III.16}$$

2.10. Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas se midieron mediante un examen de compresión mediante una prensa universal (TA.XT plus Textura Analyser Stable). Los parámetros analizados en el ensayo de compresión fueron la fuerza máxima ($F_{m\acute{a}x}$) requerida por el punzón para atravesar la muestra, expresada en Newtons (N) y la distancia (d) recorrida por el punzón hasta que se produce la fuerza máxima expresada en milímetros (mm). Las condiciones de trabajo variaron en función del ensayo a realizar.

Estudio del metabolismo respiratorio en función de la modificación de la atmósfera del espacio de cabeza y de la aplicación de lactato cálcico.

Se utilizó un punzón de 5 mm de diámetro con una velocidad de preensayo y ensayo de 1,5 mm/s y una velocidad de postensayo de 10 mm/s. Hasta alcanzar una deformación relativa del 95%.

La determinación se realizó al inicio y fin de cada ensayo, tomando como punto de referencia, la zona comprendida entre haces. El análisis se llevó a cabo por triplicado y sobre cuatro puntos en cada lámina.

Estudio de la incorporación del aceite esencial en el caqui mínimamente procesado.

Se utilizó un punzón de 2 mm de diámetro con una velocidad preensayo y ensayo de 1,0 mm/s y una velocidad de postensayo de 10 mm/s. Hasta atravesar completamente la muestra.

La determinación de las propiedades mecánicas se realizó cada tres días en el ensayo de incorporación del aceite esencial directamente en el envase y a los

0, 3 y 7 días de almacenamiento, en el caso de la aplicación de aceite esencial en el agua de lavado. Para la medición se utilizaron 10-13 muestras de caqui.

2.11. Análisis microbiológico

La determinación de la vida útil desde el punto de vista microbiológico, de los trozos de caqui envasados en atmósfera modificada en el estudio de la influencia de la aplicación del aceite esencial de tomillo y limón, se llevó a cabo mediante el análisis de microorganismos aerobios mesófilos y mohos y levaduras. Se utilizaron estos parámetros ya que los microorganismos aerobios mesófilos son indicadores de la calidad de la materia prima y del proceso de elaboración. Por otro lado, los mohos y levaduras no sólo deterioran los alimentos sino que además pueden producir sustancias tóxicas como las micotoxinas en el caso de los mohos. No obstante, existe reglamentación para frutas troceadas (listas para el consumo), Reglamento (CE) nº 2073/2005 de la Comisión de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios, y modificado por el Reglamento (CE) nº 1441/2007 de la Comisión de 5 de diciembre de 2007, por el que se establecen la determinación de *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* y *Escherichia coli*.

Como referencia al protocolo utilizado para este estudio microbiológico se utilizaron las Prácticas de Microbiología de Alimentos de la Universitat de Lleida (Sanchos Almenar et al., 1997) y el manual para el control de calidad de alimentos de la FAO (FAO, 1981).

Se prepararon los siguientes medios de PCA (Plate-Count-Agar, Scharlau) para mesófilos y Sabouraud con cloranfenicol (Scharlau) para mohos y levaduras. Además se realizaron controles negativos con la finalidad de descartar una posible contaminación ambiental que pudiera influir en los resultados

microbiológicos. Todo el material de vidrio y de plástico, además del agua de peptona y los medios de cultivo, fueron introducidos en el autoclave (Presoclave II, J. P. P-SELECTA) durante 20 minutos a 121 °C para su esterilización antes de su utilización. Posteriormente, los medios fueron atemperados en un baño termostático (Predisdig, P-Selecta) a 50 °C con el fin de mantenerlos en estado líquido hasta su utilización. Se pesaron asépticamente 10 gramos de fruta en una bolsa de plástico estéril añadiéndose 90 mL de diluyente estéril (agua de peptona). Se homogeneizó mediante el stomacher (homogenizador BagMixer, Interscience), obteniéndose la dilución madre (10^{-1}). A continuación se extrajo 1 mL de la dilución madre, se introdujo en un tubo de ensayo que contenía 9 mL del diluyente estéril, obteniéndose la dilución 10^{-2} . Por el mismo procedimiento se obtuvieron las diluciones siguientes 10^{-4} , 10^{-5} , etc. según se estimara el grado de crecimiento microbiano. Para el recuento de aerobios mesófilos, mohos y levaduras, se puso 1 mL de cada dilución en placas de Petri y se añadieron entre 10 y 15 mL del agar correspondiente, previamente atemperado a cada placa. Se mezclaron perfectamente el medio y el inóculo con movimientos circulares a favor y en contra de las agujas de reloj y una vez solidificado el agar, se incubaron en el caso del PCA, a 30 °C (± 1 °C) durante 72 horas en estufa (P SELECTA) y, en el caso del Sabouraud, a 30 °C (± 1 °C) durante 5 días en estufa (P SELECTA).

Las siembras se realizaron por duplicado en todos los casos, al igual que los controles negativos. El recuento de colonias se realizó teniendo en cuenta que las placas contenían entre 30-300 colonias para el caso de aerobios mesófilos y, 0-30 para mohos y levaduras.

En el estudio de la incorporación del aceite esencial directamente en el envase, se analizó la materia prima y además, a los 7 y 13 días de almacenamiento. Mientras que el ensayo de la incorporación del aceite esencial en el agua de

lavado, se realizaron inmediatamente tras el lavado y, a los 3 y 7 días de almacenamiento.

Los resultados fueron expresados como el logaritmo decimal de las unidades formadoras por gramo de producto [$\log(\text{UFC/g})$] en el caso de la incorporación de aceite esencial directamente en el envase y como unidades formadoras por gramo (UFC/g), en el ensayo de la incorporación del aceite esencial en el agua de lavado.

El Real Decreto (RD) 3484/2000 de 29 de diciembre, por el que se establecen las normas de higiene de comidas preparadas, ha sido utilizado para establecer los límites en los recuentos de los microorganismos aerobios mesófilos. Aunque este RD no contempla los límites para mohos y levaduras, se ha tomado como referencia el criterio recomendado para frutas y hortalizas por Pascual y Calderón (2000).

2.12. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados se llevó a cabo mediante el programa Statgraphics Centurion, realizando un Análisis de Varianza (ANOVA) utilizando un test de comparación simple y múltiple, con un nivel de significancia del 95% ($\alpha < 0,05$) para evaluar las diferencias entre los distintos tratamientos.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. ESTUDIO DEL METABOLISMO RESPIRATORIO EN FUNCIÓN DE LA MODIFICACIÓN DE LA ATMÓSFERA DEL ESPACIO DE CABEZA Y DE LA APLICACIÓN DE LACTATO CÁLCICO COMO AGENTE DE LAVADO

En este ensayo se estudió el efecto de las siguientes variables sobre el metabolismo respiratorio del caqui mínimamente procesado:

- Modificación del espacio de cabeza en un sistema estático, utilizando concentraciones altas de CO₂ (5% y 10%) y utilizando como control las concentraciones de gases del aire ambiente.
- Efecto del lavado con lactato cálcico al 2% frente a dos controles (sin lavar y lavado sólo con agua).

3.1.1. Estudio de las propiedades composicionales

Las propiedades composicionales estudiadas en este ensayo fueron la humedad (x^w), sólidos solubles (x^{ss}), pH, actividad de agua y acidez. Se realizó un ANOVA simple para analizar las diferencias entre las muestras iniciales y las finales tras el tratamiento aplicado.

A continuación se presenta la tabla III.1 con las condiciones iniciales y finales en humedad y sólidos solubles para cada uno de los tratamientos aplicados y porcentajes en CO₂ empleados.

El lavado, tanto con agua como con lactato cálcico implicó un ligero aumento en el contenido de humedad y una disminución de los sólidos solubles como consecuencia de la incorporación del agua en la matriz de la fruta. En general, se observó que la composición de las muestras de caqui estudiadas,

mantuvieron los valores iniciales en términos del contenido en humedad y de sólidos solubles.

Tabla III.1. Valores de humedad y contenido en sólidos solubles en las rodajas de caqui al inicio y final de cada ensayo en función de cada tratamiento de lavado y porcentaje de CO₂ en el espacio de cabeza.

Tratamiento	% CO ₂ empleado	x ^w inicial	x ^w final	x ^{ss} inicial	x ^{ss} final
Sin lavar	0	0,807 (0,008)	0,805 (0,015)	0,168 (0,004)	0,163 (0,007)
	5	0,822 (0,007)	0,811 (0,012)	0,1679 (0,0012)	0,165 (0,002)
	10	0,7962 (0,0008)	0,800 (0,008)	0,162 (0,002)	0,174 (0,013)
Lavado agua	0	0,831 (0,004)	0,825 (0,008)	0,156 (0,003)	0,144 (0,003)*
	5	0,845 (0,002)	0,843 (0,006)	0,13049 (0,00112)	0,132 (0,004)
	10	0,836 (0,002)	0,8295 (0,0003)*	0,145 (0,002)	0,150 (0,005)
Lavado lactato cálcico	0	0,833 (0,005)	0,829 (0,002)	0,150 (0,004)	0,145 (0,003)
	5	0,846 (0,005)	0,8315 (0,0108)	0,141 (0,007)	0,147 (0,006)
	10	0,820 (0,0012)	0,821 (0,005)	0,155 (0,008)	0,157 (0,006)

Los valores entre paréntesis indican la desviación estándar de cada uno de los valores.

*Indica diferencias significativas ($\alpha < 0,05$) para un tratamiento específico.

De la misma manera, la actividad de agua se mantuvo estable durante el periodo considerado, partiendo de un valor inicial medio de 0,984 ($\pm 0,006$) y alcanzando un valor final medio de 0,982 ($\pm 0,005$). Este valor de actividad de agua concuerda con el valor determinado por otros autores como Igual et al. (2008) y Castelló et al. (2006).

En las tablas III.2 y III.3 se pueden observar los valores iniciales y finales de pH y los valores de la acidez titulable, para cada uno de los tratamientos aplicados y porcentajes en CO₂ empleados.

Tabla III.2. Valores de pH de las rodajas de caqui al inicio y final de cada ensayo en función de cada tratamiento de lavado y porcentaje de CO₂ en el espacio de cabeza.

Tratamiento	% CO ₂ empleado	pH inicial	pH final
Sin lavar	0	5,947 (0,101)	5,99 (0,03)
	5	5,860 (0,014)	6,05 (0,02)*
	10	5,87 (0,03)	6,01 (0,04)*
Lavado agua	0	6,03 (0,03)	6,10 (0,05)
	5	5,94 (0,02)	6,06 (0,04)*
	10	6,00 (0,03)	6,12 (0,02)*
Lavado lactato cálcico	0	5,880 (0,014)	6,06 (0,07)*
	5	5,80 (0,03)	6,01 (0,04)*
	10	5,81 (0,06)	6,19 (0,06)*

Los valores entre paréntesis indican la desviación estándar de cada uno de los valores.

*Indica diferencias significativas ($\alpha < 0,05$) para un tratamiento específico.

En todos los tratamientos realizados bajo una exposición alta en CO₂ se observó un ligero aumento en el valor del pH final de las muestras de caqui analizadas. Este comportamiento también se observó en el lavado con lactato sin modificación de gases en el espacio de cabeza. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por otros autores como Wright y Kader (1997a), que estudiaron el efecto de distintas atmósferas controladas sobre trozos de caqui persimon de la variedad "Fuyu" y de fresas de la variedad "Selva", observando el incremento en los valores de pH de los mismos durante el tiempo de almacenamiento. Del mismo modo, Holcroft y Kader (1999), estudiaron el efecto de diferentes atmósferas controladas sobre la fresa de la variedad

"Selva", observando un aumento del pH en el extracto de zumo procedente tanto de los tejidos externos como internos durante los 10 días de almacenamiento, siendo este aumento mayor en atmósferas con mayor nivel de CO₂. Sin embargo, Li y Kader (1989) no observaron ningún efecto significativo en el pH de las fresas "Selva" en ninguno de los tratamientos con atmósfera controlada.

Tabla III.3. Valores de acidez titulable (expresada en gramos de ácido málico en 100 gramos de producto) de las rodajas de caqui al inicio y final de cada ensayo en función de cada tratamiento de lavado y porcentaje de CO₂ en el espacio de cabeza.

Tratamiento	% CO ₂	g de ácido	g de ácido
	empleado	málico/100 g inicial	málico/100 g final
Sin lavar	0	0,19 (0,02)	0,176 (0,009)
	5	0,203 (0,011)	0,205 (0,012)
	10	0,171(0,019)	0,195 (0,004)
Lavado agua	0	0,187 (0,004)	0,160 (0,004)*
	5	0,176 (0,004)	0,18 (0,02)
	10	0,167 (0,004)	0,163 (0,008)
Lavado lactato cálcico	0	0,186 (0,013)	0,165 (0,004)
	5	0,181 (0,018)	0,162 (0,007)
	10	0,171 (0,008)	0,174 (0,003)

Los valores entre paréntesis indican la desviación estándar de cada uno de los valores.

*Indica diferencias significativas ($\alpha < 0,05$) para un tratamiento específico.

Los resultados obtenidos de acidez titulable en las muestras no lavadas al inicio fueron ligeramente superiores a los determinados por Vázquez-Gutiérrez et al. (2011), quienes obtuvieron valores en las muestras control para el caqui no astringente de $0,117 \pm 0,008$ gramos de ácido málico por 100 gramos de muestra. Además, se observó una disminución en la acidez de las muestras

lavadas con agua sin modificación del espacio de cabeza, lo cual podría implicar el avance en el proceso de maduración. Por otra parte, no hubo una influencia clara del tratamiento de lavado aplicado.

3.1.2. Efecto de la concentración de CO₂ en el espacio de cabeza y de la aplicación de agentes de lavado sobre el metabolismo respiratorio

En la figura III.1 se muestran las tasas respiratorias determinadas según el modelo I (subapartado 2.7.1 de materiales y métodos) en términos de consumo de O₂ (III.1. A) y de producción de CO₂ (III.1. B) para cada uno de los tratamientos realizados y para las concentraciones de CO₂ empleadas en el ensayo.

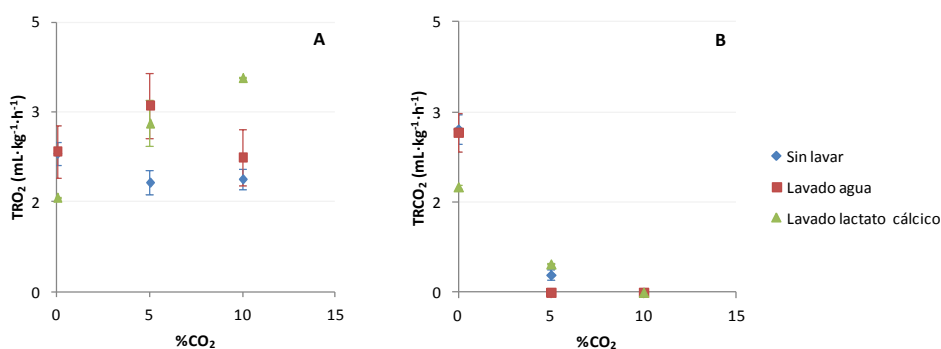


Figura III.1. Tasas respiratorias en términos de consumo de O₂ (A) y emisión de CO₂ (B) para cada uno de los tratamientos aplicados y concentración de CO₂ empleado en el espacio de cabeza.

En el caso del lavado con lactato de calcio sin modificación de gases en el espacio de cabeza, se observó tasas respiratorias menores (tanto en términos de producción de CO₂ como de consumo de O₂) respecto a los otros tratamientos. La adición de calcio reduce la tasa respiratoria y suprime la producción de determinados productos, retardando la senescencia, debido a

que concentraciones superiores a 1 μM de calcio en el citosol puede inhibir la acción de muchas enzimas (Azcón-Bieto y Talón, 2000). También, cabe destacar que Albors et al. (2008), observaron que rodajas de persimón "Rojo Brillante" sumergidas en una disolución de ácido ascórbico y lactato cálcico presentaron menores tasas respiratorias de O_2 y CO_2 (respecto a las muestras no lavadas y lavadas con agua) a los 4 días de almacenamiento. Esta disminución también se ha observado en otros estudios donde se ha utilizado esta sal cálcica. Así, Luna-Guzmán y Barret (2000) observaron que cilindros de melón cantalupo tratados con lactato de calcio al 2,5% tanto a temperatura ambiente como a 60 $^{\circ}\text{C}$ tuvieron una menor producción de CO_2 que las muestras no tratadas. Lamikanra y Watson (2004) obtuvieron una tasa de emisión de CO_2 más baja en trozos de melón cantalupo cuando éstos eran sumergidos en soluciones de lactato de calcio al 1,5% a 4 $^{\circ}\text{C}$. Del mismo modo, Silveira et al. (2011) obtuvieron al final de la vida útil de las piezas de melón "Galia" tratadas con propionato, tartrato, lactato, ascorbato y cloruro de calcio, tasas de respiración más bajas.

Por otro lado, la velocidad de consumo de O_2 se vio reducida en las muestras no lavadas cuando estaban bajo una atmósfera rica en CO_2 . Li y Kader (1989) midieron la tasa de respiratoria en términos de consumo de O_2 en las fresas de la variedad "Selva" mantenidas en atmósferas ricas en CO_2 (aire+10%, 15% o 20% de CO_2), siendo la tasa respiratoria más baja en éstas que en las mantenidas únicamente con aire. Por otro lado, Poubol e Izumi (2005) obtuvieron tasas respiratorias relativamente constantes en mango cortado en cubos de las variedades "Carabao" y "Nam Dokmai" durante el almacenamiento tanto en aire como en atmósferas con una alta concentración en CO_2 a las temperaturas de 5 y 13 $^{\circ}\text{C}$. No obstante, los cubos de mango en atmósferas con un 10% de CO_2 a 5 $^{\circ}\text{C}$ parecían tener tasas respiratorias más

altas que las que se encontraban en aire. Sin embargo, la adición de carbónico a la atmósfera en este ensayo, implicó un aumento en el consumo de oxígeno en muestras que fueron lavadas, especialmente cuando fueron tratadas con lactato cálcico. En este sentido, parece que la combinación de la adición de calcio con el aumento del %CO₂, podría revertir el efecto ralentizador del calcio sobre la tasa respiratoria.

A concentraciones altas de CO₂, la velocidad de producción de CO₂ se redujo significativamente para todos los tratamientos.

3.1.3. Estudio de las propiedades ópticas

En la tabla III.4 se muestran los valores iniciales de las rodajas de caqui frescas y tras haber sido lavadas. Como puede observarse, las muestras iniciales no presentaron diferencias significativas en cuanto a las coordenadas a* y b*, observándose una pequeña diferencia en la luminosidad respecto al tratamiento realizado. Estos resultados ponen de manifiesto que toda la materia prima utilizada en los ensayos era uniforme en cuanto a las propiedades ópticas y que un lavado con agua o lactato cálcico no modificó inicialmente el color.

Tabla III.4. Valores de luminosidad (L*) y de las coordenadas cromáticas a* y b* en las rodajas de caqui al inicio de cada ensayo antes de ser envasadas en las cámaras de respiración.

Tratamiento	L*	a*	b*
Sin lavar	53 (3) ^a	14 (3) ^a	38 (4) ^a
Lavado agua	56 (6) ^b	13 (3) ^a	36 (5) ^a
Lavado lactato cálcico	55 (2) ^b	14 (3) ^a	39 (3) ^a

Los valores entre paréntesis indican la desviación estándar de cada uno de los valores. Letras iguales indican grupos homogéneos.

El valor de luminosidad inicial de las muestras fueron similares a los obtenidos por Albors et al. (2008) sobre rodajas de persimon "Rojo Brillante", en contraposición a las coordenadas a^* y b^* que fueron ligeramente superiores en este ensayo. En la figura III.2 se representan los planos cromáticos (L^*-a^*) y (b^*-a^*) al final del ensayo para cada uno de los tratamientos realizados y para las concentraciones de CO_2 en el envase de vidrio. Tal y como se puede observar en el plano cromático (L^*-a^*), no hubo una tendencia clara, en los cambios de luminosidad por el efecto de los factores estudiados. No obstante, hubo un descenso de la luminosidad en las muestras sin lavar y lavadas con lactato cálcico a las que se les aplicó un 5% de CO_2 . Este descenso también se observó en las muestras lavadas con agua bajo un 10% de CO_2 . En cuanto a la coordenada a^* , las muestras sin CO_2 añadido en el envase se alejaron de los valores iniciales hacia colores más rojizos mostrando un avance en el desarrollo del color durante la maduración, excepto en las muestras tratadas con lactato cálcico que podría tener un efecto ralentizador en la síntesis de carotenoides. Wright y Kader (1997b) estudiaron la calidad y el contenido de carotenoides en el persimon "Fuyu" cortado en sectores bajo diferentes concentraciones de atmósferas controladas y en aire. Las muestras que estuvieron bajo una atmósfera de aire, mostraron una disminución del β -caroteno y de la β -criptoxantina a lo largo del estudio, aunque los niveles de α -caroteno aumentaron significativamente para luego descender a los 8 días de almacenamiento a 5 °C. En esta tesis, el hecho de que las muestras lavadas con agua sin modificación del CO_2 presentasen una disminución en la acidez titulable, junto con el avance hacia tonalidades más rojizas sería indicativo del avance en la maduración. La presencia de carbónico en el ambiente mantiene la coordenada a^* , mostrando el efecto ralentizador del gas. Sin embargo, la adición de un 5% de CO_2 disminuyó, además la coordenada b^* en las rodajas

de caqui lavadas con lactato cálcico y no lavadas que junto con la disminución de la luminosidad podría estar relacionado con fenómenos de pardeamiento enzimático de las muestras. El pardeamiento tisular debido a la oxidación de componentes fenólicos por la polifenoloxidasasa (PPO) resulta de la pérdida de la compartimentación dentro de las células cuando éstas son expuestas a un estrés físico o fisiológico (Kader y Ben-Yehoshua, 2000). Es posible que en estas condiciones, las muestras estuvieran sometidas a condiciones de estrés que dieron lugar al pardeamiento de las mismas, aunque a mayores concentraciones de carbónico otros mecanismos contrarrestarían la acción de la polifenoloxidasasa.

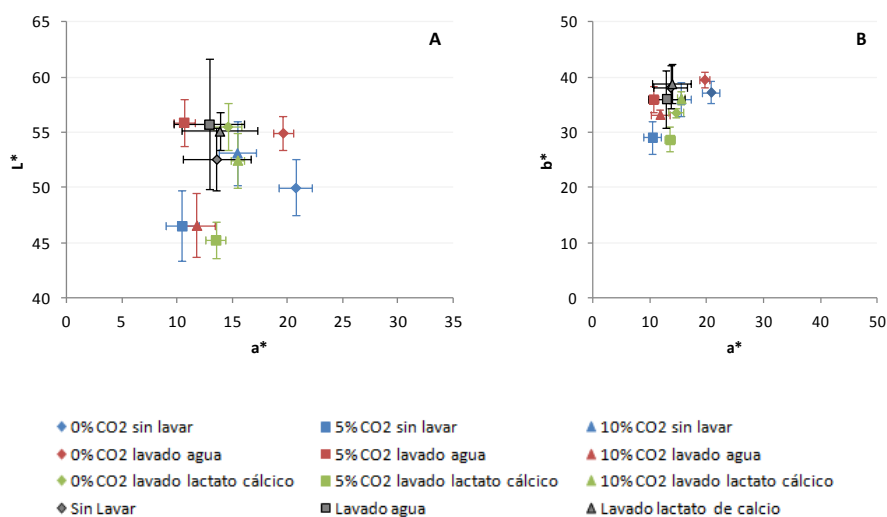


Figura III.2. Representación de los planos cromáticos (L*-a*) [A] y (b*-a*) [B] de las rodajas de caqui con diferentes concentraciones de CO₂ en el espacio de cabeza y diferentes tratamientos de lavado. Los símbolos oscuros corresponden a los valores de las coordenadas de las muestras iniciales.

La figura III.3 muestra las diferencias de color de las muestras al final de cada ensayo. En coherencia con los resultados comentados anteriormente, se observaron cambios de color en las muestras con un 5% de CO₂ en el ambiente, fundamentalmente en las muestras sin lavar o lavadas con lactato

cálcico. Probablemente el agua pudo ejercer un papel protector frente a los cambios de color. El aumento en la síntesis de carotenoides observado en las muestras sin CO₂ no quedó reflejado en cambios de color de forma notable.

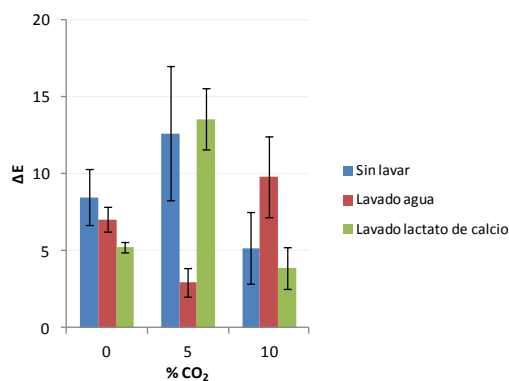


Figura III.3. Diferencias de color de las rodajas de caqui con diferentes concentraciones de CO₂ en el espacio de cabeza y diferentes tratamientos de lavado.

3.1.4. Estudio de las propiedades mecánicas

Las figuras III.4. A y B presentan los valores de las propiedades mecánicas de las rodajas de caqui recién cortadas y lavadas, tanto al inicio como al final del ensayo tras haber alcanzado los frascos de vidrio un 17% de O₂. Como puede observarse, las muestras tratadas con lactato cálcico presentaron desde un primer momento, tras el lavado, los valores más elevados de fuerza máxima. Este aumento se mantuvo durante todo el periodo de tiempo ensayado. El mantenimiento de la estructura de la pared celular depende particularmente del enlace del calcio con los componentes pécticos de la lámina media (Grant et al., 1973; Poovaiah, 1986; Quiles et al., 2004). Las sales cálcicas permiten el mantenimiento de las propiedades mecánicas de los productos mínimamente procesados, así por ejemplo Martín-Diana et al. (2006) compararon el efecto del tratamiento de la lechuga iceberg con agua clorada frente al del lactato cálcico a diferentes temperaturas, observando que la turgencia se mantenía

mejor en las muestras con lactato cálcico, durante los primeros días de almacenamiento. También Rico et al. (2007b) mantuvieron mejor la textura de zanahorias cortadas en rodajas mediante la aplicación de lactato cálcico.

Sin embargo, las muestras sin lavar no variaron significativamente su dureza bajo ninguna de las condiciones atmosféricas ensayadas. La aparente diferencia en la fuerza máxima que se observó en las muestras con un 10% de CO₂ fue atribuible a la variabilidad de la muestra, no existiendo diferencias entre los valores iniciales y finales. Sólo en condiciones de envasado con un 5% de CO₂ en muestras lavadas con agua se observó un aumento significativo ($\alpha < 0,01$) de la fuerza máxima al final del almacenamiento. En otros estudios donde se aplicaron atmósferas ricas en CO₂, se observó una mejora en la firmeza fruta (Li y Kader, 1989; Harker et al., 2000). De hecho, Harker et al. (2000) especularon que el mecanismo por el cual el CO₂ mejoraba la firmeza de las fresas sería debido a los cambios en el pH del apoplasto, de modo que tales cambios promoverían la precipitación de las pectinas solubles y mejoraría la unión entre las células. Por otro lado, Poubol e Izumi (2005) obtuvieron mejores resultados de textura en mango cortado en cubos de la variedad "Carabao" en atmósferas con mayor concentración en CO₂ para las dos temperaturas de ensayo (5 y 13 °C), mientras que en los cubos de mango de la variedad "Nam Dokmai", la textura se mantuvo sin cambios tanto para los conservados en aire como los que se encontraban en atmósferas ricas en CO₂. Wright y Kader (1997a) midieron la firmeza como fuerza de penetración en los trozos de persimon de la variedad "Fuyu", tendiendo ésta a disminuir para todas las atmósferas empleadas durante el almacenamiento. Por tanto, existiría una respuesta variable frente al tratamiento con CO₂.

En la presente tesis, el efecto de altas concentraciones de carbónico (10%) sobre el aumento de la dureza de caqui mínimamente procesado se vio más claramente cuando se adicionó lactato cálcico a las muestras.

En general, no se observaron diferencias en la distancia a la que se produjo la fuerza máxima, salvo en algún caso atribuible a la variabilidad de la materia prima.

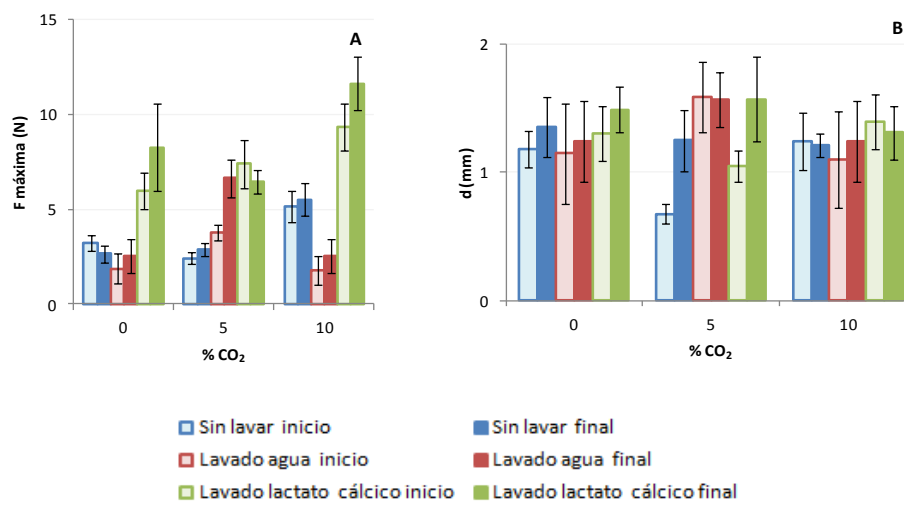


Figura III.4. Propiedades mecánicas de las rodajas de caqui con diferentes concentraciones de CO₂ en el espacio de cabeza y diferentes tratamientos de lavado al inicio y fin del ensayo.

3.2. MODELIZACIÓN DEL COMPORTAMIENTO RESPIRATORIO DEL CAQUI PERSIMON "ROJO BRILLANTE" EN FUNCIÓN DE LA TEMPERATURA Y DEL TIPO DE CORTE GEOMÉTRICO.

El desarrollo y verificación de un modelo que prediga el comportamiento respiratorio en el caqui mínimamente procesado a diferentes temperaturas (1, 5, 10 y 15 °C) y según el tipo de corte geométrico (cubos y láminas), es importante a la hora de plantear un envasado en atmósfera modificada de este tipo de producto.

Toda la materia prima empleada en los ensayos fue caracterizada antes ser envasada en los frascos de vidrio. En la tabla III.5 se pueden observar que las características de los lotes analizados para cada temperatura, no fueron homogéneas ($\alpha < 0,01$).

Tabla III.5. Contenido en humedad (x^w), sólidos solubles (x^{ss}) y pH de los lotes de caqui empleados para cada una de las temperaturas empleadas.

Temperatura (°C)	x^w	x^{ss}	pH
1	0,805 (0,005) ^a	0,195 (0,005) ^c	6,00 (0,02) ^c
5	0,8293 (0,0009) ^b	0,1707 (0,0009) ^b	5,763 (0,006) ^a
7	0,828 (0,003) ^b	0,172 (0,003) ^b	5,81 (0,02) ^a
10	0,801 (0,002) ^a	0,199 (0,002) ^c	6,070 (0,010) ^d
15	0,837 (0,006) ^c	0,163 (0,006) ^a	5,88 (0,05) ^b

Los valores entre paréntesis indican la desviación estándar.
Letras iguales indican grupos homogéneos.

La figura III.5 muestra, a modo de ejemplo, la evolución de la concentración de gases en el espacio de cabeza en las muestras cortadas en cubos a las diferentes temperaturas de ensayo. Como puede observarse, la velocidad de

los cambios en la concentración de gases se incrementó con la temperatura, observándose tasas de respiración, tanto en términos de consumo de O_2 como de emisión de CO_2 más elevadas a medida que aumentó la temperatura. Este hecho ha sido constatado en numerosos estudios sobre diversas frutas, donde la temperatura es uno de los factores más influyentes sobre el metabolismo respiratorio (Nakamura et al., 2004; Ravindra y Goswami, 2008; Bhande et al., 2008).

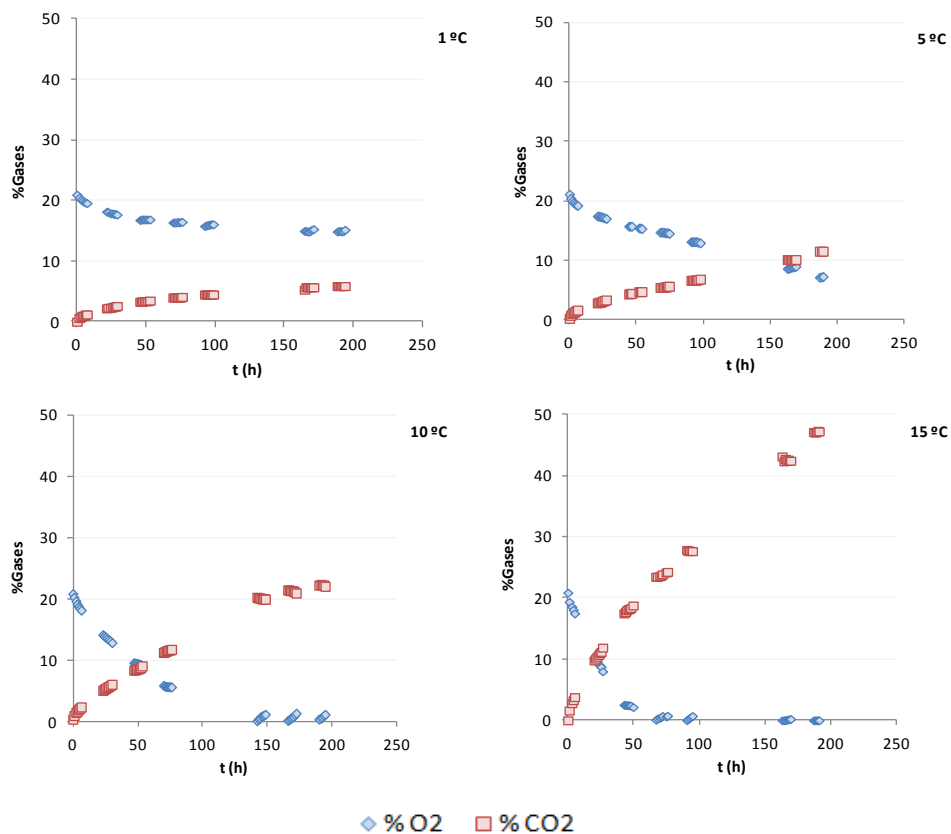


Figura III.5. Variación de la concentración de gases en el espacio de cabeza de las muestras de caqui cortadas en cubos a lo largo del tiempo de almacenamiento y en función de la temperatura.

