

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

INSTITUTO UNIVERSITARIO DE INGENIERÍA DE

ALIMENTOS PARA EL DESARROLLO



**EFFECTO DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN EN
LOS CAMBIOS FISICOQUÍMICOS Y FISIOLÓGICOS
DE FRUTAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS POR
DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA**

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

MARISA CASTELLÓ GÓMEZ

Dirigida por:

DRA. AMPARO CHIRALT BOIX

DR. PEDRO J. FITO SUÑER

VALENCIA, 2007



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

D^a AMPARO CHIRALT BOIX, CATEDRÁTICA Y **D. PEDRO JOSÉ FITO SUÑER**, PROFESOR TITULAR DE UNIVERSIDAD DEL DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA

CONSIDERAN: Que la memoria titulada **EFFECTO DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN EN LOS CAMBIOS FISICOQUÍMICOS Y FISIOLÓGICOS DE FRUTAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS POR DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA** que presenta **D^a MARISA CASTELLÓ GÓMEZ** para aspirar al grado de Doctora por 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, Noviembre de 2007

Fdo.: Amparo Chiralt Boix
Directora de tesis

Fdo.: Pedro José Fito Suñer
Director de tesis

*A mi familia, compañeros y amigos por
confiar en mí.*

*En especial, a Javi por estar
siempre a mi lado.*

AGRADECIMIENTOS

A lo largo de la realización de esta tesis doctoral se han ido cumpliendo la mayor parte de mis ilusiones a nivel personal y profesional. Esto no hubiera podido ser sin la ayuda desinteresada de personas que pertenecen a distintos ámbitos. Por ello, me gustaría que quedara constancia en estas líneas que ha sido una experiencia muy fructífera el poder aprender de todos ellos y agradecerles su ayuda.

A mis directores Amparo Chiralt y Pedro J. Fito que me han dado la oportunidad de introducirme en el mundo de la investigación y de la docencia, sin los que este proyecto jamás se hubiera realizado. Nunca dejaré de sorprenderme su capacidad de análisis y de síntesis, su nivel de conocimiento y su paciencia y entusiasmo.

Al Ministerio de Educación, Cultura y Deporte, por la concesión de la beca FPU y al proyecto "Optimización de las condiciones de operación de tratamientos osmóticos destinados al procesado mínimo de frutas (AGL. 2001-3025)" de la CYCIT por la financiación prestada.

A Fernanda Oliveira y a M^aJosé de Sousa del Process Engineering Department of University College of Cork, por el gran acogimiento en Irlanda y por la gran contribución a este trabajo.

A todos los compañeros del Departamento de Tecnología de Alimentos y del Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo de la UPV por su colaboración.

A mis "hijas" Verónica Esmatjes, Carolina García y especialmente a Marta, por todo el trabajo realizado, por su paciencia, por los buenos ratos compartidos y por todas sus aportaciones.

Me gustaría agradecer especialmente su apoyo, a mi compañera de despacho y amiga Cristina por hacer tan agradable la jornada laboral y por ser un ejemplo a seguir. Espero que nuestras vidas sigan teniendo tantos puntos en común.

A Lucía, Ana Heredia, Lorena, María, Creu, Laura Oliver y Eva García, por estar siempre dispuestas a ayudar y por los buenos momentos que hemos pasado juntas.

A Diego, German, Asela, M^aJosé Moraga y Carolina Contreras por su gran compañerismo y enseñarme tantas cosas.

A Dafna y Catarina por compartir conmigo sus conocimientos de cromatografía y su gran disposición a colaborar.

A Sneyder y José Barat por ser los promotores de mi interés por la investigación y por enseñarme las pautas de cómo trabajar en el laboratorio y en un grupo de trabajo de investigación.

A Loles, Ana Andrés, Isabel Escriche, Ana Albors, Pepe Tarrazó, Daniel, Marisa y Noelia por la ayuda desinteresada que me han prestado y por el ánimo que me han dado.

A Pedro Fito, por confiar en mí y brindarme la gran oportunidad de ver realizado el sueño de dedicarme a la docencia y a la investigación.

A Clara, Juan y Alberto por su valiosa contribución como técnicos de laboratorio en la realización de este trabajo.

A Sergio, Violeta, Sinéad, Sonjia, Julio, Helena, Greg, Nikos, Keara, Yan, Tariq, Amaya, Silvia, Carlos y Gema por su grata compañía, apoyo y su generosidad durante mi estancia en Irlanda.

A mis padres, Luisa y Mariano, debo agradecer el esfuerzo por permitirnos estudiar y tener un porvenir más prometedor que al que ellos han podido optar. Mis padres, junto con mi hermana y amiga, Montse, han vivido muy de cerca tanto los momentos buenos como los malos de este proceso.

A mis suegros, Fernando y María, y a mi cuñado Jose, por el gran interés mostrado y por estar siempre dispuestos a ayudar sin reparos.

A mis amigos: M^aCarmen, María, Arturo, Humberto, Ana Alba, Teresa, Alfonso por el ánimo que me han dado.

A mi marido Javi, por los ratos que he estado ausente aunque estuviera presente. Por darme la confianza que necesitaba cuando me venía abajo y por tener tanta paciencia escuchando mis preocupaciones. Pero, sobre todo gracias por hacerme la vida tan fácil, dándole esa chispa de humor y ser ese gran compañero y padre que jamás pensé que podría tener.

A mi pequeño Javier, por los ratitos que no he podido dedicarle. Muchas gracias por recibirme con esos cálidos abrazos y besos.

RESUMEN

Se ha analizado el efecto de los tratamientos osmóticos hasta distintos niveles, con y sin aplicación de pulso de vacío (50 mbar durante 5 minutos) y la influencia del lactato cálcico en la disolución osmótica, así como el efecto de la temperatura y el tiempo de almacenamiento en diferentes propiedades relacionadas con la estabilidad y la calidad de fresa y manzana. Para ello, en primer lugar se ha caracterizado la cinética de deshidratación en mitades de fresa y en rodajas de manzana, para establecer los tiempos de tratamiento requeridos. Posteriormente se ha evaluado el efecto de los tratamientos sobre las propiedades mecánicas y la tasa respiratoria de las frutas. Por otra parte, en la fresa se ha analizado la influencia de los tratamientos en las propiedades ópticas y en la producción de etanol y acetaldehído. En la manzana se ha estudiado también el efecto de la modificación de la atmósfera del espacio de cabeza en su respiración y el efecto de los tratamientos en la evolución de la carga microbiana.

Los tratamientos osmóticos implican cambios en la pauta respiratoria del tejido de las frutas, dependiendo de las condiciones de operación. Los tratamientos con pulso de vacío provocan mayor restricción al transporte de oxígeno dando lugar a mayores valores del coeficiente respiratorio y a una mayor potenciación de rutas anaerobias. Como consecuencia, se desarrollan volátiles indeseables como se ve en fresa. El calcio disminuye la respiración de fresa con menor influencia en la manzana. Desde este punto de vista, se recomiendan tratamientos osmóticos cortos y a presión atmosférica.

Los tratamientos osmóticos provocan cambios en las propiedades mecánicas de fresa y manzana, tanto más cuanto mayor es el nivel de deshidratación. La aplicación de pulso de vacío potencia la caída de la firmeza por efecto del tratamiento pero mejora su estabilidad en el almacenamiento. La aplicación de un pulso de vacío supone oscurecimiento y pérdida de pureza del color de la fresa, pero sin cambios de tono. Los cambios estructurales (pérdida

de porosidad) son los responsables de los cambios de color debidos al tratamiento y al almacenamiento. Los tratamientos osmóticos mejoran la estabilidad microbiológica de manzana, especialmente cuando se aplica un pulso de vacío, sin detectarse efecto del calcio.

RESUM

S'ha analitzat l'efecte dels tractaments osmòtics fins a diferents nivells, amb i sense aplicació de pols de buit (50 mbar durant 5 minuts) i la influència del lactat càlcic en la dissolució osmòtica, així com l'efecte de la temperatura i el temps d'emmagatzemament en diferents propietats relacionades amb l'estabilitat i la qualitat de maduixa i poma. Per a això, en primer lloc s'ha caracteritzat la cinètica de deshidratació en mitats de maduixa i en rodanxes de poma, per a establir els temps de tractament requerits. Posteriorment s'ha avaluat l'efecte dels tractaments sobre les propietats mecàniques i la taxa respiratòria de les fruites. D'altra banda, en la maduixa s'ha analitzat la influència dels tractaments en les propietats òptiques i en la producció d'etanol i acetaldehid. En la poma s'ha estudiat també l'efecte de la modificació de l'atmosfera de l'espai de cap en la seua respiració i l'efecte dels tractaments en l'evolució de la càrrega microbiana.

Els tractaments osmòtics impliquen canvis en la pauta respiratòria del teixit de les fruites, depenent de les condicions d'operació. Els tractaments amb pols de buit provoquen major restricció al transport d'oxigen donant lloc a majors valors del coeficient respiratori i a una major potenciació de rutes anaeròbies. Com a conseqüència, es desenrotllen volàtils indesitjables com es veu en maduixa. El calci disminueix la respiració de maduixa amb menor influència en la poma. Des d'aquest punt de vista, es recomanen tractaments osmòtics curts i a pressió atmosfèrica.

Els tractaments osmòtics provoquen canvis en les propietats mecàniques de maduixa i poma, tant més quant major és el nivell de deshidratació. L'aplicació de pols de buit potencia la caiguda de la fermesa per efecte del tractament però millora la seua estabilitat en l'emmagatzemament. L'aplicació d'un pols de buit suposa enfosquiment i pèrdua de puresa del color de la maduixa, però sense canvis de to. Els canvis estructurals (pèrdua de porositat) són els responsables dels canvis de color deguts al tractament i a l'emmagatzemament. Els

tractaments osmòtics milloren l'estabilitat microbiològica de poma, especialment quan s'aplica un pols de buit, sense detectar-se efecte del calci.

ABSTRACT

The effect of the osmotic treatments until different levels, with and without application of vacuum pulse (50 mbar during 5 minutes) and the influence of the calcium lactate in the osmotic solution, along with the effect of temperature and the storage time, have been analyzed in different properties related with the stability and the quality of strawberry and apple. First of all, dehydration kinetics has been characterized in halves of strawberry and in apple slices to establish the required treatment time. After that, the effect of treatments on the mechanical and respiration rate of fruits have been evaluated. In strawberry the influence of treatments on the optical properties and ethanol and acetaldehyde production have been analyzed. In apple, the effect of modified atmosphere in the headspace on the respiration rate has been studied and also the effect of treatments in the microbiological stability.

Osmotic treatments imply changes in the respiration rate of the tissue, depending on process conditions. Pulsed vacuum treatments involve greater restrictions to oxygen transport, thus leading to higher values of the respiration quotient, and favouring anaerobic routes. As a consequence, undesirable volatiles are developed as it is observed in strawberry. From this point of view, the most recommendable osmotic treatments are short times of process, at atmospheric pressure.

Osmotic treatments induce changes in mechanical properties of apple and strawberry; the greater the dehydration level, the more intense the changes. Vacuum pulse implies a reduction in fruit firmness, but contributes to their preservation during storage. Vacuum pulse supposes a darkening and chrome loss in strawberry, but without hue changes. Structural changes are the responsible of colour changes due to treatment and storage. Osmotic treatments improve the microbiological stability of apple, especially when vacuum pulse is applied, without effect of calcium.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| JUSTIFICACIÓN E INTERÉS DEL ESTUDIO | 1 |
| I. INTRODUCCIÓN | 5 |
| 1. LA FRESA Y LA MANZANA. ASPECTOS GENERALES DE COMPOSICIÓN Y PROPIEDADES. | 7 |
| 1.1. La fresa | 7 |
| 1.1.1. Descripción botánica, química y estructural | 7 |
| 1.1.2. Producción mundial de fresa | 10 |
| 1.2. La manzana | 12 |
| 1.2.1. Descripción química y estructural de la manzana | 12 |
| 1.2.2. Origen, producción e importancia de la manzana | 13 |
| 1.3. Tendencias en el consumo de estas frutas | 16 |
| 2. RESPIRACIÓN DE FRUTAS Y VEGETALES | 18 |
| 2.1. Fisiología de la respiración | 18 |
| 2.1.1. Clasificación de las frutas según su fisiología: climatéricas y no climatéricas | 23 |
| 2.2. Influencia de la composición de la atmósfera en la respiración | 26 |
| 2.3. Efecto de la temperatura en la respiración | 30 |
| 2.4. Métodos de cuantificación de la tasa respiratoria | 32 |
| 2.5. Efecto del procesado en la respiración de frutas y vegetales | 43 |
| 2.5.1. Refrigeración. Daños por frío | 43 |
| 2.5.2. Pelado-cortado | 45 |
| 2.5.3. Tratamientos con aditivos | 46 |
| 2.5.3.a. Antipardeantes | 46 |
| 2.5.3.b. Inhibidores y potenciadores del etileno | 48 |
| 2.5.3.c. Adición de calcio | 49 |
| 2.5.4. Deshidratación | 54 |
| 2.5.5. Recubrimientos | 56 |
| 2.5.6. Irradiación | 58 |
| 3. DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA E IMPREGNACIÓN A VACÍO COMO ALTERNATIVA PARA LA OBTENCIÓN DE FRUTAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS | 59 |
| II. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO | 65 |
| 1. OBJETIVOS | 67 |
| 1.1. Objetivo general | 67 |
| 1.2. Objetivos específicos | 67 |
| 2. PLAN DE TRABAJO | 68 |

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| III. ESTUDIOS EN FRESA | 73 |
| 1. INTRODUCCIÓN | 75 |
| 2. MATERIALES Y MÉTODOS | 77 |
| 2.1. Materias primas | 77 |
| 2.1.1. Fresa | 77 |
| 2.1.2. Disoluciones osmóticas | 77 |
| 2.2. Tratamientos | 78 |
| 2.2.1. Tratamientos de impregnación isotónica | 78 |
| 2.2.2. Tratamientos osmóticos | 78 |
| 2.2.2.a. Estudio cinético | 79 |
| 2.2.2.b. Preparación de muestras deshidratadas | 79 |
| 2.3. Almacenamiento | 80 |
| 2.4. Análisis composicional | 80 |
| 2.4.1. Humedad | 80 |
| 2.4.2. Sólidos solubles | 80 |
| 2.4.3. Actividad de agua | 81 |
| 2.4.4. Contenido en cationes (Na ⁺ , K ⁺ , Ca ²⁺ , Mg ²⁺) | 81 |
| 2.5. Determinación de la densidad | 82 |
| 2.6. Determinación de la tasa respiratoria | 83 |
| 2.7. Análisis de volátiles (etanol y acetaldehído) | 84 |
| 2.8. Determinación de las propiedades mecánicas | 84 |
| 2.9. Determinación de las propiedades ópticas | 85 |
| 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 86 |
| 3.1. Estudio cinético de la deshidratación osmótica. Efecto de la impregnación a vacío y el calcio. | 86 |
| 3.1.1. Cambios de composición de la fase líquida | 87 |
| 3.1.2. Ganancia de solutos y pérdida de agua | 91 |
| 3.2. Efectos fisiológicos de los tratamientos de impregnación a vacío y deshidratación osmótica en fresa. Influencia del calcio | 97 |
| 3.2.1. Efecto de la impregnación a vacío con disoluciones isotónicas en función de la temperatura de almacenamiento | 97 |
| 3.2.2. Efecto de los tratamientos osmóticos con y sin calcio | 102 |
| 3.2.2.a. Variaciones de masa, tasa respiratoria y producción de acetaldehído y etanol en los tratamientos sin calcio | 103 |
| 3.2.2.b. Efecto de los tratamientos osmóticos con calcio sobre las variaciones de masa y la tasa respiratoria | 112 |
| 3.2.3. Evolución durante el almacenamiento | 121 |

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 3.2.3.a. Cambios en la tasa respiratoria | 121 |
| 3.2.3.b. Cambios en la variación de masa | 125 |
| 3.2.3.c. Cambios en las propiedades mecánicas | 129 |
| 3.2.3.d. Cambios de color | 136 |
| IV. ESTUDIOS EN MANZANA | 151 |
| 1. INTRODUCCIÓN | 153 |
| 2. MATERIALES Y MÉTODOS | 155 |
| 2.1. Materias primas | 155 |
| 2.1.1. Manzana | 155 |
| 2.1.2. Disoluciones osmóticas | 155 |
| 2.2. Tratamientos | 156 |
| 2.2.1. Tratamientos de impregnación isotónica | 156 |
| 2.2.2. Tratamientos osmóticos | 156 |
| 2.2.2.a. Estudio cinético | 156 |
| 2.2.2.b. Preparación de muestras deshidratadas | 157 |
| 2.3. Almacenamiento | 157 |
| 2.4. Análisis composicional y fisicoquímico | 157 |
| 2.5. Determinación de la tasa respiratoria | 157 |
| 2.6. Envasado en atmósfera modificada | 157 |
| 2.7. Determinación de las propiedades mecánicas | 159 |
| 2.8. Análisis microbiológico | 159 |
| 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 160 |
| 3.1. Estudio cinético de la deshidratación osmótica. Efecto de la impregnación a vacío | 160 |
| 3.2. Efectos fisiológicos de los tratamientos de impregnación a vacío y deshidratación osmótica en manzana. Influencia del calcio | 167 |
| 3.2.1. Influencia de la temperatura en la tasa respiratoria de rodajas de manzana fresca y deshidratada osmóticamente | 167 |
| 3.2.2. Efecto de distintas concentraciones de gases en la respiración de rodajas de manzana frescas y deshidratadas | 173 |
| 3.2.3. Efecto de los tratamientos osmóticos con y sin calcio y del almacenamiento en los cambios fisiológicos y texturales de manzana | 177 |
| 3.2.3.a. Cambios composicionales y de masa debidos a los tratamientos | 177 |
| 3.2.3.b. Cambios composicionales y de masa debidos al almacenamiento | 183 |
| 3.2.3.c. Cambios en la tasa respiratoria | 189 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 3.2.3.d. Cambios en las propiedades mecánicas | 197 |
| 3.3. Estudio de la vida útil de las muestras de manzana osmodeshidratadas con y sin calcio | 203 |
| V. CONCLUSIONES | 207 |
| VI. BIBLIOGRAFÍA | 215 |

ÍNDICE DE TABLAS

I. INTRODUCCIÓN

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabla I.1. Contenido energético y composicional en 100 gramos de fresa (adaptada de Lobo & González, 2003; Folquer, 1986; Alcentral, 2006) | 9 |
| Tabla I.2. Composición química y nutritiva en 100 gramos de manzana (adaptada de Lobo & González, 2003; Infoagro, 2005; Ansorena, 2003) | 13 |
| Tabla I.3. Recomendaciones de atmósfera controlada y modificada (CA y MA) para una selección de frutas cortadas (Gorny, 2001). | 28 |
| Tabla I.4. Detalles metodológicos utilizados por varios autores para la determinación de la tasa respiratoria de distintos productos hortofrutícolas sometidos a distintos tratamientos. | 35 |

III. ESTUDIOS EN FRESA

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabla III.1.- Características físico-químicas y respuesta a la impregnación isotónica a vacío de las fresas frescas. | 86 |
| Tabla III.2. Valores de los coeficientes de difusión efectiva en la fase líquida de la fresa sometida a los distintos tratamientos. | 89 |
| Tabla III.3. Tiempos de proceso en función de las concentraciones alcanzadas en la fruta, del tipo de tratamiento y de la adición o no de lactato cálcico (1% p/p) en la disolución osmótica. | 91 |
| Tabla III.4. Parámetros cinéticos para la pérdida de agua y ganancia de solutos y para la pérdida de peso. | 94 |
| Tabla III.5. Tasas de respiración respecto al O ₂ y CO ₂ y cociente respiratorio para fresas enteras, cortadas e impregnadas a vacío. | 99 |
| Tabla III.6. Parámetros del Modelo de Gompertz modificado para mitades de fresa impregnadas y no impregnadas. | 101 |
| Tabla III.7. Tiempo de tratamiento, densidad de las muestras, contenido en | 105 |

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| humedad (x_w), sólidos solubles (x_s), y variación de masa total (ΔM), de agua (ΔM_w) y de solutos (ΔM_s), referidas a la masa inicial, debidas al tratamiento. | |
| Tabla III.8. Fracciones másicas de agua (x_w) y solutos (x_s) de las fresas frescas y tratadas y variaciones de masa total (ΔM), de agua (ΔM_w) y solutos (ΔM_s) ocurridas durante los tratamientos, referidas a la masa inicial de la muestra. | 113 |
| Tabla III.9. Contenido de cationes (Ca^{+2} , Na^+ , Mg^{+2} y K^+) de fresas frescas y tratadas referidos a 100 gramos de fresa tratada. | 115 |
| Tabla III.10. Contenido de cationes (Ca^{+2} , Na^+ , Mg^{+2} y K^+) de fresas frescas y tratadas referidos a 100 gramos de fresa fresca | 115 |
| Tabla III.11. Tasas respiratoria de fresa fresca e impregnada isotómicamente con y sin 1% de calcio a 10 °C | 118 |
| Tabla III.12. Coordenadas de color de las muestras frescas y tratadas al inicio del almacenamiento | 136 |
| Tabla III.13. Cambios de color de la fresa impregnada isotómicamente (IV), deshidratadas a presión atmosférica (DO), o aplicando un pulso de vacío al inicio del proceso (DOPV), respecto a la fresa fresca, al inicio del almacenamiento. | 142 |

IV. ESTUDIOS EN MANZANA

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabla IV.1. Características físico-químicas de rodajas de manzana frescas y respuesta a la impregnación isotónica | 160 |
| Tabla IV.2. Coeficientes de difusividad efectiva y parámetros cinéticos para la variación de masa total (k^0 , k), masa de agua (k_w^0 , k_w) y masa de sólidos solubles (k_s^0 , k_s) según los tratamientos de deshidratación osmótica a presión atmosférica (DO) y con aplicación de un pulso de vacío (DOPV). | 164 |
| Tabla IV.3. Tiempos de proceso en función de las concentraciones. | 164 |
| Tabla IV.4. Humedad, sólidos solubles y actividad del agua de las rodajas frescas y deshidratadas, así como variaciones de masa total, de agua y de solutos obtenidas en el tratamiento osmótico. | 167 |
| Tabla IV.5. Parámetros del modelo individual de Arrhenius ajustado a los valores de TR en muestras control y deshidratadas. | 172 |
| Tabla IV.6. Parámetros del modelo global para la predicción de la tasa respiratoria en muestras control y deshidratadas. | 172 |
| Tabla IV.7. Tiempo de tratamiento, densidad de las muestras y cambios composicionales de las muestras: fracción másica de agua (x_w) y fracción másica de sólidos solubles (x_s), variación de masa total (ΔM), de agua (ΔM_w) y | 179 |

de solutos (ΔM_s), referidas a la masa inicial, debidas al tratamiento.

Tabla IV.8. Contenido en humedad (x_w), sólidos solubles (x_s), así como variación de masa total (ΔM), de agua (ΔM_w) y de solutos (ΔM_s), referidas a la masa inicial de la muestra fresca, debida al almacenamiento (6 días) de las muestras frescas y procesadas.

184

ÍNDICE DE FIGURAS

I. INTRODUCCIÓN

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura I.1. Producción mundial (a) y de Europa (b) de fresa del año 2004 (Adaptada de los datos de FAOSTAT, 2005). | 10 |
| Figura I.2. Producción mundial (a) y de Europa (b) de manzana del año 2004 (Adaptada de los datos de FAOSTAT, FAO, 2005). | 15 |
| Figura I.3. Esquema de la respiración aerobia (Jimeno <i>et al.</i> , 1997) | 19 |
| Figura I.4. Variación de la intensidad respiratoria de un fruto climatérico y de un fruto no climatérico durante el crecimiento, maduración y la senescencia. m: mínimo climatérico; M, máximo climatérico (Côme & Corbineau, 2002b). | 25 |
| Figura I.5. Concentración de cationes calcio a nivel celular en célula parenquimática de manzana (Val <i>et al.</i> , 1999). | 50 |
| Figura I.6. Región de homogalacturonano formando puentes de calcio (Azcón-Bieto & Talón, 2000). | 50 |
| Figura I.7. Tráfico de Ca^{2+} en una célula vegetal. 1) H^+ - ATPasa que "energetiza" el plasmalema e impone un gradiente de potencial electroquímico para H^+ y un potencial de membrana (E_m) negativo en el citoplasma con respecto al exterior. 2) Ca^{2+} - ATPasa del plasmalema. 3) y 4) Distintos tipos de canales de Ca^{2+} . 5) H^+ - ATPasa de la vacuola. 6) Antiporte Ca^{2+} - H^+ del tonoplasto. 7) y 8) Canales de Ca^{2+} del tonoplasto; el signo + y el $InsP_3$ significan que los canales se activan por voltaje y por inositol 1-4-5 trifosfato. 9) Canal de Ca^{2+} en el cloroplasto. 10) Ca^{2+} - ATPasa del retículo endoplasmático (Azcón-Bieto & Talón, 2000). | 52 |

II. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

| | |
|-------------------------------------------------|----|
| Figura II.1. Esquema del plan de trabajo | 71 |
|-------------------------------------------------|----|

| III. ESTUDIOS EN FRESA | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura III.1. Representación de 1-Y frente a la raíz cuadrada del tiempo | 89 |
| Figura III.2. Balances de materia del estudio cinético de fresa | 92 |
| Figura III.3. Pérdidas de peso y de agua y ganancia de solutos de fresas cortadas deshidratadas a presión atmosférica o con aplicación de un pulso de vacío y con y sin adición de calcio en la disolución osmótica, en función de la raíz cuadrada del tiempo. | 93 |
| Figura III.4. Relación entre la ganancia de sólidos solubles y la pérdida de agua en fresas cortadas y deshidratadas a presión atmosférica o con aplicación de un pulso de vacío en función del tiempo de proceso. Tratamientos sin calcio (a) y con calcio (b). | 95 |
| Figura III.5. Evolución de la actividad de agua (a_w) en función de tiempo (a) y relación entre la actividad de agua y el nivel de concentración de la fase líquida (z_s) (b), según el tratamiento osmótico aplicado. | 97 |
| Figura III.6. Cambios de concentración en el espacio de cabeza de O_2 y CO_2 con fresa entera, cortada e impregnada a vacío con disolución isotónica. | 98 |
| Figura III.7. Tasas de respiración respecto al CO_2 y al O_2 de las muestras cortadas con y sin impregnación a vacío en función de la temperatura. | 99 |
| Figura III.8. Cociente respiratorio (CR) de fresa cortada con y sin impregnación a vacío. | 102 |
| Figura III.9. Perfiles de los sólidos solubles en fresas deshidratadas con y sin pulso de vacío y evolución de la actividad de agua. | 106 |
| Figura III.10. a) Tasa respiratoria (TR) y b) cociente respiratorio (CR) de mitades de fresa según el tratamiento y el nivel de sólidos solubles alcanzado. | |
| Figura III.11. Diferencias entre la tasa respiratoria evaluada a través del consumo de O_2 y la generación de CO_2 . | 107 |
| Figura III.12. Tasas respiratorias (TR) y cociente respiratorio (CR) obtenidos en muestras deshidratadas cuando están equilibradas con las disoluciones osmóticas de 15 y 20 °Brix o inmersas durante el mismo tiempo en disolución isotónica. | 109 |
| Figura III.13. Niveles de etanol y acetaldehído obtenidos en el espacio de cabeza de muestras deshidratadas. | 110 |
| Figura III.14. Cromatograma de iones obtenido para fresas deshidratadas osmóticamente hasta 20 °Brix con aplicación de un pulso de vacío sin calcio. | 112 |
| Figura III.15. Variaciones de masa de los cationes estudiados (Ca^{+2} , Na^+ , Mg^{+2} y K^+) en función del tratamiento osmótico aplicado. Barras grises: tratamientos sin calcio. Barras blancas: tratamientos con calcio. | 116 |

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura III.16. Tasas respiratorias (TR) y cocientes respiratorios (CR) a 10°C de fresas cortadas (control) y fresas deshidratadas a presión atmosférica (DO) y aplicando un pulso de vacío inicial (DOPV) y con y sin adición de calcio en la disolución. Las barras indican los intervalos LSD (95%). | 120 |
| Figura III.17. Cambios de concentración en el espacio de cabeza de O ₂ y CO ₂ con fresa fresca y deshidratadas osmóticamente a presión atmosférica y con un pulso de vacío a distintos tiempos de almacenamiento. | 121 |
| Figura III.18. Tasa respiratoria en términos de O ₂ consumido y CO ₂ producido y cociente respiratorio (CR) a lo largo del almacenamiento (6 días a 10 °C): A) Fresas impregnadas isotónicamente con y sin calcio, B) Muestras osmodeshidratadas a presión atmosférica hasta 15 y 20 °Brix con y sin 1% de lactato cálcico en la disolución y C) Muestras osmodeshidratadas aplicando un pulso de vacío hasta 15 y 20 °Brix con y sin 1% de lactato cálcico en la disolución. Las muestras frescas cortadas se representan en todos los casos como referencia. | 122 |
| Figura III.19. Pérdida de masa asociada a la pérdida de fase líquida durante los seis días de almacenamiento en las fresas frescas y tratadas, referida a la masa inicial e incluyendo las variaciones de masa debidas al tratamiento osmótico (día 0). | 126 |
| Figura III.20. Pérdida de líquido durante los seis días de almacenamiento en las fresas frescas y tratadas, referida a la masa inicial según la ecuación III.22. | 127 |
| Figura III.21. Curva de punción de una fresa fresca, en la que se representa fuerza (F) frente a la deformación relativa (ϵ). | 129 |
| Figura III.22. Curvas de punción en fresas frescas, impregnadas isotónicamente y deshidratadas hasta 15 y 20 °Brix al inicio y al final del almacenamiento. | 131 |
| Figura III.23. Parámetros mecánicos (con intervalos LSD al 95%) al inicio y al final del almacenamiento, en fresas frescas, impregnadas isotónicamente (IV), deshidratadas osmóticamente a presión atmosférica (DO), deshidratadas osmóticamente aplicando un pulso de vacío (DOPV); con y sin calcio. Barras blancas: tiempo 0. Barras grises: tiempo 6 días de almacenamiento | 132 |
| Figura III.24. Cociente $F_{m\acute{a}x}/\epsilon_{m\acute{a}x}$ (con intervalos LSD al 95%) de las muestras control y tratadas al inicio y fin del almacenamiento. Barras blancas: tiempo 0. Barras grises 6 días de almacenamiento. | 133 |
| Figura III.25. Planos cromáticos a*L* de las fresas frescas y tratadas en la cara externa. | 138 |
| Figura III.26. Planos cromáticos a*L* de las fresas frescas y tratadas en la | 138 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| cara interna. | |
| Figura III.27. Planos cromáticos a*b* de las fresas frescas y tratadas en la cara externa. | 139 |
| Figura III.28. Planos cromáticos a*b* de las fresas frescas y tratadas en la cara interna. | 139 |
| Figura III.29. Espectros de reflexión representativos de las muestras frescas y tratadas al inicio del almacenamiento en la cara externa. | 141 |
| Figura III.30. Espectros de reflexión representativos de las muestras frescas y tratadas al inicio del almacenamiento en la cara interna. | 141 |
| Figura III.31. Diferencias de color global (ΔE) provocadas por los diferentes tratamientos. | 143 |
| Figura III.32. Evolución de las coordenadas L* a* y b* en la cara externa de fresas frescas y tratadas durante el almacenamiento. | 144 |
| Figura III.33. Evolución de las coordenadas C* h* y de las diferencias de color (ΔE) respecto a las muestras frescas al inicio del almacenamiento de la cara externa de fresas frescas y tratadas durante el almacenamiento. | 145 |
| Figura III.34. Evolución de las coordenadas L* a* y b* en la cara interna de fresas frescas y tratadas durante el almacenamiento. | 146 |
| Figura III.35. Evolución de las coordenadas C* h* y de las diferencias de color (ΔE) respecto a las muestras frescas al inicio del almacenamiento de la cara interna de fresas frescas y tratadas durante el almacenamiento. | 147 |

IV. ESTUDIOS EN MANZANA

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura IV.1. Montaje utilizado para la modificación de la atmósfera de las cámaras destinadas a la medida de la tasa respiratoria. | 158 |
| Figura IV.2. Representación de 1-Y (a), de la ganancia de sólidos (b), de la pérdida de agua (c) y de la pérdida de masa total (d) en función de la raíz cuadrada del tiempo para los tratamientos osmóticos a presión atmosférica (DO) y aplicando un pulso de vacío (DOPV). | 163 |
| Figura IV.3. Evolución de la actividad de agua (a_w) en función de tiempo (a) y relación entre la actividad de agua y el nivel de concentración de la fase líquida (z_s) (b) según el tratamiento osmótico aplicado. | 165 |
| Figura IV.4. Relación entre la ganancia de sólidos solubles y la pérdida de agua en rodajas de manzana cortadas deshidratadas a presión atmosférica o con aplicación de un pulso de vacío en función del tiempo de proceso. | 166 |
| Figura IV.5.- Variación del %O ₂ y del %CO ₂ en el espacio de cabeza con rodajas de manzanas frescas a 0, 12 y 20°C y deshidratadas a 12 y 20 °C en el | 168 |

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| periodo de TR constante. Las líneas muestran los valores obtenidos de la concentración de cada gas con el modelo ajustado (ec. IV.10 y IV. 11). | |
| Figura IV.6. Valores experimentales y predichos por los modelos de las tasas respiratorias de rodajas de manzana frescas y deshidratadas, en $\text{mLO}_2\text{kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ (a) y $\text{mLCO}_2\text{kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ (b), respectivamente, en función de la temperatura. | 171 |
| Figura IV.7.- Porcentaje de reducción de la tasa respiratoria de rodajas de manzana debido a la deshidratación osmótica hasta 20 °Brix, en función de la temperatura tanto en términos de O_2 como de CO_2 . | 171 |
| Figura IV.8. Valores experimentales y predichos por los modelos matemáticos de los cocientes respiratorios de rodajas de manzana frescas y deshidratadas, en función de la temperatura. | 173 |
| Figura IV.9. TR de rodajas de manzana deshidratadas osmóticamente y frescas en función de la concentración de la atmósfera y la temperatura (20 y 4 °C). | 174 |
| Figura IV.10. CR de rodajas de manzana frescas y deshidratadas en función de la atmósfera del espacio de cabeza y la temperatura (4 y 20 °C). | 175 |
| Figura IV.11. Contenido en cationes (Ca^{2+} , Na^+ , Mg^{2+} y K^+) de las manzanas frescas y tratadas (mg catión/100 g manzana tratada) en función de la concentración de lactato cálcico de la disolución osmótica. | 180 |
| Figura IV.12. Porcentaje de la cantidad diaria recomendada (CDR) cubierto por la ingesta 100 g de rodajas de manzana fresca (control) o tratadas. | 181 |
| Figura IV.13. Contenido en cationes (Ca^{2+} , Na^+ , Mg^{2+} y K^+) de muestras frescas y tratadas (mg catión/100 gramos de muestra fresca) en función de la concentración de lactato cálcico de la disolución osmótica. | 181 |
| Figura IV.14. Variaciones de masa de los cationes estudiados (Ca^{+2} , Na^+ , Mg^{+2} y K^+) según la concentración de lactato cálcico (L.C.) de la disolución y el tratamiento osmótico aplicado. | 183 |
| Figura IV.15. Pérdidas de peso (o de fase líquida) debidas al tratamiento y al almacenamiento durante seis días para las muestras tratadas con diferente nivel de lactato cálcico (rojo: sin L.C.; verde: 1% de L.C.; azul: 2% de L.C.) en la disolución osmótica y diferente tipo de tratamiento (muestras frescas (cruz), impregnadas isotónicamente (círculos) deshidratadas hasta 20°Brix (triángulos) y deshidratadas hasta 30°Brix (cuadrados)). Símbolos vacíos: muestras tratadas a presión atmosférica (DO). Símbolos rellenos: muestras tratadas con pulso de vacío (DOPV). | 186 |
| Figura IV.16. Pérdidas de peso (o de fase líquida) debidas al almacenamiento referidas a la masa inicial según la ecuación III.22 de las muestras tratadas con | 188 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| diferente nivel de lactato cálcico (rojo: sin L.C.; verde: 1% de L.C.; azul: 2% de L.C.) en la disolución osmótica y diferente tipo de tratamiento (muestras frescas (cruz), impregnadas isotónicamente (círculos) deshidratadas hasta 20°Brix (triángulos) y deshidratadas hasta 30 °Brix (cuadrados)). Símbolos vacíos: muestras tratadas a presión atmosférica (DO). Símbolos rellenos: muestras tratadas con pulso de vacío (DOPV). | |
| Figura IV.17. Pérdida de líquido al final del almacenamiento en las muestras no tratadas, impregnadas y deshidratadas. Las barras indican los intervalos LSD (95 %). | 189 |
| Figura IV.18. Tasas respiratorias de rodajas de manzana frescas, impregnadas isotónicamente y deshidratadas con y sin pulso de vacío hasta 20 y 30 °Brix, con 0, 1 y 2% (p/p) de lactato cálcico al inicio del almacenamiento. Las barras indican los intervalos LSD (95 %). | 191 |
| Figura IV.19. Cocientes respiratorios de manzana frescas, impregnadas isotónicamente y deshidratadas con y sin pulso de vacío hasta 20 y 30 °Brix, con 0, 1 y 2% (p/p) de lactato cálcico al inicio del almacenamiento. Las barras indican los intervalos LSD (95 %). | 192 |
| Figura IV.20. Evolución de la tasa respiratoria en términos de O ₂ y CO ₂ de las muestras control y las muestras impregnadas isotónicamente. | 194 |
| Figura IV.21. Evolución de la tasa respiratoria en términos de O ₂ de las muestras control y las muestras deshidratadas hasta 20 y 30 °Brix. | 194 |
| Figura IV.22. Evolución de la tasa respiratoria en términos de CO ₂ de las muestras control y las muestras deshidratadas hasta 20 y 30 °Brix. | 195 |
| Figura IV.23. Evolución del cociente respiratorio de las muestras control y las muestras tratadas. | 196 |
| Figura IV.24. Curvas medias de punción de rodajas de manzana no tratada, impregnadas isotónicamente y deshidratadas hasta 20 y 30 °Brix al inicio y al final del almacenamiento. | 198 |
| Figura IV.25. Valores medios (con intervalos LSD al 95%) de los parámetros mecánicos analizados: Pendiente del tramo inicial (E), fuerza de fractura (F _{máx}), deformación de fractura (ε _{Fmáx}) y área para las muestras frescas y tratadas y a tiempo 0 y 6 días de almacenamiento. | 202 |
| Figura IV.26. Crecimiento microbiano en manzana fresca y deshidratada a presión atmosférica (DO) y con pulso de vacío (DOPV) hasta 20 °Brix, con 2% de calcio y sin calcio, almacenados a 10 °C. a) Aerobios mesófilos. b) Mohos y levaduras. | 204 |

NOMENCLATURA

a*: coordenada cromática (rojo-verde)

a_w: actividad de agua

b*: coordenada cromática (amarillo-azul)

C*_{ab}: croma o saturación

CR: cociente respiratorio

D_e: Difusividad efectiva (m²s⁻¹)

DO: deshidratación osmótica a presión atmosférica

DOPV: deshidratación osmótica por pulso de vacío

E: pendiente del tramo inicial de la curva de punción

E_a: energía de activación (kJ·mol⁻¹)

F_{máx}: fuerza de fractura (N)

h*: tono

HDM: mecanismo de transporte hidrodinámico

IV: impregnación a vacío

K: constante de Arrhenius (mLkg⁻¹h⁻¹)

K_i: constante de inhibición (%CO₂)

K_m: constante de Michaelis-Menten (%O₂)

k: pendiente de la zona exponencial de la sigmoide en el Modelo de Gompertz

k: constante de transferencia de materia total asociada a mecanismos osmodifusionales (estudio cinético)

k⁰: ganancia de masa total debida al HDM

k_s: constante de transferencia de solutos asociada a mecanismos osmodifusionales

k_s⁰: ganancia de solutos debida al HDM

k_w: constante de transferencia de agua asociada a mecanismos osmodifusionales

k_w⁰: ganancia de agua debida al HDM

l: semiespesor de la lámina

L*: Luminosidad

M: masa (kg o g)

Q₁₀: coeficiente de temperatura

R: constante de los gases

R₀: valor asintótico más bajo de la TR en el modelo de Gompertz

r: radio

T: temperatura

T_c: temperatura característica en el punto de inflexión en el modelo de Gompertz

TR: tasa respiratoria (mLkg⁻¹h⁻¹)

x_s: fracción másica de sólidos solubles

- x_s^0 : fracción másica de sólidos solubles a tiempo 0
 x_s^t : fracción másica de sólidos solubles a tiempo t
 x_w : fracción másica de agua
 x_w^0 : fracción másica de agua a tiempo 0
 x_w^t : fracción másica de agua a tiempo t
 x_l : fracción másica de líquido impregnado en la muestra
Y: fuerza impulsora del proceso
 y_s : fracción másica de solutos en la disolución
 y_w : fracción másica de agua en la disolución
 y_t : %O₂ ó %CO₂ a tiempo t
 y_{t0} : %O₂ ó %CO₂ a tiempo 0
 z_s : contenido de sólidos solubles en la fase líquida de la muestra
 z_w : contenido de agua en la fase líquida de la muestra
 $z_s^t|_{HDM}$: Composición de la fase líquida de la muestra después del pulso de vacío
V: volumen del espacio de cabeza
 V_m : tasa respiratoria máxima en la ecuación de Michaelis-Menten
 ΔE : diferencias de color
 ΔM : variación de masa
 ΔM_w : variación del contenido en agua
 ΔM_s : variación del contenido en sólidos
 ΔR : diferencia entre los valores asintóticos en el modelo de Gompertz
 ϵ : deformación relativa
 $\epsilon_{Fm\acute{a}x}$: deformación de fractura

JUSTIFICACIÓN E INTERÉS DEL ESTUDIO

El mercado se guía por las necesidades y los deseos de los consumidores, cada día más preocupados por la salud. En la actualidad, los cambios demográficos y sociales han ejercido un efecto muy marcado sobre el consumo de alimentos. Junto con el aumento del interés del consumidor sobre los efectos de una buena nutrición y de un medio ambiente sano, también existe una preocupación creciente sobre cómo la dieta puede influir de manera directa en su bienestar (Cano *et al.*, 2003). A través de estudios epidemiológicos se ha observado que una dieta rica en frutas, hortalizas y alimentos derivados de éstas tienen un papel beneficioso en la prevención de enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer (Steinmetz & Potter, 1996; Lampe, 1999). Por esta razón, las frutas y verduras son indispensables en una alimentación equilibrada como portadores principalmente de fibra, minerales y vitaminas; pero su consumo en fresco lleva consigo inconvenientes: el carácter perecedero del producto, la incomodidad de preparación (lavado, pelado), etc. Estos inconvenientes junto con la falta de tiempo de la sociedad actual hacen que las frutas y verduras mínimamente procesadas reúnan los requisitos necesarios para su empleo, son más cómodas para su consumo (lavadas, peladas y cortadas) y mantienen las características organolépticas de la materia prima.

La producción de frutas y hortalizas mínimamente procesadas comenzó aproximadamente hace 30 años, por la demanda existente y principalmente por empresas de catering y de comida preparada (Nguyen & Carlin, 1994). Además la aparición y presencia de este tipo de productos en el mercado surge como una respuesta a la necesidad de la industria para aumentar sus posibilidades de venta.

El término *procesado mínimo de frutas y hortalizas* ha evolucionado e incluye una amplia gama de métodos y tecnologías para incrementar la corta vida útil de estos productos y al mismo tiempo, minimizar los cambios que disminuyen sus características de frescura y mantener sus atributos de calidad nutricional, organoléptica y microbiológica (Ohlsson, 1994). Según los países y el modo de preparación estos productos han recibido numerosas denominaciones. En el área francófona se les llama, de la 4ª Gama de

alimentación ("IVème Gamme"), con connotación comercial también extendida en España. Esta terminología surge como consecuencia de la definición de las otras tres gamas o formas de tratamiento de frutas y hortalizas: 1ª Gama: frescas enteras; 2ª Gama: productos esterilizados y 3ª Gama: productos congelados (Mazollier & Scandella, 2002). En los países anglosajones se les denomina productos mínimamente procesados ("minimally processed"; "slightly processed" o "partially processed"), listos para su consumo ("ready to eat" o "ready to use") o recién cortados ("fresh-cut") (Artés & Artés, 2003). En general, para su conservación (\approx 7-8 días) y distribución se someten únicamente a refrigeración (Rolle & Chism, 1987; Shewfelt, 1987; Sierra, 2004). En el siguiente escalón se encuentran los productos de quinta gama que engloban frutas y legumbres peladas, lavadas y cocinadas sometidas a un tratamiento térmico (pasteurización, esterilización) para su conservación y envasadas - sin colorantes ni conservantes - que se conservan hasta 2-3 meses (Infoagro, 2006; Sierra *et al.*, 2002).

En este estudio, y siguiendo en la línea marcada por Pérez (2003) se definen las frutas procesadas en fresco o mínimamente procesadas (FMP) como productos listos para comer o parcialmente preparados, que se caracterizan por presentar una fácil e inmediata utilización, estar libres de defectos, poseer un estado de madurez óptima y unas características muy similares a la materia fresca. Este tipo de productos proporciona además a los consumidores la posibilidad de comprar pequeñas porciones de frutas de gran tamaño con calidad, y a los productores una apertura en los canales de comercialización (Pérez *et al.*, 2003).

Una característica importante de las FMP es que mantienen tejidos vivos, aunque éstos no presentan las mismas respuestas fisiológicas que los vivos sin tratar, debido a las operaciones sufridas (Wiley, 1994). Por esta razón, procesos biológicos como la respiración, maduración y senescencia continúan en la fruta después de la recolección. La tasa respiratoria indica con qué rapidez la fruta se puede deteriorar, de tal forma que valores elevados de esta tasa indican una vida corta en el almacenamiento (Primo-Yúfera, 1997; Labuza & Breene, 1989). En este sentido, las frutas

mínimamente procesadas poseen tasas respiratorias mayores que las frutas frescas por el daño causado durante la preparación que provoca al producto un severo estrés, incrementando las tasas de los procesos metabólicos como son respiración e intensificación del deterioro (Rolle & Chism, 1987; King & Bolin, 1989). Los desórdenes surgen desde el procesado, pudiendo minimizarlos usando herramientas de corte afiladas, inhibidores del pardeamiento enzimático, atmósferas modificadas y bajas temperaturas. La alta calidad se puede mantener con la selección de la madurez apropiada de la producción y el control del deterioro con bajas temperaturas y atmósferas modificadas (Watada & Qi, 1999).

La deshidratación osmótica se puede considerar como una alternativa posible para la creación de frutas mínimamente procesadas. A pesar de la escasa información encontrada al respecto, autores como Lewicki *et al.*, 2001 observaron que la respiración de rodajas de manzana disminuía con el aumento de materia seca y que contenidos mayores del 60%, cesaba completamente. Por otra parte, Tovar *et al.*, 2001a estudiaron el efecto de la deshidratación osmótica de mango en una disolución de 65 °Brix y a 30 °C con un pulso de vacío de 211 mbar en la producción de CO₂ durante el almacenamiento, concluyendo que las muestras deshidratadas mostraron una mayor tasa respiratoria que las frescas.

La incorporación de calcio en las FMP puede mejorar su calidad y vida útil. El calcio se emplea para preservar la estructura de los tejidos vegetales (Lee *et al.*, 2003; Quiles *et al.*, 2004; Saftner *et al.*, 2003). A su vez, reduce la actividad respiratoria, la producción de etileno y el desarrollo de microorganismos (Saftner *et al.*, 2003; Luna-Guzmán *et al.*, 1999; Luna-Guzmán & Barret, 2000).

Dada la problemática para la comercialización de frutas mínimamente procesadas es importante resaltar el interés social y económico en desarrollar tecnologías que permitan a los sectores agrícola e industrial mejorar las condiciones de almacenamiento, distribución y calidad de estos productos tan perecederos. En este sentido, determinados pretratamientos en la fruta podrían limitar la tasa de respiración, sin modificar excesivamente sus propiedades sensoriales, permitiendo así alargar la vida útil de los productos y simplificar las condiciones de envasado. Por ello, la aplicación de nuevas

técnicas en la industria de frutas mínimamente procesadas, como la impregnación a vacío, la deshidratación osmótica o ambas técnicas combinadas, así como la adición de componentes beneficiosos tanto para el organismo como para las características organolépticas del producto, pueden ser de gran utilidad.

I. INTRODUCCIÓN

1. LA FRESA Y LA MANZANA. ASPECTOS GENERALES DE COMPOSICIÓN Y PROPIEDADES.

1.1. La fresa

1.1.1. Descripción botánica, química y estructural

La planta de fresón es de tipo herbáceo y perenne. Su sistema radicular fasciculado tiene una profundidad variable dependiendo entre otros factores del tipo de suelo y de la presencia de patógenos en el mismo. En condiciones óptimas pueden alcanzar los 2-3 m, aunque lo normal es que no sobrepasen los 40 cm, encontrándose la mayor parte (90%) en los primeros 25 cm (Inesagro, 2006; Infoagro, 2006).

El tallo está constituido por un eje corto de forma cónica llamado "corona", en el que se observan numerosas escamas foliares. Las hojas, largamente pecioladas y provistas de dos estípulas rojizas, aparecen en roseta. Su limbo está dividido en tres folíolos pediculados, de bordes aserrados y que presentan un gran número de estomas (300-400/mm²), por lo que pueden perder gran cantidad de agua por transpiración. Las inflorescencias se pueden desarrollar a partir de una yema terminal de la corona, o bien de yemas axilares de las hojas; pudiendo ser su ramificación basal o distal. En la base de la flor se desarrolla la parte comestible de la fresa o falso fruto formado por un receptáculo hipertrofiado, en el que se alojan los verdaderos frutos llamados aquenios (pepitas), que son pequeños y de color generalmente claro en la parte que está a la sombra y rojizo oscuro en la parte expuesta al sol, y en número extremadamente variable. La pulpa es de color rosácea en la superficie y blanquecina en la parte central del fruto o corazón (Inesagro, 2006; Infoagro, 2006).

Los haces vasculares ramificados se encargan de transportar el agua y los nutrientes desde el tallo a través del cilindro central hasta la pulpa y las semillas. El número de haces vasculares se incrementa con el tamaño del fruto y están formados por células más largas y resistentes que las de la pulpa y son la responsables de la firmeza del fruto (Hadassah, 1982). La

pulpa está rodeada por una epidermis que se caracteriza por presentar algunos pelillos en la superficie.

En la base del fruto está el cáliz, con sépalos adherentes, libres o reflexos, generalmente de color verde, aunque a veces se encuentran enrojecidos. El cáliz puede separarse fácil o difícilmente, lo cual tiene una cierta importancia en función del destino de los frutos, bien sea para consumo en fresco o para transformación industrial.

La parte central del fruto o corazón puede estar muy o poco desarrollada y puede haber frutos con corazón vacío, lo cual es un carácter negativo, o con corazón lleno. La separación del pedúnculo además puede producirse con la extracción de una parte del corazón, que a veces saca también parte de la pulpa, lo que reduce el valor comercial de los frutos (Brazanti, 1989).

Desde el punto de vista fisiológico, la fresa se engloba dentro de las frutas no climatéricas (ver apartado 2.1.1 de la introducción), por lo que no pueden madurar si se cosechan inmaduras.

La fresa durante la fase de maduración, pasa de un estadio inicial, en el que el fruto es de color blanquecino y el porcentaje de agua es máximo, a un estadio final en el que el fruto alcanza el color, aroma y sabor característico, aumentando considerablemente el porcentaje de azúcares. Estudios en el proceso de maduración han demostrado que desde que está parcialmente coloreada hasta que está completamente coloreada, su tamaño se incrementa en un 27–57%, dependiendo de los cultivos y de otros factores (Monselise, 1986).

Los pigmentos responsables del color de la fresa son los carotenoides y los antocianos (principalmente flavonoides), los cuales se forman entre los 28 y 35 días siguientes a la caída del pétalo. Durante la maduración del fruto desaparece la clorofila presente en él, debido a la destrucción de los cloroplastos y disminuye el contenido de carotenoides (Gross, 1982).

Los azúcares juegan un papel muy importante en el sabor – aroma de la fresa. El 99% de los azúcares son sacarosa, glucosa y fructosa en una proporción 9.4:43.4:47.2 (Moraga *et al.*, 2006) encontrándose trazas de sorbitol, xilitol y xilosa (Makinen & Söderling, 1980).

La fresa es un producto muy apreciado por los consumidores, sobre todo por su contenido nutricional ya que, en comparación con el resto de frutas, contiene una cantidad moderada de hidratos de carbono y su valor calórico es bajo (tabla I.1). Destaca además su aporte de vitamina C, de sustancias de acción antioxidante y su alto contenido de ácidos orgánicos, entre ellos, el cítrico (de acción desinfectante), el málico, el oxálico y el salicílico (de acción anticoagulante y antiinflamatoria). También es rica en minerales, especialmente potasio y magnesio y su contenido en fibra es moderado, razones que la convierten en un componente ideal de una dieta equilibrada, tan revalorizada por la dietética moderna y que han llevado a que su producción aumente considerablemente en los últimos años.

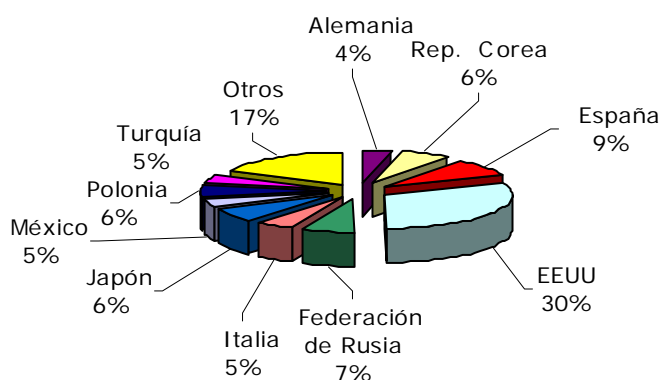
Tabla I.1. Contenido energético y composicional en 100 gramos de fresa
(adaptada de Lobo & González, 2003; Folquer, 1986; Alcentral, 2006)

| Kcal. | Agua (g) | Azúcares (g) | Lípidos (g) | Proteínas (g) | Fibra (g) |
|-----------|--------------------|-------------------|--------------------|---------------------|-----------------|
| 37-40 | 80-90 | 5-11 | 0.5 | 0.2 | 2.1 |
| Vitaminas | | | | | |
| | A (UI) | C (mg) | Tiamina (µg) | Riboflavina (µg) | Niacina (µg) |
| | 60 | 20-70 | 20-30 | 45-70 | 600 |
| Minerales | | | | | |
| K (mg) | Ca (mg) | Mg (mg) | Fe (mg) | P (mg) | Na (mg) |
| 164-212 | 20-21 | 11 | 0.4-1 | 21-30 | 1 |
| Ácidos | | | | | |
| | A. cítrico (mg) | A. málico (mg) | A. oxálico (mg) | | |
| | 748 | 303 | 16 | | |

1.1.2. Producción mundial de fresa

La producción mundial de fresa se ha incrementado desde 1.232.747 toneladas en 1970, hasta más de 3.491.324 toneladas en el 2004 (FAO, 2005). Los principales países productores a nivel mundial son: Estados Unidos (1.004.110 toneladas), España (286.300 toneladas), Federación de Rusia (215.000 de toneladas), República de Corea (210.000 toneladas) y Japón (205.000 toneladas) (Figura I.1a).

Producción de fresa mundial (a)



Producción de fresa en Europa (b)

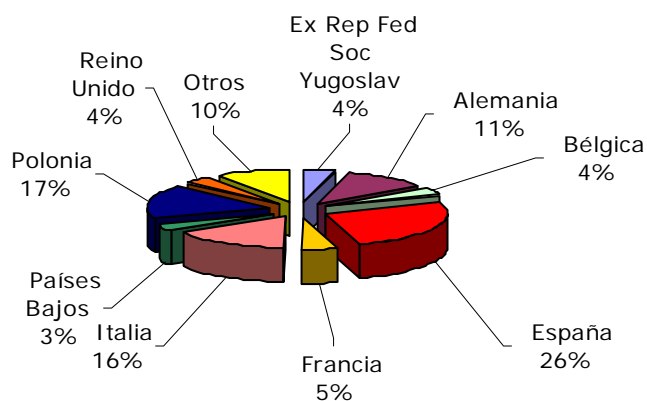


Figura I.1. Producción mundial (a) y de Europa (b) de fresa del año 2004 (Adaptada de los datos de FAOSTAT, 2005).

En Europa, la producción de fresa en el 2004 fue de 1.079.214 toneladas, siendo España el principal país productor seguido de Polonia (185.600 toneladas), Italia (167.657 toneladas), Alemania (119.384 toneladas) y Francia (51.793 toneladas) (Figura I.1b).

El fresón se cultiva en todas las regiones españolas aunque con desigual reparto; así, en Andalucía y concretamente en una única provincia: Huelva, se produce una alta concentración y especialización del cultivo. En Huelva, la superficie cultivada de fresón representa el 86% de la superficie nacional, el 91% de la producción nacional y el 94% de las exportaciones nacionales (López-Medina *et al.*, 2004).

Se conocen en el mundo más de 1000 variedades de fresón, fruto de la gran capacidad de hibridación que presenta la especie. En la provincia de Huelva, la variedad californiana Camarosa ha desplazado totalmente a las europeas, ocupando un 98% de la superficie dedicada a la frutilla, y todo ello gracias a su mayor productividad, precocidad, calidad y adaptación a las condiciones agroclimáticas onubenses (Inesagro, 2006). Sin embargo, las producciones onubenses de fresas llevan varias campañas inmersas en la cuestión del cambio varietal, "*Camarosa sigue siendo la mejor, pero hoy en día cualquier variedad está preparada para producir mucho y bien, y Ventana podría convertirse en la variedad mayoritaria en el plazo de dos años, porque se adapta mejor al mercado español, donde ambas pueden coexistir*" (Cano, 2005). Otras fuentes productoras señalan que aunque Ventana ha presentado un buen comportamiento al inicio de la campaña 2005, existe cierta incertidumbre y habrá que seguir analizando su trayectoria porque parece que en condiciones climáticas extremas presenta falta de consistencia, aunque cuenta con las ventajas de su precocidad, una baja deformación y gran producción en enero y febrero (Cabra, 2005).

1.2. La manzana

1.2.1. Descripción química y estructural de la manzana

La manzana es un pomo, de color variable (rojo, amarillo, verde,...) y forma entre esférica achatada y troncocónica: de pulpa blanca, jugosa, aromática y de sabor agradable. Posee semillas pequeñas, de cubiertas marrón oscuro y brillantes. Las variedades de manzana se clasifican de acuerdo con el color de su epidermis, y dentro de ella por su precocidad y características de la coloración (intensidad y tipo de color: liso o estriado) (Agustí, 2004).

La manzana de la variedad *Granny Smith* es de calibre grande, esférica y simétrica. Tiene color verde intenso que se vuelve más claro en la madurez, con numerosas lenticelas de color blanquecino. La pulpa es blanca, compacta, consistente y jugosa, con sabor acidulado (Infoagro, 2006).

En la tabla 1.2 se muestra la composición de la manzana fresca. Desde el punto de vista nutritivo, la manzana es una de las frutas más completas y enriquecedoras en la dieta. Un 85% de su composición es agua, por lo que resulta muy refrescante e hidratante. Los azúcares, la mayor parte fructosa (azúcar de la fruta) y en menor proporción, glucosa y sacarosa, de rápida asimilación en el organismo, son los nutrientes más abundantes después del agua. Es fuente discreta de vitamina E o tocoferol y aporta una escasa cantidad de vitamina C. Es rica en pectina, fibra abundante en la manzana, que mejora el tránsito intestinal. Entre su contenido mineral sobresale el potasio y es baja en sodio. El potasio, es un mineral necesario para la transmisión y generación del impulso nervioso y para la actividad muscular normal, interviene en el equilibrio de agua dentro y fuera de la célula (Consumer, 2006).

Tabla I.2. Composición química y nutritiva en 100 gramos de manzana (adaptada de Lobo & González, 2003; Infoagro, 2006; Ansorena, 2003)

| Kcal. | Agua (g) | Azúcares (g) | Lípidos (g) | Proteínas (g) | Fibra (g) | |
|------------|-------------------|--------------------|---------------------|------------------------|--------------|-----------|
| 52-58 | 84-85 | 13.8-15 | 0.4-0.6 | 0.3 | 2 | |
| Vitaminas | | | | | | |
| A (UI) | C (mg) | Tiamina (µg) | Riboflavina (µg) | B ₆ (µg) | | |
| 70-90 | 5-8 | 38-40 | 20-40 | 30 | | |
| Minerales | | | | | | |
| Na (mg) | K (mg) | Ca (mg) | Mg (mg) | Fe (mg) | P (mg) | S (mg) |
| 1 | 95-116 | 3-7 | 5 | 0.3 | 9-10 | 5 |
| Ácidos | | | | | | |
| | A. málico (mg) | A. cítrico (mg) | A. oxálico (mg) | | | |
| | 270-1020 | 0-30 | 1.5 | | | |

1.2.2. Origen, producción e importancia de la manzana

Se desconoce el origen exacto del manzano, aunque se cree que procede del cruzamiento y selección de varias especies de manzanos silvestres europeos y asiáticos. El manzano fue introducido en España por los pueblos del norte de África y durante el proceso de romanización de la península. Se nombra como *Malus domestica Borkh*, pertenece a la familia de las *Rosáceas* y su fruto se caracteriza por ser un pomo globoso, con pedúnculo corto y numerosas semillas de color pardo brillante. Concretamente la variedad del estudio, "Granny Smith" es de origen australiano. En Europa goza de un excelente mercado compitiendo con "Golden Delicious" (Infoagro, 2006).

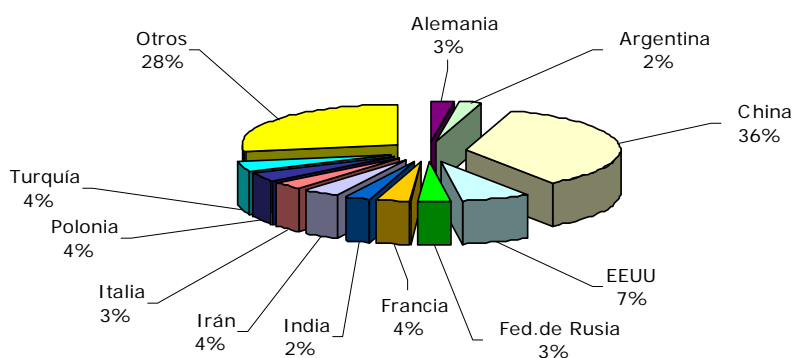
El manzano es una de las especies de fruta dulce de mayor difusión a escala mundial, debido fundamentalmente a:

- Su facilidad de adaptación a diferentes climas y suelos.
- Su valor alimenticio y terapéutico.
- La calidad y diversidad de productos que se obtienen en la industria transformadora.

Por proceder de climas muy fríos resiste las más bajas temperaturas, lo que ha permitido cultivarlo a gran escala en todos los países de clima relativamente fríos, y en particular en todos los de Europa (Infroagro, 2006)

La producción mundial de manzana en el 2004 fue de 621.919.066 toneladas en el 2004. En la figura 1.2 (a), se muestra la distribución de la producción mundial y europea de manzanas en dicho año. China fue el país más productor (22.163.000 toneladas), seguida, pero con una gran diferencia, de Estados Unidos (4.571.440 toneladas). A continuación se sitúan un grupo de cinco países (Polonia, Irán, Turquía, Francia e Italia) con una producción anual de alrededor de $2 \cdot 10^6$ toneladas anuales cada uno. En Europa la producción mundial de manzana en el 2004 fue de 27.005.728 toneladas, repartidas como se muestra en la figura 1.2 (b). El principal productor en Europa en el 2004 fue Polonia (2.500.000 toneladas), seguido por Francia (2.216.940 toneladas), Italia (2.069.243 toneladas) y Alemania (1.592.000 toneladas). España presentó una producción de 603.000 toneladas (FAOSTAT, 2005).

Producción mundial de manzana (a)



Producción de manzana en Europa (b)

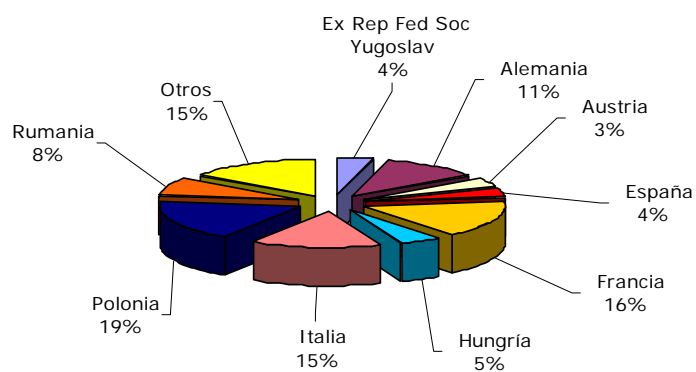


Figura I.2. Producción mundial (a) y de Europa (b) de manzana del año 2004
(Adaptada de los datos de FAOSTAT, 2005).

1.3. Tendencias en el consumo de estas frutas

Factores sociales y económicos, como la falta de tiempo para preparar comidas o el incremento del coste de la mano de obra en la restauración, así como el deseo de disponer de tiempo libre, han determinado que en las sociedades industriales aumente el interés por las comidas preparadas (Sierra, 2004; Artés & Artés, 2003).

Actualmente, las frutas ocupan un lugar minoritario en el total de la IV gama hortofrutícola, cuyo consumo total en España se ha cuadruplicado desde 1998. En 2002, sin incluir patata, su volumen alcanzó las 40000 t, de las cuales 25000 t se despacharon en establecimientos de alimentación y el resto en canales profesionales. Se estima un consumo de 1.5 a 2 kg per cápita de IV gama en España, bastante alejado de los 6 kg de Francia y los 30 kg de USA (Sierra, 2004). En Europa, los principales países consumidores de productos frescos cortados son Francia, Reino Unido y Holanda (Watada *et al.*, 1996). La mayor difusión de alimentos de IV gama en estos mercados con respecto a Italia y España puede deberse a las diferentes culturas alimentarias. Por otra parte, el mercado norteamericano es más dinámico y tiene mayor dimensión que el europeo. Es difícil cuantificar el ritmo de crecimiento para los próximos años en el sector de frutas preenvasadas debido a la gran diversidad en niveles de desarrollo.

Concretamente las tendencias de consumo de fresa y manzana son bastante distintas entre ellas, ya que la fresa es mucho más perecedera que la manzana y su corta estacionalidad prácticamente reduce su comercialización a los meses de Enero-Junio. Por el contrario, la manzana puede conservarse en cámaras de atmósferas controladas durante largos periodos de tiempo, incluso de una temporada a otra. En cualquier caso, hay usos que son comunes en ambas. A continuación se describen brevemente las posibilidades de consumo de estas frutas.

La fresa se consume principalmente como fruta fresca, pero también se puede utilizar como alimento procesado en forma de zumos, jarabes, mermeladas, confituras, helados, etc., para ser consumidos directamente o dar sabor a fresa a multitud de preparados como batidos, yogures, pasteles, etc... Considerando los usos como producto mínimamente procesado, no se

encuentra en el mercado una distribución de fresas envasadas cortadas destinadas al consumidor familiar. Sin embargo, las empresas de este sector sí que se han preocupado de realizar una recolección en el campo directamente en las barquetas en las que se van a comercializar, dada la facilidad de deterioro de este producto, ofreciendo así un producto entero envasado. Además, las empresas que comercializan fresa, están empezando a apostar por vender otro tipo de frutas del bosque ya que lejos de representar competencia entre ellas, las frutas conocidas como *berries*: fresas, arándanos, moras y frambuesas, cuando se comercializan de forma conjunta en el lineal del supermercado aumentan sus ventas (Osinga, 2005). La forma de consumo habitual de estas frutas como producto fresco es muy variada. Sin embargo, el modo más sencillo de tomarse unas fresas es simplemente lavadas, despedunculadas y cortadas, añadiéndoles posteriormente azúcar. Pues bien, si todos estos pasos se realizan con anterioridad a nivel industrial, las empresas podrían ofrecer un alimento con un valor añadido que facilitaría el consumo de esta fruta como producto mínimamente procesado.

De la misma forma, la manzana se consume como producto fresco, aunque también se destina a la elaboración de zumos, sidras, compotas, repostería.... Esta fruta sí que se ha procesado como fruta mínimamente procesada por varias empresas del sector, que prefieren frutas de pulpa firme, capaces de soportar las operaciones tecnológicas (Sierra, 2004). Generalmente se presenta en forma de piezas de distintas geometrías, aunque la forma más convencional es la que se obtiene al cortar en trozos longitudinales al eje de la manzana, eliminando las pepitas y en ocasiones la piel.

Hoy en día, la demanda de ensaladas o macedonias de frutas probablemente sea uno de los retos más complicados para alcanzar por las empresas del sector que ya están comercializando productos de estas características sobre todo en Europa y EEUU. No obstante, la preparación de estas ensaladas es sin duda más compleja que las formadas por una sola fruta. Tres elementos son esenciales: procesos estrictos de fabricación, acondicionamientos específicos asociando una atmósfera modificada a los materiales adecuados y al metabolismo de cada fruta y por supuesto el

respeto a la cadena de frío (Sierra, 2004). En este sentido, la elaboración de ensaladas de fruta en seco ya es todo un hecho. En la actualidad se están preparando también ensaladas de fruta en zumo. Sin embargo, aunque presentan una serie de ventajas frente a las ensaladas en seco, como puede ser la mayor jugosidad, tienen una serie de inconvenientes. El primero es la dilución de los aromas en la parte líquida. En el caso de una ensalada de fruta en zumo, los diferentes aromas se encuentran en el zumo y los más fuertes, rápidamente cubren a los otros. En general, en las mezclas, el zumo utilizado es el de la fruta de la pasión, que evita que un aroma lo impregne todo. Para las ensaladas monoproducción, la solución consiste en utilizar el zumo del fruto, para que la dilución del aroma sea menos perceptible (Sierra, 2004).

En cualquier caso, en la elaboración de frutas mínimamente procesada hay que tener en cuenta que cada fruta presenta sobre su piel una flora distinta, compuesta de levaduras, hongos y bacterias. Estos microorganismos después de las operaciones de pelado y troceado, pueden entrar en contacto con el interior del fruto. El riesgo de desarrollo de las levaduras se traduce en la fermentación de los trozos de fruta y provoca la degradación del gusto y la textura del producto. Por otra parte, la ruptura de las estructuras celulares del fruto y su contacto con el oxígeno, causa el pardeamiento de los trozos de fruta. Además el metabolismo de cada fruta es diferente y por tanto la vida útil varía de una a otra. Para impedir la degradación de la fruta de IV gama tras la elaboración es común aplicar elementos como el ácido ascórbico, que impide el pardeamiento o el sorbato potásico que inhibe el desarrollo de levaduras y el CO₂ que es fungistático y bacteriostático (Sierra, 2004).