En general, para cada temperatura, la velocidad de respiración va disminuyendo con el tiempo, lo que se evidencia por el descenso paulatino en

la pendiente. Esto podría atribuirse al efecto que tiene el aumento de la concentración de CO₂ y el descenso de la concentración de O₂ en el espacio de cabeza sobre el metabolismo respiratorio del fruto.

Tal y como se comentó en el apartado 3.1.2 sobre las muestras no lavadas, el aumento de CO₂ en la atmósfera de envasado ralentizaría el metabolismo respiratorio, reduciendo el consumo en O₂.

3.2.1. Estimación de parámetros: Modelo I

Según se ha comentado en materiales y métodos (subapartado 2.7.1), este modelo asume que la velocidad de respiración permanece constante con el tiempo. Por este motivo, se seleccionó para el ajuste el primer tramo lineal de las curvas mostradas en la figura III.5 y sus similares para la fruta cortada en láminas. En la mayoría de los casos se tomó para el ajuste la variación de la concentración de gases en el espacio de cabeza durante las primeras 48 horas de análisis. Sólo para la fruta cortada en cubos y almacenada a 15 °C, el punto de inflexión de la curva se observó a las 24 horas de almacenamiento, por lo que se fijó ese tiempo para el ajuste lineal. Así, la TR en términos de consumo de O₂ y emisión de CO₂ calculadas para todas las temperaturas ensayadas y las dos geometrías de corte según el modelo I se muestran en las figuras III.6. A y B junto con el coeficiente respiratorio (CR) (figura III.6.C).

Tal y como se puede observar, hubo una gran influencia de la temperatura sobre las tasas respiratorias. El ANOVA multifactorial aplicado, mostró que a bajas temperaturas (1 y 5 °C) no existieron diferencias significativas tanto para la TRO₂ como para la TRCO₂, pero sí las hay para el resto de las temperaturas, 10 y 15 °C.

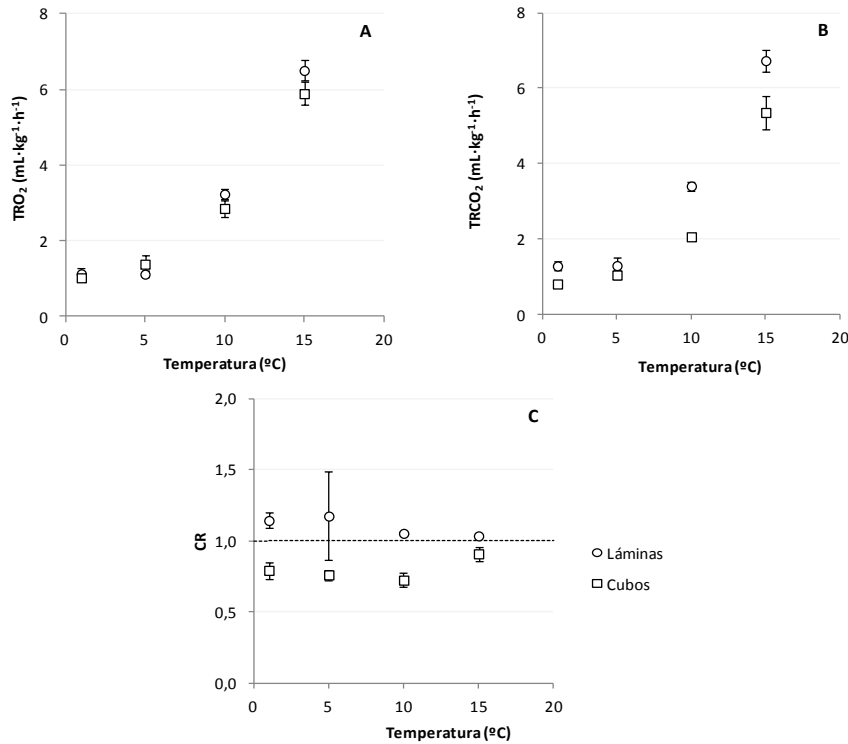


Figura III.6. Tasas respiratorias en términos de consumo de O₂ (A) y emisión de CO₂ (B) junto con el coeficiente respiratorio (C) en función de las temperaturas empleadas y según del tipo geométrico de corte. La línea discontinua en la figura C indica CR=1 como referencia del cambio metabólico en la respiración del producto.

El mismo análisis no mostró diferencias significativas en la TRO₂ para las dos geometrías de corte aunque sí en la TRCO₂. Esto podría explicarse teniendo en cuenta la propia metodología de análisis utilizada. En la determinación de tasas respiratorias mediante sistema cerrado, se asume que las variaciones en el espacio de cabeza son debidas directamente a la respiración del fruto. Sin embargo, estos cambios se deben también al intercambio gaseoso en el interior del tejido, que depende de la propia resistencia a la difusión de gases y su solubilidad (Andrich et al., 1991; Kader, 1987). Así, el CO₂ generado en la matriz mitocondrial difunde hacia la solución celular y espacios intercelulares. Después sale al exterior en fase gas a través de las aberturas del sistema

dérmico o roturas celulares. La disposición de las láminas en los frascos de vidrio implicó una mayor superficie expuesta al espacio de cabeza que en el caso de los cubos, que presentaron un mayor contacto entre sí. Por ello, en las láminas se facilitarían los mecanismos de difusión en fase gas al exterior y de ahí la mayor TR de CO₂ registrada.

El cociente respiratorio en todos los casos tomó valores cercanos a la unidad, lo que muestra que no existieron cambios en las rutas metabólicas aerobias durante el tiempo de análisis. Cabe destacar la diferencia entre las dos geometrías de corte. Así, el CR en muestras cortadas en cubos siempre resultó menor de la unidad, consecuencia de las menores TR de CO₂ analizadas en estas muestras.

Incrementos en la temperatura generan incrementos exponenciales de la respiración. Por esta razón, la modelización de tipo Arrhenius se suele ajustar bien al comportamiento de las frutas almacenadas a distintas temperaturas (Fonseca et al., 2002b). Por tanto, la relación de la tasa respiratoria con la temperatura se estimó a través del modelo de Arrhenius (ecuación III.17):

$$k=A \cdot e^{-\frac{E_a}{RT}} \quad \text{III.17}$$

Donde: k es la constante cinética, A es el factor preexponencial o factor de frecuencia, E_a es la energía de activación, R es la constante de los gases ideales y T es la temperatura absoluta en grados kelvin.

Esta ecuación III.17 se puede transformar en su forma linealizada, obteniendo la siguiente ecuación III.18:

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{R} \cdot \frac{1}{T} \quad \text{III.18}$$

A partir de esta ecuación linealizada, se obtuvieron las gráficas que se muestran a continuación en la figura III.7, donde puede observarse que los valores correspondientes a la temperatura de 5 °C se alejaron de la recta en las láminas, tanto para el O₂ como para el CO₂. Sin embargo, en el caso de los cubos el modelo de Arrhenius tuvo un mejor ajuste ($R^2 \geq 0,95$).

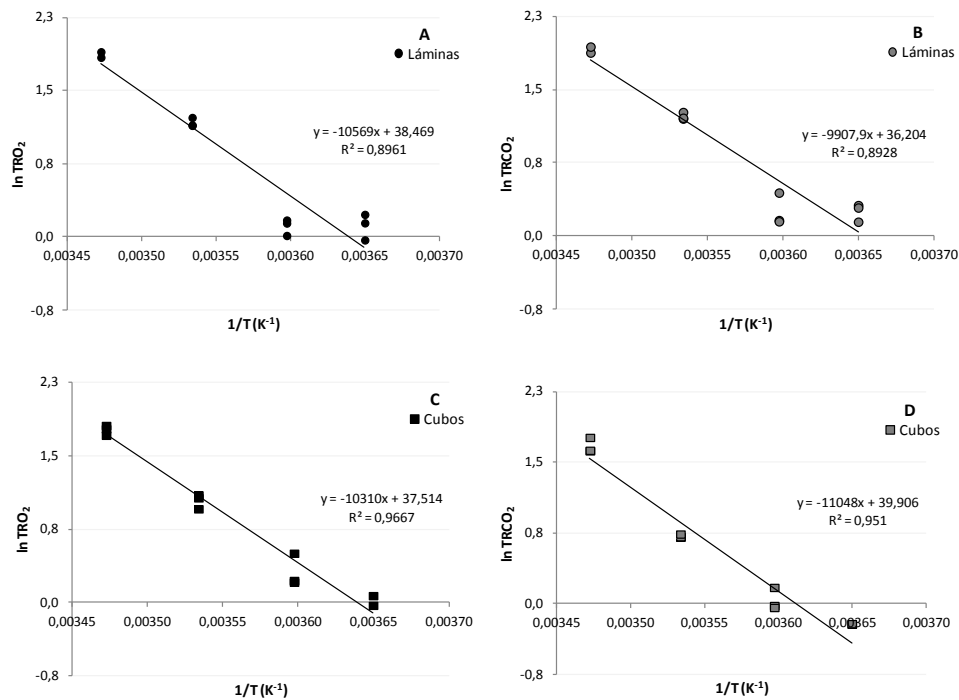


Figura III.7. Ajuste de la ecuación linealizada de Arrhenius según del tipo geométrico de corte para modelo I.

En la tabla III.6 se muestran los valores de la energía de activación (E_a), la constante preexponencial (k) y el coeficiente de correlación cuadrático (R^2) resultantes de la linealización de la ecuación de Arrhenius.

Tabla III.6. Valores de la energía de activación, la constante preexponencial y coeficiente de correlación obtenidos de la ecuación de Arrhenius según el tipo geométrico de corte.

	Láminas		Cubos	
	TRO ₂	TRCO ₂	TRO ₂	TRCO ₂
E_a (kJ·mol⁻¹)	88	82	86	92
k (mL·kg⁻¹·h⁻¹)	5·10 ¹⁶	5·10 ¹⁵	2·10 ¹⁶	2·10 ¹⁷
R²	0,90	0,89	0,97	0,95

Como puede observarse, los valores de la E_a para las tasas respiratorias de O₂ fueron similares en ambas geometrías de corte, por lo que la sensibilidad a la temperatura fue similar en ambos casos. Sin embargo, la energía de activación de la tasa respiratoria en términos de CO₂ de los cubos fue bastante mayor que la de las láminas, y por tanto, cuanto mayor es el nivel de cortado de las muestras, más sensibles pareció ser en cuanto a emisión de CO₂ frente a la temperatura. Este hecho podría estar relacionado, según se comentó anteriormente, con la facilidad de salida del CO₂ a través de los espacios intercelulares según la geometría de corte. Así, en el caso de los cubos, donde parece que los mecanismos de difusión del gas son más difíciles, éstos, además, serían más sensibles a los cambios de temperatura. En todos los casos, la energía de activación se encontró comprendida entre los valores obtenidos en frutas y hortalizas por Exama et al., (1993), quienes determinaron valores de la energía de activación entre 29,0 y 92,9 kJ·mol⁻¹ para las frutas y verduras más comunes almacenadas en aire ambiente. Los valores de k fueron superiores en las láminas tanto en términos de O₂ como de CO₂ como consecuencia de la mayor tasa respiratoria presentada en las mismas, como se ha comentado anteriormente.

3.2.2. Estimación de parámetros: Modelo II

Los datos experimentales obtenidos para cada temperatura fueron ajustados mediante una función de regresión no lineal de la concentración de gases en función del tiempo.

Respecto a la estimación del modelo II, en la tabla III.7 se muestra los valores obtenidos de los parámetros a y b obtenidos de la regresión no lineal de los resultados experimentales para las temperaturas ensayadas aplicando las ecuaciones III.5 y III.6 del apartado de materiales y métodos, junto con los coeficientes de correlación de los ajustes del modelo.

Como puede observarse, ambos parámetros a y b aumentan a medida que disminuye la temperatura, estando el parámetro a mucho más influenciado por la temperatura. El parámetro $1/a$ del modelo de Peleg está relacionado con la concentración de gases a tiempos largos, cuando los cambios en la concentración de gases tienden a cero (asíntota de las curvas). De esta forma, a mayor valor del parámetro, la concentración de gas en el equilibrio más se acerca a la concentración inicial y por tanto la tasa respiratoria se ralentiza. En cuanto al parámetro $1/b$ del modelo, éste está relacionado con la velocidad de cambios en la concentración de gases en el espacio de cabeza a tiempos cortos, mostrando (excepto para láminas almacenadas a 5 °C) los resultados obtenidos que, efectivamente, cuanto menor es la temperatura de almacenamiento, el metabolismo respiratorio se ralentiza. Tendencias similares para ambos parámetros han sido encontrados en otras frutas como la banana (Bhande et al., 2008) y manzanas (Mahajan y Goswami, 2001), así como en melón como se mostrará en el capítulo siguiente.

Puede apreciarse que el valor del coeficiente de correlación cuadrático, R^2 , obtenido fue mayor o igual a 0,95, lo que implicó una alta probabilidad en la relación funcional de los datos ajustados.

Tabla III.7. Valores de los coeficientes de regresión (a y b) para el O₂ y CO₂ en función de la temperatura y tipo de corte geométrico.

Corte geométrico	Temperatura almacenamiento (°C)	Respiración expresada en términos de	Coeficientes de regresión		R ²
			a	b	
Láminas	1	O ₂	61,6 (0,8)	1685 (60)	0,98
		CO ₂	47 (0,8)	1287 (61)	0,95
	5	O ₂	32,8 (0,7)	3978 (0)	0,96
		CO ₂	28,4 (0,9)	2328 (91)	0,96
	10	O ₂	6,2 (0,2)	1366 (28)	0,99
		CO ₂	5,2 (0,2)	1221 (28)	0,98
	15	O ₂	1,1 (0,2)	766 (17)	0,99
		CO ₂	0,6 (0,2)	709 (17)	0,99
Cubos	1	O ₂	14,0 (0,2)	504 (13)	0,99
		CO ₂	12,6 (0,2)	807 (23)	0,98
	5	O ₂	4,7 (0,2)	621 (22)	0,96
		CO ₂	5,0 (0,3)	799 (32)	0,95
	10	O ₂	3,43 (0,04)	248 (4)	0,99
		CO ₂	2,27 (0,07)	451 (10)	0,99
	15	O ₂	4,12 (0,05)	89 (4)	0,97
		CO ₂	1,16 (0,02)	190 (3)	0,99

Los valores entre paréntesis indican la desviación estándar.

La dependencia de estos coeficientes con la temperatura se determinó ajustando un modelo de Arrhenius (figuras III.8 y III.9). En la figura III.8, el coeficiente de correlación para el parámetro b en el caso del corte en láminas no fue bueno, sin embargo no sucedió lo mismo para el parámetro a ($R^2 \geq 0,95$). En la figura III.9 (correspondiente al persimon cortado en cubos), sí que se observó un mejor ajuste para todos los casos.

III. Resultados y Discusión: Modelización del comportamiento respiratorio del caqui "Rojo Brillante"

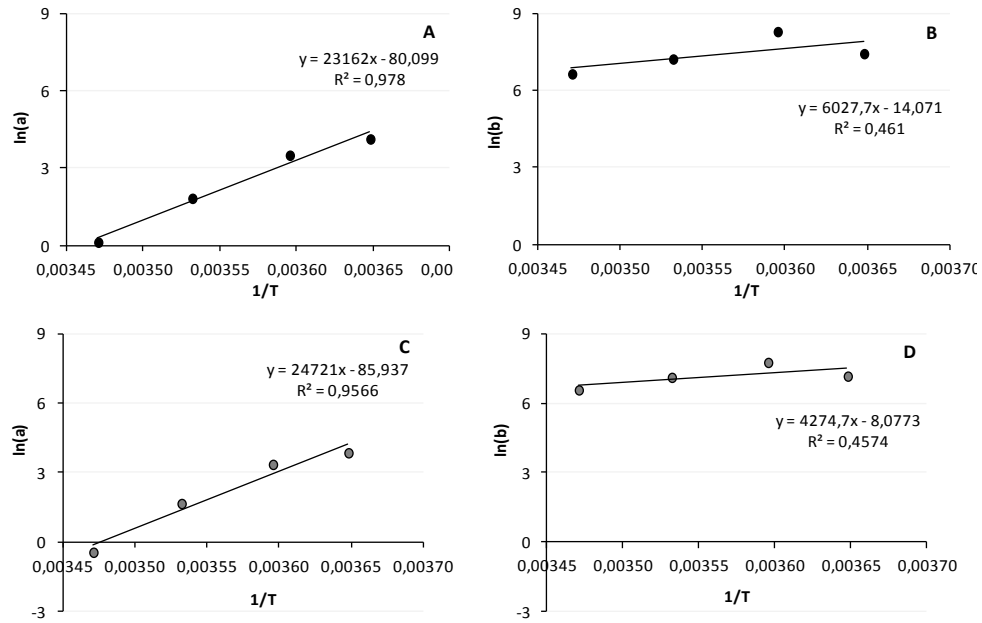


Figura III.8. Forma linealizada de la ecuación de Arrhenius de los coeficientes a y b para las láminas de caqui. A y B: coeficientes en términos de consumo de O₂, C y D: coeficientes en términos de emisión de CO₂.

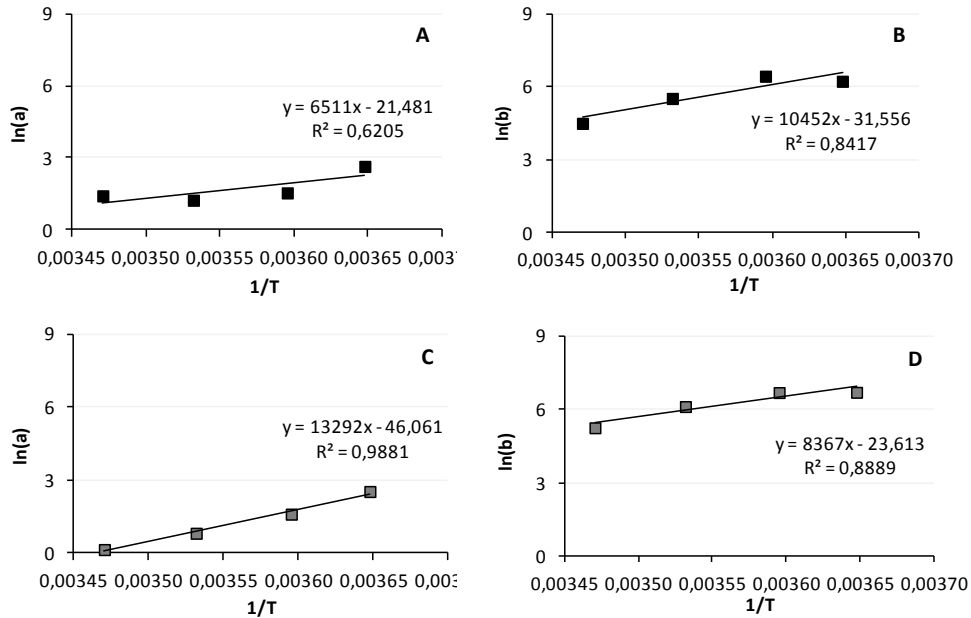


Figura III.9. Forma linealizada de la ecuación de Arrhenius de los coeficientes a y b para los cubos de caqui. A y B: coeficientes en términos de consumo de O₂, C y D: coeficientes en términos de emisión de CO₂.

A continuación se presenta la tabla III.8, donde se muestran los valores obtenidos de la energía de activación, la constante preexponencial y el coeficiente de correlación cuadrático, obtenidos al ajustar el modelo de Arrhenius que podría explicar la relación entre los parámetros del modelo II con la temperatura.

Tabla III.8. Valores de la energía de activación ($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$), la constante preexponencial ($\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) y coeficiente de correlación obtenidos de la ecuación de Arrhenius según del tipo geométrico de corte.

	Láminas				Cubos			
	TRO ₂		TRCO ₂		TRO ₂		TRCO ₂	
	a	b	a	b	a	b	a	b
E_a	193	50	206	36	54	87	111	70
k	$6\cdot 10^{34}$	$1\cdot 10^6$	$2\cdot 10^{37}$	$3\cdot 10^3$	$2\cdot 10^9$	$5\cdot 10^{13}$	$1\cdot 10^{20}$	$2\cdot 10^{10}$
R²	0,98	0,46	0,96	0,46	0,62	0,84	0,99	0,89

Como puede observarse, el parámetro a, relacionado con la concentración de gas en el equilibrio estuvo muy influenciado por la temperatura, tal y como se comentó con anterioridad, con energías de activación elevadas, más en láminas que en cubos. Sin embargo, en el parámetro b, relacionado con las tasas respiratorias a tiempos cortos, donde no existió influencia sobre el metabolismo de los cambios en la concentración de gases en el espacio de cabeza, la temperatura pareció no ser tan importante.

3.2.3. Verificación del modelo

Para verificar si el modelo desarrollado era capaz de predecir las tasas respiratorias dentro del rango de temperaturas estudiadas (de 1 a 15 °C), se

utilizó una temperatura intermedia de almacenamiento. De este modo, las tasas respiratorias predichas por los modelos fueron verificadas con la tasa respiratoria experimental a una temperatura de 7 °C.

Para evaluar la bondad de ajuste de los modelos a los resultados experimentales se determinó el módulo de la desviación media relativa (ecuación III.19). Los valores experimentales y los predichos fueron comparados utilizando este módulo, de este modo se puede comprobar si los valores obtenidos se ajustan a los modelos (McLaughlin y O'Beirne, 1999). Si el valor de este módulo es menor del 10% indica que el ajuste es bastante bueno, entre el 10-20% el ajuste es aceptable mientras que valores superiores al 20% indican que no es satisfactorio.

$$E = \frac{100}{N} \sum_{1}^{N} \frac{|TR_{\text{exp}} - TR_{\text{pred}}|}{TR_{\text{exp}}} \quad \text{III.19}$$

Donde:

E es el módulo de la desviación media relativa en %, N es el número de datos de respiración modelizados, TR_{exp} es la tasa de respiración experimental ($\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) y TR_{pred} es la tasa de respiración predicha por el modelo ($\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$).

Por tanto, los parámetros estimados fueron verificados, comparando la tasa respiratoria experimental determinada por una temperatura de almacenamiento de 7 °C, con la calculada a partir de los dos modelos ajustados.

Así, y teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el ajuste de Arrhenius en el modelo I, la tasa respiratoria en términos de O_2 y CO_2 se muestran en la tabla III.9. En la misma tabla se muestran los valores obtenidos al ajustar

linealmente (según el modelo I) las variaciones de concentración en el espacio de cabeza durante las primeras 48 horas analizadas experimentalmente a 7 °C.

Tabla III.9. Tasas respiratorias de O₂ y CO₂ obtenidas a nivel experimental y teórica mediante la aplicación del modelo de Arrhenius a 7 °C.

Tipo de corte	TRO ₂		TRCO ₂	
	Experimental	Teórica	Experimental	Teórica
Láminas	1,8 (0,3)	2,1	1,9 (0,2)	2,3
Cubos	2,0 (0,2)	2,0	1,443 (0,014)	1,567

Los valores entre paréntesis indican la desviación estándar de cada uno de los valores.

Las tasas respiratorias obtenidas teóricamente y experimentalmente, fueron similares, lo que indicó un buen ajuste de los datos experimentales para el modelo I. La bondad del ajuste calculado a través del módulo de la desviación media relativa (E) con los datos obtenidos a 7 °C fueron en el caso de las láminas de caqui de un 19% para el consumo de O₂ y de un 17% para la producción de CO₂, lo cual indicó que el ajuste fue satisfactorio. Por otra parte, los datos obtenidos para los cubos de caqui fueron menores que los anteriores, indicando un mejor ajuste del modelo lineal, siendo de un 6% para la TR de O₂ y 9% para la TR de CO₂.

Para la verificación del modelo II se determinaron los parámetros a y b teóricos a partir de las gráficas III.8 y III.9, obteniéndose la variación de la tasa respiratoria teórica que se muestra en la figura III.10. Puede apreciarse que en ambos casos los datos predichos no se ajustaron bien a los experimentales, aunque para los cubos de caqui pareció existir una mejor correlación. En cualquier caso, este modelo no pareció ser útil para predecir el comportamiento de la fruta cuando existen cambios en la tasa respiratoria.

III. Resultados y Discusión: Modelización del comportamiento respiratorio del caqui "Rojo Brillante"

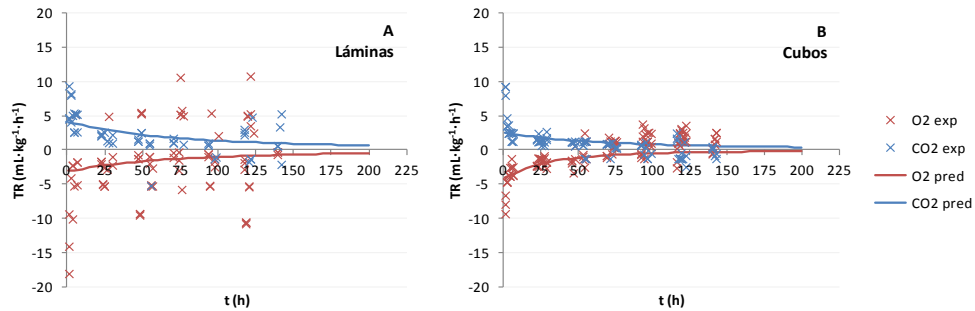


Figura III.10. Comparación de las tasas respiratorias experimental y predicha realizada a 7 °C para cada uno de los tipos geométricos de corte con el modelo II.

Los resultados obtenidos a partir del módulo de la desviación media relativa, indicaron que para este modelo II de regresión no lineal, no se ajustaba bien para ninguno de los dos tipos de cortes geométricos, ya que el valor dado fue superior al 20% para ambos casos. En el caso de las láminas, podría deberse al mal ajuste del parámetro b tanto en términos de consumo de O₂ como de producción de CO₂. Mientras que en el caso de los cubos de caqui, aunque aparentemente parecía que existía un mejor ajuste entre los valores predichos o teóricos frente a los experimentales, el parámetro a en términos de consumo de O₂ no presentó tampoco un buen ajuste.

3.3. INFLUENCIA DE LA APLICACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE LIMÓN Y TOMILLO EN CAQUI MÍNIMAMENTE PROCESADO

Tal y como se ha comentado anteriormente, los aceites esenciales constituyen una alternativa en la conservación de los alimentos. Esta herramienta junto con el envasado en atmósfera modificada pasiva fueron evaluados sobre el caqui mínimamente procesado con la finalidad de alargar la vida útil de este tipo de producto. Este último apartado de resultados se ha dividido en dos subapartados en función de la aplicación del aceite esencial:

- 3.3.1. Influencia de la incorporación del aceite esencial directamente en el envase.
- 3.3.2. Influencia de la incorporación del aceite esencial en el agua de lavado.

3.3.1. Influencia de la incorporación del aceite esencial directamente en el envase

Simulando a los envases activos, se aplicaron diferentes concentraciones de los aceites esenciales de tomillo y de limón (50, 250 y 500 μL) en el interior del envase, incorporándolos sobre una gasa estéril y evitando el contacto de la misma con la fruta. De este modo, se analizaron los efectos de los componentes volátiles de los aceites esenciales junto con el envasado en atmósfera modificada pasiva frente a un control que no contenía aceite esencial pero que fue envasado en las mismas condiciones que las otras muestras.

El análisis de la composición de la materia prima se muestra a continuación en la tabla III.10. En términos de humedad y sólidos solubles, los resultados son

similares a los obtenidos en otros ensayos dentro de esta tesis. Por otra parte, la capacidad antioxidante también está alrededor de los valores obtenidos en trabajos anteriores en esta misma variedad (Castelló et al., 2011). El contenido en fenoles totales fue ligeramente inferior a los presentados por Gorinstein et al. (2001) quienes determinaron 19,3 ($\pm 1,4$) mg de ácido gálico en la pulpa del caqui persimon de la variedad "Triumph".

Tabla III.10. Fracción másica de agua (x^w), fracción másica de sólidos solubles (x^{ss}), pH, fenoles totales expresados en mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por 100 gramos de muestra y capacidad antioxidante (% DPPH inhibido).

x^w	x^{ss}	pH	mg GAE/100 g muestra	%DPPH inhibido
0,815 (0,003)	0,169 (0,002)	5,92 (0,05)	13 (2)	42 (2)

Los valores entre paréntesis indican la desviación estándar de cada uno de los valores.

A continuación se muestra en la tabla III.11 las propiedades ópticas (luminosidad, coordenadas a^* y b^*) así como las propiedades mecánicas (fuerza máxima y distancia a la que se produce la misma) de la materia prima recién cortada.

Tabla III.11. Propiedades ópticas en términos de luminosidad (L^*) y coordenadas a^* y b^* y propiedades mecánicas en términos de fuerza (F) máxima expresada en Newton (N) y distancia (d) a la que se produce la misma expresada en milímetros (mm).

Propiedades ópticas			Propiedades mecánicas	
L^*	a^*	b^*	F máxima (N)	d (mm)
54 (3)	13 (2)	36 (2)	1,5 (0,3)	0,9 (0,2)

Los valores entre paréntesis indican la desviación estándar de cada uno de los valores.

3.3.1.1 Evolución de las características composicionales

En la figura III. 11 se muestra la evolución de la fracción másica de agua (x^w) [A] y de los sólidos solubles (x^{ss}) [B] a lo largo de los 13 días de almacenamiento. El ANOVA multifactorial indicó la influencia de las dos variables estudiadas (tratamiento y tiempo de almacenamiento), teniendo una mayor influencia el tratamiento aplicado.

Tal y como se puede observar en la figura III.11. A, el contenido en humedad disminuyó ligeramente en las muestras control mientras que las muestras con el aceite esencial, especialmente las que contenían tomillo presentaron valores ligeramente superiores respecto al control a partir del sexto día de almacenamiento. Este comportamiento podría estar relacionado con la influencia del aceite esencial sobre la presión de vapor en el espacio de cabeza.

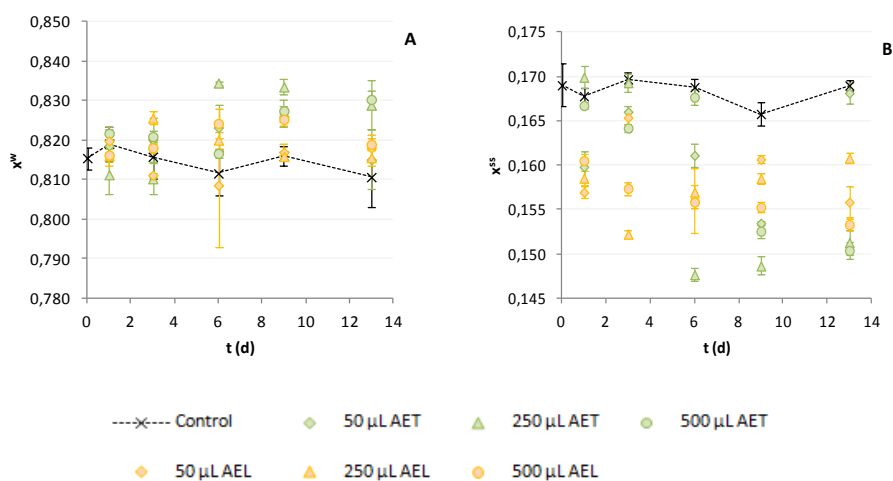


Figura III.11. Evolución del contenido en humedad (A) y sólidos solubles (B) de las muestras caqui cortado con aceite esencial de tomillo (AET) y aceite esencial de limón (AEL) incorporado directamente en el envase a lo largo del almacenamiento. La línea discontinúa representa la evolución del control.

Las muestras control mantuvieron un contenido en sólidos solubles estable durante el periodo estudiado, mientras que en las muestras con aceite esencial concretamente las de limón presentaron un menor contenido durante todo el periodo de almacenamiento.

En la figura III.12 se presenta la evolución del pH de las muestras a lo largo de los 13 días de almacenamiento. El pH de las muestras control permaneció estable durante el periodo de estudio mientras que las muestras con el aceite esencial incorporado en el envase presentaron valores inferiores al control, disminuyendo conforme avanzaba el tiempo de almacenamiento. Las muestras con aceite esencial de limón incorporado en el envase, presentaron valores de pH inferiores a las de tomillo.

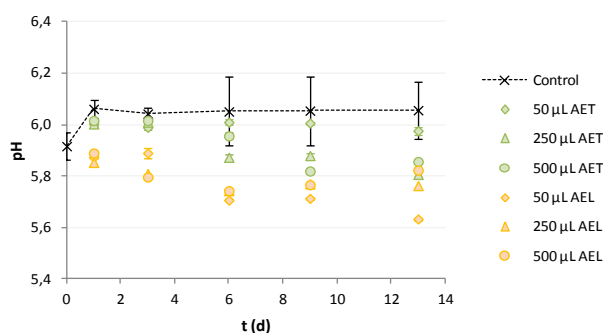


Figura III.12. Evolución del pH de las muestras caqui cortado con aceite esencial de tomillo (AET) y aceite esencial de limón (AEL) incorporado directamente en el envase a lo largo del almacenamiento. La línea discontinúa representa la evolución del control.

3.3.1.2 Análisis de la capacidad actividad antioxidante y de los fenoles totales

La capacidad antioxidante de la materia prima, así como a lo largo del almacenamiento fue determinada mediante el método del radical DPPH (Puupponen-Pimiä et al., 2003) tal y como se ha comentado en el subapartado 2.5.1 de materiales y métodos. La capacidad antioxidante se expresó como % de inhibición de este radical libre y por tanto a mayor % de inhibición de DPPH,

mayor capacidad antioxidante de la muestra. En la figura III.13. A y B se muestra la evolución de la capacidad antioxidante y de los fenoles totales respectivamente.