2. RESPIRACIÓN DE FRUTAS Y VEGETALES

2.1. Fisiología de la respiración

Las frutas y hortalizas no sólo se encuentran vivas cuando están unidas a la planta de la que proceden. Una característica importante de estos

productos es el hecho de que respiran tomando oxígeno (O_2) y desprendiendo dióxido de carbono (CO_2) y calor. Los tejidos de frutas y verduras frescas también transpiran (deshidratación superficial) y producen etileno (hormona del "envejecimiento") (Navarro, 2003). Mientras permanecen unidas a la planta de procedencia, las pérdidas ocasionadas por la respiración y la transpiración se compensan mediante el flujo de la savia que contiene agua, productos fotosintetizados (especialmente sacarosa y aminoácidos) y minerales. Tras la recolección, continúan respirando y transpirando, y como han perdido contacto con la fuente de agua, productos de la fotosíntesis y minerales, dependen exclusivamente de sus reservas alimenticias y de su propio contenido en agua. Por tanto, las pérdidas de sustratos respirables no se compensan y se inicia el deterioro (Wills *et al.*, 1984).

La respiración es un proceso metabólico que proporciona la energía para los procesos bioquímicos de la planta. La respiración aerobia consiste en la oxidación de las reservas orgánicas a otras moléculas más simples, formando CO_2 y agua, con liberación de energía. Los sustratos orgánicos que pueden intervenir en este proceso son carbohidratos, lípidos y ácidos orgánicos (Figura I.3). El proceso consume O_2 en una serie de reacciones enzimáticas. La glucólisis, el ciclo de los ácidos tricarbóxicos, y el sistema de la cadena de transporte de electrones son las rutas metabólicas de la respiración aeróbica (Fonseca *et al.*, 2002a).

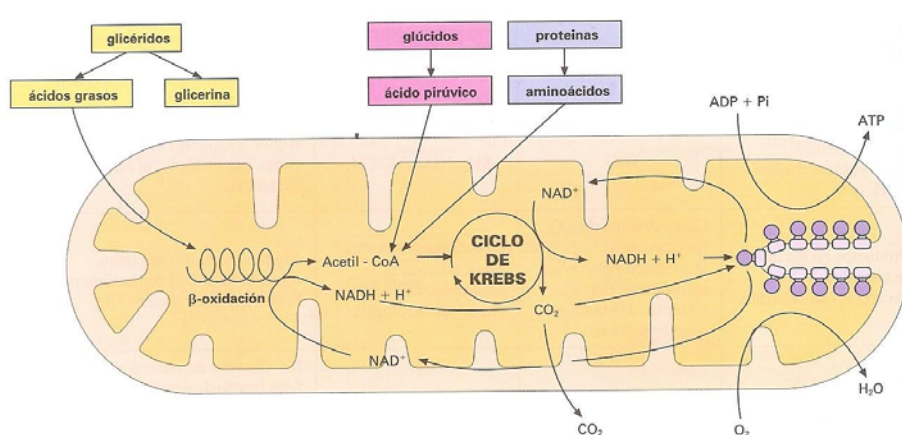
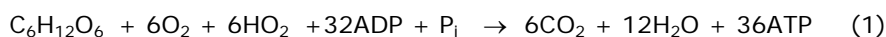
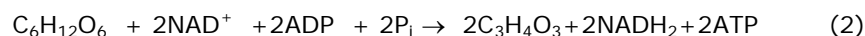


Figura I.3. Esquema de la respiración aerobia (Jimeno *et al.*, 1997)

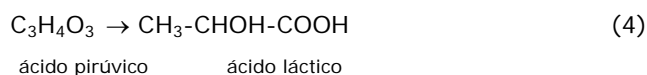
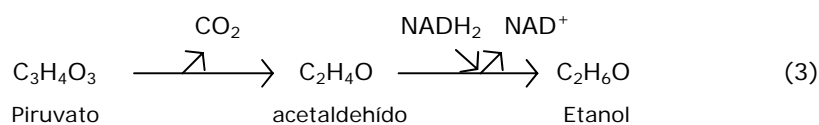
Desde el punto de vista químico, la respiración es expresada comúnmente en términos de la oxidación de la glucosa (expresión 1).



En primer lugar ocurre la glucólisis como proceso anaerobio en el citosol de la célula. En esta etapa, la molécula de glucosa se convierte en dos moléculas de ácido pirúvico (o piruvato) (expresión 2).

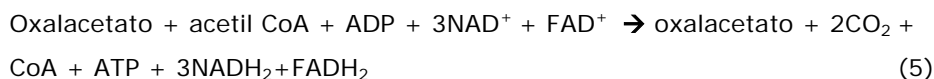


En presencia de O_2 , el piruvato será incorporado a las mitocondrias donde continuará su proceso de oxidación completa hasta dióxido de carbono y agua. Si falta oxígeno o si se altera el funcionamiento mitocondrial, el ácido pirúvico no puede degradarse en la respiración. Se desarrolla entonces un metabolismo fermentativo cuyo producto final es el acetaldehído y el etanol en el caso de fermentación alcohólica (expresión 3) o el ácido láctico en el caso de fermentación láctica (expresión 4), sustancias que pueden resultar tóxicas al fruto. Cuando la falta de oxígeno no es total, la respiración y las fermentaciones funcionan de forma simultánea (Wills *et al.*, 1998; Côme & Corbineau, 2002a).



En este proceso no se obtiene ATP, la única energía obtenida es la que procede de la glucólisis. Su finalidad es regenerar la forma oxidada del NAD^+ para que la glucólisis pueda seguir produciéndose.

El Ciclo de Krebs se desarrolla en el interior de la matriz mitocondrial. Antes de entrar en el ciclo de Krebs, el piruvato se oxida y decarboxila, formándose un grupo acetilo. A continuación cada grupo acetilo se une al coenzima A formando el acetil CoA. Las grasas y los aminoácidos también pueden ser convertidos en acetil CoA y entrar en la secuencia respiratoria en este punto. El grupo acetil de 2 carbonos se combina con el oxalacetato (4C) para producir citrato (6C). En este ciclo, 2 de los 6 C se oxidan a CO₂ y se regenera oxalacetato. Parte de la energía liberada en la oxidación de los átomos de C se utiliza para convertir ADP en ATP, parte para transformar NAD⁺ en NADH₂ y también para reducir un segundo transportador de electrones FAD⁺. El oxígeno no está implicado directamente en el ciclo. El ciclo se resume en:



En la última etapa participa la cadena de transporte mitocondrial y la síntesis de ATP. La molécula de glucosa está ahora completamente oxidada. Parte de su energía ha sido utilizada para producir ATP a partir de ADP. Sin embargo, gran parte de su energía permanece aún en los electrones arrancados a los átomos de C cuando se oxidaron. Estos electrones han pasado a los transportadores de electrones NAD⁺ y FAD⁺ y se encuentran en un nivel energético alto. Todos los equivalentes de reducción originados en la glucólisis o en el ciclo de Krebs van a ser oxidados en la cadena mitocondrial de transporte de electrones. Esta cadena consta de una serie de transportadores de electrones, localizados en las crestas mitocondriales, que mediante reacciones de oxidorreducción, van a llevar los electrones hasta el último aceptor de los mismo, el O₂, formándose agua como producto final (Azcón-Bieto & Talón, 2000; Barceló *et al.*, 2001).

Tanto la emisión de CO₂ como el consumo de O₂ pueden ser utilizados para medir la tasa de respiración de las plantas (TR) (Azcón-Bieto & Talón, 2000). La tasa respiratoria se define como la cantidad de anhídrido carbónico emitido y de oxígeno consumido por kg de fruta y por hora (Fonseca *et al.*,

2002a). Las unidades de TR pueden ser en moles: $\text{mol kg}^{-1} \text{h}^{-1}$, en presión: $\text{atm kg}^{-1} \text{h}^{-1}$, en volumen: $\text{mL kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ o en masa $\text{mg kg}^{-1} \text{h}^{-1}$.

El cociente respiratorio (CR), que se define como la relación entre el CO_2 producido y el O_2 consumido, abarca un rango comprendido entre 0.7 y 1.3 dependiendo del sustrato metabólico (Kader, 1987; Kader *et al.*, 1989) y es afectado por las condiciones de la atmósfera modificada. Por ello, es una herramienta para determinar la naturaleza del sustrato utilizado en la respiración. En el caso de oxidación de la glucosa (ecuación 1), el volumen de O_2 consumido es igual al volumen de CO_2 producido y el valor de CR es 1.0. Por lo general, cuando una planta respira carbohidratos, el valor de CR es cercano a la unidad. Si por el contrario, el compuesto oxidado es un ácido graso como por ejemplo el ácido oleico, el CR es de $18 \text{ CO}_2 / 25.5 \text{ O}_2 = 0.71$ (Azcón-Bieto & Talón, 2000). Si los sustratos respiratorios son ácidos orgánicos, el valor de CR tendrá un valor mayor que la unidad porque el grado de oxidación de estos compuestos es mayor que el de los azúcares. El cociente respiratorio es mucho mayor que 1.0 cuando tiene lugar la respiración anaeróbica. Esto es consecuencia de que la producción de etanol en el metabolismo fermentativo implica la descarboxilación del piruvato con formación de CO_2 sin consumo de O_2 (Stern *et al.*, 2001; Fonseca *et al.*, 2002a; Azcón-Bieto & Talón, 2000; Lee *et al.*, 1991; Kader, 1987; Barceló *et al.*, 2001). La concentración de oxígeno a la que se inicia la fermentación se conoce como punto de extinción (PE) o punto de compensación anaeróbico (PCA), y depende de numerosos factores como la especie, la variedad, el grado de madurez y la temperatura (Stern *et al.*, 2001).

Junto con la determinación del valor del cociente respiratorio, conviene analizar la concentración de volátiles indeseables en el envase de los productos vegetales. El aroma y el sabor de las frutas sufren importantes cambios durante el procesado y el almacenamiento debido a la aceleración de reacciones bioquímicas, enzimáticas y microbiológicas. Si las condiciones de envasado o almacenamiento no son las adecuadas se pueden provocar condiciones anaerobias que ponen en marcha rutas metabólicas alternativas dando lugar a procesos fermentativos que generan compuestos como etanol y acetaldehído. Además, la contaminación microbiológica (Jacxsens *et al.*,

2001) y la propia senescencia de fruto (Kays, 1991), también contribuyen a la potenciación de la producción de estos volátiles indeseables durante el almacenamiento de frutas y hortalizas. En este sentido, es importante controlar a nivel industrial el desarrollo de etanol y acetaldehído en las frutas mínimamente procesadas para optimizar las condiciones de almacenamiento.

Cameron *et al.*, (1995), realizaron un estudio para comprobar el diseño de los envases de ensalada verde. Midieron O₂, CO₂ y la presión parcial de etanol en el espacio de cabeza. Encontraron que los niveles de O₂ eran extremadamente bajos y detectaron acumulación significativa de etanol en la mayoría de los envases. Esta acumulación de etanol indicaba que el diseño de envases no era capaz de mantener condiciones aeróbicas. La presencia de olores y sabores fermentativos se detectó fácilmente en estos paquetes, aunque la ensalada era todavía comestible. Golding *et al.*, (1999a), estudiaron el efecto del tratamiento de 1-metilciclopropano (1-MCP) en los aromas de banana a distintos tiempos después de la maduración con propileno. Los tratamientos con 1-MCP incrementaron la concentración de alcoholes y disminuyeron la de ésteres, lo que podría indicar que la composición de ésteres estaría determinada por el suministro de sustratos en la actividad de las enzimas de biosíntesis. Los resultados mostraron que las rutas metabólicas que controlan tanto la respiración como la producción de volátiles son dependientes del etileno. Lu & Toivonen, (2000), detectaron una mayor acumulación de etanol y acetaldehído en rodajas de manzana 'Spartan' provenientes de manzanas enteras pretratadas en una atmósfera con 1 kPa de O₂ que cuando fueron pretratadas en una atmósfera de 100 kPa de O₂.

2.1.1. Clasificación de las frutas según su fisiología: climatéricas y no climatéricas

Cuando el tejido de una planta ha alcanzado la madurez, su tasa de respiración debe o permanecer prácticamente constante o descender lentamente con la edad hasta que alcanza la senescencia. Según el patrón respiratorio que siguen las últimas fases de la maduración los frutos pueden calificarse como frutos climatéricos y no climatéricos (Barceló *et al.*, 2001;

Azcón-Bieto & Talón, 2000; Côme & Corbineau, 2002b). Unos acumulan almidón durante su crecimiento y, en la maduración, lo hidrolizan a monosacáridos, glucosa y fructosa sobre todo; como ello exige una gran cantidad de energía, en estos frutos la maduración se caracteriza por un aumento de la respiración. Otros acumulan directamente monosacáridos durante su crecimiento y, por tanto, durante la maduración no experimentan incrementos significativos de su tasa respiratoria. Los del primer grupo se denominan frutos *climatéricos*, entre los que se encuentran, el melocotón, el tomate, el kiwi, el albaricoque, la manzana, la pera, el plátano y el melón. Los del segundo grupo son frutos *no climatéricos* y pertenecen a él, entre otros, la fresa, los cítricos, la aceituna, la cereza y la calabaza.

La figura 1.4 representa esquemáticamente la variación de la intensidad respiratoria de un fruto climatérico y uno no climatérico durante el crecimiento, maduración y senescencia. En los frutos *climatéricos*, la intensidad respiratoria disminuye durante el crecimiento hasta alcanzar un mínimo (mínimo climatérico: m) cuando alcanza su tamaño máximo. Cuando comienza a madurar aumenta de nuevo la respiración (crisis climatérica), hasta alcanzar el valor máximo al final de la maduración (máximo climatérico: M), debido a que se hidroliza a monosacáridos el almidón acumulado durante su crecimiento. Finalmente, la respiración disminuye rápidamente en el transcurso de la senescencia. Los principales cambios bioquímicos característicos de la maduración se producen durante la crisis climatérica. Los frutos climatéricos tienen la propiedad de poder madurar después de la recolección. Los frutos no climatéricos maduran sin presentar crisis climatérica y no pueden madurar si no permanecen en la planta madre (Côme & Corbineau, 2002b).

El etileno desempeña un importante papel en la maduración de los frutos. La crisis respiratoria de los frutos climatéricos está asociada a una emisión de etileno (crisis etilénica) que proviene de una síntesis autocatalítica de ese gas. Cuando está presente en la atmósfera, incluso a concentraciones muy bajas, dispara o acelera la maduración de los frutos climatéricos y permite la de ciertos frutos no climatéricos. Estos últimos, en efecto, no sintetizan prácticamente etileno, pero a menudo son muy sensibles. Una aplicación de etileno de corta duración es suficiente para provocar de forma

irreversible la crisis respiratoria de los frutos climatéricos ya que estimula su propia síntesis (síntesis autocatalítica). Así, si el etileno que desprenden los frutos climatéricos se elimina, éstos maduran más lentamente. En el caso de los frutos no climatéricos, el etileno no actúa más que cuando está presente, ya que no son capaces de sintetizar este gas de forma autocatalítica (Côme & Corbineau, 2002b). Por otra parte, en algunos frutos no climatéricos, como los cítricos, la aplicación exógena de etileno, promueve la degradación de clorofila y provoca el cambio de color (desverdización); otros como la fresa, son insensibles al etileno exógeno o a sus antagonistas, pero maduran tras la aplicación de auxinas, sustancias que promueven la síntesis de etileno (Azcón-Bieto & Talón, 2000).

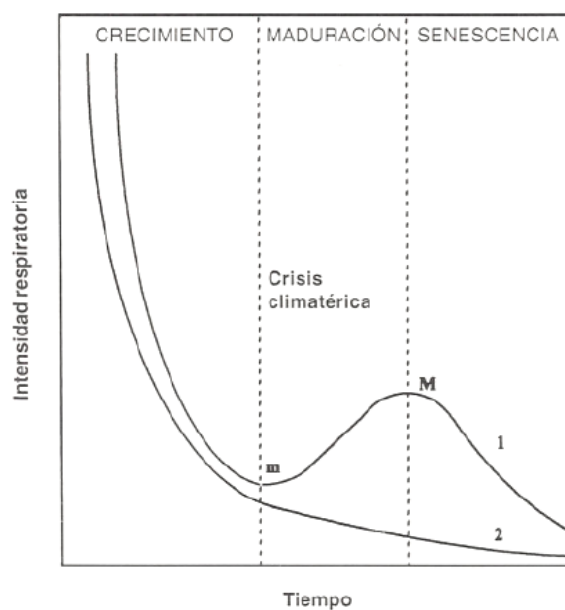


Figura I.4. Variación de la intensidad respiratoria de un fruto climatérico (1) y de un fruto no climatérico (2) durante el crecimiento, maduración y la senescencia. m: mínimo climatérico; M, máximo climatérico (Côme & Corbineau, 2002b).

La tasa respiratoria de las frutas y hortalizas varía en función de la especie y variedad, pero principalmente de la composición de la atmósfera que envuelve al producto, así como de la permeabilidad del envase donde se

comercializa y de la temperatura de almacenamiento. A continuación se describe la influencia de la concentración de la atmósfera y de la temperatura en la respiración de estos productos.

2.2. Influencia de la composición de la atmósfera en la respiración.

Las atmósferas modificadas o atmósferas controladas (AC), consisten en la extracción o adición de gases que proporcionan una composición atmosférica en el entorno del producto diferente de la del aire (78.08% de N₂, 20.95% de O₂ y 0.03% de CO₂). Generalmente, suponen la reducción de la concentración de O₂ y/o elevación de la del CO₂ (Kader, 1992). Concretamente se denomina "atmósfera controlada" a aquella cuya composición se mantiene tan constante como sea posible durante todo el tiempo de conservación, mientras que se designa como "atmósfera modificada" a aquella cuya composición no está sometida a ningún control y puede variar durante la conservación o la comercialización (Côme & Corbineau, 2002a). Las atmósferas modificadas normalmente se destinan al envasado de productos, por lo que se denominan con las siglas procedentes del término anglosajón '*modified atmosphere packaging*' (MAP). Las AC se suelen emplear en cámaras de conservación. El interés del empleo de AC o MAP reside en que uno de sus principales efectos sobre los productos hortofrutícolas es la disminución del metabolismo respiratorio (Kader, 1997), como observaron Watada *et al.*, (1996) en un gran número de productos cortados. Además, se ha comprobado que el MAP preserva el contenido en ácido ascórbico (AA) y clorofila, mantiene la calidad e inhibe el desarrollo del pardeamiento (Gil & Tudela, 2003).

Aunque la utilización del MAP puede representar un coadyuvante en la conservación de muchas frutas y hortalizas, debe tenerse especial cuidado con los niveles de O₂ y CO₂ alcanzados. Si la concentración de O₂ cae por debajo del punto de extinción (PE) la atmósfera modificada podría tener efectos indeseables debido a la respiración anaeróbica (Ko *et al.*, 1996).

Las atmósferas modificadas en contenedores individuales, se utilizan en gran medida, no sólo para productos enteros sino también para frutas y vegetales mínimamente procesadas. Normalmente, están fabricados de polietileno de baja densidad y en su interior se introduce una mezcla de gases adecuada para cada alimento, o bien se diseña de manera que la combinación entre la permeabilidad del film y el metabolismo del producto sean compatibles, generándose en su interior la atmósfera adecuada para su almacenamiento. Si las características del producto y la permeabilidad del film se conjugan adecuadamente, una atmósfera conveniente puede desarrollarse pasivamente en el interior del envase cerrado, como consecuencia del consumo de O_2 y desprendimiento del CO_2 debidos al proceso de respiración del producto. Esto es lo que se denomina atmósfera modificada generada por el producto o AM pasiva. A un tiempo dado de almacenamiento, la permeabilidad a los gases del material elegido debe permitir la entrada de O_2 en el interior del envase a una velocidad equivalente a la del consumo de O_2 por parte del producto. De forma análoga, la velocidad de eliminación de CO_2 desde el interior al exterior del envase debe ser equivalente a la producción de CO_2 por el producto. Además, esta atmósfera debe establecerse rápidamente y sin crear condiciones anoxídicas o altas concentraciones perjudiciales de CO_2 (Kader, 1992).

Debido a las limitadas posibilidades de regular una atmósfera establecida de forma pasiva, parece conveniente que estas atmósferas se generen y se ajusten mediante un procedimiento activo, que consiste en crear un ligero vacío y reemplazar la atmósfera del envase por la composición gaseosa elegida. Esta mezcla puede ajustarse posteriormente mediante el empleo de sustancias absorbentes o adsorbentes situadas en el envase, con el fin de reducir la proporción O_2 , CO_2 o C_2H_4 (Kader, 1992).

La tabla 1.3 muestra un resumen de las recomendaciones de atmósferas controladas y atmósferas modificadas para una selección de frutas "fresh-cut" (Gorny, 2001), así como la eficacia sobre su almacenamiento.

Tabla I.3. Recomendaciones de atmósfera controlada y modificada (CA y MA) para una selección de frutas cortadas (Gorny, 2001).

| Producto | Temperatura (°C) | Atmósfera | | Eficacia |
|------------------------|---------------------|-----------------|------------------|----------|
| | | %O ₂ | %CO ₂ | |
| Rodajas de manzana | 0-5 | <1 | 4-12 | Moderada |
| Cubos Melón Cantaloupe | 0-5 | 3-5 | 6-15 | Buena |
| Rodajas pomelo | 0-5 | 14-21 | 7-10 | Moderada |
| Cubos, Melón Honeydew | 0-5 | 2 | 10 | Buena |
| Rodajas kiwi | 0-5 | 2-4 | 5-10 | Buena |
| Cubos mango | 0-5 | 2-4 | 10 | Buena |
| Rodajas naranja | 0-5 | 14-21 | 7-10 | Moderada |
| Rodajas melocotón | 0 | 1-2 | 5-12 | Pobre |
| Rodajas pera | 0-5 | 0,5 | <10 | Pobre |
| Rodajas caqui | 0-5 | 2 | 12 | Pobre |
| Granada, gránulos | 0-5 | - | 15-20 | Buena |
| Láminas fresa | 0-5 | 1-2 | 5-10 | Buena |
| Cubos sandía | 0-5 | 3-5 | 10 | Buena |

Entre las propuestas más innovadoras de envasado en atmósferas modificadas cabe señalar las llamadas HOA (high oxygen atmosphere) que en algunos experimentos se han mostrado efectivas en la inhibición del pardeamiento enzimático (por inhibición de la actividad PPO), además de evitar las fermentaciones anaeróbicas (por ejemplo, en el caso de la interrupción de la cadena de frío) y de inhibir el desarrollo de microorganismos aerobios y anaerobios (Day, 2000). Kader & Ben-Yehoshua, (2000), realizaron un estudio sobre los efectos de la exposición a concentraciones de O₂ superatmosféricas en combinación con elevadas concentraciones de CO₂ viendo que dependiendo del producto, el estado de madurez y la concentración de CO₂ y C₂H₄, estas atmósferas podrían estimular, no tener efecto, o reducir la tasa respiratoria. Prieto *et al.*, (2000), comprobaron los efectos beneficiosos de la utilización de una atmósfera con una concentración de O₂ >90% y un film barrera en la calidad organoléptica y microbiológica de una mezcla de hortalizas para ensalada. Asimismo, Jaxsens *et al.*, (2001) demostraron que una concentración de O₂>70% resultaba muy efectiva en la conservación de endibias, champiñones y apio,

inhibiendo el crecimiento de muchos microorganismos. De la misma forma, Lu & Toivonen (2000) observaron que rodajas de manzana provenientes de manzanas enteras que habían estado almacenadas a 100 kPa de O₂ presentaban un menor contenido en productos de la fermentación asociados con "off-flavors" comparadas con las que previamente se habían tratado con 1 kPa de O₂. Por otro lado, Amanatidou *et al.* (2000), proponen una AM con un 50% de O₂ + 30% CO₂ para sustituir las AM tradicionalmente utilizadas en la conservación de rodajas de zanahorias. Sin embargo, hay que tener presente que el O₂ puro es altamente inflamable y por tanto, debe manejarse bajo unas medidas de seguridad exhaustivas (Lu & Toivonen, 2000).

Una tecnología basada en el principio opuesto, pero que también ha dado muy buenos resultados en algunos productos mínimamente procesados es el denominado MVP (moderate vacuum packaging, envasado a vacío moderado), que consiste en la reducción moderada de la presión parcial de oxígeno (a unos 40 kPa) para frenar el pardeamiento y el desarrollo de gérmenes aerobios (O'Beirne, 1990).

La utilización de gases nobles, de igual forma, es una técnica novedosa para la creación de MAP. Se han presentado resultados prometedores en la utilización del argón como gas de envasado para manzanas en rodajas comprobándose que concentraciones del 85% de Ar+15%O₂ reducen los niveles de CO₂ y la velocidad de consumo de O₂ (Zhang *et al.*, 2000). Mezclas de gases no convencionales (con argón y óxido nitroso) mantuvieron mejor la calidad de rodajas de manzana que atmósferas compuestas sólo por N₂, O₂ y CO₂, inhibiendo la actividad de la PPO y reduciendo la actividad metabólica (Rocculi *et al.*, 2004). Aunque los mecanismos de acción de los gases nobles no se han dilucidado todavía, parece que presentan mayor poder retardante de las actividades enzimáticas, sobre el crecimiento microbiano y sobre las actividades bioquímicas que el nitrógeno, quizás debido a las diferencias existentes en los tamaños atómicos y en las características de solubilidad (González *et al.*, 2003).

Por otra parte, con el fin de conseguir una adecuada relación CO₂/O₂, en el envase durante el almacenamiento se pueden realizar microperforaciones en los films que modifican su permeabilidad (Guevera *et al.*, 2001; Fonseca *et al.*, 2000; Exama *et al.*, 1993; Paul & Clarke, 2002).

Nichols & Hammond (1973), usaron perforaciones en envases de champiñones y Burton *et al.*, (1987) colocaron ventanas microporosas para evitar que la concentración de O₂ cayera por debajo de niveles críticos.

Existen multitud de materiales poliméricos que pueden utilizarse para el envasado de los productos vegetales, enteros o frescos cortados y en su elección deben considerarse una serie de características de tipo general, como la capacidad antivaho, la facilidad de mecanizado, la resistencia mecánica, la facilidad de sellado, el coste, etc... Durante su permanencia en el envase, entre el producto (que respira) y el entorno en que se encuentra el envase (aire), se establece un equilibrio dinámico a través de la película, hasta que se alcanza una atmósfera estacionaria. Para la selección del film adecuado para MAP, es necesario, por tanto, conocer la actividad respiratoria del producto, la composición óptima de la atmósfera para su conservación y las características de permeabilidad del plástico (González *et al.*, 2003).

2.3. Efecto de la temperatura en la respiración

Todos los procesos fisiológicos catalizados por enzimas están fuertemente influidos por la temperatura, presentando todos ellos una temperatura mínima, óptima y máxima (temperatura cardinal). Independientemente de la tasa absoluta de respiración, incrementos en la temperatura generan incrementos exponenciales de la respiración. Por esta razón, la modelización del tipo Arrhenius se suele ajustar bien al comportamiento de las frutas almacenadas a distintas temperaturas (ecuación I.1) (Mannapperuma & Sing, 1992; Exama *et al.*, 1993; McLaughlin & O'Beirne, 1999; Jaime *et al.*, 2001; Fonseca *et al.*, 2002a).

$$TR = K \times e^{\left(\frac{E_a}{R}\right) \times \left[\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}}\right]} \quad (I.1)$$

En la que TR es la tasa respiratoria, K y E_a son las constantes de Arrhenius, R es la constante de los gases T es la temperatura (K) en cada caso y T_{ref} es la temperatura de referencia seleccionada.

El efecto de la temperatura sobre la respiración se puede cuantificar también a través del coeficiente de temperatura, o factor Q₁₀, el cual refleja

los cambios en la tasa de respiración por cada 10 °C de cambio en la temperatura a través de la expresión:

$$Q_{10} = \left(\frac{TR_2}{TR_1} \right)^{\frac{10}{(T_2 - T_1)}} \quad (1.2)$$

Donde TR_2 y TR_1 son las tasas respiratorias a las temperaturas T_1 y T_2 respectivamente.

Para la mayoría de las plantas y los tejidos, el factor Q_{10} varía entre 1.9 y 2.8 cuando la respiración se mide entre 5 y 30 °C. Un valor de Q_{10} respiratorio de 2.0 significa que la tasa de respiración a 20 °C es el doble que la tasa respiratoria medida a 10 °C. Este valor coincide con el valor del factor Q_{10} de la mayoría de las reacciones enzimáticas. Sin embargo, el valor de Q_{10} respiratorio no es constante y varía sustancialmente a temperaturas extremas. A temperaturas muy bajas (<5 °C), las membranas de los distintos compartimentos celulares pierden fluidez, lo que hace que el efecto de la temperatura sobre la respiración sea menor ($Q_{10} \approx 1.0$). A temperaturas muy altas (> 40°C), el valor decae debido a la desnaturalización de las proteínas y a la disgregación de las membranas (Azcón-Bieto & Talón, 2000).

En general, los estudios de las tasas respiratorias se han centrado en la influencia de la temperatura o en el análisis del efecto de la concentración de gases, pero no siempre considerando ambos factores simultáneamente. Otra de las limitaciones de los modelos de tasas de respiración es que la mayoría de datos disponibles están expresados como consumo de O_2 o como producción de CO_2 únicamente, asumiendo que el CR es la unidad. Si el CR fuera realmente mayor que la unidad, el modelo estaría subestimando la producción de CO_2 y si el CR fuera más pequeño lo estaría sobrestimando. La no uniformidad en las unidades de los modelos de respiración supone una dificultad importante a la hora de poder comparar los resultados (Fonseca *et al.*, 2002a).

2.4. Métodos de cuantificación de la tasa respiratoria

Entre los métodos experimentales más utilizados para medir la tasa respiratoria podemos destacar tres: el método estático, el método dinámico y el método del sistema permeable (Stern *et al.*, 2001; Fonseca *et al.*, 2002a; Lee *et al.*, 1996). La tabla 1.4 presenta un resumen de los detalles metodológicos utilizados por varios autores en distintos productos para determinar su tasa respiratoria.

El método estático o cerrado consiste en colocar el producto en un recipiente impermeable y cerrado con una concentración de aire inicial conocida midiéndose directamente los cambios en las concentraciones de O₂ y CO₂ del espacio de cabeza del envase, resultantes de la respiración del producto vegetal después de un determinado periodo de tiempo. Este método sólo es útil para periodos cortos dado que el cúmulo de CO₂ produce alteraciones fisiológicas en los productos. La tasa respiratoria se estima a partir de las ecuaciones (1.3) y (1.4), donde TR hace referencia a la tasa respiratoria (consumo de O₂ o producción de CO₂), (m³ kg⁻¹ s⁻¹), [O₂] es la concentración volumétrica de oxígeno en porcentaje (%v/V, 100x(m³ O₂/m³ del espacio del cabeza)), [CO₂] es la concentración volumétrica de dióxido de carbono en porcentaje (%v/V, 100x(m³ CO₂/m³ del espacio del cabeza)), V es el volumen del espacio de cabeza (m³), M es la masa del producto (kg), t el tiempo (s) y los subíndices f e i significan final e inicio del periodo de medida:

$$TR_{O_2} = \frac{([O_2]_{t_i} - [O_2]_{t_f}) \times V}{100 \times M \times (t_f - t_i)} \quad (1.3)$$

$$TR_{CO_2} = \frac{([CO_2]_{t_i} - [CO_2]_{t_f}) \times V}{100 \times M \times (t_f - t_i)} \quad (1.4)$$

Para aplicar el método dinámico o de flujo, se hace pasar una corriente de gas, a una velocidad constante, a través de un recipiente hermético que contiene fruta. La tasa respiratoria se calcula a partir de la diferencia de concentraciones absolutas entre la entrada y la salida de la mezcla de gas que fluye, cuando el sistema alcanza el régimen estacionario

(ecuaciones 1.5 Y 1.6). Utilizar un flujo de gas adecuado es difícil si previamente no se tiene una estimación de la tasa de respiración esperada. Normalmente, no se puede utilizar para productos con baja tasa de respiración.

$$TR_{O_2} = \frac{([O_2]_{\text{entrada}} - [O_2]_{\text{salida}}) \times F}{100 \times M} \quad (1.5)$$

$$TR_{CO_2} = \frac{([CO_2]_{\text{salida}} - [CO_2]_{\text{entrada}}) \times F}{100 \times M} \quad (1.6)$$

F: el flujo de gas ($m^3 s^{-1}$)

El sistema permeable es similar al sistema cerrado, pero utilizando un envase permeable, siendo conocidas sus dimensiones y la permeabilidad film (ecuaciones 1.7 Y 1.8) (Lee *et al.*, 1996). Este método mantiene el entorno de las condiciones de envasado de los frutos. Es simple, barato y el tiempo de los experimentos puede ser inferior (Lee, 1987). Las concentraciones de O_2 y CO_2 cambian con el tiempo antes de alcanzarse el equilibrio. Ambas fases, la estacionaria y la no estacionaria, pueden usarse para estimar la tasa respiratoria de los productos, mientras que el método estático apenas utiliza datos no estacionarios y el dinámico datos estacionarios. Las tasas respiratorias en el estado estacionario se determinan mediante un balance de materia. La gran desventaja es que lleva implícitos errores debido a que cada envase tienen una permeabilidad, área y volumen diferente. Además requiere más tiempo que el dinámico (una semana aproximadamente) para alcanzar las condiciones de equilibrio. Sin embargo, cuando se tienen datos acerca de cuáles son los envases permeables más indicados para el producto en estudio, este método resulta más indicado que los anteriores (Lee *et al.*, 1996).

$$TR_{O_2} = \frac{D_{O_2} \times A}{100 \times L \times M} ([O_2]_{\text{int}} - [O_2]_{\text{ext}}) \quad (1.7)$$

$$TR_{CO_2} = \frac{D_{CO_2} \times A}{100 \times L \times M} ([CO_2]_{ext} - [CO_2]_{int}) \quad (1.8)$$

D: coeficiente de difusividad de cada gas en el film m^2s^{-1}

A: área superficial, m^2

L: espesor del film, m

Existen limitaciones en los tres métodos (Beaudry, 1993; Cameron *et al.*, 1995; Lee *et al.* 1996; Fonseca *et al.*, 2002a). Por esta razón, cuando se elige un método para determinar la tasa de respiración se deben contemplar las ventajas y las limitaciones del mismo.

Los recipientes de vidrio (cámara de respiración) son los más adecuados y utilizados para realizar las medidas de concentración de gases en el espacio de cabeza mediante el método estático o dinámico (tabla I.4), ya que es el material más inerte. Sin embargo, no siempre es posible conseguir que la totalidad del contenedor sea de cristal, debido a los problemas de cierre y toma de muestra. Por esta razón, se emplean frascos de cristal provistos de tapas metálicas y muchos autores utilizan acero inoxidable que ofrece también garantías de que la permeabilidad a través del mismo es nula. La cantidad de muestra utilizada en los análisis está relacionada con el volumen de la cámara de medida (tabla I.4).

La determinación de la tasa respiratoria se realiza generalmente por cromatografía gaseosa o mediante analizadores de gases provistos de detectores específicos para determinar las concentraciones de O_2 y CO_2 . Como se puede ver en la tabla I.4 predomina el uso de detectores de conductividad térmica tanto para el análisis de CO_2 como O_2 . En el caso concreto del CO_2 , los analizadores de gases de infrarrojos se han utilizado para la determinación de la respiración de vegetales (Calegario *et al.*, 2001). Para el etileno, se utilizan detectores de llama ionizada.

Tabla I.4. Detalles metodológicos utilizados por varios autores para la determinación de la tasa respiratoria de distintos productos hortofrutícolas sometidos a distintos tratamientos.

| Producto | Tratamiento | Método/ equipo análisis (Detector) | Determinación O ₂ (Detector) | Detector Determinación CO ₂ | Intervalo de toma de muestra | Medida C ₂ H ₄ / Detector | Cámara de medida | Temperatura y humedad relativa | Masa producto (g) | Referencia |
|----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------|----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|----------------------|---------------------------------------|
| Kiwi, banana, brócoli, espinaca | Inhibidor del C ₂ H ₄ : carbón vegetal y cloruro de paladio | D / CG | No | TCD | Cada día durante 3 días | Si /FID | Bandeja de metal con tapa de cristal | 20 °C | 40-60 g | Abe & Watada, 1991 |
| Jicama cortada | Envasado en AM | D / AG | No | — | Cada día durante 8 días | No | Frascos de cristal de 250 mL | 0, 5, 10 °C y 95% HR | 3-5 piezas | Aquino-Bolaños, <i>et al.</i> , 2000 |
| Manzana 'Red Delicious' | Evaluación de varias formulaciones de recubrimientos comestibles | D / AG | No | IR | NE | Si | Frascos de cristal de 10 L | 2.5 °C | 2 frutas (400 g) | Avena-Bustillos, <i>et al.</i> , 1997 |
| Melón cortado | Envasado en AM | D/ AG (O ₂ -CO ₂) | Si | — | Cada 8 horas durante 12 días | Si | Frascos de cristal 2 L | 5 °C | 300 g | Bai <i>et al.</i> , 2001 |
| Champiñones | Irradiación | E / CG | No | — | Cada 120 minutos durante 8 días | No | Desecador | 18 °C | 200 g | Benoit <i>et al.</i> , 2000 |
| Bananas | Fresco | E | Si | — | Cada 6 min. durante 10 días, considerando los ciclos entre 20 y 18 kPa de O ₂ | No | Recipientes de polimetacrilato | 20-22 °C | 10 frutos | Bower <i>et al.</i> , 1998 |
| Tomate | Fresco con distintos índices de madurez | D / AG | No | TCD | Cada día durante 7 d | No | Frascos de cristal de 3.4 L | NE | NE | Calegario <i>et al.</i> , 2001 |
| Champiñones | Envasado en films plásticos | D y P / CG | Si | — | 1 hora cada día hasta que se alcanzó la fase estacionaria | No | Contenedores plásticos 3.3 L | 4 °C | 650 g | Exama <i>et al.</i> , 1993 |
| Col rizada entera y hecha trizas | Cortado Envasado en AM | E / CG | Si | — | A diferentes intervalos dependiendo de la temperatura, hasta 560 min | No | Frascos de cristal de 1.7 L | 1, 5, 10, 15 y 20 °C | ≈ 150 g | Fonseca <i>et al.</i> , 2002b |

Método experimental estático (E), dinámico (D) o permeable (P). Cromatógrafo de gases (CG). Analizador de gases (AG). Detector de llama ionizada (FID), de conductividad térmica (TCD), de infrarrojo (IR). No especificado (NE).

I. Introducción

Continuación Tabla I.4

| Producto | Tratamiento | Método/ equipo análisis (Detector) | Determinación O ₂ (Detector) | Detector Determinación CO ₂ | Intervalo de toma de muestra | Medida C ₂ H ₄ / Detector | Cámara de medida | Temperatura y humedad relativa | Masa producto (g) | Referencia |
|---------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------|
| Patatas cortadas | Envasado en AM y aplicación de agentes antipardeantes | E / CG | Sí (TCD) | TCD | Cada 12 horas durante 2 días | No | Frascos de cristal de 3.8 L | 2, 5, 10 y 20 °C | 500 g | Gunes & Lee, 1997 |
| Láminas de manzana | Irradiación | E / CG | Sí (TCD) | TCD | Cada 4, 27 y 72 horas | Sí /FID | Frascos de cristal de 500 mL | 5 °C y HR= 95% | 150 g | Gunes <i>et al.</i> , 2000 |
| Láminas de manzana | Combinación de gases: 0-30 kPa CO ₂ y 0-10 kPa O ₂ | D / GC | Sí (TCD) | TCD | 1 día al inicio y después de 1, 2 y 3 semanas | Sí /FID | Frascos de cristal de 1 L | 5 °C | 200 g | Gunes <i>et al.</i> , 2001 |
| Cerezas de distintas variedades | Envasado en AM | E | Sí (TCD) | TCD | Hasta que el %O ₂ =2 | No | Frascos de cristal de 750 mL | 2, 5 y 20 °C | 300 ± 10 g | Jaime <i>et al.</i> , 2001 |
| Zanahoria cortada | Adición de ácido cítrico | NE / AG | No | — | Cada día durante 7 días | No | Frascos de cristal de 3.8 L | 15°C y HR=100% | 100 g | Kato-Noguchi & Watada, 1997 |
| Láminas de manzana | Envasado en AM | D y P / AG | Sí | — | Cada día hasta alcanzar el estado estacionario (3, 4, 8 y 12 días para 15, 10, 5 y 0°C respectivamente) | No | Frascos de cristal. Envases de plástico | 0, 5, 10 y 15°C | 100 g | Lakukul <i>et al.</i> , 1999 |
| Brócoli cortado | Envasado en AM | D y P / CG | Sí | — | Cada 30 min hasta que el %O ₂ =2 | No | Frascos de cristal de 3.8 L | 24 °C | 185 g | Lee <i>et al.</i> , 1991 |
| Láminas de manzana | Deshidratación y rehidratación | D / AG | No | — | En función del nivel de secado de la muestra: frescas intervalos inferiores a 1 min, deshidratadas y rehidratadas intervalos de hasta 5 h | No | Contenedores herméticos | 20 °C | En función del nivel de secado de la muestra | Lewicki <i>et al.</i> , 2001 |
| Granada mínimamente procesada | Tratamiento con UV-C | D / CG | Sí | TCD | Cada día | No | Frascos de cristal de 750 mL | 5°C durante 5 días | 125 g | López-Rubira <i>et al.</i> , 2005 |

Modelo experimental estático (E), dinámico (D) o permeable (P). Cromatógrafo de gases (CG). Analizador de gases (AG). Detector de llama ionizada (FID), de conductividad térmica (TCD), de infrarrojo (IR). No especificado (NE).

Continuación Tabla I.4

| Producto | Tratamiento | Método/ equipo análisis (Detector) | Determinación O ₂ (Detector) | Detector Determinación CO ₂ | Intervalo de toma de muestra | Medida C ₂ H ₄ / Detector | Cámara de medida | Temperatura y humedad relativa | Masa producto (g) | Referencia |
|---------------------------------------|-------------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------|----------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|----------------------|-----------------------------------------|
| Láminas de manzana y manzanas enteras | Envasado en AM y cortado | P / CG | Si (TCD) | TCD | Cada 2-3 días durante 2 semanas | Si /FID | Envase plástico (PELD) | 1 °C | 400 g | Lu & Toivonen, 2000 |
| Melón cortado | Tratamiento con calcio | D / AG (CO ₂) | No | IR | Cada 12 h durante 12 d y cada 24 h el resto del almacenamiento | Si /FID | Frascos de cristal de 236.6 mL | 5°C y HR=95% | NE | Luna-Guzmán <i>et al.</i> , 1999 y 2000 |
| Manzanas | Envasado en AM | E / GC | Si (columna de malla molecular) | Columna Porapack-Q | El intervalo de medida fue diferente en función de la temperatura. | No | Envases de 5 L de acrílico | 0, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 °C | ≈ 1300 g | Mahajan& Goswami, 2001 |
| Papaya | Corte en mitades y eliminación o no de semillas | E / AG (CO ₂) | No | — | Se analizó 1 mL del espacio de cabeza después de 1 hora | Si | Frascos de cristal de 460 mL | 22°C y HR=60-70% | NE | Paull & Chen, 1997 |
| Melón cortado | Corte afilado o desafilado | D / AG | No | — | Cada día durante 11 días. | Si | 250 mL (cristal) | 5 y 10 °C | 10 piezas | Portela & Cantwell, 2001 |
| Láminas de manzana | Envasado en AM | P / AG | Si (sensor electroquímico) | Espectrofotómetro mini-IR | A los 0, 4, 8 y 12 días de almacenamiento | No | Cajas de polipropileno | 4 °C | 200 g | Rocculi <i>et al.</i> , 2004 |
| Melón cortado | Tratamiento con calcio | D / AG (CO ₂) | No | — | Cada 6 h durante 7 d | Si /FID | Frascos de cristal de 1 L | 10 °C y HR >90% | 150 g | Saftner <i>et al.</i> , 2003 |
| Caqui | Aplicación de 1-MCP | E / GC | No | TCD | Después de 2 h (CO ₂) y después de 24 h (C ₂ H ₄) a lo largo del almacenamiento (50 d) | Si /FID | Frascos de cristal de 2 L | 20 °C | NE | Salvador <i>et al.</i> , 2004 |
| Manzana en láminas | Envasado en AM | P Micro-GC | Si (TCD) | TCD | Cada 4-5 días durante 60 días | No | Bolsas de plástico | 4 °C | 100 g | Soliva-Fortuny <i>et al.</i> , 2002 |

Modelo experimental estático (E), dinámico (D) o permeable (P). Cromatógrafo de gases (CG). Analizador de gases (AG). Detector de llama ionizada (FID), de conductividad térmica (TCD), de infrarrojo (IR). No especificado (NE). 1-Metilciclopropano (1-MCP).

I. Introducción

Continuación Tabla I.4

| Producto | Tratamiento | Método/ equipo análisis (Detector) | Determinación O ₂ (Detector) | Detector Determinación CO ₂ | Intervalo de toma de muestra | Medida C ₂ H ₄ / Detector | Cámara de medida | Temperatura y humedad relativa | Masa producto (g) | Referencia |
|-----------------|----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------|----------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| Arándanos | Envasado en AM | E / GC | Sí (TCD) | TCD | Se tomaron medidas (1 mL periódicamente) hasta que la [O ₂] < 15% o la [CO ₂] > 2% | No | Botes 2 L (cristal) con tapa metálica | 15 y 25 °C | 250 kg | Song <i>et al.</i> , 2002 |
| Mango cortado | Cortado y deshidratación osmótica con pulso de vacío. | E / GC | No | TCD | Cada 24 h los contenedores se ventilaban y tapaban con film. Después de 45 min se analizaba CO ₂ y C ₂ H ₄ | Sí / FID | Fascos de cristal de 960 mL cubiertos por film de PEHD | 24, 13 y 5 °C | 6 láminas de (10x50x40 mm) | Tovar <i>et al.</i> , 2001 a y b |
| Limón | Tratamiento con calcio | E / GC | Sí (TCD-FID) | TCD-FID | Después de mantener durante 3.5 h la fruta cerrada en los frascos | No | Fascos de cristal de 2L | 11°C | NE | Tsantili <i>et al.</i> , 2002 |
| Ciruelas | Aplicación 1-MCP | E / GC | No | TCD | NE | Sí / FID | Fascos de cristal de 3L | 1 y 20 °C | NE | Valero <i>et al.</i> , 2003 |
| Manzana cortada | Aplicación de recubrimientos comestibles | E / GC (CO ₂) AG (O ₂) | Sí | TCD | NE | Sí | Fascos de cristal de 450 mL | 23 ± 1°C | 3 piezas de manzana | Wong <i>et al.</i> , 1994 |
| Nabo cortado | Cortado | E / GC | Sí (TCD) | TCD | Se tomaron medidas hasta que la [O ₂] < 1% o la [CO ₂] > 19% | No | Botes 16 L (metal) | 5 °C | 6 kg | Zhu <i>et al.</i> , 2001 |
| Nabo cortado | Envasado en AM | P / GC | Sí (TCD) | TCD | 3 ó 5 veces al día durante 5 días | No | Botes 16 L (metal) con ventana de film | 5 °C | 5 kg | Zhu <i>et al.</i> , 2002 |

Modelo experimental estático (E), dinámico (D) o permeable (P). Cromatógrafo de gases (GC). Analizador de gases (AG). Detector de llama ionizada (FID), de conductividad térmica (TCD), de infrarrojo (IR). No especificado (NE). 1-Metilciclopropano (1-MCP).

Se han desarrollado varios modelos matemáticos para correlacionar la tasa de respiración con diferentes parámetros de almacenamiento, como la concentración de gases de la atmósfera (CO_2 y O_2) y la temperatura, pero no siempre considerando ambos factores simultáneamente, como se ha comentado anteriormente. Fonseca *et al.*, (2002a), muestran en su revisión los distintos modelos matemáticos encontrados en la literatura, así como los factores de correlación a aplicar para poder comparar los resultados obtenidos. A continuación, se citan los modelos más relevantes encontrados en dicha revisión y en otras fuentes bibliográficas.

La estrategia usual para modelizar la respiración ha sido la utilización de modelos empíricos para cada tipo de materia prima en función de variables controlables. La ecuación más simple fue presentada por Henig & Gilbert (1975) para tomate, observando que la tasa de respiración presenta un aumento lineal con las concentraciones de O_2 entre 4% y 11.5% y una tasa constante para concentraciones mayores de O_2 . Otros modelos que describen el consumo de O_2 como una función lineal de la presión parcial de O_2 (Hayakawa *et al.*, 1975; Mannapperuma *et al.*, 1989), no fueron adecuados para la predicción del consumo de O_2 particularmente en las regiones de bajas presiones parciales (Cameron *et al.*, 1995). Existen también modelos que se basan en funciones polinómicas que requieren muchos coeficientes ajustables como el descrito por Yang & Chinnan (1988). Estos autores usaron una función cuadrática con 9 parámetros para correlacionar la tasa de respiración del tomate con el tiempo de almacenamiento y con las concentraciones de O_2 y CO_2 . Talasila *et al.*, (1992), tuvieron en cuenta además el efecto de la temperatura y desarrollaron un modelo no lineal para predecir la respiración de la fresa. Otros autores (Cameron *et al.*, 1989) usaron una aproximación ensayo-error para ajustar la curva de consumo de O_2 del tomate con una función del tipo exponencial de 4 coeficientes.

El enfoque más reciente para modelizar la tasa respiración en relación con la concentración de O_2 ha sido el uso de una ecuación del tipo de Michaelis-Menten (ecuación 1.9), con los parámetros (V_m : es la tasa de respiración máxima y K_m : es la constante de Michaelis-Menten (% O_2)), que

se basa en las cinéticas enzimáticas (Cameron *et al.*, 1994; Lee *et al.*, 1991; Peppelenbos *et al.*, 1993).

$$TR_{O_2} = \frac{V_m[O_2]}{K_m + [O_2]} \quad (1.9)$$

Este modelo es una simplificación que ajusta muy bien los datos experimentales, basándose en una reacción enzimática limitante en la que el sustrato es el O₂ (Andrich *et al.*, 1991; Lee *et al.*, 1991). Otra razón para su uso es su similitud con la respiración microbiana, para la que esta ecuación es muy utilizada. Lee *et al.*, (1991), fueron los primeros en sugerir el uso de la ecuación de Michaelis-Menten para describir la tasa de respiración de los productos en función de la presión de O₂ y se ha utilizado para modelizar la tasa respiratoria de manzanas (Andrich *et al.*, 1991; Andrich *et al.*, 1998; Dadzie *et al.*, 1996; Lee *et al.*, 1991; Peppelenbos & Leven, 1996)), láminas de manzana (Lakakul *et al.*, 1999), plátanos (Lee *et al.*, 1991; Maneerat *et al.*, 1997), arándanos (Cameron *et al.*, 1994; Lee *et al.*, 1996; Song *et al.*, 1992), frambuesas (Joles *et al.*, 1994), espárragos (Lee *et al.*, 1991; Peppelenbos & Leven, 1996), brócoli (Lee *et al.*, 1991; Peppelenbos & Leven, 1996), brócoli cortado (Haggar *et al.*, 1992; Lee *et al.*, 1991; Lee *et al.*, 1996; Peppelenbos & Leven, 1996; Talasila *et al.*, 1994), cerezas (Salvador *et al.*, 2002), ensalada de col con zanahoria (McLaughlin & O'Beirne, 1999), lechuga cortada (Smyth *et al.*, 1998), coliflor (Ratti *et al.*, 1996) y otros muchos vegetales (Fonseca *et al.*, 2002a). Este modelo respiratorio es válido sólo para respiración aeróbica, y la composición de los gases no se predice bien cuando la concentración de O₂ es muy baja. Puede utilizarse para diseñar sistemas de MAP, teniendo en cuenta que la concentración de CO₂ debe estar por debajo de los límites establecidos para el producto y el O₂ debe ser suficiente para mantener la respiración aeróbica (Lee *et al.*, 1991).

En numerosas ocasiones el CO₂ actúa como inhibidor de la respiración. En este sentido, la ecuación de Michaelis-Menten puede contemplar distintos comportamientos del dióxido de carbono en el metabolismo del producto: competitivo, acompetitivo, no competitivo y una

combinación de las inhibiciones competitivas y acompetitivas (Lee *et al.*, 1991; Mc Laughlin & O'Beirne, 1999; Mahajan *et al.*, 2001; Fonseca *et al.*, 2002a).

Una inhibición competitiva (ecuación 1.10) ocurre cuando tanto el inhibidor (CO₂) como el sustrato (O₂) compiten por el mismo sitio activo del enzima, por tanto, la máxima tasa respiratoria es más baja con altas concentraciones de CO₂.

$$TR = \frac{V_m [O_2]}{K_m \left(1 + \frac{[CO_2]}{K_i} \right) + [O_2]} \quad (1.10)$$

K_i: constante de inhibición (% CO₂)

La inhibición acompetitiva (ecuación 1.11) tiene lugar cuando el inhibidor reacciona con el complejo enzima-sustrato, así que la tasa de respiración máxima no está demasiado influenciada por las altas concentraciones de CO₂.

$$TR = \frac{V_m [O_2]}{K_m + \left(1 + \frac{[CO_2]}{K_i} \right) [O_2]} \quad (1.11)$$

Se produce una inhibición de la respiración no competitiva cuando el inhibidor reacciona tanto con el enzima como con el complejo sustrato-enzima. El inhibidor no compite con el sustrato por unirse al enzima, así que ambos pueden unirse simultáneamente a éste.

$$TR = \frac{V_m [O_2]}{\{K_m + [O_2]\} \left(1 + \frac{[CO_2]}{K_i} \right)} \quad (1.12)$$

Por último, también se ha estudiado una combinación de la inhibición acompetitiva y la competitiva (ecuación I.13) (Fonseca *et al.*, 2002a).

$$TR = \frac{V_m [O_2]}{K_m \left(1 + \frac{[CO_2]}{K_i}\right) + [O_2] \left(1 + \frac{[CO_2]}{K_i}\right)} \quad (I.13)$$

Donde TR es la tasa de respiración (consumo de O₂ o producción de CO₂), expresada en m³kg⁻¹s⁻¹ o en mol kg⁻¹s⁻¹ o en mL kg⁻¹s⁻¹; V_m es la tasa de respiración máxima expresada en m³kg⁻¹s⁻¹ o en mol kg⁻¹s⁻¹ o en ml kg⁻¹s⁻¹; K_m es la constante de Michaelis-Menten (%O₂); K_i: constante de inhibición (%CO₂); [CO₂] y [O₂] la concentración de dióxido de carbono (%CO₂) y la concentración de oxígeno (%O₂) respectivamente.

La validez de este modelo de la respiración fue evaluada por Lee *et al.*, (1991) con datos publicados. Para ello, se linealizaron las ecuación (I.9) y (I.11), obteniendo las ecuaciones (I.14) y (I.15). A partir de éstas últimas se representaron los valores de [O₂]/TR frente a los de [O₂], y los valores de 1/TR frente a los de [CO₂], obteniendo rectas con unos coeficientes de correlación (r²) superiores a 0.95 en la mayoría de los casos.

$$\frac{[O_2]}{TR} = \frac{K_m}{V_m} + \frac{[O_2]}{V_m} \quad (I.14)$$

$$\frac{1}{TR} = \frac{1}{V_m} + \frac{K_m}{V_m} \frac{1}{[O_2]} + \frac{1}{K_i V_m} [CO_2] \quad (I.15)$$

De la pendiente de la recta obtenida del ajuste de la ec. I.14, se puede conocer la tasa de respiración máxima (1/V_m), y de la ordenada en el origen, la constante aparente de Michaelis Menten (K_m). A partir de la pendiente de la recta 1/TR frente a [CO₂], se conoce la constante de inhibición acompetitiva por parte del CO₂, K_i. Con todos estos parámetros cinéticos (K_m, V_m y K_i), se puede predecir la tasa de respiración de un producto en función de la concentración de gases que hay en el exterior. Su aplicación en el estudio de envases en atmósfera modificada tiene gran importancia. No obstante, además de conocer el metabolismo del producto, hay que tener muy claros los parámetros característicos del envase en el que va a estar contenido.

2.5. Efecto del procesado en la respiración de frutas y vegetales

Hay una gran diversidad de procesos que intervienen en la estabilidad de frutas y vegetales mínimamente procesadas. Entre ellos, se pueden citar: el pelado-cortado, la adición de aditivos (conservantes, antioxidantes, vitaminas, minerales, inhibidores del etileno...), la irradiación; la aplicación de recubrimientos comestibles... Todas estas operaciones repercuten de manera importante en el metabolismo de los productos. A continuación se describen algunos efectos de los tratamientos mínimos más importantes en la respiración de frutas y vegetales. Como se ha comentado anteriormente, estos productos requieren el mantenimiento de unas condiciones de almacenamiento muy controladas para conservar lo mejor posible sus características organolépticas. Para ello, usualmente se introducen en envases a los que normalmente se les modifica la composición de gases de su atmósfera. En función de la permeabilidad del film, de la tasa de respiración del producto y de las condiciones de almacenamiento, la comercialización de estos productos podrá ser más o menos viable.

2.5.1. Refrigeración. Daños por frío

Como se ha explicado en el apartado 2.3. de la introducción, la temperatura juega un papel importante en el control de los procesos fisiológicos de las frutas y hortalizas. En concreto, se han descrito varios modelos que relacionan el aumento de la tasa respiratoria con el aumento de la temperatura. A continuación, se pone de relevancia la problemática del uso indiscriminado de temperaturas excesivamente bajas en los productos vegetales.

Los daños por frío ("chilling injury") son un desorden fisiológico inducido en vegetales por bajas temperaturas (<12 °C), pero no de congelación. Los daños por frío se manifiestan mediante un aceleramiento de las lesiones fisiológicas y un aumento en la incidencia de patologías, donde las alteraciones se registran principalmente en las zonas exteriores del fruto, como la piel. Como consecuencia, se produce una incapacidad para madurar, una potenciación de la susceptibilidad al ataque microbiano, un aumento en

la tasa respiratoria y en los niveles de compuestos fenólicos (Wang, 1994). Se cree que están relacionados con daños a nivel de membrana celular.

Las oligosacarinas pécticas están implicadas en las interacciones entre las plantas y los patógenos e inducen cambios en los tejidos vegetales sanos, como la biosíntesis de etileno, la despolimerización de las membranas o el flujo de iones. Baladrán-Quintana *et al.*, 2002 estudiaron la relación entre los oligómeros pécticos en la respuesta fisiológica por daños por frío en discos de calabacín a 20 y a 2.5 °C. Los resultados mostraron que a 20 °C las oligosacarinas pécticas aumentaron la biosíntesis de etileno pero apenas varió la tasa respiratoria. Sin embargo, a 2.5 °C, los oligómeros pécticos aumentaron tanto la biosíntesis de etileno, como la tasa respiratoria. Según estos autores, las bajas temperaturas podrían activar la acción de las poligacturonasas de las paredes celulares que liberarían oligosacarinas pécticas, actuando como mensajeros para que se desencadenaran los procesos metabólicos comentados como consecuencia de los daños por frío. Sin embargo, los mecanismos exactos por los que las plantas transforman la señal de las bajas temperaturas en los síntomas de daños por frío todavía no están claros.

Los productos más sensibles a los daños por frío son generalmente aquellos que provienen de zonas tropicales o subtropicales, como los cítricos, banana, piña, papaya, mango, caqui, pepino, berenjena, tomate, entre otras. No obstante, hay que resaltar que la mayoría de estas frutas cuando se procesan mínimamente no son susceptibles a daños por frío y además se recomienda almacenarlas a temperaturas próximas a 0 °C, ya que se aumenta su vida útil óptima reduciendo el crecimiento de microorganismos (Pérez, 2003). En este sentido, Tovar *et al.*, (2001a), observaron que láminas de mango deshidratadas osmóticamente con un pulso de vacío y almacenadas a 5 °C presentaron menor tasa respiratoria, menor pérdida de electrolitos y un mejor mantenimiento de la microestructura que cuando se almacenaron a 13 ó 24 °C. Sin embargo, el mango entero sufre daños por frío a temperaturas inferiores a 13 °C. Por otra parte, Corbo *et al.*, (2004) encontraron que fruta "pear cactus" mínimamente procesada (láminas de 0.5 cm de espesor) presentó una vida útil más larga a 4 °C que a las

temperaturas recomendadas para el producto entero (temperaturas superiores a 10 °C ya que sufre daños por frío (Rolle & Chism, 1987)).

2.5.2. Pelado-cortado

La fisiología de las frutas y vegetales ligeramente procesados es esencialmente la fisiología de los tejidos heridos. En este tipo de procesos se encuentran operaciones como la abrasión, el pelado, el laminado, el picado, o el desmenuzado que provocan en el producto un aumento de la respiración y de la producción de etileno, y en muchos casos, la inducción a procesos de cicatrización (Brecht, 1995a). Fonseca *et al.*, 2002b, observaron que la col rizada hecha trizas/desmenuzada presentaba una tasa respiratoria aproximadamente el triple que la tasa respiratoria de las hojas enteras, como consecuencia tanto de la respuesta fisiológica a las heridas causadas por el corte, como del aumento de la superficie disponible para ejercer el intercambio gaseoso con el ambiente. De la misma forma, Lakakul *et al.*, (1999), demostraron que láminas de manzana tenían una tasa respiratoria del orden de 2 ó 3 veces la TR de la fruta entera reportada (Gran, 1993; Kader *et al.*, 1989), debido sobre todo a los efectos de las heridas y no tanto a la reducción de la resistencia de la difusividad producida por el laminado. El umbral de fermentación en las láminas de manzana estuvo alrededor de la mitad del reportado para las frutas enteras por Gran & Beaudry (1992), como consecuencia de la eliminación de la piel, cuya función es la de barrera del intercambio gaseoso, acoplado con una reducción en la longitud de la distancia de difusión. Otros cambios son de naturaleza física o química, tales como las reacciones de pardeamiento y la oxidación de lípidos, o el aumento en la pérdida de agua debido a la degradación de la membrana que provoca una descompartimentación, facilitando el encuentro de enzima y sustratos y la acumulación de metabolitos secundarios (Portela & Cantwell, 2001). Al mismo tiempo, aumentan las reacciones bioquímicas responsables de cambios en las características de calidad, como la textura, el color, sabor y el valor nutricional (Cantwell, 1992). Muchos factores pueden afectar a la intensidad de la respuesta de los tejidos ligeramente procesados. Entre ellos están la especie y variedad, el estado de madurez fisiológica, la extensión del

daño, la temperatura, la concentración de O₂ y CO₂, la presión de vapor de agua y varios inhibidores. Conseguir minimizar las consecuencias negativas de las heridas en las frutas mínimamente procesadas (FMP), supone un aumento en su vida útil, y una mayor conservación de su calidad nutricional, apariencia y sabor (Brecht, 1995a).

La intensidad de la herida producida por el corte es un factor importante en el comportamiento que van a manifestar las frutas mínimamente procesadas. Por esta razón, Portela & Cantwell, 2001 estudiaron la el efecto del corte con cuchillas afiladas y no afiladas en las características fisicoquímicas, en la respiración, en la producción de etileno y volátiles de melón *Cantaloupe* cortado a 5 y 10 °C. Estos autores vieron que las piezas de melón cortadas con un cuchillo afilado tuvieron la mayor vida útil a 5 °C que las muestras cortadas con un cuchillo desafilado. En cuanto a la apariencia, la mayor diferencia se encontró en el color, mostrando las muestras troceadas con el cuchillo desafilado menor valor de L* y h*, lo que estaría asociado con la progresiva apariencia de translucidez, que es un defecto común en los melones cortados comerciales. El tipo de corte afectó muy ligeramente a las tasas de respiración y de producción de etileno. Sin embargo, las piezas cortadas con el cuchillo desafilado tuvieron mayor concentración de etanol y de otros volátiles, así como una mayor pérdida de electrolitos. Concluyeron que minimizando los daños mecánicos se mantendrían mejor los atributos de calidad del melón cortado.

2.5.3. Tratamientos con aditivos

2.5.3.a. Antipardeantes

Al trocear los vegetales y las frutas se están eliminando todas las barreras protectoras contra la oxidación, poniendo en contacto el aire con los sustratos del producto y favoreciendo así que actúen las principales enzimas responsables de la oxidación.

Entre los efectos más importantes que surgen de acción de la actividad enzimática, cabe destacar el pardeamiento enzimático, la decoloración y la oxidación de las grasas de las membranas celulares,

provocando importantes cambios en el color y en el aroma de los alimentos procesados mínimamente. Las principales enzimas que actúan en estos productos son las polifenoloxidasas, las peroxidasas, las hidrolasas, las fosfolipasas y las lipoxigenasas (Lamikanra & Watson, 2001; Brecht, 1995a; Gunes & Lee, 1997; Kato-Noguchi & Watada, 1997; Pérez, 2003).

Muchos compuestos químicos actúan como agentes antipardeantes en la respuesta fisiológica de frutas y hortalizas mínimamente procesadas, pudiéndose englobar en cinco grupos químicos: ácidos carboxílicos (acético, cítrico, fórmico, fumárico, láctico, málico oxálico, tartárico...), derivados del ácido ascórbico (ascórbico, ascorbato-Ca, ascorbato-Fe, ascorbato-Mg, ascorbato-Na...), aminoácidos con grupos sulfuros (cisteína, histidina, glutadiona, metionina y N-acetilcisteína), ácidos fenólicos (caféico, clorogénico, gálico...) y otros (CaCl₂, NaCl, 4-Hexilresorcinol, miel) (Son *et al.*, 2001). De entre ellos, destacan el uso del 4-Hexilresorcinol, el ácido ascórbico y su sal sódica, el ácido isoascórbico y su sal sódica, el ácido etilendiaminotetra-acético, el ácido cítrico, el ácido oxálico, la L-cisteína, el ácido tartárico... (Pérez *et al.*, 2003). Estos compuestos pueden afectar al comportamiento fisiológico de las frutas y hortalizas mínimamente procesadas. En este sentido, Kato-Noguchi & Watada, (1997), determinaron el efecto de varias concentraciones de ácido cítrico (0, 1, 3, 10, 100 ó 300 mM) en la producción de CO₂ en zanahoria rallada. Los resultados mostraron un descenso en la tasa respiratoria en aquellas muestras tratadas con ácido cítrico a partir de una concentración de 1 mM, obteniéndose valores del 82%, 60%, 51%, 35% y el 31% de los niveles de TR respecto al control para 1, 3, 10, 30 y 100 mM de ácido cítrico el tercer día de almacenamiento, que fue cuando se alcanzó el equilibrio en la respiración de la zanahoria rallada. Pérez, (2003), estudió el efecto de diferentes disoluciones de sacarosa con compuestos antipardeantes (ascorbato, ascorbato-Ca⁺², citrato, citrato-Ca⁺², isotónica e isotónica-Ca⁺²) aplicadas mediante la técnica de impregnación a vacío en muestras de pera *var. Blanquilla* en la tasa respiratoria. Se obtuvo una TR de O₂ muy similar para todas las muestras tratadas, excepto para las muestras con citrato que presentaron un descenso significativo con respecto al resto de las muestras. La TR de CO₂ presentó valores significativamente más bajos en las muestras tratadas con los agentes antipardeantes citrato y

ascorbato. La menor TR del CO₂ y del O₂ para las muestras tratadas con citrato estaría relacionada con la capacidad del citrato para inhibir la actividad de la enzima fosfrutoquinasa, que cataliza la fosforilización de fructosa-6-fosfato a fructosa 1,6-bifosfato, interrumpiendo así la vía glucolítica de la cadena respiratoria en el citoplasma celular (Turner & Turner, 1975; Kato, -Noguchi & Watada, 1997).

La reducción de la respiración provocada por la acción de ácido cítrico pone de manifiesto que los tratamientos con este antipardeante podrían prolongar la vida útil de frutas y hortalizas mínimamente procesadas.

2.5.3.b. Inhibidores y potenciadores del etileno

El etileno (C₂H₄) es un iniciador natural de la maduración y se produce por frutas y vegetales. Si este compuesto, producido por una fruta madura, se acumula en las cercanías de frutas no maduras, desencadena rápidamente el conjunto de reacciones asociadas a la maduración. Se usa comercialmente para madurar frutas climatéricas, como bananas, tomates, melones y aguacates. Este compuesto aumenta la permeabilidad de las membranas y acelera el metabolismo activando las enzimas oxidativas e hidrolíticas. Además, induce la pérdida de color verde, abscisión y ablandamiento, por lo que las cámaras de almacenamiento comercial deben estar equipadas para eliminar el C₂H₄, cuando existen problemas potenciales, con el fin de prolongar la conservación de las frutas (Ansorena, 2003).

La producción de C₂H₄ puede inducirse o estimularse cuando los tejidos vegetales son dañados (Hoffman & Yang, 1982), así que la producción de C₂H₄ podría aumentar cuando frutas y vegetales son pelados, laminados y cortados para preparar productos ligeramente procesados. Como estos productos se colocan en paquetes cerrados, el C₂H₄ puede acumularse y causar cambios en la calidad indeseables (Abe & Watada, 1991). Entre los inhibidores del etileno destacan el carbón vegetal y el 1-metilciclopropano (1-MCP). Por otra parte, el propileno es un análogo activo del etileno que permite la producción endógena de etileno durante el incremento resultante de la respiración (Golding *et al.*, 1999b). El uso de carbón vegetal con cloruro de paladio como absorbedor de etileno, evitó la acumulación del etileno y

redujo el ablandamiento de kiwis y plátanos y las pérdidas de clorofila en las hojas de espinaca pero no en las de brócoli (Abe & Watada, 1991). Golding *et al.*, (1999a), estudiaron la relación entre la respiración, el etileno y la producción de aroma en bananas maduras con propileno y tratadas posteriormente con 1-MCP a distintos intervalos. Observaron que la aplicación a las 6 y 12 h de 1-MCP después del tratamiento por propileno, suponía una inhibición de la sensibilidad al etileno y por tanto una disminución en la respiración. Salvador *et al.*, (2004), estudiaron el efecto de la aplicación de 1-MCP en caqui para reducir los daños por frío y vieron que el tratamiento mantuvo la firmeza e inhibió la abscisión del cáliz, comportamientos propios como consecuencia del estrés por los daños por frío.

2.5.3.c. Adición de calcio

El calcio tiene funciones esenciales en la planta a nivel estructural y fisiológico (Piñeros & Tester, 1997). Es importante en el mantenimiento de la estabilidad de la pared celular y la membrana debido a su capacidad de unión química entre esas estructuras (Taiz & Zeiger, 1991; Marschner, 1995). También juega un papel esencial en la homeostasis celular y en el desarrollo de la planta, como un mensajero secundario intracelular (Hepler & Wayne, 1985; Sanders *et al.*, 1994).

La concentración de catión calcio intracelular es muy baja, del orden de 1 μmol (μM), debido al continuo transporte del mismo en el citoplasma actuando como mensajero secundario, aunque se absorbe en grandes cantidades y su presencia en la planta es similar a la que puede tener el fósforo, el azufre o el magnesio, lo que puede significar hasta el 1% de materia seca. La mayor parte de Ca^{2+} se localiza extracelularmente en la pared celular, en los pectatos de la lámina media, en las membranas y en algunos orgánulos celulares como la vacuola (Figura 1.5), encontrándose, en tejido parenquimático, en las vacuolas (Val *et al.*, 1999).