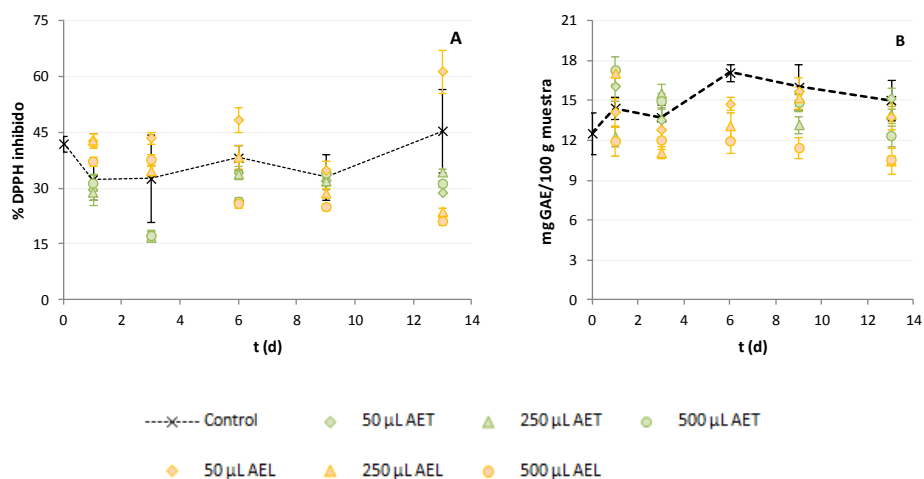


Figura III.13. Evolución del % de DPPH inhibido (A) y contenido en fenoles totales (B) expresado en mg de equivalentes de ácido gálico de las muestras caqui cortado con aceite esencial de tomillo (AET) y aceite esencial de limón (AEL) incorporado directamente en el envase a lo largo del almacenamiento. La línea discontinúa representa la evolución del control.

En la evolución del % de DPPH inhibido, se pudo observar un descenso en las muestras control y en todas las muestras tratadas con aceite esencial de tomillo tras 1 día de almacenamiento. Sin embargo, las muestras tratadas con aceite esencial de limón presentaron una mayor capacidad antioxidante respecto a las demás muestras, en especial las de 50 y 250 μL. Conforme avanzó el tiempo de almacenamiento, los valores de las muestras control permanecieron estables, aunque a los 13 días, las muestras control experimentaron un ligero aumento. Las muestras tratadas con el aceite esencial de tomillo, presentaron un valor muy similar entre ellas al inicio del almacenamiento, mostrando un descenso brusco al tercer día. No obstante, la capacidad antioxidante se incrementó al sexto día, en especial para las

muestras con 50 y 250 μL de aceite esencial de tomillo, aunque presentaron valores ligeramente inferiores al control. Al final del almacenamiento no se observaron cambios entre las muestras tratadas con el aceite esencial de tomillo independientemente de la dosis empleada. En cuanto a las muestras tratadas con el aceite esencial de limón, presentaron desde el inicio del ensayo valores ligeramente por encima del control y de las tratadas con aceite esencial de tomillo, en especial las que contenían 50 μL de aceite esencial de limón. No obstante, las muestras tratadas con 500 μL de aceite esencial de limón presentaron un menor % de inhibición del DPPH, respecto del resto de las muestras tratadas con este mismo aceite esencial al sexto día. Esta tendencia permaneció hasta el final del almacenamiento. De hecho, las muestras que contenían 250 y 500 μL de aceite esencial de limón en el envase, obtuvieron una capacidad antioxidante menor que el de las muestras control o las que contenían aceite esencial de tomillo. Sin embargo, Valero et al. (2006) cuando utilizaron eugenol y timol (siendo este último, uno de los componentes mayoritarios del aceite esencial de tomillo), obtuvieron una actividad antioxidante mayor tanto en la pulpa como en la piel de las uvas, en comparación al control que disminuyó en ambas.

En cuanto al contenido en fenoles totales (figura 13.III. B), en el primer día de almacenamiento hubo un ligero aumento en todas las muestras exceptuando las muestras con 500 μL de aceite esencial de limón y de 250 μL de aceite esencial de tomillo, que presentaron valores similares a la de materia prima. El contenido fenólico en las muestras control tendió a incrementarse hasta alcanzar un máximo en el sexto de día de almacenamiento. Posteriormente, comenzó a disminuir. Las muestras que contenían aceite esencial de tomillo en el envase, en concreto las de 50 y 500 μL presentaron los valores más altos (junto con las muestras que tenían 250 μL de aceite esencial de limón) en el

primer día de almacenamiento. Conforme avanzó el tiempo, hubo un descenso para las muestras con 250 y 500 μL de aceite esencial de tomillo. Éstas últimas presentaron valores por debajo del control a los 13 días. En cuanto al contenido en fenoles para las muestras con el aceite esencial de limón, todas presentaron valores inferiores a las muestras control a los 3 y en especial a los 6 días. Además, cabe destacar que la dosis más alta de este aceite implicó valores siempre por debajo del control y con una tendencia descendente durante todo el almacenamiento. Este hecho también quedó reflejado en la capacidad antioxidante de las muestras a la misma concentración (figura III.13. A), donde a partir de los 6 días se observó misma pauta descendente. Sin embargo, Valero et al. (2006) al utilizar eugenol y timol en los envases lograron reducir la tasa de pérdida de fenoles en la piel de las uvas mientras que se incrementó en la pulpa.

El incremento en el contenido de fenoles en las muestras control pudo ser debido al aumento en la síntesis de la fenilalanina amonio liasa (PAL) como consecuencia del estrés del corte. La actividad de esta enzima ha sido muy estudiada (Mateos et al., 1993; López-Gálvez et al., 1996; Pereyra et al., 2005; Roura et al., 2008). Las heridas es uno de los tipos de estrés abiótico que producen señales que se propagan desde los tejidos dañados hacia los tejidos adyacentes no dañados e induce la síntesis de nuevas proteínas específicas inducidas por el daño. Algunas de estas proteínas son enzimas del metabolismo fenólico como la PAL, cuyo incremento en la actividad conduce a la acumulación de compuestos fenólicos (Salveit, 2000). La mayor parte de los compuestos fenólicos de las plantas derivan de la fenilalanina, la cual por eliminación de una molécula de amonio forma el ácido cinámico. La PAL es la enzima que cataliza dicha reacción (Taiz y Zeiger, 2006).

Por otro lado, el aumento en el contenido de fenoles en los primeros días de las muestras tratadas con aceites esenciales, en especial las de tomillo, pudieron ser debido a los propios componentes de naturaleza fenólica de éstos. Así por ejemplo, Lee et al. (2005) identificaron los componentes volátiles de las hojas de albahaca y tomillo, midiendo además, las actividades antioxidantes de los compuestos aromáticos. Entre los productos químicos identificados en los extractos de albahaca y tomillo, el timol, carvacrol, 4-alifenol y eugenol mostraron una gran actividad antioxidante, inhibiendo la oxidación del hexanal en un 95-99% a 5 µg/mL (cantidad del componente volátil) a lo largo de 30 días. El nivel de actividad antioxidante fue comparable al del α -tocoferol e hidroxitolueno butilado (BHT). Los principales constituyentes del aroma del tomillo fueron entre otros, el timol (8,55 mg/g) y el carvacrol (0,681 mg/g).

Por otro lado, el hecho de que las muestras con mayor dosis de aceite esencial de limón presentaran una disminución en el contenido en fenoles totales durante todo el periodo de ensayo junto con las de tomillo al final de almacenamiento, pudo ser debido a una disminución en la producción de la PAL. Así Fujita et al. (2006), inhibieron la actividad de la PAL procedente de lechuga utilizando trans-cinamaldehído, siendo esta inhibición dosis dependiente. Este compuesto se puede encontrar en el aceite esencial de canela. Por tanto, es posible que algún componente volátil de los aceites esenciales estudiados, hubiese podido interferir en su síntesis. No obstante, esta disminución también pudo ser debida a la propia oxidación de los compuestos fenólicos por la polifenoloxidasas (PPO) ya que como se verá en la evolución de las propiedades ópticas (apartado 3.3.1.4), las muestras con 500 µL de aceite esencial de limón experimentaron un descenso progresivo de la

coordinada a* con el tiempo así como de luminosidad y de coordenada b* a los 13 días.

3.3.1.3 Evolución de la atmósfera en el interior del envase

Se analizó la concentración de gases en el interior del envase a lo largo de los 13 días de almacenamiento. El sistema fruta-envase-entorno es un sistema semipermeable, donde la concentración de los gases (O₂ y CO₂) varía en función de dos parámetros, la tasa respiratoria de la fruta (TR) y de la permeabilidad del envase (ecuación III.20). El sistema alcanzará el equilibrio (atmósfera de equilibrio) cuando ambos parámetros se igualen (ecuación III.21).

$$\left| \frac{dj_i}{dt} \right| = |TR_i| + |P_i| \quad \text{III.20}$$

$$|TR_i| = |P_i| \quad \text{III.21}$$

Donde:

$\left| \frac{dj_i}{dt} \right|$ es la variación de gases (O₂ y CO₂) con respecto al tiempo, $|TR_i|$ es la tasa respiratoria de O₂ y CO₂ (mL·kg⁻¹·h⁻¹) y $|P_i|$ es la permeabilidad del envase respecto al O₂ y CO₂.

A continuación en la figura III.14 se muestran algunos ejemplos de la evolución de gases en el espacio de cabeza del envase del aceite esencial de tomillo incorporado en el envase.

III. Resultados y Discusión: Influencia de la aplicación de aceites esenciales

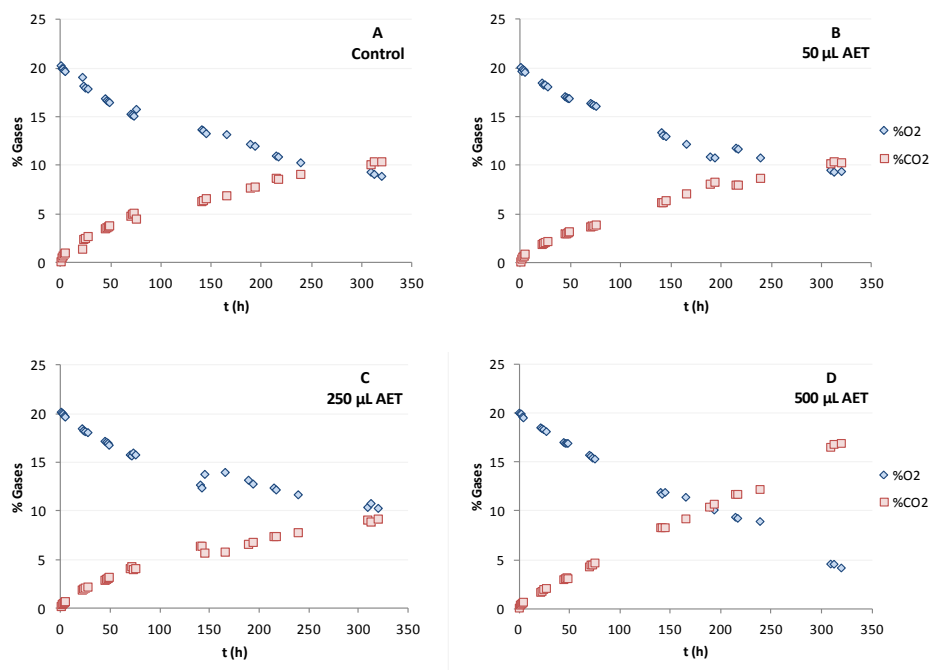


Figura III.14. Ejemplo de la evolución de gases (%O₂ y %CO₂) con respecto al tiempo de almacenamiento de las muestras de caqui mínimamente procesado con aceite esencial de tomillo (AET) incorporado en el envase (B, C y D) junto a su control (A).

En todos los casos hubo un descenso en la concentración de O₂ y un incremento en la concentración de CO₂, como consecuencia de la actividad respiratoria del fruto y de la permeabilidad selectiva del envase a ambos gases. En ningún caso se llegó a la atmósfera de equilibrio, aunque podría estar próxima al 10% tanto en CO₂ como en O₂, excepto en el caso de los envases con 500 μL de aceite esencial de tomillo incorporado en el envase, donde la atmósfera de equilibrio se alejó de estos valores.

Por otro lado, en la figura III.15 se presentan ejemplos de la incorporación del aceite esencial de limón en el envase junto con un control.

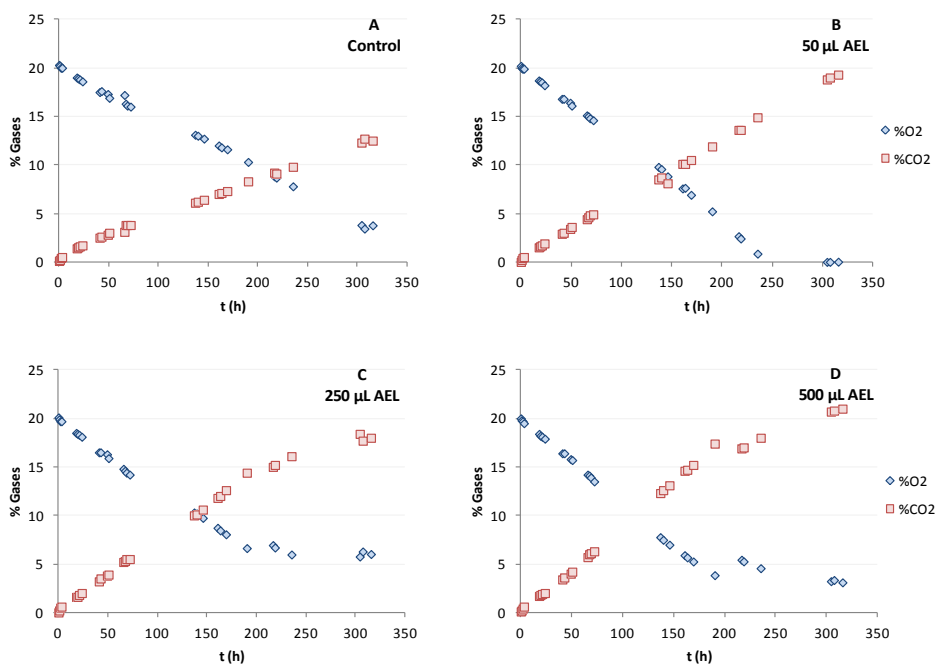


Figura III.15. Ejemplo de la evolución de gases (%O₂ y %CO₂) con respecto al tiempo de almacenamiento de las muestras de caqui mínimamente procesado con aceite esencial de limón (AEL) incorporado en el envase (B, C y D) junto a su control (A).

La concentración de O₂ disminuyó a niveles por debajo del 5%, mientras que la concentración de CO₂ alcanzó alrededor de un 20% en los envases donde se les incorporó el aceite esencial de limón. En ningún caso parece que se hubiera llegado a la atmósfera de equilibrio.

Las diferentes velocidades de cambio en la atmósfera del envase encontradas, tanto por el tipo de aceite esencial como por la dosis del mismo, sugieren que pudieron existir diferencias en las tasas respiratorias del producto y/o cambios en las propiedades del film polimérico. Así, parece que cuando se utilizó aceite de limón, al ser éste muy volátil cambiaron las condiciones de la atmósfera de envasado, influyendo esto en el metabolismo respiratorio, disminuyendo más rápidamente el O₂ disponible y aumentando el CO₂ de la atmósfera. Este efecto fue más acentuado cuanto mayor era la dosis de aceite esencial

utilizado. Cuando se utilizó tomillo, la concentración de gases en el espacio de cabeza cambió más lentamente, pudiendo deberse a unas tasas respiratorias más bajas que en el caso anterior. Sólo cuando la dosis empleada fue elevada (500 mL) empezó a observarse aumentos en las tasas respiratorias.

Por otro lado, los vapores de aceite esencial también podrían estar produciendo cambios en las características de permeabilidad del material polimérico, disminuyendo tanto la permeabilidad al O₂ como al CO₂.

Valero et al. (2006) también obtuvieron una disminución en la concentración de O₂ y un aumento en la concentración de CO₂ en uvas envasadas con polipropileno orientado no perforado, para todos los tratamientos (control e incorporación en el envase de timol y eugenol a diferentes dosis) durante el almacenamiento a 1 °C. No obstante, en la composición final de los gases, la menor y mayor concentración en O₂ y CO₂ respectivamente, se presentó en las muestras control. Por otro lado, Serrano et al. (2005), utilizaron el mismo material de envasado para cerezas, pero con eugenol, timol, mentol, y eucaliptol en el interior del envase. También hubo una reducción en los niveles de O₂ y un aumento en el de CO₂ en el espacio de cabeza. No obstante, la composición de gases en el interior de los envases alcanzó el estado estacionario en una concentración de 2-3% para el CO₂ y 11-12% para el O₂, a los 9 días para todos los tratamientos salvo en del eucaliptol, donde la modificación de la atmósfera fue mayor durante almacenamiento a 1 °C.

Además se calculó, la velocidad de cambio (N_i) en la atmósfera del interior del envase, expresada en función del tiempo y de la unidad de masa del producto, considerando el tramo lineal de la evolución de los mismos (hasta las 72 horas), así como la relación entre ambas velocidades (tabla III.12).

Tabla III.12. Velocidad de cambio en la concentración de O₂ (N_{O₂}) y de CO₂ (N_{CO₂}) en el interior del envase y la relación entre ambas (N_{CO₂}/N_{O₂}).

Muestra	Volumen de AE (μL)	N _{O₂} (mL·kg ⁻¹ ·h ⁻¹)	N _{CO₂} (mL·kg ⁻¹ ·h ⁻¹)	N _{CO₂} /N _{O₂}
Control	0	2,0 (0,4) ^{ab}	1,9 (0,3) ^a	0,95 (0,09) ^{ab}
Aceite esencial de tomillo	50	1,9 (0,5) ^a	1,9 (0,5) ^a	1,0 (0,0) ^{ab}
	250	2,3 (0,2) ^{abc}	2,0 (0,2) ^a	0,86 (0,03) ^a
	500	2,14 (0,03) ^{abc}	2,14 (0,15) ^{abc}	1,00 (0,08) ^b
Aceite esencial de limón	50	2,5 (0,4) ^{bcd}	2,21 (0,15) ^{ab}	0,91 (0,08) ^{ab}
	250	2,7 (0,5) ^{cd}	2,6 (0,4) ^{bc}	0,99 (0,06) ^b
	500	3,0 (0,4) ^d	3,0 (0,4) ^c	0,99 (0,02) ^b

Los valores entre paréntesis indican la desviación estándar de cada uno de los valores.

Las letras iguales indican valores homogéneos con un nivel de significancia ($\alpha \leq 0,05$).

Como se ha comentado anteriormente, la presencia de aceite esencial de tomillo no pareció afectar al metabolismo respiratorio de la fruta, en ninguno de los volúmenes empleados. Sin embargo, la presencia de aceite esencial de limón en el envase pareció incrementar la velocidad de cambio tanto para el O₂ como para el CO₂. De hecho, cuanto mayor fue el volumen empleado, mayor fue la velocidad de cambio. Esto podría ser debido al estrés que la presencia de algún componente volátil del aceite esencial de limón produciría sobre el caqui cortado, combinado posiblemente con cambios en la permeabilidad del material.

La relación entre ambas velocidades fue para todos los caso cercana a la unidad, lo que estaría relacionado con condiciones aerobias en el envase durante el tramo de tiempo considerado.

3.3.1.4 Evolución de las propiedades ópticas

En las figuras III.16 y III. 17 se muestran la evolución de la luminosidad (L*) y de las coordenadas a* y b* de las muestras de caqui mínimamente procesado a

las que se les incorporó el aceite esencial directamente en el envase respecto a su control.

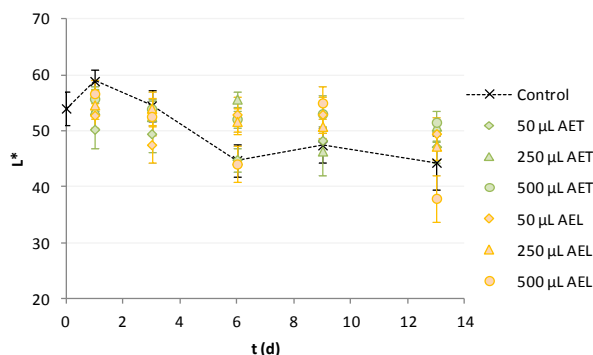


Figura III. 16. Evolución de la luminosidad (L^*) de las muestras caqui cortado con aceite esencial de tomillo (AET) y aceite esencial de limón (AEL) incorporado directamente en el envase a lo largo del almacenamiento. La línea discontinua representa la evolución del control

Todos los parámetros de color disminuyeron con el tiempo de almacenamiento. La luminosidad de las muestras control disminuyeron hasta el sexto día de almacenamiento y a continuación, permanecieron estables hasta el final del periodo estudiado. Todas las muestras que contenían aceite esencial de tomillo presentaron durante los primeros tres días, valores ligeramente por debajo del control, especialmente las muestras con menor dosis (50 μL). A los 6 días de almacenamiento, éstas presentaron valores similares al control durante todo el almacenamiento. Por el contrario, las muestras con la mayor dosis (500 μL), mostraron valores superiores al control a partir de los 6 días de almacenamiento. Esto coincidió con los resultados de Valero et al. (2006), quienes al aplicar eugenol y especialmente timol a una dosis de 150 μL en el interior del envase, redujeron los cambios en luminosidad y en la coordenada a^* de las uvas.

En cuanto a las muestras con aceite esencial de limón, también presentaron durante los primeros tres días, valores ligeramente por debajo del control,

especialmente las muestras con menor dosis (50 μL). Sin embargo, éstas junto con las de 250 μL se mantuvieron por encima del control hasta el final del ensayo. Las muestras de mayor dosis presentaron un descenso brusco a los 13 días, obteniendo el valor de luminosidad más bajo respecto al resto de las muestras. En la figura III.17. A, se puede observar un ligero aumento de la coordenada a^* en las muestras control hasta los 3 días de almacenamiento, a partir del cual comenzó a disminuir, pero manteniéndose estable dentro de un rango. En el primer día de almacenamiento todas las muestras mantuvieron un valor similar entre ellas. Las muestras tratadas con aceite esencial de tomillo mantuvieron valores similares, independientemente de la dosis empleada durante todo el almacenamiento. Sin embargo, en el sexto día las muestras de 50 y 500 μL presentaron valores ligeramente por encima de la de 250 μL . Esto pudo ser debido a la propia variabilidad de la materia prima. En cuanto a las tratadas con aceite esencial de limón, cabe destacar que las que contenían mayor cantidad (500 μL) experimentaron un progresivo descenso hasta el final del ensayo, donde mostraron el menor valor de todas las muestras (hacia colores más pardos).

Todas las muestras presentaron valores de la coordenada b^* (figura III.17. B) dentro de un mismo rango en el primer día de almacenamiento. No obstante, esta coordenada tendió a disminuir en las muestras control con el tiempo. Tras un día de almacenamiento, las muestras con 500 μL de aceite esencial de tomillo mostraron valores por encima del control. A los 9 y 13 días, todas las muestras con aceite esencial de tomillo presentaron valores similares independientemente de la dosis. En cuanto al aceite esencial de limón incorporado en el envase, a pesar de que las muestras con 500 μL obtuvieron valores por encima del control durante todo el almacenamiento, el último día presentó el valor más bajo de todas las muestras.

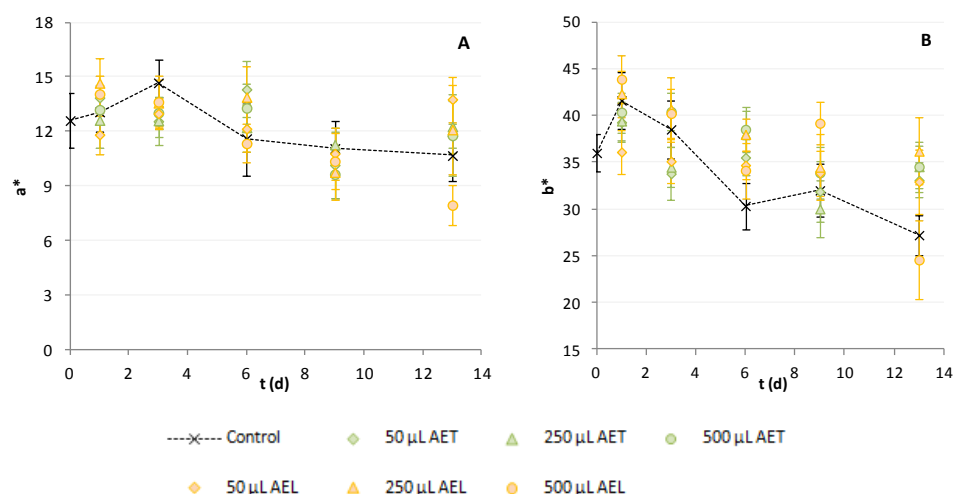


Figura III.17. Evolución de las coordenadas a* (A) y b* (B) de las muestras caqui cortado con aceite esencial de tomillo (AET) y aceite esencial de limón (AEL) incorporado directamente en el envase a lo largo del almacenamiento. La línea discontinua representa la evolución del control.

De acuerdo a estos resultados, es probable que el aceite esencial a altas concentraciones pudiera ejercer un efecto negativo en el caqui a largo plazo afectando a las coordenadas de color dando lugar a modificaciones en los pigmentos de esta fruta. Este comportamiento podría estar relacionado con los efectos citotóxicos que pueden producir algunos aceites esenciales o sus componentes en determinados productos, tal y como fue comprobado por Bellitti et al. (2008), quienes observaron que el color de las frutas, en especial las manzanas se vieron afectadas por el citral cuando se añadió a la ensalada de frutas a altas concentraciones. No obstante, estos efectos citotóxicos no fueron observados cuando utilizaron aceite esencial de limón cidra en la ensalada de frutas, a pesar de la presencia de citral en este aceite esencial. Por otro lado, tal y como se comentó anteriormente, las muestras con 500 µL de aceite esencial de limón experimentaron un descenso progresivo en el

contenido de fenoles totales, posiblemente debido a la acción de la polifenoloxidasa, lo cual explicaría la tendencia hacia colores más pardos.

En la figura III.18 se muestra la evolución del tono (h^*) [A] y del croma (C^*) [B] de las muestras de caqui mínimamente procesado a las que se les ha aplicado directamente en el envase aceite esencial de tomillo y limón respecto a su control. Las muestras control presentaron una ligera disminución del tono a lo largo del tiempo estudiado. Los trozos de caqui con aceite esencial en el envase mantuvieron mejor el tono a lo largo de este periodo, no habiendo diferencias significativas entre los aceites ni tampoco entre las concentraciones empleadas. En cuanto al croma, las muestras control sufrieron un descenso paulatino del mismo a medida que avanzaba el tiempo de almacenamiento. Sin embargo, las muestras con aceite esencial incorporado en el envase y en especial las de limón mantuvieron mejor los valores del croma salvo la concentración más alta (500 μL) al final del almacenamiento. Esta disminución en el croma sería consecuencia tanto de la reducción la coordenada a^* como en la b^* al final del almacenamiento. En esta tesis no se ha observado un efecto muy claro de la posible protección del aceite esencial del tomillo en el color. Sin embargo, Serrano et al. (2005) al utilizar eugenol, timol y mentol consiguieron retrasar cambios en el color de la piel de cerezas. De hecho el índice croma comenzó a disminuir en las muestras tratadas con timol y mentol tras 9 días mientras que para el eugenol no hubieron cambios significativos durante los 13 primeros días de almacenamiento en frío.

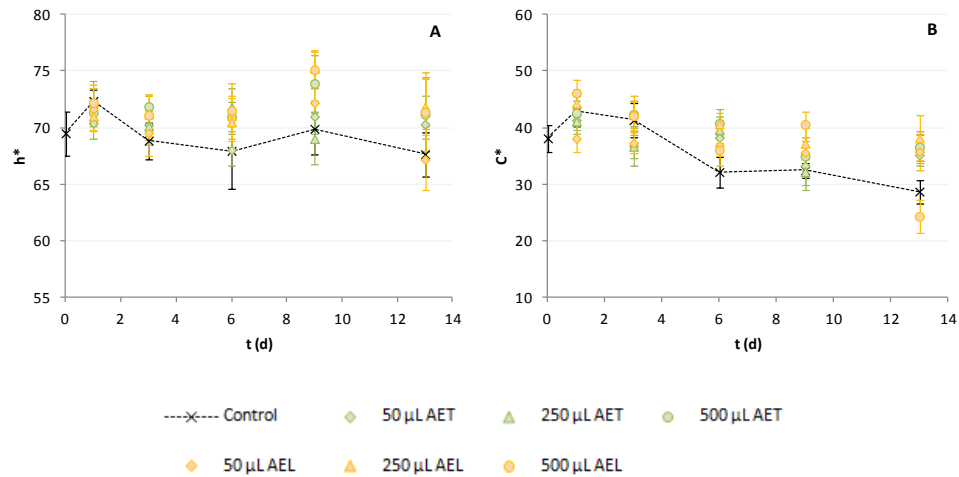


Figura III.18. Evolución del tono (h^*) y del croma (C^*) de las muestras caqui cortado con aceite esencial de tomillo (AET) y aceite esencial de limón (AEL) incorporado directamente en el envase a lo largo del almacenamiento. La línea discontinúa representa la evolución del control.

3.3.1.5 Evolución de las propiedades mecánicas

La evolución de las propiedades mecánicas de los trozos de caqui tratados con los aceites esenciales de tomillo y limón junto con las muestras control, se muestra en a figura III.19.

El ANOVA multifactorial aplicado mostró que la variable tiempo no influyó en ninguna de las propiedades mecánicas estudiadas. La variable tratamiento influyó en la fuerza máxima pero no en la distancia a la que se produjo la misma. Sin embargo, hubo interacción de ambas variables tanto para la fuerza máxima como en la distancia.

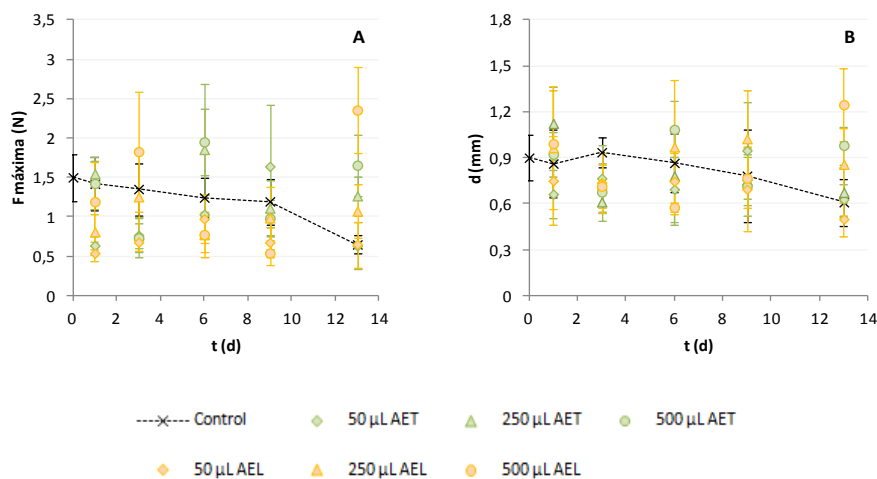


Figura III.19. Evolución de la fuerza (F) máxima expresada en Newton (N) y de la distancia (d) a la cual se produce la misma expresada en milímetros (mm) de las muestras caqui cortado con aceite esencial de tomillo (AET) y aceite esencial de limón (AEL) incorporado directamente en el envase a lo largo del almacenamiento. La línea discontinúa representa la evolución del control.

En las muestras control, la fuerza máxima se mantuvo más o menos estable hasta los 9 días de almacenamiento, disminuyendo este parámetro a los 13 días traduciéndose esto, en un ablandamiento de las muestras. Este comportamiento, también se observó para la distancia a la cual se produjo la misma. La aplicación del aceite esencial directamente en el envase no mostró una tendencia clara, con excepción de las muestras tratadas con 50 µL de aceite esencial de limón presentaron un ligero reblandecimiento respecto al control. Sin embargo, Serrano et al. (2005), sí que observaron una disminución menor de la firmeza en los envases que contenían timol o mentol respecto al control, aunque el mejor resultado lo obtuvieron con el eugenol (con el que la firmeza permaneció sin cambios).

3.3.1.6 Análisis microbiológico

La determinación tanto de microorganismos mesófilos aerobios como de levaduras y mohos, fue utilizada para la estimación de la vida útil. Se realizó un análisis microbiológico del caqui fresco recién cortado. El recuento de microorganismos mesófilos aerobios fue de 300 (± 141) UFC/g, siendo un valor inferior al establecido por el Real Decreto (RD) 3484/2000 respecto al día de fabricación de comidas preparadas a base de vegetales crudos que no debe superar $1 \cdot 10^5$ UFC/g de microorganismos aerobios mesófilos. En la figura III.20 se muestra la evolución en el crecimiento de microorganismos aerobios mesófilos tanto para las muestras control como para las muestras con el aceite esencial incorporado directamente en el envase.

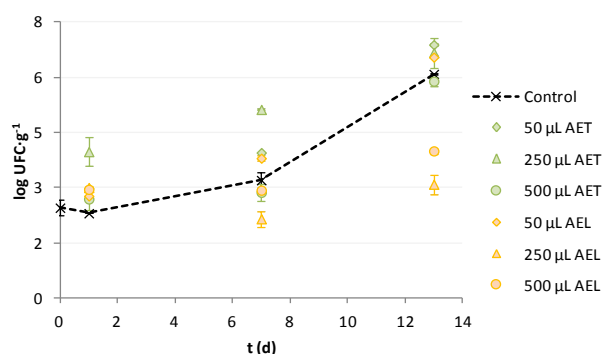


Figura III.20. Evolución del crecimiento de microorganismos aerobios mesófilos de las muestras caqui cortado con aceite esencial de tomillo (AET) y aceite esencial de limón (AEL) incorporado directamente en el envase a lo largo del almacenamiento. La línea discontinúa representa la evolución del control.

El ANOVA multifactorial aplicado indicó la influencia de las dos variables estudiadas, ejerciendo un mayor efecto el tiempo de almacenamiento. En general, a medida que avanzó el tiempo de almacenamiento hubo un aumento en el crecimiento microbiano de aerobios mesófilos en todas las muestras.