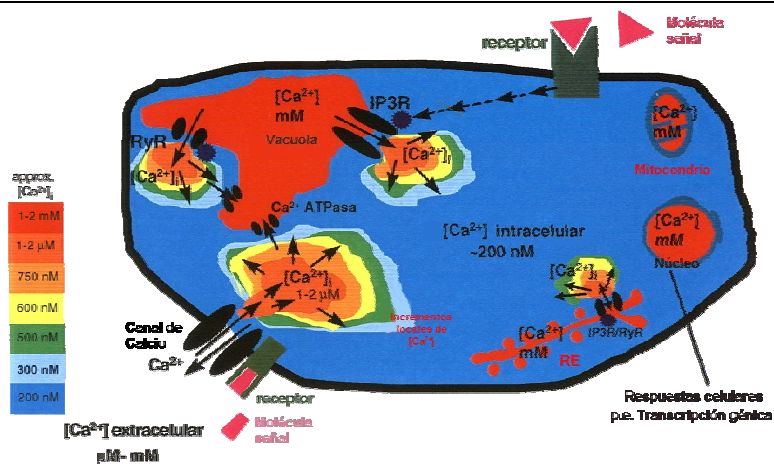


Figura I.5. Concentración de cationes calcio a nivel celular en célula parenquimática de manzana (Val *et al.*, 1999).

Los grupos carboxilos de los homogalacturonanos (cadenas constituidas únicamente por ácido galacturonosil, formando pectinas) pueden estar disociados y dar lugar a la formación de puentes de Ca^{2+} , que constituyen la estructura conocida como “caja de huevos” (Figura I.6) (Azcón-Bieto & Talón, 2000).

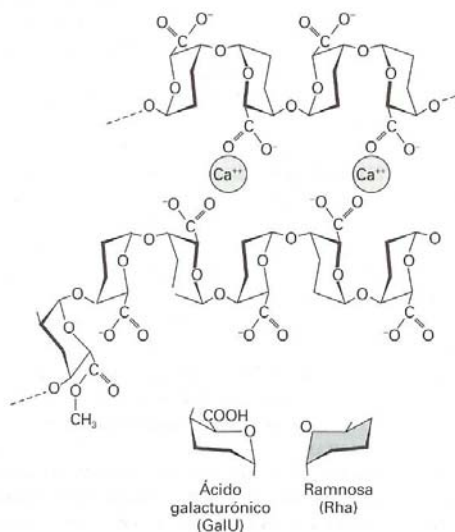


Figura I.6. Región de homogalacturonano formando puentes de calcio (Azcón-Bieto & Talón, 2000)

En el interior de la célula, el calcio se encuentra en las vacuolas donde, dado el pH ácido de las mismas, puede precipitar como sales de oxalato, fosfato, carbonato, sulfato, etc., según las especies. Sin embargo, en el citosol, su concentración sigue siendo muy baja, pues si bien activa algunas enzimas, muchas otras son inhibidas frente a concentraciones de calcio superiores a 1 μM . Otros autores como Read *et al.*, (1992), indican que las concentraciones de calcio libre en el citosol son del rango 30-200 nM, tres o cuatro órdenes de magnitud más bajos que los encontrados en los orgánulos intracelulares y en los espacios extracelulares (Felle, 1988; Giroy *et al.*, 1990).

El Ca^{2+} actúa como mensajero secundario en un gran número de respuestas de las células vegetales a estímulos ambientales y fisiológicos, mediados o no por hormonas. Para que un máximo en la concentración de Ca^{2+} libre en el citoplasma genere una respuesta, la concentración basal en reposo debe ser baja y constante. En las células vegetales, se han descrito tres sistemas de transporte activo de Ca^{2+} que mantienen la concentración del Ca^{2+} en torno a 0.1 μM . Se trata de la bomba de Ca^{2+} del plasmalema, un antiporte Ca^{2+} - H^+ localizado en el tonoplasto y una ATPasa que cataliza la acumulación de Ca^{2+} en el retículo endoplasmático (RE) con consumo de ATP. Estos tres sistemas evacúan Ca^{2+} del citoplasma y lo acumulan en las vacuolas o el RE o lo sacan al exterior (Figura I.7). Distintos estímulos como la oscuridad o la concentración de ácido abscísico (ABA) en células oclusivas, inducen directa o indirectamente, vía IP_3 (inositol trifosfato), por ejemplo, una apertura de los canales de Ca^{2+} situados en el plasmalema, las vacuolas y el RE, lo que permite un rápido flujo pasivo de Ca^{2+} que ocasiona un aumento de varios órdenes de magnitud en la concentración de Ca^{2+} del citoplasma (Azcón-Bieto & Talón, 2000).

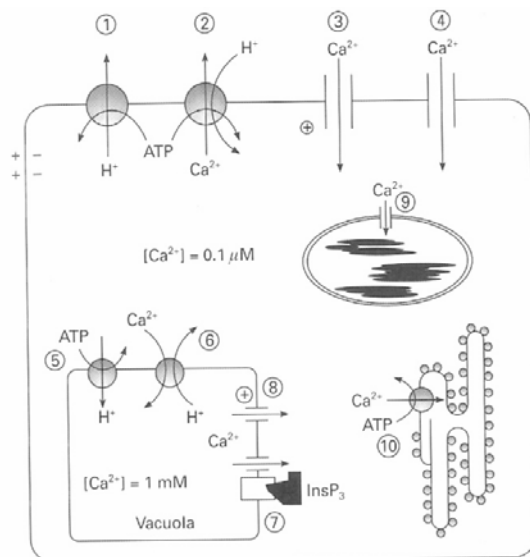


Figura I.7. Tráfico de Ca^{2+} en una célula vegetal. 1) H^+ -ATPasa que “energetiza” el plasmalema e impone un gradiente de potencial electroquímico para H^+ y un potencial de membrana (E_m) negativo en el citoplasma con respecto al exterior. 2) Ca^{2+} -ATPasa del plasmalema. 3) y 4) Distintos tipos de canales de Ca^{2+} . 5) H^+ -ATPasa de la vacuola. 6) Antiporte Ca^{2+} - H^+ del tonoplasto. 7) y 8) Canales de Ca^{2+} del tonoplasto; el signo + y el InsP_3 significan que los canales se activan por voltaje y por inositol 1-4-5 trifosfato. 9) Canal de Ca^{2+} en el cloroplasto. 10) Ca^{2+} -ATPasa del retículo endoplasmático (Azcón-Bieto & Talón, 2000).

El calcio es esencial para el mantenimiento de la estructura y el funcionamiento de las paredes y membranas celulares (Izumi & Watada, 1994). 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). El complejo calcio-pectina actúa como un cemento intracelular que proporciona firmeza al tejido vegetal (Alonso *et al.*, 1995). En este sentido, el cloruro cálcico se ha utilizado para mantener la firmeza de distintos alimentos, como en manzanas enteras (Sams *et al.*, 1993), fresas enteras y en láminas (Rosen & Kader, 1989; García *et al.*, 1996) y en tomates cortados en cuadraditos (Floros *et al.*, 1992).

A pesar de los efectos beneficiosos del calcio en la textura del producto, en función de cómo se adicione, puede impartir amargor o sabores extraños, como es el caso del cloruro cálcico (Olsen *et al.*, 1966; Bolin & Huxoll, 1989; Monsalve-González *et al.*, 1993). El lactato cálcico se ha utilizado como agente de potenciador de firmeza alternativo en fresas (Morris *et al.*, 1985; Main *et al.*, 1986) y en uvas (Baker, 1993) sin encontrar grandes diferencias de sabor con los productos no tratados.

Además de mantener la firmeza de tejidos vegetales, la adición de calcio reduce la tasa respiratoria y suprime la producción de etileno de determinados productos, retardando la senescencia, debido a que concentraciones superiores a 1 μM de calcio citosólico pueden inhibir la acción de muchas enzimas (Azcón-Bieto & Talón, 2000). Luna-Guzmán *et al.*, (2000), estudiaron el efecto tanto del cloruro cálcico, como del lactato cálcico en la calidad del melón *Cantaloupe* cortado. Se evaluó el efecto de dos concentraciones (1-2.5%) de sal a temperatura ambiente (25 °C) y también se evaluaron las repercusiones de un aumento de la temperatura (60 °C) en disoluciones con un 1% de cada sal. La producción de CO_2 permaneció en un nivel bajo ($\approx 1.94 \text{ mg kg}^{-1}\text{h}^{-1}$) para todas las muestras hasta el sexto día, cuando los niveles empezaron a aumentar. Durante la subida, las muestras tratadas con calcio manifestaron niveles más bajos de CO_2 que las piezas de melón no tratadas. El aumento en la respiración a los 6 días, podría haberse debido al mayor desarrollo microbiológico a partir de ese periodo. Las muestras tratadas con calor tuvieron la producción más alta de etileno (C_2H_4), mientras que las muestras tratadas con lactato cálcico tuvieron los niveles más bajos. A pesar de todo, las diferencias en el comportamiento fisiológico de las muestras tratadas con calcio y las que sólo estaban cortadas no fueron muy significativas. Por otra parte, Tsantili *et al.*, (2002), observaron que limones en un estado de maduración avanzando, redujeron la producción de CO_2 cuando fueron tratados con calcio. Saftner *et al.*, (2003), observaron que trozos de melón tratados con ácido hipocloroso y CaCl_2 o con quelato de calcio, pero especialmente con ácido hipocloroso y propionato de calcio, redujeron la producción de CO_2 en comparación con los que sólo fueron tratados con ácido hipocloroso. No obstante, únicamente se redujo la producción de etileno en las muestras tratadas con propionato de

calcio y ácido hipocloroso y además este tratamiento fue el que más redujo el desarrollo de microorganismos durante el almacenamiento. Serrano *et al.*, (2004) observaron que la adición de CaCl_2 y la aplicación de calor en ciruela sometida a daños mecánicos, reducían los cambios fisiológicos provocados por los tejidos heridos, indicando que estos tratamientos provocaban una resistencia al estrés mecánico. Pérez, (2003), evaluó la evolución de los gases (O_2 , CO_2 , etanol y acetaldehído) en función de las disoluciones de sacarosa con compuestos antipardeantes solos o combinados con lactato de calcio empleadas en muestras de pera *var. Blanquilla*. La combinación de calcio ascorbato o la disolución isotónica fueron los tratamientos que provocaron menor alteración de la composición de O_2 y CO_2 del espacio de cabeza durante el almacenamiento, con un menor desarrollo de volátiles indeseables.

La aplicación de calcio en los productos vegetales también puede reducir su pardeamiento enzimático y aumentar la resistencia del tejido celular a los ataques bacterianos y fúngicos, dependiendo de la sal utilizada, como consecuencia de la estabilización y/o reforzamiento de las paredes celulares (Conway & Sams, 1984; Bolin & Huxoll, 1989). Luna-Guzmán & Barrett (2000), observaron que el lactato de calcio produjo un efecto de secado en las superficies de melón mínimamente procesado, lo que limitó el crecimiento bacteriano, probablemente debido a la reducción en la disponibilidad de agua superficial (Lund, 1983).

2.5.4. Deshidratación

La deshidratación de frutas y vegetales se realiza para obtener productos estables que conserven sus atributos sensoriales y nutricionales. La forma de deshidratar los alimentos puede ser mediante un secado por aire caliente, osmóticamente, liofilizando o realizando tratamientos combinando las operaciones anteriores. Aunque hay evidencia de que ciertos sistemas enzimáticos sobreviven al estrés de la deshidratación (Lewicki *et al.*, 2001), también se debe considerar que en función de la intensidad del tratamiento y la concentración alcanzada la viabilidad celular podrá mantenerse o anularse (Ferrando & Spiess, 2001) y por tanto su capacidad para mantener su

metabolismo activo. En este sentido, tratamientos ligeros de deshidratación podrían mantener la funcionalidad celular, aportando mayor estabilidad al producto y por tanto mayor vida útil. No obstante, se han encontrado escasas referencias bibliográficas acerca del efecto de la deshidratación en la respiración de frutas y hortalizas. A continuación, se presentan los resultados publicados por los autores que han trabajado en este tema.

Experimentos llevados a cabo por Haas *et al.*, (1974), mostraron que láminas de apio fresco parcialmente deshidratadas a 35 °C todavía consumían oxígeno.

Lewicki *et al.*, (2001), estudiaron la influencia de la deshidratación por aire caliente, por ósmosis y por liofilización en la tasa respiratoria de las rodajas de manzana v. Idared. Además también se evaluó la producción de CO₂ en muestras rehidratadas. Observaron que la respiración de los tejidos de manzana disminuía con el aumento en de materia seca y que a contenidos mayores del 60%, cesaba completamente. La rehidratación condujo una restauración de la actividad respiratoria. El grado de restauración fue dependiente de la cantidad de agua eliminada durante la deshidratación

Tovar *et al.*, (2001a y b), estudiaron el efecto de la deshidratación osmótica de mango, en una disolución de 65 °Brix y a 30 °C con un pulso de vacío de 211 mbar, en la producción de CO₂ durante el almacenamiento, concluyendo que las muestras deshidratadas mostraron una mayor tasa respiratoria que las frescas.

En el Departamento de Tecnología de Alimentos de la UPV, en los últimos años se ha estudiado el efecto de la deshidratación osmótica con o sin pulso de vacío en la tasa respiratoria de varias frutas (papaya, mango, pomelo, fresa y manzana) (Ceballos *et al.*, 2004; Torres *et al.*, 2004; Moraga *et al.*, 2004; Castelló *et al.*, 2004; Castelló *et al.*, 2005; Castelló *et al.*, 2006). En general, se observa una reducción drástica del consumo de O₂ en comparación a las muestras frescas. Sin embargo, la TR de CO₂ en muchos casos aumenta en las muestras recién deshidratadas, aunque conforme avanza el periodo de almacenamiento se reduce la producción de CO₂ respecto al control de forma bastante menos intensa que la disminución del consumo de O₂, poniendo en evidencia el desarrollo de metabolismos fermentativos. En la mayoría de las frutas estudiadas, la reducción de la tasa

respiratoria tanto de O₂ como de CO₂ es mucho más acentuada en las muestras deshidratadas con un pulso de vacío y cuando el nivel de deshidratación es mayor.

2.5.5. Recubrimientos

Los productos mínimamente procesados tienen una vida útil reducida comparada con las frutas y vegetales enteras, en parte debido a los cambios fisiológicos a consecuencia de las heridas en los tejidos. Los recubrimientos comestibles ofrecen una posibilidad para alargar la vida postcosecha para este tipo de mercancías, de manera que les proporcione una barrera a los gases, reduciendo la respiración y la pérdida de vapor de agua, por la disminución de la permeabilidad de la piel (Bai *et al.*, 2003; Banks *et al.*, 1993). A su vez, pueden usarse como portadores de conservantes y antioxidantes (Baldwin *et al.*, 1995) y también de fungicidas y bactericidas (Torres & Kare, 1985; Petersen *et al.*, 1999). Por ello, son considerados como ingredientes o aditivos alimentarios dependiendo de la actividad que desempeñen (Guilbert *et al.*, 1996).

Generalmente, los compuestos utilizados para la formulación de los distintos tipos de recubrimientos son: lípidos, proteínas, polisacáridos e hidrocoloides, entre otros. En este sentido, principalmente se han utilizado ceras, proteínas de leche, celulosas, lípidos, almidones, proteína de maíz y alginato (Cha & Chinnan, 2004). La permeabilidad de estos films depende de la relación proteína/lípidos (Avena-Bustillos & Krochta, 1993). La reducción de la respiración por el uso de recubrimientos comestibles se ha observado en varios productos. Estudios realizados en aguacate recubierto con un recubrimiento a base de metilcelulosa mostraron una reducción de la producción de CO₂ (Maftoonazad & Ramaswamy, 2005) y lo mismo sucedió con cerezas con recubrimientos a base de derivados de ácidos grasos y polisacáridos (Alonso & Alique, 2004). Avena-Bustillos *et al.*, (1997), estudiaron el efecto de varias formulaciones de recubrimientos comestibles a base de un monoglicérido de caseinato acetilado en la resistencia al vapor de agua, la respiración y la producción de etileno en manzana roja 'Delicious' y apio. En la manzana entera no se observó un efecto significativo de los

recubrimientos en las variables estudiadas, probablemente debido a la resistencia natural de la cutícula, mientras que en el apio sí disminuyó considerablemente la pérdida de agua en las muestras recubiertas y algunas formulaciones redujeron la tasa respiratoria en los palitos de apio después de 4 semanas de almacenamiento. La producción de etileno no se pudo detectar en los palitos de apio. Lee *et al.*, (2003), estudiaron el efecto de recubrimientos comestibles, a base de carragenato por un lado y de concentrado de proteína de trigo por otro, sobre la tasa respiratoria de cubos de manzana, observando una mayor reducción de la misma en las muestras cubiertas con la formulación a base de proteína de trigo.

Un compuesto especial en la elaboración de recubrimientos comestibles para frutas y hortalizas es el quitosano que se trata de una forma acetilada de la quitina (polisacárido). Es un compuesto biodegradable natural derivado de las conchas de los crustáceos cuyos atributos principales corresponden a su naturaleza policatiónica (Bautista-Baños *et al.*, 2006). Se ha comprobado que controla numerosas enfermedades pre y postcosecha en varios productos hortofrutícolas. Entre muchos de los efectos positivos de este compuesto, cuando es aplicado como recubrimiento, destaca la reducción en respiración y en la pérdida de agua. Estos efectos se han comprobado en varios productos hortofrutícolas como tomates, fresas, mamoncillo chino, manzanas, mangos, bananas, pimientos, y mandarinas, etc... (El Ghaouth *et al.*, 1991a y b; Du *et al.*, 1998; Jiang & Li, 2001; Salvador *et al.*, 2003)

Entre los nuevos recubrimientos comestibles están las formulaciones a base de gel de *Aloe vera*. Estudios realizados en cerezas recubiertas con gel de *Aloe vera* mostraron un retraso en las pérdidas de humedad y una reducción de las tasas respiratorias de la misma forma que con otros recubrimientos comestibles (Martínez-Romero *et al.*, 2006). La gran ventaja de estos recubrimientos es que presentan muy baja permeabilidad al vapor de agua a pesar de que el gel de *Aloe vera* está compuesto principalmente de polisacáridos (Ni *et al.*, 2004).

2.5.6. Irradiación

La vida útil de los productos mínimamente procesados puede prolongarse con la combinación de tratamientos químicos y el envasado en atmósferas modificadas, pero también se puede mejorar su vida útil durante el almacenamiento mediante tratamientos de irradiación. Recientemente, la irradiación se ha propuesto como una herramienta para prevenir la contaminación microbiana en una gran variedad de alimentos frescos y procesados (Gunes *et al.*, 2000) demostrándose que la aplicación de dosis relativamente bajas de radiaciones gamma es una herramienta potencial para alargar la vida de poscosecha de muchas frutas y vegetales frescos (Skou *et al.*, 1974; Thomas, 1988; Lescano, 1994; Gautam *et al.*, 1998; Beaulieu *et al.*, 1992 y 1999; Benoit *et al.*, 2000).

Estudios realizados en zanahoria por Chervin *et al.* (1992), ponen de manifiesto una reducción de la respiración inducida por las heridas, y la producción de etileno en un 50 y un 80% respectivamente, en zanahoria rallada debido al tratamiento de irradiación. Hagenmaier & Baker (1998), comprobaron que las tasas respiratorias de la zanahoria irradiada eran mayores tras 2 días de la irradiación, pero eran mucho menores después de 9 días comparadas con el control. Hagenmaier & Baker (1997), observaron un comportamiento similar en lechuga cortada, donde las tasas de respiración eran un 33% mayores que en el control el primer día de la irradiación. Después de 3 días las muestras irradiadas tenían una respiración ligeramente más baja que las del control a los 13 días. Chervin *et al.* (1992), encontraron que la irradiación redujo la TR y la producción de etileno en zanahorias. En el caso de la manzana, Gunes *et al.*, (2000) observaron que la irradiación de las láminas de manzana en dosis superiores a 1.2 kGy aumentó la tasa respiratoria y disminuyó la producción de etileno. Sin embargo, la estimulación de la tasa de respiración disminuyó después de 72 h de la irradiación, y por tanto, a largo plazo, los efectos de la irradiación en las tasas metabólicas podrían ser mínimos. Resultados similares fueron obtenidos por Fan & Mattheis, (2001), que estudiaron el efecto de la irradiación combinado con la aplicación de 1-Metilciclopropano (1-MCP) en la respiración de manzana "Gala". Observaron que las muestras no tratadas con

1-MCP, irradiadas con 0.88 y 1.32 kGy aumentaron ligeramente su respiración el primer día después de la irradiación, pero la redujeron posteriormente. Las muestras a las que se les aplicó 1-MCP incrementaron su tasa respiratoria cuando fueron irradiadas. La irradiación inhibió la producción de etileno en las frutas control, pero el tratamiento con 1-MCP aumentó la sensibilidad a los daños por radiación. Siguiendo en la misma línea, Benoît, *et al.*, (2000) observaron que la irradiación de champiñón redujo la tasa respiratoria, a pesar de provocar un aumento en las primeras 24 horas debido al estrés de la operación. La reducción de la intensidad respiratoria estuvo acompañada por el retraso del pardeamiento, lo que se confirmó con las evaluaciones de color.

Otro método de desinfección recientemente usado en frutas y vegetales mínimamente procesadas es la acción germicida de la aplicación de luz ultravioleta a una longitud de onda de 200-280 nm (Erkan *et al.*, 2001; Marquenie *et al.*, 2002; Allende & Artés, 2003a y b; Yaun *et al.*, 2004; López-Rubira *et al.*, 2005). Respecto al efecto de este tipo de radiación en la tasa respiratoria, Allende & Artés (2003a) observaron que el tratamiento con UV-C en lechuga mínimamente aumentó su tasa respiratoria. López-Rubira *et al.*, (2005) encontraron que granos de granada sometidos a radiación UV-C no presentaron diferencias en la respiración en comparación con las no tratadas. Por otra parte, Vicente *et al.*, (2005) observaron que pimientos tratados con UV-C manifestaron menor tasa respiratoria y un contenido más bajo en compuestos fenólicos que las frutas control.

3. DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA E IMPREGNACIÓN A VACÍO COMO UNA ALTERNATIVA PARA LA OBTENCIÓN DE FRUTAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS

La deshidratación es una de las técnicas más antiguas utilizadas para la conservación de alimentos. Las frutas son productos a los que se han aplicado diferentes técnicas de deshidratación (osmótica, secado por aire caliente, liofilización, secado por microondas, tratamientos combinados...). Existe una gran variedad de frutas escarchadas, confitadas o simplemente

secas que pueden ser consumidas directamente o utilizadas en la fabricación de otros productos más elaborados. El objetivo principal de la deshidratación de alimentos es alargar su vida útil mediante la disminución de su contenido en humedad, reduciendo así la actividad del agua (a_w) del producto. Con esta reducción de a_w se consigue inhibir el crecimiento microbiano y la actividad enzimática, factores responsables del deterioro de los alimentos (Fellows, 1998). Sin embargo, los numerosos avances tecnológicos ocurridos en los últimos tiempos y la situación actual del mercado han hecho que esta técnica no sólo se aplique con vistas a la conservación de alimentos, sino que se utilice con la finalidad de obtener nuevos productos de humedad intermedia y como pretratamiento de otras operaciones como son el secado por aire caliente o la congelación de alimentos (Fito *et al.*, 2001; Chiralt *et al.*, 2001).

La deshidratación osmótica (DO) permite establecer un flujo de agua desde una disolución diluida contenida dentro de una membrana semipermeable hacia una disolución más concentrada que rodea a dicha membrana, pudiendo entrar los solutos en el interior de la misma. Ya que la membrana es selectiva, el agua puede pasar libremente a través de ella, mientras que los solutos tienen el paso limitado. La transferencia de agua por DO es aplicable a alimentos donde su estructura celular actúa de forma similar a una membrana semipermeable. El fenómeno osmótico tiene lugar como consecuencia de la diferencia de potencial químico establecida entre la disolución osmótica y el interior de la estructura celular. Es decir, el agua fluirá desde el alimento hacia el medio osmótico, el soluto se transferirá desde la disolución osmótica al producto, y por último, saldrán solutos nativos propios del alimento como azúcares, ácidos, minerales, entre otros, hacia el medio osmótico (Fito & Pastor, 1994). Los mecanismos de transporte involucrados en la deshidratación osmótica son los pseudodifusionales y los mecanismos hidrodinámicos asociados a los efectos de la compresión-relajación del tejido (Chiralt & Fito, 2003). Estos últimos vendrán descritos por la complejidad y funcionalidad de la estructura del alimento (Aguilera *et al.*, 2003). Los flujos de materia se producen a través de tejidos con una alta complejidad y heterogeneidad, con una estructura compartimentada que además posee una fase gas en los espacios intercelulares, provocando el acoplamiento de los distintos mecanismos de transporte comentados

anteriormente, lo que da a la estructura del tejido un gran protagonismo en los fenómenos de transporte (Aguilera *et al.*, 2003).

La impregnación a vacío (IV) de un producto poroso consiste en el intercambio del gas o del líquido ocluido en los poros o espacios extracelulares por una disolución externa mediante la acción de mecanismos hidrodinámicos (HDM) por gradientes de presión. Dicha operación se realiza en dos etapas. La primera es la aplicación de una presión subatmosférica durante un tiempo corto a un depósito en el cual se encuentra el alimento poroso inmerso en una disolución. Durante esta etapa, el gas se expande provocándose un flujo de gas hacia el exterior del alimento al mismo tiempo que se relaja la estructura expandiéndose el volumen extracelular, de manera que la expansión del gas termina equilibrándose con la expansión del poro hasta que deja de fluir el gas. La segunda etapa consiste en la reconstitución de la presión atmosférica generando una compresión del gas ocluido residual y la contracción del tejido, produciéndose una entrada hidrodinámica de la disolución externa (Fito *et al.*, 1996). Teniendo en cuenta la estructura porosa de los alimentos y la existencia de gas ocluido en ésta, Fito & Pastor (1994), explicaron el proceso de impregnación a vacío (IV), a través del denominado Mecanismo Hidrodinámico (HDM) y el acoplamiento posterior de los mecanismos de compresión relajación del tejido (Fito *et al.*, 1996).

La impregnación a vacío puede ser considerada como una herramienta en el desarrollo de frutas y hortalizas mínimamente procesadas (Chiralt *et al.*, 1999). En este sentido, la IV puede utilizarse para introducir eficientemente en un alimento prácticamente cualquier tipo de sustancia (Fito *et al.*, 2001), como componentes de interés nutricional (Gras *et al.*, 2003) o microorganismos prebióticos (Betoret *et al.*, 2003), así como para modificar su pH o actividad de agua (Muntada *et al.*, 1998) utilizando disoluciones concentradas de ácidos, conservantes o solutos de diferente peso molecular.

Los tratamientos combinados de deshidratación osmótica con una impregnación a vacío al inicio del proceso (DOPV), durante un corto periodo de tiempo (5 ó 10 minutos), mejoran el rendimiento del proceso y permiten introducir en la matriz del alimento una mayor cantidad de componentes que mejoren las propiedades sensoriales, nutricionales y la estabilidad del

producto, que cuando la DO se aplica de forma aislada. En este caso, los fenómenos de transporte están gobernados tanto por mecanismos pseudodifusionales como por el mecanismo HDM. En primer lugar, la aplicación de la IV, con la consiguiente entrada masiva de disolución osmótica, hace más planos los perfiles de concentración establecidos en el producto, facilita la difusión de agua y solutos a través de los poros, al intercambiar la fase gas interna por fase líquida, provoca fenómenos de relajación mecánica del tejido favoreciendo la entrada posterior de disolución osmótica y facilita los mecanismo osmóticos al aumentar la superficie celular en contacto con la disolución externa (Salvatori *et al.*, 1999) .

Los principales factores que influyen en la velocidad del proceso y características del producto final en los tratamientos IV, DO y DOPV relacionados con el tipo de producto y su estructura son: (1) la estructura y tamaño/geometría del tejido a deshidratar, siendo más eficaz el proceso a mayor relación superficie/volumen (2) el estado de madurez del producto, por su efecto en términos de estructura de la membrana celular, espacios intercelulares, compactación del tejido, cantidad de sólidos, etc, así como otros factores relacionados con el proceso como la temperatura, el tipo de agente osmótico, la duración del tratamiento y la concentración de la disolución osmótica. En este sentido, se han estudiado las cinéticas de deshidratación de muchas frutas considerando las condiciones de proceso (Barat *et al.*, 2001a y b; Cháfet *et al.*, 2001; Giraldo *et al.*, 2003; Talens, 2002; Barrera *et al.*, 2004; Ceballos, 2006)

El tratamiento osmótico, con o sin aplicación de un pulso de vacío (DOPV o DO respectivamente), se puede aplicar en intervalos cortos de tiempo (minutos) y en un rango de temperaturas moderadas, manteniendo al tejido vegetal vivo y con unas características organolépticas similares a las del producto fresco, por lo que su aplicación se adapta a lo que puede considerarse como procesado mínimo de frutas (Lazarides *et al.*, 1999). La fruta pierde agua sin cambio de fase, lo que implica para el sistema biológico una preservación de las estructuras celulares (Raoult-Wack, 1994). No obstante, la viabilidad celular se ve afectada significativamente por la concentración de la disolución y el tiempo de residencia de la fruta en ella, como demostraron Ferrando & Spiess (2001), que estudiaron la respuesta

celular de dos tejidos vegetales (cebolla y fresa) sometidos a tratamientos osmóticos con sacarosa, maltosa y trealosa.

Respecto a los cambios provocados en las características sensoriales de las frutas sometidas a tratamientos de IV, DO y DOPV, conviene matizar que dependen del nivel de deshidratación y/o impregnación y de la composición de la disolución. Concretamente, el brillo de las frutas deshidratadas generalmente mejora debido a que se cubre de una lámina fina de disolución de azúcar que suaviza las irregularidades de la superficie. No obstante, la cristalización del azúcar puede tener un impacto negativo en el brillo, aunque la sobresaturación en esa fina capa se alcanza pocas veces en las frutas mínimamente procesadas (Chiralt & Talens, 2005). En cuanto a la transparencia y el color de las frutas pueden cambiar considerablemente durante el procesado osmótico. Las causas principales de estos cambios son físicas y químicas: (1) Degradación y pérdida de pigmentos de las frutas y desarrollo de pardeamiento durante el proceso. (2) La pérdida de agua implica no sólo un aumento en la concentración efectiva de pigmentos, lo que potenciaría la absorción selectiva de la luz, sino también un mayor índice de refracción en la fase líquida del tejido, lo que promovería la reflexión en la superficie; estos dos efectos simultáneos podrían causar efectos divergentes en los atributos del color (especialmente claridad y croma) dependiendo del producto. (3) El intercambio de la fase gas por líquido externo cerca de la superficie de la muestra debida a la acción de mecanismos hidrodinámicos (HDMs). Este cambio induce índices de refracción en el tejido más homogéneos, lo que promueve la absorción de la luz en contraposición a la dispersión, provocando como consecuencia una mayor transparencia en el producto. El cambio gas-líquido es prácticamente completo en los procesos DOPV lo que implica que las muestras DOPV se vuelven más traslúcidas (Martínez-Monzó, 1998; Talens *et al.*, 2002; Chiralt & Talens, 2005). Además, las propiedades viscoelásticas, se ven generalmente afectadas observándose una pérdida en la turgencia celular (Talens *et al.*, 2002; Chiralt & Talens, 2005)

Por todo lo comentado, se puede considerar que la deshidratación osmótica en disoluciones concentradas de azúcares a temperaturas suaves es

una técnica muy adecuada para el procesado mínimo de frutas, ya que permite la salida de agua del tejido sin cambio de fase y sin daños térmicos, resultando en alteraciones muy poco notables de las características de frescura del producto cuando se utiliza hasta niveles moderados. También la impregnación a vacío con disoluciones isotónicas o en combinación con tratamientos osmóticos, puede mejorar el rendimiento del proceso en función de las características del tejido vegetal, como es su porosidad. Asimismo, puede servir como vía de entrada de sustancias disueltas y/o en suspensión de carácter tecnológico y/o nutricional. En cualquier caso, es necesario estudiar cómo afectan estos tratamientos a la estabilidad de la fruta. Por ello, este trabajo pretende evaluar el efecto de los tratamientos osmóticos con o sin impregnación a vacío en las propiedades fisicoquímicas y fisiológicas de fresa y manzana.

II. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

1. OBJETIVOS.

1.1. Objetivo general

El objetivo general consiste en la obtención y caracterización fisicoquímica y fisiológica de productos mínimamente procesados de mitades de fresa y rodajas de manzana, mediante tratamientos osmóticos con disoluciones de glucosa, que incluyen o no la aplicación de pulso de vacío y la incorporación de calcio.

1.2. Objetivos específicos

- Estudiar el efecto del tratamiento (impregnación y/o deshidratación osmótica con y sin lactato cálcico) y del almacenamiento, en aras a optimizar las características organolépticas y prolongar la vida útil de mitades de fresa (*var. Camarosa*), analizando los parámetros cinéticos de la deshidratación osmótica para fijar los tiempos de tratamiento y las propiedades del producto procesado:
 - Propiedades ópticas
 - Propiedades mecánicas
 - Tasa respiratoria
 - Producción de etanol y acetaldehído

- Analizar la influencia de las condiciones del procesado osmótico y de impregnación, con o sin calcio, con el fin de mejorar las propiedades sensoriales y prolongar la vida útil de rodajas de manzana (*var. Granny Smith*) estudiando los parámetros cinéticos de la deshidratación osmótica para fijar los tiempos de tratamiento y las propiedades del producto final:
 - Propiedades mecánicas
 - Tasa respiratoria (en aire o con atmósfera modificada)
 - Desarrollo microbiano

2. PLAN DE TRABAJO

En primer lugar se realizó una búsqueda bibliográfica del efecto del procesado mínimo en la estabilidad de frutas para concretar los puntos más relevantes que se iban a abordar en este trabajo de investigación. El plan de trabajo se definió considerando por una parte los estudios en mitades de fresa y por otro los estudios en rodajas de manzana.

- ESTUDIOS EN FRESA

- Estudio cinético de la deshidratación osmótica de mitades de fresa. Efecto de la impregnación a vacío y el calcio.

- ✓ Preparación de las muestras y de las distintas disoluciones osmóticas de glucosa de 50 °Brix con y sin lactato cálcico
- ✓ Diseño experimental de los tratamientos osmóticos: a presión atmosférica (DO) y con pulso de vacío (DOPV), con disoluciones osmóticas con y sin lactato cálcico, a 30°C.
- ✓ Caracterización de las propiedades fisicoquímicas de la materia prima y de las muestras a lo largo de los tratamientos osmóticos: variación de peso, actividad de agua, contenido de humedad y sólidos solubles.
- ✓ Modelización de las ganancias de sólidos, pérdida de agua y pérdida de peso de las muestras para los diferentes tratamientos osmóticos.
- ✓ Modelización de la cinética de los cambios de concentración en la fase líquida de las muestras para los diferentes tratamientos osmóticos.

- Estudio de los efectos fisiológicos de tratamientos de impregnación a vacío y deshidratación osmótica en fresa analizando la influencia del calcio.

Se analizó el efecto del procesado en la tasa respiratoria a través de los cambios de composición de O₂ y CO₂ en el espacio de cabeza de muestras control y muestras tratadas. Por otra parte, se analizaron las propiedades fisicoquímicas de las muestras en función del tratamiento aplicado. Se realizaron estudios de:

- ✓ Efecto de la impregnación a vacío isotónica a distintas temperaturas (1, 5, 10, 15, 20 °C) en la TR.
- ✓ Efecto de los tratamientos osmóticos con y sin calcio, a distintos niveles (15 y 20 °Brix) en cuanto a:
 - Su impacto inicial en la tasa respiratoria y en la producción de acetaldehído y etanol
 - Su influencia a lo largo del almacenamiento en la tasa respiratoria
- ✓ Efecto del equilibrado de la fruta con la disolución osmótica

Paralelamente, se determinaron las características fisicoquímicas de las muestras en función del tratamiento aplicado, en términos de parámetros mecánicos y ópticos del producto y la pérdida de líquido durante el almacenamiento.

- ESTUDIOS EN MANZANA

- Estudio cinético de la deshidratación osmótica. Efecto de la impregnación a vacío (siguiendo el mismo procedimiento que para la fresa).

- Estudio de los efectos fisiológicos de los tratamientos de impregnación a vacío y deshidratación osmótica en manzana analizando la influencia del calcio.

- ✓ Estudio del efecto de la temperatura (0, 4, 8, 12, 16 y 20 °C) en la respiración de manzana fresca y deshidratada osmóticamente.

II. Objetivos y plan de trabajo

- ✓ Estudio de la influencia de distintas concentraciones de gases en la respiración de rodajas de manzanas frescas y deshidratadas.

- ✓ Estudio del efecto fisiológico de los tratamientos osmóticos con y sin calcio, en cuanto a su impacto inicial y su influencia a lo largo del almacenamiento.

- ✓ Estudio de la vida útil de las muestras de manzana osmodeshidratadas con y sin calcio, en términos microbiológicos.

En la figura II.1 se presenta el esquema del plan de trabajo seguido para la realización de la fase

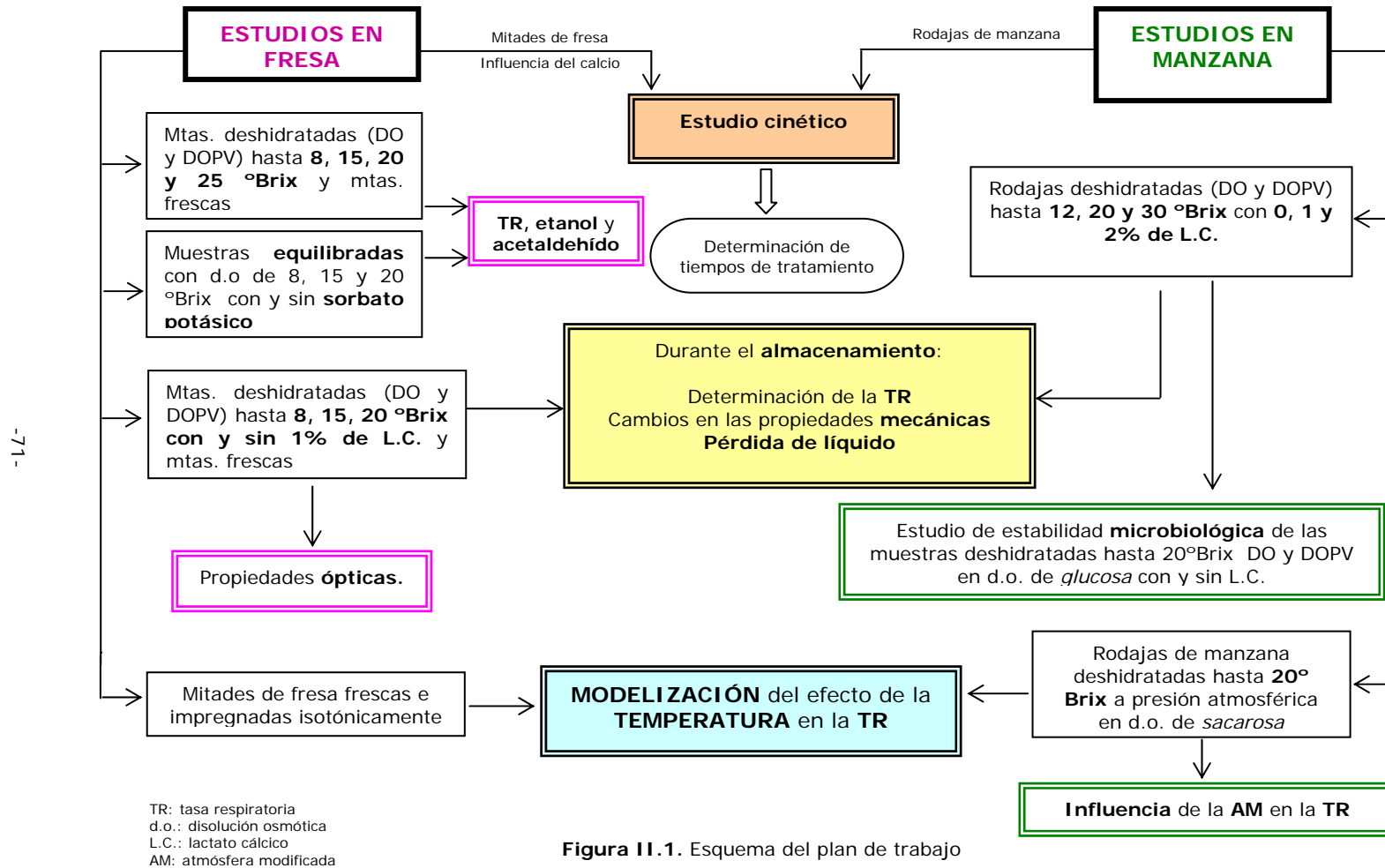


Figura II.1. Esquema del plan de trabajo

III. ESTUDIOS EN FRESA

1. INTRODUCCIÓN

En comparación con otras frutas, la fresa es un producto muy perecedero y su procesado poscosecha junto con un almacenamiento adecuado hace que la fecha de caducidad sea alrededor de una semana ó 10 días (Infoagro, 2000). Además, por su corta estacionalidad, pese a que cada vez más su cultivo en invernaderos prolonga su periodo de venta, unido a la valoración de sus propiedades organolépticas, es un producto muy demandado. Por esta razón, encontrar nuevos procesos de preparación que mejoren su mantenimiento durante el almacenamiento y la facilidad en su consumo, aportaría grandes beneficios, así como un valor añadido al producto.

Tratamientos osmóticos ligeros, con o sin aplicación de un pulso de vacío, podrían ser una buena alternativa para obtener fresas mínimamente deshidratadas, con vida útil más larga, manteniendo las características de los productos frescos y el valor nutritivo (Fito & Chiralt, 2000; Escriche *et al.*, 1999; Chiralt *et al.*, 1999).

Talens en 2002, realizó varios estudios cinéticos de deshidratación de mitades de fresa en función de la concentración de disoluciones de sacarosa y la aplicación o no de un pulso de vacío. También evaluó el efecto de los parámetros del proceso en las propiedades mecánicas y ópticas de la fruta deshidratada. Se observó una especial resistencia al proceso de deshidratación e impregnación con sacarosa en las mitades de fresa, probablemente debido al denso empaquetamiento celular. Además, los tratamientos osmóticos redujeron la firmeza y la consistencia de las fresas dependiendo de las condiciones de operación. En cuanto a los resultados de color, el efecto del tratamiento osmótico fue función del tipo de tejido. En las zonas compactas (próximas a la epidermis) el efecto más notable fue el incremento en la concentración de material colorante asociado a la concentración por deshidratación, mientras que en las zonas menos compactas del tejido (zona interna), debido al mayor intercambio gas-líquido en los poros, los tratamientos produjeron una mayor homogeneidad del índice de refracción del tejido y un incremento en la transparencia de las muestras (Chiralt & Talens, 2005).

Si la deshidratación osmótica se combina con la adición de calcio al tejido se podría conservar mejor la calidad de la fruta por la interacción del catión con los polímeros estructurales (Quiles *et al.*, 2004; Saftner *et al.*, 2003). No obstante, la presencia de este catión en la disolución osmótica ha dado lugar a un incremento en los tiempos de deshidratación en otras frutas (Barrera *et al.*, 2004; Ceballos, 2006) y a modificaciones en parámetros fisiológicos (Torres, 2007).

La elevada tasa respiratoria de la fresa es probablemente una de las principales razones de su corta vida útil. Además, en la mayoría de los casos el cortado de la fruta provoca un aumento en la respiración (Brecht, 1995a). Conocer la influencia que tiene la deshidratación osmótica en la tasa respiratoria de mitades de fresa podría aportar información relevante para diseñar los envases necesarios para la distribución de este tipo de fruta. Por otra parte, la modelización de la tasa respiratoria en función de la temperatura de las frutas cortadas y tratadas podría ayudar a predecir los cambios en la fisiología de estas frutas cuando se ven sometidas a cortes en la cadena del frío. Otra consideración importante es que el aumento de la concentración de calcio en las frutas ralentiza su actividad respiratoria (Pérez, 2003; Saftner *et al.*, 2003)

El objetivo de este capítulo es evaluar el efecto de algunas variables del proceso de deshidratación osmótica y de almacenamiento, como son la concentración alcanzada en la muestra deshidratada, la adición de lactato cálcico, la aplicación de pulso de vacío, la temperatura y el tiempo de almacenamiento, sobre propiedades de la fresa relevantes en su calidad y estabilidad, como son:

- a. La tasa respiratoria, relacionada con la actividad fisiológica de la fruta
- b. Las propiedades mecánicas y ópticas, relacionadas con las propiedades sensoriales del producto: textura y aspecto.

Previamente, se pretende establecer los tiempos de tratamiento necesarios para alcanzar las concentraciones deseadas en la fruta procesada mediante el correspondiente estudio cinético de los tratamientos osmóticos.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materias primas

2.1.1. Fresas

Los experimentos se llevaron a cabo utilizando fresas de la variedad *Camarosa* compradas en un supermercado local y almacenadas en refrigeración (4 °C) hasta su utilización. La elección de las frutas se basó en la similitud de distintas características fisicoquímicas tales como tamaño, color, grado de madurez y ausencia de defectos superficiales, con el objeto de conseguir la mayor homogeneidad posible de las muestras de partida y reducir de este modo la variabilidad en los resultados.

Las fresas sin pedúnculo se sometieron a un proceso de limpieza en agua con un 0.1 % de hipoclorito sódico (v/v), sumergiéndolas durante 1 minuto. A continuación, se secaron y se partieron por la mitad para proceder a su tratamiento.

2.1.2. Disoluciones osmóticas

Para los tratamientos de deshidratación se emplearon disoluciones de glucosa en agua destilada de 50 °Brix. En los casos de impregnación isotónica se utilizaron disoluciones de glucosa de $a_w = 0.993$ (≈ 8 °Brix).

En los tratamientos de equilibrado osmótico de fresa las disoluciones de glucosa fueron de 8, 15 y 20 °Brix. Se estudió el efecto de la adición de 2000 ppm de sorbato potásico como conservante.

En los tratamientos en los que se utilizó calcio, las disoluciones osmóticas se prepararon incorporando lactato cálcico (p/p) (Calcium lactate pentahydrate, extrapure, Sharlau CA0225), en el porcentaje correspondiente.

Las disoluciones osmóticas que se utilizaron para efectuar los tratamientos de fruta que posteriormente se almacenó fueron sometidas a un pre-tratamiento de pasteurización (a 72 °C durante 45 s, con agitación) para reducir la contaminación inicial.

2.2. Tratamientos

Se llevaron a cabo dos tipos de tratamientos: isotónicos e hipertónicos.

2.2.1. Tratamientos de impregnación isotónica

Las mitades de fresa se sumergieron en una disolución isotónica de glucosa, con mallas de plástico. El vaso que contenía las muestras se mantuvo a vacío durante los primeros 5 minutos del proceso a una presión de trabajo de 50 mbar. Transcurrido este tiempo se restauró la presión atmosférica, permaneciendo las muestras sumergidas otros 5 minutos más para promover así la entrada de la disolución en los poros del tejido. Se realizaron los siguientes tratamientos isotónicos:

- a. Impregnación isotónica sin lactato cálcico: **IV**
- b. Impregnación isotónica con 1% de lactato cálcico: **IV-Ca**

2.2.2 Tratamientos osmóticos

La deshidratación se realizó empleando las disoluciones descritas anteriormente, en un baño termostatado a 30 °C, tanto a presión atmosférica (DO), como sometiendo las muestras a un pulso de vacío (5 min, 50 mbar), con posterior restauración de la presión atmosférica (DOPV). Se aseguró la continua agitación de la disolución osmótica para prevenir la dilución en la zona próxima a la interfase. En todos los casos la relación entre la disolución y la fruta durante la deshidratación fue suficientemente elevada (15:1 (p/p)) para evitar cambios significativos en la concentración de la disolución durante el proceso.

Las frutas se sumergieron completamente en la disolución empleando mallas de plástico. Una vez extraídas las muestras, se eliminó la disolución superficial utilizando papel absorbente.

Para poder llevar a cabo los tratamientos osmóticos, se realizó inicialmente un estudio cinético a fin de determinar los tiempos requeridos

para alcanzar los niveles de deshidratación deseados en las muestras. Una vez conocidos los tiempos necesarios se llevaron a cabo las experiencias de deshidratación para la preparación de las muestras de estudio.

2.2.2.a. Estudio cinético

En el estudio cinético se determinaron por triplicado (en 3 muestras diferentes) las variaciones de masa, humedad y sólidos solubles a distintos tiempos (15, 30, 60, 90, 180 y 480 minutos) de tratamiento.

2.2.2.b. Preparación de muestras deshidratadas

Las mitades de fresa se concentraron hasta distintos niveles por dos métodos:

- a) Sumergiendo las muestras en una disolución osmótica de 50 °Brix a 30°C el tiempo necesario determinado a partir del estudio cinético (ver resultados 3.1.1., tabla III.3) para alcanzar 15, 20, 25 y 30 °Brix. Éstas reciben el nombre de muestras no equilibradas. En la notación de cada tratamiento se indicó el tipo de tratamiento (DO o DOPV), los °Brix alcanzados en las muestras (15, 20, 25 ó 30) y si la disolución contenía o no lactato cálcico (ej: DO 25-Ca: tratamiento a presión atmosférica, donde la muestra alcanzó 25 °Brix, con disolución osmótica con lactato cálcico).

- b) Sumergiendo las muestras, a presión atmosférica, en una disolución de glucosa de concentración apropiada hasta alcanzar el equilibrio entre la fruta y la disolución (aproximadamente 4 días). Éstas reciben el nombre de muestras equilibradas (E). En este caso se utilizaron jarabes de glucosa de 8, 15 y 20 °Brix que se prepararon con y sin adición de sorbato potásico (2000 ppm), utilizado habitualmente para prevenir el crecimiento microbiano (García *et al.*, 1998; Karabulut *et al.*, 2001). En la notación de

estos tratamientos se indicó el proceso de equilibrado (E), los °Brix alcanzados por la muestra (8, 15 ó 20) y la presencia o no de sorbato de potasio (ej: E 8 (sor)).

2.3. Almacenamiento

Las muestras frescas y tratadas se almacenaron en recipientes de vidrio de cierre hermético en una cámara a 10 °C (P Selecta, Hot-Cold M 4000668) para la determinación de la tasa respiratoria, la pérdida de líquido y propiedades ópticas y mecánicas. Se mantuvieron almacenadas durante un periodo de 6 días. Los recipientes se abrieron diariamente para renovar la atmósfera del espacio de cabeza.

2.4. Análisis composicional

2.4.1. Humedad

Las muestras se homogenizaron previamente utilizando un equipo Ultraturrax modelo T 25. Para la determinación de la humedad (x_w) 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 mm Hg, permaneciendo hasta alcanzar un peso constante.

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

2.4.2. Sólidos solubles

La determinación del contenido en sólidos solubles de las muestras de fruta y de las disoluciones osmóticas se llevó a cabo empleando un refractómetro "Abbe Atago 89553" de "Zeis", termostatado a 20 °C,

realizando las medidas sobre la fase líquida de las muestras recogida con ayuda de una pipeta Pasteur.

2.4.3. Actividad de agua (a_w)

Las determinaciones de a_w se realizaron entre 25 y 35°C, empleando para ello un higrómetro de punto de rocío marca "Decagón" modelo CX-1, con una sensibilidad de 0.005, comprobando el equipo previamente con disoluciones salinas saturadas.

2.4.4. Contenido en cationes (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+})

Las muestras se homogenizaron utilizando un Ultraturrax (modelo T 25 Janke&Kunkel IKA-Labortechnik) a 9500 rpm durante 2 minutos. A continuación, se centrifugaron a 14000 rpm durante 10 min. Una vez separada la fase líquida de la matriz sólida se prepararon diluciones de la misma de 1:100. El contenido en cationes (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) se analizó mediante un cromatógrafo de intercambio iónico (Methrom Ion Analysis, IC 838, IC 761) utilizando una columna Standard universal (Metrosep C2-150 (6.1010.220)), con un eluyente compuesto por ácido tartárico (4.0 mol/L) y ácido dipicolínico (0.75 mmol/L), provisto de detectores eléctricos. Las disoluciones de cada una de las muestras a analizar se colocaron en viales de los cuales el sistema de toma de muestras del equipo tomó la cantidad necesaria para su análisis (≈ 9 mL). Las medidas se llevaron a cabo por triplicado. La concentración de cada catión (ppm) se obtuvo de los cromatogramas. Los resultados se transformaron en mg del catión correspondiente por 100 g de muestra fresca en todos los casos para poder comparar los resultados obtenidos.

Se valoró la concentración de cationes en la fase líquida de la muestra por los requerimientos del cromatógrafo, ya que sólo pueden ser analizadas disoluciones sin presencia de partículas sólidas. Por tanto, se consideraron dos hipótesis: la matriz sólida no retiene cationes significativamente y la concentración de cationes en la fase líquida retenida en la matriz sólida es igual a la concentración de cationes en la fase líquida

analizada. Puesto que el contenido de fase sólida es prácticamente despreciable ($\approx 1\%$) frente al contenido de fase líquida, estas consideraciones son muy razonables.

2.5. Determinación de la densidad

Se midió la densidad aparente (ρ_a) de las muestras frescas y tratadas por el método de desplazamiento de volumen (Mohsenin, 1986) mediante un picnómetro, utilizando agua destilada como líquido de referencia. Debido a que la muestra no se desaireó, y por tanto, contenía aire ocluido en los poros, se obtuvo un valor de densidad aparente (ρ_a). Los valores de ρ_a (kg/m^3) se obtuvieron aplicando la ecuación III.1 a los datos tomados con el picnómetro:

$$\rho_a = \frac{P_f}{P_L + P_f - P_{f+L}} \cdot \rho_L \quad (\text{III.1})$$

Donde:

ρ_L = densidad del líquido de referencia (kg/m^3).

P_L = Peso del picnómetro enrasado con el líquido de referencia (g).

P_f = Peso del trozo de fruta (g).

P_{f+L} = Peso del picnómetro + trozo de fruta enrasado con el líquido de referencia (g)

2.6. Determinación de la tasa respiratoria

Se eligió un sistema estático para determinar la tasa respiratoria de las frutas. Aproximadamente 150 g de muestra se colocaron en tarros de cristal (respirómetros) de 0.870 L, que se cerraron herméticamente y que al contener en la superficie de sus tapas un septum permitieron tomar con facilidad la muestra de gas del espacio de cabeza a los diferentes tiempos. Para el análisis de la tasa respiratoria (TR) de las frutas, se tomaron muestras de gas del espacio de cabeza cada 15, 30 ó 60 minutos durante aproximadamente 5 horas mediante una aguja conectada a un analizador de

gases (%O₂, %CO₂ CheckMate 9900 PBI Dansensor, Ringsted, Dinamarca). Las medidas se realizaron por cuadruplicado en las experiencias de fresa de la primera serie (efecto del tratamiento osmótico) y por duplicado en el caso de la segunda serie de experimentos de fresa (efecto del tratamiento osmótico con o sin calcio y el almacenamiento). Para los estudios de almacenamiento, los respirómetros se airearon cada día durante los seis días de almacenamiento para evitar condiciones de anaerobiosis.

Se tomaron los puntos experimentales que presentaron una buena relación lineal entre la concentración del gas y el tiempo, lo que indica que durante ese periodo de tiempo no ocurrieron cambios en la pauta respiratoria de las muestras y los cambios en la composición del espacio de cabeza no produjeron alteraciones notables en el metabolismo de las frutas.

La tasa respiratoria (TR (mLkg⁻¹h⁻¹)) de las muestras, en términos de CO₂ generado y O₂ consumido, se obtuvo a partir de la pendiente de la ecuación lineal, según la ecuación III.2, donde TR es la tasa respiratoria, y_t es la concentración de gas (%O₂, %CO₂) a tiempo t, M es la masa de las muestras (kg) y V el volumen (mL) del espacio de cabeza. El cociente respiratorio (CR) se calculó como la relación entre la TR de CO₂ y la de O₂.

$$y_t = y_{to} \pm 100 \frac{TR \cdot M}{V} t \quad \text{(III.2)}$$

Las unidades de la tasa respiratoria se expresaron por kg de muestra inicial antes de ser sometida a los distintos tratamientos, ya que el número de células antes y después de los tratamientos (deshidratación y/o impregnación) se mantiene constante independientemente de que haya ganancia o pérdida de masa durante el procesado dado ya que el flujo de materia sólo afecta a los solutos y al agua.

La modelización del efecto de la temperatura en la TR se llevó a cabo estudiando la variación del %O₂ y %CO₂ en el espacio de cabeza de las muestras almacenadas a 1, 5, 10, 15 y 20 °C.

2.7. Análisis de volátiles (etanol y acetaldehído)

Los mismos frascos que se emplearon para medir la TRO₂ o TRCO₂ se usaron para analizar la concentración de etanol y acetaldehído, utilizando un microcromatógrafo de gases (M200, Agilent) con una columna OPM-PU08 a 153 °C y con un detector de conductividad térmica (TCD). Se realizaron 4 medidas a lo largo de 4 horas promediando las mismas para obtener la concentración media del espacio de cabeza.

Para calibrar la señal cromatográfica del etanol y acetaldehído del equipo se utilizaron mezclas de gases patrón de concentración 100 y 50 ppm respectivamente.

2.8. Determinación de las propiedades mecánicas

La determinación de la textura a través de las propiedades mecánicas se realizó el día inicial y el final del almacenamiento, con una prensa (TA/XT/PLUS Texture Analyser), mediante un ensayo de punción, hasta una deformación relativa del 95%, a una velocidad de 0.2 mm/s, con un punzón de 15 mm de diámetro (p/15 de la firma Aname). Se midió el espesor de muestra con un pie de rey digital. Para cada tratamiento se realizaron hasta 6 repeticiones con el fin de obtener un comportamiento representativo.

La punción se realizó sobre la cara externa de la fresa y en un área próxima a la zona de inserción de los sépalos, donde la muestra presentaba una superficie más plana. Las curvas fuerza (F)-distancia (d) obtenidas en el ensayo de punción fueron transformadas a curvas fuerza-deformación relativa (ε) (Ecuación III.3).

$$\varepsilon(t) = \frac{d(t)}{e_0} \quad (\text{III.3})$$

Donde:

- ε es la deformación relativa
- d es la distancia de avance del punzón a lo largo de la muestra durante el ensayo
- y e_0 es el espesor inicial de la muestra en la zona de punción.

Los parámetros analizados en el ensayo de punción fueron:

- la deformación de fractura ($\varepsilon_{Fmáx}$) (adimensional)
- la fuerza de la fractura ($F_{máx}$) expresada en Newtons
- la pendiente del tramo inicial (E) expresada en Newtons
- el área de la curva F- ε hasta la distancia correspondiente a un avance del punzón de 7.5 mm, expresada en Julios.

2.9. Determinación de las propiedades ópticas

Para el análisis de color, en muestras de fresa, se utilizó un espectrocolorímetro Minolta modelo CM-3600d con una ventana de 7 mm de diámetro, mediante el que se obtuvo el espectro de reflexión de las muestras. La determinación de color se realizó inicialmente y el primer, segundo, cuarto y sexto día de almacenamiento. Dicha determinación se realizó en cada muestra por su parte externa central y por su cara interna en la parte superior cerca de la epidermis, evitando la parte central blanquecina. Para cada tratamiento se realizaron 3 medidas en 5 muestras distintas.

Se obtuvieron las coordenadas de color CIE-L*a*b utilizando como referencia el observador 10° e iluminante D65. A partir de los valores de las coordenadas a^* y b^* , se calcularon las coordenadas polares tono (h^*_{ab}) y croma (C^*_{ab}) definidas mediante las ecuaciones III.4 y III.5:

$$h^*_{ab} = \arctg \frac{b^*}{a^*} \quad \text{(III.4)}$$

$$C^*_{ab} = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad \text{(III.5)}$$

Por otra parte, se estimaron las diferencias de color (ΔE) respecto a la muestra fresca provocadas por los diferentes tratamientos mediante la ecuación III.6.

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad \text{(III.6)}$$

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Estudio cinético de la deshidratación osmótica. Efecto de la impregnación a vacío y la adición de calcio

La tabla III.1 presenta el contenido en humedad (x_w) y sólidos solubles (x_{ss}), °Brix y actividad del agua de la fresa fresca, su porosidad (ϵ) y su respuesta a la impregnación isotónica a vacío: fracción másica (x_i) y volumétrica (X) de la muestra impregnada por disolución. La fresa es un producto de baja porosidad y por tanto los niveles de impregnación alcanzados fueron bajos (del orden del 4% en fracción volumétrica). No obstante, aún con bajos niveles, la IV podría ser una alternativa para mejorar algunas propiedades composicionales del producto utilizando disoluciones de la composición adecuada para diseñar productos demandados por los consumidores.

Tabla III.1.- Características físico-químicas y respuesta a la impregnación isotónica a vacío de las fresas frescas.

| a_w | °Brix | x_w | x_{ss} | ρ_{aparente} (kg/m^3) | ρ_{real}^1 (kg/m^3) | ϵ^2 | x_i^3 | X^4 |
|------------------|----------|------------------|------------------|-------------------------------------------------|-----------------------------------------------|--------------|------------------|------------------|
| 0.993 (0.002) | 8 (1) | 0.910 (0.007) | 0.082 (0.016) | 939 (7) | 1035 | 0.9 | 0,040 (0.006) | 0.038 (0.006) |

Valores entre paréntesis corresponden a la desviación estándar.

⁽¹⁾ ρ_{real} calculada a partir de:

$$\rho_r = \frac{1}{\frac{1 - x_w}{1590} + \frac{x_w}{1000}}$$

⁽²⁾ ϵ : porosidad: $\epsilon = (\rho_r - \rho_a) / \rho_r$

⁽³⁾ x_i : fracción másica de la disolución isotónica en la fruta impregnada y

⁽⁴⁾ X : fracción volumétrica de la muestra inicial impregnada con la disolución isotónica, calculadas por cambios de peso.

A partir de los datos de masa, contenido en humedad y sólidos solubles de las muestras a distintos tiempos de tratamiento, se planteó el estudio cinético necesario para conocer los tiempos de tratamiento requeridos para alcanzar las concentraciones deseadas en la fruta. Se determinaron las pérdidas de peso, pérdidas de agua y ganancia de solutos a cada tiempo, referidas por unidad de masa de fruta fresca (Shi & Fito, 1994 y

Shi *et al.*, 1995), así como las concentraciones de la fase líquida de las muestras a cada tiempo. El análisis cinético se realizó con un modelo previamente descrito, en el que se contempla la acción simultánea de mecanismos osmo-difusionales (transporte difusional en espacios intercelulares y transporte transmembrana) e hidrodinámicos (impregnación por cambios de presión y capilaridad) (Fito & Chiralt, 1997). El modelo aborda el análisis desde dos puntos de vista:

- Análisis de los cambios de composición ocurridos en la fracción líquida de la fruta, relacionados con la calidad y estabilidad del producto, utilizando una aproximación difusional simplificada.
- Análisis del rendimiento del proceso, relacionado con la cinética de pérdida de peso, asociada a su vez, con la pérdida de agua y ganancia de solutos, mediante una ecuación empírica en términos de la raíz cuadrada del tiempo (Fito & Chiralt, 1997; Barat *et al.*, 2001a.; Cháfer *et al.*, 2001, Giraldo *et al.*, 2003).

3.1.1. Cambios de composición de la fase líquida

La estructura de la fruta, de una forma idealizada, puede describirse como una matriz de insolubles que contiene una fase líquida constituida por agua y los solutos solubles (azúcares, ácidos orgánicos, etc.). Los cambios de composición en la fracción líquida de la fruta (FL) a lo largo del proceso de deshidratación determinan el nivel de concentración de la misma y por tanto su actividad de agua. La fracción másica de solutos (z_s^t) en la fase líquida, en función de la fracción másica de agua y sólidos solubles de la muestra, viene dada por la ecuación III.7. Los cambios en la composición de la fase líquida se han modelizado mediante la ecuación III.8, donde la fuerza impulsora reducida (Y) de solutos, que coincide con la de agua, viene definida en función de la fracción másica de solutos en la fase líquida a cada tiempo (z_s^t), a tiempo cero de tratamiento (z_s^0) y de la fracción de solutos en la disolución (y_s), considerándose esta última igual a la concentración en el equilibrio (Barat *et al.*, 1998). La composición de la fase líquida evoluciona a lo largo del tratamiento como resultado de todos los mecanismos de transporte involucrados en la deshidratación osmótica. Los dos mecanismos principales

de transferencia de masa son los debidos a gradientes de presión y los debidos a gradientes de actividad. Los primeros corresponden a mecanismos hidrodinámicos y actúan principalmente al principio del proceso osmótico, modificando la composición global de la muestra y por tanto la fuerza impulsora del proceso difusional (Fito & Chiralt, 1997). En el modelo expuesto por Fito y Chiralt (1997), la fracción másica de solutos en la fase líquida inicial contempla la ganancia de fase líquida por mecanismos hidrodinámicos al inicio del tratamiento, bien por la aplicación de un pulso de vacío o bien por capilaridad en operaciones a presión atmosférica. Como se puede observar en la figura III.3, las curvas de variación de masa en función de la raíz cuadrada del tiempo, no muestran una ganancia neta inicial de masa y por tanto puede asumirse que no hay una entrada notable de fase líquida desde la disolución externa, lo que permite asumir que no hay cambio en la composición inicial de la fresa, debido a mecanismos hidrodinámicos rápidos, para el cálculo de la fuerza impulsora.

$$z_s = \frac{x_s}{x_w + x_s} \quad (\text{III.7})$$

$$Y = \frac{(z_s^t - y_s)}{(z_s^0 - y_s)} = \frac{(z_w^t - y_w)}{(z_w^0 - y_w)} \quad (\text{III.8})$$

Para el ajuste de los datos experimentales Y vs.: tiempo, se utilizó la ecuación III.9. Ésta se obtuvo a partir de la solución integrada para tiempos cortos de la segunda ley de Fick correspondiente a una lámina infinita y una esfera, de radio r , considerando únicamente un solo término de la solución en serie y aplicando la regla de Newman para una geometría semiesférica de radio r (Crank, 1975; Talens, 2002). Ésta fue la geometría asumida para la fresa para el ajuste de los datos experimentales. Dado el carácter empírico del ajuste el coeficiente obtenido no es un verdadero coeficiente de difusión sino una constante cinética que engloba la acción de los diferentes mecanismos de transporte involucrados en el proceso. La figura III.1. muestra los ajustes obtenidos a los puntos experimentales $1-Y$ vs.: $t^{1/2}$.

$$Y = 1 - 8 \left(\frac{D_e t}{\pi r^2} \right)^{0.5} \quad (III.9)$$

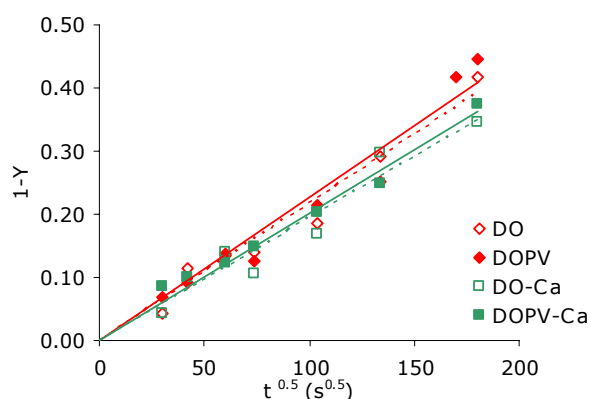


Figura III.1. Representación de 1-Y frente a la raíz cuadrada del tiempo.

De los valores de la pendiente obtenidos de los ajustes lineales, se obtuvieron los valores de los coeficientes de difusión efectiva (D_e) en la fase líquida de las muestras para los diferentes tratamientos (tabla III.2.). La dimensión característica (radio de la semiesfera), se tomó para cada serie experimental como el radio medio equivalente de la esfera (del orden de 0.016 m).

Tabla III.2. Valores de los coeficientes de difusión efectiva en la fase líquida de la fresa sometida a los distintos tratamientos.

| $D_e \cdot 10^{11} \text{ (m}^2/\text{s)}$ | | | |
|--------------------------------------------|-------|------|---------|
| DO | DO-Ca | DOPV | DOPV-Ca |
| 6.39 | 5.38 | 6.97 | 5.78 |

Se observa que los valores de la difusividad efectiva en las muestras tratadas por DOPV son ligeramente mayores que en las tratadas por DO, tanto en los tratamientos con calcio como sin calcio. Resultados similares se obtuvieron en trabajos previos realizados tanto en otros productos (Fito *et al.*, 2000; Fito & Chiralt, 2000) como en fresa tratada con sacarosa (Talens, 2002). En comparación con los valores de D_e obtenidos para otras frutas, la

fresa presenta valores muy bajos, probablemente debido al denso empaquetamiento celular, que limita los mecanismos de transporte prácticamente a la difusión transmembrana, con una acción muy limitada de la difusión en los espacios intercelulares y de los mecanismos hidrodinámicos.

Para tratamientos de mitades de fresa con sacarosa de 55 °Brix, los valores de D_e fueron $3.53 \times 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$ y $2.75 \times 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$, respectivamente en tratamientos con y sin pulso de vacío (Talens, 2002). Las diferencias en los valores de D_e debidas al tipo de soluto están relacionadas con el menor peso molecular de la glucosa y su mayor movilidad en la fase acuosa, lo que provoca una aceleración en los procesos de transferencia de materia respecto a las disoluciones de sacarosa. Por otra parte, la menor viscosidad de las disoluciones de glucosa también contribuye a mejorar la penetración de los solutos en la matriz por mecanismos hidrodinámicos (Chiralt *et al.*, 1999).

Como ha sido descrito en estudios previos (Fito *et al.*, 2000; Barat *et al.*, 2001a, Chiralt & Fito, 2003), los valores de D_e son el resultado de la acción de diferentes mecanismos de transporte en materiales complejos como los tejidos celulares. En el caso concreto de la fresa se ha descrito (Talens, 2002) que el pulso de vacío tiene un efecto retardado a lo largo del proceso osmótico, promoviendo la entrada de líquido externo en los poros durante el proceso de deshidratación mientras la estructura celular se relaja después de la compresión ocurrida al romper el vacío. La estructura compacta del tejido celular (con poros de muy pequeño tamaño) y la alta viscosidad de la disolución dificultan la entrada del líquido en los poros (con gran pérdida de carga) favoreciéndose la compresión volumétrica de la muestra con la acción del pulso. Durante el tiempo de tratamiento el volumen comprimido se va recuperando, a la vez que fluye hacia el interior la disolución externa.

En los tratamientos con calcio los valores de la difusividad efectiva son menores que en los correspondientes tratamientos sin calcio (tabla III.2). Otros autores han observado la misma pauta de comportamiento en otras frutas (Ceballos, 2006; Barrera *et al.*, 2004). Este descenso en la velocidad de transferencia de materia puede atribuirse al refuerzo de la estructura celular (Azcón-Bieto & Talón, 2000) que hace menos permeable a las membranas y paredes. Agregado a este fenómeno, el aumento de

concentración del catión calcio provoca el bloqueo del transporte activo del agua a través de la membrana plasmática reduciendo el transporte global del agua (Tyerman *et al.*, 1999).

Con el modelo establecido, pueden estimarse los tiempos necesarios para alcanzar en cada tratamiento (DO y DO-Ca así como DOPV y DOPV-Ca) los niveles de concentración deseados. La tabla III.3 muestra los tiempos deducidos y utilizados para la preparación de las muestras en los estudios posteriores.