Las muestras tratadas con los aceites esenciales tras 1 día de almacenamiento mostraron un mayor recuento microbiano que el control, especialmente las que contenían 250 µL de aceite esencial de tomillo en el envase. No obstante, a la semana de almacenamiento los recuentos de las muestras tratadas con 500 µL de aceite esencial de tomillo y las de aceite esencial de limón en mayor volumen (250 y 500 µL) presentaron valores ligeramente por debajo del control (en especial la de 250 µL). Sin embargo a los 13 días, casi todas las muestras presentaron recuentos similares al control, superando el valor establecido como no satisfactorio según este RD ($1 \cdot 10^6$ - $1 \cdot 10^7$ UFC/g), exceptuando las que contenían un mayor volumen de aceite esencial de limón en el envase (250 y 500 µL). Por tanto, los volátiles presentes en el aceite esencial de limón parecieron ser más efectivos que los del aceite esencial de tomillo. Además, también podría haber contribuido a este efecto el valor de pH de las muestras de caqui cortado y envasado con los volúmenes de 250 y 500 µL de aceite esencial de limón, ya que fue ligeramente inferior al resto de las muestras al final del almacenamiento. Sin embargo, Fisher y Phillips (2006) estudiaron el efecto antimicrobiano de los vapores de limón *in vitro*, no obteniendo inhibición en el crecimiento de ninguna de las bacterias estudiadas, sin embargo sí que se observó efecto inhibitorio cuando se utilizaron los vapores de citral y de linalool (componentes minoritarios del aceite esencial de limón) tanto *in vitro* como *in vivo*. Por otro lado, Ramos et al. (2012) evaluaron la actividad antimicrobiana de films de polipropileno a los que se les incorporó carvacrol y timol (compuestos presentes en el aceite esencial de tomillo), de modo que la concentración de un 8% (w/w) de timol mostró la mayor inhibición microbiana frente *Staphylococcus aureus*.

No hubo crecimiento de levaduras y mohos, ni el día de preparación, ni tampoco durante el tiempo almacenamiento. Sin embargo, hay estudios donde

se ha evaluado el efecto de compuestos volátiles procedentes de plantas frente a hongos. Así por ejemplo, Neri et al. (2006) analizaron la actividad frente al *Penicillium expansum* de varios volátiles procedentes de plantas *in vitro*, siendo los compuestos trans-2-hexenal, carvacrol, trans-cinamaldehído y citral, los más activos frente a la germinación conidial o crecimiento micelial. No obstante, en el tratamiento *in vivo* sobre peras de la variedad "Conferencia", los vapores del trans-2-hexenal (12,5 µL/L) fueron los más efectivos tras 24 horas, mientras que el carvacrol y el trans-cinamaldehído no tuvieron un efecto inhibitorio significativo (a ninguna de las dosis empleadas). El citral mostró un ligero control a la concentración de 200 µL/L.

3.3.2. Influencia de la incorporación del aceite esencial en el agua de lavado

Con la finalidad de mantener mejor el color en los trozos de caqui y su estabilidad microbiológica, se propuso la aplicación de los aceites esenciales de tomillo y limón en el agua de lavado a diferentes concentraciones (250 y 500 $\mu\text{L/L}$). De este modo, se pretendió evaluar la ventaja de su incorporación directa en el alimento frente a un control, el cual fue lavado únicamente con agua potable.

En la tabla III. 13 se muestran las características composicionales de la materia prima antes de ser sometida al proceso de lavado. Los resultados obtenidos fueron similares a los de otros ensayos dentro de esta tesis y a otros trabajos como se ha comentado anteriormente (Castelló et al., 2011; Gorinstein et al., 2001).

Tabla III.13 Fracción másica de agua (x^w), fracción másica de sólidos solubles (x^{ss}), pH, fenoles totales expresados en mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) y capacidad antioxidante (% DPPH inhibido).

x^w	x^{ss}	pH	mg GAE/100 g muestra	%DPPH inhibido
0,814 (0,002)	0,1635 (0,0008)	5,90 (0,01)	14,1 (0,7)	35 (3)

Los valores entre paréntesis indican la desviación estándar de cada uno de los valores.

Los resultados obtenidos determinación de las propiedades ópticas de la materia prima ($L^*=50\pm 5$, $a^*=13\pm 2$ y $b^*=36\pm 3$), también fueron del mismo orden que en el ensayo anterior.

3.3.2.1 Evolución del análisis composicional

En las figuras III.21 y III.22 se presentan los resultados correspondientes de la evolución del contenido en humedad (x^w), sólidos solubles (x^{ss}) y pH respectivamente a lo largo del almacenamiento. Las muestras lavadas presentaron un aumento en humedad respecto a la materia prima debido a la entrada de agua en la matriz de la fruta, aunque no se observó ningún efecto claro de los aceites esenciales y tampoco del tiempo de almacenamiento. En este sentido, se pone de manifiesto que el agua incorporada en el lavado, se mantuvo en la estructura del producto sin producir lixiviación. Asimismo, el material de envasado parece tener la permeabilidad al vapor de agua óptima para impedir que condense en el interior. La fracción másica de sólidos solubles (figura III.21. B) fueron inferiores a los de la materia prima, por el aumento en el contenido en humedad debido al lavado. Por otra parte, al final del almacenamiento parece producirse un ligero descenso en el contenido de los mismos en las muestras lavadas con aceite esencial, en especial las de tomillo en coherencia con la ligeramente superior humedad observada en estos casos.

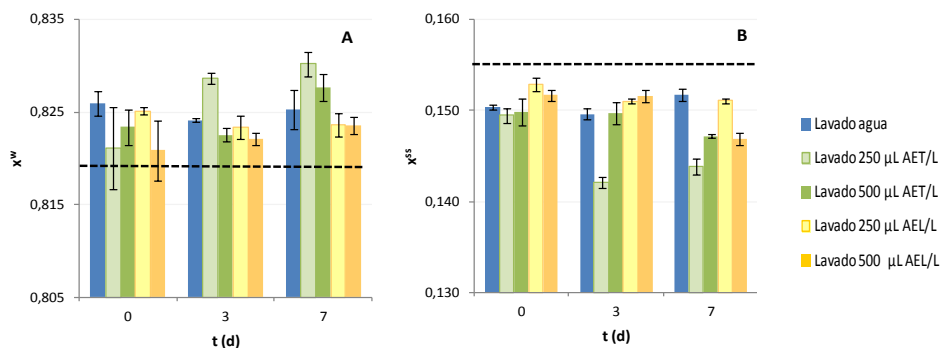


Figura III.21. Evolución del contenido en humedad (A) y sólidos solubles (B) de las muestras lavadas con aceite esencial de tomillo (AET) y aceite esencial de limón (AEL) a lo largo del almacenamiento. Las líneas discontinuas representan los valores de las condiciones iniciales de la materia prima.

En cuanto al pH (figura III.22), hubo un ligero aumento del mismo a lo largo del almacenamiento pero la aplicación de aceite esencial en la etapa de lavado no mostró diferencias significativas entre las muestras tratadas. Este ligero aumento del pH también fue observado en el apartado 3.1.1 (tabla III.2) correspondiente al apartado de resultados del análisis composicional del estudio del metabolismo respiratorio en función de la modificación de la atmósfera del espacio de cabeza y de la aplicación de lactato cálcico. En ese caso, hubo un ligero incremento cuando se aplicó atmósferas ricas en CO₂. En este ensayo de aplicación del aceite esencial, se puede observar en el apartado de evolución en el espacio de cabeza (3.3.2.3) que se alcanzó aproximadamente un 5% de CO₂ al final del almacenamiento (figura III.24).

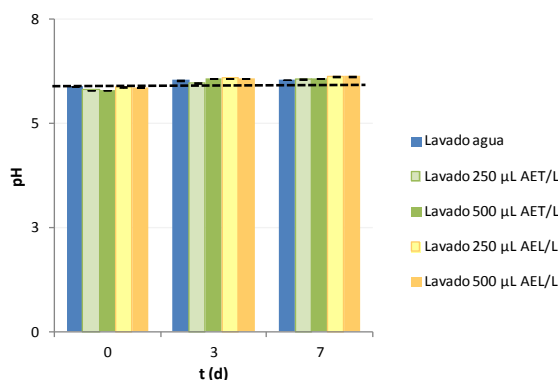


Figura III.22. Evolución del pH de las muestras lavadas con aceite esencial de tomillo (AET) y aceite esencial de limón (AEL) frente a las lavadas con agua a lo largo del almacenamiento. La línea discontinúa representa el valor inicial de pH de la materia prima.

3.3.2.2 Evolución del análisis de la capacidad actividad antioxidante y de los fenoles totales

En la figura III.23 se presenta las evoluciones de la capacidad antioxidante (A) y fenoles totales (B) durante la semana de almacenamiento. La capacidad antioxidante se ha representado como porcentaje de inhibición del radical

libre DPPH, utilizando la fórmula III.2 que se comentó en el apartado de materiales y métodos (2.5.1) en función de los cambios en la absorbancia de las muestras. De esta manera, a mayor porcentaje de inhibición, mayor capacidad antioxidante de la muestra analizada.

Tal y como se puede observar, el proceso de lavado implicó una pérdida significativa de componentes antioxidantes. Posiblemente hubo pérdida de vitamina C puesto que es una vitamina hidrosoluble, como consecuencia del tratamiento de lavado. No obstante, los aceites esenciales ejercieron un efecto positivo frente a las muestras lavadas únicamente con agua, presentando mayor capacidad antioxidante durante el tiempo estudiado, esto posiblemente fuese debido a los propios compuestos que contienen los aceites esenciales empleados. Durante los primeros días de estudio no existirían diferencias entre los aceites esenciales de limón y tomillo ni entre las concentraciones empleadas. Por otra parte, al tercer día de almacenamiento, se observó un aumento importante de la capacidad antioxidante por efecto de los aceites esenciales, aunque al final del almacenamiento hay un descenso generalizado en todas las muestras lavadas con aceite esencial. Sin embargo, éstas siguen presentando valores por encima de las muestras lavadas con agua, y más cercanos a los de la materia prima inicial, en especial en las muestras lavadas con aceite esencial de limón a la concentración más alta. El hecho de que la capacidad antioxidante de las muestras tratadas con los aceites esenciales sea mayor a las tratadas con agua pudo ser debido a la propia capacidad antioxidante de los aceites esenciales. Ponce et al. (2004) estudió el efecto varios aceites esenciales sobre la actividad peroxidasa procedente del extracto de 5 especies de hortalizas de hoja, llegando a la conclusión que la actividad antioxidante de los aceites esenciales dependía de la fuente de enzimas. Los aceites esenciales de clavo, romero, limón y árbol de té mostraron altas

propiedades antioxidantes. Por otro lado, Mousavizadeh y Sedaghatoor (2011) también evaluaron las propiedades antioxidantes varios aceites esenciales sobre la reducción de la peroxidasa, de modo que la aplicación *in vivo* del aceite esencial de tomillo mostró una gran capacidad para minimizar la capacidad de la enzima en las espinacas y en la lechuga romana. Además, Mousavizadeh et al. (2011) obtuvieron que la aplicación del aceite esencial de limón *in vivo* presentaba una gran actividad antioxidante en la col blanca. Por tanto, los aceites esenciales poseen propiedades antioxidantes que permitirían mejorar la conservación de los productos mínimamente procesados.

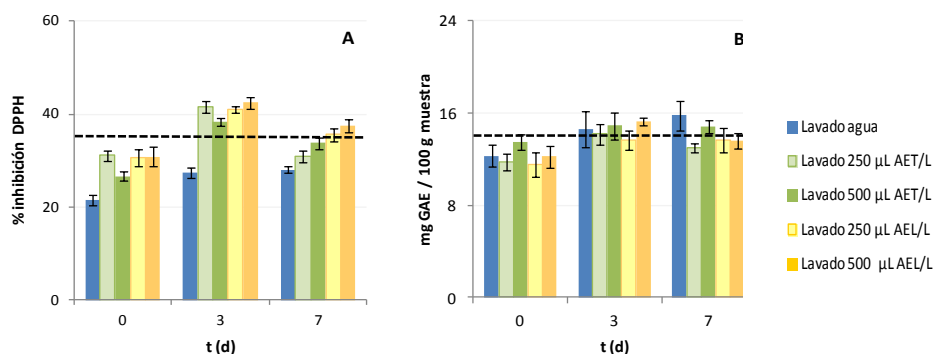


Figura III.23. Evolución del % de inhibición de DPPH (A) y fenoles totales (B) expresados como miligramos de equivalentes de ácido málico por 100 gramos de muestra, de las muestras lavadas con aceite esencial de tomillo (AET) y aceite esencial de limón (AEL) frente a las lavadas con agua a lo largo del almacenamiento. Las líneas discontinúas indica los valores de las condiciones iniciales de la materia prima

En cuanto a los fenoles totales, inicialmente todas las muestras presentaron un menor contenido que los de materia prima, excepto las tratadas con 500 µL de aceite esencial de tomillo. A medida que avanzó el almacenamiento aumentó el contenido en fenoles totales en todas las muestras respecto a los valores obtenidos en el día de procesado (día 0). Este aumento se mantuvo al final del almacenamiento en especial para las muestras tratadas con agua y aceite esencial de tomillo a la concentración más alta.

Como se comentó anteriormente (en el ensayo de incorporación del aceite esencial en el envase, apartado 3.3.1.2), el incremento en el contenido de fenoles en las muestras pudo ser debido al aumento en la síntesis de la PAL como consecuencia del estrés del corte. Por lo tanto, el incremento en el contenido en fenoles totales explicaría, el incremento en la capacidad antioxidante a los 3 días. Aunque, este aumento de fenoles totales en las muestras tratadas con agua fue mayor que para el resto de las muestras, esto no se vio reflejado en una mayor capacidad antioxidante respecto a las demás muestras. No obstante, sí se observó un mayor porcentaje de inhibición de DPPH en estas muestras respecto al día 0 a lo largo del almacenamiento.

3.3.2.3. Evolución de la atmósfera en el interior del envase

Se ha analizado la concentración de gases en el interior del envase a lo largo del almacenamiento. Al tratarse de un sistema semipermeable, la variación de O₂ y de CO₂ con respecto al tiempo dependió de la tasa respiratoria del fruto y de la permeabilidad del envase.

En la figura III.24, se puede observar ejemplos de la evolución de las concentraciones de O₂ y de CO₂ durante el tiempo de almacenamiento que en este caso fue de 7 días. Tal y como se puede observar en la misma, el O₂ descendió alrededor de un 15% mientras que los niveles de CO₂ aumentaron aproximadamente un 5%. En general, a partir del cuarto día, parece que el sistema tiende al equilibrio, y por tanto, tiende a igualarse el flujo de gas a través del material polimérico con la tasa respiratoria del producto.

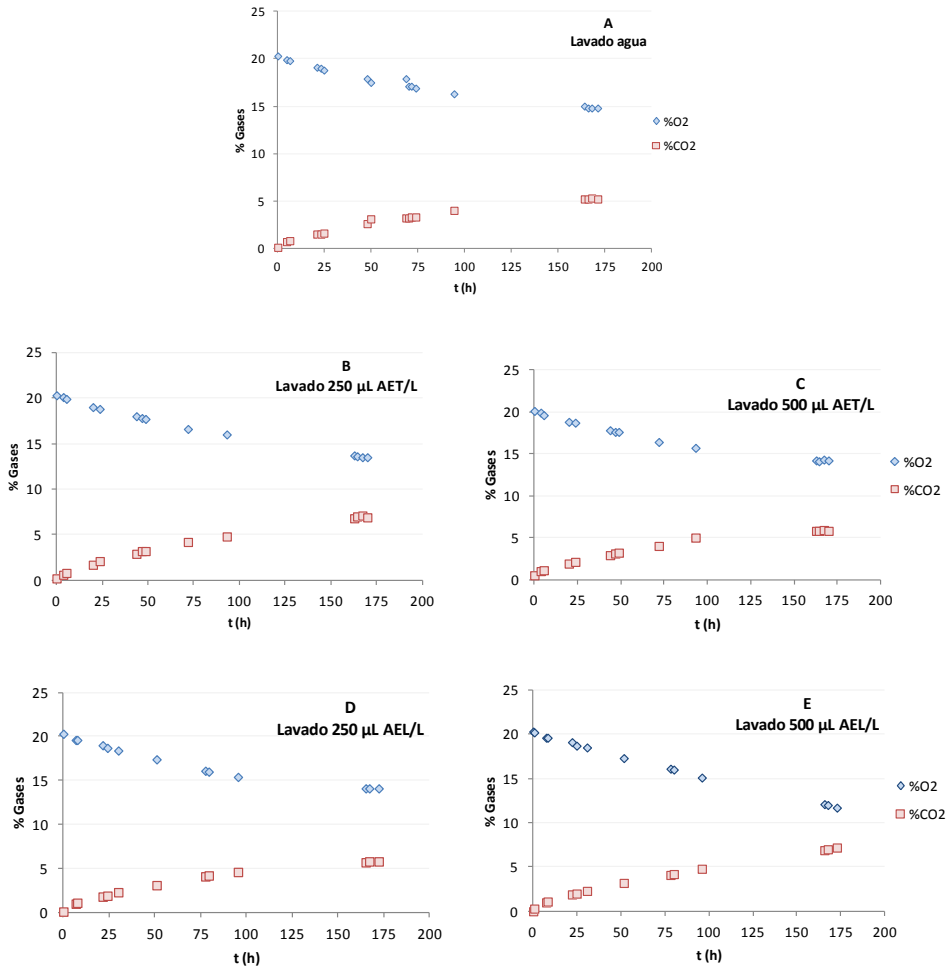


Figura III.24. Ejemplos de la evolución de gases (%O₂ y %CO₂) con respecto al tiempo de almacenamiento de las muestras de caqui mínimamente procesado lavadas con agua (A) y aceite esencial de tomillo (AET: B y C) y de limón (AEL: D y E).

Se calcularon las velocidades de cambio en la concentración de los gases del espacio de cabeza al inicio del almacenamiento considerando el tramo lineal de la evolución de los mismos, así como la relación entre ambas velocidades (tabla III.14). Puesto que el material de envasado fue el mismo en todos los casos, y no era esperable un cambio en las propiedades de permeabilidad del material, el efecto del aceite esencial sobre el metabolismo respiratorio podría

determinarse comparando la velocidad de cambio en el espacio de cabeza en un periodo de tiempo prefijado. Para ello, se calcularon las velocidades de cambio de O₂ y CO₂ en los primeros cuatro días de almacenamiento, donde además esta velocidad permaneció constante en todos los casos.

Tabla III.14. Velocidad de cambio en la concentración de O (N_{O₂}) y de CO₂ (N_{CO₂}) en el interior del envase y la relación entre ambas (N_{CO₂}/N_{O₂}).

Lavado	Concentración (μL/L)	N _{O₂} (mL·kg ⁻¹ ·h ⁻¹)	N _{CO₂} (mL·kg ⁻¹ ·h ⁻¹)	N _{CO₂} /N _{O₂}
Agua potable	0	1,38 (0,04) ^a	1,33 (0,04) ^a	0,970 (0,002) ^b
Aceite esencial de tomillo	250	1,71 (0,08) ^{bc}	1,78 (0,05) ^c	1,043 (0,015) ^c
	500	1,601 (0,102) ^b	1,53 (0,12) ^b	0,957 (0,013) ^b
Aceite esencial de limón	250	1,84 (0,11) ^c	1,57 (0,05) ^b	0,86 (0,03) ^a
	500	1,88 (0,03) ^c	1,640 (0,009) ^{bc}	0,87 (0,02) ^a

Los valores entre paréntesis indican la desviación estándar de cada uno de los valores.

Las letras iguales indican valores homogéneos con un nivel de significancia ($\alpha < 0,05$).

Tal y como se puede observar, las velocidades de cambio fueron mayores cuando se adicionó el aceite esencial en el agua de lavado. Este mismo hecho fue observado también cuando se adicionó el aceite esencial directamente en el envase (tabla III.12). En este caso, la incorporación de aceite esencial en la matriz acuosa del producto podría estar acelerando el metabolismo, tanto más cuanto mayor es el porcentaje de aceite esencial en el agua y, de forma más acusada, cuando se emplea aceite esencial de limón.

3.3.2.4. Evolución de las propiedades ópticas

A continuación se presentan las figuras III. 25 y III 26 en las que se pueden observar la evolución de las propiedades ópticas, luminosidad (L^*) (III.25) y las coordenadas a^* y b^* (III.26. A y B) del caqui mínimamente procesado.

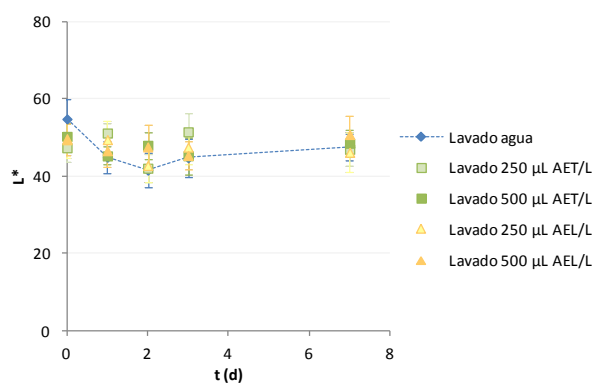


Figura III.25. Evolución de la luminosidad de las muestras de caqui mínimamente procesado lavadas con agua y aceite esencial de tomillo (AET) y de limón (AEL) a lo largo del almacenamiento.

El ANOVA simple realizado en el día 0, es decir inmediatamente tras el lavado, indicó que la luminosidad y las coordenadas a^* y b^* de las muestras fueron bastante homogéneas. Sin embargo, los valores de luminosidad para las muestras lavadas sólo con agua fueron un poco más elevados que para el resto de las muestras. Por otra parte, para la concentración de aceite esencial de tomillo más elevada, también se observó un valor de la coordenada b^* ligeramente superior al del resto de las muestra.

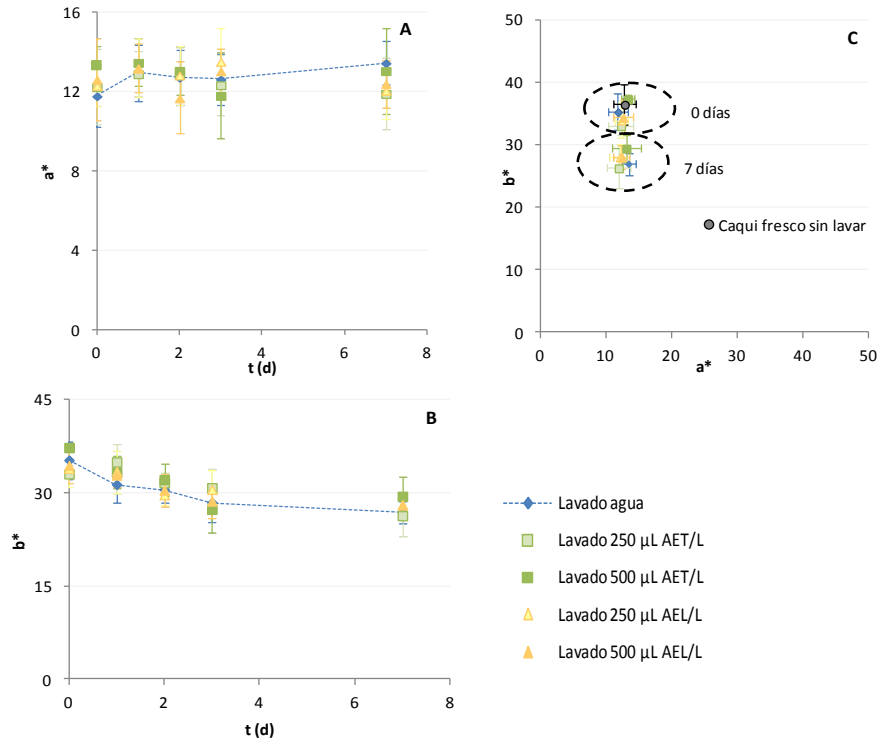


Figura III.26. Evolución de las coordenadas a^* (A) y b^* (B) de las muestras de caqui mínimamente procesado lavadas con agua y aceite esencial de tomillo (AET) y de limón (AEL) a lo largo del almacenamiento. La figura C representa el diagrama cromático b^*-a^* de las muestras lavadas con agua y con los aceites esenciales en el día de su elaboración y al final del almacenamiento, así como la materia prima sin tratar.

El ANOVA multifactorial indicó que la variable que más influyó en las propiedades ópticas, fue el tiempo, en especial sobre la coordenada b^* , que sufrió una disminución de sus valores para todas las muestras independientemente del tratamiento. No obstante, este descenso fue menor para los trozos de caqui lavados con aceite esencial de tomillo a la concentración más alta probablemente debido a que su valor de partida era superior. No obstante, también podría ser debido a las propiedades antioxidantes del aceite esencial de tomillo. La coordenada a^* no se vio afectada por ninguna de las variables estudiadas (tiempo y tratamiento). Esto último se puede observar de forma muy clara en el diagrama cromático de la

figura III.26.C. En este sentido, parece que la técnica del lavado hizo que no se modificara la coordenada a^* , aunque sí se observó un descenso de la coordenada b^* , dando lugar a colores más pardos, por pérdida de coloración amarilla. En consecuencia, en la figura III.27 se puede observar cómo la variable tiempo influye tanto sobre el tono (h^*) como el croma (C^*).

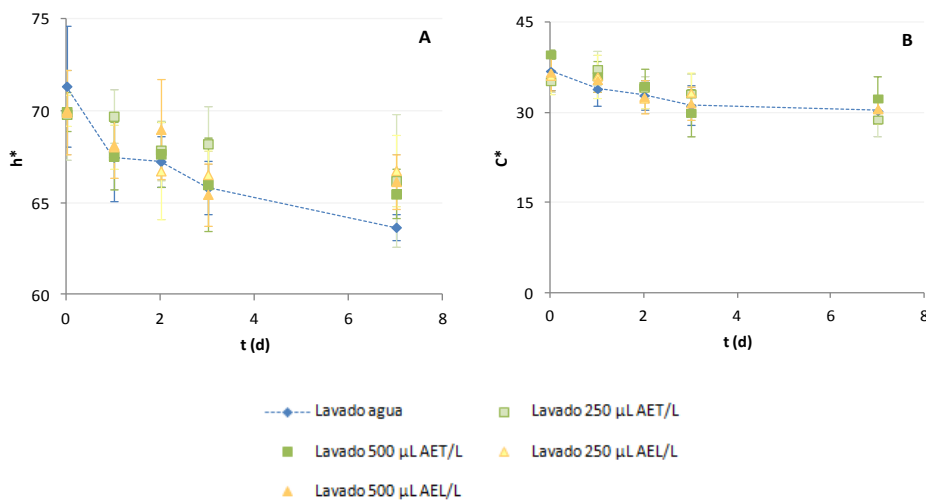


Figura III.27 Evolución del tono (A) y croma (B) de las muestras de caqui mínimamente procesado lavadas con agua y aceite esencial de tomillo (AET) y de limón (AEL) a lo largo del almacenamiento.

El tono disminuiría de manera más acusada en las muestras lavadas con agua respecto a las lavadas con los aceites esenciales independientemente del tipo de aceite esencial y de la concentración empleada al final del almacenamiento. Este descenso en el tono repercutió considerablemente en el aspecto del producto. Posiblemente debido al aumento en el contenido en fenoles totales en las muestras tratadas con agua, la enzima polifenoloxidasas (PPO) actuase sobre ellos, oxidándolos de modo que como consecuencia se formarían coloraciones pardas. En cuanto al croma, se observó una reducción generalizada a lo largo del tiempo del almacenamiento, aunque el aceite

esencial de tomillo a la concentración más alta (500 $\mu\text{L/L}$) presentó valores ligeramente mayores al resto de los tratamientos al final del almacenamiento. Por tanto, parece que la aplicación de los aceites estudiados favorezca el mantenimiento del color del producto en comparación a las muestras lavadas solo con agua, ya que los cambios de tono fueron menores.

3.3.2.5. Evolución de las propiedades mecánicas

En la figura III.28 se presenta la evolución de la fuerza máxima (F) y la distancia a la que se produjo la misma. El ANOVA multifactorial indicó la influencia de las dos variables estudiadas, aunque el factor tiempo presentó un mayor peso tanto en la fuerza máxima como en la distancia a la que se produjo la misma.

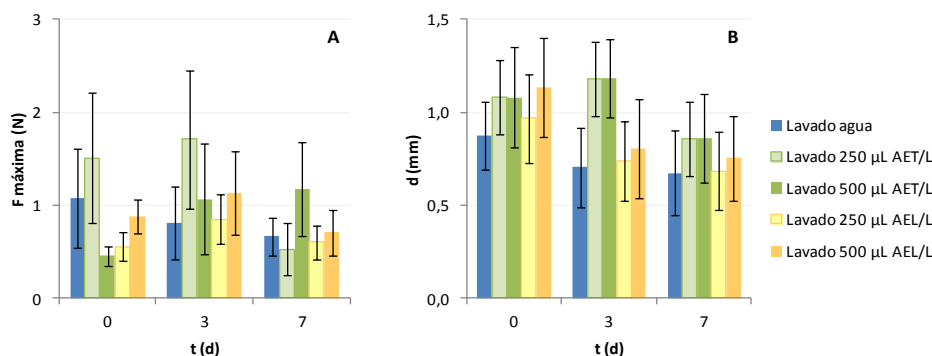


Figura III.28. Evolución de la fuerza máxima (N) y la distancia a la que se produjo la misma (B) de las muestras de caqui mínimamente procesado lavadas con agua y aceite esencial de tomillo (AET) y de limón (AEL) a lo largo del almacenamiento.

Del estudio de la fuerza máxima tras el lavado, se observó la heterogeneidad de la materia prima e incluso entre los mismos tratamientos estudiados debido a la propia variabilidad de la técnica de medida de las propiedades mecánicas por las características estructurales del producto que contiene haces vasculares con propiedades texturales distintas. Aunque en todos los casos, la

medida se realizó en una zona intermedia entre dos haces vasculares, se siguió observando diferencias considerables entre las muestras. Rojas Graü et al. (2007) en recubrimientos de manzanas mínimamente procesadas a las que se les incorporó el aceite esencial de orégano (0,1% w/w) y vainillina (0,3 y 0,6 w/w) junto a las que no contenían aceites esenciales en el recubrimiento mantuvieron mejor la firmeza. La aplicación de aceites esenciales al 1,5 y 0,5% (w/w) de hierba limón y orégano respectivamente en los recubrimientos, produjo un brusco descenso en los valores iniciales de firmeza, a pesar que todos los recubrimientos poseían cloruro de calcio.

Respecto a la distancia a la que se produjo la fuerza máxima, las muestras presentaron una mayor homogeneidad independientemente del tratamiento el mismo día de lavado, aunque los trozos de caqui lavados con agua fueron ligeramente inferiores al resto. Como se ha comentado anteriormente el tiempo ejerció una mayor influencia, produciéndose un descenso de la distancia conforme avanzó el tiempo. Sin embargo, el aceite esencial de tomillo mantuvo mejor este parámetro independientemente de la concentración empleada. Como consecuencia de estos resultados, las muestras de caqui a lo largo del almacenamiento presentarían una textura ligeramente más gomosa, puesto que no se modificaron considerablemente el valor de su fuerza máxima.

Por tanto, con los resultados obtenidos en este ensayo no se puede extraer ninguna conclusión clara sobre el efecto de los aceites esenciales sobre las propiedades mecánicas de las muestras.

3.3.2.6. Análisis microbiológico

El análisis de microorganismos aerobios totales y de mohos y levaduras se ha utilizado para determinar la vida útil del caqui mínimamente procesado. Para poder establecer los límites microbiológicos se ha utilizado la legislación recogida en el Real Decreto (RD) 3484/2000, según la cual el día de fabricación de comidas preparadas a base de vegetales crudos no debe superar $1 \cdot 10^5$ UFC/g de microorganismos aerobios mesófilos. Tal y como se puede observar en la tabla III.15 no se superaron los límites establecidos en este RD. Por otro lado, tampoco se llegó a superar el umbral establecido para su caducidad ($1 \cdot 10^6$ - 10^7 UFC/g) tras los 7 días de almacenamiento. El ANOVA multifactorial realizado indica que la variable correspondiente al tiempo de almacenamiento ejerce una mayor influencia que la variable del lavado, no existiendo interacción entre ambas variables.

Tabla III.15 Recuento de microorganismos aerobios mesófilos de la muestras de caqui lavadas con agua y con aceites esenciales a diferentes concentraciones en el mismo día de fabricación y al final del almacenamiento.

Lavado	Concentración ($\mu\text{L/L}$)	t (d)	UFC/g
Agua potable	0	0	$5 \cdot 10^2$ ($1 \cdot 10^2$)
		7	$1,5 \cdot 10^3$ ($4,2 \cdot 10^2$)
Aceite esencial de tomillo	250	0	$8,5 \cdot 10^2$ ($2,1 \cdot 10^2$)
		7	$1,75 \cdot 10^3$ ($4,95 \cdot 10^2$)
	500	0	$2,5 \cdot 10^2$ ($7 \cdot 10$)
		7	$1,2 \cdot 10^3$ ($1,4 \cdot 10^2$)
Aceite esencial de limón	250	0	10^2 (0)
		7	$8,5 \cdot 10^2$ ($2,1 \cdot 10^2$)
	500	0	$4,5 \cdot 10^2$ ($3,6 \cdot 10^2$)
		7	$1,2 \cdot 10^3$ ($1,4 \cdot 10^2$)

Los valores entre paréntesis indican la desviación estándar de cada uno de los valores.

No se observó crecimiento de mohos y levaduras ni el mismo día del lavado ni al final del almacenamiento para ninguno de los tratamientos efectuados.

De acuerdo a estos resultados, no parece que la incorporación de los aceites esenciales estudiados en la etapa de lavado mejore la estabilidad microbiológica del producto. No obstante, la propia técnica de lavado sí que mantendría mejor la estabilidad microbiológica del producto. No obstante, existen estudios donde se ha demostrado la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales empleados en este ensayo. Así por ejemplo, Uyttendaele et al. (2004) inocularon pimientos con cuatro cepas de *Aeromonas* spp. con la finalidad de estudiar el efecto antimicrobiano del aceite esencial de tomillo aplicado en agua al 0,5% y 1%. Como resultado, obtuvieron que tras la aplicación del aceite esencial hubo una reducción significativa, manteniéndose durante el almacenamiento a diferencia del control (agua potable), donde hubo un incremento de la carga microbiana. Además, la concentración de aceite esencial al 1% fue más efectiva sobre la flora natural presente. Por otro lado, estudios in vitro realizados por Fisher y Phillips (2006) sobre los aceites esenciales cítricos (naranja, bergamot y limón) y sus componentes demostraron éstos eran más efectivos frente a las bacterias Gram positivas (*Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* y *Staphylococcus aureus*) que frente a las Gram negativas (*Escherichia coli* O157 y *Campylobacter jejuni*). Por otro lado también ha sido demostrada la capacidad antifúngica de los aceites esenciales, Viuda-Martos et al. (2008) estudiaron la actividad antifúngica de varios aceites esenciales cítricos (mandarina, pomelo, limón y naranja) a diferentes concentraciones (0,27%, 0,47%, 0,71% y 0,94%) frente a los hongos *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium verrucosum* y *Penicillium chrysogenum*. Todos fueron capaces de reducir o inhibir el crecimiento microbiano a las concentraciones empleadas siendo la concentración de

0,94%, la más efectiva inhibiendo el crecimiento para cualquiera de los aceites esenciales empleados. El aceite esencial de limón fue en todos los casos, el segundo más efectivo reduciendo el crecimiento micelar.

Por lo tanto, probablemente no fue suficiente el tiempo de almacenamiento empleado en este ensayo, para observar el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales. No obstante, si se observan los recuentos microbianos de la tabla III. 14, el menor crecimiento se obtuvo para las muestras con aceite esencial de limón y para la mayor concentración de aceite esencial de tomillo.

IV. ESTUDIOS EN MELÓN

1. INTRODUCCIÓN

El melón (*Cucumis melo* L.) es una hortaliza perteneciente a la familia *Cucurbitaceae*.

El principal país productor de melón es China, con 11.333.747 toneladas de melón producidas en el año 2010, seguido por Irán, Turquía, Egipto, Estados Unidos e India. España ocupa el séptimo lugar en la lista de productores de melón del año 2010, según datos oficiales de la FAOSTAT, con una producción total de 926.700 toneladas (FAOSTAT, 2012).

Según el anuario de estadística del año 2010 del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, las comunidades autónomas con mayor producción de melón en el año 2009 fueron Castilla la Mancha, seguida de Andalucía, Región de Murcia y Extremadura, ocupando la Comunidad Valenciana el quinto lugar (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, 2012).

La estadística agrícola sobre superficies y producciones de la Comunidad Valenciana, registró una producción de melón en el año 2010 de 36.732 toneladas, siendo la provincia de Alicante la de mayor producción (22.767 toneladas) (Conselleria d'Agricultura, Pesca, Alimentació i Aigua, 2012).

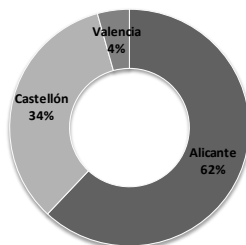


Figura IV.1. Porcentaje de producción de melón en la Comunidad Valenciana del año 2010 (adaptación de los datos de la estadística agrícola de la Conselleria d'Agricultura, Pesca, Alimentació i Aigua, 2012).

En cuanto a su composición nutricional, el componente mayoritario del melón es el agua (aproximadamente un 90%), por lo que su valor calórico es bajo. Además, es una fruta rica en vitamina C, y en sales minerales como potasio, magnesio, calcio, cloro y fósforo (Mataix et al., 2009).

La gran producción de melón, sus características nutricionales, junto con el tamaño que tienen algunas de sus variedades como es la de “Piel de Sapo”, plantea la diversificación de este producto en otras formas comerciales que faciliten el consumo y se adapten a las nuevas unidades familiares.

Existen muchos estudios sobre el melón mínimamente procesado, encaminados a mejorar la vida útil de éste, ya que este tipo de productos son más perecederos que la pieza intacta. Para el melón precortado, los principales problemas de deterioro de la calidad son la pérdida de sabor y aroma, ablandamiento de los tejidos y crecimiento microbiano (Namesny, 2003).

Entre los estudios realizados con la finalidad de extender la vida útil, Oms-Oliu et al. (2008a) emplearon diferentes concentraciones de O₂ en la atmósfera de envasado del melón mínimamente procesado (“Piel de Sapo”). También, Oms-Oliu et al. (2008b) y Raybaudi-Massilia et al. (2008) estudiaron el uso de recubrimientos en trozos de melón “Piel de Sapo” y envasados en atmósfera modificada pasiva. Aguayo et al. (2008) y Silveira et al. (2011), analizaron el efecto de diferentes sales de calcio junto con tratamientos de calor en el melón mínimamente procesado (“Amarillo” y “Galia” respectivamente). Roller y Seedhar (2002) trabajaron en el estudio microbiológico del melón “Honeydew” cortado y lavado con carvacrol y ácido cinámico (compuestos que se encuentran en aceites esenciales) en disoluciones de distinta concentración, conservándolos a 4 y 8 °C.

En este capítulo, se ha estudiado el comportamiento respiratorio de melón “Piel de Sapo” a diferentes temperaturas utilizando dos modelos predictivos.

Además, se han estudiado los efectos de la atmósfera modificada pasiva y de los aceites esenciales de limón y de hoja de canela en el melón mínimamente procesado con el objetivo de alargar su vida útil.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materias primas

2.1.1. Melón

Los ensayos se llevaron a cabo utilizando como materia prima melones “Piel de Sapo” adquiridos en un supermercado local. Los melones fueron seleccionados en función del estado de madurez, color y aspecto general (ausencia de defectos superficiales) con el objetivo de obtener una mayor homogeneidad de las muestras de partida y reducir la variabilidad en los resultados.

2.1.2. Aceites esenciales

Para la realización de los ensayos correspondientes a la aplicación del aceite esencial en el agua de lavado del melón mínimamente procesado, se utilizaron el aceite esencial de limón (*Citrus limonum* L.) y de hoja de canela (*Cinnamomun zeylanicum*) de las marcas comerciales Soria Natural y Herbes del Molí respectivamente.

2.2. Preparación de las muestras

Antes de comenzar con el procesado de la muestra, se procedió al lavado superficial de los melones con agua potable e hipoclorito de sodio comercial (Amukina, Laboratorios Angelini, Farma-Lepori) para poder eliminar los posibles restos de tierra o suciedad que pudieran estar adheridos a la

superficie. Se emplearon las dosis recomendadas por el fabricante (20 mL/L de agua). Una vez secos con papel absorbente, las piezas fueron cortadas en función del ensayo a realizar:

- Ensayo de modelización del comportamiento respiratorio: corte del melón longitudinalmente respecto al eje central y obtención de cubos de melón de 20x20 mm sin piel.
- Ensayo para evaluar la influencia de la aplicación del aceite esencial en el melón mínimamente procesado: corte del melón longitudinalmente respecto al eje central, eliminación de la corteza y obtención de trapecios de unos 20 mm de espesor, 25 mm de altura y 30 mm de base.

En ambos casos, se desecharon los extremos de la cortada principal para evitar grandes diferencias en la concentración de azúcares de las muestras recogidas para el estudio.

2.3. Tratamientos

- Ensayo de modelización del comportamiento respiratorio: los cubos de melón fueron desinfectados con hipoclorito de sodio comercial (20 mL/L de agua). El ratio fruta: disolución de lavado fue de aproximadamente 1:5. El tiempo de inmersión fue de 60 segundos y a continuación se dejó escurrir durante otros 60 segundos sobre una rejilla metálica retirando posteriormente el exceso de agua con papel absorbente. Aproximadamente unos 400 gramos de muestra fueron introducidas en cámaras de vidrio hermético (923 mL de volumen) y

atemperadas en la cámara de refrigeración a la temperatura de cada tratamiento (4, 8, 10, 12 y 16 °C). Una vez atemperadas, se cerraron.

- Ensayo para evaluar la influencia de la aplicación del aceite esencial en el melón mínimamente procesado: las porciones de melón fueron lavadas con diferentes concentraciones del aceite esencial de limón y de hoja de canela (100, 250, 500 y 1000 µL/L) durante 2 minutos y se dejaron escurrir durante un minuto. La relación utilizada para el lavado fue de 1 kg de fruta por cada 3 L de agua potable. Durante el tiempo de lavado las muestras fueron sometidas a agitación manual. Se utilizaron para este ensayo dos controles, uno en el que no se realizó ningún tipo lavado y otro, en el que se empleó solamente agua potable. Se introdujeron aproximadamente unos 150 gramos de melón en bandejas de polipropileno para ser envasadas herméticamente mediante una envasadora-selladora (VAC-STAR S220MP) y se conservaron a 4 °C.

2.4. Análisis composicional

Las determinaciones de humedad, sólidos solubles, pH y determinación de la capacidad antioxidante, se realizaron de la misma manera que en el caso del caqui (subapartados 2.4.1., 2.4.2., 2.4.4. y 2.5.1. de materiales y métodos en el capítulo III).

Todas las determinaciones realizadas en el análisis composicional fueron llevadas a cabo por triplicado.

2.5. Modelización del comportamiento respiratorio

La modelización del comportamiento respiratorio del melón cortado en cubos se determinó de forma similar que para el caqui. En concreto, aproximadamente 400 gramos de melón cortados en cubos fueron introducidos en cámaras de vidrio herméticas ($V= 0,930$ L) previamente atemperados en la cámara de refrigeración a la temperatura de cada tratamiento (4, 8, 10, 12 y 16 °C).

Los cambios en los porcentajes de O_2 y CO_2 se registraron hasta alcanzar una concentración de CO_2 en el espacio de cabeza entre un 10% y 15%.

Como se ha comentado en el capítulo de estudios en caqui, con los datos recogidos se analizó el ajuste de dos modelos. Por una parte, el modelo I es un modelo lineal en el que sólo se consideraron los datos iniciales de los cambios en la composición del espacio de cabeza. Por otra parte, el modelo II, que es un modelo de regresión no lineal que tiene en cuenta la evolución de los gases del espacio de cabeza con el tiempo.

2.6. Evolución del espacio de cabeza en envases semipermeables

El registro de cambios de % O_2 y % CO_2 en el espacio de cabeza del envase se llevó a cabo mediante un analizador de gases CheckMate II PBI Dansensor, (Ringsted, Dinamarca). La toma de muestra del aire del espacio de cabeza se efectuó a través de un septum colocado en la parte superior del envase. Se realizaron entre 4 y 5 medidas diarias en un intervalo variable entre 2 y 4 horas a una temperatura de 4 °C. Las medidas se efectuaron por triplicado para cada tratamiento.

Se calcularon las velocidades de cambio en la atmósfera del envase (ecuaciones III.11 y III.12 del apartado 2.8 de materiales y métodos, en el capítulo III), considerando sólo el tramo lineal de la representación de la evolución de los gases a lo largo del tiempo de almacenamiento (48 horas).

2.7. Propiedades ópticas

Se analizó el color de la fruta empleando el colorímetro Minolta CM-3600d calibrado previamente con un patrón negro y otro blanco y utilizando la ventana mediana.

Esta determinación se hizo sobre los trozos de melón a los 0, 3, 7, 14 y 21 días de almacenamiento y se analizaron aproximadamente 6-7 muestras por tratamiento.

Previamente, se realizaron diferentes medidas sobre fondo blanco y fondo negro con el objetivo de comprobar que la muestra no fuese traslúcida.

Se obtuvieron las coordenadas de color CIE-L*a*b* utilizando como referencia el observador 10º e iluminador D65. Además, se determinó el índice de blancura (IB) mediante la siguiente fórmula (IV.1), utilizada en otros trabajos sobre melón mínimamente procesado como los realizados por Oms-Oliu et al. (2008a y b):

$$IB=100- \left[(100-L^*)^2 + (a^*)^2 + (b^*)^2 \right]^{1/2} \quad IV.1$$

2.8. Propiedades mecánicas

Se analizaron las propiedades mecánicas del melón mediante un test de compresión con punzón de 6 mm de diámetro a una velocidad de 5 mm/s y

una distancia de 30 mm utilizando un texturómetro TA.XTPlus, Texture Analyzer Aname. Se analizaron 6-7 muestras de melón por tratamientos a los 0, 3, 7, 14 y 21 días de almacenamiento.

Los parámetros analizados en el ensayo de compresión fueron la fuerza máxima ($F_{m\acute{a}x}$) requerida por el punzón para atravesar completamente la muestra, expresada en Newtons (N) y la distancia (mm) recorrida por el punzón a la que se produce la fuerza máxima.

2.9. Análisis microbiológico

La determinación de la vida útil desde un punto vista microbiológico, se realizó de la misma manera que en el caqui (apartado 2.11 de materiales y métodos en el capítulo III). El estudio de la evolución del crecimiento de microorganismos aerobios mesófilos y mohos y levaduras se analizó por duplicado, a los 0, 7, 14 y 21 días de almacenamiento. Los resultados fueron expresados como logaritmo decimal de las unidades formadoras por gramo de producto [\log (UFC/g)].

2.10. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados se llevó a cabo mediante el programa Statgraphics Centurion, realizando un Análisis de Varianza (ANOVA) utilizando un test de comparación simple y múltiple, con un nivel de significancia del 95% ($\alpha < 0,05$) para evaluar las diferencias entre los distintos tratamientos

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. MODELIZACIÓN DEL COMPORTAMIENTO RESPIRATORIO DEL MELÓN "PIEL DE SAPO" EN FUNCIÓN DE LA TEMPERATURA

Se han aplicado dos modelos predictivos del comportamiento respiratorio en el melón mínimamente procesado cortado en cubos tal y como se hizo en el caso del estudio del caqui. Además, se ha evaluado la influencia de la temperatura sobre estos modelos a través del ajuste de Arrhenius. Para la verificación de los modelos predictivos, se utilizó la temperatura de 10 °C por ser una temperatura intermedia.

Toda la materia prima empleada en los ensayos fue caracterizada antes de ser envasada en los frascos de vidrio. En la tabla IV.1 se pueden observar que las características de los lotes de melón analizados para cada temperatura, no son homogéneos ($\alpha < 0,05$), a pesar de que las diferencias encontradas a nivel de humedad, sólidos solubles, y pH no fueron elevadas

Tabla IV.1. Fracción másica de agua (x^w), fracción másica de sólidos solubles (x^{ss}), pH de los lotes de melón empleados para cada una de las temperaturas.

Temperatura (°C)	x^w	x^{ss}	pH
4	0,873 (0,009) ^{ab}	0,126 (0,007) ^{bc}	6,02 (0,12) ^c
8	0,878 (0,006) ^{bc}	0,123 (0,003) ^{ab}	5,82 (0,05) ^{ab}
10	0,88598 (0,00104) ^c	0,1123 (0,0007) ^a	5,925 (0,006) ^{bc}
12	0,8633 (0,0009) ^a	0,137040 (0,001013) ^c	5,93 (0,05) ^{bc}
16	0,8700 (0,0105) ^{ab}	0,12720 (0,01114) ^{bc}	5,7953 (0,1109) ^a

Los valores entre paréntesis indican la desviación estándar.

Las letras iguales indican grupos homogéneos con un nivel de significancia ($\alpha < 0,05$).

En la figura IV.2 se muestra ejemplos de la evolución de la concentración de gases en el espacio de cabeza de los cubos de melón para cada una de las temperaturas de ensayo. Tal y como se comentó en los resultados de la modelización del caqui mínimamente procesado, también se pudo observar que la velocidad de los cambios en la concentración de gases se incrementó con la temperatura, alcanzándose, para un mismo tiempo, mayores concentraciones de CO₂ y menores de O₂ en el espacio de cabeza. La velocidad de respiración va disminuyendo con el tiempo, lo que es atribuible como ya se comentó, al efecto que tiene el aumento de la concentración de CO₂ y el descenso de la concentración de O₂ en el espacio de cabeza sobre el metabolismo respiratorio del fruto.

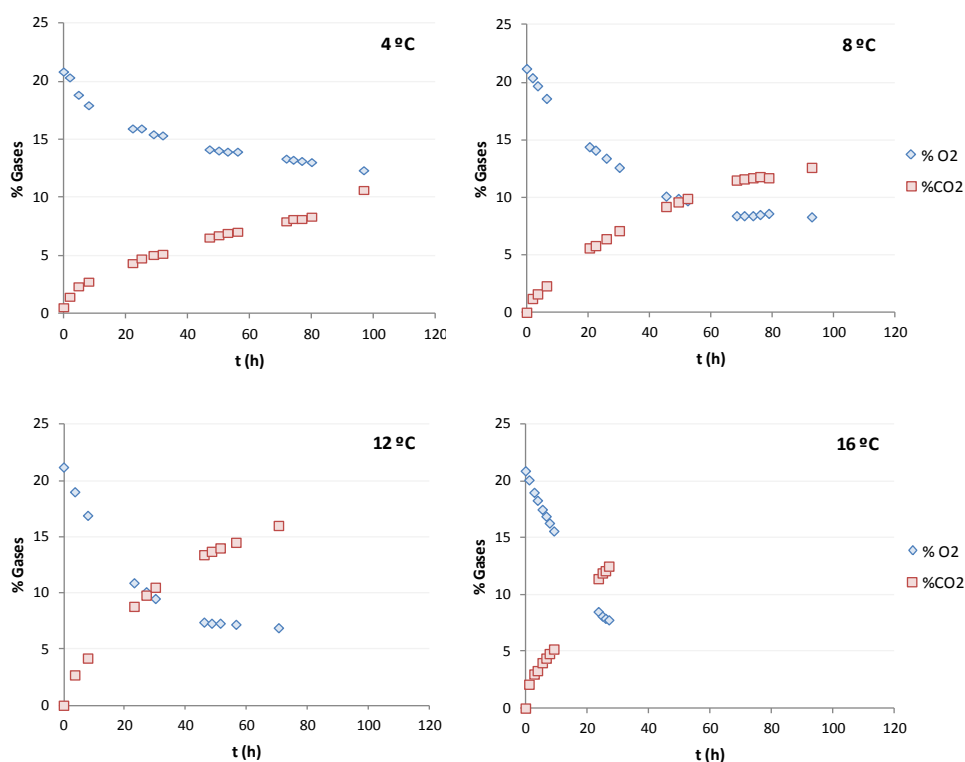


Figura IV.2. Ejemplos de la variación de la concentración de gases en el espacio de cabeza de las muestras de melón cortadas en cubos a lo largo del tiempo de almacenamiento y en función de la temperatura.

3.1.1. Estimación de parámetros: Modelo I

Según se ha explicado en materiales y métodos, este modelo asume que la velocidad de respiración permanece constante con el tiempo, no teniendo influencia sobre el metabolismo los cambios en la composición del espacio de cabeza. Por este motivo, se seleccionó para el ajuste el primer tramo lineal de las curvas mostradas en la figura IV.2 correspondiente a las primeras 30 horas de análisis. Así, la TR en términos de consumo de O_2 ($mL \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$) y emisión de CO_2 ($mL \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$) calculadas para todas las temperaturas ensayadas según el modelo I se muestran en las figuras IV.3. A y B junto con el coeficiente respiratorio (figura IV.3. C).

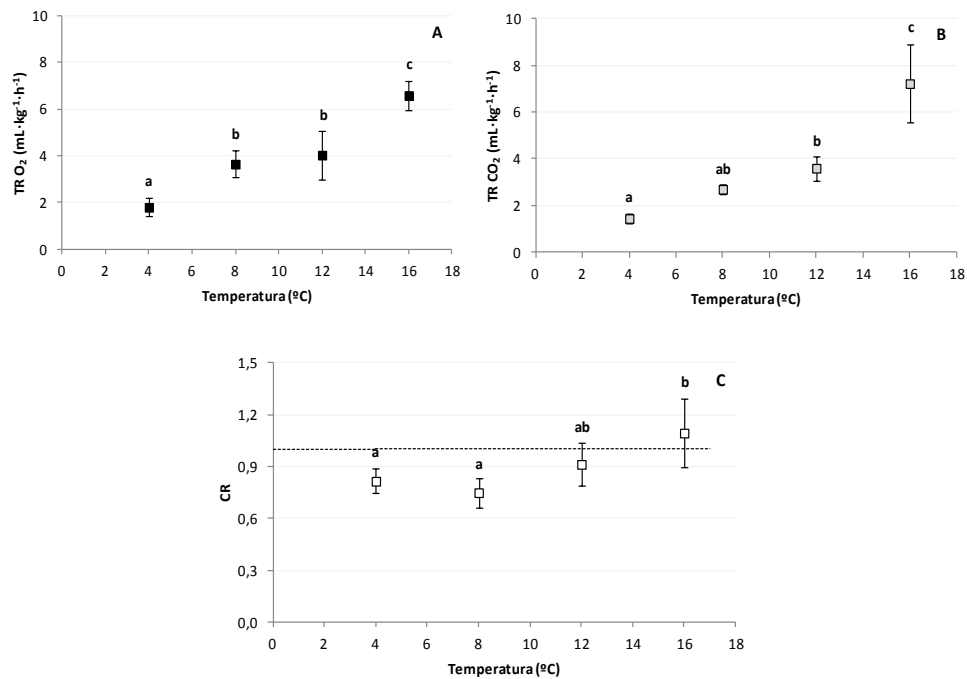


Figura IV.3. Tasas respiratorias (TR) en términos de consumo de O_2 [A] y emisión de CO_2 [B] junto con el coeficiente respiratorio (CR) [C] en función de las temperaturas empleadas. La línea discontinua indica $CR=1$ como referencia del cambio metabólico en la respiración del producto.

El ANOVA simple indicó la influencia de la temperatura sobre las tasas respiratorias y el coeficiente respiratorio. Respecto a la velocidad de consumo de O₂ no se apreciaron diferencias entre las temperaturas de 8 y 12 °C. En cuanto al cociente respiratorio, en todos los casos tomó valores cercanos a la unidad, lo que muestra que no existieron cambios en las rutas metabólicas aerobias durante el tiempo de análisis.

Como se comentó en el apartado de los resultados de la modelización del caqui mínimamente procesado, el incremento de la temperatura genera incrementos exponenciales de la respiración. Por esta razón, los resultados se ajustaron a un modelo tipo Arrhenius, siguiendo la ecuación utilizada anteriormente (ecuación III.17).

Las figuras que se presentan a continuación (figuras IV.4. A y B) se obtuvieron de linealización de la ecuación de Arrhenius. Como en el caqui cortado en cubos, en todos los casos se obtuvo un buen ajuste del consumo de O₂ y especialmente de la producción de CO₂.

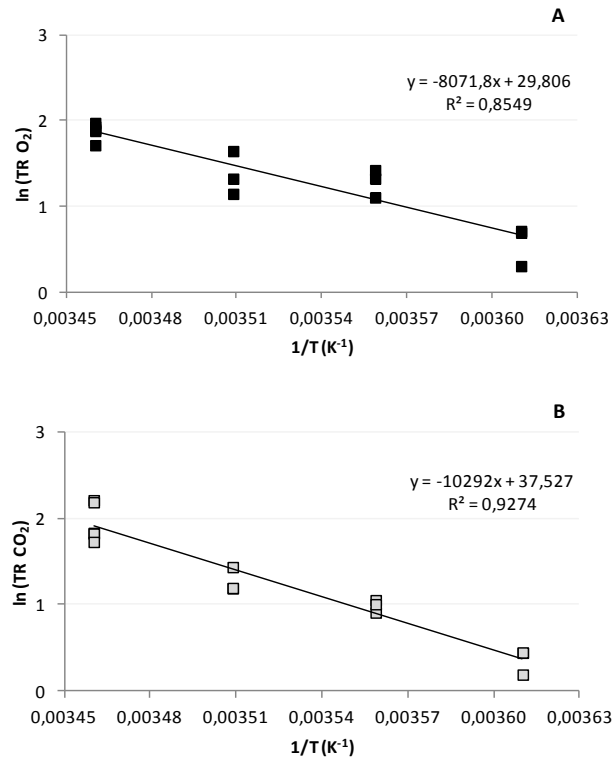


Figura IV.4. Ajuste de la ecuación linealizada de Arrhenius para el modelo I, tanto en términos de consumo de O₂ (A) como de producción de CO₂ (B).

En la tabla IV.2 se muestran los valores de la energía de activación, la constante preexponencial y el coeficiente de correlación cuadrático resultantes de la linealización de la ecuación de Arrhenius.

Tabla IV.2. Valores de la energía de activación (E_a), la constante preexponencial (k) y coeficiente de correlación (R²) obtenidos de la ecuación de Arrhenius.

	Cubos de melón	
	TRO ₂	TRCO ₂
E _a (kJ·mol ⁻¹)	67	86
k (mL·kg ⁻¹ ·h ⁻¹)	9·10 ¹²	2·10 ¹⁶
R ²	0,85	0,93

La energía de activación se encuentra comprendida entre los valores obtenidos en frutas y hortalizas por otros autores como Exama et al. (1993), quienes determinaron que oscila desde 29,0 a 92,9 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ para las frutas y verduras más comunes en aire. En este caso, se observó que ésta fue mayor en términos de CO_2 , lo que indicó que la emisión de CO_2 procedente de la respiración fue más sensible a los cambios de temperatura. En el ensayo con caqui mínimamente procesado y cortado en cubos también se pudo apreciar este mismo comportamiento.

3.1.2. Estimación de parámetros: Modelo II.

Los datos experimentales obtenidos para cada temperatura fueron ajustados mediante una función de regresión no lineal de la concentración de gases en función del tiempo.

En la tabla IV.3 se muestra los valores obtenidos de los parámetros a y b obtenidos de la regresión no lineal de los resultados experimentales para cada una de las temperaturas ensayadas aplicando las ecuaciones III.5 y III.6 de materiales y métodos, junto con los coeficientes de correlación de los ajustes del modelo.

De forma general, ambos parámetros a y b disminuyeron a medida que aumentó la temperatura. Como se comentó en el apartado correspondiente al modelización del caqui, el parámetro $1/a$ del modelo de Peleg está relacionado con la concentración de gases a tiempos largos, cuando los cambios en la concentración de gases tienden a cero (asíntota de las curvas). De esta forma, a mayor valor del parámetro, la concentración de gas en el equilibrio más se acerca a la concentración inicial y por tanto la tasa respiratoria se ralentiza. En cuanto al parámetro $1/b$ del modelo, éste está relacionado con la velocidad de

cambios en la concentración de gases en el espacio de cabeza a tiempos cortos, mostrando, los resultados obtenidos que, efectivamente, cuanto menor es la temperatura de almacenamiento, el metabolismo respiratorio se ralentiza. Esta tendencia también pudo observarse en la modelización del caqui mínimamente procesado.

Tabla IV.3. Valores de los coeficientes de regresión (a y b) para el O₂ y CO₂ en función de la temperatura.

Corte geométrico	Temperatura almacenamiento (°C)	Respiración expresada en términos de	Coeficientes de regresión		R ²
			a	b	
Cubos	4	O ₂	9,9 (0,8)	290 (43)	0,86
		CO ₂	7,9 (0,9)	357 (53)	0,83
	8	O ₂	5,3 (0,5)	210 (30)	0,88
		CO ₂	5,3 (0,3)	269 (16)	0,97
	12	O ₂	6,8 (0,5)	110 (20)	0,89
		CO ₂	5,5 (0,4)	135 (16)	0,94
	16	O ₂	2,8 (0,3)	134 (5)	0,98
		CO ₂	4,2 (0,5)	96 (8)	0,91

Los valores entre paréntesis indican la desviación estándar.

La dependencia de estos coeficientes con la temperatura se determinó ajustando un modelo de Arrhenius tal y como se puede observar en la figura IV.5. Como puede observarse, los parámetros correspondientes a la temperatura de 12 °C se alejaron, en la mayoría de los casos, de la linealidad.

IV. Resultados y Discusión: Modelización del comportamiento respiratorio del melón "Piel de Sapo"

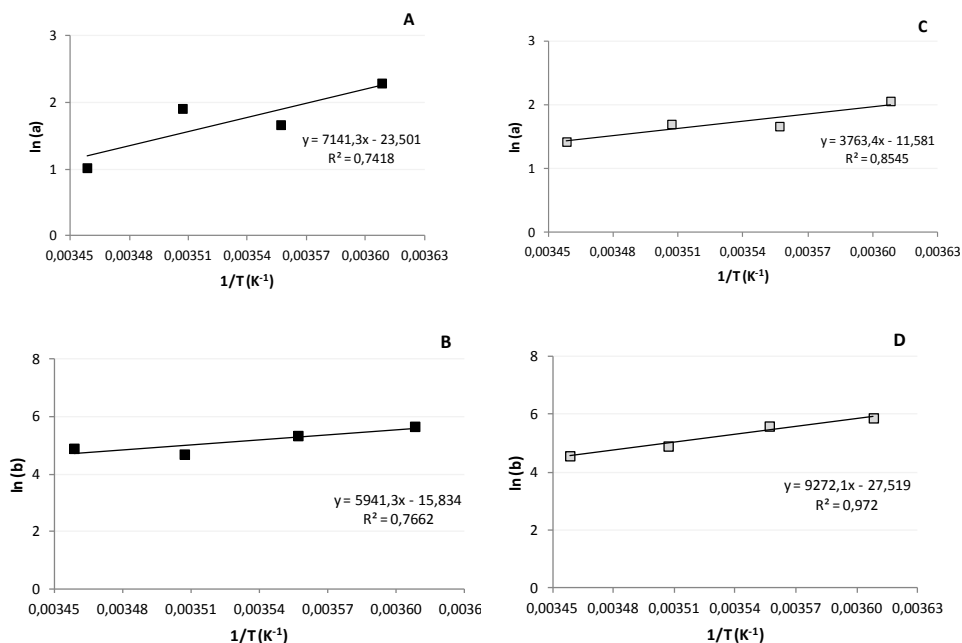


Figura IV.5. Forma linealizada de la ecuación de Arrhenius de los coeficientes a y b para los cubos de melón. A y B: coeficientes en términos de consumo de O_2 , C y D: coeficientes en términos de emisión de CO_2 .

A continuación se presenta la tabla IV.4, donde se muestran los valores obtenidos de la energía de activación, la constante preexponencial y el coeficiente de correlación cuadrático, obtenidos al ajustar el modelo de Arrhenius que podría explicar la dependencia de los parámetros del modelo II con la temperatura.

Tabla IV. 4. Valores de la energía de activación (E_a), la constante preexponencial (k) y coeficiente de correlación (R^2) obtenidos de la ecuación de Arrhenius.

	Cubos de melón			
	TRO ₂		TRCO ₂	
	a	b	a	b
E_a (kJ·mol ⁻¹)	59	49	31	77
K (mL·kg ⁻¹ ·h ⁻¹)	$2 \cdot 10^{10}$	$8 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^5$	$9 \cdot 10^{11}$
R^2	0,74	0,77	0,85	0,97

Al contrario de lo observado en el caso del caqui, la desviación del comportamiento de las muestras analizadas a 12 °C no permitió observar una tendencia clara del efecto de la temperatura sobre los parámetros a y b, pues las energías de activación en todos los casos son del mismo orden.

3.1.3. Verificación del modelo

Para verificar si los modelos desarrollados eran capaces de predecir las tasas respiratorias dentro del rango de temperaturas estudiadas (de 2 a 16 °C), se analizó una temperatura intermedia de almacenamiento (10 °C). De esta manera, las tasas respiratorias predichas por los modelos fueron verificadas con la tasa respiratoria experimental a una temperatura de 10 °C.

Para evaluar la bondad del ajuste de los modelos a los resultados experimentales se determinó el módulo de la desviación media relativa aplicando la ecuación III.19, del apartado de resultados de la modelización del comportamiento respiratorio del caqui mínimamente procesado (3.2.3). Tal y como se hizo también en este apartado del caqui, los valores experimentales y los predichos fueron comparados utilizando este módulo, de modo que un valor inferior al 10% indicaba un ajuste bastante bueno, entre el 10-20% era

aceptable mientras que valores superiores al 20% indicaba que no era satisfactorio.

De acuerdo a los resultados obtenidos del ajuste de Arrhenius en el modelo I, la tasa respiratoria en términos de O₂ y CO₂ se muestran en la tabla IV.5. En la misma tabla se muestran los valores obtenidos a nivel experimental.

Tabla IV.5. Tasas respiratorias de O₂ y CO₂ obtenidas a nivel experimental y teórica mediante la aplicación del modelo de Arrhenius a 10 °C.

Cubos de melón			
TRO ₂		TRCO ₂	
Experimental	Teórica	Experimental	Teórica
3,30 (0,14)	3,61	3,1 (0,4)	3,19

Los valores entre paréntesis indican la desviación estándar.

Las tasas respiratorias obtenidas teóricamente y experimentalmente, fueron similares, lo que indicó un buen ajuste de los datos experimentales para el modelo I. La bondad del ajuste calculado a través del módulo de la desviación media relativa (E) con los datos obtenidos a 10 °C fue de un 9% tanto para el consumo de O₂ y un 11% para la producción de CO₂.

En cuanto a la verificación del modelo II, se determinaron los parámetros a y b teóricos a partir de las gráficas IV.5, obteniéndose la variación de la tasa respiratoria teórica que se muestra en la figura IV.6. Los datos predichos parecen que se ajustaron a los experimentales a partir de las 25 horas de almacenamiento. No obstante, los resultados obtenidos a partir del módulo de la desviación media relativa fueron superiores al 20% por lo que este modelo II de regresión no lineal, no se ajustó bien ni para el O₂ ni para el CO₂.

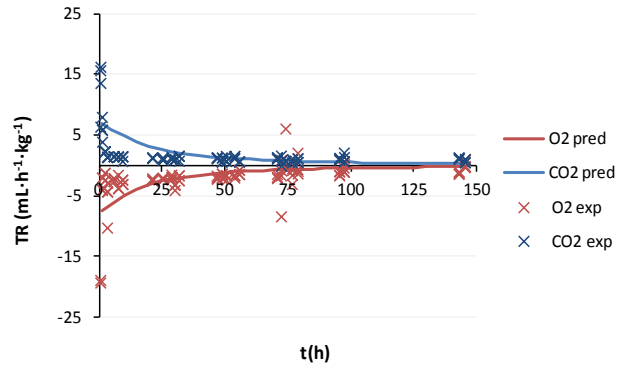


Figura IV.6. Comparación de las tasas respiratorias de O₂ y CO₂ experimentales (exp) y predichas (pred) realizada a 10 °C con el modelo II.