Tabla III.3. Tiempos de proceso en función de las concentraciones alcanzadas en la fruta, del tipo de tratamiento y de la adición o no de lactato cálcico (1% p/p) en la disolución osmótica.

| °Brix | Tiempo (min) | | | |
|-------|--------------|-------|------|---------|
| | DO | DO-Ca | DOPV | DOPV-Ca |
| 15 | 119 | 141 | 109 | 131 |
| 20 | 318 | 378 | 292 | 352 |
| 25 | 615 | 730 | 564 | 680 |
| 30 | 1008 | 1197 | 925 | 1114 |

3.1.2. Ganancia de solutos y pérdida de agua

Tanto las muestras deshidratadas a presión atmosférica (DO), como las sometidas a pulso de vacío (DOPV), fueron caracterizadas en cuanto a la pérdida de agua (ΔM_w), de peso (ΔM) y ganancia de solutos (ΔM_s), aplicando las ecuaciones III.10, III.11 y III.12 propuestas por Shi & Fito, 1994.

$$\Delta M = \frac{M^t - M^0}{M^0} \quad (\text{III.10})$$

$$\Delta M_w = \frac{M^t x_w^t - M^0 x_w^0}{M^0} \quad (\text{III.11})$$

$$\Delta M_s = \frac{M^t x_s^t - M^0 x_s^0}{M^0} \quad (\text{III.12})$$

Donde:

M^0 = masa inicial de masa (kg)

M^t = masa de muestra a tiempo t (kg)

x_s^0 = Fracción másica de sólidos solubles de la muestra a tiempo 0 (°Brix)

x_s^t = Fracción másica de sólidos solubles de la muestra a tiempo t (°Brix)

x_w^0 = Fracción másica de agua de la muestra a tiempo t (kg/kg)

x_w^t = Fracción másica de agua de la muestra a tiempo t (kg/kg)

Para todas las series experimentales se comprobaron los balances de materia mediante la ecuación III.13.

$$\Delta M = \Delta M_s + \Delta M_w \quad (\text{III.13})$$

Se calcularon las pérdidas y ganancias netas, de agua y soluto (ecuaciones III.11 y III.12), y su suma se comparó con las pérdidas de masa total (ecuación III.10). La figura III.2 muestra la representación de estos balances de materia para todos los tratamientos realizados. Todos los puntos se distribuyen sobre la diagonal, lo que pone de manifiesto los bajos errores experimentales y la fiabilidad de los resultados.

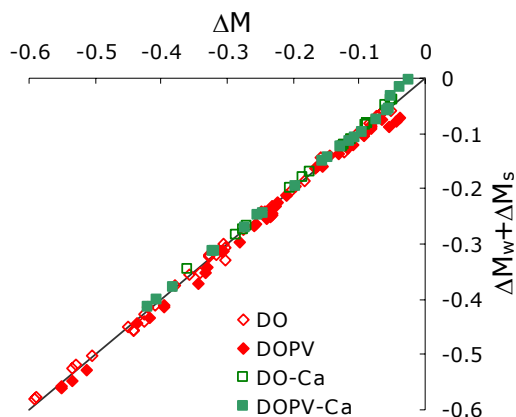


Figura III.2. Balances de materia del estudio cinético de fresa.

En la figura III.3 se representan las pérdidas de peso y agua y la ganancia de solutos en función de la raíz cuadrada del tiempo de las muestras deshidratadas con o sin pulso de vacío y con o sin calcio.

La modelización de los valores de variación de masa total, solutos y agua frente a la raíz cuadrada del tiempo, permite obtener los coeficientes cinéticos k^0 y k para la pérdida de agua, ganancia de solutos y pérdida de peso, respectivamente (ecuaciones III.14, III.15 y III.16) (Shi & Fito, 1994; Shi *et al.*, 1995; Fito & Chiralt, 1997; Barat *et al.*, 2001b; Cháfer *et al.*, 2001; Talens, 2002).

$$\Delta M = kt^{0.5} + k^0 \quad (\text{III.14})$$

$$\Delta M_s = k_s t^{0.5} + k_s^0 \quad (\text{III.15})$$

$$\Delta M_w = k_w t^{0.5} + k_w^0 \quad (\text{III.16})$$

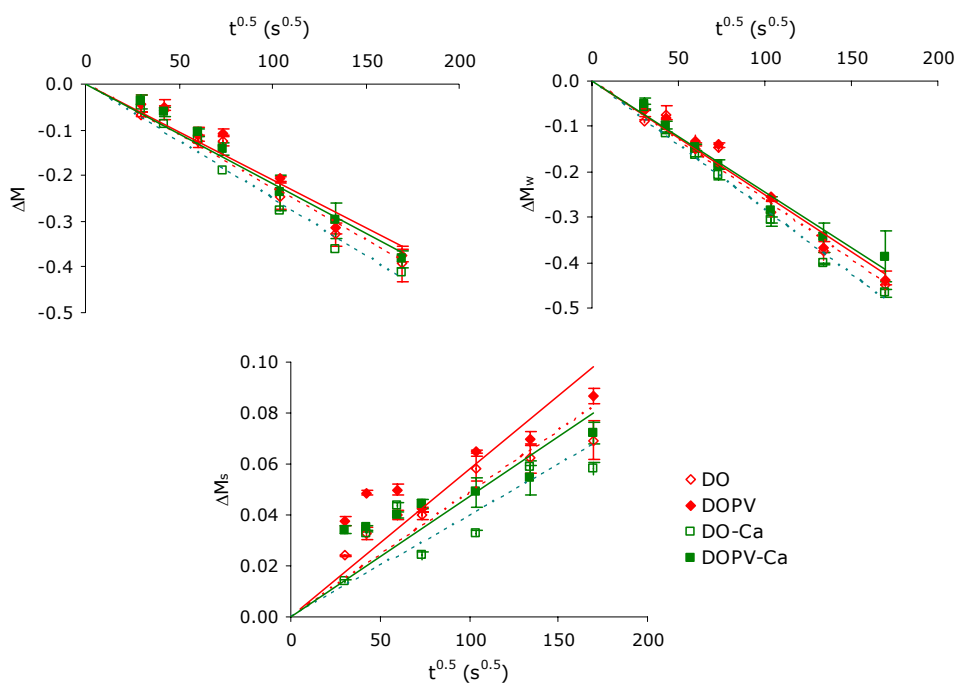


Figura III.3. Pérdidas de peso y de agua y ganancia de solutos de fresas cortadas deshidratadas a presión atmosférica o con aplicación de un pulso de vacío y con y sin adición de calcio en la disolución osmótica, en función de la raíz cuadrada del tiempo.

Los términos independientes de las ecuaciones (k^0 , k_s^0 y k_w^0) corresponden a la ganancia de solutos o a la pérdida de agua, debidas al mecanismo hidrodinámico (HDM) promovido por cambios de presión capilares o impuestos, mientras que la pendiente de las rectas (k , k_w y k_s) corresponde a las constantes de transferencia de materia (total, agua y solutos) asociadas a mecanismos osmodifusionales (Cháfer *et al.*, 2001; Barat *et al.*, 2001b). En la tabla III.4 se muestran los valores de estos coeficientes cinéticos. La acción del mecanismo hidrodinámico fue muy limitada en estos casos. Por esta razón, las rectas para todos los tratamientos se ajustaron sin ordenada en el origen de coordenadas. No obstante, las muestras sometidas a un pulso de vacío, presentan valores de k , k_s y k_w mayores que las muestras deshidratadas a presión atmosférica lo que es coherente con la acción retardada del pulso de vacío comentada anteriormente: impregnación progresiva de los espacios intercelulares por la acción del pulso (Salvatori *et al.*, 1999). Por otra parte, se observa una reducción de los valores de k_s en las muestras con calcio lo que indica una ralentización en la entrada de solutos como consecuencia de la barrera impuesta al transporte de los mismos por los puentes de calcio con las pectinas del tejido vegetal.

Tabla III.4. Parámetros cinéticos para la pérdida de agua y ganancia de solutos y para la pérdida de peso.

| Tratamiento | $k \times 10^3$ ($s^{-0.5}$) | $k_s \times 10^4$ ($s^{-0.5}$) | $k_w \times 10^3$ ($s^{-0.5}$) |
|-------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| DO | -2.27 | 4.85 | -2.62 |
| DO 1% Ca^{+2} | -2.51 | 3.95 | -2.84 |
| DOPV | -2.09 | 5.79 | -2.51 |
| DOPV 1% Ca^{+2} | -2.17 | 4.73 | -2.45 |

Para conocer la diferente contribución de los distintos mecanismos de transporte en los tratamientos estudiados se ha analizado la relación entre la ganancia de solutos y la pérdida de agua de la muestras en función del tiempo. Las figuras III.4a y III.4b presentan dicha relación para los diferentes tratamientos a presión atmosférica y con aplicación de pulso de vacío, sin calcio (a) y con calcio (b).

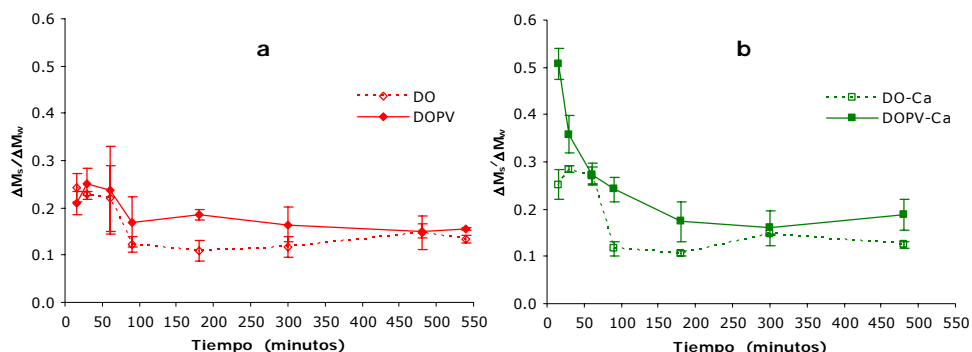


Figura III.4. Relación entre la ganancia de sólidos solubles y la pérdida de agua en fresas cortadas y deshidratadas a presión atmosférica o con aplicación de un pulso de vacío en función del tiempo de proceso. Tratamientos sin calcio (a) y con calcio (b).

En general, en todo el intervalo de tiempo considerado, se observa que la proporción entre ganancia sólidos solubles y la pérdida de agua fue mayor en las muestras sometidas a pulso de vacío, lo cual es coherente con la entrada de disolución externa por la acción más intensa de mecanismos hidrodinámicos. También se observa que esta proporción es mayor a tiempos cortos de proceso, en coherencia con la acción más rápida de estos mecanismos. A partir de un determinado tiempo de proceso, que está en torno a la hora y media, la relación entre la ganancia de sólidos y la pérdida de agua se mantiene prácticamente constante en todos los casos, siendo la ganancia de sólidos del orden del 13 y 19 % de la pérdida de agua, respectivamente para los tratamientos a presión atmosférica y con pulso de vacío, independientemente de la adición de calcio. Los resultados obtenidos siguen una pauta similar al mostrado por muestras de mango deshidratadas con disoluciones de sacarosa sin calcio (Giraldo *et al.*, 2003). El comportamiento de las curvas está relacionado con el acoplamiento de mecanismos osmodifuncionales e hidrodinámicos; al comienzo del proceso los mecanismos hidrodinámicos impulsan la ganancia de solutos con la entrada de disolución concentrada en los poros del tejido mientras que a tiempos más largos, la contradifusión de agua y solutos en los espacios no compartimentados del tejido hace que la relación de flujos alcance un valor constante. Este valor es mayor en los tratamientos con pulso de vacío ya que

el volumen disponible en la muestra para la contradifusión es mayor al llenarse los poros del tejido con fase líquida externa.

Es destacable el comportamiento del tratamiento con calcio y pulso de vacío, donde, a tiempos cortos de proceso, la proporción de sólidos ganados frente al agua perdida es aproximadamente el doble que en el resto de los casos. Esto indica que la presencia de calcio favorece la impregnación rápida de las muestras frente a la impregnación retardada comentada en los puntos anteriores. El reforzamiento estructural provocado por el calcio de forma rápida podría inhibir en cierta proporción la compresión volumétrica de la muestra al romper el vacío, favoreciéndose la entrada de disolución concentrada en los poros.

Otro parámetro de interés en las muestras procesadas para definir su estabilidad es la actividad del agua. La figura III.5a representa la evolución de la actividad de agua (a_w) en función del tiempo de tratamiento para los tratamientos aplicados (DO y DOPV) sin calcio. No se observaron notables diferencias en los valores de a_w a un tiempo dado de proceso en función del tipo de tratamiento, probablemente debido a las escasas diferencias en concentración de la fase líquida alcanzadas en los dos tratamientos a un determinado tiempo. Por otra parte, la figura III.5b presenta los valores de a_w en función de la concentración de solubles alcanzada en la fase líquida de las muestras de fresa según el tratamiento aplicado, reflejándose una pauta de evolución similar para los dos tratamientos. La figura muestra también los valores predichos por la ecuación de Norrish generalizada, considerando como únicos solutos los azúcares de la fresa [Glucosa:Fructosa:Sacarosa, 43.4:47.2:9.4 (Moraga, 2002)]. Los valores experimentales se encuentran por debajo de la curva de Norrish, como es frecuente para los valores predichos, al no considerar las interacciones entre solutos y despreciar otros solutos minoritarios. En las muestras procesadas, además, la ganancia de glucosa desde la disolución supondría un efecto depresor adicional al incrementarse la proporción de monosacáridos frente a la sacarosa. No obstante, dada la buena linealidad de los valores de a_w en función de los z_s , en el intervalo considerado, se han ajustado los mismos a una ecuación lineal (III.17) que permite explicar un 92% de la variabilidad de la a_w en función de la z_s , independientemente del tipo de tratamiento. Por tanto, en tratamientos

osmóticos de fresa con disoluciones de glucosa, esta ecuación empírica permite estimar la a_w de las muestras realizando una simple medida de °Brix.

$$a_w = 1.0027 - 0.1644z_s \quad (\text{III.17})$$

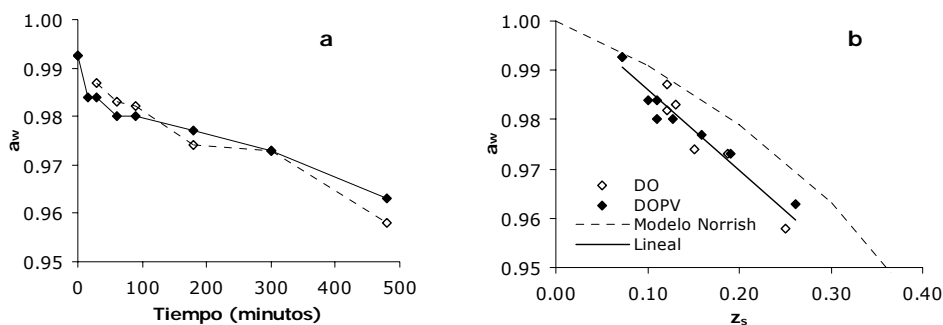


Figura III.5. Evolución de la actividad de agua (a_w) en función de tiempo (a) y relación entre la actividad de agua y el nivel de concentración de la fase líquida (z_s) (b), según el tratamiento osmótico aplicado.

3.2. Efectos fisiológicos de los tratamientos de impregnación a vacío y deshidratación osmótica en fresa. Influencia del calcio

3.2.1. Efecto de la impregnación a vacío con disoluciones isotónicas en función de la temperatura de almacenamiento

Se utilizó la tasa de respiración como indicador de las alteraciones fisiológicas ocasionadas por los tratamientos. El efecto del corte y la IV con disolución isotónica sobre la tasa respiratoria se estudió a 10 °C tal y como se describe en el apartado 2.6 de este capítulo.

La evolución de la concentración de los gases en el espacio de cabeza de los envases contenedores de fresas con distintos tratamientos siguió en todos los casos un comportamiento lineal (Figura III.6), lo que demuestra que los cambios en la atmósfera del sistema cerrado durante el tiempo de medida no implicaron modificaciones en la pauta respiratoria de las muestras. Las fresas enteras presentaron cambios en la cinética de consumo

de O₂ y generación de CO₂ respecto a las fresas cortadas y/o impregnadas isotónicamente.

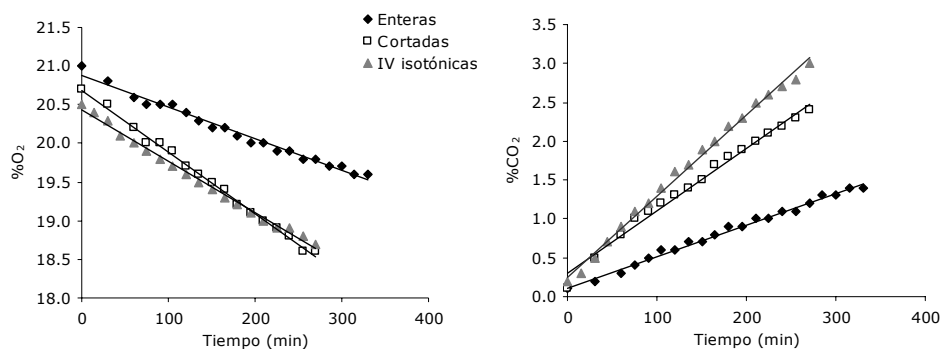


Figura III.6. Cambios de concentración en el espacio de cabeza de O₂ y CO₂ con fresa entera, cortada e impregnada a vacío con disolución isotónica.

En la tabla III.5 se muestran las tasas respiratorias para fresas enteras, cortadas e impregnadas isotónicamente así como también los valores del cociente respiratorio. Como se ha comentado anteriormente en el apartado 2.6 de materiales y métodos, la tasa respiratoria se ha expresado por kg de muestra inicial antes de ser sometidas a los distintos tratamientos para hacer comparables los valores. Esto se hizo así considerando que el número de células antes y después de la deshidratación y/o impregnación se mantiene constante, independientemente de que haya ganancias o pérdidas de masa durante el proceso ya que el flujo de materia afecta sólo a los solutos y al agua.

Se observó que los valores de la tasa respiratoria obtenidos a 10 °C para fresas enteras fueron de 15 ± 1 mL O₂ kg⁻¹h⁻¹ y 16 ± 2 mL CO₂ kg⁻¹h⁻¹. Comparando estos valores con los obtenidos a la misma temperatura para las fresas cortadas, se aprecia un aumento en torno al 33% de la tasa respiratoria por efecto del corte, tal y como han descrito algunos autores (Watada *et al.*, 1996; Lakakul *et al.*, 1999, Zhu *et al.*, 2001, Brecht, 1995a), lo que está relacionado con una aceleración del metabolismo del tejido ocasionado por el estrés asociado al corte.

Tabla III.5. Tasas de respiración respecto al O₂ y CO₂ y cociente respiratorio para fresas enteras, cortadas e impregnadas a vacío determinada a 10°C.

| Tratamiento | TR (mL O ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹) | TR (mL CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹) | CR |
|--------------|----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-------------|
| Entera | 15 (1) | 16 (2) | 1.09 (0.08) |
| Cortada | 20 (2) | 21 (1) | 1.03 (0.04) |
| IV isotónica | 28 (3) | 30 (4) | 1.15 (0.12) |

Valores entre paréntesis corresponden a la desviación estándar.

Se observó también un aumento significativo ($\alpha < 0.01$) de la tasa respiratoria en las muestras cortadas e impregnadas isotónicamente respecto a las fresas enteras unido al comportamiento en la evolución de los gases comentado anteriormente. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en el cociente respiratorio debidas a estos tratamientos.

En la figura III.7 se presentan los valores de la tasa respiratoria a distintas temperaturas tanto en términos de consumo de O₂ como en términos de generación de CO₂ de fresas cortadas y/o impregnadas isotónicamente.

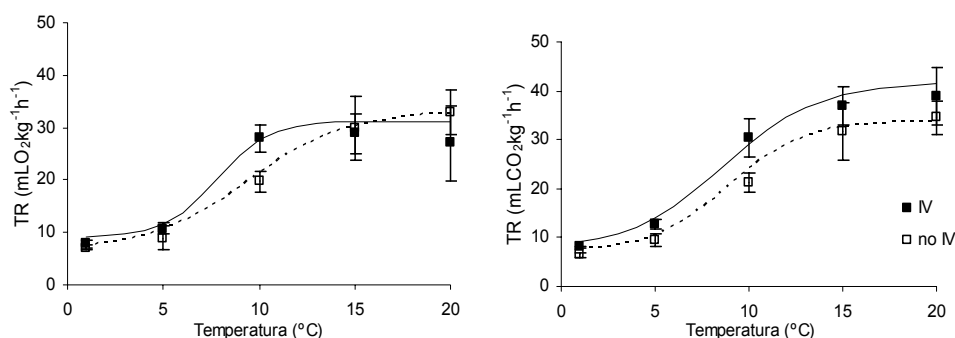


Figura III.7. Tasas de respiración respecto al CO₂ y al O₂ de las muestras cortadas con y sin impregnación a vacío en función de la temperatura.

Como en la mayoría de las reacciones bioquímicas, a medida que aumenta la temperatura, la respiración de la fresa se acelera. Sin embargo, este comportamiento parece llegar a una situación asintótica a temperaturas más altas. Los resultados obtenidos se ajustaron a un modelo sigmoide que permite predecir el efecto de la temperatura de almacenamiento en su tasa respiratoria y por tanto estimar la vida útil de las fresas en función de ésta.

Los datos experimentales se ajustaron según el modelo de Gompertz modificado (ecuación III.18).

$$TR = R_0 + \frac{\Delta R}{(1 + e^{-k(T-T_c)})} \quad (III.18)$$

Donde:

TR = tasa respiratoria (mLO₂ kg⁻¹h⁻¹ o mLCO₂ kg⁻¹h⁻¹).

R₀ = valor asintótico más bajo de la TR (mLO₂ kg⁻¹h⁻¹ o mLCO₂ kg⁻¹h⁻¹).

ΔR= diferencia entre los 2 valores asintóticos (mLO₂kg⁻¹h⁻¹ o mLCO₂kg⁻¹h⁻¹).

k= pendiente de la zona exponencial de la sigmoide.

T_c= temperatura característica en el punto de inflexión (°C).

La tabla III.6 resume los valores obtenidos en términos de O₂ y CO₂ de los parámetros del modelo de Gompertz, tanto para las muestras impregnadas como para las que no lo están. En la figura III.8 se representan conjuntamente los datos predichos por el modelo y los puntos experimentales obtenidos, apreciándose el buen ajuste del mismo.

Tabla III.6. Parámetros del Modelo de Gompertz modificado para mitades de fresa impregnadas y no impregnadas.

| | No IV | | IV | |
|----------------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|
| | O ₂ | CO ₂ | O ₂ | CO ₂ |
| R₀ | 6.4 (1.2) | 7.0 (0.6) | 9.0 (0.5) | 7.4 (0.8) |
| ΔR | 27 (2) | 26.9 (0.9) | 22.2 (0.8) | 34.5 (1.3) |
| k | 0.38 (0.07) | 0.49 (0.04) | 0.74 (0.21) | 0.39 (0.11) |
| T_c | 9.4 (0.2) | 8.8 (0.2) | 7.8 (0.4) | 8.7 (0.3) |
| R | 0.979 | 0.976 | 0.976 | 0.989 |
| V.E.* | 95.8 | 94.6 | 95.4 | 98.0 |

Valores entre paréntesis corresponden a la desviación estándar. V.E.*(%): varianza explicada.

Si en la ecuación III.2 del apartado de 2.6 de materiales y métodos de este capítulo se sustituye TR por su expresión (ecuación III.18), se obtiene la ecuación (III.19) que permite predecir la evolución de la concentración del gas (% de O₂, % de CO₂) con el tiempo en función de la temperatura y las constantes del modelo.

$$y_t = y_{to} \pm 100 \cdot \left(R_o + \frac{\Delta R}{(1 + e^{-k(T-T_c)})} \right) \times \frac{M}{V} \times t \quad (\text{III.19})$$

Los valores de estos parámetros permiten evaluar las diferencias entre el comportamiento de las muestras impregnadas y no impregnadas. En las muestras no impregnadas no se observaron diferencias significativas entre los distintos parámetros para O₂ y CO₂, coherentemente con los valores del cociente respiratorio (CR) que fue próximo a 1 en todo el intervalo de temperaturas analizado (Figura III.8). Sin embargo, en las muestras impregnadas se encontraron notables diferencias para los parámetros ΔR y k obtenidos de los datos de O₂ y CO₂. Se observó un mayor incremento para la generación de CO₂ con la temperatura para las muestras impregnadas, lo que indica la mayor sensibilidad de las muestras impregnadas a la temperatura en lo que respecta al desarrollo de rutas anaerobias de respiración frente a las aerobias. El parámetro k obtenido para el consumo de O₂ mostró también diferencias debido al proceso de impregnación. Entre 5 y 10 °C se da un incremento más rápido de la TR_{O₂} en las muestras impregnadas. El valor asintótico observado a través del ΔR del CO₂ fue mayor en las muestras impregnadas, pero esto no se dio para ΔR del O₂. Esta diferencia está relacionada con el comportamiento observado en el CR, que muestra valores mayores de 1 en las muestras impregnadas, a temperaturas mayores que 10°C, indicando una posible fermentación etílica a partir de esta temperatura.

El comportamiento de las muestras impregnadas refleja la coexistencia de rutas anaerobias fermentativas (Azcón-Bieto & Talón, 2000; Lee *et al.*, 1991; Kader, 1987) en el tejido con la ruta respiratoria normal, ya que para el mismo consumo de O₂ aparece una generación en exceso de CO₂, lo cual se potencia cuando mayor es la temperatura de almacenamiento. La agresión del tejido provocada por la acción mecánica del pulso podría contribuir a este fenómeno.

De los resultados obtenidos se puede concluir que la temperatura de almacenamiento es crítica en la conservación de fresas frescas cortadas, siendo la más apropiada por debajo de 5 °C, donde además la influencia de

la impregnación a vacío es muy pequeña. Por otro lado, la IV no supuso ventajas en términos de reducción de la tasa respiratoria ya que no se limitó el consumo de O_2 y, por contra, se aceleró la producción de CO_2 promoviéndose el desarrollo de fermentación etílica.

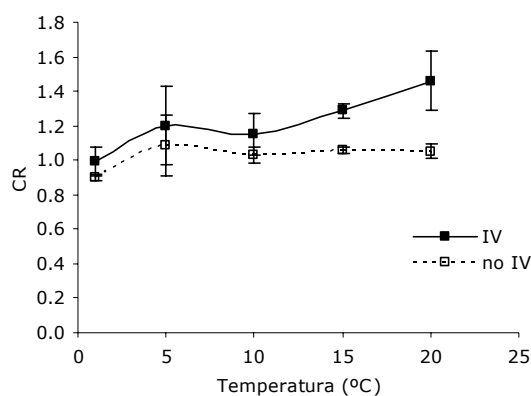


Figura III.8. Cociente respiratorio (CR) de fresa cortada con y sin impregnación a vacío.

3.2.2. Efecto de los tratamientos osmóticos con y sin calcio

Se planteó el estudio del efecto de los tratamientos osmóticos en fresa, en una primera serie, considerando los efectos iniciales en las variaciones de masa, la tasa respiratoria y en la producción de volátiles en función del nivel de deshidratación alcanzando. En una segunda serie, se tuvo en cuenta además el efecto de la adición de lactato cálcico en la tasa respiratoria de las frutas.

3.2.2.a. Variaciones de masa, tasa respiratoria y producción de acetaldehído y etanol en los tratamientos sin calcio

• Características fisicoquímicas

La tabla III.7 muestra las características composicionales (humedad y contenido en sólidos solubles) de las muestras de fresas frescas y procesadas para los diferentes tratamientos de la primera serie en la que se estudió el efecto del pulso a vacío, nivel de deshidratación alcanzado y el equilibrado con la disolución osmótica en la tasa respiratoria y producción de etanol y acetaldehído. La concentración de solutos alcanzada en las muestras en los distintos tratamientos fue del orden del previamente establecido (15, 20, 25 y 30 °Brix) para los tratamientos DO y DOPV.

Para llevar a cabo los tratamientos, se utilizaron disoluciones de glucosa de 50 °Brix durante el tiempo requerido (muestras no equilibradas) o se equilibraron las muestras (durante aproximadamente 4 días) con disoluciones de glucosa de concentración adecuada (muestras equilibradas). En las muestras no equilibradas, tanto la pérdida de agua como la ganancia de azúcares fueron mayores a medida que aumentó la concentración alcanzada o tiempo de tratamiento, pero no se detectaron diferencias notables debidas al tipo de tratamiento (DO o DOPV). Las muestras equilibradas con la disolución osmótica mostraron una menor pérdida de peso que las no equilibradas con concentración equivalente, lo que puede explicarse por la penetración de la disolución osmótica en el interior del tejido por mecanismos hidrodinámicos durante el tiempo de procesado que fue mucho mayor (Barat *et al.*, 1998; Fito *et al.*, 2001). Los tratamientos osmóticos implican alteraciones de la estructura celular dependiendo del tiempo de tratamiento y del tipo de proceso (DO o DOPV) (Chiralt & Fito, 2003). En las muestras no equilibradas, estas alteraciones dependerán de la distancia a la superficie externa del tejido. Durante los tratamientos osmóticos se desarrollan en el tejido vegetal los perfiles estructurales asociados a los perfiles composicionales (Salvatori *et al.*, 1998; Albors *et al.*, 1998). Prácticamente, las células próximas a la interfase están equilibradas en concentración con la de la disolución osmótica, mientras que las células

internas, a partir de una cierta distancia de la interfase, permanecen inalteradas. Esta distancia corresponde a la posición del frente de perturbación en el tejido que avanza en el mismo a lo largo del proceso (Salvatori *et al.*, 1998). En rodajas de manzana de 30 mm de espesor se ha observado que existe una gran zona que no está alterada después de 34 h de tratamiento con disolución de sacarosa de 65 °Brix a 30 °C.

En el tejido de las muestras de fresa se detectó también una concentración no homogénea después del tratamiento osmótico. La figura III.9 muestra los valores de la concentración de la fase líquida de la fruta (°Brix), y de la actividad de agua calculada mediante la ecuación predictiva de Norrish generalizada, en tres zonas diferentes analizadas en la fruta. Se trata de zonas de aproximadamente 2 mm de grosor, una zona externa próxima a la epidermis (EE), otra zona externa próxima a la superficie de corte (EC) y una última zona interna (I), situada dentro de las anteriores. Mientras que en las muestras de fresas frescas las tres zonas presentaron valores similares de concentración, en las muestras procesadas se observaron diferencias notables, siendo la zona EC la más concentrada y la zona I la más diluida. Esto es coherente con los resultados obtenidos en estudios previos (Yang & Le Maguer, 1992; Shi, 1994) donde la ganancia de solutos y la pérdida de agua fueron mayores en las fresas cortadas que en las enteras debido a la mayor permeabilidad de la zona parenquimática en la superficie cortada y al efecto barrera que ejercen las células de la epidermis.

Tabla III.7. Tiempo de tratamiento, densidad de las muestras, contenido en humedad (x_w), sólidos solubles (x_s), y variación de masa total (ΔM), de agua (ΔM_w) y de solutos (ΔM_s), referidas a la masa inicial, debidas al tratamiento.

| Tratamiento | Tiempo (minutos) | Densidad (kgm^{-3}) | x_w | x_s | ΔM | ΔM_w | ΔM_s |
|---------------|------------------|--------------------------------|---------------|---------------|--------------|--------------|---------------|
| Fresca | — | 939(7) | 0.914 (0.003) | 0.077 (0.006) | — | — | — |
| DO 15 | 119 | 1020(11) | 0.838 (0.010) | 0.139 (0.006) | -0.21 (0.04) | -0.26 (0.04) | 0.043 (0.007) |
| DO 20 | 318 | 1023(13) | 0.765 (0.015) | 0.214 (0.011) | -0.34 (0.03) | -0.40 (0.02) | 0.058 (0.006) |
| DO 25 | 615 | 1030(17) | 0.708 (0.007) | 0.260 (0.008) | -0.42 (0.01) | -0.50 (0.01) | 0.068 (0.004) |
| DO 30 | 1008 | 1038(9) | 0.685 (0.024) | 0.285 (0.016) | -0.48 (0.04) | -0.57 (0.03) | 0.071 (0.011) |
| IV 8 | 10 | 1005(18) | 0.919 | 0.080 | 0.04 (0.01) | 0.04 (0.01) | 0.006 (0.001) |
| DOPV 15 | 109 | 1036(28) | 0.842 (0.006) | 0.140 (0.003) | -0.23 (0.05) | -0.27 (0.05) | 0.038 (0.005) |
| DOPV 20 | 292 | 1086(28) | 0.774 (0.006) | 0.196 (0.009) | -0.32 (0.01) | -0.39 (0.01) | 0.051 (0.002) |
| DOPV 25 | 564 | 1076(4) | 0.725 (0.024) | 0.247 (0.005) | -0.40 (0.04) | -0.48 (0.03) | 0.063 (0.008) |
| DOPV 30 | 925 | 1116(21) | 0.659 (0.018) | 0.321 (0.005) | -0.48 (0.05) | -0.56 (0.03) | 0.077 (0.014) |
| E 8 | | | | | 0.04 (0.04) | 0.02 (0.06) | 0.004 (0.005) |
| E 8 (sor) | | 1005(18) | 0.919 | 0.080 | 0.06 (0.03) | 0.06 (0.03) | 0.007 (0.003) |
| DO 15 E | 5760 | | | | -0.21 (0.03) | -0.24 (0.02) | 0.041 (0.004) |
| DO 15 E (sor) | | 1117(14) | 0.849 | 0.149 | -0.06 (0.01) | -0.12 (0.01) | 0.064 (0.002) |
| DO 20 E | | | | | -0.27 (0.03) | -0.30 (0.03) | 0.068 (0.007) |
| DO 20 E (sor) | | 1149(4) | 0.799 | 0.200 | -0.25 (0.01) | -0.31 (0.01) | 0.073 (0.002) |

DO: deshidratación osmótica a presión atmosférica; IV: muestras impregnadas con disolución isotónica; DOPV: muestras deshidratadas osmóticamente aplando un pulso de vacío
 E: muestras equilibradas con la disolución osmótica a presión atmosférica; Los **números** indican los °Brix alcanzados por las muestras en el tratamiento; **sor** indica que la disolución osmótica tienen 2000 ppm de sorbato potásico. Entre paréntesis se indican los valores de la desviación estándar.

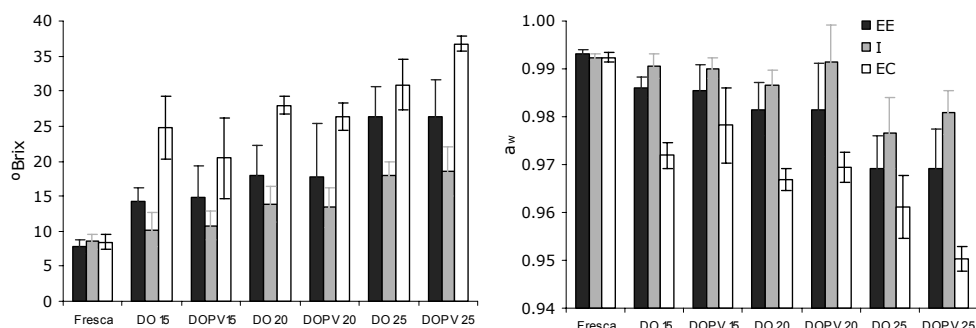


Figura III.9. Perfiles de los sólidos solubles en fresas deshidratadas con y sin pulso de vacío y evolución de la actividad de agua.

Los distintos niveles de concentración alcanzados en las zonas analizadas ponen de manifiesto la presencia de perfiles de concentración en el tejido de fresa y por tanto, la existencia de perfiles asociados a los cambios estructurales y fisiológicos. La pérdida de funcionalidad celular ocurrirá a partir de un determinado nivel de concentración, cuando las membranas empiecen a desnaturalizarse y/o a romperse, (proceso de plasmólisis). La viabilidad de las células se mantiene en un estrecho intervalo de concentración no muy alejado de la que presentan en el tejido fresco. En el caso de las fresas, se ha observado en estudios previos que la viabilidad celular disminuyó bruscamente cuando la actividad de agua se redujo de 0.952 a 0.891 (Ferrando & Spiess, 2001). Los distintos grados de alteración celular influirán en los valores de la tasa respiratoria medida ya que ésta incluye la respuesta de todas las células de la muestra, tanto las más afectadas por el tratamiento como las intactas. Cuanto mayor es el número de células inviables mayor será la reducción de la tasa respiratoria, pero las células viables alteradas podrían aumentar la tasa respiratoria como respuesta al estrés osmótico o incluso desarrollar metabolismos fermentativos. Al mismo tiempo, el impacto que supone la alteración de la estructura del tejido (colapso de las células externas, relleno de los espacios intercelulares con disolución osmótica, etc.) sobre las propiedades de transporte del gas a través del tejido, afectará también a la ruta metabólica predominante para generar ATP en la célula.

- Tasa respiratoria

Los valores de la tasa respiratoria (en términos de O_2 y CO_2) de las muestras no equilibradas, obtenidos inmediatamente después del tratamiento, en función del grado de concentración (15, 20, 25 y 30 °Brix) alcanzado en los procesos de DO y DOPV, se muestran en la figura III.10. En ésta también se representan los valores del CR para todos los casos. Los ANOVAS realizados para los valores de TR mostraron una influencia significativa del nivel de deshidratación y del tipo de tratamiento (DO y DOPV), pero también fueron significativas las interacciones entre ambos factores, por lo que se realizaron análisis independientes para los tratamientos DO y DOPV.

En la figura III.10a se puede observar que los tratamientos osmóticos provocaron un descenso en el consumo de oxígeno dependiendo del tipo de tratamiento aplicado. Todas las muestras sometidas a DOPV mostraron valores similares de TR_{O_2} sin efectos significativos del nivel de deshidratación, siendo estos valores los más bajos y oscilando alrededor de $5 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Los tratamientos de DOPV redujeron más el consumo de O_2 que los de DO, aunque para 30 °Brix se alcanzó en ambos casos el mismo nivel.

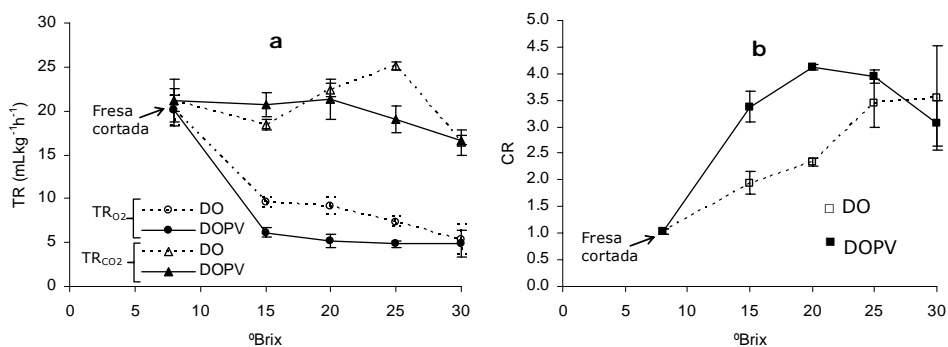


Figura III.10. a) Tasa respiratoria (TR) y b) cociente respiratorio (CR) de mitades de fresa según el tratamiento y el nivel de sólidos solubles alcanzado.

En los procesos de DO se observó un efecto significativo ($\alpha < 0.05$) del nivel de deshidratación, siendo más intenso a medida que aumenta el grado de deshidratación. La reducción en el consumo de oxígeno podría asociarse a un descenso del número de células viables en el tejido, aunque esto debería

implicar un efecto notable del nivel de deshidratación, que únicamente se observa en los procesos de DO. La limitación de la difusión del oxígeno en el tejido podría ser también una causa de la reducción de la TR_{O_2} . La impregnación a vacío en el proceso de DOPV provoca el relleno o colapso de los espacios intercelulares (Chiralt *et al.*, 1999) que dificultará el acceso del oxígeno a las células internas. En los procesos de DO los cambios estructurales comentados anteriormente, especialmente en la zona externa del tejido también limitarán este acceso. Cuanto mayor es el nivel de deshidratación, mayores son las dificultades para la difusión del gas, dado el incremento del grosor de la zona de células colapsadas.

Los tratamientos osmóticos no afectan de manera tan intensa a la generación de CO_2 (Figura III.10a), aunque aparece un ligero descenso en la TR a partir de 20 °Brix en las muestras tratadas con pulso de vacío (DOPV) que coincide, con los valores obtenidos para las muestras tratadas a presión atmosférica (DO) con 30 °Brix. El diferente comportamiento que presentan las muestras dependiendo del tipo de tratamiento (DO o DOPV) podría ser debido a los diferentes perfiles de concentración y estructurales provocados por los distintos tratamientos a un determinado nivel de concentración. En los procesos de DO los perfiles de concentración en el tejido son más abruptos que en los tratamientos de DOPV donde la impregnación con la disolución osmótica da lugar a perfiles más planos. En este sentido, el número de células viables así como el grado de alteración de las mismas será diferente en cada caso lo que justifica la diferente pauta respiratoria.

En la figura III.10b se muestra como aumenta el cociente respiratorio como consecuencia de los tratamientos aplicados a medida que aumenta el nivel de concentración. No se encontraron diferencias significativas entre las muestras deshidratadas osmóticamente a 25 y 30 °Brix y las deshidratadas con pulso de vacío a 15 y 30° Brix, oscilando el CR entre 3 y 3.5. El máximo valor del CR fue alrededor de 4, que se alcanzó en las muestras DOPV con 25 y 20 °Brix. Los valores obtenidos ponen de manifiesto el desarrollo de mecanismos fermentativos ($CR > 1$), lo que será corroborado por la aparición de volátiles que se comenta en el siguiente apartado. En estudios previos (Tovar *et al.*, 2001a) se ha observado que rodajas de mango deshidratadas con pulso de vacío mostraron una mayor tasa respiratoria en términos de

CO₂ que las no tratadas y esto ocurrió asociado a una mayor actividad de la ACC oxidasa (enzima que participa en la producción de etileno).

Las diferencias entre TR_{CO₂} y TR_{O₂} (Figura III.11) cuantifican la intensidad con que ocurren los procesos de respiración anaeróbica cuando el tejido está afectado por los distintos tratamientos.

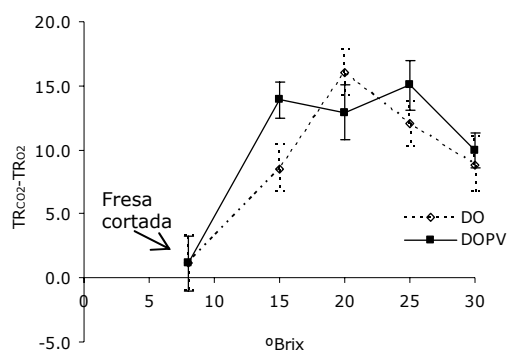


Figura III.11 –Diferencias entre la tasa respiratoria evaluada a través del consumo de O₂ y la generación de CO₂.

Las tasas respiratorias y los cocientes respiratorios obtenidos en las fresas deshidratadas osmóticamente y equilibradas con las disoluciones osmóticas de 15 y 20 °Brix se muestran en la figura III.12. Se observa que estas muestras presentaron un menor consumo de oxígeno que las no equilibradas y deshidratadas osmóticamente pero mayor al que tenían las sometidas a tratamiento de DOPV. Como se ha comentado anteriormente, la disolución osmótica impregna parcialmente los poros durante el equilibrio, situación que limitará la difusión del oxígeno en el tejido como podía deducirse del comportamiento de las muestras sometidas a tratamiento DOPV. El nivel de concentración no afectó a la TR_{O₂} como ocurría en las muestras no-equilibradas concentradas a los mismos niveles. La producción de CO₂ fue mayor en las muestras equilibradas que en las no-equilibradas. Esto podría explicarse por el hecho de que todas las células presentan alteraciones fisiológicas y por tanto la promoción de rutas fermentativas ocurre en un mayor volumen de muestra. Los valores de CR obtenidos para las muestras equilibradas están en el intervalo de las muestras sometidas a tratamientos de DOPV con la misma concentración.

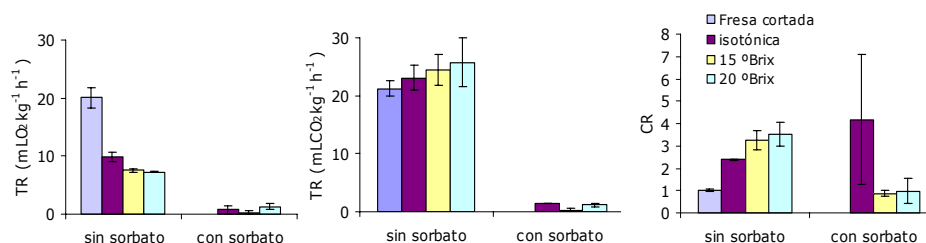


Figura III.12. Tasas respiratorias (TR) y cociente respiratorio (CR) obtenidos en muestras deshidratadas cuando están equilibradas con las disoluciones osmóticas de 15 y 20 °Brix o inmersas durante el mismo tiempo en disolución isotónica.

Un efecto adicional a los previamente comentados, que se da en las muestras equilibradas está relacionado con el largo tiempo de tratamiento durante el cual las muestras sumergidas en la disolución osmótica tienen restringido el acceso de oxígeno. Esto puede ocasionar alteraciones fisiológicas irreversibles independientemente del grado de deshidratación. De hecho, los valores obtenidos para la TR_{O_2} y TR_{CO_2} de muestras sumergidas durante un tiempo similar en disolución isotónica (Figura III.12) reflejan alteraciones en la pauta respiratoria del mismo nivel que las producidas por las disoluciones osmóticas. Estos resultados implican que el tiempo de tratamiento en inmersión tiene también efectos relevantes en las alteraciones del tejido.

Al añadir sorbato potásico a la disolución osmótica como alternativa para prevenir el crecimiento microbiano (Sofos & Busta, 1983; García *et al.*, 1998), la respiración de las células se inhibió prácticamente, tanto en las rutas aeróbicas como anaeróbicas. Probablemente, esto es debido al mecanismo de acción que tiene este conservante sobre la membrana celular, que altera la síntesis bioquímica inhibiendo las reacciones enzimáticas en la célula (Lück, 1981). Según estos resultados, la incorporación de sorbato de potasio sería ventajosa para el almacenamiento de las muestras ya que detiene ciertos procesos de degradación. Sin embargo, existe un gran inconveniente ya que el color de las fresas con sorbato fue mucho más claro que en el resto, indicando la alteración de los pigmentos.

- Producción de etanol y acetaldehído

Los elevados valores del CR indican un posible desarrollo de fermentaciones etílicas en las muestras deshidratadas osmóticamente. Esto pudo ratificarse a través de los niveles de etanol y acetaldehído detectados en el espacio de cabeza (Figura III.13). La presencia de estos volátiles no se detectó ni en las fresas frescas enteras ni en las cortadas. Los volátiles emitidos por las muestras deshidratadas se analizaron en el espacio de cabeza de las cámaras de respiración como se ha comentado en el apartado de materiales y métodos 2.7. Durante el tiempo de inmersión al llevar a cabo el tratamiento osmótico, el proceso de respiración es inhibido debido a la ausencia de oxígeno. En este periodo, la aparición de volátiles se debe al proceso de fermentación etílica como alternativa a la generación de energía en la célula. Una vez se recupera la disponibilidad de oxígeno, la célula podría recuperar su actividad respiratoria, permaneciendo los compuestos provenientes de la fermentación en el tejido. Por otro lado, cuanto mayor es el número de células alteradas por el tratamiento osmótico, mayor es el nivel esperado de etanol y acetaldehído.

En la figura III.13 puede observarse que los niveles de etanol y acetaldehído aumentaron conforme fue mayor el nivel de deshidratación, sin embargo sufrió una notable disminución (especialmente el etanol) cuando las muestras alcanzaron los 30 °Brix, a la vez que disminuyó la tasa respiratoria en términos de CO₂. Esto ratifica que el número de células no viables, las cuales no contribuyen a la respuesta bioquímica de la muestra, habría aumentado con respecto a las muestras con 25 °Brix.

Las muestras equilibradas sin sorbato potásico mostraron niveles de etanol muy similares a los que presentaron las no-equilibradas, siendo estos valores 320±40 y 377±47 μL/kg de fruta respectivamente para 15 y 20 °Brix. Sin embargo, la concentración de acetaldehído fue mucho más baja, siendo prácticamente despreciable en las muestras de 20 °Brix y de 63±15 μL/kg de fruta para las muestras de 15 °Brix. Esto podría explicarse por el hecho de que todo el acetaldehído se ha convertido en etanol debido al largo tiempo de proceso.

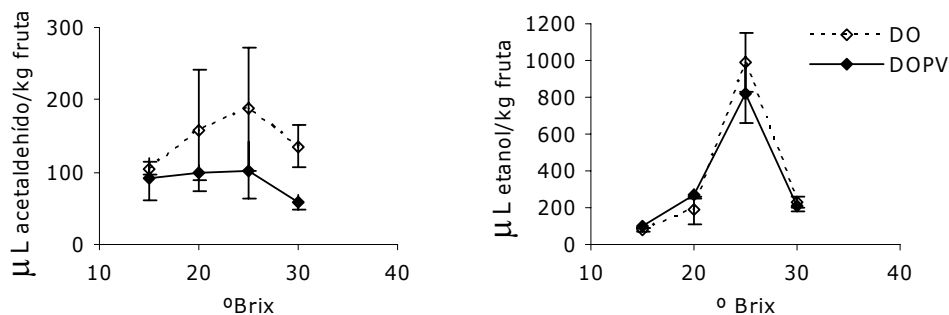


Figura III.13 –Niveles de etanol y acetaldehído obtenidos en el espacio de cabeza de muestras deshidratadas.

3.2.2.b. Efecto de los tratamientos osmóticos con calcio sobre las variaciones de masa y la tasa respiratoria

- *Características fisicoquímicas*

En la tabla III.8 se presentan la fracción de masa de agua, solutos, las variaciones de masa total, agua y solutos en las muestras frescas, impregnadas isotónicas y deshidratadas con y sin pulso de vacío y con y sin calcio hasta 15 y 20 °Brix de la segunda serie de experimentos en la que se evaluó el efecto del tratamiento osmótico y el contenido en calcio de la disolución en la tasa respiratoria y en las propiedades ópticas y mecánicas. Como cabe esperar, y en coherencia con los resultados de la serie anterior, a mayor nivel de deshidratación tanto la ganancia de masa de solutos como las pérdidas de masa total y de masa de agua fueron mayor, siendo más acusadas las pérdidas a presión atmosférica en las muestras con 20 °Brix. La presencia de calcio no supuso efectos significativos en los contenidos en agua y solutos alcanzados ni en las variaciones de masa de agua y solutos. El efecto del pulso de vacío tampoco fue muy notable, observándose la tendencia no significativa de una menor pérdida de agua y de masa en los tratamientos con pulso frente a los realizados a presión atmosférica. Esto se

explica por la baja porosidad de la fresa y el escaso efecto de la impregnación en los flujos másicos durante el proceso osmótico.

Tabla III.8. Fracciones másicas de agua (x_w) y solutos (x_s) de las fresas frescas y tratadas y variaciones de masa total (ΔM), de agua (ΔM_w) y solutos (ΔM_s) ocurridas durante los tratamientos, referidas a la masa inicial de la muestra.

| Tratamiento | tiempo (min) | x_w | x_s | ΔM | ΔM_w | ΔM_s |
|-------------|--------------|--------------|--------------|---------------|---------------|--------------|
| Fresca | — | 0.902(0.001) | 0.079(0.004) | — | — | — |
| IV | 10 | — | — | 0.032(0.006) | — | — |
| IV-Ca | 10 | — | — | 0.033(0.009) | — | — |
| DO 15 | 119 | 0.842(0.000) | 0.119(0.002) | -0.186(0.009) | -0.217(0.007) | 0.024(0.001) |
| DO 15-Ca | 141 | 0.845(0.000) | 0.139(0.021) | -0.186(0.007) | -0.214(0.006) | 0.040(0.001) |
| DOPV 15 | 109 | 0.853(0.000) | 0.156(0.001) | -0.180(0.002) | -0.202(0.002) | 0.055(0.000) |
| DOPV 15-Ca | 131 | 0.850(0.000) | 0.156(0.002) | -0.182(0.016) | -0.207(0.014) | 0.055(0.003) |
| DO 20 | 318 | 0.773(0.002) | 0.223(0.003) | -0.312(0.012) | -0.370(0.009) | 0.068(0.003) |
| DO 20-Ca | 378 | 0.785(0.004) | 0.217(0.005) | -0.316(0.007) | -0.365(0.006) | 0.062(0.002) |
| DOPV 20 | 292 | 0.799(0.006) | 0.192(0.009) | -0.289(0.027) | -0.334(0.022) | 0.050(0.005) |
| DOPV 20-Ca | 352 | 0.820(0.011) | 0.180(0.002) | -0.275(0.013) | -0.307(0.010) | 0.045(0.002) |

IV: muestras impregnadas con disolución isotónica; DO: deshidratación osmótica a presión atmosférica. DOPV: muestras deshidratadas osmóticamente aplicando un pulso de vacío. Los números indican los °Brix alcanzados por las muestras en el tratamiento. Ca indica que la disolución osmótica contiene un 1% (p/p) de lactato cálcico. Valores entre paréntesis corresponden a la desviación estándar

Con el objetivo de cuantificar la ganancia de calcio debido al tratamiento y las posibles pérdidas de otros cationes, se determinó su contenido por cromatografía iónica (apartado 2.4.4. de materiales y métodos). Los resultados se obtuvieron de los cromatogramas en los que se distinguen picos a diferentes tiempos de retención que corresponden con los iones analizados, como puede verse en el ejemplo de la figura III.14. La integral de cada uno de estos picos, indica respectivamente el contenido de esos iones de las disoluciones inyectadas, en base a la calibración realizada previamente.

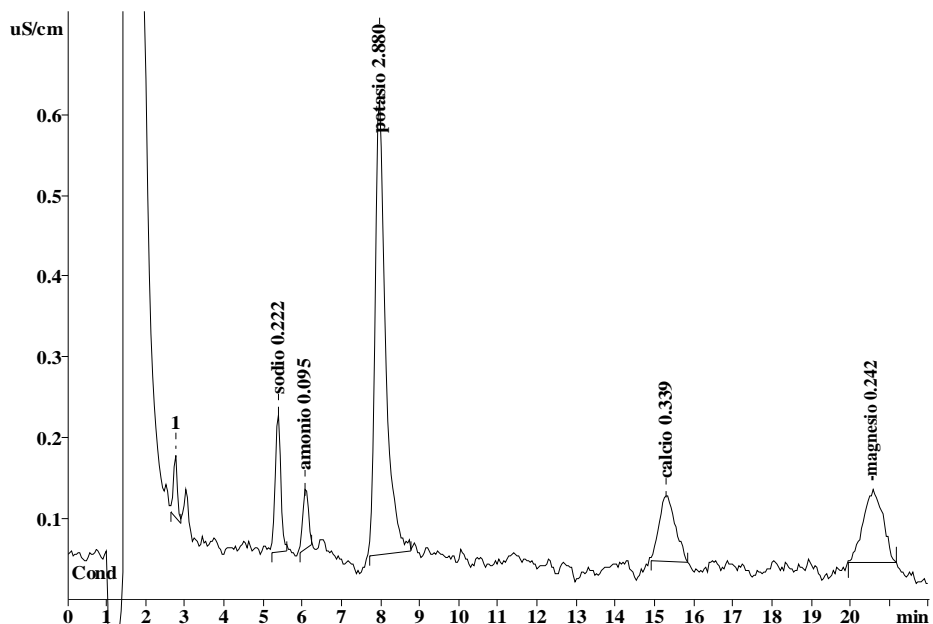


Figura III.14. Cromatograma de iones obtenido para fresas deshidratadas osmóticamente hasta 20 °Brix con aplicación de un pulso de vacío sin calcio.

Las tablas III.9 y III.10 dan los valores de concentración de los cationes Ca^{+2} , Na^+ , Mg^{+2} y K^+ encontrados en las muestras sometidas a los distintos tratamientos y en las frescas. En la tabla III.9 se presentan los resultados como mg catión por 100 gramos de muestra tratada, ofreciendo información de cuál sería la cantidad de calcio contenida en cada caso. Los resultados experimentales para la fresa fresca son coherentes con los datos encontrados en la bibliografía: 20-30 mg Ca^{+2} /100 g; 1 mg Na^+ /100 g; 11-13 mg Mg^{+2} /100 g; 150-212 mg K^+ /100 g (Consumer, 2006; Lobo & González, 2003; Folquer, 1986).

En la tabla III.10 los resultados de las concentraciones de cationes vienen expresados como mg de cada catión por 100 g de muestra fresca inicial, para comparar los valores y evaluar las respectivas ganancias o pérdidas ocurridas en el proceso. En la figura III.15 se presentan estas variaciones de masa para los diferentes cationes.

Tabla III.9. Contenido de cationes (Ca^{+2} , Na^+ , Mg^{+2} y K^+) de fresas frescas y tratadas referidos a 100 gramos de fresa tratada.

| Tratamiento | Ca^{+2} mg /100 g | Na^+ mg /100g | Mg^{+2} mg /100g | K^+ mg /100g |
|-------------|-------------------------------|---------------------------|------------------------------|--------------------------|
| Fresca | 22(2) | 22(8) | 9(0) | 137(7) |
| IV | 22(4) | 9 (2) | 6(1) | 84(6) |
| IV - Ca | 39(8) | 13(3) | 9(2) | 127(8) |
| DO 15 | 29(15) | 16.3(1.4) | 10.6(0.4) | 136(7) |
| DO 15-Ca | 57(4) | 7.5(1.4) | 10.6(0.9) | 140(6) |
| DO 20 | 19(4) | 5.5(0.2) | 11(2) | 150(2) |
| DO 20- Ca | 74(12) | 5.8(0.1) | 12.5(0.1) | 156(10) |
| DOPV 15 | 32 | 12.9(0.5) | 22.7(0.2) | 134(15) |
| DOPV 15-Ca | 58(3) | 24.4(1.1) | 17(2) | 113(2) |
| DOPV 20 | 15(2) | 10.0(0.6) | 10(2) | 134.5(1.1) |
| DOPV 20-Ca | 71(11) | 35.5(1.2) | 29(2) | 134(16) |

Valores entre paréntesis corresponden a la desviación estándar

Tabla III.10. Contenido de cationes (Ca^{+2} , Na^+ , Mg^{+2} y K^+) de fresas frescas y tratadas referidos a 100 gramos de fresa fresca

| Tratamiento | Ca^{+2} mg /100 g | Na^+ mg /100g | Mg^{+2} mg /100g | K^+ mg /100g |
|-------------|-------------------------------|---------------------------|------------------------------|--------------------------|
| Fresca | 22(2) | 22(8) | 9.2(0.2) | 137(7) |
| IV | 23(4) | 9(2) | 6(1) | 88(7) |
| IV - Ca | 41(9) | 14(3) | 10(2) | 136(9) |
| DO 15 | 24(13) | 14(1) | 8.8(0.4) | 113(6) |
| DO 15-Ca | 46(3) | 6.1(2) | 8.7(0.7) | 114(5) |
| DO 20 | 13(2) | 3.7(0.2) | 7.5(1.2) | 101(2) |
| DO 20- Ca | 49(8) | 3.8(0.1) | 8.2(0.1) | 102(6) |
| DOPV 15 | 26(3) | 10.5(0.4) | 18.4(0.1) | 109(12) |
| DOPV 15-Ca | 47(2) | 19.7(0.9) | 14(2) | 91.6(1.3) |
| DOPV 20 | 10.8(1.3) | 7.4(0.5) | 7.5(1.3) | 99.3(0.8) |
| DOPV 20-Ca | 53(8) | 26.4(0.9) | 22(2) | 100(12) |

Valores entre paréntesis corresponden a la desviación estándar

Considerando las variaciones de masa de calcio (Figura III.15) se observa una ganancia significativa de este catión en los tratamientos con calcio que aumentó sensiblemente a medida que el tiempo de tratamiento aumentó para conseguir una mayor concentración de sólidos en la muestra, pero sin efecto significativo del pulso de vacío. Esto parece indicar la penetración del ión por difusión mayoritariamente. En las muestras

deshidratadas sin calcio, no hubo pérdidas significativas en los tratamientos hasta 15 °Brix, y sólo cuando el nivel de deshidratación fue de 20 °Brix se observó un descenso apreciable de la concentración del catión. Esto es coherente con la potenciación de la pérdida de solutos intracelulares a medida que aumenta el tiempo de tratamiento y se da la descompartimentación de un mayor número de células.

Los tratamientos provocaron, en general, pérdidas de sodio, potasio y magnesio sin un efecto claro de las diferentes variables del proceso, lo cual puede deberse en parte a la variabilidad natural en el contenido de las distintas frutas que dificulta la observación de diferencias claras con el diseño experimental utilizado en el que fresas analizadas en fresco y después de tratadas fueron frutos diferentes. Las pequeñas ganancias observadas en algunos casos deben ser atribuibles también a la variabilidad en el contenido de las fresas analizadas en fresco y las tratadas.

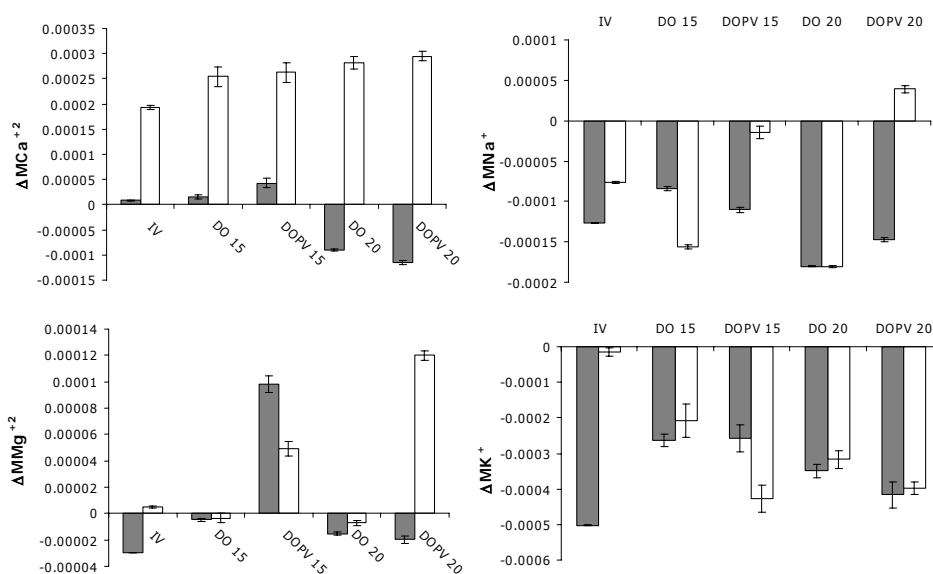


Figura III.15. Variaciones de masa de los cationes estudiados (Ca^{+2} , Na^+ , Mg^{+2} y K^+) en función del tratamiento osmótico aplicado. Barras grises: tratamientos sin calcio. Barras blancas: tratamientos con calcio.

Aunque el objetivo de la adición de calcio en este trabajo no es el de enriquecer la muestra en este catión sino el de mejorar las propiedades organolépticas y la vida útil del producto, es interesante conocer el aporte que podría proporcionar 100 g de fresa tratada en función de las condiciones de trabajo. Considerando las concentraciones de calcio determinadas en las fresas para cada tratamiento (tabla III.9) se pueden estimar las cantidades de cada producto necesarias para consumir las cantidades diarias recomendadas (CDR) de calcio, dado que la fresa es una de las frutas con mayor proporción de este catión y que se enriquece en el mismo en los tratamientos con calcio. El consumo de 100 g fresa fresca representa un 3% de las CDR del catión. En este sentido, en las muestras que no fueron tratadas con lactato cálcico, se mantiene el % de CDR de calcio en las fresas impregnadas isotónicamente y deshidratadas hasta 15 °Brix, mientras que en las muestras concentradas hasta 20 °Brix hubo una ligera reducción (2 % CDR). En las fresas tratadas con 1% de lactato cálcico se consigue un aporte de un 7% de las CDR en las fresas de 15 °Brix y un 9% en las de 20 °Brix independientemente de la presión de trabajo aplicada. Conociendo la respuesta que tiene la matriz de la fresa a la entrada del catión calcio, se podrían diseñar productos con concentraciones mayores que además de mejorar las propiedades del producto, podrían proporcionar un aporte extra de este catión en la dieta de personas con intolerancia a otro tipo de alimentos más ricos en calcio que la fruta.

- Tasa respiratoria

La tabla III.11 presenta los valores de las tasas respiratorias de fresas frescas e impregnadas isotónicamente con y sin 1% de lactato cálcico en la disolución de impregnación, a 10 °C. En comparación con los resultados obtenidos en la primera serie (ver tabla III.5) no se observan diferencias significativas en el caso de las fresas cortadas, aunque las fresas del segundo lote presentaron una tasa respiratoria ligeramente inferior. Sin embargo, sí que hay diferencias en la tasa respiratoria de las muestras impregnadas isotónicamente, de manera que se observa una tasa menor en las muestras utilizadas en la segunda serie. Aunque la composición de las fresas de ambas

series no presenta diferencias en humedad y en contenido en sólidos solubles (ver tablas III.7 y III.8), sí que hubo una ligera mayor ganancia de masa de impregnación isotónica en la primera serie ($\approx 4\%$) que en la segunda ($\approx 3\%$).

Es destacable la reducción en la velocidad de consumo de O_2 provocada por la adición del lactato cálcico en la disolución, lo que pone de manifiesto la interferencia de este ión en la regulación respiratoria (Pérez, 2003; Saftner *et al.*, 2003; Artés *et al.*, 1999, Luna-Guzmán *et al.*, 1999). No obstante, no se observan diferencias significativas en la tasa respiratoria de CO_2 por la incorporación de calcio a la disolución osmótica. Como consecuencia de estas diferencias se potencian las rutas anaerobias.

Tabla III. 11. Tasas respiratoria de fresa fresca e impregnada isotónicamente con y sin 1% de calcio a 10 °C

| | TR O_2 (mL O_2 kg ⁻¹ h ⁻¹) | TR CO_2 (mL CO_2 kg ⁻¹ h ⁻¹) | CR |
|---------------|----------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|-------------------------|
| Fresa cortada | 19(3) ^a | 19(2) ^a | 0.97(0.04) ^a |
| IV | 16.9(1.2) ^a | 21.7(0.7) ^{ab} | 1.3(0.1) ^b |
| IV-Ca | 11.9(0.2) ^b | 23.3(1.7) ^{bc} | 2.0(0.2) ^c |

Valores entre paréntesis corresponden a la desviación estándar.
Las letras en superíndice indican los grupos homogéneos

Saftner *et al.* (1999) observaron como se reducía la velocidad de respiración de manzana tratadas con calcio y sugieren que la reducción de la respiración podría atribuirse al efecto que tiene el calcio en el aumento de la rigidez de la membrana dando como consecuencia el bloqueo del intercambio gaseoso. De la misma manera, Serrano *et al.*, 2004 también establecen que el aumento en la firmeza de la fruta (ciruela) después de ser tratada con calcio podría contribuir a reducir su respuesta fisiológica, disminuyendo su tasa respiratoria y la producción de etileno. Ferguson (1984) postuló que el ión calcio interactúa con sitios en la membrana fosfolípida y con las pectinas de la pared celular de tal forma que retrasa los cambios que se producen durante la maduración del fruto. Sin embargo, Lester (1996), estudió la influencia de distintas concentraciones de disoluciones de cloruro cálcico en la senescencia de discos de melón, observando que las aplicaciones de calcio podían retrasar o acelerar la senescencia dependiendo de la concentración usada y que estos cambios estarían directamente relacionados con los

cambios en la microporosidad de la membrana. Otros autores, sugieren que la falta de calcio en los tejidos, aumenta la permeabilidad de las membranas provocando una liberación más fácil de los principales sustratos respiratorios desde las vacuolas a las enzimas respiratorias del citoplasma, dando como consecuencia una mayor respiración y con ello, un envejecimiento prematuro de los tejidos (Shear *et al.*, 1972).

La figura III.16 muestra las tasas respiratorias y los cocientes respiratorios de fresas frescas y deshidratadas a presión atmosférica (DO) o mediante un pulso de vacío inicial (DOPV), así como el efecto de la adición de calcio en la disolución osmótica. Se puede corroborar el efecto, ya observado en el estudio de la primera serie, de que la deshidratación a presión atmosférica provoca la disminución de la tasa respiratoria de O₂, tanto más cuanto mayor es el nivel de deshidratación. Al aplicar pulso de vacío se da una reducción en la TR_{O₂} más intensa independiente del nivel de deshidratación, tal como fue observado previamente. Aunque la adición de calcio no supone cambios significativos en la TR_{O₂}, se observa una tendencia a la disminución.

Por contra, la deshidratación da lugar a un aumento en la TR_{CO₂} que no es mayor al aumentar el nivel de deshidratación y que se ve ligeramente mitigado en las muestras con 15 °Brix por la impregnación a vacío y con menor intensidad por la presencia de calcio. Estos resultados dan como consecuencia valores de CR superiores a la unidad para todos los tratamientos. Estos valores son claramente potenciados a medida que aumenta el nivel de deshidratación y por el tratamiento a vacío, siendo ligeramente mayores cuando las muestras se enriquecen en calcio.

Los efectos observados en la respiración en esta segunda serie son coherentes con lo observado en la primera en cuanto al efecto del nivel de deshidratación y el pulso de vacío, llevando ambos factores a una potenciación de las rutas anaerobias y disminuyendo considerablemente la tasa de consumo de oxígeno. La incorporación de calcio conlleva un ligero descenso del consumo de oxígeno, lo que coincide con los efectos descritos para el calcio en las muestras impregnadas con disolución isotónica del catión y puede atribuirse a las interacciones descritas con las membranas celulares.

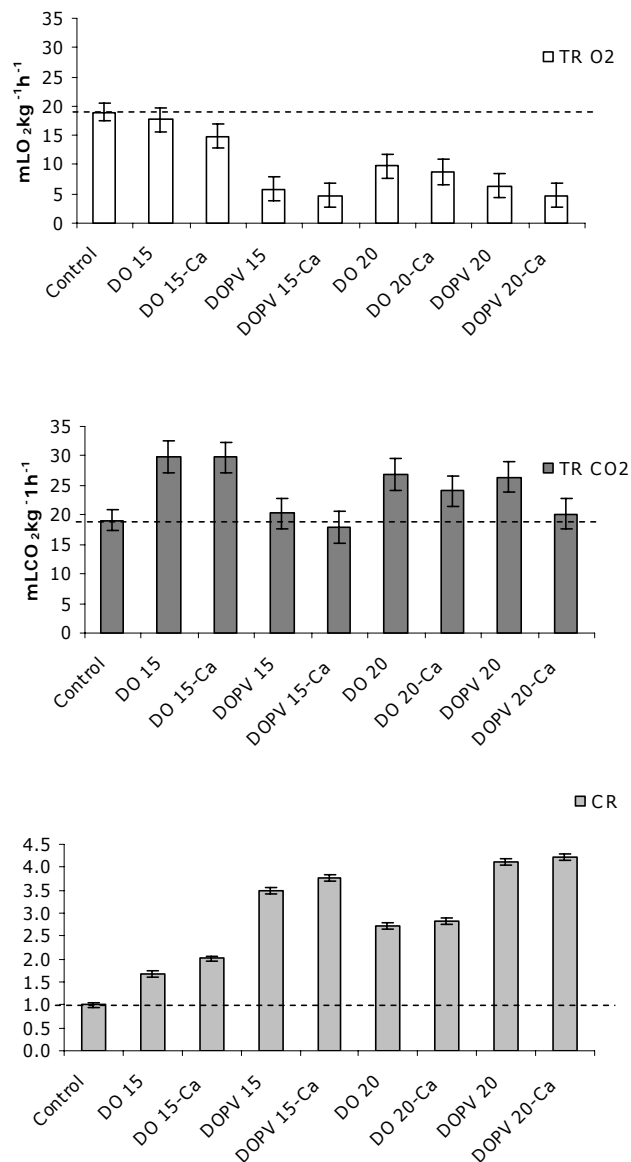


Figura III.16. Tasas respiratorias (TR) y cocientes respiratorios (CR) a 10°C de fresas cortadas (control) y fresas deshidratadas a presión atmosférica (DO) y aplicando un pulso de vacío inicial (DOPV) y con y sin adición de calcio en la disolución. Las barras indican los intervalos LSD (95%).

3.2.3. Evolución durante el almacenamiento

En este apartado se muestran los resultados del estudio de la influencia del lactato cálcico y del tratamiento osmótico en la evolución de la fisiología de la fruta, de su capacidad de retención de líquido y de sus propiedades mecánicas y ópticas durante el almacenamiento.

3.2.3.a. Cambios en la tasa respiratoria

Las muestras sometidas a impregnación isotónica, deshidratación osmótica a presión atmosférica o aplicando un pulso de vacío con o sin la adición de lactato cálcico fueron almacenadas a 10 °C, analizándose la TR tal y como se describe en el apartado 2.6 de Materiales y métodos del capítulo de estudios en fresa.

La figura III.17 presenta la evolución de los gases en el espacio de cabeza de los frascos de vidrio para los distintos tratamientos aplicados en muestras almacenadas por distinto tiempo. En todos los casos se observó un comportamiento lineal, lo que demuestra que los cambios en la atmósfera del sistema cerrado durante el tiempo de medida no implicaron modificaciones en la pauta respiratoria de las muestras. Resalta la menor pendiente de las rectas correspondientes a las muestras impregnadas. Además, conforme avanza el almacenamiento en general la pendiente cada vez es menos abrupta, excepto en el caso de las muestras frescas.

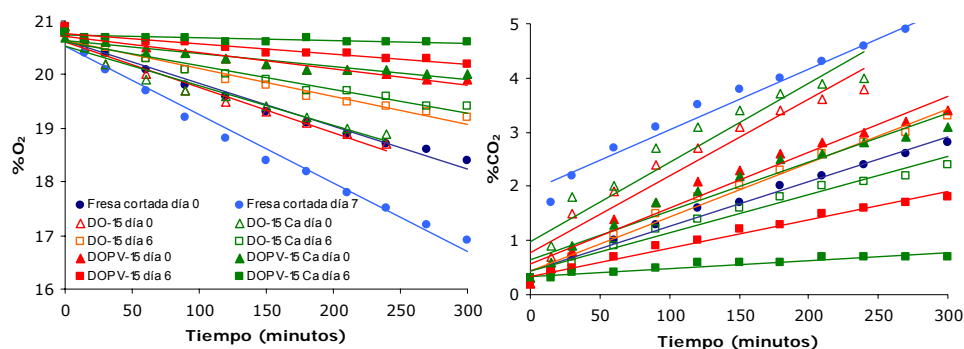


Figura III.17. Cambios de concentración en el espacio de cabeza de O₂ y CO₂ con fresa fresca y deshidratadas osmóticamente a presión atmosférica y con un pulso de vacío a distintos tiempos de almacenamiento.

En la figura III.18, se presentan los resultados obtenidos de la tasa respiratoria en términos de O₂ y CO₂, así como el cociente respiratorio en función del tiempo de almacenamiento para los tratamientos estudiados. Los tratamientos se agruparon en tres grupos: Fresas impregnadas isotónicamente (Figura III.18A), muestras tratadas osmóticamente a presión atmosférica (Figura III.18B) y muestras deshidratadas osmóticamente aplicando un pulso de vacío (Figura III.18C).

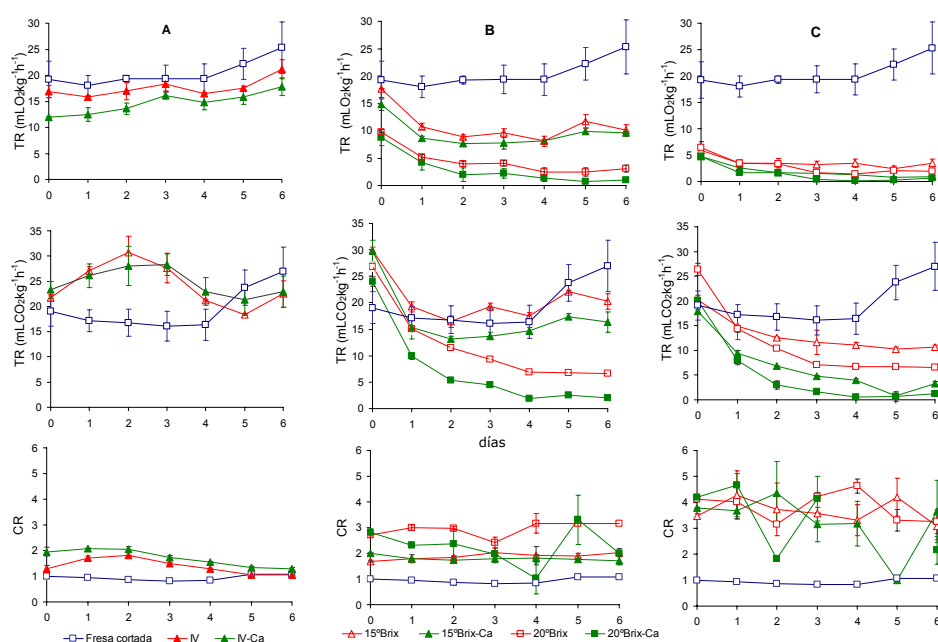


Figura III.18. Tasa respiratoria en términos de O₂ consumido y CO₂ producido y cociente respiratorio (CR) a lo largo del almacenamiento (6 días a 10 °C): A) Fresas impregnadas isotónicamente con y sin calcio, B) Muestras osmodeshidratadas a presión atmosférica hasta 15 y 20 °Brix con y sin 1% de lactato cálcico en la disolución y C) Muestras osmodeshidratadas aplicando un pulso de vacío hasta 15 y 20 °Brix con y sin 1% de lactato cálcico en la disolución. Las muestras frescas cortadas se representan en todos los casos como referencia.

Las tasas respiratorias tanto en fresas cortadas como en las tratadas isotónicamente aumentaron a lo largo del almacenamiento. La impregnación a vacío con disolución isotónica provocó un menor consumo de O₂ con

respecto a las fresas cortadas, especialmente cuando el lactato cálcico estuvo presente en la disolución de impregnación, tal y como se comentó en el punto anterior, manteniéndose este efecto a lo largo del almacenamiento a pesar del progresivo aumento de la TR_{O_2} en todos los casos. Se observó un aumento en la producción de CO_2 durante los primeros tres días de almacenamiento en las muestras IV, aunque después, la TR_{CO_2} disminuyó alcanzando niveles similares a los de las fresas cortadas. El cociente respiratorio presentó un aumento significativo debido al proceso de impregnación isotónica y a la adición de calcio, que se mostró en prácticamente todo el tiempo controlado. Resultados similares se obtuvieron en muestras de pera sometidas a un pulso de vacío con adición de distintos antipardeantes combinados o no con calcio (Pérez, 2003). La actividad respiratoria más baja cuando el calcio está presente puede explicarse porque el calcio participa en muchos procesos fisiológicos y bioquímicos de las plantas como se ha comentado anteriormente. Algunos autores (Luna-Guzmán *et al.*, 1999 y 2000; Artés *et al.*, 1999; Saftner *et al.*, 2003) señalan que el calcio provoca una disminución de la tasa respiratoria así como una prolongación de la vida útil del producto, ya que éste actúa como un agente inhibidor de la ruptura de tejidos (propio en la etapa inicial a la senescencia).

La deshidratación osmótica afectó a la pauta respiratoria de distinta manera según la presión aplicada en el tratamiento tal como se ha comentado previamente. Todas las muestras deshidratadas osmóticamente presentaron una disminución de la tasa respiratoria en términos de O_2 durante las primeras 24 horas en comparación con las muestras frescas cortadas durante el almacenamiento. A su vez, este descenso se mantuvo durante el almacenamiento, siendo las muestras con calcio las que presentaron una menor TR_{O_2} . Además, en el caso de las muestras deshidratadas a presión atmosférica, destacó la menor tasa respiratoria de O_2 de las muestras más deshidratadas, mientras que en el caso de las muestras tratadas con pulso de vacío, no fueron tan claras estas diferencias durante el almacenamiento. En términos de la producción de CO_2 , se observó un aumento en las muestras deshidratadas respecto a las muestras frescas cortadas al inicio del almacenamiento, probablemente debido al desarrollo de metabolismos fermentativos asociados con alteraciones celulares durante el

proceso. No obstante, la TR_{CO_2} descendió bruscamente a partir de las 24 horas de almacenamiento, en las frutas tratadas en comparación con las cortadas a excepción de las muestras deshidratadas hasta 15 °Brix a presión atmosférica. El descenso fue mayor en las muestras más deshidratadas y en presencia de calcio. Este comportamiento estaría relacionado en primer lugar, con la potenciación de rutas anaerobias provocadas por el tratamiento osmótico y en segundo lugar con una muerte celular más rápida en las muestras tratadas, tanto más cuanto más deshidratadas están como consecuencia del descenso de la viabilidad celular provocado por el tratamiento osmótico (Ferrando & Spiess, 2001), siendo este efecto potenciado por la presencia de calcio, ya que concentraciones superiores a $1\mu M$ de calcio citosólico pueden inhibir la acción de muchas enzimas (Azcón-Bieto & Talón, 2000), y por la impregnación a vacío que provoca cambios en los perfiles de concentración de la fruta más drásticos (Salvatori *et al.*, 1998). Resultados similares fueron observados en papaya cortada (Ceballos, 2006) y en mango cortado (Torres *et al.*, 2006) almacenados durante siete días a 8 y 10 °C, respectivamente.

En cuanto a los resultados del cociente respiratorio la pauta que sigue está relacionada con la intensidad del tratamiento aplicado. De esta manera, todos los CR de las muestras tratadas fueron mayores a la unidad a lo largo de todo el periodo de almacenamiento, especialmente en aquellas muestras osmodeshidratadas. El aumento en el nivel de deshidratación o la aplicación de un pulso de vacío supuso un mayor aumento en el CR lo que sugiere que las rutas anaerobias se desarrollaron en mayor proporción. La mayor alteración celular y la barrera a la difusión del oxígeno en el tejido podrían explicar este comportamiento.

Resumiendo, las muestras deshidratadas a presión atmosférica hasta 15 °Brix y con adición de calcio serían las muestras más estables en términos de tasa respiratoria, ya que presentan un cociente respiratorio más próximo a la unidad. A continuación, irían las muestras impregnadas isotónicamente. Sin embargo, tratamientos osmóticos más drásticos (mayor nivel de deshidratación y aplicación de PVOD), provocan anaerobiosis en las muestras lo que puede generar olores y sabores indeseables y una rápida senescencia

del tejido, por el menor número inicial de células viables y por la muerte más rápida de las células alteradas.

3.2.3.b. Cambios en la variación de masa durante el almacenamiento

En la figura III.19, se representa la variación de masa debida a la pérdida de fase líquida, causada tanto por el tratamiento osmótico como por el almacenamiento, para las muestras de fresa fresca, IV, DO y DOPV con y sin calcio en la disolución osmótica, según los resultados obtenidos al aplicar la ecuación III.20. La pérdida de líquido durante el almacenamiento debe atribuirse tanto a la transpiración y evaporación superficial, como a la expulsión de fase líquida interna por colapso gravitacional de la estructura. Lo primero predominará en las muestras no deshidratadas, y lo segundo en las sometidas a tratamiento osmótico, donde los efectos estructurales del mismo favorecen el colapso celular.

$$\Delta M = \Delta M_{P.O.} + \Delta M_{ALMACENAMIENTO} = \frac{M_{tALMACENAMIENTO} - M_0}{M_0} \quad (III.20)$$

$$\Delta M_{P.O.} = \frac{M_{tP.O.} - M_0}{M_0} \quad (III.21)$$

$$\Delta M_{ALMACENAMIENTO} = \frac{M_{tALMACENAMIENTO} - M_{tP.O.}}{M_0} \quad (III.22)$$

Donde:

ΔM : variación de masa total debida tanto al procesado osmótico como al almacenamiento

$\Delta M_{P.O.}$: variación de masa debida al procesado osmótico

$\Delta M_{ALMACENAMIENTO}$: variación de masa debida al almacenamiento

M_0 : masa inicial de la muestra

$M_{tALMACENAMIENTO}$: masa de la muestra a cada día de almacenamiento

$M_{tP.O.}$: masa de la muestra después del procesado osmótico

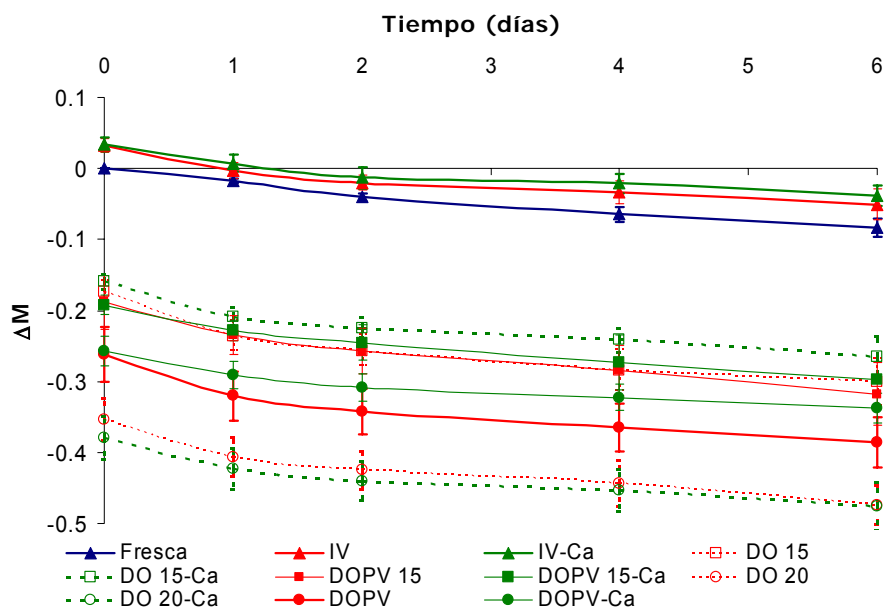


Figura III.19. Pérdida de masa asociada a la pérdida de fase líquida durante los seis días de almacenamiento en las fresas frescas y tratadas, referida a la masa inicial e incluyendo las variaciones de masa debidas al tratamiento osmótico (día 0).

Las muestras impregnadas isotónicamente presentaron una ganancia inicial de masa durante el tratamiento (día 0), como se ha comentado anteriormente, aunque a partir del segundo día perdieron peso respecto al que tenían inicialmente. Sin embargo, destaca la menor pérdida de peso a los seis días de almacenamiento de estas muestras respecto a las frescas lo que podría atribuirse a una inhibición de transpiración celular asociado al llenado de los poros durante la impregnación.

Todos los tratamientos de deshidratación implicaron pérdida de masa respecto a las muestras frescas, más acentuada conforme se prolongó el tiempo de tratamiento. En este sentido, las muestras deshidratadas parten en el almacenamiento de una menor proporción de fase líquida que es ligeramente mayor en el caso de las muestras tratadas con pulso de vacío y con menor nivel deshidratación.

Si se desglosan los valores representados en la figura III.19 y se considera únicamente la pérdida de líquido ocurrida durante el almacenamiento (ecuación III.22), se obtienen los resultados que se muestran en la figura III.20. De esta manera, puede observarse que las muestras sometidas a una impregnación a vacío isotónica durante los dos primeros días de almacenamiento tienen menor capacidad de retener fase líquida que las muestras control frescas. Sin embargo, al final del periodo considerado, apenas se observan diferencias entre ambas. Esto podría atribuirse a que las muestras IV tienden a expulsar el líquido impregnado al principio, pero después se estabiliza el comportamiento y pareciera que el propio líquido ganado en los poros de la estructura limita la transpiración y evaporación. Por otra parte, no se aprecia ningún efecto del calcio en las muestras impregnadas.

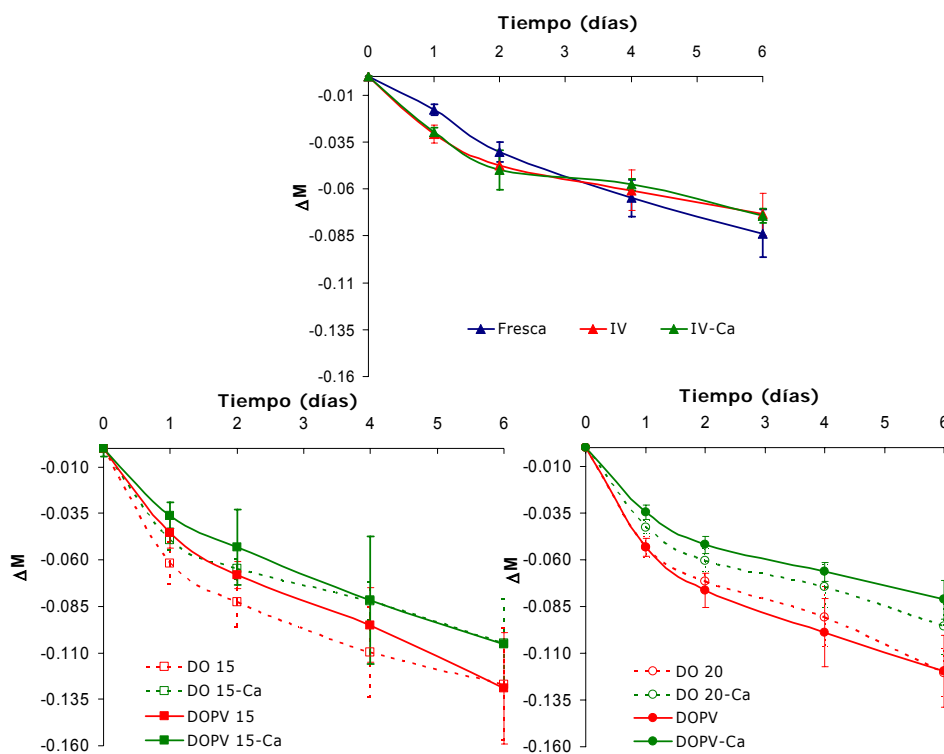


Figura III.20. Pérdida de líquido durante los seis días de almacenamiento en las fresas frescas y tratadas, referida a la masa inicial según la ecuación III.22.

En el caso de las muestras osmodeshidratadas, la pérdida de masa al final del almacenamiento es más acusada que en las muestras frescas o IV, para la mayor parte de los tratamientos. Únicamente las muestras con 20 °Brix tratadas con calcio no muestran diferencias significativas de pérdida de peso respecto a las muestras IV o frescas. El ANOVA con los factores °Brix de las muestras, aplicación de pulso y presencia de calcio refleja influencia significativa de los °Brix y del calcio en la capacidad de retención de líquido pero no del pulso de vacío, aunque se observa una tendencia a retener mayor cantidad de líquido por efecto del pulso. Se observa menos pérdida de líquido para las muestras con 20 °Brix que en las de 15 °Brix probablemente debido a la menor cantidad de fase líquida de las primeras al estar más concentradas. También en este caso la transpiración celular estará más limitada al haber en el tejido menor proporción de células inalteradas por el tratamiento osmótico y por tanto menor actividad celular global.

El efecto potenciador de la deshidratación se debe a que las muestras deshidratadas tienen menor turgor celular, con las uniones y membranas celulares alteradas y por tanto su estructura es más sensible al colapso y consecuente expulsión del líquido interno. Es destacable que las muestras tratadas con calcio presentan una pérdida de líquido notablemente menor que las correspondientes sin calcio, siendo este efecto mayor en las muestras deshidratadas a 20 °Brix donde también se alcanza mayor concentración de este catión. Esto pone de manifiesto que el calcio contribuye a reforzar la estructura celular aumentando así su capacidad de retención de líquido durante el almacenamiento (Lee *et al.*, 2003; Quiles *et al.*, 2004; Saftner *et al.*, 2003). Respecto al efecto del pulso de vacío en la deshidratación osmótica, éste parece aumentar durante los primeros días del almacenamiento la capacidad de retención de líquido, excepto en el caso de las muestras de 20 °Brix sin calcio, pero el efecto desaparece al cabo de 5-6 días de almacenamiento, donde ya no se observan diferencias significativas en la pérdida de líquido por efecto pulso.

El hecho de que con calcio las muestras pierdan menos líquido, apoya la teoría de que la pérdida de líquido sea fundamentalmente por colapso gravitacional, ya que el calcio refuerza la estructura y hace que este colapso sea menor, sobre todo en los tratamientos hasta 20 °Brix.

Como consecuencia de todos los efectos mencionados, al final del almacenamiento, se puede establecer una ordenación de los distintos tratamientos, de manera que de menor a mayor pérdida de líquido a los 6 días estarían en primer lugar las muestras frescas junto con las impregnadas isotónicamente así como las DOPV 20 °Brix con calcio, seguidas del resto de las muestras deshidratadas con calcio y por último de las deshidratadas sin calcio.

3.2.3.c. Cambios en las propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas de la materia prima se determinaron a través de un ensayo de punción (apartado 2.8 del capítulo de fresa).

En la figura III.21 se representan los parámetros que se han tenido en cuenta a la hora de caracterizar las curvas de punción:

- la deformación de fractura ($\varepsilon_{Fm\acute{a}x}$) (adimensional)
- la fuerza de la fractura ($F_{m\acute{a}x}$) expresada en Newtons
- la pendiente del tramo inicial (E) expresada en Newtons
- el área de la curva Fuerza- ε hasta la distancia correspondiente a un avance del punzón de 7.5 mm, expresada en Julios

La pendiente de la curva y la fuerza de fractura cuantifican en bastante extensión la firmeza del producto, mientras que el área bajo la curva hasta una deformación considerable representa la resistencia de la muestra o energía requerida para su deformación.

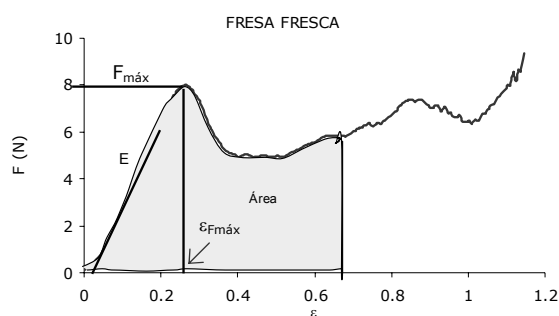


Figura III.21. Curva de punción de una fresa fresca, en la que se representa fuerza (F) frente a la deformación relativa (ε).

En la figura III.22 se pueden ver varios ejemplos de curvas de punción de las muestras frescas y tratadas. La impregnación a vacío con una disolución isotónica no parece afectar notablemente al comportamiento mecánico de la fresa, y teniendo en cuenta la variabilidad no se observa una notable disminución de la fuerza máxima tras el almacenamiento en las muestras no tratadas y en las sometidas a IV. En cuanto a las muestras deshidratadas, se observa un cambio drástico de la forma de las curvas. El tratamiento osmótico, produce una disminución en los valores de fuerza en función del nivel de deshidratación alcanzado; las muestras de 15 °Brix requieren mayores valores de fuerza para su deformación que las de 20 °Brix. La causa fundamental del cambio de comportamiento mecánico es la pérdida de turgor celular relacionada con la deshidratación (Mohsenin, 1986; Vincent, 1994; Edwards, 1999).

El comportamiento a la fractura en tejidos vegetales está relacionado con la rotura de las células turgentes durante la deformación o con la separación celular a través de las láminas medias, dependiendo del grado de turgor celular y del estado de las zonas de unión (Pitt, 1992; Dobraszczyk & Vincent, 1999). La deshidratación celular durante el proceso osmótico y la alteración de las láminas medias potencian el mecanismo de ruptura por separación celular frente a la rotura de las células por la ausencia de turgor que las hace más deformables (Chiralt *et al.*, 2001). El pulso de vacío en la deshidratación no afecta notablemente a la forma de las curvas de punción. Este comportamiento se ha observado en trabajos previos en fresa (Chiralt & Talens, 2005). Respecto a la influencia del calcio, no se detecta un efecto muy notable en el comportamiento mecánico de la fresa. Destaca el efecto del almacenamiento en las muestras deshidratadas hasta 15 °Brix aunque no es muy apreciable en las de 20 °Brix por su ya alto grado de deformabilidad después del tratamiento. Las curvas obtenidas al final del almacenamiento para las muestras de 15 °Brix van por debajo de las curvas del primer día, poniendo de manifiesto la pérdida de consistencia de las mismas.

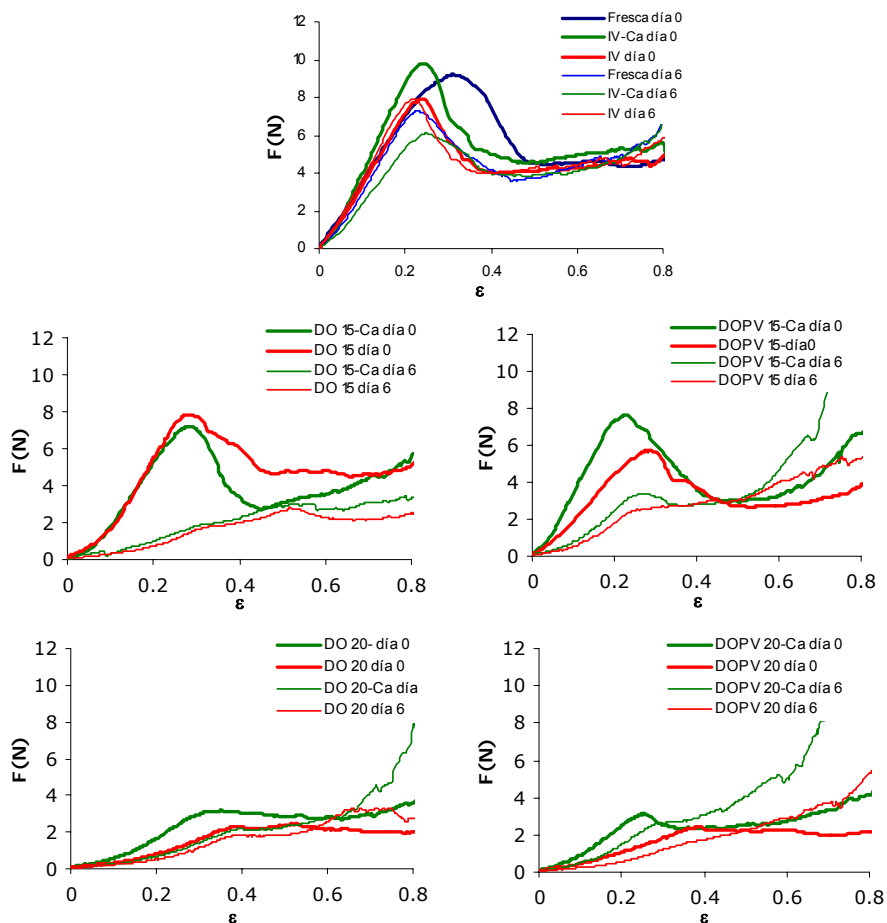


Figura III.22. Curvas de punción en fresas frescas, impregnadas isotónicamente y deshidratadas hasta 15 y 20 °Brix al inicio y al final del almacenamiento.

La figura III.23 presenta los valores de los parámetros mecánicos (pendiente, fuerza de fractura, deformación en la fuerza de fractura y área) al inicio y al final del almacenamiento, tanto en muestras frescas, impregnadas isotónicamente (IV), deshidratadas osmóticamente a presión atmosférica (DO), o aplicando un pulso de vacío al inicio del proceso (DOPV) y con o sin adición de 1% de lactato calcio en la disolución. Por otra parte, la figura III.24, presenta la relación entre la fuerza de fractura y la deformación relativa de la misma en función del tratamiento aplicado.

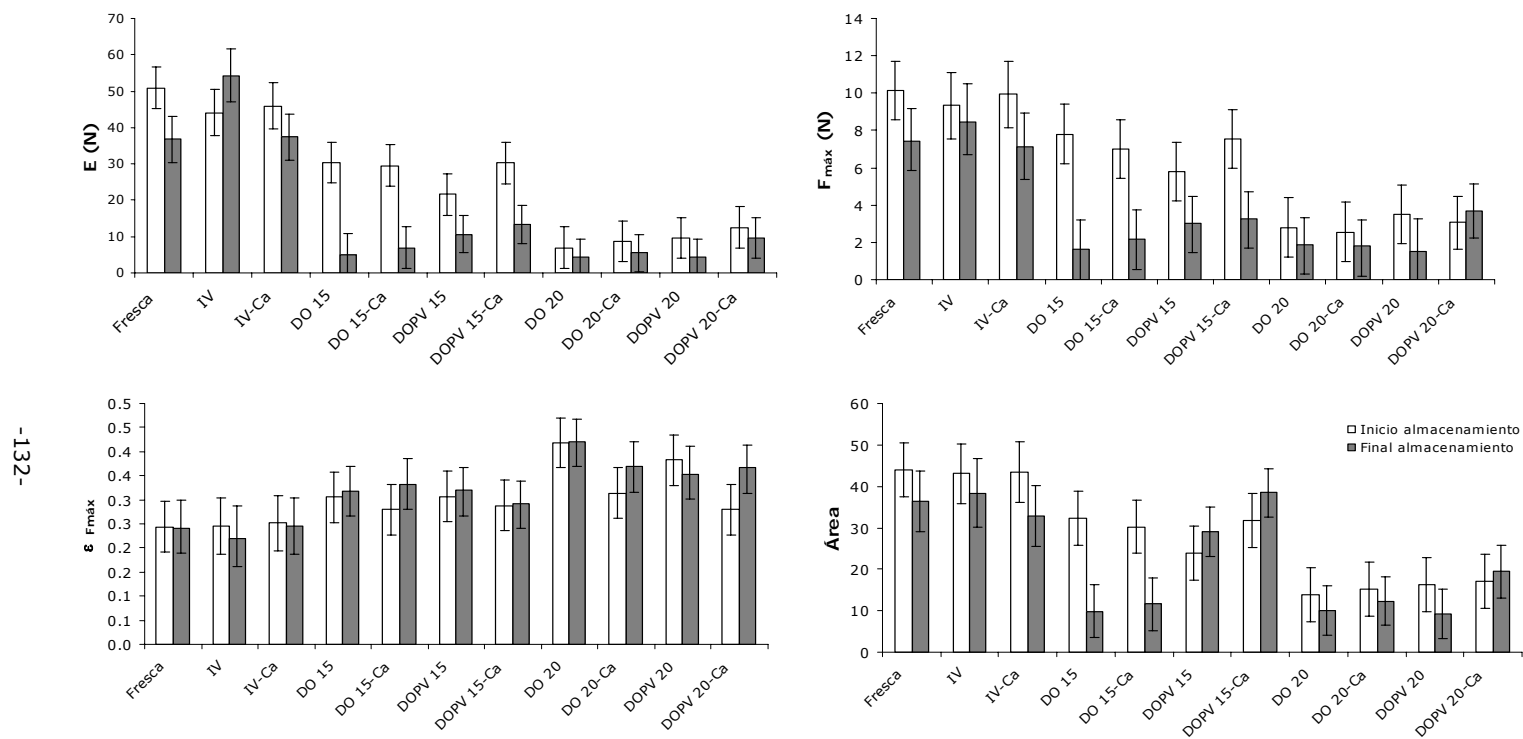


Figura III.23. Parámetros mecánicos (con intervalos LSD al 95%) al inicio y al final del almacenamiento, en fresas frescas, impregnadas isotónicamente (IV), deshidratadas osmóticamente a presión atmosférica (DO), deshidratadas osmóticamente aplicando un pulso de vacío (DOPV); con y sin calcio. Barras blancas: tiempo 0. Barras grises: tiempo 6 días de almacenamiento

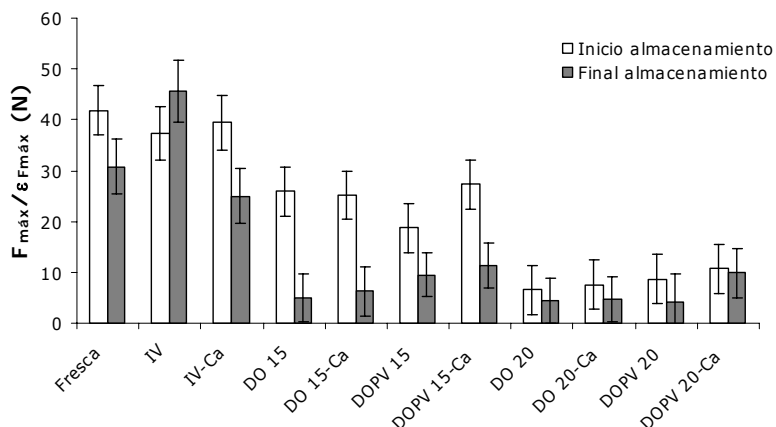


Figura III.24. Cociente $F_{m\acute{a}x}/\epsilon_{Fm\acute{a}x}$ (con intervalos LSD al 95%) de las muestras control y tratadas al inicio y fin del almacenamiento. Barras blancas: tiempo 0. Barras grises: 6 días de almacenamiento.

Cohérentemente con los comentarios acerca de las curvas, los valores de los parámetros indican que la impregnación a vacío isotónica tiene una escasa influencia en los mismos. El ANOVA refleja que las muestras frescas, e impregnadas con y sin calcio forman un grupo homogéneo en todos los casos.

En las muestras deshidratadas, un ANOVA multifactorial refleja un descenso significativo para las muestras con 20 °Brix en el módulo de deformabilidad, fuerza de fractura, área y relación fuerza-deformación, sin efecto significativo del pulso de vacío y de la presencia de calcio. La deformación de fractura es significativamente mayor en las muestras con 20°Brix que en las de 15°Brix. No obstante, esto se palía notablemente en presencia de calcio donde la deformabilidad de ambas muestras es similar. Este comportamiento está relacionado con los mayores cambios estructurales que se producen en los tratamientos osmóticos más largos en los que el avance del frente de perturbación en el tejido por efecto osmótico es mayor que en los tratamientos cortos, siendo por tanto mayor el número de células afectadas y el nivel de afectación de las mismas. Las muestras con 15°Brix mantendrán un "core" interno de células no afectadas, que contribuirá de forma importante a la resistencia a la punción cuando el punzón penetra a

una determinada distancia en el tejido, siendo la capa de células más externa la que presente alta deformabilidad. En las muestras con 20°Brix el "core" de células no afectadas será mucho menor, por lo que la mayor resistencia interna a la punción ya no es detectable. Este efecto tan intenso del nivel de deshidratación no permite apreciar otros posibles efectos de menor magnitud como la acción del pulso de vacío o la incorporación de calcio.

En cuanto al efecto del almacenamiento, los valores de los parámetros se muestran también en las figuras III.23 y III.24. Para las muestras no tratadas y las impregnadas isotónicamente con y sin calcio, en las condiciones ensayadas, aunque se observa un ligero descenso de los parámetros relacionados con la firmeza y consistencia, las diferencias respecto a los valores iniciales no fueron significativas. Tampoco hubo diferencias significativas en la deformabilidad, todo lo cual indica el buen mantenimiento de la textura de estas muestras.

Para las muestras deshidratadas el almacenamiento sí que supuso un cambio en las propiedades mecánicas, dependiente del tipo de tratamiento realizado. En todos los casos se observa una caída de los parámetros relacionados con la firmeza y consistencia aunque no de la deformabilidad, de mucha mayor magnitud en las muestras con 15°Brix que presentaban mayor firmeza y cohesión después del tratamiento. El ANOVA multifactorial de los parámetros de las muestras almacenadas durante 6 días refleja un efecto menos significativo de la concentración, influyendo también la aplicación de pulso de vacío y la presencia de calcio. El módulo de deformabilidad sigue siendo mayor en las muestras con 15 °Brix, pero sólo cuando se aplica pulso de vacío, presentando las muestras con calcio valores mayores que las correspondientes sin calcio. La fuerza de fractura, el área de la curva y la relación fuerza-deformación de fractura sólo estuvieron afectadas por la acción del pulso y la presencia de calcio, potenciando ambos factores los valores de estos parámetros. La mayor deformabilidad de las muestras con 20°Brix se mantiene después del almacenamiento, sin efecto significativo del pulso de vacío y de la presencia de calcio. Estos resultados indican que, si bien el pulso de vacío y la presencia de calcio no parecen afectar significativamente a la textura de las muestras recién tratadas, sí que contribuyen al reforzamiento estructural del tejido que permite el mayor

mantenimiento de la textura durante el almacenamiento. Concretamente, las muestras con 15 °Brix tratadas con pulso de vacío mantienen prácticamente los valores del área de la curva después del almacenamiento lo que indica un gran mantenimiento de la cohesión del tejido.

El cambio en el comportamiento mecánico de las muestras durante el almacenamiento, especialmente en las muestras con 15 °Brix, está relacionado con diferentes factores: la evolución de los perfiles de concentración dentro del tejido, que tenderán a hacerse más planos, aumentando el número de células afectadas, el colapso gravitacional de las células por la ausencia de turgor con la correspondiente pérdida de líquido comentada y los procesos de senescencia que parecen acelerarse por el estrés osmótico, tal como se ha visto en los estudios de respiración, y que provocan la alteración/ablandamiento del tejido. En este sentido, la acción protectora del pulso de vacío o del calcio podría estar relacionada con su influencia en cada uno de estos factores. El pulso de vacío modifica las propiedades de transporte del tejido y también contribuye a que sean más planos los perfiles iniciales de concentración (Chiralt & Fito, 2003) con lo que su evolución durante el almacenamiento también será más lenta al disminuir la fuerza impulsora para alcanzar el equilibrio interno. El calcio en cantidades adecuadas contribuye a reforzar las uniones celulares inhibiendo la ruptura de tejidos propia de la senescencia (Saftner *et al.*, 2003) aunque también participa en el metabolismo celular, pudiendo tener una acción tóxica a partir de determinados niveles (Lester, 1996; Anino *et al.*, 2006). Con los niveles utilizados se ha observado que el calcio disminuye la tasa respiratoria y que parece inhibir la ruptura del tejido por sus efectos en la evolución de las propiedades mecánicas.

En conclusión, el análisis mecánico revela una gran disminución de la firmeza y cohesión de las muestras de fresa por efecto de los tratamientos osmóticos tanto mayor cuanto mayor es el nivel de deshidratación. No obstante, después del almacenamiento las muestras con diferentes niveles de deshidratación son más similares, por la mayor evolución de las muestras menos deshidratadas, evidenciándose efectos beneficiosos de la aplicación del pulso de vacío y de calcio en el mantenimiento de la textura de las muestras deshidratadas.

3.2.3.d. Cambios de color

Tanto las muestras frescas como las impregnadas isotónicamente, y las deshidratadas se caracterizaron en su espectro de reflexión en el intervalo visible y en las coordenadas de color, en la epidermis de la fresa (cara externa) y en la superficie de corte (cara interna). Esta caracterización se realizó después del tratamiento y a lo largo de 6 días de almacenamiento.

La tabla III.12 muestra los valores de las coordenadas cromáticas (a^* y b^*), luminosidad (L^*), croma (C^*_{ab}) y tono (h^*_{ab}) en las caras externa e interna de las muestras al inicio del almacenamiento.

Tabla III. 12. Coordenadas de color de las muestras frescas y tratadas al inicio del almacenamiento

| | Tratamiento | L^* | a^* | b^* | C^*_{ab} | h^*_{ab} |
|--------------|----------------|-------|-------|----------|------------|------------|
| CARA EXTERNA | Fresca-cortada | 30(2) | 19(3) | 7(2) | 20(3) | 19(3) |
| | IV | 24(2) | 16(2) | 6(2) | 17(2) | 21(6) |
| | IV-Ca | 27(3) | 14(4) | 4(1) | 15(3) | 16(8) |
| | DO-15 | 35(3) | 14(3) | 6(2) | 16(4) | 23(6) |
| | DO-15 Ca | 31(4) | 18(6) | 7(3) | 19(7) | 23(5) |
| | DO-20 | 30(4) | 15(3) | 5(2) | 17(3) | 18(5) |
| | DO-20 Ca | 31(3) | 19(4) | 9(3) | 21(4) | 23(4) |
| | DOPV-15 | 28(3) | 12(2) | 4(2) | 12(3) | 20(5) |
| | DOPV-15 Ca | 29(2) | 11(3) | 5(2) | 12(4) | 26(5) |
| | DOPV-20 | 29(3) | 8(2) | 5(1) | 10(2) | 32(10) |
| | DOPV-20 Ca | 25(3) | 9(2) | 4(1) | 14(2) | 19(4) |
| CARA INTERNA | Fresca-cortada | 52(6) | 18(4) | 11(3) | 21(4) | 32(3) |
| | IV | 43(6) | 15(3) | 9(3) | 17(4) | 30(5) |
| | IV-Ca | 29(3) | 10(3) | 3(2) | 11(3) | 17(6) |
| | DO-15 | 44(3) | 22(2) | 12(2) | 25(2) | 29(3) |
| | DO-15 Ca | 46(4) | 19(1) | 10(2) | 22(2) | 28(2) |
| | DO-20 | 43(4) | 16(4) | 9(2) | 16(6) | 28(1) |
| | DO-20 Ca | 44(2) | 19(3) | 9(3) | 22(3) | 28(7) |
| | DOPV-15 | 32(3) | 7(1) | 3(1) | 7(1) | 23(7) |
| | DOPV-15 Ca | 34(2) | 4(1) | 1.4(0.2) | 4(1) | 20(6) |
| | DOPV-20 | 23(3) | 12(2) | 3(1) | 12(2) | 14(4) |
| | DOPV-20 Ca | 25(3) | 10(2) | 3(1) | 10(2) | 17(8) |

Comparando los parámetros de color de las caras externa e interna de la fresa fresca se observan notables diferencias. La más significativa se da en la luminosidad donde los valores de la cara interna son casi el doble que los de la cara externa. La cara interna presenta además un tono menos rojo (mayor h^*_{ab}) tal como se describe en trabajos previos (Talens, 2002; Chiralt & Talens, 2005). Esto se corresponde con la apreciación visual ya que la cara externa presenta un color rojo homogéneo, mientras que la cara interna presenta un color menos intenso y homogéneo por contener los haces vasculares de color blanquecino.

Las figuras III.25 a III.28 presentan la ubicación en los planos de color a^*L^* y a^*b^* de las muestras frescas y tratadas, tanto para la cara externa como la interna. En ellas pueden observarse de forma gráfica las diferencias inducidas por los tratamientos para las diferentes coordenadas.

La cara externa no presenta cambios significativos en el tono asociados a los diferentes tratamientos. Sin embargo, sí se observa una disminución significativa ($\alpha < 0.01$) de L^* y de C_{ab}^* (debido a la caída de a^* y b^*) por efecto del pulso de vacío y cambios menos significativos por efecto de la deshidratación. Los valores de croma disminuyen levemente con la deshidratación, mientras que L^* aumenta sólo para las muestras tratadas hasta 15 °Brix siguiendo la misma pauta descrita en trabajos previos (Talens *et al.*, 2002). La adición de calcio no comporta variaciones significativas en los valores de las coordenadas de color.

En la cara interna (superficie de corte), los tratamientos provocan descensos muy significativos en la luminosidad y en el croma (debido al descenso de a^* y b^*) cuando se aplica pulso de vacío. La aplicación del pulso supone también un descenso en el tono, apareciendo las muestras más rojas. El nivel de deshidratación alcanzado o la incorporación de calcio no influyen de forma clara en las coordenadas de color. En la zona interna se hace más patente el efecto del pulso de vacío que en la zona externa. Esto se explica por su mayor porosidad. La impregnación supone una mayor homogeneidad del índice de refracción del tejido (al sustituir el aire de los poros por líquido con propiedades ópticas similares a las del líquido intracelular) lo que implica una ganancia en transparencia y la consiguiente disminución de la reflectancia difusa en la superficie de la muestra.

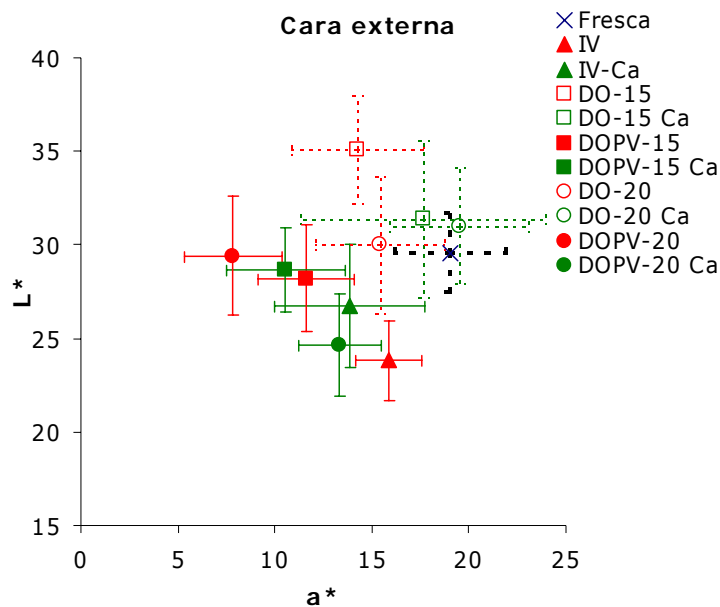


Figura III.25. Planos de color a*L* de las fresas frescas y tratadas en la cara externa.

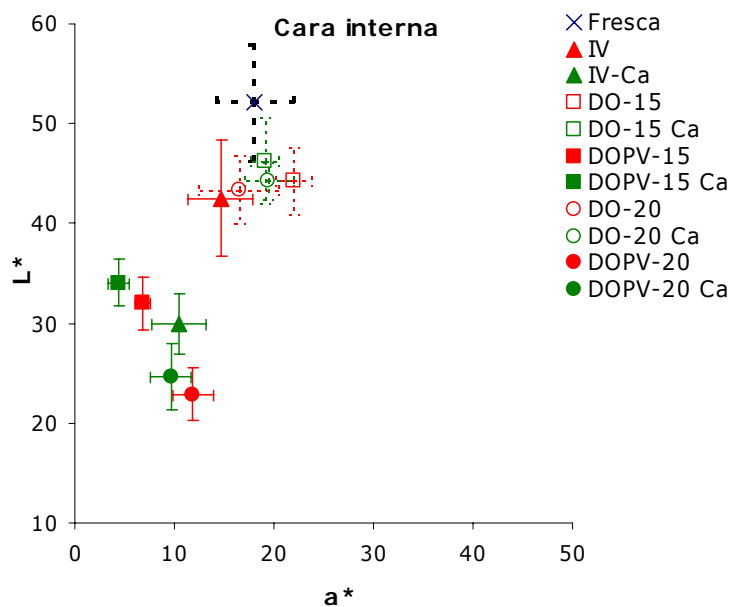


Figura III.26. Planos de color a*L* de las fresas frescas y tratadas en la cara interna.

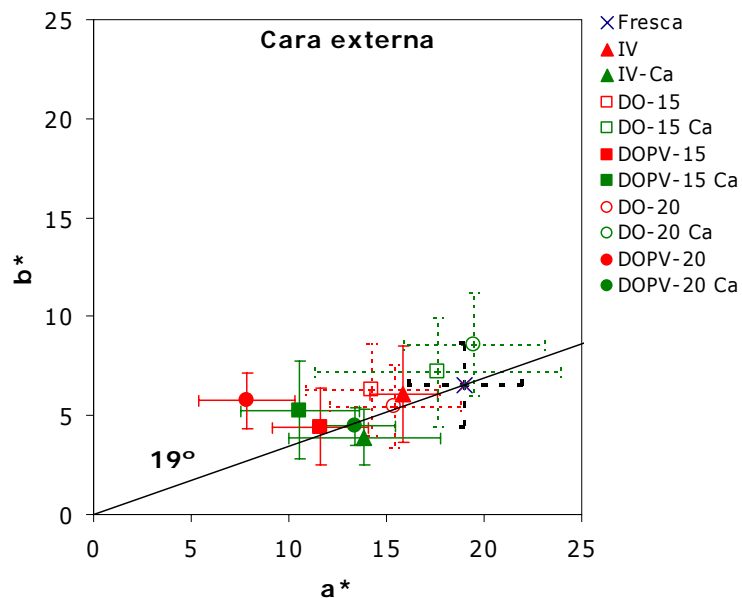


Figura III.27. Planos de color a^*b^* de las fresas frescas y tratadas en la cara externa.

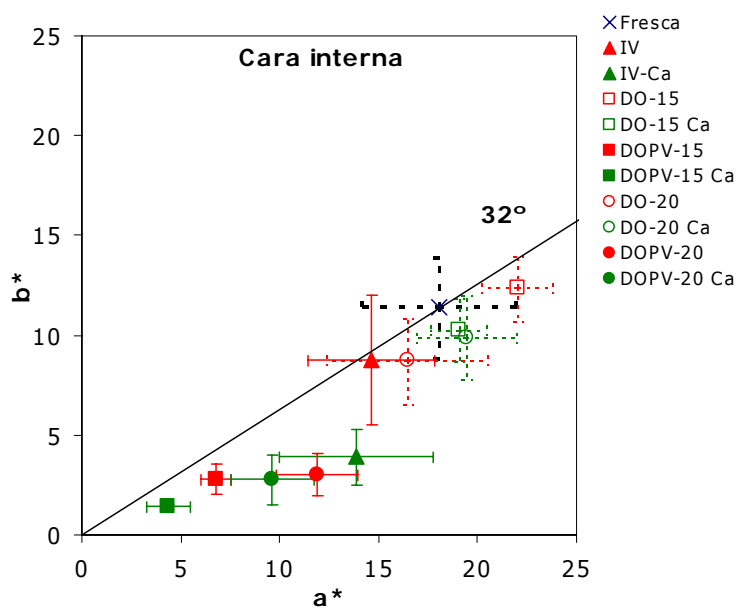


Figura III.28. Planos de color a^*b^* de las fresas frescas y tratadas en la cara interna.

Las figuras III.29 y III.30 muestran los espectros de reflexión de las muestras donde pueden observarse algunos de los efectos comentados. Para la muestra fresca, la reflectancia es mayor en la cara interna que en la externa, coherentemente con su mayor porosidad lo que provoca una mayor intensidad de luz dispersada en la superficie. La concentración de material colorante en la zona interna es también menor lo que también contribuye a una menor absorción selectiva, aumentando la reflectancia y cambiando ligeramente la forma de la curva. Los tratamientos provocan cambios en el espectro, principalmente cuando se aplica pulso de vacío, por el efecto mencionado del aumento de transparencia, los cuales son especialmente notables en la cara interna más porosa. Los tratamientos a presión atmosférica influyen también más en la cara interna. Aunque éstos no provocan la sustitución del gas de forma tan eficaz como los de pulso de vacío, la entrada del líquido osmótico por capilaridad en los poros aumenta ligeramente la homogeneidad del índice de refracción cerca de la superficie. Por otro lado, la deshidratación provoca un aumento de la concentración superficial de sólidos lo que podría suponer un incremento de la absorbancia selectiva, pero también aumenta el índice de refracción lo que supone un aumento de la reflectancia superficial. Por consiguiente los cambios en la estructura del material durante los distintos tratamientos y la modificación de las interacciones de la luz con el mismo dan lugar a cambios en el espectro de reflexión que repercuten en los valores de las coordenadas de color, aunque no haya alteraciones en la estructura química de los pigmentos del producto. Estas alteraciones se reflejarían sobre todo en cambios de tono, ya que cambian la curva de absorción selectiva (Chiralt & Talens, 2005; Chiralt, 2002).

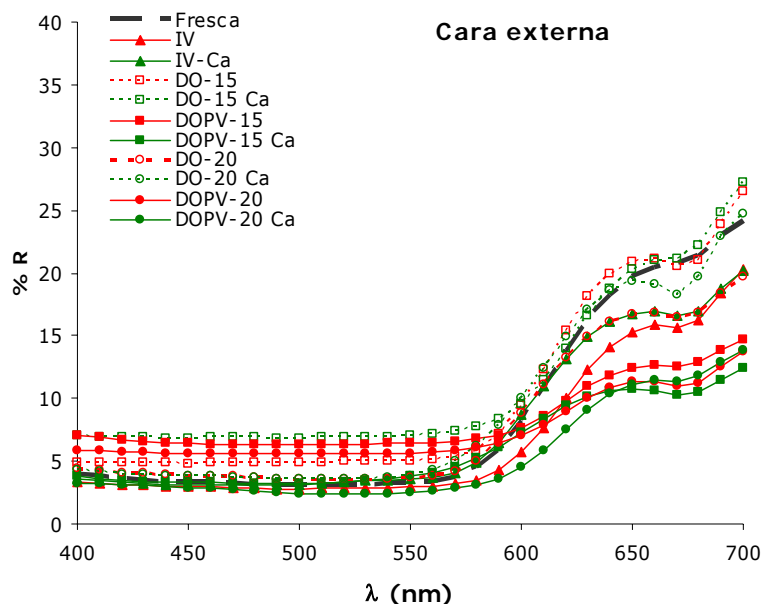


Figura III.29. Espectros de reflexión representativos de las muestras frescas y tratadas al inicio del almacenamiento en la cara externa.

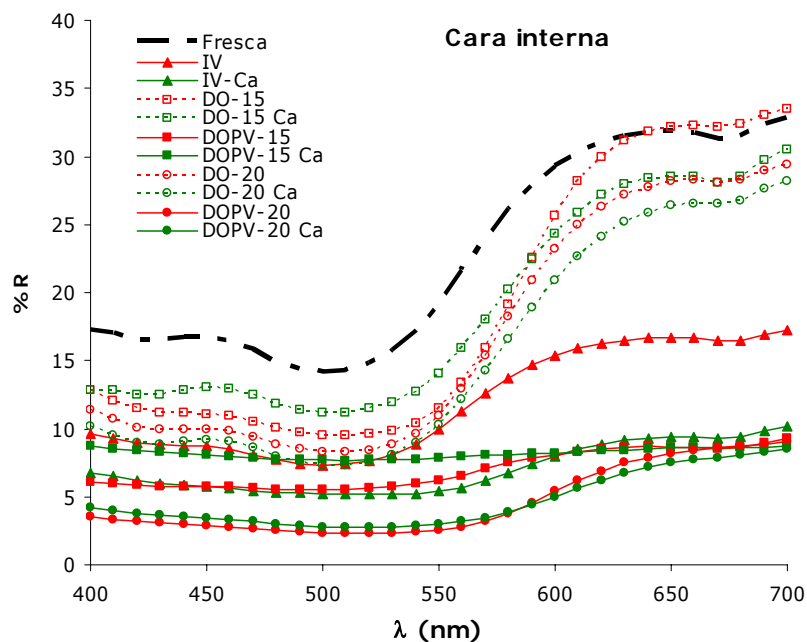


Figura III.30. Espectros de reflexión representativos de las muestras frescas y tratadas al inicio del almacenamiento en la cara interna.

En la tabla III.13 se dan los cambios en cada una de las coordenadas de color debidos al tratamiento que experimentan las fresas tratadas respecto a la fresa fresca al inicio del almacenamiento, tanto en la cara externa como en la cara interna de la fruta.

Tabla III.13. Cambios de color de la fresa impregnada isotónicamente (IV), deshidratadas a presión atmosférica (DO), o aplicando un pulso de vacío al inicio del proceso (DOPV), respecto a la fresa fresca, al inicio del almacenamiento.

| | | Tratamiento | ΔL^* | Δa^* | Δb^* | ΔC^*_{ab} | Δh^*_{ab} |
|---------------------|-------------------|-------------|--------------|--------------|--------------|-------------------|-------------------|
| CARA EXTERNA | IV | | -6(2) | -3(3) | 0(3) | -3(3) | 2(6) |
| | IV-Ca | | -3(4) | -4(4) | -2(4) | -4(5) | -3(7) |
| | DO-15 | | 6(3) | -5(3) | 0(2) | -4(4) | 4(6) |
| | DO-15 Ca | | 2(4) | -1(6) | 1(3) | -1(7) | 4(5) |
| | DO-20 | | 0(4) | -4(3) | -2(2) | -4(4) | -2(6) |
| | DO-20 Ca | | 1(3) | 0(4) | 2(3) | 1(4) | 4(4) |
| | DOPV-15 | | -1(3) | -7(2) | -2(2) | -8(3) | 1(5) |
| | DOPV-15 Ca | | -1(2) | -8(3) | -1(2) | -8(4) | 7(5) |
| | DOPV-20 | | 0(3) | -11(2) | -1(2) | -10(2) | 6(15) |
| | DOPV-20 Ca | | -5(3) | -6(2) | -2(1) | -6(2) | 0(4) |
| | | Tratamiento | ΔL^* | Δa^* | Δb^* | ΔC^*_{ab} | Δh^*_{ab} |
| CARA INTERNA | IV | | -13(7) | -5(5) | -4(5) | -6(7) | -7(13) |
| | IV-Ca | | -23(4) | -9(4) | -9(2) | -12(4) | -20(8) |
| | DO-15 | | -6(4) | 3(3) | 1(2) | 3(3) | -3(3) |
| | DO-15 Ca | | -6(4) | 1(1) | -1(2) | 1(2) | -4(2) |
| | DO-20 | | -3(9) | -6(7) | -2(2) | -5(6) | 8(18) |
| | DO-20 Ca | | -6(5) | 0(5) | -2(3) | -1(5) | -4(7) |
| | DOPV-15 | | -20(3) | -12(2) | -9(2) | -19(2) | -13(9) |
| | DOPV-15 Ca | | -19(4) | -14(1) | -10(1) | -20(1) | -12(6) |
| | DOPV-20 | | -26(5) | -8(3) | -9(1) | -19(1) | -20(5) |
| | DOPV-20 Ca | | -31(10) | -10(4) | -9(2) | -19(2) | -18(10) |

En la figura III.31 se presentan los valores del cambio total de color (ΔE) debido al tratamiento tanto para las fresas impregnadas isotónicamente y las deshidratadas, tanto en la cara externa como en la interna. De acuerdo con lo comentado previamente, las diferencias de color inducidas en la superficie externa son menores que en la cara interna, donde son también mayores los cambios estructurales o cambios en porosidad. Es destacable el

hecho de que pulso de vacío provoca cambios de tono de la cara interna (Figura III.28) llevando el mismo a valores próximos al de la cara externa lo que se explica por la reflexión difusa de los haces procedentes de la zona epidérmica dentro del tejido altamente translúcido por efecto del pulso.

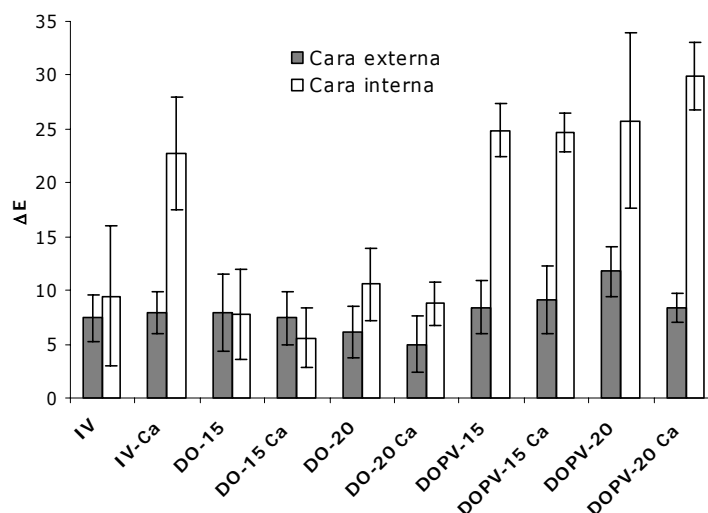


Figura III.31. Diferencias de color global (ΔE) provocadas por los diferentes tratamientos

En conclusión los tratamientos de impregnación y deshidratación modifican el color de las muestras de forma muy dependiente de la porosidad del tejido y de los cambios estructurales provocados. Las superficies más porosas cambian más en su espectro de reflexión y por tanto en sus coordenadas de color, especialmente cuando el tratamiento implica cambios relevantes de porosidad. Los cambios redundan sobre todo en la luminosidad y el croma que disminuyen de forma notable. Los cambios de tono sólo fueron relevantes en la zona interna. No parecen detectarse alteraciones de los pigmentos de la fresa, siendo los cambios observados atribuibles a las modificaciones estructurales.

En las figuras III.32 a III.35, se presenta la evolución de los parámetros de color y las diferencias de color respecto a la fresa fresca inicial durante el almacenamiento de fresa fresca y tratada, para la cara externa e interna.

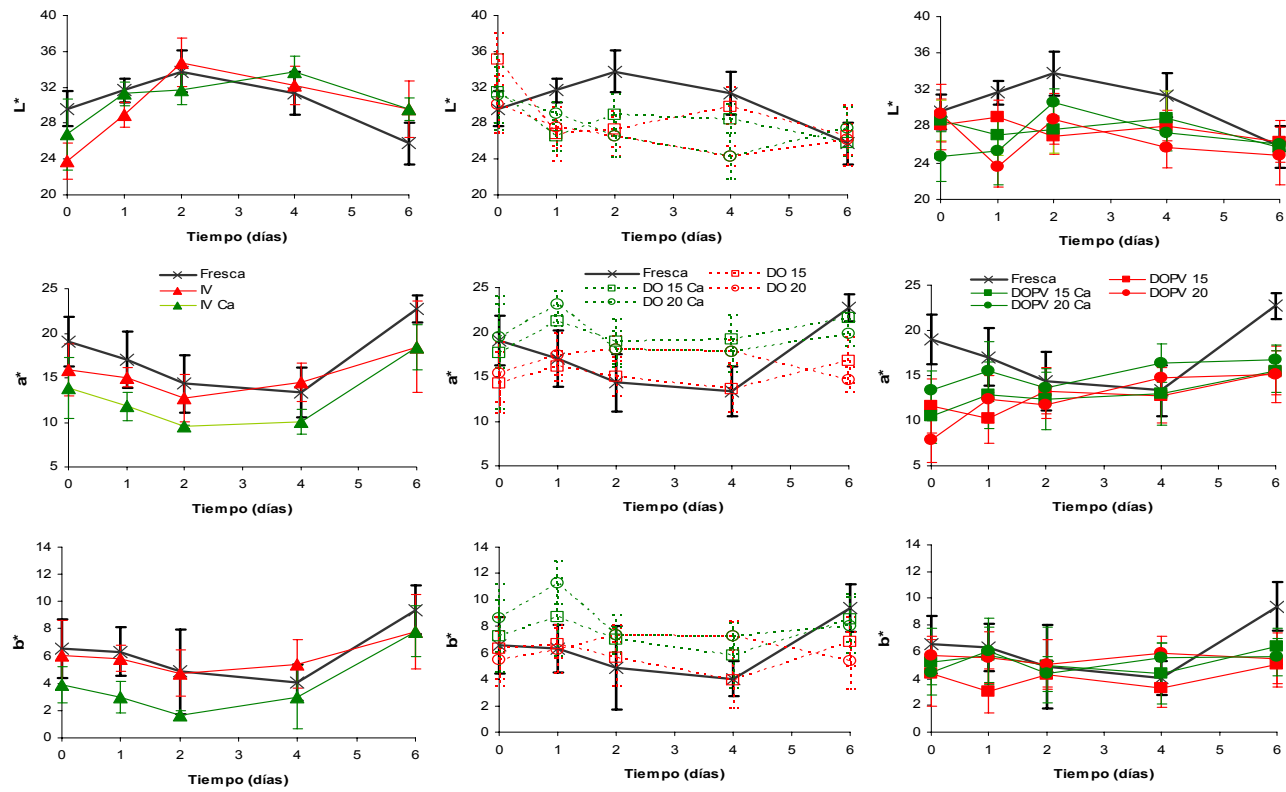


Figura III.32. Evolución de las coordenadas L* a* y b* en la cara externa de fresas frescas y tratadas durante el almacenamiento.

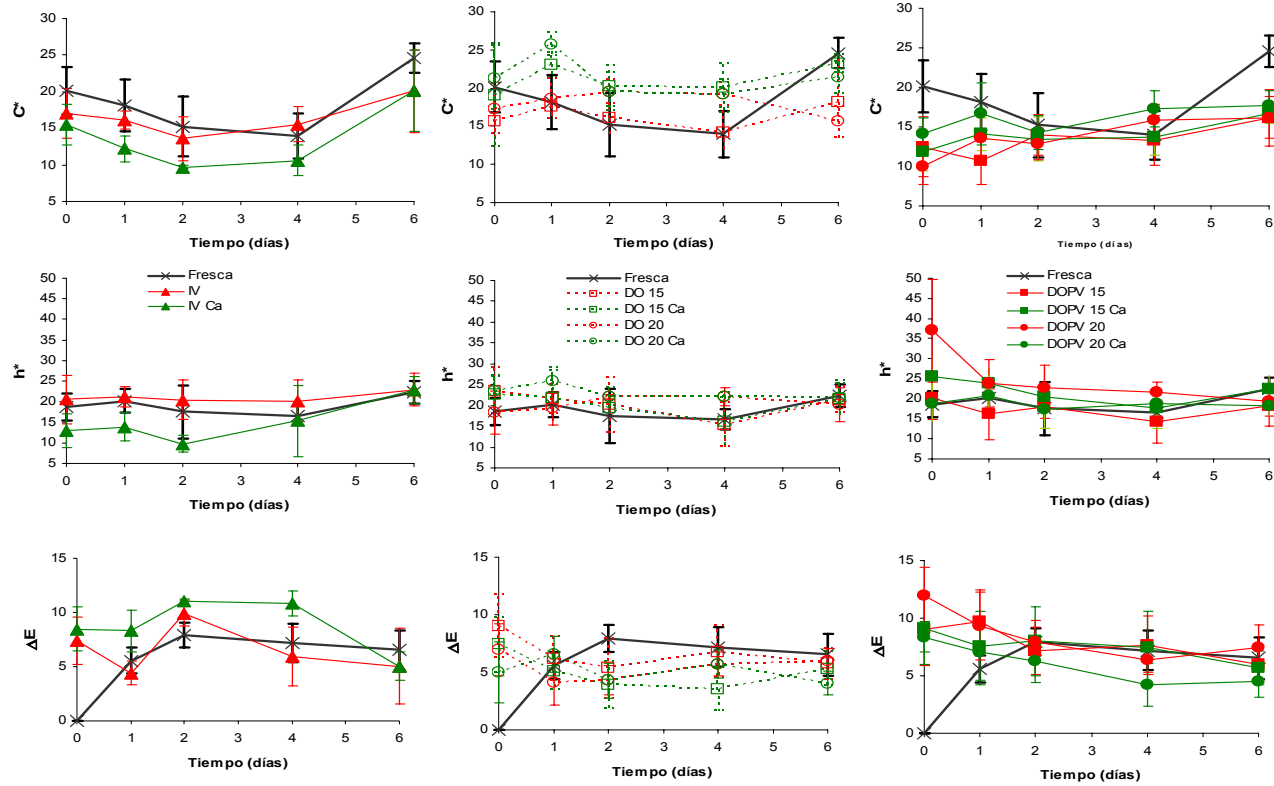


Figura III.33. Evolución de las coordenadas C* h* y de las diferencias de color (ΔE) respecto a las muestras frescas al inicio del almacenamiento de la cara externa de fresas frescas y tratadas durante el almacenamiento.

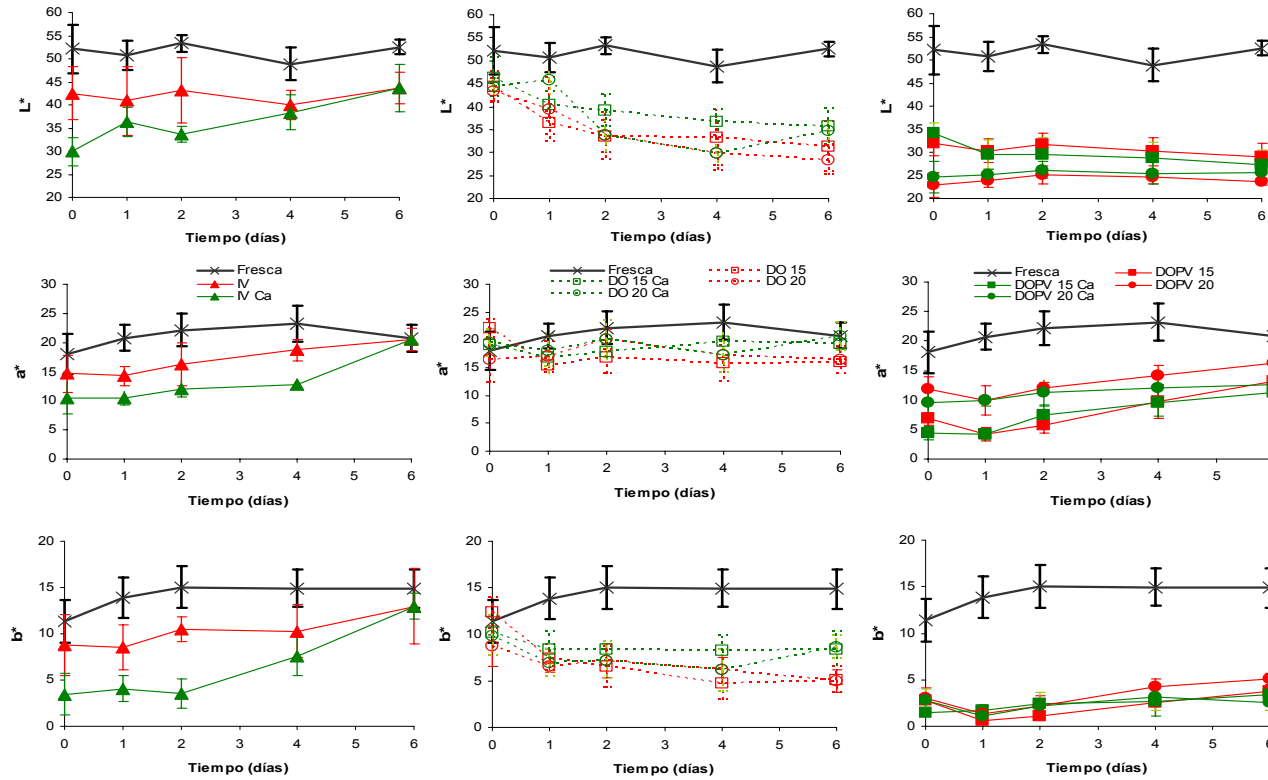


Figura III.34. Evolución de las coordenadas L* a* y b* en la cara interna de fresas frescas y tratadas durante el almacenamiento.