Al igual que en el caso del caqui, parece que este modelo de regresión no lineal utilizado por muchos autores para predecir comportamientos respiratorios, no resultó ser el más adecuado para la fruta estudiada en esta tesis. Sería recomendable evaluar otros modelos predictivos que permitan predecir el metabolismo respiratorio de caqui y melón mínimamente procesado envasado en las condiciones de este trabajo.

3.2. INFLUENCIA DE LA APLICACIÓN DE ACEITE ESENCIAL EN LA OPERACIÓN DE LAVADO EN EL MELÓN MÍNIMAMENTE PROCESADO

Las frutas cortadas son más susceptibles al deterioro que las frutas enteras, es por ello que el melón mínimamente procesado se lavó con dos aceites esenciales diferentes, aceite esencial de canela (AEC) y de limón (AEL) y además, se envasó en atmósfera modificada pasiva con la finalidad de estudiar ambos efectos en la conservación de este tipo de productos. Se utilizaron dos controles, uno en el que los trozos de melón fueron lavados únicamente con agua potable y otro, en el que no se aplicó la técnica de lavado. Los controles también fueron envasados en atmósfera modificada pasiva.

3.2.1. Evolución de las características composicionales

La evolución de la humedad (x^w) y del contenido en sólidos solubles (x^{ss}) de las muestras lavadas con aceite esencial de canela y limón durante el tiempo de almacenamiento se muestran en las figuras IV.7. (A y B) y IV.8 (A y B), respectivamente.

Los resultados de humedad de las muestras no lavadas y lavadas con agua que se obtuvieron el día de procesado, fueron similares a los obtenidos por Chasán (2008).

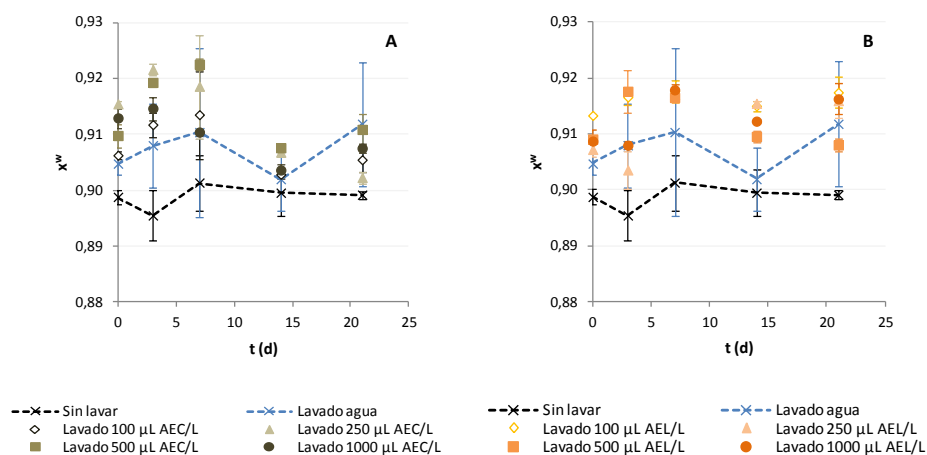


Figura IV.7. Evolución de la humedad de las muestras lavadas con aceite esencial de canela (AEC) (A) y aceite esencial de limón (AEL) (B) a lo largo del almacenamiento. Las líneas discontinuas representan la evolución de los controles.

En el ensayo con el aceite esencial de canela, durante los primeros 7 días de almacenamiento se observó una mayor humedad en las muestras lavadas en comparación con las no lavadas. Sin embargo, durante los últimos días de almacenamiento estas diferencias disminuyeron. Este comportamiento estaría relacionado con que la propia operación de lavado implica una retención de agua por parte de la estructura porosa de la fruta. Sin embargo, este agua estaría poco retenida en la misma y con el tiempo tendería a salir. En cuanto, a las muestras lavadas con el aceite esencial de limón (figura IV.7. B), no se observaron diferencias en el contenido de humedad del melón de las muestras lavadas con aceite esencial respecto a las muestras control (lavadas con agua). Al igual que en el caso del aceite esencial de canela, se observó un ligero aumento en el contenido en humedad de las muestras por efecto del lavado al inicio del ensayo. El agua penetra en la estructura porosa del producto por fenómenos de difusión, no estando éstos influenciados por la adición al agua de aceite esencial en las concentraciones ensayadas.

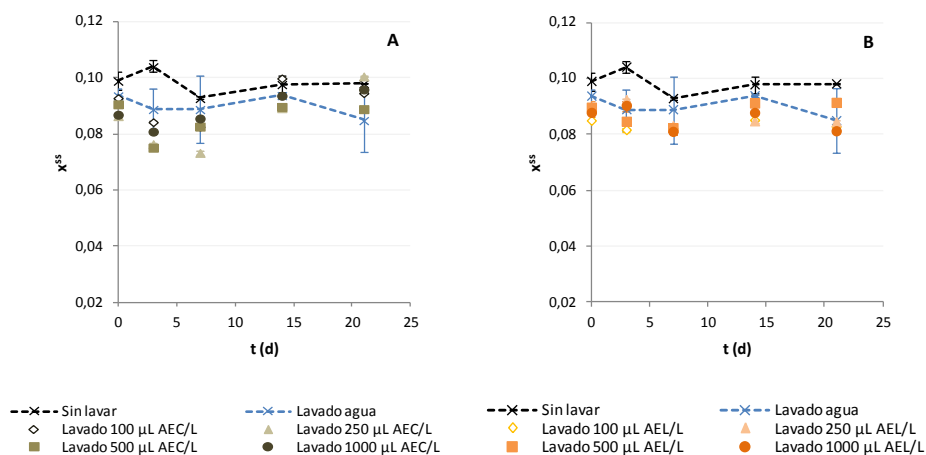


Figura IV.8. Evolución del contenido en sólidos solubles de las muestras lavadas con aceite esencial de canela (AEC) (A) y aceite esencial de limón (AEL) (B) a lo largo del almacenamiento. Las líneas discontinúas representan la evolución de los controles.

En ambos ensayos, las muestras lavadas poseían menor contenido de sólidos solubles que los controles durante la primera semana de almacenamiento, en coherencia con el mayor valor de humedad observado en estos casos. A partir de los catorce días de almacenamiento se observó un aumento de los sólidos solubles con respecto a los valores iniciales debido a la pérdida de humedad, especialmente en las muestras lavadas con aceite esencial de canela.

En las figuras IV.9. A y B se muestran la evolución del pH de las muestras lavadas con aceite esencial de canela y limón durante el almacenamiento.

Los valores de pH obtenidos en las muestras de melón sin lavar fueron del mismo orden a los obtenidos por otros autores como Oms-Oliu et al. (2008a) y Chasán (2008). En ambos ensayos el ANOVA multifactorial indicó la influencia de los factores tiempo de almacenamiento y tratamiento aplicado. A los 7 días de almacenamiento, las muestras no lavadas mostraron un ligero descenso en el pH respecto a las muestras lavadas con agua, manteniéndose hasta el final del periodo de estudio. Las muestras lavadas con agua, presentaron un valor estable a lo largo del almacenamiento.

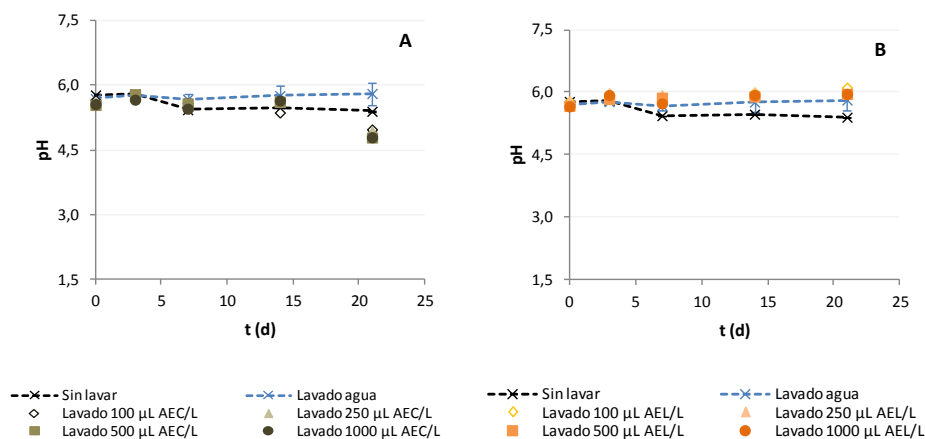


Figura IV.9. Evolución del pH de las muestras lavadas con aceite esencial de canela (AEC) (A) y aceite esencial de limón (AEL) (B) a lo largo del almacenamiento. Las líneas discontinúas representan la evolución de los controles.

En general, las muestras lavadas con el aceite esencial de canela presentaron valores de pH intermedios a los no lavados y lavados con agua. No obstante, al final del almacenamiento, se observó un descenso considerable del pH para todas las concentraciones de aceite esencial de canela empleadas.

En cuanto al aceite esencial de limón, no hubo diferencias entre las concentraciones empleadas y mantuvieron una tendencia similar a las muestras lavadas únicamente con agua a lo largo del tiempo de estudio.

En las figuras IV.10. A y B, se presenta la evolución de la capacidad antioxidante de las muestras estudiadas expresada como porcentaje de DPPH inhibido.

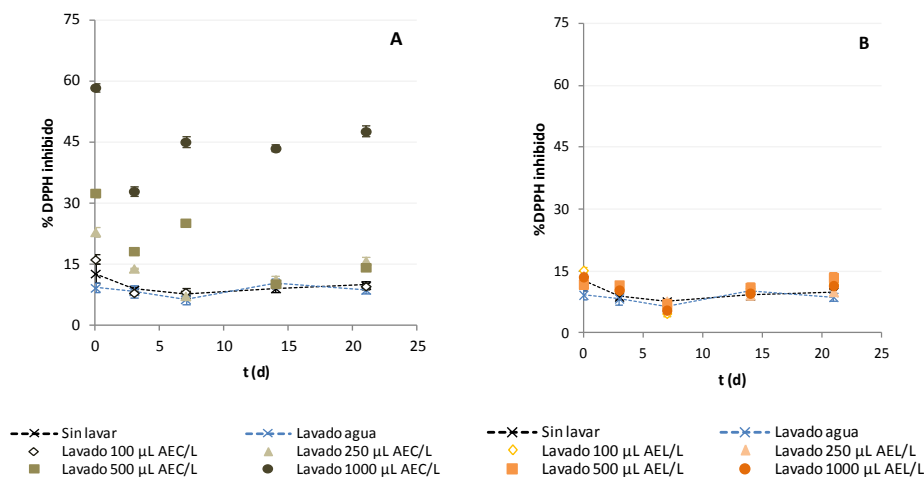


Figura IV.10. Evolución del porcentaje del DPPH inhibido de las muestras lavadas con aceite esencial de canela (AEC) (A) y aceite esencial de limón (AEL) (B) a lo largo del almacenamiento. Las líneas discontinúas representan la evolución de los controles.

Los valores de la capacidad antioxidante obtenidos de las muestras lavadas solamente con agua en el mismo día de envasado (día 0), son ligeramente superiores a los obtenidos por otros autores como Oms-Oliu et al. (2008b) quienes obtuvieron valores en el melón “Piel de Sapo” lavado con agua destilada cercanos al 5%.

Los resultados ponen de manifiesto que el aceite esencial de canela aumentó significativamente la capacidad de las muestras de melón tras el lavado en función de la concentración empleada. Esto sería debido al contenido en compuestos de naturaleza fenólica que tendría el aceite esencial de canela. De hecho, Wang et al. (2009) obtuvieron por hidrodestilación aceites esenciales de cinco especies de hoja de canela, entre los que se encontraba el aceite esencial del *Cinnamomun zeylanicum*, y determinaron sus componentes volátiles. Los componentes mayoritarios que encontraron en esta especie fueron el eugenol y el trans-cinalmaldehído. A los 7 días de almacenamiento las concentraciones más bajas de aceite esencial (100 y 250 µL de AE/L) presentaron valores similares a los controles y esta tendencia se mantuvo al

final del tiempo estudiado, salvo al final del almacenamiento ya que las concentraciones de 250 y 500 μL de AE/L mostraron valores similares y por encima de los controles. No obstante, la concentración más alta (1000 μL de AE/L) presentó una capacidad antioxidante mayor al resto de las concentraciones empleadas, manteniéndose a lo largo del tiempo de almacenamiento.

El aceite esencial de limón, no pareció aumentar la capacidad antioxidante de las muestras inicialmente ni durante el almacenamiento. Únicamente al final de éste se observó que las muestras lavadas con el aceite esencial presentaron valores ligeramente por encima del lavado con agua.

De acuerdo a estos resultados, el aceite esencial de canela a altas concentraciones podría utilizarse para mejorar la capacidad antioxidante de las muestras de fruta mínimamente procesadas. Esto sería coherente con la capacidad antioxidante intrínseca de cada uno de los aceites empleados. Concretamente, el aceite esencial de canela empleado presentó un % de DPPH inhibido de 82,35% ($\pm 0,08$), mientras que el aceite esencial de limón del 41% (± 2).

3.2.2 Evolución de la atmósfera en el interior del envase

Se analizó la concentración de gases en el interior del envase a lo largo de los 21 días de almacenamiento. En las figuras IV.11 y 12 se muestran ejemplos de la evolución de gases en el espacio de cabeza del envase de las muestras de melón mínimamente procesado.

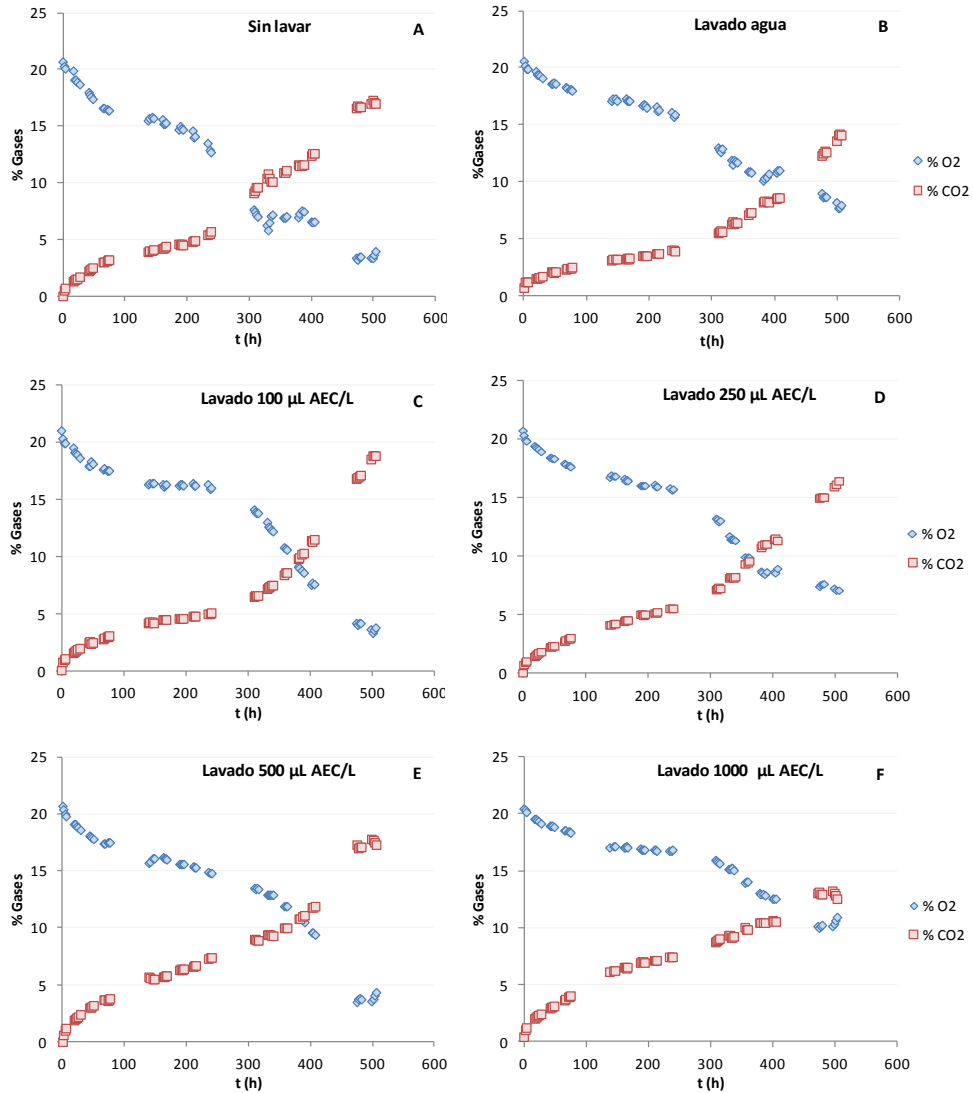


Figura IV.11. Ejemplos de la evolución de gases (%O₂ y %CO₂) con respecto al tiempo de almacenamiento de las muestras de melón mínimamente procesado con las distintas concentraciones de aceite esencial de canela (AEC) empleadas (C=100 µL/L, D=250 µL/L, E=500 µL/L y F=1000 µL/L). Las figuras A y B corresponden a los controles no lavado y lavado agua, respectivamente.

En la figura IV.11, se puede observar de modo general que al final del almacenamiento, el O₂ se redujo hasta valores por debajo del 7%, mientras que el CO₂ aumentó hasta un 15-20% según las muestras.

Al tratarse de un sistema semipermeable, donde la concentración de un gas en el espacio de cabeza es el resultado, tanto de la respiración de la fruta como de la permeabilidad selectiva del material polimérico a ese gas, se llegará al equilibrio cuando se igualen estos flujos de gas. Como puede observarse en la figura IV.11, aunque hubo tramos de pseudoequilibrio, posteriormente volvió a modificarse la concentración del espacio de cabeza. Por tanto, en general no se llegó a alcanzar la atmósfera de equilibrio, siendo, mayor la tasa respiratoria que la permeabilidad del envase.

Solamente en el caso del aceite esencial de limón en las concentraciones más altas de aceite esencial de limón (en especial, las de 500 y 1000 μL de AE/L) sí se consiguió una situación de equilibrio aproximadamente a los 7 días manteniéndose hasta los 15-17 días de almacenamiento. En este periodo de tiempo, el O_2 alcanzó una concentración alrededor de un 15% y de un 5% para el CO_2 . No obstante, al final del periodo de estudio se observó la pérdida de este equilibrio. Estos cambios en la atmósfera de equilibrio indicarían un efecto del aceite esencial sobre el metabolismo respiratorio y/o sobre la permeabilidad del film.

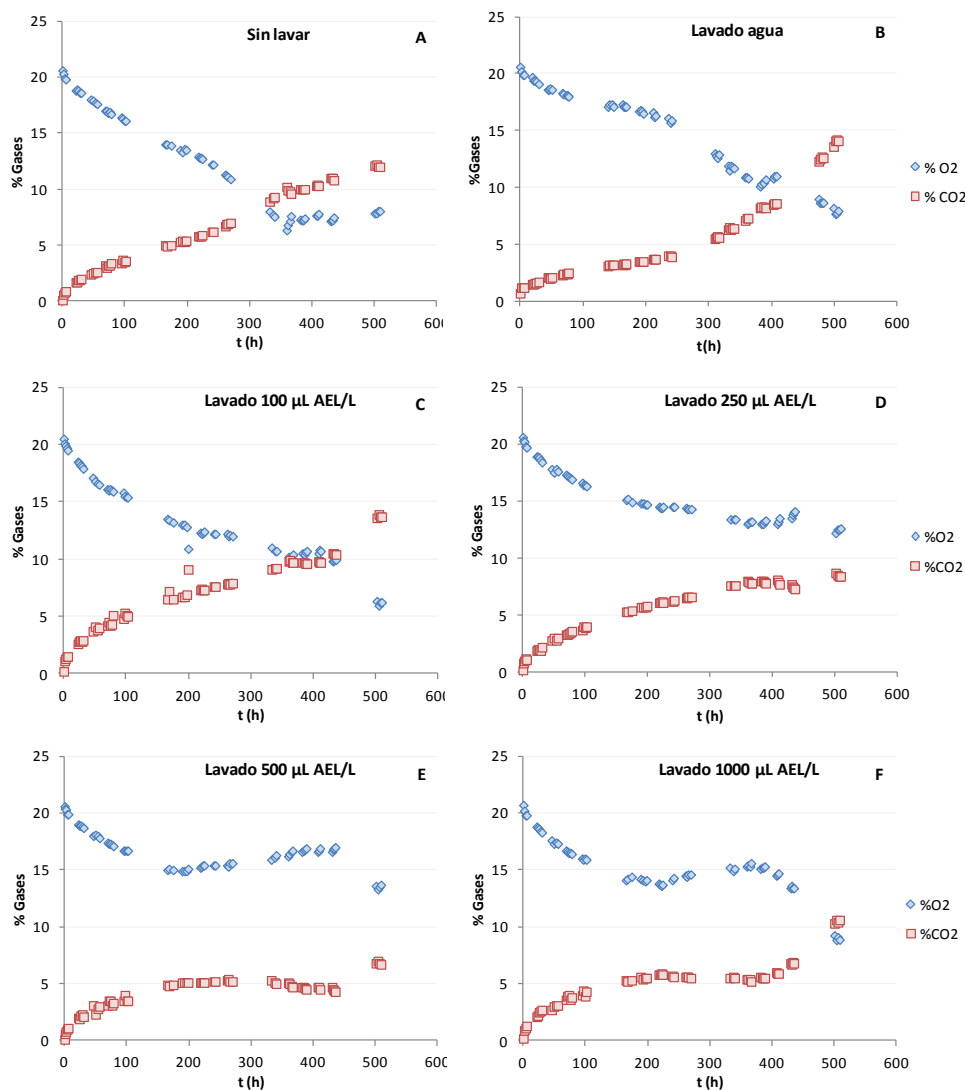


Figura IV.12. Ejemplos de la evolución de gases (%O₂ y %CO₂) con respecto al tiempo de almacenamiento de las muestras de melón mínimamente procesado con las distintas concentraciones de aceite esencial de limón (AEL) empleadas (C=100 µL/L, D=250 µL/L, E=500 µL/L y F=1000 µL/L). Las figuras A y B corresponden a los controles no lavado y lavado agua, respectivamente.

Rojas-Graü et al. (2007) analizaron el espacio de cabeza de envases polipropileno que contenían cilindros de manzana “Fuji” con recubrimientos a base de puré de manzana-alginato y que además contenían aceite esencial de

hierba limón, orégano y vainilla a diferentes concentraciones. La concentración de O_2 en el espacio de cabeza experimentó un ligero descenso para las muestras con recubrimientos con hierba limón (1 y 1,5% w/w) y orégano (0,5% w/w) mientras que para el resto de las muestras tanto con recubrimiento como sin él disminuyó más. Tampoco el CO_2 se vio afectado para las mismas concentraciones y los mismos aceites esenciales. Por otro lado, Raubaudi-Massilia et al. (2008) indicaron que el consumo de O_2 y la producción de CO_2 en el melón cortado y envasado, se podría explicar por la respiración de los tejidos (que continúan vivos tras el cortado) así como por la respiración de la flora microbiana. La variación en la concentración de O_2 y CO_2 que obtuvieron en los trozos de melón recubiertos estuvo influenciada por el tipo y la concentración de aceite esencial empleada en el recubrimiento así como los componentes activos de los aceites esenciales empleados, debido a su acción sobre la flora nativa.

Al igual como se hizo en el apartado correspondiente a resultados del caqui, se calculó la velocidad de cambio (N_i) en la atmósfera del interior del envase, expresada en función del tiempo y de la unidad de masa del producto, considerando el tramo lineal de la evolución de los mismos (hasta las 72 horas aproximadamente), así como la relación entre ambas velocidades (tabla IV.6). El cambio de pendiente está relacionada con una ralentización de la actividad respiratoria como consecuencia de la modificación en la concentración de los gases que hay en el espacio de cabeza de los envases, tal y como se comentó anteriormente. Dado que el material de envasado es igual para todos los casos, las diferencias observadas en la velocidad de cambio, estarían relacionadas con la actividad respiratoria de la fruta.

Tabla IV.6. Velocidad de cambio en la concentración de O₂ (N_{O₂}) y de CO₂ (N_{CO₂}) en el interior del envase y la relación entre ambas (N_{CO₂}/N_{O₂}).

Muestra	Volumen de AE (μL/L)	N _{O₂} (mL·kg ⁻¹ ·h ⁻¹)	N _{CO₂} (mL·kg ⁻¹ ·h ⁻¹)	N _{CO₂} /N _{O₂}
Control no lavado	0	1,8 (0,3) ^b	1,3 (0,2) ^{abc}	0,74 (0,04) ^a
Control lavado con agua potable	0	1,8 (0,5) ^b	1,3 (0,4) ^{ab}	0,73 (0,07) ^a
Aceite esencial de canela en hoja	100	1,5 (0,2) ^{ab}	1,1 (0,3) ^a	0,73 (0,06) ^a
	250	1,54 (0,08) ^{ab}	1,4 (0,2) ^{abc}	0,88 (0,08) ^b
	500	1,6 (0,2) ^{ab}	1,7 (0,2) ^{cd}	1,07 (0,03) ^c
	1000	1,3 (0,2) ^a	1,57 (0,15) ^{bcd}	1,3 (0,2) ^d
Aceite esencial de limón	100	2,5 (0,4) ^c	1,9 (0,2) ^d	0,74 (0,05) ^a
	250	1,6 (0,2) ^{ab}	1,23 (0,14) ^{ab}	0,79 (0,05) ^{ab}
	500	1,8 (0,4) ^b	1,5 (0,2) ^{abcd}	0,83 (0,04) ^{ab}
	1000	1,51 (0,15) ^{ab}	1,17 (0,12) ^{ab}	0,78 (0,02) ^{ab}

Los valores entre paréntesis indican la desviación estándar de cada uno de los valores.

Las letras iguales indican valores homogéneos con un nivel de significancia ($\alpha < 0,05$).

Como puede observarse, no hubo diferencias entre las muestras control, por lo que el hecho de lavar las muestras no estaría afectando al metabolismo respiratorio. Además, las velocidades de cambio tanto en términos de consumo de O₂ como de emisión de CO₂ fueron similares entre las muestras lavadas con aceite esencial de canela y las muestras control. Este mismo comportamiento se observó en las muestras lavadas con aceite esencial de limón, a excepción del lavado con 100 μL de aceite esencial de limón por litro, que presentó valores ligeramente superiores.

En cuanto a la relación de velocidades de cambio entre el CO₂ y el O₂ tuvo valores cercanos a la unidad en todos los casos, lo que indicaría condiciones aerobias en el interior del envase durante dicho periodo.

3.2.3. Evolución de las características ópticas

La evolución del índice de blancura (IB) de las muestras de melón lavadas con aceite esencial de canela y limón se muestra en las figuras IV.13. A y B.

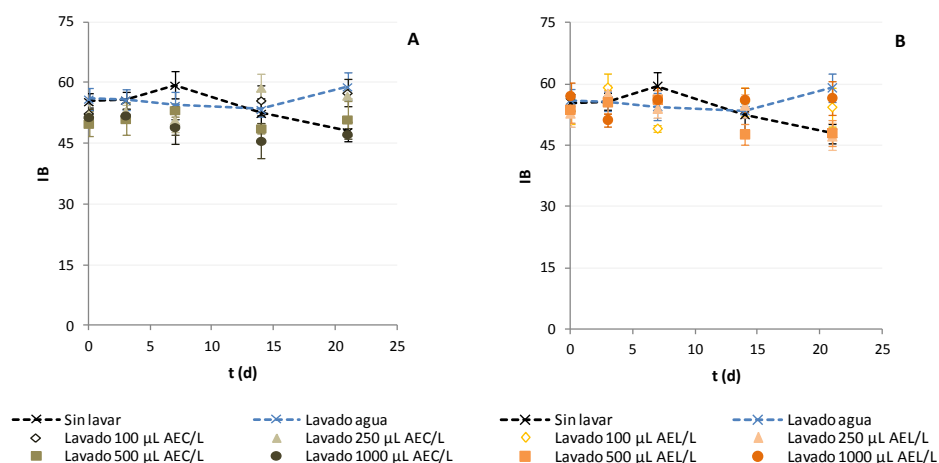


Figura IV.13. Evolución del índice de blancura (IB) de las muestras lavadas con aceite esencial de canela (AEC) (A) y aceite esencial de limón (AEL) (B) a lo largo del almacenamiento. Las líneas discontinúas representan la evolución de los controles.

Con respecto al ensayo con aceite esencial de canela, se observó una disminución paulatina en las concentraciones altas de este aceite esencial (500 y 1000 µL/L), siguiendo la tendencia de las muestras no lavadas. El ANOVA multifactorial reflejó la influencia del tratamiento y no del tiempo de almacenamiento, aunque la interacción entre ambos también influyó en los resultados.

Raybaudi-Massilia et al. (2008) determinaron este valor en trozos de melón con recubrimiento de alginato con aceites esenciales y sus componentes activos. Las concentraciones más altas de los aceites esenciales afectaron más al IB que las concentraciones más bajas. Además, los recubrimientos con

eugenol y geraniol presentaron un mayor descenso del mismo frente a los que contenían citral a la misma concentración.

En el ensayo del aceite esencial de limón, tras una semana de almacenamiento se observó un descenso en el IB en las muestras lavadas con 500 μL de aceite esencial por litro, presentando valores similares a las muestras no lavadas. Las muestras lavadas con aceite esencial de limón a las concentraciones de 100 y 1000 $\mu\text{L/L}$ tuvieron valores similares a las muestras lavadas con agua durante todo el almacenamiento.

En las figura IV.14. A y B se presentan la evolución de la luminosidad (L^*) de las muestras lavadas con aceite esencial de canela y limón respectivamente, a lo largo del almacenamiento, utilizándose como controles las muestras sin lavar o lavadas con agua.

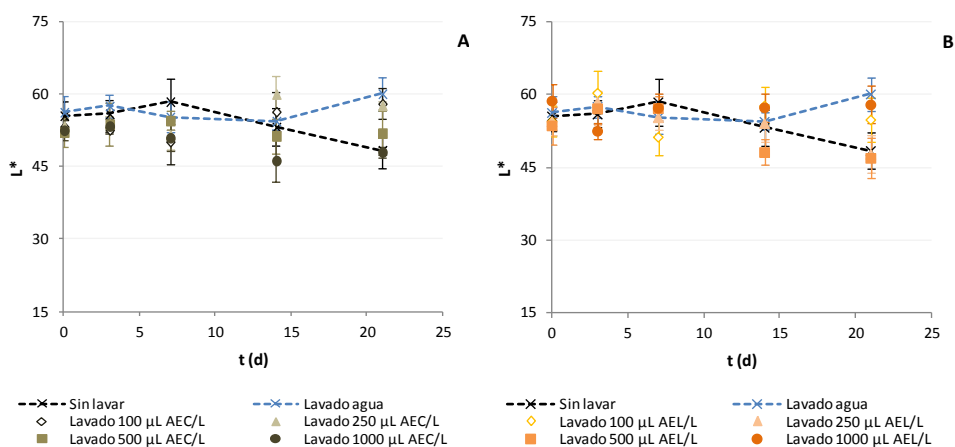


Figura IV.14. Evolución de la luminosidad (L^*) de las muestras lavadas con aceite esencial de canela (AEC) (A) y aceite esencial de limón (AEL) (B) a lo largo del almacenamiento. Las líneas discontinúas representan la evolución de los controles.

Los valores de luminosidad de las muestras no lavadas al inicio del ensayo (día 0), fueron ligeramente menores a las obtenidas por Raybaudi-Massilia et al. (2008), quienes obtuvieron valores de $60,2 \pm 0,07$ y del mismo orden que

Chasán (2008) ($L^*=57\pm 2$). Además, las muestras lavadas con agua (día 0) también coincidieron con los datos de Chasán (2008), quien obtuvo valores de luminosidad para el melón lavado con agua de 53 ± 2 .

Las muestras lavadas con agua mantuvieron los valores de luminosidad, mientras que las muestras no lavadas mostraron un descenso de la misma, tras la primera semana de almacenamiento. Al igual que en el IB, también hubo un descenso en la luminosidad de las muestras sin tratamiento. Este efecto observado en las muestras no tratadas coincide con estudios realizados por Oms-Oliu et al. (2008a), quienes obtuvieron un descenso en los valores de luminosidad e índice de blancura en el melón cortado y envasado bajo una atmósfera modificada de 2,5 kPa de O_2 +7 kPa de CO_2 al final del almacenamiento, relacionándolo con el desarrollo de la traslucidez causada por el deterioro fermentativo. Además, este hecho podría estar relacionado con el descenso en el pH comentado anteriormente.

De acuerdo a los resultados observados en la figura IV.14. A, tanto el lavado con agua como el lavado con las distintas concentraciones de aceite esencial de canela no modificaron la luminosidad de las muestras de melón cortado respecto a las muestras no tratadas durante la primera semana de almacenamiento. No obstante, se observaron diferencias en los valores de luminosidad a mayor tiempo de almacenamiento, de manera que las muestras lavadas con agua y con bajas concentraciones de aceite esencial de canela presentaron un ligero aumento en la luminosidad, mientras que en las muestras lavadas con altas concentraciones de aceite esencial de canela el comportamiento fue el contrario y similar a las muestras no lavadas. En la figura IV.14. B correspondiente al ensayo con aceite esencial de limón, no se observaron cambios de luminosidad durante la primera semana de almacenamiento. Al final del almacenamiento se observó que las muestras

lavadas con 100 y 1000 μL de aceite esencial por litro conservaron mejor los valores de ésta, mostrando una tendencia similar a las muestras lavadas con agua potable. Sin embargo, las otras concentraciones empleadas, presentaron valores similares a las muestras no lavadas.

En las figuras IV.15. A y B se muestran la evolución de la coordenada a^* de las muestras lavadas con aceite esencial de canela y limón respectivamente, a lo largo del almacenamiento. En ambos ensayos, las variables tiempo de almacenamiento y tratamiento ejercieron influencia en esta propiedad estudiada.

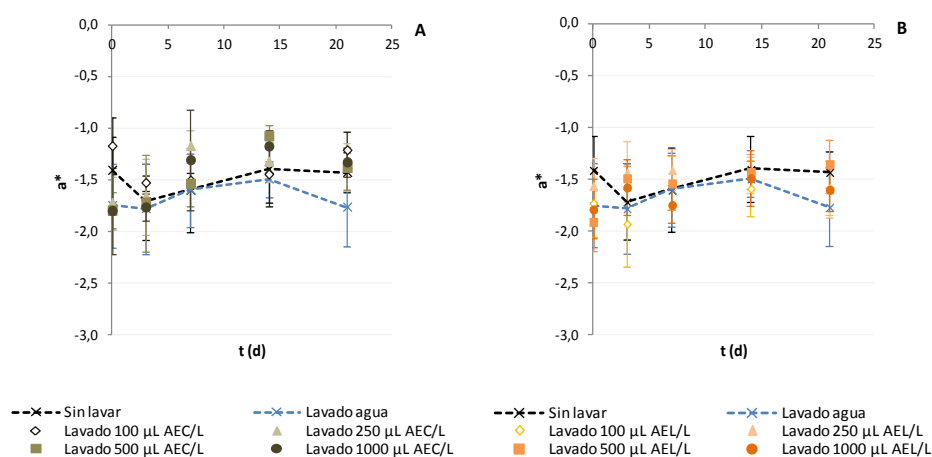


Figura IV.15. Evolución de la coordenada a^* de las muestras lavadas con aceite esencial de canela (AEC) (A) y aceite esencial de limón (AEL) (B) a lo largo del almacenamiento. Las líneas discontinúas representan la evolución de los controles.

Al inicio del ensayo los valores de la coordenada a^* para el melón no lavado, fueron del mismo orden que los registrados por Raybaudi-Massilia et al. (2008) y Chasán (2008). Además los obtenidos para el melón lavado con agua, fueron similares a los obtenidos por Chasán (2008).

En el ensayo con aceite esencial de canela, inicialmente las muestras no lavadas y lavadas con 100 μL de aceite esencial por litro mostraron valores de

la coordenada a^* , ligeramente superiores al resto de las muestras. No obstante, a medida que avanzó el tiempo de almacenamiento no se observaron diferencias entre las muestras lavadas con este aceite esencial. Al final del almacenamiento, presentaron valores similares a las muestras no lavadas y ligeramente superiores a las lavadas con agua.

En el caso del aceite esencial de limón, las muestras lavadas con este aceite esencial presentaron a lo largo del almacenamiento valores similares a los controles. No hubo un efecto claro de este aceite esencial en la coordenada a^* en los trozos de melón mínimamente procesado.

La evolución de la coordenada b^* para los ensayos con los aceites esenciales de canela y limón se muestra en las figuras IV.16. A y B.

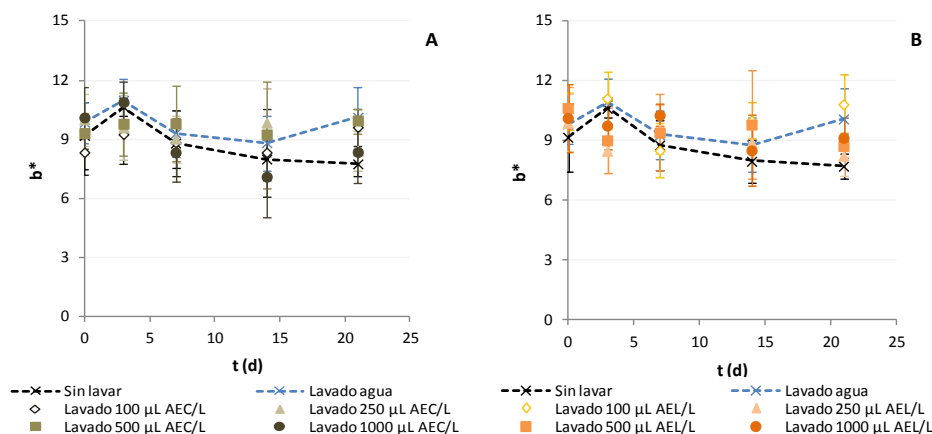


Figura IV.16. Evolución de la coordenada b^* de las muestras lavadas con aceite esencial de canela (AEC) (A) y aceite esencial de limón (AEL) (B) a lo largo del almacenamiento. Las líneas discontinúas representan la evolución de los controles.

Las muestras de melón no lavadas y lavadas con agua al inicio del ensayo, presentaron valores de b^* mayores a los obtenidos por Chasán (2008), quien obtuvo valores de 8 ± 2 y $6,1 \pm 1,1$, respectivamente. También fueron más altos que los determinados por Raybaudi-Massilia et al. (2008) ($b^* = 5,9310 \pm 0,0007$).

En ambos ensayos las variables tiempo de almacenamiento y tratamiento tuvieron influencia en la coordenada b^* . Las muestras no lavadas presentaron un descenso de esta coordenada durante el tiempo estudiado, mientras que las muestras lavadas con agua la conservaron mejor. De hecho, al final del almacenamiento, las muestras no lavadas mostraron valores inferiores a las lavadas con agua. En la figura IV.16. A correspondiente al ensayo con aceite esencial de canela, se observa que las muestras lavadas con la mayor concentración de este aceite esencial (1000 $\mu\text{L/L}$) presentaron un descenso en esta coordenada durante el tiempo de almacenamiento, siguiendo una tendencia similar a las muestras no lavadas. En el ensayo con el aceite esencial de limón (figura IV.16. B), en la concentración más alta también se observó un descenso de esta coordenada tras la primera semana de almacenamiento. No obstante, los valores se mantuvieron por encima de las muestras no lavadas. En conclusión, altas concentraciones de aceite esencial de canela afectaron a la luminosidad y a la coordenada b^* de las muestras de melón mínimamente procesadas. Sin embargo, el aceite esencial de limón no ejercería una influencia considerable en las propiedades ópticas de esta fruta.

3.2.4. Evolución de las propiedades mecánicas

En la figura IV.17. A y B se muestra la evolución de la fuerza máxima de las muestras lavadas con aceite esencial de canela y limón respectivamente, a lo largo del almacenamiento con sus controles (no lavado y lavado con agua).

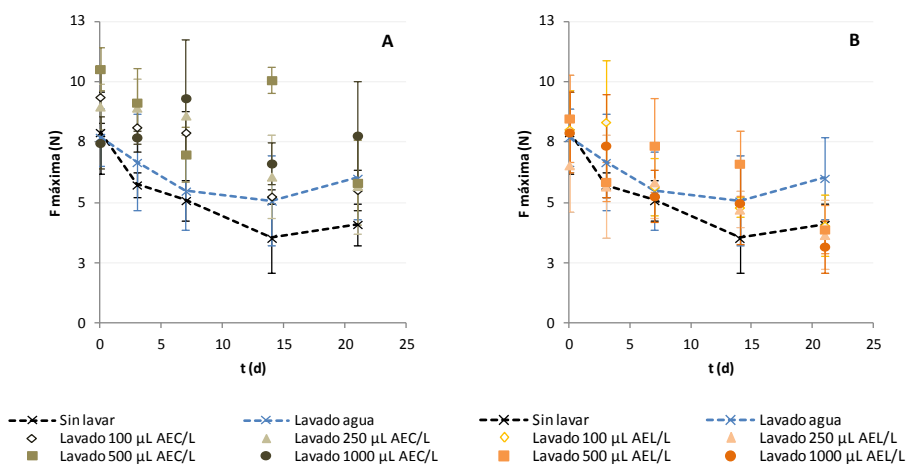


Figura IV.17. Evolución de la fuerza (F) máxima expresada en newton (N) de las muestras lavadas con aceite esencial de canela (AEC) (A) y aceite esencial de limón (AEL) (B) a lo largo del almacenamiento. Las líneas discontinuas representan la evolución de los controles.

El ANOVA multifactorial aplicado en el ensayo del aceite esencial de canela mostró que los factores tiempo de almacenamiento y tratamiento presentaron un efecto significativo sobre las propiedades mecánicas.

Inicialmente tras el lavado se observó que los trozos de melón tratados con las concentraciones de 100, 250 y 500 µL de aceite esencial de canela por litro de agua (sobre todo en esta última), presentaron una fuerza máxima ligeramente superior al resto de las muestras analizadas.

Durante la primera semana de almacenamiento, las muestras lavadas con aceite esencial de canela presentaron una mayor fuerza frente a las muestras control, a excepción de las tratadas con la mayor concentración. Sin embargo, al final del almacenamiento la concentración más alta de aceite esencial de canela (1000 µL/L) fue la que mantuvo más estable esta propiedad mecánica, presentando valores por encima del lavado con agua. Por otra parte, también al final del almacenamiento, se observó que el resto de las muestras tratadas con aceite esencial de canela presentaron características de similares al control lavado con agua. En este sentido, los resultados indicarían que sólo

concentraciones muy elevadas de aceite esencial de canela podrían conferir un refuerzo en la estructura del melón. Sin embargo, en el estudio de Raybaudi-Massilia et al. (2008), los resultados de firmeza mostraron una disminución de la misma a mayor concentración del aceite esencial (hierba limón, palmarosa y canela en hoja) en los recubrimientos de melón. Esto lo atribuyeron a que posiblemente el aceite esencial en el tejido celular produciría cambios estructurales que afectarían directamente a la firmeza. Por otro lado, Montero-Prado et al. (2011) observaron que la firmeza en melocotones de la variedad "Calanda" en envases macroperforados de polietileno tereftalato (PET) y con una etiqueta activa (recubrimiento en la etiqueta con aceite esencial de canela en su formulación), se mantuvo sin cambios en comparación al control que disminuyó con el tiempo de almacenamiento. Según estos autores, este comportamiento podría estar relacionado con la disminución de la actividad lipooxigenasa determinado en las muestras tratadas con la etiqueta activa.

En cuanto al ensayo con aceite esencial de limón, tras el lavado, no se observaron diferencias significativas en las propiedades mecánicas estudiadas, aunque la fuerza máxima correspondiente al lavado con 250 μ L de aceite esencial de limón por litro de agua potable mostró un valor ligeramente inferior al resto de las muestras. La fuerza máxima se vio influenciada por las variables tratamiento y tiempo de almacenamiento, siendo esta última la que ejerció una mayor influencia. Tal y como se puede observar en la figura IV.17. B, hubo una disminución de la fuerza con respecto al tiempo de almacenamiento, siendo este descenso mayor para las muestras no lavadas respecto a las lavadas solamente con agua potable. En el caso de las muestras lavadas con aceite esencial de limón mostraron un comportamiento similar

presentando al final del almacenamiento valores próximos a los de las muestras no lavadas.

En la figura IV.18. A y B se muestra la evolución de la distancia a la que se produjo la fuerza máxima de las muestras lavadas con aceite esencial de canela y limón respectivamente, a lo largo del almacenamiento con sus controles (no lavado y lavado con agua).

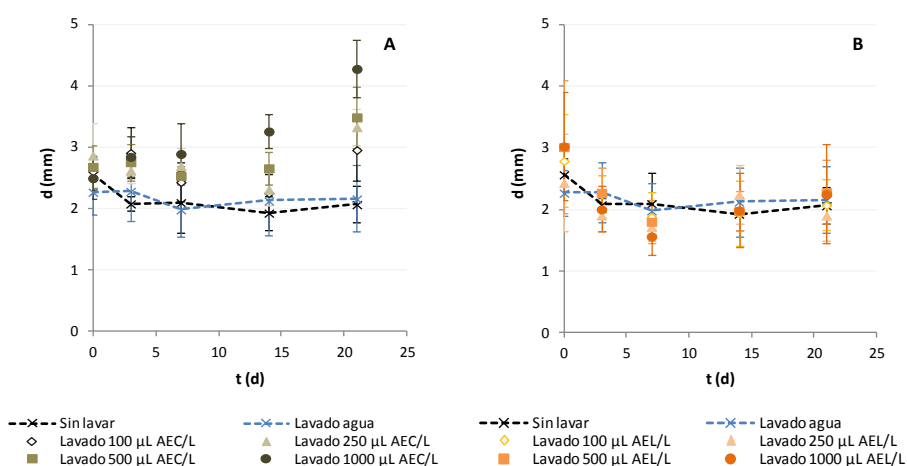


Figura IV.18. Evolución de la distancia expresada en milímetros (mm) de las muestras lavadas con aceite esencial de canela (AEC) (A) y aceite esencial de limón (AEL) (B) a lo largo del almacenamiento. Las líneas discontinuas representan la evolución de los controles.

La variable tratamiento ejerció una mayor influencia que el tiempo de almacenamiento sobre la distancia a la que se produjo la fuerza máxima en el ensayo del aceite esencial de canela. Tal y como se puede observar en la figura IV.18. A, los controles permanecieron estables y con valores muy similares durante el almacenamiento, mientras que las muestras lavadas con aceite esencial de canela mostraron mayores valores de distancia sin presentar diferencias entre las concentraciones empleadas durante la primera semana de almacenamiento. Sin embargo, a partir de la segunda semana las concentraciones más altas (500 y 1000 µL) mostraron valores ligeramente más

elevados que para el resto de las concentraciones. De acuerdo a estos resultados, el aceite esencial de canela a altas concentraciones supondría un retraso en la ruptura de la muestra.

Por otra parte, en el ensayo del aceite esencial de limón, la distancia únicamente se vio influenciada por el tiempo de almacenamiento. Tal y como se puede observar en la figura IV 18. B, al inicio de este ensayo todas las muestras presentaron valores similares. Además, en todas se apreció un ligero descenso de esta propiedad mecánica en la primera semana de almacenamiento, permaneciendo estables hasta el final del mismo y sin diferencias entre las concentraciones de aceite esencial de limón empleadas y los controles. Por tanto, el aceite esencial de limón no afectaría a la distancia a la que se produce la fuerza máxima.

Es destacable que la propia técnica de lavado con agua potable mantendría mejor la fuerza a lo largo del almacenamiento frente a las muestras no lavadas. Además, el aceite esencial de canela a la concentración mayor aumentaría la fuerza y la distancia a la que se produce la misma, mientras que el aceite esencial de limón no tendría ninguna influencia sobre las propiedades mecánicas.

3.2.5. Análisis microbiológico

En las figuras IV.19. A y B se presentan la evolución del crecimiento de microorganismos aerobios mesófilos de las muestras de melón cortado lavado con distintas concentraciones de aceite esencial de canela (AEC) y de limón (AEL) y almacenado a 4 °C durante 21 días.

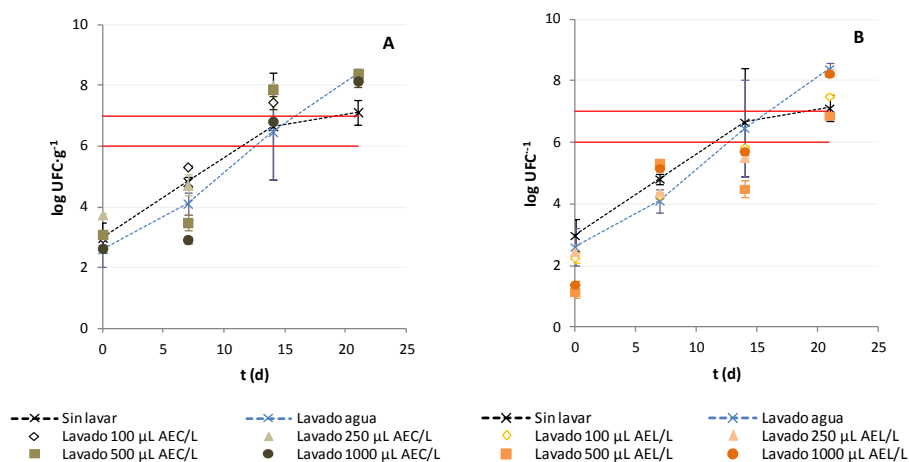


Figura IV.19. Recuento microbiano de microorganismos aerobios mesófilos expresado como logaritmo decimal de las unidades formadoras de colonia por gramo de producto ($\log \text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$) de las muestras lavadas con aceite esencial de canela (AEC) (A) y aceite esencial de limón (AEL) (B) a lo largo del almacenamiento. Las líneas discontinúas representan la evolución de los controles. La línea continúa roja inferior indica el límite por encima del cual no es satisfactorio y la superior señala y el límite de caducidad según el RD 3484/2000.

El día de fabricación no se superaron los límites establecidos por el Real Decreto (RD) 3484/2000 presentando recuentos similares en el caso de los controles y las muestras lavadas con aceite esencial de canela. Para el aceite esencial de limón, las concentraciones más altas presentaron menores recuentos que el resto de las muestras el día de fabricación.

EL ANOVA multifactorial del ensayo con el aceite esencial de canela, indicó la influencia tanto del tiempo de almacenamiento como del tratamiento aplicado, siendo el tiempo la variable con mayor influencia.

A los 7 días de almacenamiento, las muestras lavadas con mayor concentración del aceite esencial de canela (500 y 1000 µL AEC/L) presentaron un menor crecimiento de aerobios mesófilos respecto al resto de las muestras. Sin embargo, a partir de las 2 semanas de almacenamiento se observaron recuentos similares entre las muestras tratadas con aceite esencial de canela. Además, según este RD en esta segunda semana de almacenamiento se

superaron los límites establecidos como no satisfactorios en todos los casos ($\geq 10^6$ UFC·g⁻¹), e incluso se llegó al nivel de caducidad establecido por ley ($\geq 10^7$ UFC·g⁻¹) en el caso de la concentración más alta de aceite esencial de canela (1000 µL/L). No hubo diferencias entre las muestras lavadas con agua y aceite esencial canela en la última semana de almacenamiento, mientras que las muestras no lavadas presentaron recuentos más bajos respecto al resto.

A diferencia de lo sucedido en el ensayo con aceite esencial de canela, en el caso del aceite esencial de limón a las dos semanas de almacenamiento todas las muestras lavadas con este aceite esencial se mantuvieron por debajo de las 10^6 UFC·g⁻¹, superando dicho nivel en la última semana de almacenamiento. El ANOVA multifactorial del ensayo con el aceite esencial de limón, indicó la influencia del tiempo de almacenamiento en el crecimiento de microorganismos aerobios mesófilos frente al tratamiento empleado, aunque sí hubo interacción de ambas variables. Por tanto, dado que los controles son iguales, parece que el aceite esencial de limón mantuvo mejor la estabilidad microbiológica del melón mínimamente procesado respecto a microorganismos aerobios mesófilos.

A continuación se muestra en las figura IV.20. A y B, la evolución del crecimiento de mohos y levaduras de las muestras de melón cortado lavado con distintas concentraciones de aceite esencial de canela (AEC) y de limón (AEL). El límite establecido para mohos y levaduras fue de 10^2 UFC·g⁻¹ de producto de acuerdo al criterio de Pascual y Calderón (2000).

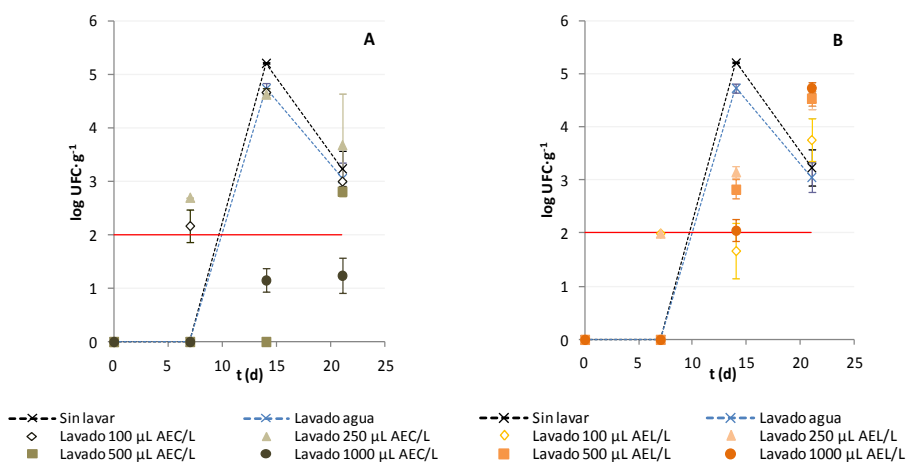


Figura IV.20. Recuento microbiano de mohos y levaduras expresadas como logaritmo decimal de las unidades formadoras de colonia por gramo de producto ($\log \text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$) de las muestras lavadas con aceite esencial de canela (AEC) (A) y aceite esencial de limón (AEL) (B) a lo largo del almacenamiento. Las líneas discontinúas representan la evolución de los controles. La línea roja indica el límite establecido por Pascual y Calderón (2000).

Respecto a los resultados obtenidos del recuento de mohos y levaduras, en la primera semana de almacenamiento, solo se observó crecimiento en las muestras tratadas con 100 y 250 μL de aceite esencial tanto de canela como de limón. Transcurridas dos semanas de almacenamiento, las muestras control tanto lavadas con agua como no lavadas, presentaron la mayor proliferación de mohos y levaduras junto con las muestras de canela tratadas con las concentraciones más bajas. En la segunda semana de almacenamiento, las muestras tratadas con las concentraciones más altas de aceite esencial de canela presentaron recuentos por debajo del límite establecido por Pascual y Calderón (2000), manteniéndose por debajo hasta el final del almacenamiento. Raybaudi-Massilia et al. (2008), estudiaron el efecto de diferentes aceites esenciales (canela en hoja, hierba limón y palmarosa) y los componente activos de aceite esencial (eugenol, citral y geraniol) combinándolos con ácido málico en recubrimientos a base de alginato en melón mínimamente procesado, siendo los más efectivos inhibiendo el crecimiento de mohos y levaduras el

aceite esencial de canela a la concentración más alta (0,7%) y el eugenol (0,5%). No obstante, es posible que el aceite esencial de canela a las concentraciones más altas tuviera mayor efectividad debido al menor pH registrado en las muestras. La disminución de pH y el menor crecimiento microbiano también se observó en el persimon mínimamente procesado, cuando con el aceite esencial de limón se incorporó en el envase.

Además, incluso se ha utilizado en envases activos mediante su incorporación en una etiqueta dentro del envase permitiendo a Montero-Prado et al. (2011) reducir el porcentaje de melocotones de “Calanda” infectados por hongos comparados con el control durante el almacenamiento. Esto también fue observado en el envasado activo en fresas (que contenía aceite esencial de canela enriquecido con cinamaldehído) por Rodríguez et al. (2007).

En el caso del aceite esencial de limón, en la segunda semana de almacenamiento sí que se observó un efecto antimicrobiano de todas las concentraciones estudiadas, aunque se superó el límite establecido. Sin embargo, al final del almacenamiento, el aceite esencial de limón no mantuvo este efecto.

Como conclusión, el aceite esencial de canela a altas concentraciones pareció tener un mayor efecto antimicrobiano frente a mohos y levaduras que el aceite esencial de limón.

V. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. CONCLUSIONES DE LOS ESTUDIOS EN CAQUI

- El aumento en la concentración de CO₂ en el espacio de cabeza no modificó la humedad, los sólidos solubles, la actividad de agua y la acidez de las muestras de caqui. No obstante, el tratamiento de lavado implicó un aumento en la humedad y en consecuencia una disminución de los sólidos solubles, debido a la incorporación de agua en la matriz de la fruta. El pH sufrió un ligero aumento al final del almacenamiento en los tratamientos con atmósferas ricas en CO₂.
- Atmósferas ricas en CO₂ implicaron un aumento en el consumo de O₂ en las muestras lavadas, reduciendo considerablemente la producción de CO₂ en todos los casos. La adición de lactato cálcico redujo la tasa respiratoria de O₂ cuando no se modificó la composición del espacio de cabeza. Sin embargo, altas concentraciones de CO₂ en la atmósfera revertirían el efecto ralentizante del lactato cálcico sobre el metabolismo respiratorio.
- Respecto a las propiedades ópticas, la coordenada a* evolucionó hacia colores más rojizos cuando no se modificó la atmósfera del espacio de cabeza, salvo en las muestras lavadas con lactato cálcico debido a que éste podría disminuir la velocidad de síntesis de carotenoides. Además, las muestras sin lavar y lavadas con lactato cálcico envasadas en una atmósfera con un 5% de CO₂, mostraron una disminución en los valores de la coordenada b* probablemente por la

acción de la polifenoloxidasa como consecuencia del estrés físico o fisiológico. No obstante, a mayores concentraciones de carbónico otros mecanismos contrarrestarían la acción de esta enzima.

- El lavado con lactato cálcico supuso un aumento en la firmeza de las muestras de caqui por la formación del complejo pectato-cálcico. Este efecto estaría potenciado por un envasado en atmósferas ricas en CO₂ (10%).
- La tasa respiratoria de caqui pudo determinarse mediante un modelo lineal (modelo I) en las primeras 24-48 horas. El efecto de la temperatura se modelizó según un modelo de tipo Arrhenius. Para tiempos más largos de análisis, la tasa respiratoria debería ajustarse a modelos de regresión no lineal publicados en bibliografía (modelo II). Sin embargo, los resultados obtenidos no mostraron un buen ajuste a este modelo. En este sentido, deberían plantearse nuevos estudios sobre este producto para buscar modelos matemáticos que intenten explicar los cambios en la tasa respiratoria.
- La incorporación de aceite esencial de tomillo y de limón en el envase no mejoraría la capacidad antioxidante ni el contenido en fenoles totales de las muestras. Sin embargo, cuando estos aceites esenciales se incorporaron en el agua de lavado, el aporte de sustancias antioxidantes de éstos compensaría la pérdida de antioxidantes por el lavado con agua, dando lugar a mayor capacidad antioxidante a la materia prima en los primeros 3 días de almacenamiento. Este comportamiento podría justificarse por la acción de la fenilalanina

amonio liasa combinada con el mayor aporte de antioxidantes de los aceites esenciales estudiados. Con el almacenamiento, la fruta perdió capacidad antioxidante como consecuencia del pardeamiento, lo que se vio también reflejado en las propiedades ópticas analizadas.

- El aceite esencial de tomillo incorporado en el envase a bajas concentraciones (50 y 250 μL) se podría utilizar para reducir la pauta respiratoria de caqui cortado durante el almacenamiento. Sin embargo, la presencia de aceite esencial de limón ocasionó aumentos en la respiración de caqui cortado proporcionales a la concentración empleada como consecuencia del estrés producido por algún componente volátil de este aceite que podría provocar daños citotóxicos. La propia técnica de lavado redujo el metabolismo respiratorio, siendo esta reducción menos acusada cuando se añadieron los aceites esenciales estudiados.
- Altas concentraciones de aceite esencial de limón incorporado en el envase presentaron un mayor efecto antimicrobiano que el aceite esencial de tomillo probablemente asociado a la mayor disminución del pH y también a la menor disponibilidad de O_2 en el envase. La incorporación del aceite esencial de limón en el lavado en todas las concentraciones estudiadas y el lavado con aceite esencial de tomillo a 500 $\mu\text{L/L}$ disminuyeron la carga microbiana, aunque serían necesarios estudios más prolongados en el tiempo para evaluar el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales en el lavado.

Como conclusión general, para comercializar caqui mínimamente procesado, se recomendaría un lavado con lactato cálcico ya que mantiene las propiedades mecánicas. Respecto a la atmósfera de envasado, un 10% de CO₂ contribuiría a mantener las propiedades mecánicas y ópticas. Por último, los aceites esenciales utilizados a las concentraciones estudiadas no contribuirían a mantener la calidad del producto, excepto en términos microbiológicos si se incorporan en el envase y en términos de capacidad antioxidante si se utilizan junto con el agua de lavado.

2. CONCLUSIONES DE LOS ESTUDIOS EN MELÓN

- Al igual que en el caqui, la tasa respiratoria de melón cortado se ajustó bien a un modelo lineal. Además la influencia de la temperatura siguió el modelo de Arrhenius. Sin embargo, los resultados experimentales tampoco se ajustaron al modelo de regresión no lineal utilizado en este estudio.
- La incorporación del aceite esencial de canela en el agua de lavado aumentó la capacidad antioxidante de las muestras de melón en función de la concentración empleada, probablemente debido al contenido en compuestos fenólicos de este aceite esencial. Además, el aumento en la capacidad antioxidante se mantuvo durante el tiempo de almacenamiento evaluado cuando se utilizó la mayor concentración de aceite esencial de canela (1000 $\mu\text{L/L}$).
- El aceite esencial de limón a altas concentraciones ralentizaría los cambios en la composición del espacio de cabeza de los envases de melón tratados, necesitándose tiempos más largos para alcanzar la atmósfera de equilibrio. La incorporación de aceite esencial en el envasado podría estar modificando, además, las propiedades de permeabilidad del material polimérico.
- En cuanto a las propiedades ópticas, el empleo de aceite esencial de canela a altas concentraciones (500 y 1000 $\mu\text{L/L}$) disminuyó el índice de blancura (IB) y la luminosidad de las muestras durante todo el periodo de almacenamiento, pudiendo ser debido a la traslucidez de

las mismas causada por el deterioro fermentativo asociado a los bajos valores de pH que presentaron estas muestras.

- Respecto a las propiedades mecánicas, la concentración más alta de aceite esencial de canela (1000 $\mu\text{L/L}$) mantuvo más estable la firmeza de las muestras y aumentó la distancia de ruptura. Además, el propio lavado contribuyó a mantener las propiedades mecánicas respecto a las muestras no tratadas.
- Desde el punto de vista microbiológico, el aceite esencial de limón mantuvo mejor la estabilidad microbiológica del melón mínimamente procesado (hasta dos semanas) respecto a microorganismos aerobios mesófilos. Sin embargo el aceite esencial de canela a la concentración más alta tendría una mayor actividad antifúngica que el aceite esencial de limón.

Como conclusión general de los estudios de melón, se recomendaría el empleo del aceite esencial de canela a altas concentraciones ya que mantuvo la firmeza, aumentó la capacidad antioxidante y fue antifúngico. Sin embargo, habría que considerar su influencia en el aspecto del producto ya que redujo el IB y la luminosidad. Además, a nivel sensorial podría suponer un rechazo por parte del consumidor por la intensidad del aroma y sabor que confiere. Por otra parte, el aceite esencial de limón, podría utilizarse como un agente altamente antimicrobiano.

VI. BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- Abbott, J. A., Conway, W. S. y Sams, C. E.** (1989). Postharvest calcium chloride infiltration affects textural attributes of apples. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 114, 932–936.
- Aguayo E., Escalona, V. H. y Artés, F.** (2008). Effect of hot water treatment and various calcium salts on quality of fresh cut “Amarillo” melon. *Postharvest Biology and Technology*, 47, 397-406.
- Alandes, L., Pérez-Munuera I., Llorca, E., Quiles, A. y Hernando I.** (2009). Use of calcium lactate to improve structure of “Flor de Invierno” fresh-cut pears *Postharvest Biology and Technology*, 53, 145–151.
- Albors, A., Castelló, M.L, Almela, C. y Ortolá, M. D.** (2008). Efecto del empleo de algunos agentes de lavado en caqui procesado en fresco. *Avances en maduración y post-recolección de frutas y hortalizas*. Editorial Acribia, Zaragoza. 647-654.
- Andrich, G., Fiorentini, R., Tuci, A., Zinnai, A. y Sommovigo, G.** (1991). Attention model to describe respiration of stored apples. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 116, 478–481.
- Anthon, G. E. y Barrett, D. M.** (2006). Characterization of the temperature activation of pectin methylesterase in green beans and tomatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (1), 204–211.
- Artés-Hernández, F., Aguayo, E. y Artés F.** (2004) Evolución y tendencias de la industria española de procesado mínimo en fresco de frutas y hortalizas. *Revista Mercados*. Febrero nº51.
- Artés, F. Gómez, P., Aguayo, E., Escalona, V. y Artés-Hernández, F.** (2009). Sustainable sanitation techniques for keeping quality and safety of fresh-cut plant commodities. *Review. Postharvest Biology and Technology*, 51, 287-296.
- Asociación Española de Frutas y Hortalizas, Lavadas y listas para su Empleo (AFHORLA)** (2012) [En línea]. Dirección URL: <http://www.afhorla.com/index.php> [Consulta 06 de junio de 2012].

- AOAC** (2000). Official Methods of Analysis of AOAC International (17th edition). Gaithersburg, MD, USA.
- Arnal, L. y Del Río, M. A.** (2004). Quality of persimmon fruit cv. Rojo brillante during storage at different temperatures. Spanish Journal of Agricultural Research 2 (2), 243-247.
- Azcón-Bieto, J. y Talón, M.** (2000). Fundamentos de Fisiología Vegetal. Capítulo 14, 217-233. Ed. MacGraw-Hill Interamericana y Ed. Universitat de Barcelona.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. e Idaomar, M.** (2008). Biological effects of essential oils-A review. Food and Chemical Toxicology 46, 446-475.
- Barry-Ryan, C. y O'Beirne, D.** (1998a). Quality and shelf-life of fresh cut carrot slices as affected by slicing method. Journal of Food Science, 63, 851-856.
- Barry-Ryan, C. y O'Beirne, D.** (1998b). Ascorbic acid retention in shredded iceberg lettuce as affected by minimal processing. Journal of Food Science, 64, 498-500.
- Bartolome L. G. y Hoff, J. E.** (1972). Firming of potatoes. Biochemical effects of preheating. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 20 (2), 266–270.
- Beaulieu, J. C. y Gorny, J. R.** (2001). Fresh-cut fruits. In: Gross, K., Saltveit, M.E., Wang, C.Y. (Eds.). The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Floristand Nursery Stocks. Agriculture Handbook Number 66, USDA, Washington, DC. <http://www.ba.ars.usda.gov/hb66/146freshcutfruits.pdf>
- Belletti, N., Lanciotti, R., Patrignani, F. y Gardini, F.** (2008). Antimicrobial Efficacy of Citron Essential Oil on Spoilage and Pathogenic Microorganisms in Fruit-Based Salads. Journal of Food of Science, 73 (7), 331-338.
- Beuchat, L. F.** (2000). Use sanitizers in raw fruit and vegetable processing. In. S. M. Alzamora, M. S. Tapia y A. López-Malo (editores). Minimally processed fruits and vegetables. Maryland Aspen. Páginas 63-68.
- Bhande, S. D., Ravindra, M. R. y Goswami T. K.** (2008). Respiration rate of banana fruit under aerobic conditions at different storage temperatures. Journal of Food Engineering 87, 116–123.