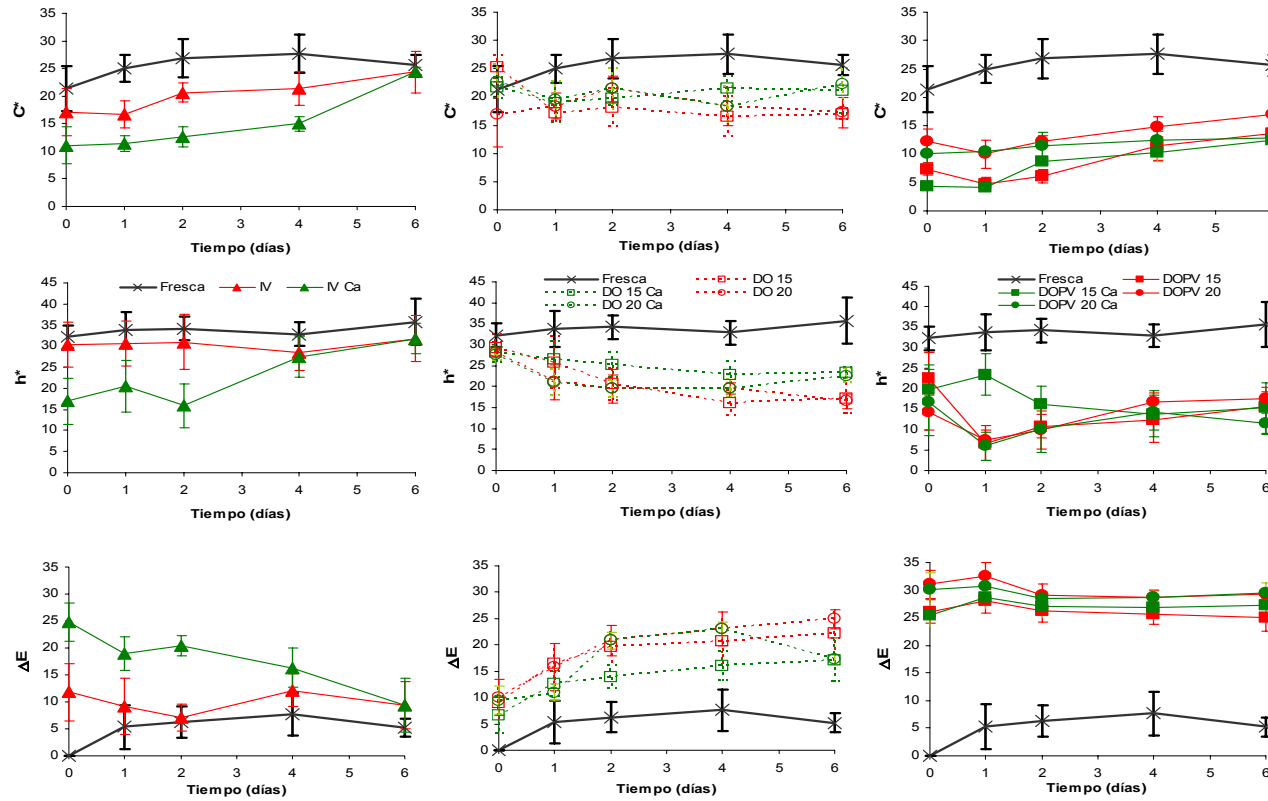


Figura III.35. Evolución de las coordenadas C* h* y de las diferencias de color (ΔE) respecto a las muestras frescas al inicio del almacenamiento de la cara interna de fresas frescas y tratadas durante el almacenamiento.

Los resultados obtenidos para la fresa no tratada muestran cambios muy poco notables de color, tanto para la cara externa como para la interna. En la cara externa los cambios son un poco más intensos, mostrando una disminución de la luminosidad y un aumento del croma, sin cambios en el tono y alcanzando unas diferencias de color al final del almacenamiento del orden 7 unidades en el sólido $L^*a^*b^*$. Estos cambios son atribuibles a la progresiva síntesis de pigmentos durante la etapa de almacenamiento. En la cara interna con menor concentración de pigmentos estos cambios no son apreciables, siendo las diferencias de color del orden de 5 unidades a partir del primer día de almacenamiento. La ausencia de cambios de tono revela que no hay alteración de la estructura química de los pigmentos absorbentes, lo que indica la estabilidad de los mismos en las condiciones de almacenamiento ensayadas. Estos cambios son los que más afectan a la aceptación del producto por parte del consumidor (Chiralt, 2002).

Las muestras impregnadas isotónicamente con y sin calcio, que parten con coordenadas diferentes a la muestra fresca por efecto del tratamiento, tienden a recuperar los valores de las muestras frescas, disminuyendo la diferencia de color con el tiempo de almacenamiento. Este comportamiento es mucho más marcado en la cara interna que sufre los mayores efectos del pulso de vacío. Esta evolución podría sugerir que la muestra va perdiendo el líquido impregnado y recuperando la porosidad inicial. Las pérdidas de peso registradas para las muestras durante el almacenamiento fueron de orden del 8 %, superiores a las ganancias por impregnación (3%) y la relajación de la estructura, parcialmente contraída por efecto del pulso (Fito *et al.*, 1996), puede comportar también una recuperación de la porosidad, afectando a las propiedades ópticas. De hecho, las muestras tratadas con calcio que evidencian mayores cambios en porosidad desde su comportamiento óptico son las que evolucionan de forma más marcada. Los mayores niveles de impregnación en presencia de calcio han sido observados en diferentes frutas (Gras *et al.*, 2003).

Las muestras deshidratadas a presión atmosférica presentan un oscurecimiento de su cara externa el primer día de almacenamiento que se mantiene a lo largo del mismo, con valores bastante constantes del croma y del tono. Son de destacar los valores ligeramente mayores del croma

(mayores valores de a^* y b^*) en las muestras tratadas con calcio, efecto que provoca ya el tratamiento. No obstante, las diferencias totales de color de la cara externa provocadas por el almacenamiento son similares a las alcanzadas en las muestras no tratadas. En la cara interna se observa de forma más marcada el oscurecimiento, con una disminución del croma (asociada a la disminución de b^*) y del tono. Esta evolución parece indicar que las muestras se hacen cada vez más translúcidas por efecto de la senescencia acelerada por el estrés osmótico, liberando líquido intracelular. De esta forma la cara interna transluce el color de la zona epidérmica que gana también traslucidez, oscureciéndose, pero sin cambios de tono. La estabilidad de los pigmentos en las muestras deshidratadas, a pesar de su mayor senescencia puede explicarse por las interacciones positivas azúcares-antocianos descritas por Wrolstad *et al.*, (1990).

Las muestras deshidratadas con pulso de vacío muestran un ligero aumento de las coordenadas a^* y b^* a partir del primer día de almacenamiento que conlleva un ligero incremento del croma y del tono, sin cambios notables en la luminosidad, todo ello más acusado en la cara interna. Como consecuencia, las diferencias de color de la cara externa respecto a la muestra fresca se van reduciendo alcanzando valores similares al los de la muestra no tratada a partir del segundo día. En la cara interna las diferencias se mantienen prácticamente al mismo nivel que en las muestras recién tratadas. Este comportamiento refleja la estabilidad del color de las muestras deshidratadas a vacío, donde la relajación de la estructura frente al efecto del pulso será de menor magnitud dada la pérdida de turgor celular asociada a la deshidratación. La constancia en los valores del tono de la cara externa revela la ausencia de alteración de los pigmentos.

En conclusión, la evolución de las coordenadas de color de las fresas frescas y tratadas, revela el efecto de los cambios estructurales en el comportamiento óptico de las mismas, sin evidenciar alteraciones de los pigmentos responsables del color. Los cambios de color debidos al almacenamiento son de menor magnitud que los debidos al tratamiento, especialmente cuando éste es con pulso de vacío. Las muestras en las que ocurren más cambios durante el almacenamiento son las deshidratadas a presión atmosférica, donde se hacen evidentes aumentos en traslucidez

asociados a la senescencia más rápida de la fruta. Las pérdidas de líquido impregnado afectan a la evolución del color de las muestras con impregnación isotónica, pero no se reflejan en las muestras deshidratadas con pulso de vacío.

IV. ESTUDIOS EN MANZANA

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años el consumo de productos mínimamente procesados ha aumentado considerablemente, especialmente de verduras lavadas, troceadas y envasadas. En el caso de las frutas, la diversidad de productos ofertados en España es mucho más reducida por tratarse de productos más susceptibles al pardeamiento, al exudado y a los cambios de sabor durante el almacenamiento. Todo ello, unido a la gran producción de fruta fresca de este país, genera que el consumidor se decante por la forma clásica de tomar fruta y por otra parte, muchas de las empresas del sector muestran ciertas reticencias a invertir recursos para desarrollar frutas cortadas y envasadas de alta calidad. Por estas razones, la transformación de las materias primas en frutas mínimamente procesadas (FMP) es más complicada que en el caso de las verduras. No obstante, en países como EEUU, Inglaterra, Irlanda o Francia este tipo de productos se pueden encontrar en multitud de establecimientos con un aspecto muy próximo al del producto fresco recién cortado, que se ajusta a la demanda impuesta por los consumidores que buscan un producto sano, bien presentado y fácil de tomar. Por tanto, para poder satisfacer las necesidades de la sociedad actual en un país como España, donde la materia prima es mucho más barata que en los países donde la fruta mínimamente procesada está integrada en la cesta de la compra, es necesario la aplicación de una tecnología más eficaz al desarrollo de FMP que la que existe en la actualidad para obtener propiedades organolépticas y vida útil adecuadas que permitan el compromiso óptimo en la calidad/precio del producto.

Los tratamientos más comunes en el procesado mínimo son pelado, troceado y, en muy pocos casos, el mezclado de trozos de distintos frutos. La respiración condiciona la vida útil tanto de las frutas enteras como de las FMP. En función de la concentración de gases de la atmósfera, de la temperatura y otras variables, este fenómeno puede alterarse. Dentro de los posibles pretratamientos en las FMP, la deshidratación osmótica y/o la impregnación a vacío (IV) de su estructura porosa ofrece interesantes alternativas para inducir pequeños cambios composicionales que alarguen su vida útil: introducción de antipardeantes, conservantes, azúcares, ácidos, etc.

Estas operaciones suponen una alteración de la atmósfera interna del tejido y de su pauta metabólica.

La manzana es una fruta climatérica que, como se ha explicado en el apartado 2.1.1. del capítulo I (Introducción), tiene un metabolismo distinto al de la fresa. Entre otras cosas, la tasa respiratoria de la fresa es mucha más elevada que la de la manzana (Wills *et al.*, 1998). Se ha considerado interesante estudiar el efecto de la deshidratación osmótica e impregnación a vacío sobre el comportamiento fisiológico en ambas frutas para analizar las posibles diferencias asociadas al carácter climatérico o no climatérico.

El envasado en atmósferas modificadas (AM) extiende significativamente la vida útil de los productos frescos cortados, disminuyendo las pérdidas de agua, reduciendo la actividad respiratoria y los pardeamientos superficiales, así como el crecimiento microbiano y la biosíntesis y acción del etileno (Gorny *et al.*, 2000). Sin embargo, cada uno de los productos mínimamente procesados requiere un estudio detallado de los efectos de las AM y una investigación previa para determinar cuál es la atmósfera óptima para un producto determinado, ya que puede ser completamente diferente de la del producto entero del que procede, a consecuencia de los importantes cambios fisiológicos que se inducen durante el procesado. La selección de la atmósfera y del envase adecuados es absolutamente determinante en la vida útil de los productos frescos cortados (González *et al.*, 2003).

Como se ha comentado en apartados anteriores, el calcio puede contribuir a mejorar la textura del producto y mejorar su estabilidad. Por otra parte, se ha observado que la adición de calcio durante los tratamientos osmóticos puede contribuir a mejorar la vida útil del producto desde el punto de vista microbiológico (Pérez, 2003; Torres, 2007).

El objetivo principal de este capítulo es evaluar el efecto de algunas variables de proceso, como son la concentración de la muestra deshidratada, la adición de lactato cálcico a dos niveles, la aplicación de pulso de vacío y la temperatura de almacenamiento sobre:

- a. La tasa respiratoria de rodajas de manzana (en aire o en AM)
- b. Las propiedades mecánicas, relacionadas con la textura
- c. La vida útil de los productos desde el análisis microbiológico

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materias primas

2.1.1. Manzana

Los experimentos se llevaron a cabo utilizando manzanas de la variedad *Granny Smith* compradas en un mercado local. La elección de las frutas se basó en la similitud de color, tamaño, grado de madurez y ausencia de defectos superficiales, para poder obtener una mayor homogeneidad de las muestras.

Las manzanas se cortaron en rodajas de 1 cm de espesor aproximadamente y con la ayuda de dos sacabocados de diferente diámetro se eliminó la piel y la parte de corazón que quedaba en el centro de la rodaja, de modo que se obtuvieron rodajas de un diámetro exterior de 65 mm y de diámetro interior de 20 mm.

2.1.2. Disoluciones osmóticas

Para los tratamientos de deshidratación se emplearon disoluciones de glucosa en agua destilada como se ha explicado en el apartado 2.1.2. del capítulo III (Estudios en fresa). En los casos de impregnación isotónica se utilizaron disoluciones de glucosa de $a_w = 0.988$ (≈ 12 °Brix). Las rodajas de manzana utilizadas para analizar el efecto de la temperatura y la concentración de la atmósfera en la tasa respiratoria se deshidrataron a presión atmosférica con una disolución de sacarosa de 50 °Brix a 30 °C, con agitación constante durante 60 minutos. El contenido en sólidos solubles alcanzado en estas condiciones fue de aproximadamente 20 °Brix.

Los tratamientos de deshidratación e impregnación a vacío se realizaron como se explica en el apartado 2.2 del capítulo III (Estudios en fresa).

2.2. Tratamientos

Se llevaron a cabo dos tipos de tratamientos: isotónicos e hipertónicos.

2.2.1. Tratamientos de impregnación isotónica

Las rodajas de manzana se sumergieron en una disolución isotónica de glucosa y se sometieron al mismo tratamiento descrito para la fresa impregnada isotónicamente en el apartado 2.2.1 del capítulo III. Se realizaron los siguientes tratamientos isotónicos:

- a. Impregnación isotónica sin lactato calcio: **IV**
- b. Impregnación isotónica con 1% de lactato cálcico: **IV 1% Ca**
- c. Impregnación isotónica con 2% de lactato cálcico: **IV 2% Ca**

2.2.2 Tratamientos osmóticos

La deshidratación se realizó como se ha explicado en el apartado 2.2.2. del capítulo III. En primer lugar se realizó un estudio cinético para conocer los tiempos requeridos para alcanzar los niveles de deshidratación deseados. Una vez conocidos los tiempos necesarios se llevaron a cabo las experiencias de deshidratación para la preparación de las muestras de estudio.

2.2.2.a. Estudio cinético

En el estudio cinético se determinaron por triplicado las variaciones de masa, humedad y sólidos solubles a distintos tiempos (10, 15, 30, 60 y 180 minutos), tanto a presión atmosférica como con pulso de vacío.

2.2.2.b. Preparación de las muestras deshidratadas

Las rodajas de manzana se deshidrataron hasta 20 y 30 °Brix, aplicando los tiempos de tratamiento necesarios para alcanzar dichas concentraciones, de acuerdo a los resultados obtenidos del estudio cinético. La notación de estas muestras se realizó indicando el tipo de tratamiento (DO o DOPV), los °Brix alcanzados (20 ó 30) e indicando el porcentaje de calcio empleado en la disolución (ej: DOPV 30-2% Ca).

2.3. Almacenamiento

Se realizó de la misma forma que en el caso de la fresa (apartado 2.3. capítulo III).

2.4. Análisis composicional y fisicoquímico

Las determinaciones de humedad, sólidos solubles, actividad del agua, contenido en cationes (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) y densidad, se llevaron a cabo igual que para la fresa (apartados 2.4. y 2.5 del capítulo III).

2.5. Determinación de la tasa respiratoria

La tasa respiratoria se determinó tal como se describe para la fresa (apartado 2.6. del capítulo III).

La modelización del efecto de la temperatura en la TR se llevó a cabo estudiando la variación del % O_2 y % CO_2 en el espacio de cabeza de las muestras almacenadas a 0, 4, 8, 12, 16 y 20 °C en las rodajas frescas y en las deshidratadas osmóticamente a presión atmosférica hasta 20 °Brix.

2.6. Envasado en atmósfera modificada

La modificación de la composición de gas en la atmósfera de los frascos que contenían las muestras se llevó a cabo mediante un mezclador de gases (WITT-modelo KM-1000-3M. WITT-GASETECHNICK) que se conectó

mediante una válvula a la tapa de los tarros de cristal para facilitar el intercambio de la atmósfera en su interior (Figura IV.1). Para garantizar la presión necesaria para mantener la concentración deseada, la mezcla de gases se almacenó en un depósito "pulmón". Las atmósferas estudiadas fueron aire y concentraciones de 2, 4, 8, 12 y 16% de O₂ manteniendo una concentración de un 8% de CO₂.

Para cada experimento se utilizaron 250 g de muestra en tarros de cristal de 2.1 L. A diferentes tiempos, dependiendo de la temperatura (4 ó 20 °C) se tomaron muestras del espacio de cabeza para su análisis en concentración de CO₂ y O₂. Éstas fueron analizadas en un analizador de gases (%O₂, %CO₂ CheckMate 9900 PBI Dansensor, Ringsted, Dinamarca). De los datos obtenidos se determinaron las tasas respiratorias a cada una de las condiciones de envasado utilizando el método descrito en el apartado 2.6 del capítulo III (Estudios en fresa).

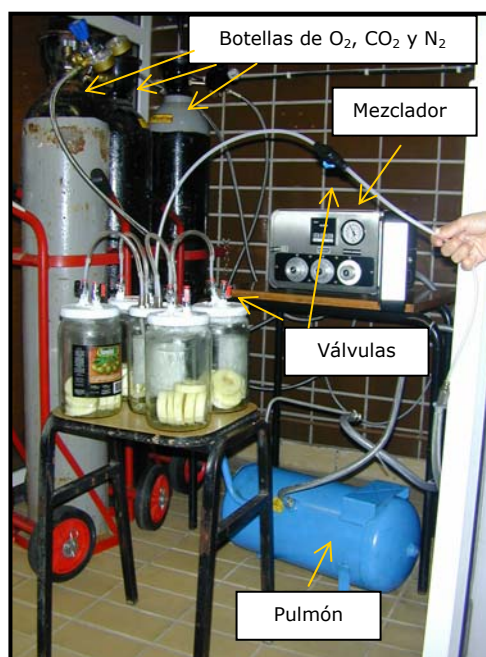


Figura IV.1. Montaje utilizado para la modificación de la atmósfera de las cámaras destinadas a la medida de la tasa respiratoria.

2.7. Determinación de las propiedades mecánicas

El estudio de las propiedades mecánicas se realizó de la misma forma que en el apartado 2.8. del capítulo III. Para ello, el ensayo de punción se realizó sobre una de las caras de la rodaja y en un área centrada entre ambos diámetros de la misma. Se realizaron medidas en 6 muestras diferentes para cada tratamiento.

2.8. Análisis microbiológico

La determinación de la vida útil, desde el punto de vista microbiológico, de rodajas de manzana frescas y deshidratadas (DO 20, DOPV 20 y DO 20-2% Ca, DOPV 20-2% Ca) almacenadas en envases PET durante 21 días a 10°C, se llevó a cabo de acuerdo a una metodología adaptada del método de análisis microbiológico de alimentos y aguas (FAO, 1981). En concreto, se realizaron recuentos de microorganismos aerobios mesófilos y de mohos y levaduras realizando la siembra por vertido en placa. Para ello, se utilizaron los medios Plate Count Agar para aerobios mesófilos y Sabouraud Agar para mohos y levaduras, incubándose a 31±1°C durante 24-48 horas los primeros y 3-5 días los segundos. Las siembras se realizaron cada dos o tres días.

Todo el material que se utilizó en la siembra, se sometió a un tratamiento de esterilización (121°C, 20 min) en autoclave (Presocalve 75, J.P. Selecta S.A.). Los medios de cultivo se mantuvieron, una vez finalizada la esterilización, en un baño a 50 °C para evitar que solidificaran.

Para llevar a cabo el análisis microbiológico se pesaron asépticamente 10 g de muestra, se pasaron a una bolsa Stomacher a la que se le agregó 90 mL de agua de peptona al 1%, homogeneizándose la mezcla en el equipo. Se prepararon diluciones seriadas hasta 10⁻⁶. La lectura se realizó contando el número de colonias en las placas que tuvieran entre 30-300 en el caso de los aerobios mesófilos, y entre 0-30 para los mohos y levaduras, multiplicando el valor por el factor de dilución. El número total de colonias se expresa en log Ufc/g.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Estudio cinético de la deshidratación osmótica. Efecto de la impregnación a vacío

La caracterización de los parámetros de impregnación de las muestras de manzana se presenta en la tabla IV.1. La manzana es una fruta de elevada porosidad como ya se había visto en trabajos previos (Barat, 1998, Martínez-Monzó, 1998). Por tanto, la aplicación de un pulso de vacío en los tratamientos osmóticos provoca variaciones de masa considerables que repercuten en una mejora del rendimiento de los procesos, ya que la entrada de disolución osmótica en la matriz de la fruta se realiza en una proporción muy elevada en comparación a lo que ocurre en otras frutas como la fresa. Como consecuencia la cinética de deshidratación está mucho más influenciada por la impregnación que en otros casos (Fito *et al.*, 2000; Barat *et al.*, 2001a y b).

Tabla IV.1.- Características físico-químicas de rodajas de manzana frescas y respuesta a la impregnación isotónica

| a_w | °Brix | x_w | x_{ss} | $\rho_{parente}$ (kg/m ³) | ρ_{real}^1 (kg/m ³) | ε^2 | x_i^3 | X^4 |
|---------------|--------|---------------|----------|------------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------|-------------|-------------|
| 0.983 (0.001) | 12 (1) | 0.865 (0.013) | 0.120 | 840 (13) | 1053 | 0.20 | 0.15 (0.03) | 0.13 (0.03) |

Valores entre paréntesis corresponden a la desviación estándar.

⁽¹⁾ ρ_{real} calculada a partir de: $\rho_r = \frac{1}{\frac{x_w}{1000} + \frac{1-x_w}{1590}}$

⁽²⁾ ε : porosidad: $\varepsilon = (\rho_r - \rho_a) / \rho_r$

⁽³⁾ x_i : fracción másica de la disolución isotónica en la fruta impregnada

⁽⁴⁾ X : fracción volumétrica de la muestra inicial impregnada con la disolución isotónica, calculadas por cambios de peso.

Los datos del estudio cinético de manzana se analizaron desde dos puntos de vista, de acuerdo con trabajos previos (Giraldo *et al.*, 2003; Barat *et al.*, 2001a; Cháfer *et al.*, 2001; Fito & Chiralt, 1997), tal como se ha comentado anteriormente para la fresa. Por un lado, se analizaron los cambios de composición de la fase líquida de la muestra (°Brix de las muestras), relacionados con la a_w y estabilidad de la misma y, por otro, se

analizaron las pérdidas de agua y ganancia de solutos relacionadas con la pérdida de peso y de volumen y, por tanto, con el rendimiento del proceso.

La composición de la fase líquida evoluciona a lo largo del tratamiento como resultado de dos mecanismos principales de transferencia de masa: aquellos que se deben a gradientes de presión, y los que dependen de gradientes de actividad. Los primeros se explican por el mecanismo hidrodinámico (HDM), y actúan principalmente al principio del proceso osmótico, modificando la composición global de la muestra y por tanto la fuerza impulsora del proceso difusional (Fito & Chiralt, 1997). Los últimos siguen un comportamiento pseudodifusional (PDM), por lo que se suelen modelizar usando una ecuación de Fick. En este caso se utilizó la solución integrada para una lámina infinita de semiespesor l para tiempos cortos, simplificada a un solo término del desarrollo en serie (ecuación IV.1), donde la fuerza impulsora del proceso (Y) toma el mismo valor para el agua y los solutos, considerando un sistema binario (ecuación IV.2). Sin embargo, para contemplar la acción del HDM esta ecuación se corrigió, definiendo la fuerza impulsora después de la acción del pulso con la ecuación (IV.3) donde $z_s^t|_{HDM}$ es la composición de la fase líquida de la muestra después del pulso de vacío, estimada a partir de la cantidad de líquido externo impregnado con un balance de masas (ecuación IV.4) (Cháfer *et al.*, 2001; Barat, *et al.*, 2001b). La fracción másica de líquido impregnado (x_l) en la muestra puede calcularse mediante la ecuación (IV.5), a partir de la constante cinética k_s^0 , deducida de las ganancias de solutos, que se analizan posteriormente (Cháfer *et al.*, 2001).

$$1 - Y = \left(\frac{4D_e t}{l^2 \pi} \right)^{1/2} \quad (IV.1)$$

$$Y_s^t = Y_w^t = \frac{(z_s^t - y_s)}{(z_s^0 - y_s)} \quad (IV.2)$$

$$Y_s^t|_{HDM} = \frac{(z_s^t - y^s)}{(z_s^t|_{HDM} - y^s)} \quad (IV.3)$$

$$z_s^t|_{\text{HDM}, t=0} = \frac{z_s^0(1-x_I)(x_s^0) + y_s x_I}{(1-x_I)(x_s^0 + x_w^0) + x_I} \quad (\text{IV.4})$$

$$x_I = \frac{k_s^0/y_s}{(1 + k_s^0/y_s)} \quad (\text{IV.5})$$

Tanto las muestras deshidratadas a presión atmosférica (DO), como las sometidas a un pulso de vacío (DOPV), fueron caracterizadas en cuanto a la pérdida de peso, de agua y ganancia de solutos aplicando las ecuaciones III.10, III.11 y III.12 (Estudios en fresa). Los cambios en peso, contenido en solutos y agua fueron modelizados ajustando las ecuaciones III.14, III.15 y III.16 (Estudios en fresa) a los datos experimentales. Los términos independientes de las ecuaciones (k_s^0 y k_w^0) corresponden a la ganancia de solutos o a la pérdida de agua, debidas al mecanismo hidrodinámico (HDM) promovido por cambios de presión capilares o impuestas, mientras que la pendiente de las rectas (k_w y k_s) corresponden a las constantes de transferencia de materia (agua y solutos) asociadas al mecanismo difusional (Cháfer *et al.*, 2001; Barat *et al.*, 2001b). La tabla IV.2 refleja los valores de las constantes cinéticas obtenidas de la deshidratación de rodajas de manzana en función de la presión empleada. Por otra parte, la figura IV.2 muestra la representación de 1-Y frente a la raíz cuadrada del tiempo para el ajuste de la ecuación IV.1, así como la variación de masa total, de masa de agua y de sólidos solubles en función de la raíz cuadrada del tiempo. Puede observarse la ganancia hidrodinámica de solutos en el tratamiento DOPV, pero también en menor proporción en la muestra DO. Esta última debe asociarse a la entrada capilar de disolución en los poros, potenciada por la baja viscosidad de la disolución externa (Chiralt *et al.*, 1999). Las pérdida de agua y de peso fueron mayores en el tratamiento DO, ya que la impregnación de los poros con disolución favorece además la difusión de solutos en los mismos y la concentración del producto con menores pérdidas de agua (Barat *et al.*, 2001b).

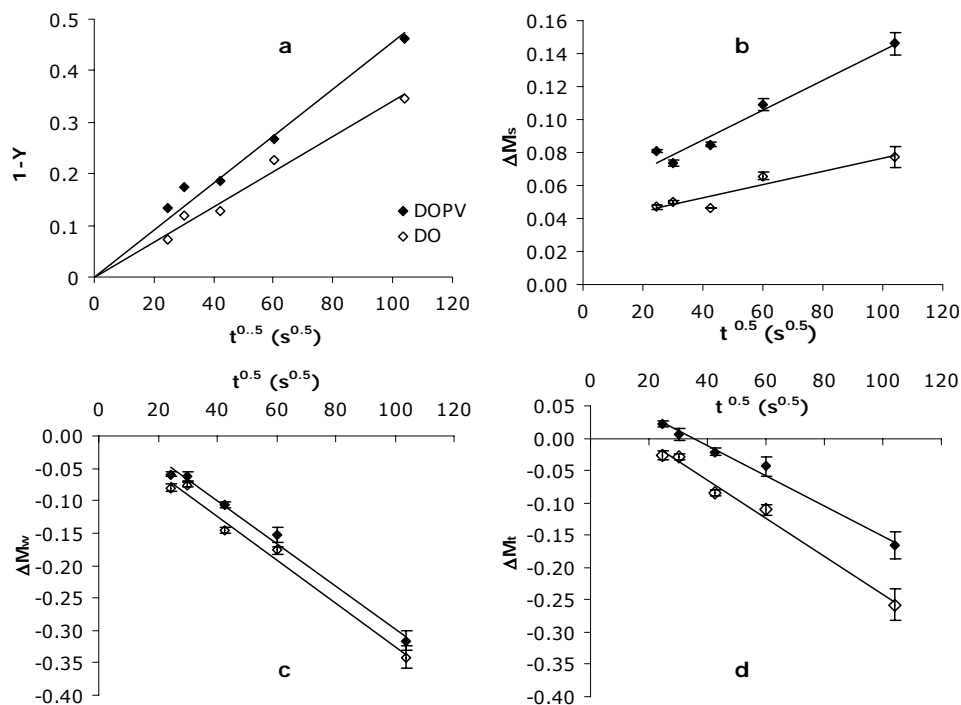


Figura IV.2. Representación de $1-Y$ (a), de la ganancia de sólidos (b), de la pérdida de agua (c) y de la pérdida de masa total (d) en función de la raíz cuadrada del tiempo para los tratamientos osmóticos a presión atmosférica (DO) y aplicando un pulso de vacío (DOPV).

De la pendiente de las rectas ajustadas de la representación de $1-Y$ frente a la raíz cuadrada de tiempo, se obtuvo la difusividad efectiva en cada caso, cuyos valores se dan en la tabla IV.2. Como ha sido observado en estudios previos (Fito *et al.*, 2000; Barat *et al.*, 2001b), la difusividad efectiva se potencia por el llenado de los poros del tejido. En consecuencia, la aplicación de pulsos de vacío implicará una reducción importante del tiempo de proceso, no sólo por el cambio composicional inicial inducido, sino también por la aceleración del transporte difusional. Los valores de difusividad efectiva en las rodajas de manzana son del mismo orden que los obtenidos en trabajos previos (Barat, 1998) en los que se emplearon disoluciones de sacarosa de 55 °Brix a 30 °C donde la D_e en los tratamientos DO fue de 1.86×10^{-10} m²/s y en DOPV 2.95×10^{-10} m²/s. Se hubiera esperado que la

difusividad fuera mayor en las disoluciones de glucosa ya que tiene menor peso molecular y por tanto mayor facilidad para difundir en la muestra. No obstante, este comportamiento sólo se manifiesta en los tratamientos DOPV. Esto podría deberse a que la concentración de la disolución osmótica fue ligeramente superior en el caso de las disoluciones de sacarosa.

TABLA IV.2. Coeficientes de difusividad efectiva y parámetros cinéticos para la variación de masa total (k^0 , k), masa de agua (k_w^0 , k_w) y masa de sólidos solubles (k_s^0 , k_s) según los tratamientos de deshidratación osmótica a presión atmosférica (DO) y con aplicación de un pulso de vacío (DOPV)

| Tratamiento | $D_e \times 10^{10}$ (m^2/s) | k^0 | $K \times 10^3$ ($s^{-0.5}$) | $k_w^0 \times 10^2$ | $k_w \times 10^3$ ($s^{-0.5}$) | $k_s^0 \times 10^2$ | $K_s \times 10^4$ ($s^{-0.5}$) |
|-------------|-------------------------------------|-------|-----------------------------------|---------------------|-------------------------------------|---------------------|-------------------------------------|
| DO | 1.52 | 1.052 | -2.94 | 1.12 | -3.36 | 3.63 | 4.03 |
| DOPV | 3.36 | 1.080 | -2.32 | 3.29 | -3.30 | 5.16 | 9.05 |

Con el modelo establecido, pueden estimarse los tiempos necesarios para alcanzar en cada tratamiento (DO y DOPV) los niveles de concentración prefijados (20 y 30 °Brix) (tabla IV.3).

Tabla IV.3. Tiempos de proceso en función de las concentraciones.

| °Brix | Tiempo (min) | |
|-------|--------------|------|
| | DO | DOPV |
| 20 | 61 | 28 |
| 30 | 309 | 140 |

La figura IV.3a representa la disminución de la actividad de agua (a_w) en función del tiempo del estudio cinético de acuerdo al tratamiento aplicado (DO y DOPV). Los resultados muestran que las muestras deshidratadas aplicando un pulso de vacío previo registraron valores de a_w más bajos que las muestras DO como consecuencia de la mayor penetración de disolución hipertónica durante la impregnación, dando como resultado la mayor rapidez en los fenómenos de transferencia de materia comentados anteriormente. Como era de esperar, a mayor tiempo de residencia, la a_w de las rodajas de

manzana disminuyó, aunque la mayor reducción se produjo durante los primeros 10 minutos. La figura IV.3b presenta los valores de a_w en función de la concentración de azúcares alcanzada en la fase líquida de las muestras de manzana según el tratamiento aplicado, donde los valores predichos por la ecuación de Norrish generalizada también se han representado como referencia, teniendo en cuenta la proporción de azúcares de la manzana [Glucosa:Fructosa:Sacarosa 16.4:59.6:24 (Moraga, 2002)]. No se pueden observar diferencias significativas en la evolución de esta relación considerando los dos tratamientos estudiados. Sin embargo, los valores experimentales obtenidos se encuentran por debajo de la curva del modelo de Norrish, probablemente debido a que la disolución hipertónica estaba compuesta por glucosa que es el azúcar que se encuentra en menor proporción en esta fruta. A pesar de todo, dada la buena linealidad de los valores de a_w en función de los z_s , se han ajustado los mismos a una ecuación lineal (IV.6) que permite explicar un 98% de la variabilidad de la a_w en función de la z_s , independientemente del tipo de tratamiento. Por tanto, en tratamientos osmóticos de manzana con disoluciones de glucosa, esta ecuación empírica permite estimar la a_w de las muestras realizando una simple medida de °Brix.

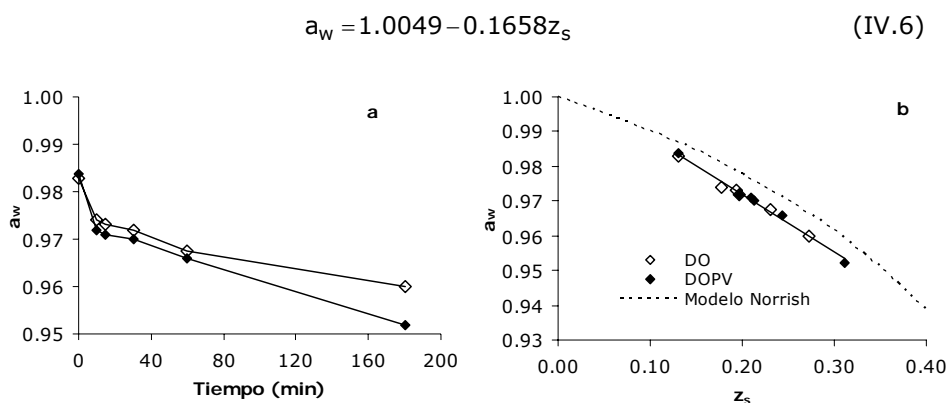


Figura IV.3. Evolución de la actividad de agua (a_w) en función de tiempo (a) y relación entre la actividad de agua y el nivel de concentración de la fase líquida (z_s) (b) según el tratamiento osmótico aplicado.

En la figura IV.4 se ha representado la relación entre la ganancia de azúcar y la pérdida de agua en función del tiempo de proceso para los tratamientos estudiados. La influencia del tiempo es máxima al principio del proceso, sobre todo en las muestras impregnadas inicialmente (Giraldo *et al.*, 2003). Después de un periodo de tiempo corto, los valores de esta relación permanecen prácticamente constantes. Asimismo, los valores de la relación ganancia de azúcares/pérdida de agua de las muestras DOPV fueron mucho mayores ($\approx 100\%$) que en las muestras DO, lo que implica que la ganancia de solutos fue mucho más considerable en relación a la pérdida de agua en los mismos, debido a la ganancia de azúcar inicial promovida por mecanismos hidrodinámicos y a la potenciación de la difusión en los espacios intercelulares.

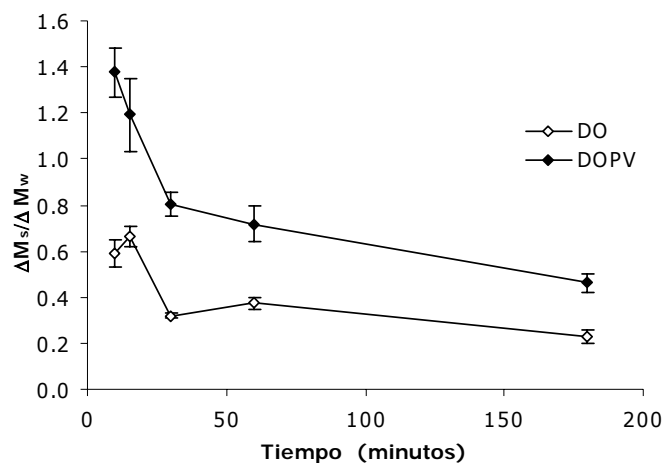


Figura IV.4. Relación entre la ganancia de sólidos solubles y la pérdida de agua en rodajas de manzana cortadas deshidratadas a presión atmosférica o con aplicación de un pulso de vacío en función del tiempo de proceso.

3.2. Efectos fisiológicos de los tratamientos de impregnación a vacío y deshidratación osmótica en manzana. Influencia del calcio

3.2.1. Influencia de la temperatura en la tasa respiratoria de rodajas de manzana frescas y deshidratadas osmóticamente

La tabla IV.4 muestra la composición de las rodajas de manzanas frescas y deshidratadas osmóticamente en una disolución de sacarosa de 50 °Brix durante 60 minutos, alcanzando aproximadamente 20 °Brix. Estos valores corresponden a las muestras utilizadas para modelizar el efecto de la temperatura en la TR y también para evaluar el efecto de las distintas concentraciones en la atmósfera del espacio de cabeza en la TR con muestras frescas y deshidratadas.

Tabla IV.4. Humedad, sólidos solubles y actividad del agua de las rodajas frescas y deshidratadas, así como variaciones de masa total, de agua y de solutos obtenidas en el tratamiento osmótico.

| Muestras | a_w | x_w | °Brix | ΔM | ΔM_w | ΔM_s |
|----------|------------------|------------------|---------------|-------------------|-------------------|------------------|
| Frescas | 0.935 (0.009) | 0.872 (0.005) | 10.8 (0.3) | - | - | - |
| DO | 0.923 (0.008) | 0.788 (0.008) | 19.7 (0.7) | -0.066 (0.013) | -0.130 (0.014) | 0.067 (0.003) |

Entre paréntesis se presentan los valores de la desviación estándar

La figura IV.5 muestra algunos ejemplos de la variación de la concentración de CO₂ y O₂ en el espacio de cabeza cuando se analizaron muestras de manzana frescas a diferentes temperaturas. Puede observarse la linealidad de los puntos experimentales, indicando que la TR (deducida de la pendiente de la recta) no cambia significativamente en el periodo considerado. El intervalo de medida así como la duración de la toma de muestras de gas, varió en función de la temperatura. A 0-4 °C se muestreó durante ≈72h cada 4/8 h, mientras que a 20 °C se muestreó durante 6 h cada 30 minutos.

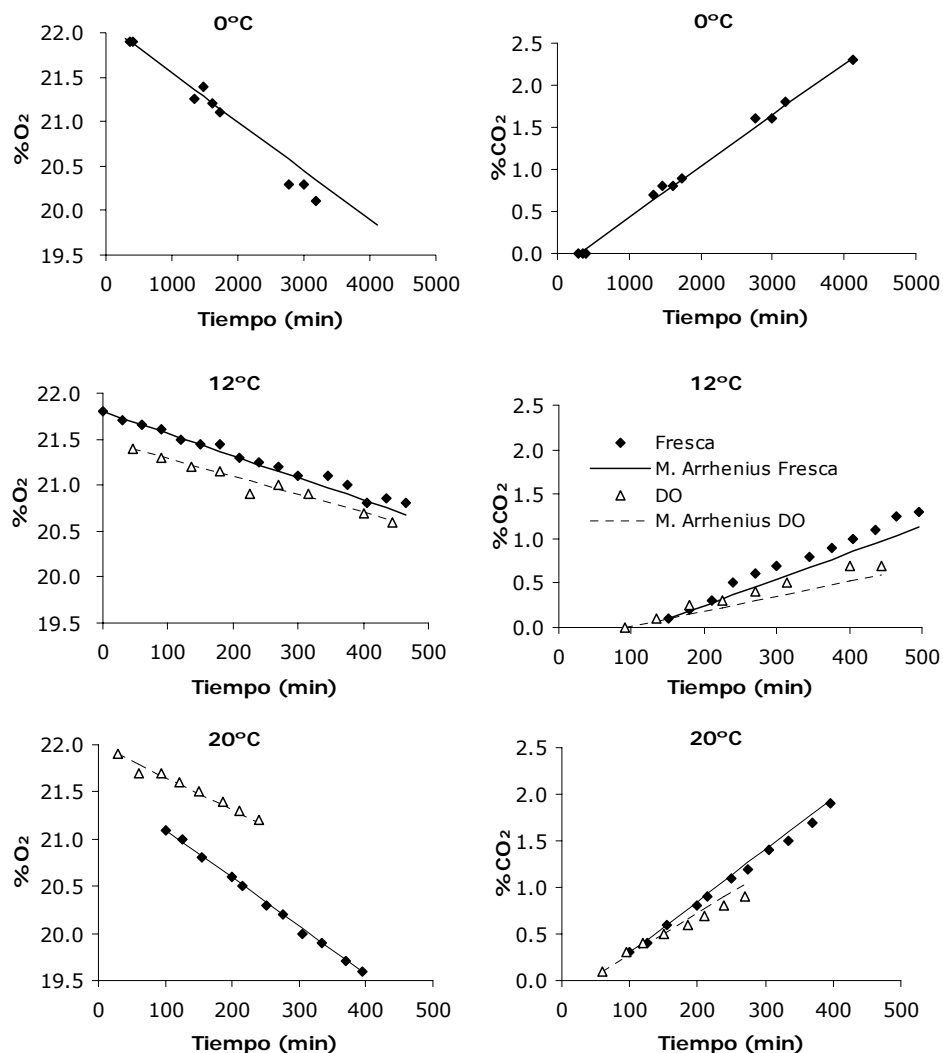


Figura IV.5.- Variación del %O₂ y del %CO₂ en el espacio de cabeza con rodajas de manzanas frescas a 0, 12 y 20°C y deshidratadas a 12 y 20 °C en el periodo de TR constante. Las líneas muestran los valores obtenidos de la concentración de cada gas con el modelo ajustado (ec. IV.10 y IV. 11).

Para el cálculo de la tasa respiratoria de rodajas de manzana en función de la temperatura, los datos de %O₂ y de %CO₂ vs. tiempo se ajustaron a un polinomio de 6º grado que se derivó frente al tiempo. El

tramo considerado para el cálculo de la tasa respiratoria fue aquél en el que la derivada permanecía constante (periodo sin cambios significativos en la pendiente o medida del flujo de gas), lo que asegura que no cambió la tasa de respiración por influencia de la composición de la atmósfera. Una vez seleccionado el intervalo adecuado se calculó la tasa respiratoria para cada temperatura aplicando las ecuaciones de balance para O₂ y CO₂, (ec. IV.7 y IV.8).

$$\%[\text{O}_2]_t = \%[\text{O}_2]_{t'_0} - 100 \times \text{TR}_{\text{O}_2} \times \frac{M}{V} \times (t - \alpha) \quad (\text{IV.7})$$

$$\%[\text{CO}_2]_t = \%[\text{CO}_2]_{t'_0} + 100 \times \text{TR}_{\text{CO}_2} \times \frac{M}{V} \times (t - \alpha) \quad (\text{IV.8})$$

Donde: TR_{O₂} y TR_{CO₂} son las tasas de respiración (mL O₂kg⁻¹h⁻¹ o mL CO₂kg⁻¹h⁻¹); M es la masa (kg) de fruta; V es el volumen del espacio de cabeza (mL), t (h) es el tiempo al que se alcanza una determinada concentración de gas y %[O₂]_{t'} y %[CO₂]_{t'} son las fracciones volumétricas de cada gas cuando empieza el periodo de velocidad de respiración constante, siendo α el tiempo (h) necesario para alcanzar dicho periodo.

La influencia de la temperatura en la tasa respiratoria se analizó mediante el ajuste del modelo de Arrhenius (ec. IV.9), en la que K (mLkg⁻¹h⁻¹) y E_a (KJ/mol) son las constantes de Arrhenius, R es la constante de los gases (0.008314 KJmol⁻¹K⁻¹), T es la temperatura (K) y T_{ref} es la temperatura de referencia seleccionada (283 K). Este modelo se denomina el modelo individual, ya que para obtener los parámetros del mismo se consideran únicamente los resultados de la tasa respiratoria y no las variaciones en la concentración de O₂ y CO₂ en el espacio de cabeza. El ajuste se realizó mediante un procedimiento no lineal con el programa estadístico Statistica v.5.5.

$$\text{TR} = K \times e^{\left(-\frac{E_a}{R}\right) \times \left[\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{\text{ref}}}\right]} \quad (\text{IV.9})$$

Los datos correspondientes a la concentración de gases en el espacio de cabeza en función del tiempo, temperatura y tipo de muestra (manzana

fresca o deshidratada) fueron ajustados también mediante un procedimiento no lineal con las ecuaciones (IV.10) y (IV.11), resultantes de combinar la ecuación (IV.9) con la (IV.7) y (IV.8), respectivamente. De esta forma, los parámetros obtenidos permitirán una mejor predicción de la composición de gases en el espacio de cabeza del envase. Por ello, en este caso se considera que el modelo ajustado es un modelo global.

$$\%[\text{O}_2]_t = \%[\text{O}_2]_{t_0} - 100 \times K \times e^{\left(\frac{E_a}{R}\right) \times \left[\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}}\right]} \times \frac{M}{V} \times (t - \alpha) \quad (\text{IV.10})$$

$$\%[\text{CO}_2]_t = \%[\text{CO}_2]_{t_0} + 100 \times K \times e^{\left(\frac{E_a}{R}\right) \times \left[\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}}\right]} \times \frac{M}{V} \times (t - \alpha) \quad (\text{IV.11})$$

En las figuras IV.6 a y b los puntos representan la tasa de respiración de rodajas de manzana frescas y deshidratadas en función de la temperatura, en términos de consumo de O₂ (a) y de producción de CO₂ (b) así como las curvas obtenidas al aplicar tanto los modelos individuales como globales. Las muestras deshidratadas presentaron una tasa de respiración menor que las frescas, siendo el porcentaje medio de reducción aproximadamente de un 40% como se puede ver en la figura IV.7. Sin embargo, cabe destacar que estas diferencias fueron mayores a baja temperatura, tanto en términos de O₂ (reducción ≈53% a 4°C) como en términos de CO₂ (reducción≈78% a 4°C). Estos resultados son acordes con los obtenidos por Lewicki *et al.*, 2001 para rodajas de manzana deshidratadas parcialmente por aire caliente y osmóticamente. Estos autores observaron que cuando el contenido de materia seca se reducía al 20%, la producción de CO₂ se reducía en más de un 70% y que la producción cesaba completamente cuando el contenido en materia seca era superior al 60%. Tanto el modelo individual como el global se ajustaron bien a los datos experimentales de TR, aunque el modelo global a 20 °C presentó valores más altos en la TR_{CO2} que los obtenidos experimentalmente. Por esta razón convendría manejar los parámetros del modelo individual para predecir la TR en función de la temperatura, sobre todo en las rodajas de manzana deshidratadas.

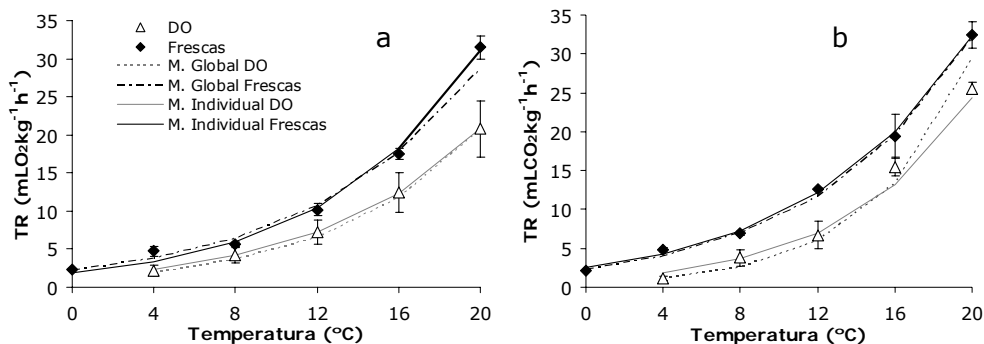


Figura IV.6. Valores experimentales y predichos por los modelos de las tasas respiratorias de rodajas de manzana frescas y deshidratadas, en $\text{mLO}_2\text{kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ (a) y $\text{mLCO}_2\text{kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ (b), respectivamente, en función de la temperatura.

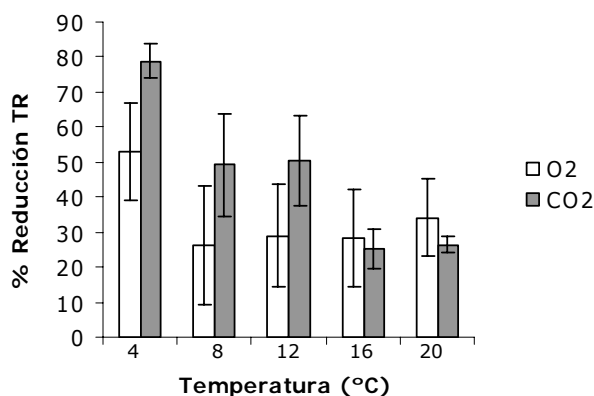


Figura IV.7.- Porcentaje de reducción de la tasa respiratoria de rodajas de manzana debido a la deshidratación osmótica hasta 20 $^\circ\text{Brix}$, en función de la temperatura tanto en términos de O_2 como de CO_2

La tabla IV.5 presenta los valores de los parámetros de los modelos individuales obtenidos en cada caso (TR_{O_2} y TR_{CO_2}) y el porcentaje de varianza explicada. Por otra parte, la tabla IV.6 presenta los parámetros de los modelos globales. La energía de activación en términos del consumo de oxígeno fue muy similar en muestras frescas y deshidratadas, pero al considerar el flujo de CO_2 el valor de E_a fue ligeramente mayor en las rodajas

deshidratadas. Esto parece indicar un efecto más notable de la temperatura en la generación de CO₂ lo cual está asociado con la menor generación de CO₂ a temperaturas más bajas.

Tabla IV.5. Parámetros del modelo individual de Arrhenius ajustado a los valores de TR en muestras control y deshidratadas

| | Rodajas frescas | | Rodajas deshidratadas | |
|----------------|-------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|
| | TR O ₂ | TR CO ₂ | TR O ₂ | TR CO ₂ |
| E _a | 95 (6) | 85 (3) | 92 (1) | 108 (11) |
| K | 7.9 (0.6) | 9.4 (0.3) | 5.5 (0.1) | 5.0 (0.8) |
| V.E.* (%) | 99.5 | 99.8 | 99.9 | 99.1 |

Entre paréntesis se presentan los valores de la desviación estándar. *V.E.: Varianza explicada

Tabla IV.6. Parámetros del modelo global para la predicción de la tasa respiratoria en muestras control y deshidratadas

| | Rodajas frescas | | Rodajas deshidratadas | |
|----------------|-------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|
| | TR O ₂ | TR CO ₂ | TR O ₂ | TR CO ₂ |
| E _a | 86 (1) | 86 (1) | 100 (3) | 138 (2) |
| K | 8.3 (0.1) | 9.0 (0.1) | 4.8 (0.1) | 4.2 (0.1) |
| V. E* (%) | 95.7 | 97.3 | 95.7 | 97.3 |

Entre paréntesis se presentan los valores de la desviación estándar. *V.E.: Varianza explicada

La figura IV.8 muestra los cocientes respiratorios (CR) obtenidos en cada caso tanto experimentalmente como por los modelos global e individual. El CR respiratorio de las manzanas frescas fue constante e igual a la unidad. En las rodajas deshidratadas aumentó con la temperatura desde 0.6 a 1.6, mostrando una dependencia diferente de los mecanismos de consumo de oxígeno y de producción de CO₂ en función de la temperatura. Destaca el bajo CR obtenido a bajas temperaturas en muestras deshidratadas. Una posible explicación a este comportamiento podría estar relacionada con ciertas alteraciones fisiológicas producidas durante la deshidratación, que podrían provocar un consumo de oxígeno en los tejidos en otras rutas metabólicas a bajas temperaturas.

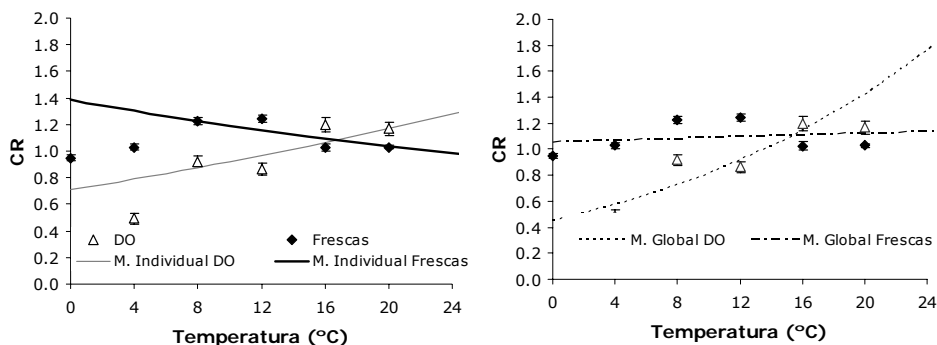


Figura IV.8. Valores experimentales y predichos por los modelos matemáticos de los cocientes respiratorios de rodajas de manzana frescas y deshidratadas, en función de la temperatura.

3.2.2. Efecto de distintas concentraciones de gases en la respiración de rodajas de manzanas frescas y deshidratadas

La reducción de los niveles de O_2 y el aumento de la concentración de CO_2 en la atmósfera de almacenamiento de productos vegetales frescos o cortados pueden potencialmente reducir la respiración, disminuir la producción de etileno y su influencia, así como paliar el deterioro y los cambios fisiológicos, principalmente debidos a la oxidación (Kader *et al.*, 1989; Salveit, 1993; Brecht, 1995b; Fonseca *et al.*, 2000; Soliva-Fortuny *et al.*, 2001). Por todo ello, la modificación adecuada de la atmósfera de almacenamiento de la fruta supone un aumento de su vida útil.

En la literatura se pueden encontrar muchos estudios sobre la influencia de distintas concentraciones de O_2 y CO_2 en el metabolismo y en la vida útil de varios vegetales tanto enteros como cortados (Lee *et al.*, 1991; Watada *et al.*, 1996; Mathooko, 1996; Gil *et al.*, 1998; Beaudry, 2000; Fonseca *et al.*, 2005).

La atmósfera modificada para rodajas de manzana fresca recomendada por Gorny, 2001 consiste en mantener una concentración de O_2 por debajo del 1% y el % de CO_2 entre 4 y 12% en un intervalo de temperatura entre 0 y 5 °C. No obstante, es importante tener en cuenta que

la variedad y las condiciones de proceso van a afectar a los límites de tolerancia de las concentraciones bajas de O₂ o altas de CO₂, ya sea por el grado de corte (rallado, láminas...), por la temperatura o por el tiempo de almacenamiento, entre otros factores (Fonseca *et al.*, 2005). Por esta razón, conviene evaluar el efecto de distintas atmósferas en la actividad metabólica de la fruta que se pretende envasar. En este caso concreto, la aplicación de un tratamiento osmótico a las rodajas de manzana podría afectar a las concentraciones óptimas de O₂ y CO₂ convenientes para prolongar la vida útil de este producto. En este sentido, la evaluación de la influencia de distintas atmósferas modificadas en la respiración de rodajas de manzana fresca y deshidratadas osmóticamente se realizó estudiando las concentraciones de gases de 2%, 4%, 8%, 12%, 16% de oxígeno manteniendo los niveles de dióxido de carbono en 8% como se detalla en el apartado 2.7 de materiales y métodos de este capítulo. Las experiencias se hicieron tanto a 20 como a 4 °C, comparando los resultados con los obtenidos en muestras en aire.

La figura IV.9 presenta las tasas respiratorias en términos de O₂ y CO₂ (cuando se detectaron cambios en el espacio de cabeza en la concentración de estos gases) de las rodajas de manzana frescas y deshidratadas de acuerdo a la atmósfera estudiada. Cuando fue posible se calcularon los CR que se presentan en la figura IV.10.

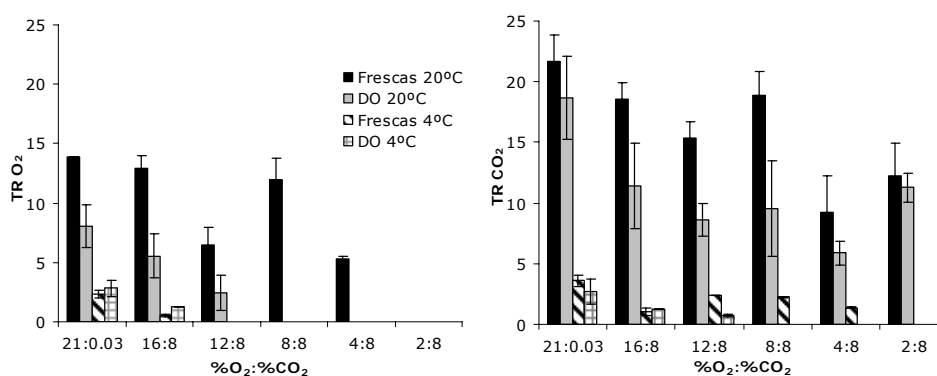


Figura IV.9. TR de rodajas de manzana deshidratadas osmóticamente y frescas en función de la concentración de la atmósfera y la temperatura (20 y 4 °C).

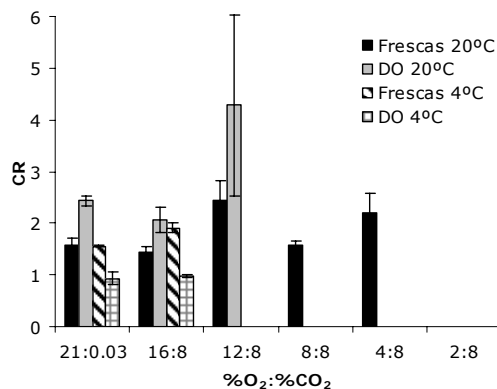


Figura IV.10. CR de rodajas de manzana frescas y deshidratadas en función de la atmósfera del espacio de cabeza y la temperatura (20 y 4°C).

Comparando los resultados obtenidos con aire en esta experiencia con los que se han mostrado en el apartado anterior, destaca una reducción de los valores de tasa respiratoria a la mitad de las muestras frescas, tanto a 4 como a 20 °C, lo que pone de manifiesto la variabilidad de los resultados en función del lote de fruta. En las rodajas deshidratadas, los valores a 4 °C fueron muy similares a los de la experiencia anterior, aunque a 20 °C se observó una reducción, sobre todo en la TR_{O₂}.

Como se puede ver en la figura VI.9, no se apreció consumo de O₂ por debajo de una concentración de O₂ de un 4% en las muestras frescas y de un 12% en las rodajas deshidratadas a 20 °C. A 4 °C el consumo de O₂ se detectó hasta para concentraciones de O₂ del 16% tanto en las muestras frescas como en las rodajas deshidratadas. En términos de la tasa respiratoria referida al oxígeno, se observó que las muestras frescas presentaron una reducción respecto a la obtenida en las muestras control (frescas en aire) cuando se trabajó con 12 y con un 4% de O₂ junto con un 8% de CO₂. No obstante, se obtuvieron resultados similares de TR_{O₂} a los de las rodajas control en las muestras sometidas a una concentración de un 8% de O₂ y 16% de O₂ con un 8% de CO₂. Respecto a los resultados obtenidos en las rodajas deshidratadas, a medida que disminuyó la concentración de oxígeno se redujo la TR_{O₂}.

En términos de dióxido de carbono, se observó un descenso de la tasa respiratoria más acentuado conforme disminuyó la concentración de oxígeno tanto en las muestras frescas como deshidratadas. No se pudieron registrar cambios en la concentración de CO₂ a 4°C cuando la concentración de oxígeno se redujo por debajo de un 12% en las muestras deshidratadas y de un 4% en las muestras frescas. A 20°C se pudo determinar la TR_{CO₂} en todas las concentraciones estudiadas. Como era de esperar a 4°C, las TR fueron menores que a 20°C. Considerando los resultados del CR que se pudieron calcular (Figura IV.10), se observó que las muestras frescas a 20°C, presentaron valores menores del CR que las rodajas deshidratadas osmóticamente, mientras que a 4°C sucedió lo contrario. Sin embargo, conviene resaltar que los valores del CR estuvieron alrededor de un 1.5 en las muestras frescas excepto cuando la concentración de la atmósfera fue de un 12:8 y 4:8 (%O₂:%CO₂) para las que el CR fue mayor de 2 mostrando el desarrollo de rutas fermentativas. En las muestras deshidratadas a las que se midió la TR a 20°C también se observaron CR mucho mayores a la unidad, en particular, cuando la concentración de la atmósfera del espacio de cabeza fue de 12:8 (%O₂:%CO₂). A 4°C, los CR de las muestras deshidratadas, estuvieron en torno a la unidad lo que ratifica que no hubo desarrollo de rutas anaerobias en esas condiciones.

De acuerdo a estos resultados, parece que las rodajas de manzana deshidratadas osmóticamente presentan, en general, una reducción de la tasa respiratoria respecto a las rodajas frescas. Por otra parte, la limitación del O₂ en el espacio de cabeza provoca una ralentización de la respiración a concentraciones más bajas de la atmosférica, llegando incluso a anularse a ciertos niveles, especialmente en el caso de las muestras deshidratadas. Con todo ello, se podrían utilizar envases con una atmósfera modificada muy próxima a la atmosférica para rodajas de manzana deshidratadas, puesto que con un ligero descenso de la concentración de O₂ (16%) se consigue una reducción de la TR considerable sin modificar apenas los valores del CR y por tanto manteniendo la respiración aerobia. Sin embargo, sería necesario evaluar más profundamente la influencia de otras concentraciones en la respiración de rodajas de manzana, sobre todo, teniendo en cuenta cómo influye la concentración del CO₂ en la misma.

3.2.3. Efecto de los tratamientos osmóticos con y sin calcio y del almacenamiento en los cambios fisiológicos y texturales de manzana.

En este apartado se muestran los resultados del estudio de la influencia del tratamiento osmótico con o sin lactato cálcico en la composición, la fisiología (analizada a través de la tasa respiratoria), la capacidad de retención de líquido y la textura (analizada a través de las propiedades mecánicas), para las muestras de manzana recién procesadas y a lo largo del almacenamiento.

3.2.3.a. Cambios composicionales y de masa debidos a los tratamientos

En la tabla IV.7 se presentan la densidad, la fracción másica de agua, la fracción másica de sólidos de las rodajas de manzanas frescas y procesadas, así como las pérdidas de agua y de masa total y ganancia de azúcares de las procesadas. El tiempo necesario para cada tratamiento también se incluye en la tabla.

A igualdad de otras condiciones de proceso, el pulso de vacío implicó una reducción en el tiempo de proceso necesario para alcanzar un determinado nivel de concentración en las muestras, tal como se ha visto en trabajos previos (Barat *et al.*, 2001b, Cháfer *et al.*, 2001). Además la adición de calcio supuso un mayor tiempo de tratamiento para alcanzar el mismo nivel de deshidratación. Esto es coherente con las interacciones del calcio en el tejido que comportan una reducción del coeficiente de difusión efectiva del agua (Barrera *et al.*, 2004). Esta ralentización de la cinética de transporte de agua puede atribuirse a varias causas. Los enlaces de calcio en la red de pectinas de la lámina media reducen la elasticidad de la matriz de manzana (Azcón-Bieto & Talón, 2000), disminuyendo el efecto de los fenómenos de compresión-relajación, la permeabilidad de las membranas y el transporte global. Por otro lado, este ión afecta al transporte activo de agua a través de la membrana celular inhibiendo la funcionalidad de los 'aquaporins' y

reduciendo también el transporte global de agua (Johanson *et al.*, 1996, Tyerman *et al.*, 1999).

Las muestras impregnadas a vacío con disoluciones isotónicas mostraron un aumento de la masa total debido a la entrada de la disolución en los poros del tejido, aunque esta entrada fue menor cuando aumentó la cantidad de calcio en la disolución. Esto podría explicarse por el aumento de la firmeza de la estructura debido a las uniones del catión calcio con las pectinas en la lámina medida lo que provoca cambios en el comportamiento a la compresión-relación de la muestras asociado con la acción del pulso de vacío, y que es responsable de la impregnación total (Chiralt *et al.*, 1999; Azcón-Bieto & Talón, 2000).

Se puede observar que la deshidratación con un pulso de vacío previo, aumentó el rendimiento del proceso debido a la reducción de la pérdida de masa en comparación al tratamiento a presión atmosférica (Chiralt *et al.*, 1999). En los tratamientos más cortos (DOPV 20 °Brix) se observó incluso una variación de masa positiva debido a que la pérdida de agua fue menor que la ganancia de solutos durante el pulso de vacío y a los cambios inducidos en cuanto al diferente predominio de los mecanismos responsables del transporte de masa (Chiralt & Fito, 2003; Shi *et al.*, 1996): los mecanismos difusionales en los poros llenos de líquido potencian la entrada de solutos, disminuyendo la pérdida de peso global (Chiralt & Fito, 2003).

Tabla IV.7. Tiempo de tratamiento, densidad de las muestras y cambios composicionales de las muestras: fracción másica de agua (x_w) y fracción másica de sólidos solubles (x_s), variación de masa total (ΔM), de agua (ΔM_w) y de solutos (ΔM_s), referidas a la masa inicial, debidas al tratamiento.

| Tratamiento | Tiempo (min) | Densidad (kgm ⁻³) | x_w | x_s | ΔM | ΔM_w | ΔM_s |
|---------------|--------------|-------------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Fresca | 0 | 840(13) | 0.853(0.020) ^a | 0.127(0.009) ^a | — | — | — |
| IV | 10 | | 0.872(0.000) ^{ab} | 0.121(0.000) ^{ab} | 0.19(0.04) ^a | 0.19(0.03) ^a | 0.017(0.005) ^a |
| IV 1% Ca | 10 | 1053 | 0.880(0.002) ^b | 0.114(0.005) ^{ab} | 0.18(0.04) ^{ab} | 0.19(0.03) ^a | 0.009(0.004) ^b |
| IV 2% Ca | 10 | | 0.891(0.004) ^b | 0.109(0.002) ^b | 0.14(0.04) ^b | 0.17(0.04) ^a | -0.002(0.004) ^b |
| DO 20 | 65 | | 0.762(0.000) ^c | 0.198(0.001) ^c | -0.106(0.013) ^{fg} | -0.172(0.010) ^{de} | 0.051(0.003) ^c |
| DO 20-1% Ca | 75 | 860(12) | 0.758(0.000) ^c | 0.198(0.000) ^c | -0.13(0.02) ^g | -0.190(0.014) ^{de} | 0.046(0.004) ^c |
| DO 20-2% Ca | 85 | | 0.767(0.000) ^c | 0.192(0.000) ^c | -0.099(0.013) ^{fg} | -0.162(0.010) ^d | 0.047(0.003) ^c |
| DOPV 20 | 30 | | 0.761(0.030) ^c | 0.202(0.020) ^{cd} | 0.03(0.02) ^{cd} | -0.07(0.02) ^b | 0.081(0.004) ^{def} |
| DOPV 20-1% Ca | 40 | 1096(4) | 0.754(0.005) ^c | 0.215(0.002) ^d | -0.01(0.02) ^d | -0.11(0.02) ^c | 0.087(0.005) ^{ef} |
| DOPV 20-2% Ca | 50 | | 0.754(0.006) ^c | 0.208(0.000) ^{cd} | 0.038(0.008) ^c | -0.070(0.006) ^b | 0.090(0.002) ^f |
| DO 30 | 310 | | 0.685(0.003) ^d | 0.279(0.002) ^e | -0.281(0.015) ^h | -0.361(0.010) ^f | 0.073(0.004) ^d |
| DO 30-1% Ca | 350 | 823(17) | 0.689(0.000) ^d | 0.276(0.000) ^{ef} | -0.26(0.02) ^h | -0.34(0.02) ^f | 0.078(0.007) ^{de} |
| DO 30-2%Ca | 325 | | 0.688(0.000) ^d | 0.278(0.000) ^{ef} | -0.27(0.03) ^h | -0.35(0.02) ^f | 0.075(0.008) ^d |
| DOPV 30 | 145 | | 0.720(0.000) ^e | 0.258(0.000) ^f | -0.06(0.02) ^e | -0.161(0.013) ^{de} | 0.121(0.005) ^g |
| DOPV 30-1% Ca | 165 | 1115(7) | 0.704(0.000) ^{de} | 0.266(0.000) ^{ef} | -0.07(0.06) ^{ef} | -0.19(0.04) ^{de} | 0.121(0.015) ^{gh} |
| DOPV 30-2% Ca | 175 | | 0.704(0.000) ^{de} | 0.274(0.000) ^{ef} | -0.07(0.03) ^{ef} | -0.20(0.02) ^e | 0.129(0.009) ^h |

*Valores entre paréntesis corresponden a la desviación estándar. IV: muestras impregnadas con disolución isotónica. DO: deshidratación osmótica a presión atmosférica. DOPV: muestras deshidratadas osmóticamente aplicando un pulso de vacío. 20 y 30 indican los °Brix alcanzados en las muestras por el tratamiento. Ca indica que la disolución osmótica contiene un 1% o un 2% (p/p) de lactato cálcico. Las letras en superíndice indican los grupos homogéneos.

Las figuras IV.11 y IV.13 muestran el contenido en cationes (Ca^{2+} , Na^+ , Mg^{2+} y K^+) de muestras frescas y tratadas, expresado como mg de catión por 100 g de muestra tratada y como mg del catión por 100 g de muestra fresca respectivamente en función de la concentración de lactato cálcico de la disolución. Los resultados obtenidos en las muestras control presentaron valores similares a los encontrados en la bibliografía para manzana (7-3 mg Ca^{2+} /100 g; 1 g Na^+ /100 g; 5 g Mg^{2+} /100 g y 116-95 g K^+ /100g) (Infoagro, 2006; Lobo & González, 2003), aunque las concentraciones de sodio y potasio fueron ligeramente superiores en las muestras analizadas en comparación a los valores referenciados.

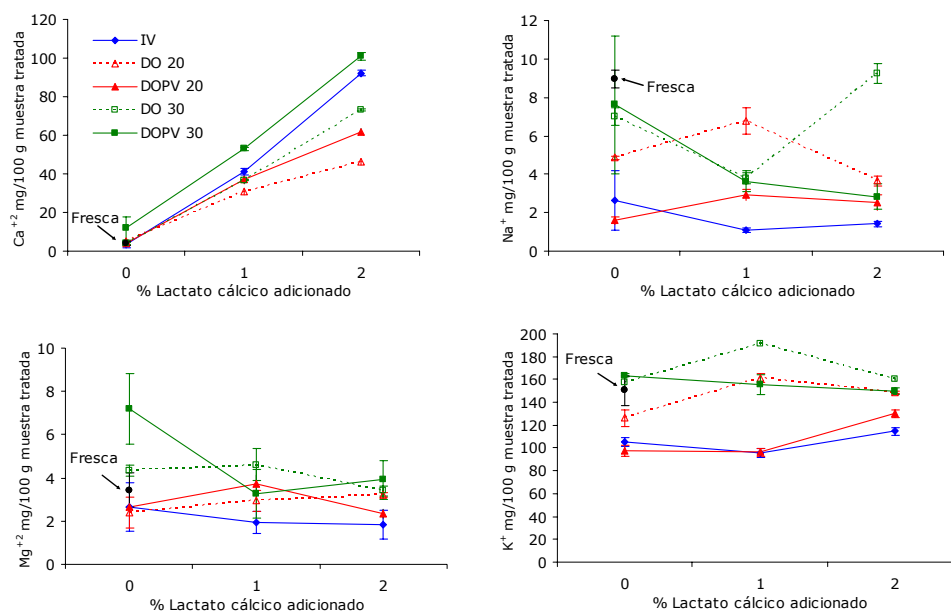


Figura IV.11. Contenido en cationes (Ca^{2+} , Na^+ , Mg^{2+} y K^+) de las manzanas frescas y tratadas (mg catión/100 g manzana tratada) en función de la concentración de lactato cálcico de la disolución osmótica.

Como se ha comentado en el capítulo III para la fresa, la incorporación de calcio en las muestras no se ha realizado con el objetivo de enriquecer la muestra en este catión sino para mejorar las propiedades organolépticas y la vida útil del producto. No obstante, es interesante conocer el aporte de calcio que podría proporcionar 100 g de manzana

tratada en función de las condiciones de trabajo, como se muestra en la figura IV.12, la cual informa de la cantidad de catión consumida en función de la cantidad de muestra ingerida.

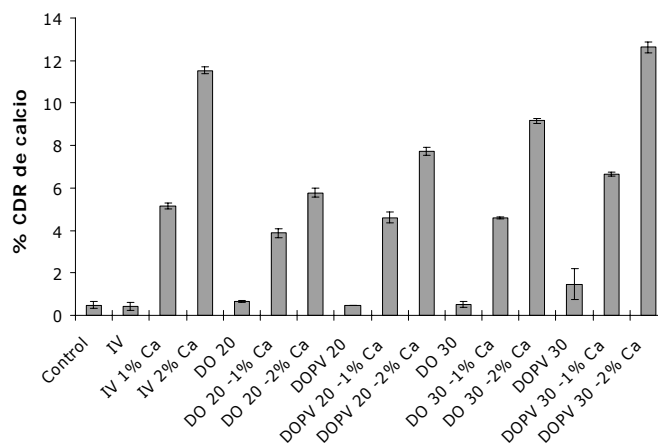


Figura IV.12. Porcentaje de la cantidad diaria recomendada (CDR) cubierto por la ingesta 100 g de rodajas de manzana fresca (control) o tratadas.

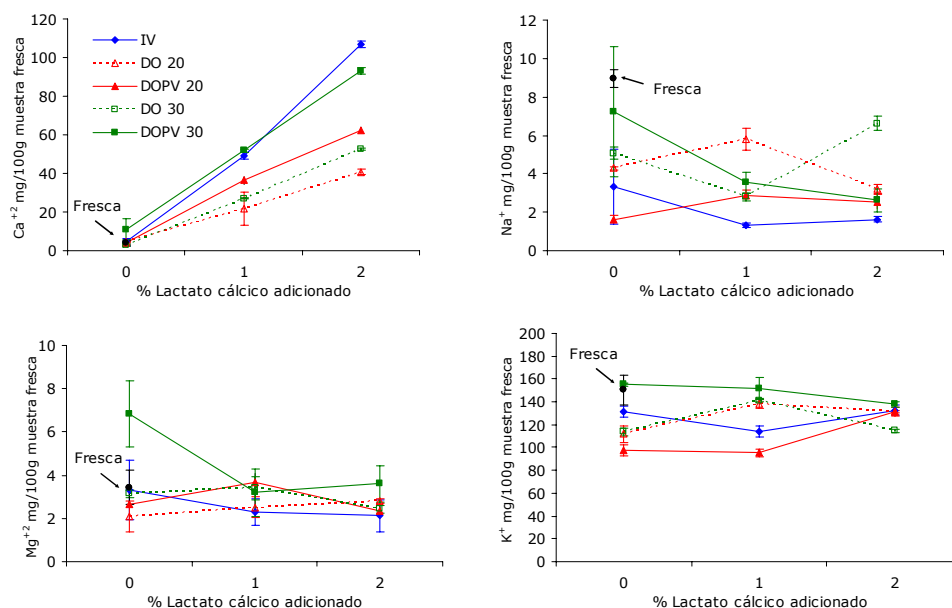


Figura IV.13. Contenido en cationes (Ca²⁺, Na⁺, Mg²⁺ y k⁺) de muestras frescas y tratadas (mg catión/100 gramos de muestra fresca) en función de la concentración de lactato cálcico de la disolución osmótica.

Respecto al contenido en calcio referido a la masa de manzana fresca (Figura IV.13), las muestras tratadas sin calcio, no presentaron diferencias significativas con las muestras control, excepto en el caso de las rodajas que fueron tratadas por DOPV 30 °Brix, en las que se observó un aumento en la cantidad de este catión. Según estos resultados la variabilidad del contenido en calcio de las distintas muestras frescas no parece muy alta ni tampoco las pérdidas de calcio por difusión durante los tratamientos osmóticos sin calcio. Por otra parte, como era de esperar, el contenido en calcio aumentó proporcionalmente en función de la concentración de calcio de la disolución osmótica. La aplicación de un pulso de vacío acompañado o no con deshidratación, provocó el aumento de la concentración de calcio en comparación con las respectivas muestras frescas o deshidratadas a presión atmosférica, proporcionalmente a la concentración de calcio de la disolución. En particular, las muestras impregnadas con una disolución isotónica con un 2% de lactato cálcico presentaron el mayor aumento de este catión debido a la baja viscosidad de esta disolución respecto a la disolución osmótica de 50 °Brix usada en la deshidratación lo que supone un mayor nivel de impregnación (Chiralt *et al.*, 1999). Esto da evidencias de que la aplicación de un pulso de vacío implica un notable aumento de calcio en las rodajas de manzana, como se ha observado previamente en mango (Torres *et al.*, 2006), lo que está relacionado con la ganancia de solutos directa por el mecanismo hidrodinámico (Fito *et al.*, 1996). Al mismo tiempo, la difusión del catión en el tejido durante el tratamiento osmótico, dio lugar a una mayor concentración del mismo a medida que aumentó el tiempo de tratamiento (muestras con 30 °Brix) y la concentración en calcio de la disolución osmótica.

Considerando los otros cationes estudiados, no se observó una influencia clara del tiempo y tipo de tratamiento aplicado sobre la concentración alcanzada en las diferentes muestras. Probablemente la variabilidad natural en el contenido de estos cationes fue mayor que la diferencia inducida en su contenido por la acción del tratamiento. Esto se observa claramente en la figura IV.14 que representa la variación de masa de cada catión debida al tratamiento por gramo de muestra fresca para todos los cationes estudiados en función del tratamiento aplicado. De acuerdo con

lo ya comentado, se observó un incremento de masa del catión calcio proporcional al nivel de este catión en la disolución osmótica. En contraposición, el resto de los cationes sufrieron en general una pequeña reducción, más acusada en el caso del potasio, seguido del sodio y por último del magnesio.

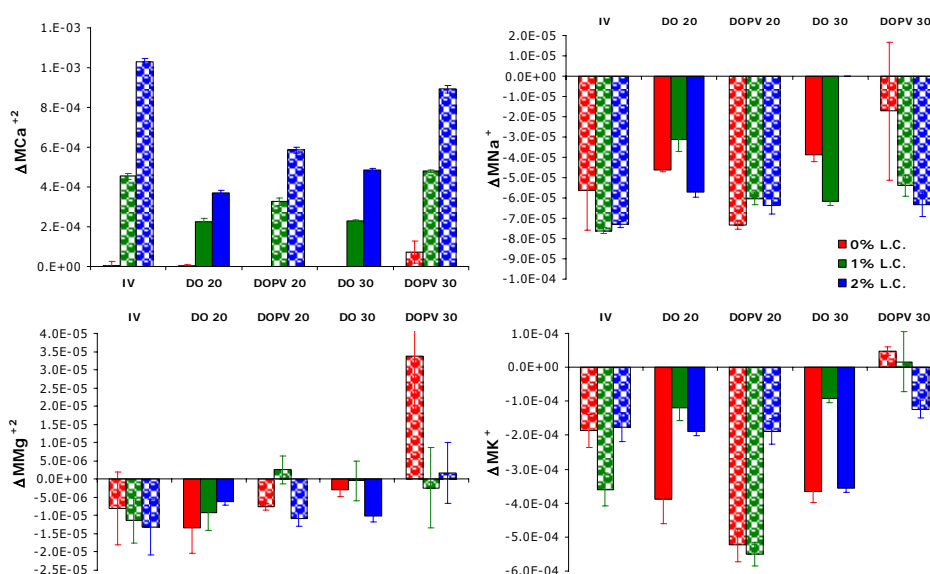


Figura IV.14. Variaciones de masa de los cationes estudiados (Ca^{+2} , Na^{+} , Mg^{+2} y K^{+}) según la concentración de lactato cálcico (L.C.) de la disolución y el tratamiento osmótico aplicado.

3.2.3.b. Cambios composicionales y de masa debidos al almacenamiento

La tabla IV.8 muestra el contenido en sólidos solubles y la humedad de las muestras frescas y tratadas así como los cambios de masa, desglosados en términos de variación de masa de agua y masa de sólidos, de las muestras frescas y tratadas después del almacenamiento. Los resultados indican que no ha habido cambios significativos de composición durante el almacenamiento.

Tabla IV.8. Contenido en humedad (x_w), sólidos solubles (x_s), así como variación de masa total (ΔM), de agua (ΔM_w) y de solutos (ΔM_s), referidas a la masa inicial de la muestra fresca, debida al almacenamiento (6 días) de las muestras frescas y procesadas.

| Tratamiento | x_w ALMACENAMIENTO | x_s ALMACENAMIENTO | ΔM ALMACENAMIENTO | ΔM_w ALMACENAMIENTO | ΔM_s ALMACENAMIENTO |
|---------------|----------------------------|----------------------------|-------------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| Frescas | 0.851(0.010) ^a | 0.122(0.006) ^a | -0.046(0.012) ^a | -0.04(0.02) ^a | 0.000(0.002) ^{ab} |
| IV | 0.861(0.000) ^a | 0.117(0.000) ^{ab} | -0.022(0.013) ^b | -0.03(0.06) ^a | -0.007(0.008) ^{bc} |
| IV 1% Ca | 0.864(0.002) ^a | 0.113(0.000) ^b | -0.023(0.012) ^b | -0.02(0.06) ^a | -0.003(0.007) ^{abc} |
| IV 2% Ca | 0.876(0.002) ^a | 0.101(0.005) ^b | -0.020(0.020) ^b | -0.03(0.03) ^a | -0.010(0.008) ^{bc} |
| DO 20 | 0.756(0.000) ^b | 0.197(0.001) ^d | -0.159(0.021) ⁱ | -0.12(0.03) ^{cde} | -0.032(0.013) ^{de} |
| DO 20-1% Ca | 0.751(0.012) ^b | 0.177(0.003) ^c | -0.188(0.009) ^j | -0.16(0.01) ^e | -0.055(0.004) ^g |
| DO 20-2% Ca | 0.776(0.000) ^b | 0.195(0.004) ^d | -0.147(0.010) ^{hi} | -0.10(0.01) ^{bcd} | 0.016(0.058) ^d |
| DOPV 20 | 0.750(0.000) ^{bc} | 0.223(0.000) ^e | -0.071(0.001) ^c | -0.06(0.02) ^{ab} | 0.005(0.027) ^a |
| DOPV 20-1% Ca | 0.775(0.000) ^b | 0.199(0.000) ^d | -0.093(0.006) ^{cd} | -0.07(0.03) ^{ab} | -0.039(0.020) ^{ef} |
| DOPV 20-2% Ca | 0.746(0.004) ^{bc} | 0.223(0.000) ^e | -0.085(0.013) ^c | -0.08(0.02) ^{bc} | -0.008(0.016) ^{bc} |
| DO 30 | 0.722(0.070) ^{cd} | 0.300(0.028) ^h | -0.143(0.004) ^{fghi} | -0.07(0.02) ^{ab} | -0.025(0.011) ^d |
| DO 30-1% Ca | 0.691(0.002) ^{de} | 0.273(0.002) ^{fg} | -0.123(0.015) ^{efg} | -0.09(0.02) ^{bcd} | -0.037(0.010) ^{def} |
| DO 30-2% Ca | 0.666(0.000) ^e | 0.280(0.001) ^g | -0.144(0.004) ^{ghi} | -0.13(0.02) ^{de} | -0.048(0.007) ^{fg} |
| DOPV 30 | 0.713(0.002) ^d | 0.264(0.001) ^f | -0.135(0.028) ^{fgh} | -0.10(0.03) ^{bcd} | -0.028(0.015) ^{de} |
| DOPV 30-1% Ca | 0.699(0.001) ^d | 0.275(0.000) ^{fg} | -0.117(0.007) ^{def} | -0.06(0.03) ^{ab} | -0.012(0.016) ^c |
| DOPV 30-2% Ca | 0.709(0.000) ^d | 0.267(0.001) ^{fg} | -0.094(0.003) ^{cde} | -0.07(0.02) ^{ab} | -0.034(0.007) ^{de} |

IV: muestras impregnadas con una disolución isotónica

DO: muestras deshidratadas osmóticamente a presión atmosférica

DOPV: muestras deshidratadas osmóticamente aplicando un pulso de vacío al comienzo del proceso

Los números indican los °Brix alcanzados por las muestras durante el tratamiento. Las letras en superíndice indican los grupos homogéneos.

La figura IV.15 presenta las pérdidas de masa (o de fase líquida), de rodajas de manzana frescas y tratadas debidas tanto al tratamiento osmótico como al almacenamiento, de acuerdo a los resultados obtenidos al aplicar la ecuación III.20. Las pérdidas durante el almacenamiento pueden atribuirse a la masa perdida en los procesos de respiración y transpiración celular, a la evaporación y secado superficial y a la expulsión del líquido intercelular asociada al colapso celular que ocurre por la pérdida de turgor.

Las muestras impregnadas isotónicamente que presentaron una ganancia inicial de masa durante el tratamiento (día 0), como se ha comentado anteriormente, sufrieron las menores pérdidas de masa durante el almacenamiento, manteniendo prácticamente el aumento provocado por el tratamiento. Esto fue observado también en el estudio con fresa e indica que la matriz celular mantiene mejor la capacidad de retener la fase líquida probablemente por inhibir el colapso celular al estar los poros llenos de líquido y limitar la transpiración celular.

Siguiendo el mismo comportamiento observado en las muestras de fresa, todos los tratamientos de deshidratación implicaron pérdidas de masa durante el almacenamiento tanto más acentuadas conforme se prolongó el tiempo de tratamiento. No obstante, una vez consideradas las pérdidas de líquido debidas al tratamiento (día 0), y transcurrido el primer día de almacenamiento, las diferencias en la velocidad de pérdida de líquido durante el periodo considerado entre los tratamientos estudiados fueron pequeñas.

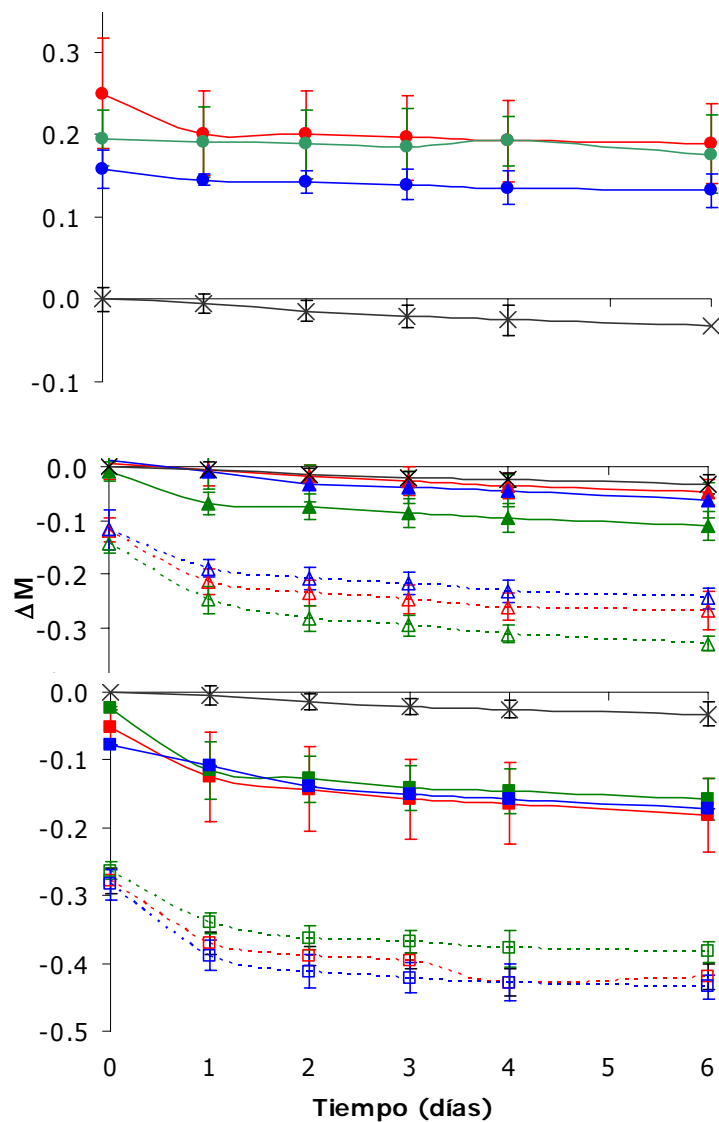


Figura IV.15. Pérdidas de peso (o de fase líquida) debidas al tratamiento y al almacenamiento durante seis días para las muestras tratadas con diferente nivel de lactato cálcico (rojo: sin L.C.; verde: 1% de L.C.; azul: 2% de L.C.) en la disolución osmótica y diferente tipo de tratamiento (muestras frescas (cruz), impregnadas isotónicamente (círculos) deshidratadas hasta 20°Brix (triángulos) y deshidratadas hasta 30°Brix (cuadrados)). Símbolos vacíos: muestras tratadas a presión atmosférica (DO). Símbolos rellenos: muestras tratadas con pulso de vacío (DOPV).

Si se desglosan los valores representados en la figura IV.15 considerando únicamente la pérdida de líquido durante el almacenamiento (ecuación III.22), se obtienen los resultados que se muestran en la figura IV.16. Se puede ver que la impregnación a vacío supuso una menor pérdida de líquido respecto a las muestras frescas, a partir del segundo día de almacenamiento sin que hubiera influencia del contenido en calcio en la disolución. En el caso de las muestras osmódeshidratadas, como se ha visto en fresa, la pérdida de líquido fue mayor que en las muestras frescas e IV, debido a que las muestras deshidratadas tienen menor turgor en su estructura y las zonas de unión celular pueden estar alteradas provocando cierto grado de desunión celular. En la figura IV.17 se presentan las medias de las pérdidas de líquido al final del almacenamiento con los intervalos LSD (95 %) de las muestras frescas, impregnadas isotónicamente y osmódeshidratadas. Destaca el efecto significativo del pulso de vacío en la mayor capacidad de retención de líquido en las muestras DOPV 20°Brix, sin observarse un efecto tan claro en las muestras deshidratadas hasta 30°Brix en las que el grado de afectación celular es mayor por el mayor nivel de deshidratación. Respecto al efecto de la concentración de calcio, sólo se observó una pérdida menor de líquido en las muestras DOPV 30°Brix a medida que aumentó la concentración de lactato cálcico.

En conclusión, la deshidratación osmótica provoca un incremento en la pérdida de líquido celular durante el almacenamiento de las muestras de manzana, tanto mayor cuanto mayor es el nivel de deshidratación. La impregnación a vacío palió estas pérdidas de líquido, mientras que la incorporación de calcio a la disolución osmótica no tiene un efecto notable.

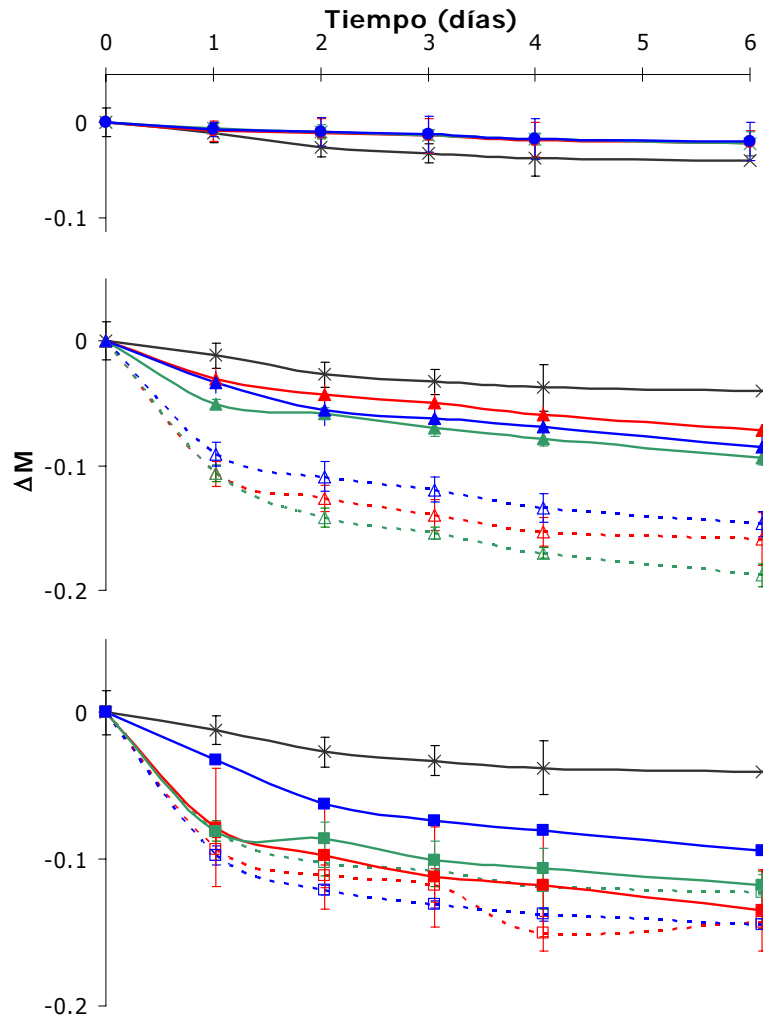


Figura IV.16. Pérdidas de peso (o de fase líquida) debidas al almacenamiento referidas a la masa inicial según la ecuación III.22 de las muestras tratadas con diferente nivel de lactato cálcico (rojo: sin L.C.; verde: 1% de L.C.; azul: 2% de L.C.) en la disolución osmótica y diferente tipo de tratamiento (muestras frescas (cruz), impregnadas isotónicamente (círculos) deshidratadas hasta 20°Brix (triángulos) y deshidratadas hasta 30 °Brix (cuadrados)). Símbolos vacíos: muestras tratadas a presión atmosférica (DO). Símbolos rellenos: muestras tratadas con pulso de vacío (DOPV).

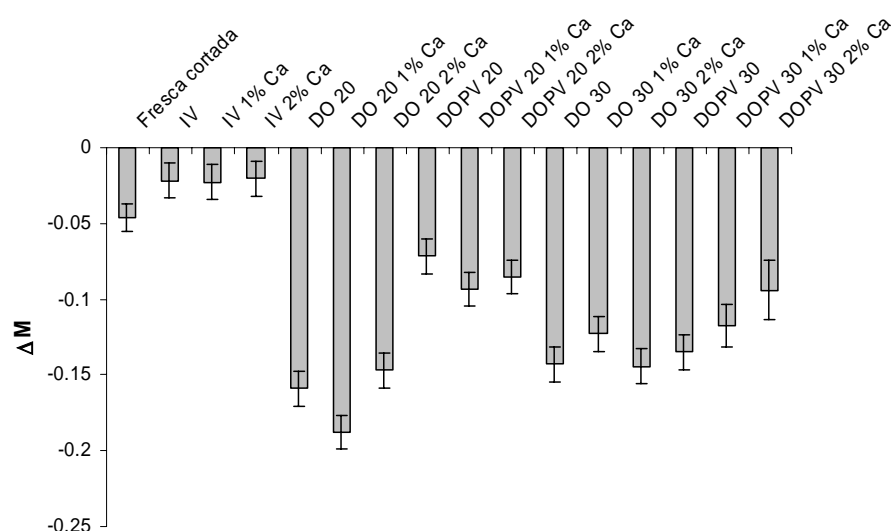


Figura IV.17. Pérdida de líquido al final del almacenamiento en las muestras no tratadas, impregnadas y deshidratadas. Las barras indican los intervalos LSD (95 %).

3.2.3.c. Cambios en la tasa respiratoria

La figura IV.18 muestra las tasas respiratorias con los intervalos LSD (95 %) de rodajas de manzana impregnadas y deshidratadas a distintos niveles, con y sin aplicación de un pulso de vacío inicial, después del tratamiento. Además, también se evalúa el efecto de la adición de 1 ó 2 % (p/p) de calcio en la disolución osmótica. Se puede observar que la deshidratación provocó una disminución del consumo de O_2 excepto para las muestras deshidratadas a presión atmosférica hasta 30 °Brix, donde no se observaron diferencias significativas en las tasas de consumo de O_2 respecto a las de la muestra fresca. De acuerdo con estos resultados, se ha observado en la mayoría de las frutas deshidratadas osmóticamente un descenso en el consumo de O_2 como consecuencia de una reducción del número de células viables en el tejido así como la limitación a la difusión de O_2 en el tejido (Castelló *et al.*, 2006; Torres, 2007; Ceballos, 2006). No obstante, en algunos casos también se ha observado un aumento en la TR_{O_2} en las frutas tratadas osmóticamente inducido por un mayor estrés celular en la fruta

(Ceballos, 2006). Sin embargo, al aplicar pulso de vacío, se dio una reducción muy notable en la TR_{O_2} en las muestras con 30 °Brix. El efecto del calcio es muy poco notable y sólo parece disminuir levemente la TR_{O_2} de las muestras en los tratamientos IV y PVOD 20 °Brix, sin influencia del contenido de calcio en la disolución a las concentraciones estudiadas. En papaya y mango (Ceballos, 2006; Torres, 2007, respectivamente) la combinación del tratamiento osmótico y la adición de calcio tampoco afectan a la TR_{O_2} tras la deshidratación, aunque en determinados casos sí tiene influencia durante el almacenamiento.

Respecto a la generación de CO_2 , se observó un ligero descenso en las muestras deshidratadas osmóticamente hasta 20 °Brix a presión atmosférica, mientras que a mayor nivel de deshidratación (30 °Brix) se produjo un aumento considerable en la TR_{CO_2} lo que podría asociarse al desarrollo de rutas anaerobias en el metabolismo de la fruta. Las células más estresadas aumentan su actividad respiratoria en términos de CO_2 utilizando además de la oxidación de glucosa otras vías. Este comportamiento ha sido observado también en otras frutas deshidratadas osmóticamente como en fresa (Castelló *et al.*, 2006), en papaya (Ceballos, 2006) y en mango (Tovar *et al.*, 2001a y b). Respecto al calcio, parece ejercer un efecto depresor de la generación de CO_2 , aunque esto no se observa en los tratamientos DO 30 °Brix. Estudios realizados en otras frutas, muestran un efecto atenuador de la actividad respiratoria a causa del calcio, como se ha visto en el capítulo de estudios en fresa (Castelló *et al.*, 2005), en mango (Torres, 2007), pera (Pérez, 2003), en melón (Luna-Guzmán *et al.*, 2000; Saftner *et al.*, 2003), en limones (Tsantili *et al.*, 2002) o en ciruelas (Serrano *et al.*, 2004). Sin embargo, estudios realizados en papaya deshidratada muestran que el calcio no parece ejercer un efecto generalizado en la tasa respiratoria (Ceballos, 2002).

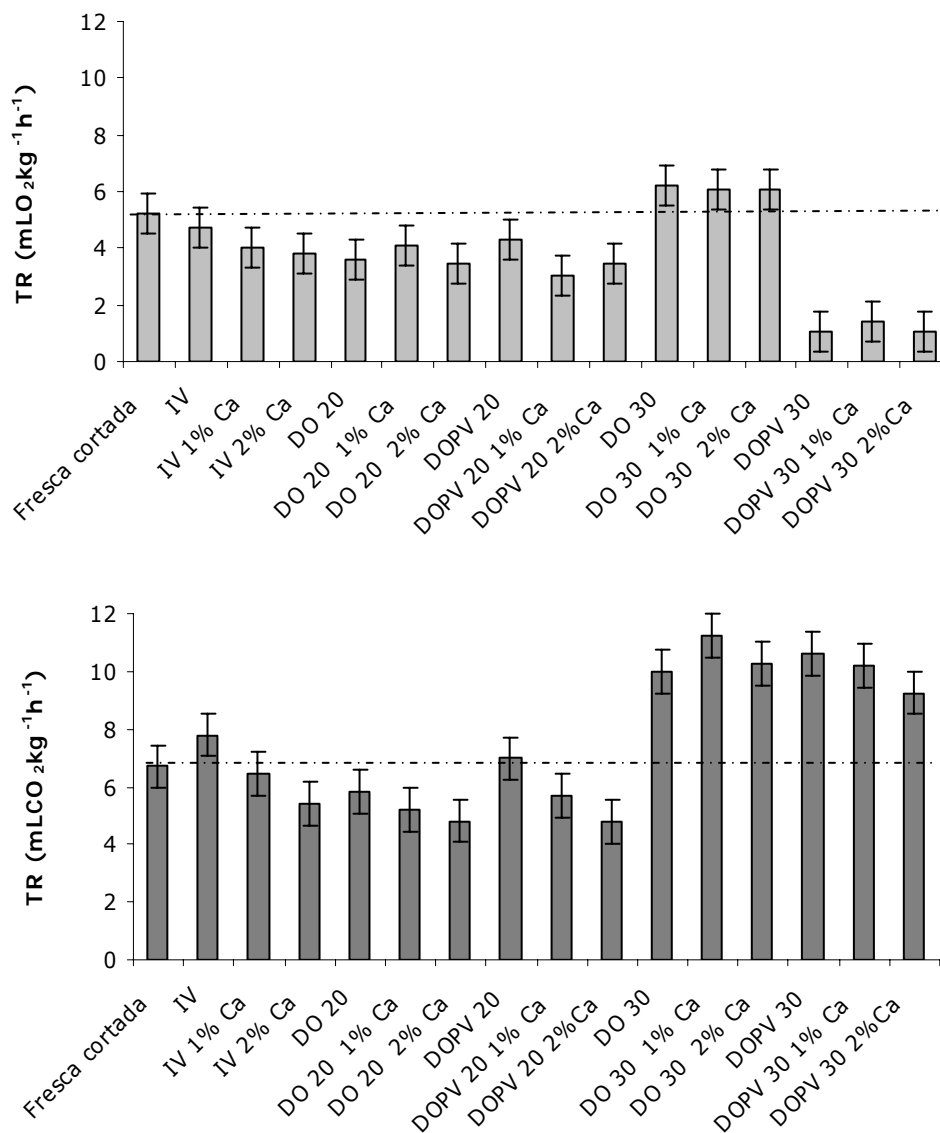


Figura IV.18. Tasas respiratorias de rodajas de manzana frescas, impregnadas isotónicamente y deshidratadas con y sin pulso de vacío hasta 20 y 30 °Brix, con 0, 1 y 2% (p/p) de lactato cálcico al inicio del almacenamiento. Las barras indican los intervalos LSD (95 %).

En la figura IV.19 se muestra el cociente respiratorio de las muestras deshidratadas a presión atmosférica e impregnadas isotónicamente que fue ligeramente superior al de las muestras frescas (1.33), en todos los casos

salvo en las muestras deshidratadas hasta 30 °Brix con aplicación de un pulso de vacío que presentaron CR muy elevados evidenciando la presencia de mecanismos fermentativos. Efectos similares se han encontrado en fresa a niveles de deshidratación elevados (Castelló *et al.*, 2006) lo que informa del desarrollo de rutas anaerobias como respuesta al mayor tiempo de tratamiento y a la dificultad para difundir oxígeno como consecuencia del tratamiento de impregnación.

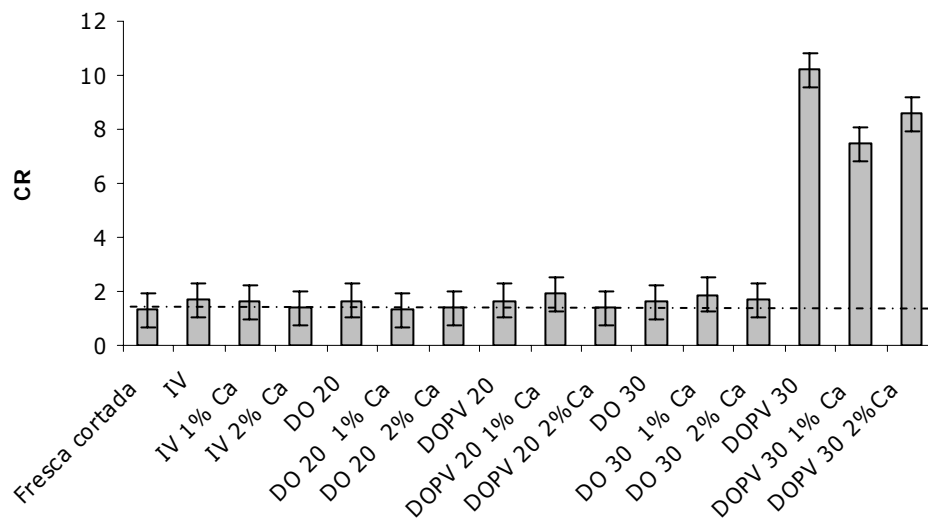


Figura IV.19. Cocientes respiratorios de manzana frescas, impregnadas isotónicamente y deshidratadas con y sin pulso de vacío hasta 20 y 30 °Brix, con 0, 1 y 2% (p/p) de lactato cálcico al inicio del almacenamiento. Las barras indican los intervalos LSD (95 %).

Los cambios en la pauta respiratoria asociados a los tratamientos se explican por diferentes factores relacionados con la alteración de las células durante el tratamiento. La presencia de perfiles de concentración en el tejido después del tratamiento osmótico ha sido observada en diferentes trabajos (Salvatori *et al.*, 1998). Estos perfiles de concentración llevan asociados perfiles estructurales y de alteración fisiológica de las células, de tal modo, que es presumible pensar que para un nivel dado de concentración global en el tejido, el número de células alteradas o no viables será diferente según las

condiciones utilizadas (Ceballos, 2006). Las células alteradas presentarán pautas respiratorias diferentes debido al estrés inducido, mientras que las no viables no presentarán actividad respiratoria. La aplicación de vacío implicará también cambios en el perfil de concentración y por tanto en la fracción de células alteradas y no viables y restricciones en el transporte de gases debido a la sustitución de gas por líquido en los espacios intercelulares del tejido.

Estos resultados, como los obtenidos en el capítulo de estudios en fresa, ponen de manifiesto que pese a lo que podría haberse esperado, las muestras deshidratadas siguen respirando, como observaron otros autores en láminas de apio parcialmente deshidratadas a 35 °C que todavía consumían oxígeno (Haas *et al.*, 1974). Esto estaría relacionado con la supervivencia de ciertos sistemas enzimáticos al estrés de la deshidratación (Lewicki *et al.*, 2001). Por otra parte, Tovar *et al.*, 2001 observaron que rodajas de mango deshidratadas con pulso de vacío mostraron una mayor tasa respiratoria en términos de CO₂ que las no tratadas, lo que estaría asociado con una mayor actividad de la ACC oxidasa (enzima que participa en la producción de etileno). Sin embargo, el efecto del calcio a estos niveles no parece tener una gran influencia en la pauta respiratoria de esta fruta. En cualquier caso, es interesante conocer la evolución de la pauta respiratoria a lo largo del tiempo y la influencia de los factores estudiados (presión de trabajo, nivel de deshidratación y porcentaje de calcio de la disolución osmótica) en la misma. En función de la respuesta que tengan las muestras a estos factores durante el almacenamiento, su vida útil será más larga o menos prolongada y las necesidades del material de envasado también serán diferentes. A continuación se presentan los resultados obtenidos para la evolución de la tasa respiratoria de manzana sometida a los diferentes tratamientos estudiados.

La figura IV.20 muestra los resultados de las tasa respiratorias de O₂ y CO₂ de las rodajas de manzana frescas e impregnadas isotónicamente a lo largo de 6 días de almacenamiento. Las figuras IV.21 y IV.22 representan la evolución de la tasa respiratoria durante el almacenamiento de las muestras deshidratadas hasta 20 y 30 °Brix a presión atmosférica y aplicando un pulso de vacío al inicio del proceso. En todos estos casos se ha analizado a su vez,

la influencia del contenido en lactato cálcico añadido a la disolución osmótica en la respiración.

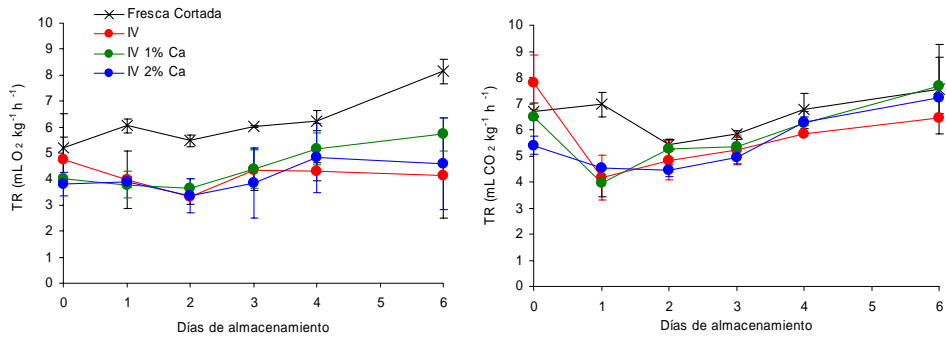


Figura IV.20. Evolución de la tasa respiratoria en términos de O₂ y CO₂ de las muestras control y las muestras impregnadas isotónicamente.

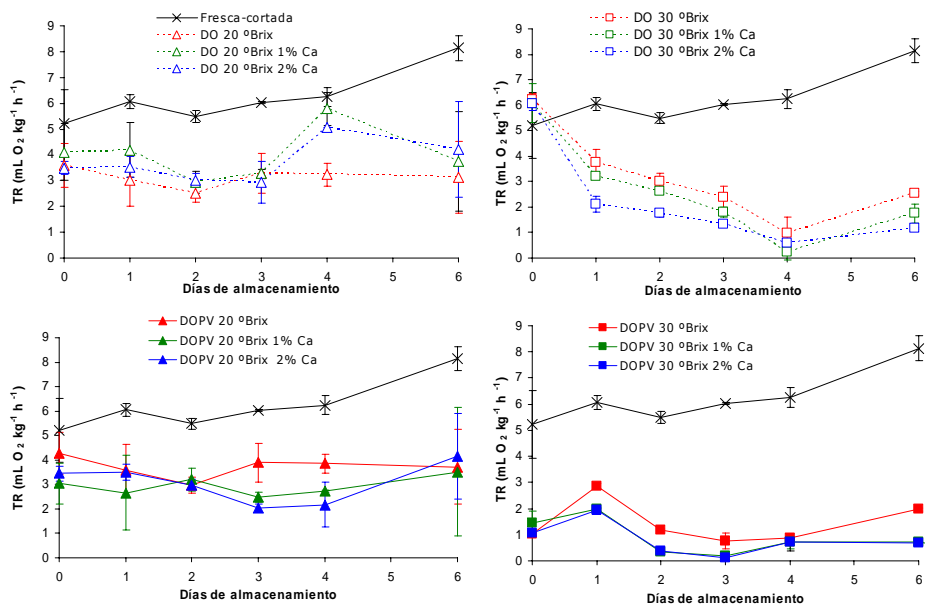


Figura IV.21. Evolución de la tasa respiratoria en términos de O₂ de las muestras control y las muestras deshidratadas hasta 20 y 30 °Brix.

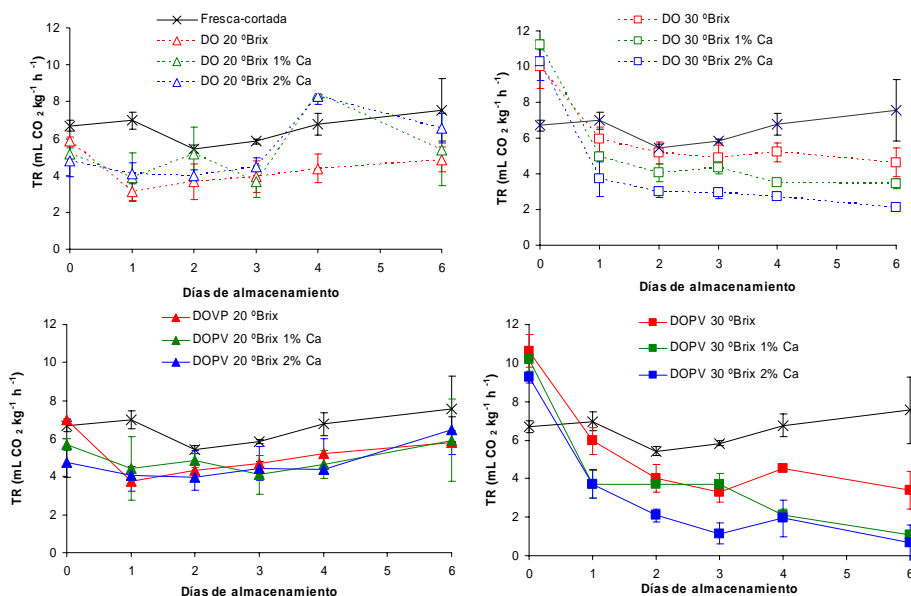


Figura IV.22. Evolución de la tasa respiratoria en términos de CO_2 de las muestras control y las muestras deshidratadas hasta 20 y 30 °Brix.

Durante el almacenamiento todos los tratamientos presentaron tasas respiratorias de O_2 más bajas que el control, siendo más notables las diferencias en las muestras deshidratadas con un pulso de vacío, y sobre todo en las deshidratadas hasta 30 °Brix. El efecto se apreció en todos los casos a las 24 horas de almacenamiento y se acusó con el tiempo en las muestras más deshidratadas. Esto ha sido observado también en otras frutas (Pérez, 2003; Castelló *et al.*, 2005; Ceballos, 2006; Torres, 2007). No se observaron diferencias tan marcadas en términos de CO_2 , aunque sí que destaca la reducción en la tasa respiratoria de las muestras con 30 °Brix y con un 2% Ca, sobre todo cuando las muestras fueron impregnadas inicialmente. En relación con estos resultados, el CR fue mucho más elevado en las muestras más deshidratadas (Figura IV.23). La pauta respiratoria se mantuvo bastante constante a partir de las 24 horas de almacenamiento, a excepción de las muestras más deshidratadas, que en general, presentaron una tendencia descendente más marcada. Este descenso en la tasa respiratoria durante el almacenamiento en las muestras deshidratadas ha sido observado en otras frutas y es consecuencia de la muerte progresiva del

tejido osmotizado (Ceballos, 2006; Torres, 2007). Las concentraciones de calcio estudiadas no parecen influir de forma marcada en la evolución de la tasa respiratoria de las rodajas de manzana como se ha observado en papaya deshidratada (Ceballos, 2006), a diferencia del mango (Torres, 2007), donde el tratamiento con calcio redujo la TR_{CO_2} durante el almacenamiento, evidenciando efectos de toxicidad celular a los niveles estudiados. En la manzana, este efecto parece detectarse en las muestras con mayor tiempo de tratamiento (30 °Brix) donde son también más elevados los valores de concentración de calcio alcanzados.

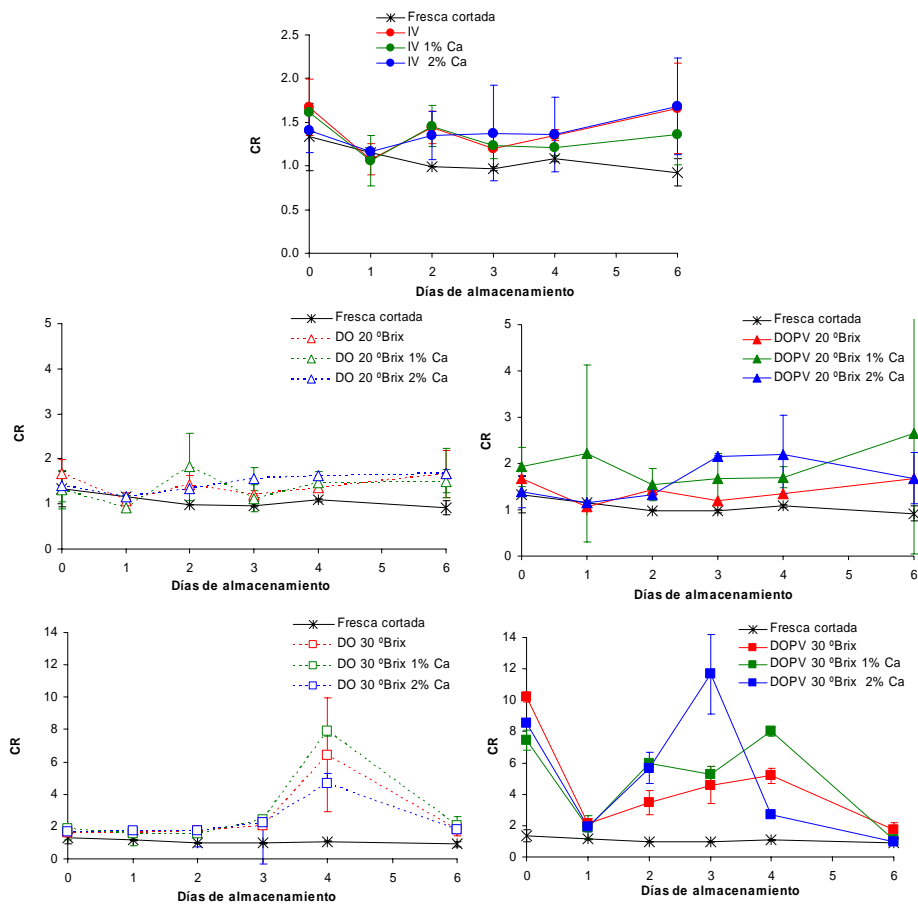


Figura IV.23. Evolución del cociente respiratorio de las muestras control y las muestras tratadas.

3.2.3.d. Cambios en las propiedades mecánicas

La figura IV.24 muestra las curvas fuerza-deformación (valores medios) obtenidas del ensayo de punción en muestras sometidas a los diferentes tratamientos. Las curvas de las muestras tratadas con 1% de lactato cálcico no se han incluido porque su comportamiento fue muy similar al de las muestras con un 2% de lactato cálcico. Las rodajas de manzana impregnadas con disoluciones isotónicas sin calcio no mostraron diferencias notables en comparación a las muestras frescas cortadas. Sin embargo, la impregnación con disoluciones que contienen un 2% de lactato cálcico parece potenciar la resistencia de la muestra a la punción, ya que se registraron valores más altos de fuerza. Teniendo en cuenta la variabilidad no se observaron cambios en la fuerza máxima tras el almacenamiento en las muestras no tratadas, como ha sido observado en otros casos (Raybaudi-Massilia *et al.*, 2007), y tampoco en las sometidas a IV.

El tratamiento osmótico cambió la forma de la curva de punción de las rodajas de manzana: redujo el área bajo la curva y por tanto provocó una menor cohesión en las muestras, aumentó la deformabilidad, aunque no provocó grandes cambios en los valores máximos de la fuerza. El pulso de vacío en la deshidratación no afectó notablemente a la forma de las curvas de punción. Este comportamiento se ha observado en trabajos previos para otras frutas (Chiralt & Talens, 2005). Respecto a la influencia del calcio, no se detectó un efecto significativo en el comportamiento mecánico de la manzana cortada, como ha sido observado por otros autores (Raybaudi-Massilia *et al.*, 2007). No obstante, en otros trabajos sí que se ha observado un reforzamiento del tejido en manzana cortada tratada con calcio (Del Valle *et al.*, 1998; Lee *et al.*, 2003; Quiles *et al.*, 2004; Rojas-Graü *et al.*, 2007), lo que también se ha detectado en otras frutas: papaya cortada y deshidratada (Ceballos, 2006), mango cortado y deshidratado (Torres *et al.*, 2006) y melón cortado (Luna-Guzmán *et al.*, 1999 y Saftner *et al.*, 2003).

El almacenamiento provocó un desplazamiento de las curvas para las muestras deshidratadas dando lugar a valores más elevados de la deformación de fractura. Mientras que en las muestras DOPV no se observaron grandes diferencias en la deformabilidad tras el almacenamiento,

éstas fueron muy notables en las muestras tratadas a presión atmosférica, que se hicieron mucho más deformables. Las diferencias en el comportamiento mecánico de las muestras en función de la presión de trabajo y la concentración alcanzada pueden atribuirse a las diferencias en el perfil de concentración desarrollado en el tejido durante el proceso y su influencia en la pérdida de turgor global que es resultado del número de células afectadas en el tratamiento.

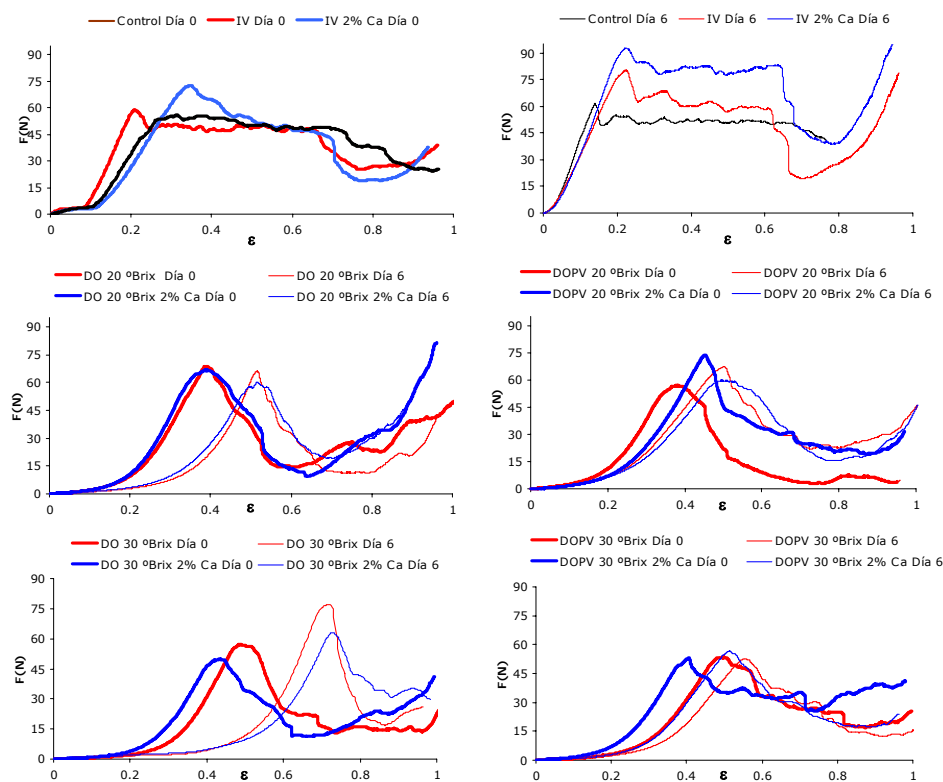


Figura IV.24. Curvas medias de punción de rodajas de manzana no tratada, impregnadas isotónicamente y deshidratadas hasta 20 y 30 °Brix al inicio y al final del almacenamiento.

La figura IV.25 muestra los valores medios y los intervalos LSD (95%) para los parámetros mecánicos (pendiente inicial, fuerza de fractura, deformación en la fuerza de fractura y área) para los distintos tratamientos (muestras frescas, impregnadas isotónicamente (IV), deshidratadas

osmóticamente a presión atmosférica (DO), o aplicando un pulso de vacío al inicio del proceso (DOPV) y con o sin adición de 1 ó 2 % de lactato de calcio en la disolución) y tiempo de almacenamiento (0 y 6 días de almacenamiento).

Los resultados indican que la IV con y sin calcio no tuvo un efecto significativo sobre los valores de los parámetros mecánicos considerados. Esto ha sido también observado para el módulo de elasticidad de manzanas de la misma variedad en otros trabajos (Martínez-Monzó, 1998; Fito *et al.*, 2000). En este estudio se refleja el distinto comportamiento mecánico de la manzana impregnada respecto a la no tratada, pero en lo referente al comportamiento de la relajación del estrés. Las muestras impregnadas presentan velocidades de relajación más rápidas y niveles de relajación superiores que las no impregnadas lo cual se asocia con la sustitución de gas por líquido en los espacios intercelulares y la diferente compresibilidad de estos fluidos. No obstante, la rápida deformación efectuada en los ensayos mecánicos de punción no permite observar estas diferencias de comportamiento en las muestras estudiadas.

Los tratamientos osmóticos provocaron un descenso en los valores de la pendiente inicial, de la fuerza de fractura y del área bajo la curva así como un aumento de la deformación de fractura. Un ANOVA multifactorial considerando los efectos del pulso de vacío, el nivel de deshidratación y la presencia de calcio muestra que los valores de la fuerza de fractura, de la pendiente y del área fueron significativamente menores para los tratamientos con pulso, en comparación con los realizados a presión atmosférica, mientras que éste no afectó a los valores de la deformación. El efecto del pulso en los valores de la pendiente fue más acusado en las muestras con 20 °Brix. A mayor nivel de concentración, los valores de la fuerza, la pendiente y el área también disminuyeron significativamente, sin cambios en los niveles de deformación de fractura. La concentración de calcio tuvo también un efecto significativo sobre los valores de fuerza y pendiente, observándose valores superiores de la fuerza de fractura y de la pendiente para los tratamientos con 1 % de calcio. Esto refleja que los efectos mencionados de los tratamientos osmóticos se hacen más marcados a medida que aumenta el nivel de deshidratación lo cual se asocia con la cada vez mayor pérdida de

turgor celular, así como la mayor afectación de las zonas de unión celular a través de la lámina media. El pulso de vacío acentúa también los cambios en el comportamiento mecánico probablemente debido a los daños mecánicos provocados por la impregnación y deformación de las muestras por los cambios de presión. La disolución impregnada en los espacios intercelulares puede tener un efecto "solvente" sobre el material péctico de la lámina media, tal como ha sido apuntado en otros estudios en frutas impregnadas con disolución osmótica (Chiralt & Talens, 2005). Los tratamientos osmóticos hacen que las muestras fracturen a deformaciones mayores, con menor requerimiento de fuerza, mostrando un carácter más gomoso, independientemente del tipo de tratamiento.

El almacenamiento no supuso un descenso de los parámetros mecánicos relacionados con la carga, ni un aumento de la deformabilidad en las muestras no tratadas, ni en las impregnadas con disoluciones isotónicas, como cabría esperar desde la posible degradación del tejido y la evolución hacia la senescencia. Por el contrario, se observaron valores superiores de los parámetros asociados con la carga y menores de la deformabilidad, indicando una mejora de la respuesta mecánica del tejido. No obstante, este comportamiento difícil de explicar podría deberse a problemas de variabilidad de las muestras.

El almacenamiento supuso cambios en los parámetros mecánicos de las muestras deshidratadas, en función del tipo de tratamiento. En general, se observó un descenso de los valores de la pendiente y del área de la curva y un aumento de la deformabilidad durante el almacenamiento, aunque no fueron significativos los cambios en la fuerza de fractura. Los descensos del área fueron significativos sólo en las muestras tratadas a presión atmosférica, donde también aumentó más notablemente la deformabilidad. Por otro lado, el descenso de la pendiente fue superior en las muestras con 20 °Brix. Estos resultados reflejan la progresiva alteración del tejido de las muestras deshidratadas durante el almacenamiento, aunque de la evolución de los parámetros mecánicos, parece deducirse que los tratamientos con pulso de vacío confieren mayor estabilidad textural a las muestras, probablemente al inhibir en mayor medida el colapso celular por la presencia de líquido en los espacios intercelulares. Las muestras más deshidratadas

(30°Brix) también presentaron mayor estabilidad de algunos parámetros mecánicos (pendiente inicial) probablemente por la menor evolución de las capas de células más externas y más deshidratadas que son las mayormente responsables de la respuesta mecánica a deformaciones bajas (pendiente inicial).

En conclusión, el calcio a la concentración del 2 % no representa mejoras en la respuesta mecánica de las láminas de manzana, ni en los tratamientos de impregnación ni en los de deshidratación, ni en la evolución durante el almacenamiento, aunque parece influir positivamente a la concentración más baja del 1%. Por otro lado, el pulso de vacío ejerce un efecto negativo en el tratamiento, pero mejora la estabilidad de la respuesta mecánica (las muestras mantienen la misma deformabilidad y cohesión) durante el almacenamiento. En relación al efecto del calcio, algunos autores (Anino *et al.*, 2006) han observado incluso descensos en el módulo de deformabilidad de manzanas por incorporación de calcio tanto a presión atmosférica como con pulso de vacío. Las observaciones del tejido por TEM reflejan un alto grado de interacción del calcio con la pared celular (aumenta el nivel de tinción), pero también se observa en estos casos un alto grado de plasmólisis o ruptura de membranas lo que justifica el descenso en el módulo mecánico. Estos efectos podrían darse también en las muestras tratadas con calcio al nivel más alto del presente trabajo; por un lado se dan interacciones del ión con la pared, pero con efectos celulares adversos que contrarrestan el reforzamiento de la matriz estructural.

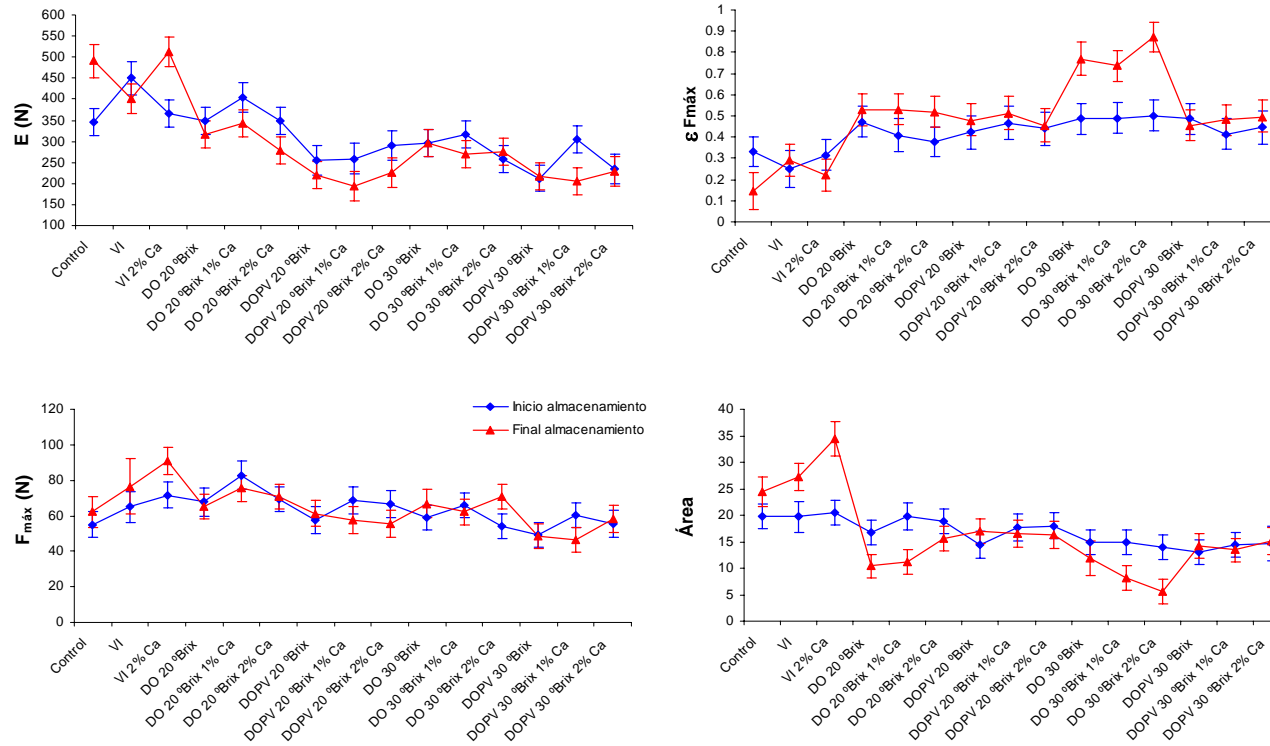


Figura IV.25. Valores medios (con intervalos LSD al 95%) de los parámetros mecánicos analizados: Pendiente del tramo inicial (E), fuerza de fractura ($F_{máx}$), deformación de fractura ($\epsilon F_{máx}$) y área para las muestras frescas y tratadas y a tiempo 0 y 6 días de almacenamiento.

3.3. Estudio de la vida útil de las muestras de manzana osmodeshidratadas con y sin calcio.

La vida útil de frutas y hortalizas mínimamente procesadas debería ser suficientemente larga para hacer factible su distribución en el mercado (Huxsoll & Bolin, 1989). Estos productos son un buen medio de crecimiento de microorganismos y representan un riesgo potencial para la salud. El crecimiento microbiano se ve afectado por propiedades intrínsecas como a_w , pH, presencia de antimicrobianos, nutrientes, presencia de O_2 , potencial redox y composición del producto, pero también de otros factores extrínsecos como la composición del espacio de cabeza, la temperatura de almacenamiento y la humedad relativa (King & Bolin, 1989; Ronk *et al.*, 1989; Ahvenainen, 1996).

La manzana y otros frutos de pepita, tienen altos contenidos en ácidos orgánicos que son responsables de los bajos valores de pH, y es por ello que normalmente la microflora está restringida a hongos y bacterias acidolácticas. La presencia de patógenos como Salmonella y Shigella en rodajas de manzana, papaya, sandía y melón está limitada por las temperaturas de refrigeración (Fernández-Escartín *et al.*, 1989; Golden *et al.*, 1993; Leverentz *et al.*, 2001).

Existen diferentes alternativas para prolongar la vida útil de las frutas frescas cortadas, como el envasado en atmósferas modificadas con determinadas condiciones (Soliva-Fortuny *et al.*, 2004). Luna-Guzmán & Barret, 2000 y Saftner *et al.*, 2003 presentan los efectos antimicrobianos de tratamientos con calcio en melón fresco cortado. Se ha observado en trabajos previos que el calcio aumenta la resistencia al ataque bacteriano y fúngico debido a la estabilización o fortalecimiento de la pared celular (Conway & Sams, 1984; Bolin & Huxoll, 1989).

Para determinar la vida útil de las rodajas de manzana mínimamente procesadas por deshidratación osmótica, se realizó un seguimiento del crecimiento microbiano. La legislación referente al número máximo de microorganismos permitidos en frutas y hortalizas viene registrada en el BOE 12-1-2001 (R.D. 3484/2000), que especifica que las comidas preparadas a base de vegetales crudos no superarán 1×10^5 y 1×10^6 CFU/g el día de la

fabricación y 1×10^6 - 1×10^7 CFU/g en la fecha de caducidad. Sin embargo, este reglamento aunque concreta los límites para mesófilos aerobios, no los da para mohos y levaduras. Por otra parte, Pascual *et al.*, 2000, consideran que para frutas se puede aplicar el mismo criterio microbiológico que para hortalizas y verduras, remitiendo como valor orientativo al criterio establecido para cereales. Según el Real Decreto 1094/1987 de 26 de Junio (B.O.E. 8-9-87) se especifica la Norma Microbiológica para cereales en copos con un máximo de 1×10^{-4} col/g y 1×10^{-2} col/g para aerobios mesófilos ($31 \pm 1^\circ\text{C}$) y mohos respectivamente. Asimismo, estos valores coinciden con los establecidos en la Orden del 5 de Agosto de 1983 (BOE 13-8-83) por la que se aprueba la Norma de Calidad para la miel destinada al mercado interior. En este sentido, por la mayor proximidad de composición de la miel a nuestro producto y teniendo en cuenta todas las consideraciones descritas, se adoptaron los límites citados anteriormente, como medida de seguridad.

Las figuras IV.26 a y b muestran el recuento de microorganismos aerobios mesófilos y de mohos y levaduras obtenido en la manzana fresca (control) y en la deshidratada con pulso de vacío y a presión atmosférica hasta 20 °Brix con y sin calcio.

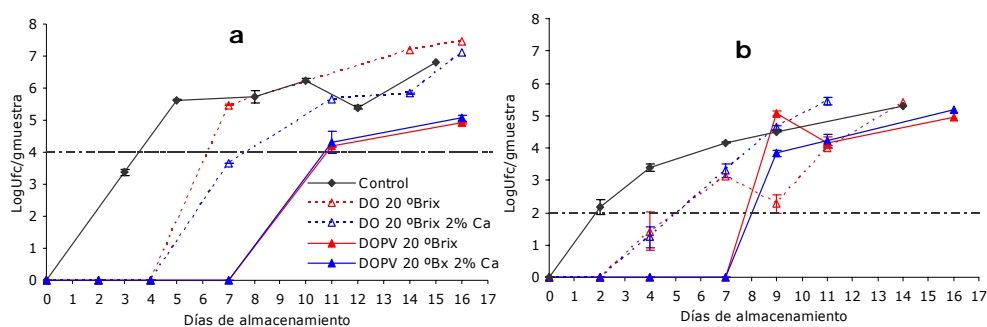


Figura IV.26. Crecimiento microbiano en manzana fresca y deshidratada a presión atmosférica (DO) y con pulso de vacío (DOPV) hasta 20 °Brix, con 2% de calcio y sin calcio, almacenados a 10 °C. a) Aerobios mesófilos. b) Mohos y levaduras.

Todos los tratamientos de deshidratación estudiados mejoraron la vida útil de las rodajas de manzana en relación a la no tratada, dando un margen de 6-7 días para su vida útil. Resalta la reducción en el crecimiento

microbiano de las muestras deshidratadas con pulso de vacío en comparación con las muestras deshidratadas a presión atmosférica, tal como se ha observado en papaya deshidratada (Ceballos, 2007). No obstante, estudios realizados en mango deshidratado osmóticamente revelan que las muestras deshidratadas también presentan una mayor vida útil, pero sin efecto de la aplicación de un pulso de vacío al inicio del proceso (Torres, 2007). El calcio sólo parece prologar la vida útil desde el punto de vista microbiológico de las muestras DO, concretamente reduciendo la carga de aerobios mesófilos, sin efecto sobre la carga de mohos y levaduras. Sin embargo, estudios llevados a cabo por otros autores, indican que cilindros de melón *var. cantaloupe*, sumergidos en disoluciones con 2.5 % de cloruro de calcio (p/p) presentaron valores más bajos en los recuentos de aerobios mesófilos y mohos y levaduras en comparación con muestras bañadas únicamente en agua (Luna-Guzmán *et al.*, 2000). En el caso de las frutas deshidratadas en combinación con la aplicación de calcio se han observado diversas pautas de comportamiento. En la pera, en el pomelo y en el mango mínimamente procesados (Pérez, 2003; Moraga *et al.*, 2004; Torres, 2007) sí que se ha observado un aumento en la vida útil microbiológica en las muestras tratadas con de calcio. Sin embargo, en papaya deshidratada osmóticamente (Ceballos, 2006), no se ha observado ningún efecto por la adición del calcio en la disolución osmótica. Los efectos antimicrobianos del calcio pueden ser atribuidos a la acción de este ión en las células microbianas, ya que éste puede generar efectos pronunciados en la fuerza impulsora protónica, en la modificación del contenido de ATP intracelular y en la actividad global de las células microbianas, incluyendo cambios en el control de la presión de turgencia, en la regulación del transporte de solutos y en la regulación metabólica del microorganismo (Poolman *et al.*, 1987). La diferente acción del calcio en una frutas y otras podría estar relacionada con la fuerza con que el ión está unido al tejido vegetal y por tanto su disponibilidad para las células microbianas.

Considerando lo descrito anteriormente, las muestras frescas superarían los límites para aerobios mesófilos entre 3 y 4 días de almacenamiento, las muestras DO 20°Brix 2% Ca entre 7 y 8 días, las DO 20°Brix sin calcio a los 6 días y tanto las DOPV 20°Brix 2% Ca y DOPV

20°Brix sin calcio a los 11 días. El mismo orden se sigue en el caso de los recuentos de mohos y levaduras, aunque en este caso no se observan diferencias relativas al contenido en calcio en ningún caso. Los límites de mohos y levaduras se superan en las muestras frescas a los 2 días, en muestras DO 20 °Brix a los 5 días y en muestras DOPV a los 8 días.

Los tratamientos osmóticos con pulso de vacío serían, pues, los más recomendables desde el punto de vista microbiológico ya que son lo que más prolongan la vida útil de las rodajas de manzana. En las frutas y vegetales los espacios intercelulares juegan un papel muy importante en la penetración de los microorganismos (Alzamora *et al.*, 2005). En el caso de la manzana las células maduras del tejido parenquimático pueden tener un diámetro de 50-500 μm con espacios intercelulares del orden de 210-350 μm (Lapsley *et al.*, 1992). Las dimensiones de los microorganismos son de 0.1 a 5 μm en las bacterias, de 5 a 30 μm en las levaduras, entre 3 y 9 μm las esporas de los mohos (Alzamora *et al.*, 2000). Los poros del tejido pueden por tanto constituir un espacio para el crecimiento de los microorganismos, especialmente en la manzana donde tienen un tamaño muy grande. El efecto antimicrobiano del pulso de vacío podría atribuirse a la limitación de la posible penetración de microorganismos a través de los espacios celulares al estar éstos llenos de disolución osmótica concentrada.

V. CONCLUSIONES

1. CONCLUSIONES DE LOS ESTUDIOS EN FRESA

- El estudio cinético revela que la deshidratación osmótica de fresa es más rápida por la aplicación de un pulso de vacío al inicio del proceso, ya que la difusividad efectiva se potencia por el llenado de los poros del tejido con disolución osmótica. Sin embargo, en comparación con otras frutas, la fresa presenta valores muy bajos de D_e debido al denso empaquetamiento celular, lo que limita la difusión en los espacios intercelulares y los mecanismos hidrodinámicos. La adición de calcio en la disolución osmótica ralentiza la deshidratación osmótica lo que podría atribuirse al refuerzo de paredes y membranas celulares que disminuye su permeabilidad al agua así como al efecto sobre el transporte activo a través de la membrana plasmática.
- La impregnación a vacío isotónica no supone ventajas en términos de reducción de la tasa respiratoria ya que no se limita el consumo de O_2 y, por contra, se acelera la producción de CO_2 promovándose el desarrollo de fermentación etílica. El efecto de la temperatura sobre la tasa respiratoria de fresa cortada fresca o impregnada con una disolución de glucosa isotónica se ajusta a un modelo sigmoide (Gompertz modificado). Temperaturas por encima de 5 °C son menos adecuadas para limitar la tasa respiratoria de la fresa cortada o impregnada.
- Los tratamientos osmóticos implican cambios en la pauta respiratoria de la fresa: disminuye el consumo de oxígeno y se mantiene o aumenta la producción de CO_2 , con lo que aumenta el coeficiente respiratorio y la activación de rutas anaerobias para la obtención de energía. Durante el almacenamiento, las muestras deshidratadas presentan una caída más rápida en las tasas de respiración que las muestras no tratadas lo que indica una evolución más rápida hacia la senescencia. Esto se potencia a mayor nivel de deshidratación. La aplicación de pulso vacío implica sobre todo una mayor reducción del consumo de oxígeno. La presencia de calcio disminuye tanto el consumo de O_2 como la producción de CO_2 , lo que pone de manifiesto la interferencia de este ión en la regulación respiratoria de esta fruta. Las

muestras más estables, en términos de coeficiente respiratorio y ralentización de la respiración, serían las deshidratadas hasta 15 °Brix a presión atmosférica con calcio.