- Boyette, M. D., Ritchie, D. F., Carballo, S. J., Blankenship, S. M y Sanders, D. C.** (1993). Chlorination and Postharvest Disease Control. Reviews. HortTechnology, 3(4), 395-400.
- Brecht, J. K.** (1995). Physiology of lightly processed fruits vegetables. HortScience, 30 (1), 18-21.
- Burt, S.** (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. International Journal of Food Microbiology 94, 223-253.
- Buta, J.G., Moline, H. E., Spaulding, D.W. y 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.
- Cameron, A. C., Boylan-Pett, W. y Lee, J.** (1989). Design of modified atmosphere packaging systems: modeling oxygen concentrations within sealed packages of tomatoes fruits. Journal of Food Science, 54 (6), 1413-1416.
- Castelló, M. L., Albors, A., y Ortolá, M. D.** (2006). Caracterización de cultivares de caqui y modelización del efecto de la temperatura en su tasa respiratoria en función de la geometría de corte. Innovaciones Fisiológicas y Tecnológicas de la Maduración y Post-recolección de Frutas y Hortalizas. Páginas 63-66.
- Castelló, M. L., Heredia, A., Domínguez, E., Ortolá, M. D. y Tarrazó, J.** (2010). Influence of thermal treatment and storage on astringency and quality of a spreadable product from persimmon fruit. Food Chemistry 128 (2), 323-329.
- Chang, C. -H., Lin, H. -Y., Chang, C. -Y y Liu, Y. -C.** (2006). Comparisons on the antioxidant properties of fresh, freeze-dried and hot-air-dried tomatoes. Journal of Food Engineering 77, 478-485.
- Chasán, M.** (2008). Efecto del empleo de algunos agentes de lavado en caqui (*Diospyros kaki*) y melón (*Cucumis melo* L.) procesado en fresco. Trabajo Final de Carrera UPV.
- Conselleria d'Agricultura, Pesca, Alimentació i Aigua.** (2012) Superfícies y producciones de los principales cultivos de la Comunitat Valenciana. Año 2010. [En línea]. Dirección URL:

http://www.agricultura.gva.es/web/c/document_library/get_file?uuid=a5776611-723a-428f-a2c2-2d5142ee3cf2&groupId=16. [Consulta 23 de abril de 2012].

Decisión de la Comisión de 23 de febrero de 1999 por la que se aprueba un repertorio de sustancias aromatizantes utilizadas en o sobre los productos alimenticios elaborado con arreglo al Reglamento (CE) nº 2232/96 del Parlamento Europeo y del Consejo. (1999/217/CE).

Decisión de la Comisión de 23 de enero de 2002 por la que se modifica la Decisión 1999/217/CE por lo que respecta al repertorio de sustancias aromatizantes utilizadas en o sobre los productos alimenticios [notificada con el número C (2002) 88], (2002/113/CE).

Decisión de la Comisión de 7 de abril de 2004 que modifica la Decisión 1999/217/CE en lo que se refiere al repertorio de sustancias aromatizantes [notificada con el número C (2004) 1273], (2004/357/CE).

Decisión de la Comisión de 18 de mayo de 2005 que modifica la Decisión 1999/217/CE por lo que se refiere al repertorio de sustancias aromatizantes utilizadas en o sobre los productos alimenticios [notificada con el número C (2005) 1437], (2005/389/CE).

Decisión de la Comisión de 27 de marzo de 2006 que modifica la Decisión 1999/217/CE por lo que se refiere al repertorio de sustancias aromatizantes utilizadas en o sobre los productos alimenticios [notificada con el número C (2006) 899], (2006/252/CE).

Decisión de la Comisión de 17 de junio de 2008 que modifica la Decisión 1999/217/CE por lo que se refiere al repertorio de sustancias aromatizantes utilizadas en o sobre los productos alimenticios [notificada con el número C (2008) 2336], (2008/478/CE).

Decisión de la Comisión de 26 de febrero de 2009 que modifica la Decisión 1999/217/CE por lo que se refiere al repertorio de sustancias aromatizantes utilizadas en o sobre los productos alimenticios [notificada con el número C (2009) 1222], (2009/163/CE).

- Degl'Innocenti, E., Pardossi, A., Tognoni, F. y Guidi, L.** (2007). Physiological basis of sensitivity to enzymatic browning in "lettuce", "escarole" and "rocket salad" when stored as fresh-cut products. *Food Chemistry*, 104, 209-215.
- Delaquis, P. J., Fukumoto, L. R., Toivonen, P. M. A. y Cliff, M. A.** (2004). Implications of wash water chlorination and temperature for the microbiological and sensory properties of fresh-cut iceberg lettuce. *Postharvest Biology and Technology*, 31 (1), 81-91.
- DeMan, J. M.** (1999). Additives and Contaminants. *Principles of Food Chemistry*, Third Edition. An Aspen Publication. Página 437.
- Dorantes-Álvarez, L. y Chiralt, A.** (2000). Color of minimally processed fruits and vegetables as affected by some chemical and biochemical changes. *Minimally Processed Fruits and Vegetables. Fundamental Aspects and Applications* (Alzamora, S. M.; Tapia, M. S. y López-Malo, A.). An Aspen Publication, Aspen Publisher, Inc., Gaithersburg, Maryland.
- Dorman, H. J. D. y Deans, S. G.** (2000) Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 308–316.
- Exama, A., Arul, J., Lencki, R. W., Lee, L. Z. y Toupin, C.** (1993). Suitability of plastic films for modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. *Journal of Food Science*, 58, 1365-1370.
- FAO.** (1981). Manual para el control de calidad de los alimentos. Análisis microbiológico. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma.
- FAOSTAT.** (2012). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Datos de la producción mundial de persimón y melón de 2010 [en línea]. Dirección URL: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx> [Consulta 23 de abril de 2012].
- FDA, U. S. Food and Drug Administration.** (2012). Everything added to Food in the United States (EAFUS) [en línea]. Dirección URL: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/fcnNavigation.cfm?rpt=eafusListing> [Consulta 23 de abril de 2012].

- Fisher, K. y Phillips, C. A.** (2006). The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* in vitro and in food systems. *Journal of Applied Microbiology*, 101 (6), 1232–1240.
- Fogliano, V., Verde, V., Randazzo, G. y Ritieni, A.** (1999). Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 47 (3), 1035-1040.
- Fonseca, S. C., Oliveira, F. A. R. y Brecht, J. K.** (2002a). Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. *Journal of Food Engineering* 52, 99–119.
- Fonseca, S. C., Oliveira, F. A. R., Frias, J. M., Brecht, J. K. y Chau, K. V.** (2002b). Modelling respiration rate of shredded Galega kale for development of modified atmosphere packaging. *Journal of Food Engineering* 54 (4), 299–307.
- Fruit logística.** (2008). Crecimiento imparable en IV Gama. *Revista Mercados* nº 2.
- Fruit logística.** (2011). La IV Gama afianza su crecimiento en volumen pero se ralentiza su cifra de negocio. *General de IV Gama. Análisis del sector. Revista Mercados* nº 5.
- Fruit logística.** (2012). Las ventas de fruta lista para consumir crecen considerablemente en 2011. IV y V Gama. *Revista Mercados* nº 6.
- Fujita, N., Tanaka, E. y Murata, M.** (2006). Cinnamaldehyde inhibits phenylalanine ammonia-lyase and enzymatic browning of cut lettuce. *Bioscience, biotechnology and biochemistry*, 70 (3), 672-676.
- García, J. M., Herrera, S. y Morilla, A.** (1996). Effects of postharvest dips in calcium chloride on strawberry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44 (1), 30–33.
- García, E., Salazar, D. M., Melgarejo, P. y Coret, A.** (2000). Determination of respiration index and of the modified atmosphere inside the packaging of minimally processed products. *Série A. Séminaires Méditerranéens*, 42, 247-251.
- Ghidelli, C., Sanchís, E., Rojas-Argudo, C., del Río, M. A., Pérez-Gago, M. B. y Mateos, M.** (2010). Effect of edible coating and modified atmosphere packaging on

enzymatic browning of fresh-cut persimmons "Rojo Brillante". *Acta Horticulturae* 876, 341-348.

Goñi, P., López, P., Sánchez, C., Gómez-Lus, R., Becerril R. y Nerín, C. (2009). Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils. *Food Chemistry*, 116, 982–989.

Gorinstein, S., Zachwieja, Z., Folta, M., Barton, H., Piotrowicz, J., Zemser, M., Weisz M., Trakhtenberg, S. y Martín-Belloso, O. (2001). Comparative contents of dietary fiber, total phenolics, and minerals in persimmon and apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49, 952-957.

Gorny, J. R., Hess-Pierce, B., Cifuentes, R. A. y Kader, A. A. (2002) Quality changes in fresh-cut pear slices as affected by controlled atmospheres and chemical preservatives. *Postharvest Biology and Technology*, 24, 271–278.

Gorny, J. R., Hess-Pierce, B. y Kader, A. A. (1998). Effects of fruit ripeness and storage temperature on deterioration rate of fresh-cut peach and nectarines slices. *HortScience*, 33 (1), 110-113.

Grant, G. T., Morris, E. R., Rees, D. A., Smith, P. J. C. y Thom, D. (1973). Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: the egg-box model. *Febs Letters*, 32, 195-198.

Guerrero-Beltrán, J. A., Swanson, B. G. y Barbosa-Cánovas, G. V. (2005). Inhibition of polyphenoloxidase in mago puree with 4-hexylresorcinol, cysteine and ascorbic acid. *LWT-Food Science and Technology*, 38 (6), 625-630.

Gutierrez, J., Barry-Ryan, C y Bourke, P. (2008). The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *International Journal of Food Microbiology*, 124, 91-97.

Gutierrez, J., Bourke P., Lonchamp, J. y Barry-Ryan, C. (2009) Impact of plant essential oils on microbiological, organoleptic and quality markers of minimally processed vegetables. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10, 195–202.

Güzel-Seydim, Z., Bever Jr., P. I. y Greene, A. K. (2004a). Efficacy of ozone to reduce bacterial populations in the presence of food components. *Short communication. Food Microbiology*, 21, 475–479.

- Guzel-Seydim, Z. B., Greene, A. K. y Seydim, A. C.** (2004b). Use of ozone in the food industry. *LWT-Food Science and Technology*. 37 (4), 453–460.
- Hagger, P. E., Lee, D. S. y Yam, K. L.** (1992). Application of an enzyme kinetic based respiration model to closed system experiments for fresh produce. *Journal of Food Process Engineering* 15, 143-157.
- Harker, F. R., Elgar, H. J., Watkins, C. B., Jackson, P. J. y Hallett, I. C.** (2000). Physical and mechanical changes in strawberry fruit after high carbon dioxide treatments. *Postharvest Biology and Technology* 19, 139–146.
- Hodges, D. M. y Toivonen, P. M. A.** (2008). Quality of fresh-cut fruits and vegetables as affected by exposure to abiotic stress. Review. *Postharvest Biology and Technology*, 48, 155–162.
- Holcroft, D. M. y Kader, A. A.** (1999). Controlled atmosphere-induced changes in pH and organic acid metabolism may affect color of stored strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 17, 19-32.
- Holley, R. A. y Patel, D.** (2005). Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoked antimicrobials. *Food Microbiology*, 22, 273-292.
- Igual, M., Castelló, M. L., Ortolá, M. D. y Andrés, A.** (2008). Influence of vacuum impregnation on respiration rate, mechanical and optical properties of cut persimmon. *Journal of Food Engineering*, 86 (3), 315–323.
- Izumi H. y Watada, A. E.** (1994). Calcium treatments affect storage quality of shredded carrots. *Journal of Food Science*, 59 (1), 106-109.
- Jacksens, L., Devlieghere, F. y Debevere, J.** (2004). Quality of equilibrium modified atmosphere packaged (EMAP) fresh-cut. *Production Practices and Quality Assessment of Food Crops*, 473-523. Editado por Ramdane Dris y S. Mohan Jain. Kluwer Academic Publisher.
- Jiménez, M., Escribano-Cebrián, J. y García-Carmona, F.** (1998). Oxidation of the flavonol fisetin by poliphenol oxidase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1425 (3), 534-542.

- Juven, B. J. y Pierson, M. D.** (1996). Antibacterial effects of hydrogen peroxide and methods for its detection and quantitation. *Journal Food Protection*, 59 (11), 1233-1241.
- Kader, A. A.** (1987). Respiration and gas exchange of vegetables. In J. Weichmann (Ed.). *Postharvest physiology of vegetables* (pp. 25–43). New York, USA: Marcel Dekker.
- Kader, A. A.** (2002). *Postharvest Biology and Technology: an overview*. Postharvest Technology of Horticultural Crops. University of California. Agriculture y Natural Resource. ANR Publications.
- Kader, A. A. y Ben-Yehoshua, S.** (2000). Effect of superatmospheric oxygen levels on postharvest physiology and quality of fresh fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 20 (1), 1-13.
- Kader A. A. y Salveit, M. E.** (2002). *Respiration and Gas Exchange. Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables. Second Edition, Revised and Expanded*. Editores/Autores, Bartz, J. A. y Brecht, J. K. CRC Press . New York, USA: Marcel Dekker.
- Kays, S.J.** (1991). *Metabolic Processes in harvested products respiration. Post Harvest Physiology of Perishable Plant Products*. Van Nostrand Reinhold Publication, NY.
- Khadre, M.A. y Yousef, A.E.** (2001). Sporicidal action of ozone and hydrogen peroxide: a comparative study. *International Journal of Food Microbiology* 71, 131–138.
- Koleva, I. I., van Beek, T. A., Linssen, J. P. H., de Groot, A. y Evstatieva, L. N.** (2002). Screening of plant extracts for antioxidant capacity: a comparative study on 3 testing methods . *Phytochemical Analysis*, 13 (1), 8-17.
- Krasaekoopt, W. y Bhandari, B.** (2011). *Fresh-Cut Vegetables. Handbook of Vegetables and Vegetable Processing*. Editado por Nirmal K. Sinha. Willey Backwell. Oxford, UK.
- Lanciotti, R., Gianotti, A., Patrignani, F., Belletti, N., Guerzoni, M. E. y Gardini, F.** (2004). Use of natural aroma compounds to improve shelf-life and safety of minimally processed fruits. *Trends in Food Science & Technology*, 15, 201-208.

- Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P. J y Nychas, G.-J. E.** (2001) A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, 91, 453-462.
- Lambrecht, H. S.** (1995). Sulfite substitutes for the prevention of enzymatic browning in foods. C.Y. Lee, J.R. Whitaker (Eds.), *Enzymatic browning and its prevention*, American Chemical Society, USA, pp. 313-323.
- Lamikanra, O. y Watson, M. A.** (2004). Effect of calcium treatment temperature on fresh-cut cantaloupe melon during storage. *Journal of Food Science* 69 (6), 468-472.
- Lee, D. S., Hagggar, P. E., Lee, J. y Yam, K. L.** (1991). Model for fresh produce respiration in modified atmospheres based on principles of enzyme kinetics. *Journal of Food Science*, 56 (6), 1580-1585.
- Lee, S.-J., Umano, K., Shibamoto, T. y Lee K.-G.** (2005). Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 91, 131–137.
- Li, C. y Kader, A. A.** (1989). Residual effects of controlled atmospheres on postharvest physiology and quality of strawberries. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 114 (4), 629-634.
- López-Gálvez, G., Salveit, M. y Cantwell, M.** (1996). Wound-induced phenylalanine ammonia lyase activity: factors affecting its induction and correlation with the quality of minimally processed lettuces. *Postharvest Biology and Technology*, 9, 223-233.
- López Vázquez, R.** (2010). Investigación y desarrollo en el sector de frutas y hortalizas (IV Gama). III Jornadas de innovación y tecnología alimentaria.
- Luna-Guzmán, I. y Barret, 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, 61-72.
- Luo, Y., Lu, S. Zhou, B. y Feng, H.** (2011). Dual effectiveness of sodium chlorite for enzymatic browning inhibition and microbial inactivation on fresh-cut apples. *LWT-Food Science and Technology*, 44 (7), 1621–1625.

- Mahajan, P. V. y Goswami, T. K.** (2001). PH—Postharvest Technology: Enzyme Kinetics Based Modelling of Respiration Rate for Apple. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 79 (4), 399-406.
- Marrero, A. y Kader, A. A.** (2006). Optimal temperature and modified atmosphere for keeping quality of fresh-cut pineapples. *Postharvest Biology and Technology*, 39, 163–168.
- Martín-Diana, A. B., Rico, D., Barry-Ryan, C., Frías, J. M., Henehan, G. T. M y Barat, J. M.** (2007). Efficacy of steamer jet-injection as alternative to chlorine in fresh-cut lettuce. *Postharvest Biology and Technology*, 45, 97-107.
- Martín-Diana, A. B., Rico, D., Frías, J., Henehan, G. T. M., Mulcahy, J., Barat, J. M. y Barry-Ryan, C.** (2006) Effect of calcium lactate and heat-shock on texture in fresh-cut lettuce during storage. *Journal of Food Engineering*, 77, 1069-1077.
- Mataix, J., García, L., Mañas, M., Martínez, E. y Llopís, J.** (2009). Tabla de composición de alimentos, 5ª edición. Editorial Universidad de Granada. Páginas 128 y 134.
- Mateos, M., Ke, D., Cantwell, M. y 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.
- Matsuo, T e Ito, S.** (1982). A model experiment for deastringency of persimmon fruit with high carbón dioxide: in vitro gelation of kaki-tanin by reacting with acetaldehyde. *Agric. Biol. Chem.*, 46, 483-489.
- McLaughlin, C. P. y O’Beirne, D.** (1999). Respiration rate of a dry coleslaw mix as affected by storage temperature and respiratory gas concentrations. *Journal of Food and Science*, 64 (1), 116-119.
- Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.** (2012). Encuesta sobre superficies y rendimientos de cultivo (ESYRCE) datos del 2011. [En línea]. Dirección URL: http://www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/boletinwebred_tcm7-203477.pdf [Consulta 30 de abril de 2012].
- Resultados sobre superficies en la Comunidad Valenciana del 2010. [En línea]. Dirección URL: http://www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/CVALENCIANA_tcm7-133151.pdf. [Consulta 30 de abril de 2012].

- Montero-Calderón, M., Rojas-Graü, M. A. y Martín-Belloso, O.** (2008) Effect of packaging conditions on quality and shelf-life of fresh-cut pineapple (*Ananas comosus*). *Postharvest Biology and Technology*, 50, 182–189.
- Montero-Prado, P., Rodríguez-Lafuente, Á. y Nerin, C.** (2011). Active label-based packaging to extend the shelf-life of “Calanda” peach fruit: Changes in fruit quality and enzymatic activity. *Postharvest Biology and Technology*, 60, 211–219.
- Moraga, M. J., Moraga, G., Fito, P. J. y Martínez-Navarrete, N.** (2009). Effect of vacuum impregnation with calcium lactate on the osmotic dehydration kinetics and quality of osmodehydrated grapefruit. *Journal of Food Engineering*, 90 (3), 372-379.
- Mousavizadeh, S. J. y Sedagathoor, S.** (2011). Peroxidase activity in response to applying natural antioxidant of essential oils in some leafy vegetables. *Australian Journal of Crop Science*, 5 (4), 494-499.
- Mousavizadeh, S. J., Sedagathoor, S. y Khorami, H.** (2011) Essential oils as reducing agents of cabbage peroxidase. *Scientia Horticulturae*, 128 (4), 388-392.
- Najafi, M. B. H. y Khodaparast, M. H. H.** (2009). Efficacy of ozone to reduce microbial populations in date fruits. *Food Control*, 20, 27-30.
- Nakamura, N., Rao, D. V. S., Shiina, T. y Nawa, Y.** (2004). Respiration properties of tree-ripe mango under CA condition. *Japan Agricultural Research Quarterly* 38 (4), 221–226.
- Namesny, A.** (2003). Variedades de melón de larga vida comercial. *Horticultura Internacional*, 46, 30-36.
- Neri, F., Mari, M. y Brigati, S.** (2006). Control of *Penicillium expansum* by plant volatile compounds. *Plant Pathology*, 55, 100–105.
- Oms-Oliu, G., Raybaudi-Massilia, R. M, Soliva-Fortuny, R. y Martín-Belloso, O.** (2008a). Effect of superatmospheric and low oxygen modified atmosphere on shelf-life extension of fresh-cut melon. *Food Control*, 19, 191-199.

- Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R. y Martín-Belloso, O.** (2008b). Using polysaccharide-based edible coatings to enhance quality and antioxidant properties of fresh-cut melon. *Food Science y Technology*, 41, 1862-1870.
- Parish, M. E., Beuchat, L. R., Suslow, T. V., Harris, L. J., Garrett, E. H., Farber J. N. y Busta F.F.** (2003) Methods to reduce/eliminate pathogens from fresh and fresh-cut produce. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2, 161-173.
- Parry, R. T.** (1993). Introduction. Página13. *Principles and Applications of MAP of Foods*. Editado por R. T. Parry. Blackie Academic & Professional. Chapman & Hall.
- Pascual, M.R. y Calderón, V.** (2000). *Microbiología alimentaria. Metodología analítica para alimentos y bebidas*. Cap. 30: Cereales (315-319).Cap. 34: Hortalizas y verduras (337-339). Cap. 35: Frutas y derivados (pp. 341-345). Edición Díaz de Santos.
- Pascual, A., Llorca, I. y Canut, A.** (2007). Use of ozone in food industries for reducing the environmental impact of cleaning and disinfection activities. Review. *Trends in Food Science & Technology* 18, 29-35.
- Peleg, M.** (1988). An empirical model for description of moisture sorption curves. *Journal of Food Science*, 53, 1216-1217.
- Pereyra, L., Roura S. I. y del Valle, C. E.** (2005) Phenylalanine ammonia lyase activity in minimally processed Romaine lettuce. *LWT-Food and Science Technology*, 38 (1), 67–72.
- Pérez-Gago, M. B, Del Río, M. A., Argudo, C. y Mateos, M.** (2009). Reducing enzymatic browning of fresh-cut persimmon cv. “Rojo Brillante” by antioxidant application. *Acta Horticulturae*, 833, 245-250.
- Piližota, V. y Šubarić, D.** (1998). Control of enzymatic browning of food. *Food Technol. Biotechnol.* 36 (3), 219–227.
- Ponce, A. G., del Valle C. E. y Roura S. I.** (2004). Natural essential oils as reducing agents of peroxidase activity in leafy vegetables *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 37, 199–204.

- Poovaiah, B. W.** (1986). Role of calcium in prolonging storage life of fruits and vegetables. *Food Technology*, 40, 86-89.
- Poubol, J. e Izumi, H.** (2005). Shelf life and microbial quality of fresh-cut mango cubes stored in high CO₂ atmospheres. *Journal of Food of Science*, 70 (1), 69-74.
- Puupponen-Pimiä, R., Hakkinen, S. T., Aarni, M., Suortti, T., Lampi, A.- M., Eurola, M., Piironen, V., Nuutila, A. M. y Oksman-Caldentey, K.- M.** (2003). Blanching and long-term freezing affect various bioactive compounds of vegetables in different ways. *Journal of Food and Agriculture*, 83 (14), 1389-1402.
- Quiles, A., Hernando, I., Pérez-Munuera, I., Llorca, E., Larrea, V. y Lluch, M. A.** (2004). The effect of calcium and cellular permeabilization on the structure of parenchyma of osmotic dehydrated “Granny Smith” apple. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 1765-1770.
- Ragaert, P., Devlieghere, F., y Debevere J.** (2007). Role of microbiological and physiological spoilage mechanisms during storage of minimally processed vegetables. Review. *Postharvest Biology and Technology*, 44 (3), 185–194.
- Ramos, M., Jiménez, A., Peltzer, M. y Garrigós, M. C.** (2012) Characterization and antimicrobial activity studies of polypropylene films with carvacrol and thymol for active packaging. *Journal of Food Engineering*, 109, 513–519.
- Rasooli, I., Rezaei, M. B. y Allameh, A.** (2006) .Ultrastructural studies on antimicrobial efficacy of thyme essential oils on *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Infectious Diseases*, 10, 236—241.
- Ravindra, M. R. y Goswami, T. K.** (2008). Modelling the respiration rate of green mature mango under aerobic conditions. *Biosystems Engineering*, 99, 239–248.
- Raybaudi-Massilia, R. M, Mosqueda-Melgar, J. y Martín-Belloso, O.** (2008). Edible alginate-based coating as carrier of antimicrobials to improve shelf-life and safety of fresh-cut melon. *International Journal of Food Microbiology* 121, 313-327.
- Real Decreto (RD) 3484/2000 de 29 de diciembre**, por el que se establecen las normas de higiene para la elaboración, distribución y comercio de comidas preparadas. Publicado en el BOE nº11, 12/01/2012.

- Reglamento (CE) nº 2073/2005 de la Comisión de 15 de noviembre de 2005** relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios.
- Reglamento (CE) nº 1441/2007 de la Comisión de 5 de diciembre de 2007** que modifica el Reglamento (CE) nº 2073/2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios.
- Rico, D., Martín-Diana, A. B., J. M., Barat, J. M. y Barry-Ryan, C.** (2007a). Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 18, 373-386.
- Rico, D., Martín-Diana, A. B., Frías, J. M., Barat, J. M. Henehan, G. T. M. y Barry-Ryan, C.** (2007b). Improvement in texture using calcium lactate and heat-shock treatments for stored ready-to-eat carrots. *Journal of Food Engineering*, 79, 1196–1206.
- Rico, D., Martín-Diana, A. B., Frías J. M., Henehan G. T. M. y Barry-Ryan, C.** (2007c). Effect of ozone and calcium lactate treatments on browning and texture properties of fresh-cut lettuce. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 2179-2188.
- Rodríguez, A., Batlle, R. y. Nerín, C.** (2007). The use of natural essential oils as antimicrobial solutions in paper packaging. Part II. *Progress in Organic Coatings*, 60, 33–38.
- Rojas-Graü, M. A., Raybaudi-Massilia, R. M., Soliva-Fortuny, R. C., Avena-Bustillos, R. J., McHugh, T. H. y Martín-Belloso, O.** (2007) Apple puree-alginate edible coating as carrier of antimicrobial agents to prolong shelf-life of fresh-cut apples. *Postharvest Biology and Technology*, 45, 254–264.
- Roller, S. y Seedhar, P.** (2002). Carvacrol and cinnamic acid inhibit microbial growth in fresh-cut melon and kiwifruit at 4º and 8º C. *Letters in Applied Microbiology*, 35, 390-394.
- Romojaro, F., Riquelme, F., Petrel, M. T., Martínez, G., Serrano, M., Martínez, C., Lozano, P., Segura, P., y Luna P. A.** (1996). Nuevas tecnologías en la conservación de frutas y hortalizas: atmósferas modificadas. Editores: Manuel Zapata y Pedro Segura. Ediciones Mundi-Prensa. Página 65-71.

- Roura, S.I., Pereyra, L. y del Valle, C.E.** (2008). Phenylalanine ammonia lyase activity in fresh cut lettuce subjected to the combined action of heat mild shocks and chemical additives. *LWT* 41, 919–924.
- Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S, Radice, M. y Bruni, R.** (2005). Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry*, 91, 621–632.
- Saftner, R. A, Bai, J. Abbott, J. A. y Lee, Y. S.** (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*, 29 (3), 257-269.
- Salvador, A., Arnal, L., Navarro, P. y Martínez-Jánega, J. M.** (2006). Estado actual en la conservación del caqui “Rojo Brillante”. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 7 (2):86-92.
- Salveit, M. E.** (2000). Wound induced changes in phenolic metabolism and tissue browning are altered by heat shock. *Postharvest Biology and Technology*, 21, 61–69.
- Sánchez Zafra, A. (2008).** Efectos de los trihalometanos sobre la salud. *Higiene y Sanidad Ambiental*, 8, 280-290.
- Sanchís, E., Mateos, M., Ghidelli, C., Rojas-Argudo, C. y Pérez-Gago, M. B.** (2011). Cambios en los compuestos bioactivos del caqui “Rojo Brillante” mínimamente procesado en función del estado de madurez y tipo de antioxidante aplicado. VI Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Valencia (8-10 de junio).
- Sanchos Almenar, V., Allaert Vandevenne, C., Viñas Almenar, I., Sala i Martí, N, y Torres i Grifo, M.** (1997). *Prácticas de Microbiología*. Ed. de la Universitat de Lleida.
- Sandhya** (2010). Modified atmosphere packaging of fresh produce: Current status and future needs. *Review. LWT - Food Science and Technology*, 43, 381–392.

- Sapers, G. M.** (2009). Disinfection of contaminate produce with conventional washing and sanitizing technology. *The Produce Contamination Problem: Causes and solutions*. Capítulo 16, 393-424. Editorial: Elsevier.
- Sapers G. M. y Miller R. L.** (1998). Browning inhibition in fresh-cut pears. *Journal of Food Science*, 63 (2), 342-346.
- Sapers, G. M. y Sites, J .E.** (2003). Efficacy of 1% hydrogen peroxide wash in decontaminating apples and cantaloupe melons. *Journal of Food Science*, 68 (5), 1793-1797.
- Serrano, M., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Guillén, F. y Valero, D.** (2005). The use of natural antifungal compounds improves the beneficial effect of MAP in sweet cherry storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6, 115–123.
- Serrano, M., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Valverde, J. M., Zapata, P. J., Castillo, S. y Valero, D.** (2008).The addition of essential oils to MAP as a tool to maintain the overall quality of fruits. *Trends in Food Science & Technology*, 19, 464-471.
- Shirk, O.** (2000). Las mediciones del ozono. Dräger Sicherheitstechnik GmbH. Dräger Hispania. *Mapfre Seguridad*, 77, 17-21.
- Silveira, A. C., Aguayo, E., Chisari, M. y Artés, F.** (2011). Calcium salts and heat treatment for quality retention of fresh-cut “Galia” melon. *Postharvest Biology and Technology* 62, 77-84.
- Singh, G., Maurya, S., deLampasona, M. P. y Catalan C. A. N.** (2007) A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. *Food and Chemical Toxicology*, 45, 1650–1661.
- Singh, N., Singh, R. K., Bhunia, A. K y Stroshine, R. L.** (2002). Efficacy of Chlorine Dioxide, Ozone, and Thyme Essential Oil or a Sequential Washing in Killing *Escherichia coli* O157:H7 on Lettuce and Baby Carrots. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 35, 720–729.
- Smith, R. C., Reeves, J. C., Dage, R. C. y Schnettler, R. A.** (1987). Antioxidant properties of 2-imidazolones and 2-imidazolthiones. *Biochemical Pharmacology*, 36 (9), 1457-1460.

- Soliva-Fortuny, R. C., Elez-Martínez, P. y Martín-Belloso, O.** (2004). Microbiological and biochemical stability of fresh-cut apples preserved by modified atmosphere packaging. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5, 215–224.
- Soliva-Fortuny, R. C. y Martín-Belloso, O.** (2003). New advances in extending the shelf-life of fresh-cut fruits: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 14, 341-353.
- Son, S. M., Moon, K. D y Lee, C. I.** (2001). Inhibitory effects of various antibrowning agents on apple slices. *Food Chemistry*, 73 (1), 23-30.
- Taira, S., Ono, M. y Matsumoto, N.** (1997). Reduction of persimmon astringency by complex formation between pectin and tannins. *Postharvest Biology and Technology* 12, 265–271.
- Taiz, L. y Zeiger, E.** (2006). *Fisiología Vegetal. Volumen I.* Editorial Universitat Jaume I. Páginas: 543-544.
- Tanaka, E., Okumura, S., Takamiya, R., Hosaka, H., Shimamura, Y. y Murata, M.** (2011). Cinnamaldehyde inhibits enzymatic browning of cut lettuce by repressing the induction of phenylalanine ammonia-lyase without promotion of microbial growth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59 (12), 6705-6709.
- Toivonen, P. M. A. y Brummell, D. A.** (2008). Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. Review. *Postharvest Biology and Technology*, 48, 1–14.
- Torres, J. D., Castelló, M. L., Escriche, I. y Chiralt, A.** (2008). Quality characteristics, respiration rates and microbial stability of osmotically treated Mango tissue (*Mangifera indica* L.) with or without calcium lactate. *Food Science and Technology International*, 14 (4), 355-365.
- Ukuku, D.O.** (2004). Effect of hydrogen peroxide treatment on microbial quality and appearance of whole and fresh-cut melons contaminated with *Salmonella* spp. *International Journal of Food Microbiology*, 95, 137– 146.
- Uyttendaele, M., Neyts, K., Vanderswalmen, H., Notebaert, E. y Debevere, J.** (2004). Control of *Aeromonas* on minimally processed vegetables by decontamination

with lactic acid, chlorinated water, or thyme essential oil solution. *International Journal of Food Microbiology*, 90, 263– 271.

Valero, D., Valverde J.M., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Castillo, S. y Serrano, M. (2006). The combination of modified atmosphere packaging with eugenol or thymol to maintain quality, safety and functional properties of table grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 41, 317–327.

Vázquez-Gutiérrez, J. L., Hernández Carrión, M., Quiles, A., Hernando, I. y Pérez-Munuera, I. (2011). Impact of high hydrostatic pressures on the structure, diffusion of soluble compounds and textural properties of persimmon “Rojo Brillante”. *Food Research International*, In Press, Corrected Proof, Available online 23 June 2011.

Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López J. y Pérez-Álvarez, J. (2008) Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. *Food Control*, 19, 1130–1138.

Vu, T. S., Smout, C., Sila, D. N., LyNguyen, B., Van Loey, A. M. L., y Hendrickx, M. E. G. (2004). Effect of preheating on thermal degradation kinetics of carrot texture. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 5 (1), 37-44.

Wang, R., Wang, R. y Yang, B. (2009). Extraction of essential oils from five cinnamon leaves and identification of their volatile compound compositions. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10, (289-292).

Watada, A. E., Ko, N. P. y Minott, D. A. (1996). Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. *Postharvest Biology and Technology*, 9, 115- 125.

Watada, A. E. y Qi, L. (1999). Quality of fresh-cut produce. *Postharvest Biology and Technology*, 15, 201–205.

Wright, K. P. y Kader, A. A. (1997a). Effect of slicing and controlled-atmosphere storage on the ascorbate content and quality of strawberries and persimmons. *Postharvest Biology and Technology*, 10, 39-48.

Wright, K. P. y Kader, A. A. (1997b). Effect of controlled-atmosphere storage on the quality and carotenoid content of sliced and persimmons and peaches. *Postharvest Biology and Technology*, 10, 89-97.