- La adición de sorbato potásico a la disolución osmótica, como alternativa para prevenir el crecimiento microbiano, inhibe tanto las rutas aerobias como anaerobias. Sin embargo, su uso a las concentraciones estudiadas, no sería indicado para el tratamiento osmótico de fresa por la decoloración que le provoca a esta fruta.
- La pérdida de masa (fase líquida) durante el almacenamiento es más acusada en las muestras osmodeshidratadas que en las muestras frescas e IV como consecuencia de la pérdida de turgor de las células que implica una estructura más sensible al colapso y a la expulsión del líquido interno. Es destacable la menor pérdida de líquido en las muestras con calcio lo indica la contribución de este catión al reforzamiento de la estructura celular.
- El análisis mecánico revela que la impregnación a vacío isotónica tiene una escasa influencia en los parámetros mecánicos de fresa, pero los tratamientos osmóticos provocan una gran disminución de la firmeza y cohesión de las muestras de fresa, tanto mayor cuanto mayor es el nivel de deshidratación. No obstante, después del almacenamiento las muestras con diferentes niveles de deshidratación son más similares, por la mayor evolución de las muestras menos deshidratadas, evidenciándose efectos beneficiosos de la aplicación del pulso de vacío y de calcio en el mantenimiento de la textura de las muestras deshidratadas.
- Los tratamientos de impregnación y deshidratación modifican el color de la superficie externa (epidermis) e interna (corte) de las muestras, tanto más cuanto mayor es la porosidad del tejido (zona interna) y los cambios provocados en la misma por el tratamiento (impregnación). Se observa una disminución en la luminosidad y el croma, aunque los cambios de tono sólo son relevantes en la superficie interna. No parecen detectarse alteraciones de los pigmentos de la fresa, siendo los cambios observados atribuibles a las

modificaciones estructurales. Esto mismo puede decirse respecto a los cambios de las coordenadas de color durante el almacenamiento, que son de menor magnitud que los debidos al tratamiento, especialmente cuando éste es con pulso de vacío.

2. CONCLUSIONES DE LOS ESTUDIOS EN MANZANA

- Con el modelo cinético utilizado, se han obtenido los tiempos necesarios para alcanzar los niveles de deshidratación establecidos en estudio de manzana. Como en la mayor parte de las frutas, la aplicación de un pulso de vacío acelera la cinética de los tratamientos osmóticos. La mejora en el rendimiento del proceso por el tratamiento DOPV es más intensa que en otras frutas por su elevada porosidad.
- El efecto de la temperatura en la tasa respiración de rodajas de manzana frescas y deshidratadas se ajustó al modelo de Arrhenius. Las muestras deshidratadas presentaron una tasa de respiración menor que las frescas, siendo el porcentaje medio de reducción aproximadamente de un 40%. La temperatura afecta más a la generación de CO₂ (valores más elevados de la energía de activación) que al consumo de O₂.
- La limitación del O₂ en el espacio de cabeza provoca una ralentización de la respiración, llegando a anularla por debajo de un nivel de presión de oxígeno. Este nivel es superior para la deshidratada (12 %) que para la no tratada (4 %) lo que indica los diferentes requerimientos de envasado de ambas muestras.
- Durante el almacenamiento, la pérdida de fase líquida en las muestras osmodeshidratadas es mayor que en las muestras frescas e impregnadas isotónicamente, debido a la pérdida de turgor en su estructura y al colapso celular. El efecto se potencia al aumentar el nivel de deshidratación. El pulso

de vacío aumenta la capacidad de retención de líquido, con escaso efecto del calcio.

- Los tratamientos osmóticos reducen la tasa respiratoria de O₂, especialmente en las muestras DOPV 30°Brix, mientras que la producción de CO₂ aumenta únicamente en las muestras deshidratadas hasta 30°Brix. Se observa una tendencia a la reducción de la TR por la adición de lactato cálcico. Durante el almacenamiento todas las muestras tratadas reducen el consumo de O₂ respecto al control, tanto más cuanto mayor es el nivel de deshidratación y especialmente en las deshidratadas con pulso de vacío. En términos de CO₂ se observan los mismos efectos, pero menos marcados.
- Los tratamientos osmóticos provocan una pérdida de firmeza y cohesión del tejido de manzana, tanto más acusados cuanto mayor es el nivel de deshidratación. El calcio a la concentración del 2 % no representa mejoras en la respuesta mecánica de las láminas de manzana, ni en los tratamientos de impregnación ni en los de deshidratación, ni en la evolución durante el almacenamiento, aunque parece influir positivamente a la concentración del 1%. Por otro lado, el pulso de vacío ejerce un efecto negativo en el tratamiento, pero mejora la estabilidad de la respuesta mecánica (las muestras mantienen la misma deformabilidad y cohesión) durante el almacenamiento.

CONCLUSIÓN GENERAL

- En resumen, los tratamientos osmóticos permiten obtener fresa y manzana mínimamente procesadas por deshidratación osmótica, con mayor estabilidad microbiológica y menores tasas respiratorias que la fruta cortada. No obstante, el estrés osmótico provoca alteraciones fisiológicas (desarrollo de rutas respiratorias anaerobias) y cambios estructurales que afectan a las características de calidad (color y textura, pérdidas de líquido durante el almacenamiento) dependiendo de las condiciones de operación del tratamiento. Para minimizar el nivel de cambios es importante ajustar el nivel de deshidratación. La aplicación de pulso de vacío no resultó muy beneficiosa por la potenciación de las rutas anaerobias y los cambios de color, aunque parece inhibir la pérdida de textura durante el almacenamiento. La incorporación de calcio provoca la ralentización de la respiración y puede favorecer o no la textura dependiendo de la concentración.

VI. BIBLIOGRAFÍA

- ABE, K.; WATADA, A.E. (1991). Ethylene absorbent to maintain quality of lightly processed fruits and vegetables. *Journal of Food Science*, 56(6), 1589-1592.
- AGUILERA, J.M.; CHIRALT, A.; FITO, P. (2003). Food dehydration and product structure. *Trends in Food Science and Technology*, 14, 432-437.
- AGUSTÍ, M. (2004). *Fruticultura*. Cap. 12: Frutales de pepita. Pág. 247-272. Ediciones Mundi-Prensa.
- AHVENAINEN, R. (1996). New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruits and vegetables. *Trends in Food Science and Technology*, 7(6), 179-187.
- ALBORS, A.; SALVATORI, D.; ANDRÉS, A.; CHIRALT, A.; FITO, P. (1998). Influence of the osmotic solution concentration on the structural and compositional profiles in dehydrated apple tissue. En: *Drying '98*. Ed. C.B. Akritidis; D. Marinos-Kouris y G.D. Saravacos. Ziti Editions, Thessloniki. Vol. A: 877-885.
- ALONSO, J.; RODRÍGUEZ, T.; CANET, W. (1995). Effect of calcium pre-treatments on the texture of frozen cherries. Role of pectinesterase in the changes in the pectic materials. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 43(4): 1011-1016.
- ALONSO, J.; ALIQUE, R., (2004). Influence of edible coating on shelf life and quality of 'Picota' sweet cherries. *European Food Research and Technology*, 218, 535-539.
- ALLENDE, A.; ARTÉS, F., (2003a). Combined ultraviolet-C and modified atmosphere packaging treatments for reducing microbial growth of minimally processed lettuce. *Lewensmittel Food Science and Technology*, 36, 779-786.
- ALLENDE, A.; ARTÉS, F., (2003b). UV radiation as a novel technique to preserve quality of minimally processed 'Lollo Rosso' lettuce. *Food Research International*, 36, 739-746.
- ALCENTRAL, (2006). "Frutilla", [en línea]. Dirección URL: http://www.alcentral.com.ar/fh_frutilla.html. [Consulta: 16 de enero de 2006].
- ALZAMORA, S.M.; TAPIA, M.S.; LEÚNDA, A.; GUERRERO, S.N.; ROJAS, A.M.; GERCHENSON, L.N.; PARADA-ARIAS, E. (2000). Relevant results on minimal preservation of fruits in the context of the multinacional Project XI.3 of CYTED, an Ibero-American R&D cooperative program. In J. Lozano, M.C. Añón, & G. Barbosa Cánovas (Eds.), *Trends in Food Engineering*. Gathersburg, M.D.: Aspen Publishers.
- ALZAMORA, S.M.; SALVATORI, D.; TAPIA, M.S.; LÓPEZ-MALO, A.; WELTI-CHANES, J.; FITO, P. (2005). Novel functional foods from vegetable matrices impregnated with biologically active compounds. *Journal of Food Engineering*, 67, 205-214.
- AMANATIDOU, A.; SLUMP, R.A.; GORRIS, L.G.M.; SMID, E.J. (2000). High oxygen and high carbon dioxide modified atmospheres for shelf-life extension of minimally processed carrots. *Journal of Food Science*, 65(1), 61-66.
- ANDRICH, G.; FIORENTINI, R.; TUCI, A.; ZINNAI, A.; SOMMOVIGO, G. (1991). A tentative model to describe respiration of stored apples. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 116- 478-481.

- ANDRICH, G.; ZINNAI, A.; BALZINI, S.; SILVESTRI, S.; FIORENTINI, R. (1998). Aerobic respiration rate of golden delicious apples as a function of temperature and pO₂. *Postharvest Biology and Technology*, 14, 1-9.
- ANINO, S.V.; SALVATORI, D.M.; ALZAMORA, S. (2006). Changes in calcium level and mechanical properties of apple tissue due to impregnation with calcium salts. *Food Research International*, 39, 154-164.
- ANSORENA, D. (2003). *Frutas y Frutos Secos. Alimentos. Composición y Propiedades*. Editores: I. Astiasarán, J.A. Martínez. Ed. McGraw-Hill. Interamericana. Pág. 191-211. ISBN: 84-486-0305-2.
- AOAC (2000). *Official Methods of Analysis of AOAC International (17th edition)*. Gaithersburg, MD, USA.
- AQUINO-BOLAÑOS, E.N.; CANTWELL, M.I.; PEISER, G.; MERCADO-SILVA, E. (2000). Changes in the quality of fresh-cut jicama in relation to storage temperatures and controlled atmospheres. *Journal of Food Science*, 65(7), 1238-1243.
- ARTÉS, F.; ARTÉS, F. (2003). Etapas decisivas y diseño de instalación para la elaboración de productos en fresco. *Productos hortofrutícolas mínimamente procesados*. (Eds): M.G. Lobo, M. González. Instituto Canario de Investigaciones Agrarias. Pág. 57-71. ISBN: 84-606-3514-7.
- ARTÉS F.; CONESA, M.A.; HERNÁNDEZ, S.; GIL, M.I. (1999). Keeping quality of fresh-cut tomato. *Postharvest Biology and Technology*, 17(3), 153-162.
- AVENA-BUSTILLOS, R.J.; KROCHTA, J.M. (1993). Water vapor permeability of caseinate-based edible films as affected by pH, calcium crosslinking and lipid content. *Journal of Food Science*, 58, 904-907.
- AVENA-BUSTILLOS, R.J.; KROCHTA, J.M.; SALTVEIT, E. (1997). Water vapor resistente of red delicious apples and celery sticks coated with edible casinate-acetylated monoglyceride films. *Journal of Food Science*, 62, 351-354.
- AZCÓN-BIETO, J.; TALÓN, M. (2000). *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. Capítulo 14, pág. 217-233. Ed. MacGraw-Hill Interamerica y Ed. Universitat de Barcelona.
- BAI, J.H.; SAFTNER, R.A.; WATADA, A.E.; LEE, Y.S. (2001). Modified atmosphere maintains quality of fresh-cut cantaloupe (*Cucumis melo* L.). *Journal of Food Science*, 66(8), 1207-1211.
- BAI, J.; VICTORINE, A.; HAGENMAIER, R.D.; MATTHEIS, J.P.; BALDWIN, E.A. (2003). Formulation of zein coatings for apples (*Malus domestica* Borkh). *Postharvest Biology and Technology*, 28, 259-268.
- BAKER, R.A. (1993). Firmness of Cannes grapefruit sections improved with calcium lactate. *Journal of Food Science*, 58, 1107-1110.
- BALANDRÁN-QUINTANTA, R.R.; MENDOZA-WILSON, A.M; ALVAREZ-MANILLA, G.; BERGMANN, C.W.; VARGAS-ARISPURO, I.; MARTÍNEZ-TÉLLEZ, M.A. (2002). Effect of pectic oligomers on physiological responses of chilling injury in disc excised from Zucchini (*Cucurbita pepo* L.). *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 290, 577-584.

- BALDWIN, E.A.; NISPEROS-CARRIEDO, M.O.; BAKER, R.A. (1995). Edible coatings for lightly processed fruits and vegetables. *HortScience*, 30(1), 35-38.
- BANKS, N.H.; DADZIE, B.K.; CLELAND, D.J. (1993). Reducing gas exchange of fruits with surface coatings. *Postharvest Biology and Technology*, 3, 269-284.
- BARAT, J.M. (1998). Desarrollo de un modelo de la deshidratación osmótica como operación básica. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. España.
- BARAT, J.M.; CHIRALT, A.; FITO, P. (1998). Equilibrium in cellular food osmotic solution systems as related to structure. *Journal of Food Science*, 63, 836-840.
- BARAT, J.M.; FITO, P.; CHIRALT, A. (2001a). Modelling of simultaneous mass transfer and structural changes in fruit tissues. *Journal of Food Engineering*, 49, 77-85.
- BARAT, J.M.; CHIRALT, A.; FITO, P. (2001b). Effect of osmotic solution concentration, temperature and vacuum impregnation pre-treatment on osmotic dehydration kinetics of apple slices. *Food Service and Technology International*, 7, 451-456.
- BARCELÓ, J.; NICOLÁS, G.; SABATER, B.; SÁNCHEZ, R. (2001). *Fisiología Vegetal*. Capítulo 20, pág. 275-292. Ed. Pirámide.
- BARRERA, C.; BETORET, N.; FITO, P. (2004). Ca^{2+} and Fe^{2+} influence on the osmotic dehydration kinetics of apple slices. *Journal of Food Engineering*, 65, 9-14.
- BAUTISTA-BAÑOS, S.; HERNÁNDEZ-LAUZARDO, A.N.; VELÁSQUEZ-DEL VALLE, M.G.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, M.; AIT BARKA, E.; BOSQUEZ-MOLINA, E. WILSON, C.L. (2006). Chitosan as a potencial natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop Protection*, 25, 108-118.
- BEAUDRY, R.M. (1993). Effect of carbon dioxide partial pressure on blueberry fruit respiration and respiratory quotient. *Postharvest Biology and Technology*, 3, 249-258.
- BEAUDRY, R.M. (2000). Response of horticultural commodities to low oxygen: Limits to the expanded use of MAP. *Hort Technology*, 10, 491-500.
- BEAULIEU, M.; LACROIX, M.; CHARBONNEAU, R.; LABERGE, I.; GAGNON, M. (1992). Effects of gamma irradiation dose rate on microbiological and physical quality of mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Sci. Aliments*, 12-289-303.
- BEAULIEU, M.; D'APRANO, G.; LACROIX, M. (1999). Dose rate effect of gamma irradiation on phenolic compounds polyphenol oxidase, and browning of mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 2537-2543.
- BENOÎT, M.A.; D'APRANO, G.; LACROIX, M. (2000). Effect of γ -Irradiation on Phenylalanine ammonia-lyase activity, total phenolic content, and respiration of mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 6312-6316.
- BETORET, N.; PUENTE, L.; DIAZ, M.J.; PAGÁN, M.J.; GARCÍA, M.J.; GRAS, M.L.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; FITO, P. (2003). Development of probiotic-enriched dried fruits by vacuum impregnation. *Journal of Food Engineering* 56, 273-277.
- BOLIN, H.R.; HUXOLL, C.C. (1989). Storage stability of minimally processed fruit. *Journal of Food Processing Preservation*, 13, 281-292.

BOWER, J.H.; JOBLING, J.J.; PATTERSON, B.D.; RYAN, D.J. (1998). A method for measuring the respiration rate and respiratory quotient of detached plant tissues. *Postharvest Biology and Technology*, 13, 263-270.

BRAZANTI, E.C. (1989). *La fresa*. Ediciones Mundi-Prensa, España.

BRECHT, P.E. (1995a). Physiology of lightly processed fruits and vegetables. *HortScience*, 30(1), 18-22.

BRECHT, P.E. (1995b). Use of controlled atmospheres to retard deterioration of fresh produce. *Food Technology*, 34(3), 45.

BURTON, W.G. (1978). Biochemical and physiological effects of modified atmospheres and their role in quality maintenance. In: Hultin, H.O., Milner, M. (Eds.), *Postharvest Biology and Biotechnology*. Food and Nutrition Press, Westport, CT, pp. 97-110.

CABRA, C. (2005). La batalla por las variedades. *Fruit Today*, *Euromagazine*, Pág. 21-22. Marzo, 2005.

CALEGARIO, F.F.; COSSO, R.G.; ALMEIDA, F.V.; VERCESI, A.E.; JARDIM, W.F. (2001). Determination of the respiration rate of tomato fruit using flow analysis. *Postharvest Biology and Technology*, 22, 24-256.

CAMERON, A.C.; BEAUDRY, R.M.; BANKS, N.H.; YELANICH, M.V. (1994). Modified atmosphere packaging of blueberry fruit: modeling respiration and package oxygen partial pressures as a function of temperature. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119, 534-539

CAMERON, A.C.; BOYLAN-PETT, W.; LEE, J. (1989). Design of modified atmosphere packaging systems: modeling oxygen concentrations within sealed packages of tomato fruits. *Journal of Food Science*, 54, 1413-1416, 1421.

CAMERON, A.C.; TALASILA, P.C.; JOLLES, D.W. (1995). Predicting film permeability needs for modified atmosphere packaging of lightly processed fruits and vegetables. *HortScience*, 30(1), 25-34.

CANO, M.P.; PLAZA, L.; ANCOS, B. (2003). Factores que intervienen en la pérdida de calidad organoléptica y nutricional de productos de IV gama. *Productos Hortofrutícolas Mínimamente Procesados*. (Eds.) M.G. Lobo; M. González. Gobierno de Canarias. Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación. Instituto Canario de Investigaciones Agrarias. Pág. 137-153. ISBN: 84-606-3514-7.

CANO, J. (2005). La batalla por las variedades. *Fruit Today* *Euromagazine*. Marzo, 2005, 21-22.

CANTWELL, M. (1992). Postharvest handling systems: Minimally processed fruits and vegetables. In: Kader A.A., editor. *Postharvest technology of horticultural crops*. 2nd ed. Oakland, Calif: Univ. Of California, Division of Agriculture and Natural Resources. Publ. 3311. pp. 277-281.

CASTELLÓ, M.L.; ESMATJES, V.; FITO, P.J.; CHIRALT, A. (2004). Efecto de la impregnación y la deshidratación con y sin calcio en la respiración de fresas durante el almacenamiento. III Congreso Español de Ingeniería de Alimentos. Pamplona. Pág. 723-732. CD-Rom. ISBN: 84-688-7989-4.

CASTELLÓ, M.L.; IGUAL, M.; FITO, P.J.; CHIRALT, A. (2005). Efecto de los Tratamientos Osmóticos con Calcio en la Estabilidad de Rodajas de Manzana Almacenadas. CD-Rom V Congreso Iberoamericano de Ingeniería De Alimentos (CIBIA V) (Puerto Vallarta). Septiembre, 2005.

CASTELLÓ, M.L.; FITO, P.J.; CHIRALT, A. (2006). Effect of osmotic dehydration and vacuum impregnation on respiration rate of cut strawberries. *Lewensmittel Food Science and Technology*, 39(10), 1171-1179.

CEBALLOS, G.; TALENS, P.; CHIRALT, A. (2004). Influencia de los tratamientos osmóticos en la tasa respiración de papaya mínimamente procesada. III Congreso Español de Ingeniería de Alimentos. Pamplona. Pág. 810-818. CD-Rom. ISBN: 84-688-7989-4.

CEBALLOS, G. (2006). Estudios en papaya mínimamente procesada por deshidratación osmótica. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.

CÔME, D.; CORBINEAU, F. (2002a). Bases de la fisiología postcosecha de las hortalizas. Tirilly, Y., Bourgeois, C.M. Tecnología de las hortalizas. Ed. Acribia. Zaragoza, pág. 215-231.

CÔME, D.; CORBINEAU, F. (2002b). Clasificación y principales características fisiológicas de las hortalizas. Tirilly Y. Bourgeois, C.M. Tecnología de las hortalizas. Ed. Acribia. Zaragoza, pág. 3-14.

CONSUMER (2006). Frutas. Manzana, [en línea]. Dirección URL: <<http://frutas.consumer.es/documentos/frescas/manzana/intro.php>>. [Consulta: 17 de enero 2006].

CONWAY, W.S.; SAMS, C.F. (1984). Possible mechanisms by which postharvest calcium treatment reduces decay in apples. *Phytopathology*, 74, 208-210.

CORBO, M.R.; ALTIERI, C.; D'AMATO, D.; CAMPANIELLO, D.; DEL NOBILE, M.A.; SINIGAGLIA, M. (2004). Effect of temperature on shelf life and microbial population of lightly processed cactus pear fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 31, 93-104.

CHA, D.S.; CHINNAN, M. (2004). Biopolymer-based antimicrobial packaging: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 44, 223-237.

CHÁFER, M.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; ORTOLÁ, M.; CHIRALT, A.; FITO, P. (2001). Kinetics of osmotic dehydration in orange and mandarin peels. *Journal of Food Process Engineering* 24, 273-289.

CHIRALT, A.; FITO, P.; ANDRÉS, A.; BARAT, J.M.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; MARTÍNEZ-NAVARETE, N. (1999). Vacuum impregnation: A tool in minimally processing foods. En: *Processing of Foods: Quality Optimization and Process Assesment*. Eds: F.A.R. Oliveira y J.C. Oliveira. CRC Press, Boca Ratón. 341-356.

CHIRALT, A.; MARTÍNEZ NAVARETE, N.; MARTINEZ-MONZÓ, J.; TALENS, P.; MORAGA, G.; AYALA, A.; FITO, P. (2001). Changes in mechanical properties throughout osmotic processes. Cryoprotectant effect. *Journal of Food Engineering*, 49, 129-135.

CHIRALT, A. (2002). Cambios en las propiedades ópticas durante el procesado de vegetales. Actas del 2º Congreso Español de Ingeniería de Alimentos. Cd-rom. ISBN: 84-8409-162-7.

CHIRALT, A.; FITO, P. (2003). Transport mechanisms in osmotic dehydration: The role of the structure. *Food Science and Technology International*, 9(3), 179-186.

CHIRALT, A.; TALENS, P. (2005). Physical and chemical changes induced by osmotic dehydration in plant tissues. *Journal of Food Engineering*, 67, 167-177.

CHERVIN, C.; TRIANTAPHYLIDES, C.; LIBERT, M.F.; SIADOUS, R.; BOISSEAU, P. (1992). Reduction of wound-induced respiration and ethylene production in carrot root tissues by gamma irradiation. *Postharvest Biology and Technology*, 2, 7-17.

CONWAY, W.S.; SAMS, C.F. (1984). Possible mechanisms by which postharvest calcium treatment reduces decay in apples. *Phytopathology*, 74, 208-210.

CRANK, J. (1975). *The mathematics of diffusion*. Ed. Lorendon Press, Oxford, U.K.

DADZIE, B.K.; BANKS, N.H.; CLELAND, D.J.; HEWETT, E.W. (1996). Changes in respiration and ethylene production of apples in response to internal and external oxygen partial pressures. *Postharvest Biology and Technology*, 9, 297-309.

DAY, B.P.F. (2000). Modified atmosphere packaging (MAP) of fresh fruits and vegetables-an overview. En: 4th International Conference on Postharvest Science. Jerusalem, Israel.

DEL VALLE, J.M.; ARÁNGUIZ, V.; LEÓN, H. (1998). Effects of blanching and calcium infiltration on PPO activity, texture, microstructure and kinetics of osmotic dehydration of apple tissue. *Food Research International*, 31(8), 557-569.

DROBASZCZYK, J.; VINCENT, F.V. (1999). Measurement of mechanical properties of food materials in relation to texture. The material approach. En: *Food texture*: 99-151.

DU, J.; GEMMA, H.; IWAHORI, S. (1998). Effects of chitosan coating on the storability and on the ultrastructural changes of 'Jonagold' apple fruit in storage. *Food Preservation Science*, 24, 23-29.

EDWARDS, M. (1999). Vegetables and Fruit. In J. Rosenthal, *Food texture. Measurement and Perception*, pp. 259-277. Gaithersburg, Maryland: Aspen Publishers, Inc.

EL GHAOUTH, A.; ARUL, J.; PONNAMPALAM, R., (1991a). Use of chitosan coating to reduce water loss and maintain quality of cucumbers and bell pepper fruits. *Journal of Food Processing and Preservation*, 15, 359-368.

EL GHAOUTH, A.; PONNAMPALAM, R.; BOULET, M. (1991b). Chitosan coating effect on stability and quality of fresh strawberries. *Journal of Food Science*, 56, 1618-1621.

ERKAN, M.; WANG, C.Y.; KRIZEK, D.T. (2001). UV-C radiation reduces microbial populations and deterioration in Cucurbita pepo fruit tissue. *Environ. Exp. Bot.* 45, 1-9.

ESCRICHE, I.; ACOSTA, E.; SERRA, J.; CHIRALT, A.; FITO, P. (1999). Vida útil de papaya mínimamente procesada obtenida por deshidratación a vacío. *Alimentaria*, octubre, 105-109.

- EXAMA, A.; ARUL, J.; LENCKI, R.W.; LEE, L.Z.; TOUPIN, C. (1993). Suitability of Plastic Films for Modified Atmosphere Packaging of Fruits and Vegetables. *Journal of Food Science*, 58(6), 1365-1370.
- FAN, X.; MATTHEIS, J.P. (2001) 1-Methylcyclopropene and storage temperature Influence responses of 'Gala' apple fruit to gamma irradiation. *Postharvest Biology and Technology* 23, 143-151
- F.A.O. (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 (2005). Producción de cultivos primarios, [en línea]. Food and Agricultural Organization of the United Nations. Agricultural Bulletin Board on Data Collection, Dissemination and Quality of Statistics. Última actualización: 13 Dic. 2005. Dirección URL: <<http://faostat.fao.org/faostat/form?collection=Production.Crops.Primary&Domain=Production&servlet=1&hasbulk=&version=ext&language=ES>>. [Consulta: 17 de Enero 2006]
- FELLE, H. (1988). Cytoplasmatic free calcium in *Riccia fluitans* L. and *Zea mays* L.: interaction of Ca²⁺ and pH. *Planta*, 176, 248-255.
- FELLOWS, P.J. (1998). Food processing technology: principles and practice. Ed. Woodhead.
- FERGUSON, I.B. (1984). Calcium in plant senescence and fruit ripening. *Plant, cell and environment*, 7, 477-489.
- FERRANDO, M.; SPIESS, W.E.L. (2001). Cellular response of plant tissue during the osmotic treatment with sucrose, maltose, and trehalose solutions. *Journal of Food Engineering*, 49(2-3), 115-127.
- FERNÁNDEZ-ESCArtÍN, E.; CASTILLO-AYALA, A.; SALDANA-LOZANO, J. (1989). Survival and growth of *Salmonella* and *Shigella* on sliced fresh fruits. *Journal of Food Protection*, 52(7), 471-473.
- FITO, P.; ANDRÉS, A.; CHIRALT, A.; PARDO, P. (1996). Coupling of hydrodynamic mechanism and deformation-relaxation phenomena during vacuum treatments in solid porous food-liquid systems. *Journal of Food Engineering*, 27, 229-240.
- FITO, P.; PASTOR, R. (1994). Non-Diffusional mechanism occurring during vacuum osmotic dehydration. *Journal Food Science* 21, 513-519.
- FITO, P.; CHIRALT, A. (1997). Osmotic Dehydration. An approach to the modelling of solid food-liquid operations: application to osmotic dehydration. En: P. Fito, E. Ortega-Rodríguez y G. V. Barbosa-Cánovas (Ed.). *Food engineering (2000)* Chapman & Hall. New York. pp. 231-252.
- FITO, P.; CHIRALT, A. (2000). Vacuum impregnation of plant tissues. In: Alzamora, S.M., Tapia, M.S. & Lopez-Malo, A., (Eds.), *Design of minimal processing technologies for fruit and vegetables*, (Ed) Alzamora, S.M.; Tapia, M.S.; López-Malo, A. Aspen Publishers, Inc. Maryland. pp 189-205.
- FITO, P.; CHIRALT, A.; BARAT, J.M.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J. (2000). Vacuum impregnation in fruit processing. En: *Trenes in Food Engineering*. Ed. J.E. Lozano; M.C.

Añón; E. Parada-Ariasy G.V. Barbosa-Cánovas. Technomic Pub. Co., Inc., Lancaster: 149-163.

FITO, P.; CHIRALT, A.; BARAT, J.M.; ANDRÉS, A.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N. (2001). Vacuum impregnation for development of new dehydrated products. *Journal of Food Engineering*, 49, 297-302.

FLORES, J.D.; EKANAYAKE, A.; ABIDE, G.P.; NELSON, P.E. (1992). Optimization of diced tomato calcification process. *Journal of Food Science*, 57, 1144-1148.

FOLQUER, F. (1986). La frutilla o fresa: Estudio de la planta y su producción comercial. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires.

FONSECA, S.C.; OLIVEIRA, F.R.A.; LINO, I.B.M, BRECHT, J.K., CHAU, K.V. (2000). Modelling O₂ and CO₂ exchange for development of perforation-mediated modified atmosphere packaging. *Journal of Food Engineering*, 43, 9-15.

FONSECA, S.C.; OLIVEIRA, F.R.A.; 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.R.A.; FRÍAS, J.; BRECHT, J.K; CHAU, K.V. (2002b). Modelling respiration rate of shredded Galega kale for development of modified atmosphere packaging. *Journal of Food Engineering*, 54, 299-307.

FONSECA, S.C.; OLIVEIRA, F.R.A.; BRECHT, J.K.; CHAU, K.V. (2005). Influence of low oxygen and high carbon dioxide on shredded Galega kale quality for development of modified atmosphere packages. *Postharvest Biology and Technology*, 35, 279-292.

GARCÍA, J.M.; HERRERA, S.; MORILLA, A. (1996). Effects of postharvest dips in calcium chloride on strawberry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44, 30-33.

GARCÍA, M.A.; MARTINO, N.; ZARITZKY, N.E. (1998). Plasticized starch-based coatings to improve strawberry (*Fragaria x Ananassa*) quality and stability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 3758-3767.

GAUTAM, S.; SHARMA, A.; THOMAS, p. (1998). Gamma irradiation effect on shelf life, texture, polyphenol oxidase and microflora of mushroom (*Agaricus bisporus*). *International Journal of Food Science and Nutrition*, 49, 5-10.

GIL, M.I.; GORNY, J.R.; KADER, A.A. (1998). Responses of 'Fuji' apple slices to ascorbic acid treatments and low-oxygen atmospheres. *Hortscience*, 33, 305-309.

GIL, M.I.; TUDELA, J.A. (2003). Proceso de elaboración de hortalizas de la IV Gama: Ejemplo práctico. Productos hortofrutícolas mínimamente procesados. (Eds) M.G. Lobo, M. González. Instituto Canario de Investigaciones Agrarias. Pág. 95-109. ISBN: 84-606-3514-7.

GIRALDO, G.; TALENS, P.; FITO, P.; CHIRALT, A. (2003). Influence of sucrose solution concentration on kinetics and yield during osmotic dehydration of mango. *Journal of Food Engineering*, 58, 33-43.

GIROY, S.; READ, N.D.; TREWAVAS, A.J. (1990). Elevation of cytoplasmic calcium by caged calcium or caged inositol trisphosphate initiates stomatal closure. *Nature*, 346: 769-771.

- GONZÁLEZ, J.; VENTURINI, M.E.; ORIA, R. (2003). Proceso de elaboración de frutas de la IV gama: Ejemplo práctico. En: Productos hortofrutícolas mínimamente procesados. (Eds.) M.G. Lobo y M. González. Gobierno de Canarias. Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación. Instituto Canario de Investigaciones Agrarias. Pág. 79-94. ISBN: 84-606-3514-7.
- GOLDEN, D.A.; RHODEHAMEL, E.J.; KAUTTER, D.A. (1993). Growth of *Salmonella* spp. in cantaloupe, watermelon and honeydew melons. *Journal of Food Protection*, 56(3), 194-196.
- GOLDING, J.B.; SHEARER, D.; WYLLIE, S.G.; McGLASSON, W.B. (1999a). Application of 1-MCP and propylene to identify ethylene dependent ripening processes in mature banana fruit. *Postharvest Biotechnology*, 14, 87-98.
- GOLDING, J.B.; SHEARER, D.; McGLASSON, W.B.; WYLLIE, S.G. (1999b). Relationships between respiration, ethylene, and aroma production in ripening banana. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47, 1646-1651.
- GORNY, J.R.; CIFUENTES, R.A.; HESS-PIERCE, B.; KADER, A.A. (2000). Quality changes in fresh-cut pear slices as affected by cultivar, ripeness stage, fruit size, and storage regime. *Journal-of-Food-Science*, 65(3): 541-544.
- GORNY, J.R. 2001. A Summary of CA and MA Recommendations for Fresh-cut selected fresh cut fruits and vegetables. En: Proceedings 8th Int Controlled Atmosphere Research Conference. Oosterhaven, J. & Peppenlenbos, H.W. (Eds.). The Netherlands.
- GRAN, C.D.; BEAUDRY, R.M. (1992). Determination of the low oxygen limit for several commercial apple cultivars by respiratory quotient breakpoint. *Postharvest Biology and Technology*, 3, 259-267.
- GRAN, C.D. (1993). Fruit Respiration and determination of low oxygen limits for apple (*Malus Domestica* Borkh.) Fruit. M.S. dissertation, Michigan State Univ. East Lansing.
- GRAS, M.L.; VIDAL, D.; BETORET, N.; CHIRALT, A.; FITO, P. (2003). Calcium fortification of vegetables by vacuum impregnation interactions with cellular matrix. *Journal of Food Engineering*, 56, 279-284.
- GRANT, G.T.; MORRIS, E.R.; REES, D.A.; SMITH, P.J.C.; THOM, D. (1973). Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: the egg-box model. *FEBS Lett.*, 32, 195-198.
- GROSS, J. (1982). Changes of Chlorophylls and carotenoids in developing strawberry fruit (*Fragaria ananassa*) cv. Terina. *Gartenbauwissenschaft*, 47:142-144.
- GUEVERA, J.C.; YAHIA, E.M.; FUENTE, B. (2001). Modified Atmosphere Packaging of Prickly Pear Cactus Stems (*Opuntia* spp.). *Lewensmittel Food Science and Technology*, 34(7), 445-451.
- GUILBERT, S.; GONTARD, N.; GORRIS, L.G.M. (1996). Prolongation of the Shelf-life of Perishable Food Products using Biodegradable Films and Coatings. Review article. *Lewensmittel Food Science and Technology*, 29(1-2), 10-17.
- GUNES, G.; LEE, C. (1997). Color of minimally processed potatoes as affected by modified atmosphere packaging and antibrowning agents. *Journal of Food Science*, 62(3), 572-575.

GUNES, G.; WATKINS, C.B.; HOTCHKISS, J. (2000). Effects of irradiation on respiration and ethylene production of apple slices. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1169-1175.

GUNES, G.; WATKINS, C.B.; HOTCHKISS, J. (2001). Physiological responses of fresh-cut apple slices under high CO₂ and low O₂ partial pressure. *Postharvest Biology and Technology* 22, 197-204,

HAAS, G.J.; PRESCOTT, H.E.; CANTE, C.J. (1974). On rehydration and respiration of dry and partially dried vegetables. *Journal of Food and Science*, 39, 681-684.

HADASSAH, A. (1982). "Strawberry". *CRC Handbook of Fruit Set and Development*.

HAGGAR, P.E.; LEE, D.S.; YAM, K.L. (1992). Application of an enzyme kinetics based respiration model to closed system experiments for fresh produce. *Journal of Food Process Engineering*, 15, 143-157.

HAGENMAIER, R.D.; BAKER, R.A., (1997). Low-dose irradiation of cut iceberg lettuce in modified atmosphere packaging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 2864-2868.

HAGENMAIER, R.D.; BAKER, R.A., (1998). Microbial population of shredded carrot in modified atmosphere packaging as related to irradiation treatment. *Journal of Food Science* 63, 162-164.

HAYAKAWA, K.; HENIG, Y.S.; GILBERT, S.G. (1975). Formulae for predicting gas exchange of fresh produce in polymeric film package. *Journal of Food Science*, 40, 186-191.

HENIG, Y.S.; GILBERT, S.G. (1975). Computer analysis of the variables affecting respiration and quality of produce packaged in polymeric films. *Journal of Food Science*, 40, 1033-1035.

HEPLER, P.K.; WAYNE, R.O. (1985). Calcium and plant development. *Annual Review of Plant Physiology*, 36, 397-439.

HOFFMAN, N.E.; YANG, S.F. (1982). Enhancement of wound-induced ethylene synthesis by ethylene in preclimacteric cantaloupe. *Plant Physiology*, 69, 317.

HUXSOLL, C.C.; BOLIN, H.R. (1989). Processing and distribution alternatives for minimally processed fruits and vegetables. *Food Technology*, 43(2), 124-128.

INESAGRO. (2006). El cultivo de la fresa, [en línea]. Dirección URL: <<http://inesagro.ifrance.com/fresa.htm>>. [Consulta: 2 Enero de 2006]

INFOAGRO. (2006). El cultivo de la fresa, [en línea]. Dirección URL: <http://www.infoagro.com/frutas/frutas_tradicionales/fresas.htm>. [Consulta: 2 Enero de 2006]

IZUMI, H.; WATADA, A.E., (1994). Calcium treatments affect storage quality of shredded carrots. *Journal of Food Science*, 59, 106-109.

JAIME, M. P., ORIA, R., & SALVADOR, M. L. (2001). Respiration rate of sweet cherries: Burlat, Sunburst and Sweetheart cultivars. *Journal of Food Science*, 66(1), 43-47.

- JACSXENS, L.; DEVLIEGHERE, F.; DEBEVERE, J. (2001). Effect of high oxygen modified atmosphere packaging on microbial growth and sensorial qualities of fresh-cut produce. *International Journal of Food Microbiology*, 71, 197-210.
- JIANG, Y.; LI, Y., (2001). Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of longan fruit. *Food Chemistry*, 73, 139-143.
- JIMENO, A.; BALLESTEROS, M.; UGEDO, L. (1997). *Biología*. Cap. 12: Envolturas celulares, el citoplasma y el centrosoma. (188-201). Cap. 16: El metabolismo celular. El catabolismo (pp. 246-263). Edición Santillana.
- JOHANSON, I.; LARSSON, C.; EK, B.; KJELLBOM, P. (1996). The major integral proteins of spinach leaf plasma membranes are putative aquaporins and phosphorylated in response to Ca^{2+} and apoplastic water potential. *The Plant Cell*, 8: 1181-1191.
- JOLES, D.W.; CAMERON, A.C.; SHIRAZI, A.; PETRACEK, P.D.; BEAUDRY, R.M. (1994). Modified atmosphere packaging of 'Heritage' red raspberry fruit: respiratory response to reduced oxygen, enhanced carbon dioxide and temperature. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119, 540-545.
- KADER, A.A. (1987). Respiration and Gas Exchange of Vegetables. In J. Weichman (Ed.). *Postharvest physiology of vegetables* (pp. 25-43). New York, USA: Marcel Dekker.
- KADER, A.A. (1997). Biological bases of O_2 and CO_2 effects on postharvest-life of horticultural perishables. En: *Proceedings of the 7th International controlled Atmosphere Research Conference*. Saltveit, M.E. (Ed.). 13-18 Julio, 1997, Davis, CA. CA 97, 4, 160-163.
- KADER, A.A. (1992) *Atmósferas modificadas durante el transporte y almacenamiento de frutas y hortalizas frescas*. Alimentación, equipos y tecnología, Junio 1992, 94-102.
- KADER, A.A.; ZAGORY, D.; KERBEL, EL.L. (1989). Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 28(1), 1-30.
- KADER, A.A.; BEN-YEHOSHUA, S. (2000). Effects of superatmospheric oxygen levels on postharvest physiology and quality of fresh fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 20, 1-13.
- KARABULUT, O.A.; LURIE, S.; & DROBY, S. (2001). Evaluation of the use of sodium bicarbonate, potassium sorbate and yeast antagonist for decreasing postharvest decay of sweet cherries. *Postharvest Biology and Technology*, 23, 233-236.
- KATO-NOGUCHI, H.; WATADA, A.E.; (1997). Citric acid reduces the respiration of fresh-cut carrots. *HortScience*, 32(1), 136.
- KAYS, S.J. (1991). *Postharvest Physiology of Perishable Plant Products*. New York: Van Nostrand-Reinhold (1991)
- KING, A.D.; BOLIN, H.R. (1989). Physiological and microbiological storage stability of minimally processed fruits and vegetables. *Food Technology*, 43, 132-135, 139.
- KINOSHITA, T.; NISHIMURA, M.; SHIMAZAKI, K. (1995). Cytosolic concentration of Ca^{2+} regulates the plasma membrane H^+ -ATPase in guard cells of Fava bean. *The plant Cell*, 7: 1333-1342.

KO, N.P.; WATADA, A.E.; SCHELMME, D.V. (1996). Storage of spinach under low oxygen atmosphere above the extinction point. *Journal of Food Science*. 61, 398-400; 406.

LABUZA, T.P.; BREENE, W.M. (1989). Applications of "active packaging" for improvement of shelf life and nutritional quality of fresh and extended shelf life foods. *Journal of Food Processing Preservation*, 13, 1-69

LAKAKUL, R.; BEAUDRY, R.M.; HERNÁNDEZ, R.J. (1999). Modeling respiration of apple slices in modified-atmosphere packages. *Journal of Food Science*, 64(1), 105-110.

LAMIKANRA, O.; WATSON, M.A. (2001). Effects of ascorbic acid on peroxidase and polyphenoloxidase activities in fresh-cut cantaloupe melon. *Journal of Food Science*, 66(9), 1283-1286.

LAMPE, J.W. (1999). Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies. *American Journal of Clinical Nutrition*. 70, 475-490.

LAPSLEY, K.G., ESCHER, F.E., HOEHN, E. (1992). The cellular structure of selected apple varieties. *Food Structure*, 11, 339-349.

LAZARIDES, H.N.; FITO, P.; CHIRALT, A.; GEKAS, A.; LENART, H. (1999). Advances in osmotic dehydration. En R.P. Singh y F.A.R. Oliveria (Eds.) *Minimal Processing of Foods and Process Optimization*. CRC Press, Boca Ratón, 175-200.

LEE, J. (1987). The design of controlled or modified packaging systems for fresh produce. In *Food Product-Package Compatibility, Proceedings*, ed. J.I. Gray, B.R. Harte&J. Miltz. Technomic Publishing Co., Lancaster, PA, pp. 157-169.

LEE, D.S.; HAGGAR, P.E.; LEE, J.; YAM, K.L. (1991). Model for fresh produce respiration in modified atmosphere based on principles of enzyme kinetics. *Journal of Food Science*, 56(6), 1580-1585.

LEE, D.S.; SONG, Y.; YAM, K.L. (1996). Application of an enzyme kinetics based respiration. Model to permeable systems experiment of fresh produce. *Journal of Food Engineering*, 27, 297-310.

LEE, J.Y.; PARK, H.J.; LEE, C.Y.; CHOI, W.Y. (2003). Extending shelf-life of minimally processed apples with edible coatings and antibrowning agents. *Lewensmittel Food Science and Technology*, 36, 323-329.

LESCANO, G. (1994). Extensión of mushroom (*Agaricus bisporus*) shelf life by gamma irradiation. *Postharvest Biology and Technology*, 4, 255-260.

LESTER, G. (1996). Calcium alters senescence rate of postharvest muskmelon fruit disks. *Postharvest Biology and Technology*, 7, 91-96.

LEVERENTZ, B.; CONWAY, W.S.; ALAVIDZE, Z.; JANISIEWIEZ, W.J.; FUCHS, Y.; CAMP, M.J.; CHIGHLADZE, E.; SULAKVELIDZE, A. (2001). Examination of bacteriophage as a biocontrol method for *Salmonella* on fresh-cut fruit: a model study. *Journal of Food Protection*, 64(8), 1116-1121.

LEWICKI, P.P.; GONDEK, E.; WITROWA-RAJCHERT, D.; NOWAK, D. (2001). Effect of drying on respiration of apple slices. *Journal of Food Engineering*, 49, 333-337.

LOBO, M.G.; GONZÁLEZ, M. (2003). Composición de frutas y hortalizas: componentes nutricionales, fibra y compuestos fotoquímicos. Productos hortofrutícolas mínimamente procesados. (Eds). M.G. Lobo y M. González. Gobierno de Canarias. Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación. Instituto canario de Investigación Agrarias. Pág. 25-43. ISBN: 84-606-3514-7.

LÓPEZ-MEDINA, J.; PERALBO, A.; FLORES, F. (2004). El cultivo sin suelo del fresón en Huelva. *Horticultura*, vol. 178, nº 5. pág. 20-25.

LÓPEZ-RUBIRA, V.; CONESA, A.; ALLENDE, A.; ARTÉS, F. (2005). Shelf life and overall quality of minimally processed pomegrate arils modified atmosphere packaged and treated with UV-C. *Postharvest Biology and Technology* (37), 174-185.

LU, C.; TOIVONEN, M.A. (2000). Effect of 1 and 100 kPa O₂ Atmospheric Pretreatments of Whole 'Spartan' Apples on Subsequent Quality and Shelf Life of Slices Stored in Modified Atmosphere Packages. *Postharvest Biology and Technology*, 18, 99-107.

LÜCK E. (1981). Conservación química de los alimentos (pp. 25-162). Acribia. Zaragoza. España.

LUNA-GUZMÁN, I.; CANTWELL, M.; BARRETT, D.M. (1999). Fresh-cut cantaloupe: effects of CaCl₂ dips and heat treatments on firmness and metabolic activity. *Postharvest Biology and Technology*, 17(3), 201-213.

LUNA-GUZMÁN, I.; BARRETT, D.M. (2000). Comparison of calcium chloride and calcium lactate effectiveness in maintaining shelf stability and quality of fresh-cut cantaloupes. *Postharvest Biology and Technology*, 19, 61-72.

LUND, B.M., (1983). Bacterial spoilage. In: Denis, C. (Ed.), *Post-harvest Pathology of Fruits and Vegetables*. Academic Press, New York, pp. 219-254.

McLAUGHLIN, C.P.; O'BEIRNE, D. (1999). Respiration rate of a dry coleslaw mix as affected by storage temperature and respiratory gas concentration. *Journal of Food Science*, 64, 116-119.

MAFTOONAZAD, N.; RAMASWAMY, H.S. (2005). Postharvest shelf life extension of avocados using methyl cellulose-based coatings. *Lewensmittel Food Science and Technology*, 38, 617-624.

MAHAJAN, P.V.; GOSWAMI, T.K. (2001). Enzyme Kinetics Based Modelling of Respiration Rate for Apple. *Journal of Agricultural Engineering Research* 79(4), 339-406.

MAIN, G.L.; MORRIS, J.R.; WEHUNT, E.J. (1986). Effect of processing treatments on the firmness and quality characteristics of whole and sliced strawberries after freezing and thermal processing. *Journal of Food Science*, 51, 391-394.

MAKINEN, K.K.; SÖDERLING, E. (1980). A quantitative study of mannitol, sorbitol, xylitol and sylose in wild berries and commercial fruits. *Journal of Food Science*, 45, 367-371.

MANEERAT, C.; TONGTA, A.; KANLAYANARAT, S.; WONGS-AREE, C. (1997). A transient model to predict O₂ and CO₂ concentrations in modified atmosphere packaging of bananas at various temperature. In J.R. Gorny (Ed.), *Proceeding of the*

7th international controlled atmosphere research conference: Vol. 5, pp. 191-197, Davis, CA, USA.

MANNAPPERUMA, J.D.; ZAGORY, D.; KADER, A.A. (1989). Design of polymeric packages for modified atmosphere storage of fresh produce, p. 225-233. In: J.K. Fellman (ed.). Proc. Fifth Intl. Controlled Atmosphere Res. Conf. vol. 2. 14-16 June 1989, Wenatchee, Wash.

MANNAPPERUMA, J.D.; SING, R.P. (1992). Modeling of gas exchange in polymeric packages of fresh fruits and vegetables. In Process optimisation and minimal processing of foods, R.P. Sing, and F. Oliveira, (Ed.), p. 437-445. Elsevier, New York.

MARQUENIE, D.; MICHIELS, C.W.; GEERAERD, A.H.; SCHENK, A.; SOONTJENS, C.; VAN IMPRE, J.F.; NICOLAÏ, B.M. (2002). Using survival analysis to investigate the effect of UV-C and heat treatment on storage rot of strawberry and sweet cherry. International Journal of Food Microbiology, 73, 187-196.

MARSCHNER, H. (1995). Mineral nutrition of higher plants. 2^a Edición, Londres: Academic Press.

MARTÍNEZ-MONZÓ, J. (1998). Cambios físico químicos en manzanas *Granny Smith* asociados a la impregnación a vacío aplicaciones en congelación. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. España.

MARTÍNEZ-ROMERO, D.; ALBURQUERQUE, N.; VALVERDE, J.M., GUILLÉN, F.; CASTILLO, S.; VALERO, D., SERRANO, M. (2006). Postharvest sweet cherry quality and safety maintenance by *Aloe vera* treatment: A new edible coating. Postharvest Biology and Technology, Volume 39(1), 93-100.

MATHOOKO, F.M. (1996). Regulation of respiratory metabolism in fruits and vegetables by carbon dioxide. Postharvest Biology and Technology, 9, 247-264.

MAZOLLIER, J.; SCANDELLA, D. (2002). La cuarta gama. Tecnología de las hortalizas. Tirilly, Y.; Bourgeois, C.M. Ed. Acribia. Zaragoza. Pág. 367-396

MONSALVE-GONZÁLEZ, A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V.; CAVALIERI, R.P., (1993). Mass transfer and textural changes during processing of apples by combined methods. Journal of Food Science, 58, 1118-1124.

MOHSENIN, N.M. (1986). Physical properties of plant and animal materials. Nueva York: Gordon and Breach Science Publishers.

MORAGA, G. (2002). Aspectos fisicoquímicos relacionados con la crioprotección de fresa y kiwi. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.

MORAGA, G.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N; CHIRALT, A. (2006). Compositional changes of strawberry due to dehydration, cold storage and freezing-thawing processes. Journal of Food Processing and Preservation, 30, 458-474.

MORAGA, M.J.; BORT, P.; CASTELLÓ, M.L.; FITO, P.J.; MORAGA, G.; CHIRALT, A.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N. (2004). Efecto de la deshidratación osmótica con pulso de vacío y calcio en la vida útil y la respiración de mitades de pomelo. IV Jornadas de Investigación en Ciencia e Ingeniería de Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia.

MORRIS J.R.; SISTRUNK, W.A.; SIMS, C.A.; MAIN, G.L.; WEHUNT, E.J. (1985). Effects of cultivar, postharvest storage, preprocessing dip treatments and style of pack on the

processing quality of strawberries. Journal of the American Society for Horticultural Science., 110, 172-177.

MUNTADA, V.; GERSCHENSON, L.N; ALZADORA, S.M.; CASTRO, M.A. (1998). Solute infusion effects on texture of minimally processed kiwifruit. Journal of Food Science, 63(4), 616-620.

NAVARRO, J. (2003). Los envases: Segunda piel de los productos de la IV Gama. Productos Hortofrutícolas mínimamente procesados. (Eds) M.G. Lobo y M. González. Gobierno de Canarias. Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y alimentación. Instituto Canario de Investigaciones Agrarias. Pág. 111-124. ISBN: 84-606-3514-7.

NGUYEN-THE, C.; CARLIN, F. (1994). The microbiology of minimally processed fruits and vegetables. Critical Review in Food Science and Nutrition, 34, 371-401.

NI, Y; TURNER, D.; YATES, K.M.; TIZARD, I. (2004). Isolation and characterization of structural components of *Aloe vera* L. leaf pulp. Int. Immunopharmacol. 4, 1745-1755.

NICHOLS, R.; HAMMOND, J.B.W. (1973). Storage of Mushrooms in Prepacks: The Effect of Changes in Carbon Dioxide and Oxygen on Quality. Journal of the Science of Food and Agriculture, 24, 1371-1381.

O'BEINE, D. (1990). Some effect of modified atmosphere packaging and vacuum packaging in combination with antioxidants on quality and storage-life of ready-to-use chilled apple slices. En: Processing and Quality of Foods. Zauthen, P., Cheftel, J.C., Eriksson, C., Gormley, T.R., Linko, P. & Paulus, K. (Eds.). London-New York. Elsevier. 3221-3229.

OLSEN, R.W.; BARROW, R.W.; HUGGART, R.L.; WENZEL, F.W. (1966). Effect of calcium salts on the firmness of canned grapefruit sections. Proc. Fla. State Hort. Soc., 79, 326.

OHLSSON, T. (1994). Minimal processing, preservation methods of the future: an overview. Trends in Food Science and Technology, 5(11), 341-344,

OSINGA, E. (2005). El "berry path", un estímulo para la venta. Fruit Today euromagazine. Marzo, 2005. Pág. 47-49.

PASCUAL, M.R.; 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 (341-345). Edición Díaz de Santos.

PAUL, D.R.; CLARKE, R. (2002). Modelling of Modified Atmosphere Packaging Based on Designs with a Membrane and Perforations. Journal of Membrane Science 2008, 269-283

PAULL, R.E. & CHEN, W. (1997). Minimal processing of papaya (*Carica papaya* L.) and the physiology of halved fruit. Postharvest Biology and Technology 12, 93-99.

PEPPELENBOS, H.W.; LEVEN, J. (1996). Evaluation of four types of inhibition for modelling the influence of carbon dioxide on oxygen consumption fruits and vegetables. Postharvest Biology and Technology, 7, 27-40.

PEPPELENBOS, H.W.; VAN'T LEVEN, J.; VAN ZWOL, B.H.; TIJSKENS, L.M.M. (1993). The influence of O₂ and CO₂ on the quality of fresh mushrooms. In G. D. Blanpied, J.A.

Barstch, J.R. Hicks (Eds.), Proceedings of the 6th international controlled atmosphere research conference: Vol. I. pp. 746-758, Ithaca, NY, USA.

PÉREZ, L.E. (2003). Aplicación de métodos combinados para el control del desarrollo de pardeamiento enzimático en pera (variedad Blanquilla) mínimamente procesada. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.

PÉREZ, L.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; CHÁFER, M.; CHIRALT, A. (2003). Calidad de frutas mínimamente procesadas (I). Pardeamiento enzimático. Alimentación equipos y tecnología, 180, 81-84.

PETERSEN, K.; NIELSEN, P.V.V.; LAWTHOR, M.; OLSEN, M.B.; NILSSON, N.H.; MORTENSEN, G. (1999). Potential of biobased materials for food packaging. Trends in Food Science and Technology, 10, 52-68.

PIÑEROS, M.; TESTER, M. (1997). Calcium channels in higher plant cells: selectivity, regulation and pharmacology. Journal of Experimental Botany, 48, 551-577.

PITT, R.E. (1992). Viscoelastic properties of fruits and vegetables. En Science Viscoelastic Properties of Foods. Ed., M.A. Rao y J.F. Steffe, London Elsevier Applied: 49-76.

POOLMAN, B.; DRIESSEN, A.J.; DONINGS, W.N. (1987). Microbiological reviews, 51, 498-508.

POOVAIAH, B.W. (1986). Role of calcium in prolonging storage life of fruits and vegetables. Food Technology, 40, 86-89.

PORTELA, S.I.; CANTWELL, M.I. (2001). Cutting blade sharpness affects appearance and other quality attributes of fresh-cut Cantaloupe melon. Food Chemistry and Toxicology 66(9), 1265-1270.

PRIETO, A.A.; JACXSENS, L.; DEVLIEGHIERE, F.; DEBEVERE, J.; ARTÉS, F. (2000). Improving modified atmosphere packaging system for keeping quality of ready-to-eat lettuce salad. En: International Institute of Refrigeration Conference: Improving Postharvest Technologies of Fruits, Vegetables and Ornamentals. Octubre. Murcia, España.

PRIMO-YÚFERA, E. (1997). Química de los alimentos. Editorial Síntesis. Madrid, España.

QUILES, A.; HERNANDO, I.; PÉREZ-MUNUERA, I.; LLORCA, E.; LARREA, V.; LLUCH, M.A. (2004). The effect of calcium and cellular permeabilization on the structure of the parenchyma of osmotic dehydrated "Granny Smith" apple. Journal of the Science of Food and Agriculture, 84, 1765-1770.

RAOULT-WACK, A.L. (1994). Recent advances in the osmotic dehydration of foods. Trends in Food Science and technology, 5(8), 255-260.

RATTI, C.; RAGHAVAN, G.S.V.; GARIÉPY, Y. (1996). Respiration rate model and modified atmosphere packaging of fresh cauliflower. Journal of Food Engineering, 28, 297-306.

RAYBAUDI-MASSILIA, R.M.; MOSQUEDA-MELGAR, J.; SOBRINO-LÓPEZ, A.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. (2007). Shelf-life extension of fresh-cut "Fuji"

apples at different ripeness stages using natural substances. *Postharvest Biology and Technology* 45, 265-275.

READ, N.D.; ALLAN, G.W.T.; KNIGHT, H.; KNIGHT, M.R.; MALHÓ, R.; RUSSELL, A.; SHACKLOCK, P.S.; TREWAVAS, A.J. (1992). Imaging and measurements of cytosolic free calcium in plant and fungal cells. *Journal of Microscopy*, 166, 57-86.

ROCCULI, P.; ROMANI, S.; DALLA ROSA, M. (2004). Evaluation of physico-chemical parameters of minimally processed apples packed in non-conventional modified atmosphere. *Food Research International*, 37, 329-335.

ROJAS-GRAÜ, M.A.; RAYBAUDI-MASSILIA, R.M.; SOLIVA-FORTUNY, R.C., AVENA-BUSTILLOS, R.J., McHugh, T.H., 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.

ROLLE, R.S.; CHISM, G.W. (1987). "Physiological consequences of minimally processed fruits and vegetables". *Journal of Food Quality*, 10,157-177.

RONK, R.J.; CARSON, K.L.; THOMPSON, P. (1989). Processing, packaging and regulation of minimally processed fruits and vegetables. *Food Technology*, 43(2), 136-139.

ROSEN, J. C.; KADER, A.A. (1989). Postharvest physiology and quality maintenance of sliced pear and strawberry fruits. *Journal of Food Science*, 54, 656-659.

SAFTNER, R.A.; CONWAY, W.S.; SAMS, C.E. (1999). Postharvest calcium infiltration alone and combined with surface coating treatments influence volatile levels, respiration, ethylene production, and internal atmospheres of 'Golden Delicious' apples. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 124, 553-558.

SAFTNER, R.A.; BAI, J.; ABBOTT, J.; LEE, Y. (2003). Sanitary dips with calcium propionate, calcium chloride, or a calcium amino acid chelate maintain quality and shelf stability of fresh-cut honeydew chunks. *Postharvest Biology and Technology*, 29, 257-269.

SALVEIT, M.E. (1993). A summary of CA and MA requirements and recommendations for the storage of harvested vegetables. In G.D. Blanpied, J.A. Bartch & J.R. Hicks, *Proceedings of the Sixth International Controlled Atmosphere Research Conference* (Vol. 2) (pp. 800-818). Ithaca, New York, USA.

SALVADOR, M.L.; JAIME, P.; ORIA, R. (2002). Modeling of O₂ and CO₂ exchange dynamics in modified atmosphere packagin of Burlat cherries. *Journal of Food Science*, 67(1), 231-235.

SALVADOR, A.; CUQUERELLA, J.; MONTERDE, A., (2003). Efecto del quitosano aplicado como recubrimiento en mandarinas 'Fortune'. *Rev. Iberoamer. Technol. Postcosecha* 5, 122-127.

SALVADOR, A.; ARNAL, L.; MONTERDE, A.; CUQUERELLA, J. (2004). Reduction of chilling injury symptoms in persimmon fruit cv. 'Rojo Brillante' by 1-MCP. *Postharvest Biology and Technology*, 33, 285-291.

SALVATORI, D., ANDRÉS, A., ALBORS, A., CHIRALT, A. and FITO, P. (1998). Structural and compositional profiles in osmotically dehydrated apple. *Journal of Food Science*, 63, 606-610.

SALVATORI, D.; ANDRÉS, A.; CHIRALT, A.; FITO, P. (1999). Osmotic dehydration progression in apple tissue I: spatial distribution of solutes and moisture content. *Journal of Food Engineering*, 42, 125-132.

SAMS, C.E.; CONWAY, S.W.; ABBOTT, J.A.; LEWIS, R.J.; BEN-SHALOM, N. (1993). Firmness and decay of apples following postharvest pressure infiltration of calcium and heat treatment. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 118, 623-627.

SANDERS, D.; BROSNAN, J.M.; ALLEN G.J.; CROFS, A.; JOHANNES, E. (1994). Ion channels and calcium signalling in plants multiple pathways and cross-talk. *Biochemical Society Symposium*, 60, 183-197.

SERRANO, M.; MARTÍNEZ-ROMERO, D.; CASTILLO, S., GUILLÉN, F., VALERO, D. (2004). Role of calcium and heat treatments in alleviating physiological changes induced by mechanical damage in plum. *Postharvest Biology and Technology* 34, 155-167.

SHEAR, C.B.; FAUST, M. (1972). The effect of calcium on the respiration of apples. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 97:437-439.

SHEWFELT, R.L. (1987). Quality of minimally processed fruits and vegetables. *Journal of Food Quality*, 10(3), 143-156.

SHI, XQ. (1994). Vacuum osmotic dehydration of food: some applications in fruit preservation. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.

SHI, X.Q.; FITO, P. (1994). Mass Transfer in Vacuum Osmotic Dehydration of Fruits: A Mathematical Model Approach. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 27(1), 67-72.

SHI, X.Q.; FITO, P.; CHIRALT, A. (1995). Influence of vacuum treatment on mass transfer during osmotic dehydration of fruits *Food Research International*, 28(5), 445-454.

SHI, X.Q.; CHIRALT, A.; FITO, P.; SERRA, J.; ESCOIN, C.; GASQUE, L. (1996). Application of osmotic dehydration technology on jam processing. *Drying Technology*, 14(3), 841-847.

SIERRA, M.; NAMESNY, AL.; PAPASSEIT, P. (2002). Marketing aplicado a frutas y hortalizas. Amenazas y oportunidades. Marcas, emoción y valor. Ediciones de Horticultura, S.L. Capítulo 5, pág. 142.

SIERRA, M. (2004). Frutas de IV gama en los lineales españoles. *Horticultura Internacional*, 44, 38-45.

SKOU, J.F.; BECH, H.; LUNDSTEN, K. (1974). Effects of ionizing irradiation on mushrooms as influenced by physiological and environmental conditions. *Radiat. Bot.*, 14, 287-299.

SMYTH, A.B.; SONG, J.; CAMERON, A.C. (1998). Modified atmosphere packaged cut iceberg lettuce: effect of temperature and O₂ partial pressure on respiration and quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4556-4562.

- SOFOS, J.N.; BUSTA, F.F. (1983). Sorbates. In A.L. Brannen, & P.M. Davidson (Eds). Antimicrobials in Foods (pp 141-175). Dekker: New York.
- SOLIVA-FORTUNY, R.C.; GRIGELMO-MIGUEL, N.; ODRIUZOLA-SERRANO, I.; GORINSTEIN, S.; MARTÍN-BELLOSO, O. (2001). Browning evaluation of ready to eat apples as affected by modified atmosphere packaging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(8), 3685-3690.
- SOLIVA-FORTUNY, R.C.; OMS-OLIU, G.; MARTÍN-BELLOSO, O. (2002). Effects of ripeness stages on the storage atmosphere, color and textural properties of minimally processed apple slices. *Journal of Food Science*, 67(5), 1958-1963.
- SOLIVA-FORTUNY, R.C.; ELEZ-MARTÍNEZ, P.; 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.
- SON, S.M., MOON, K.D., LEE, C.Y. (2001). Inhibitory effects of various antibrowning agents on apple slices. *Food Chemistry*, 73, 23-30.
- SONG, Y.; VORSA, N.; YAM, K.L. (2002). Modeling respiration-transpiration in a modified atmosphere packaging system containing blueberry. *Journal of Food Engineering*, 53, 103-109
- STEINMETZ, K.A.; POTTER, J.D. (1996). Vegetables, fruit and cancer prevention – A review. *J. Amer. Diet. Assoc.*, 96, 1027-1039
- STERN, D.; ORTOLÁ, M.D.; FITO, P. (2001). Estudio de la Influencia de Distintas Condiciones de Almacenamiento de Cítricos Sobre el Desarrollo de Componentes Volátiles Indeseables y Predicción de su Vida Útil. Series de ciencia e ingeniería de alimentos. Investigación del Postgrado del IAD-DTA. Año, 2000. Vol. I. Ed. Fito, P., Chiralt, A., Andrés, A, Martínez-Navarrete, N.
- TALASILA, P.C.; CAMERON, A.C.; JOLLES, D.W. (1994). Frequency distribution of steady-state oxygen partial pressures in modified atmosphere packages of cut broccoli. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119, 556-562.
- TALASILA, P.C.; CHAU, K.V.; BRECHT, J.K. (1992). Effects of gas concentrations and temperature on O₂ consumption of strawberries. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers*, 35(1), 221-224.
- TALENS, P. (2002). Tratamientos osmóticos en la crioprotección de fresa y kiwi. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.
- TALENS, P.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N.; FITO, P.; CHIRALT, A. (2002). Changes in optical and mechanical properties during osmodehydrofreezing of kiwi fruit. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, Volume 3(2), 191-199.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. (1991). *Plant physiology*. Redwood City, California: The Benjamin/Cummings.
- THOMAS, P. (1988). Radiation preservation of foods of plant origin. Part VI. Mushrooms, tomatoes, minor fruits and vegetables, dried fruits and nuts. *Food Science and Nutrition*, 26(4), 313-358.

TORRES, J.D.; CASTELLÓ, M.L.; ESCRICHE, I.; CHIRALT, A. (2004). Efecto de la deshidratación osmótica y el calcio en la tasa respiratoria de mango durante el almacenamiento. III Congreso Español de Ingeniería de Alimentos. Pamplona. Pág. 523-532. CD-Rom. ISBN: 84-688-7989-4.

TORRES, J.D.; TALENS, P.; ESCRICHE, I.; CHIRALT, A. (2006). Influence of process conditions on mechanical properties of osmotically dehydrated mango. *Journal of Food Engineering*, 74, 240-246.

TORRES, J.D. (2007). Optimización de las condiciones de operación de tratamientos osmóticos destinados al procesado mínimo de mango (*Mangifera indica* L.). Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.

TORRES, J.A.; KAREL, M. (1985). Microbial stabilisation of intermediate moisture food surfaces III. Effects of surface pH control on microbial stability of an intermediate moisture cheese analogue. *Journal of Food Processing and Preservation*, 9, 107-119.

TOVAR, B.; GARCÍA, H.S.; MATA, M. (2001a). Physiology of pre-cut mango I. ACC and ACC oxidase activity of slices subjected to osmotic dehydration. *Food Research International*, 34, 207-215.

TOVAR B.; GARCÍA, H.S.; MATA, M. (2001b). Physiology of pre-cut mango II. Evolution of organic acids. *Food Research International*, 34, 705-714.

TSANTILI, E.; KONSTANTINIDIS, K.; ATHANASOPOULOS, P.E.; PONTKIS, C., (2002). Effects of postharvest calcium treatments on respiration and quality attributes in lemon fruit during storage. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 77 (4), 479-484.

TYERMAN, S.D.; BOHNERT, H.J.; MAUREL, C.; STEUDLE, E.; SMITH, J.A.C. (1999). Plant aquaporins: their molecular biology, biophysics and significance for plant water relations. *Journal of Experimental Botany*, 50, 1055-1071.

TURNER, J. F.; TURNER, D.H. (1975). The regulation of carbohydrate metabolism [in higher plants]. *Annual Review in Plant Physiology*, 26: 159-186.

VAL, J.; GIL, A.; AZNAR, Y.; MONGE, E.; BLANCO, A. (1999). Nutritional study of an apple orchard as endemically affect by bitter pit. *Acta Horticulturae*, 513, 493-502.

VALERO, D.; MARTÍNEZ-ROMERO, D.; VALVERDE, J.M.; GUILLÉN, F.; SERRANO, M. (2003). Quality improvement and extension of shelf life by 1-methylcyclopropene in plum as affected by ripening stage at harvest. *Innovation Food Science and Emerging Technologies* 4, 339-348.

VICENTE, A.R.; PINEDA, C.; LEMOINE, L.; CIVELLO, P.M.; MARTÍNEZ, G.A.; CHAVES, A.R. (2005). UV-C treatments reduce decay, retain quality and alleviate chilling injury in pepper. *Postharvest Biology and Technology* 35, 69-78.

VINCENT, F.V. (1994). Texture of plants. In H.F. Linskens & J.F. Jackson. *Vegetables and Vegetable products*, pp. 57-72. Berlin: Springer-Verlag.

WANG, C. (1994). Reduction of chilling injury by methyl jasmonate. *Acta Horticulturae* 368, 901-907.

WATADA, A.E.; KO, N.P.; MINOTT, D.A. (1996). Factors affecting quality of fresh/cut horticultural products. *Postharvest Biology and Technology*, 9, 115-125.

- WATADA, A.E.; QI, L. (1999). Quality of fresh-cut produce. *Postharvest Biology and Technology*, 15, 201-205.
- WILEY, R.C. (1994). Minimally processed refrigerated fruits and vegetables. Chapman&Hall. N.Y. 1, 10-12.
- WILLS, R.H.H.; LEE, T.H.; MCGLASSON, W.B.; HALL, E.G.; GRAHAM, D. (1984). *Fisiología y Manipulación de Frutas y Hortalizas*. Postrecolección. Ed. Acribia.
- WILLS, R.H.H.; MCGLASSON, B.; GRAHAM, D.; JOYCE, D. (1998). *Postharvest*. Fourth ed. UNSW Press, Australia, pp. 60-140.
- WONG, D.W.S.; TILLIN, S.J.; HUDSON, J.S.; PAVLATH, A. (1994). Gas exchange in cut apples with bilayer coatings. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 2278-2285.
- WROLSTAD, R. SKREDE, G.; LEA, P.; ENERSEN, G. (1990). Influence of sugar on anthocyanin pigment stability in frozen strawberries. *Journal of Food Science* 55(4), 1064, 1065-1072.
- YANG, C.C.; CHINNAN, M.S. (1988). Modeling the effect of O₂ and CO₂ on respiration and quality of stored tomatoes. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers*, 31, 920-925.
- YANG, D.C.; LE MAGER, M. (1992). Osmotic dehydration of strawberries in Batch recirculation system. *Journal of Food Quality*, 15: 387-397.
- YAUN, B.R.; SUMMER, S.S., EIFERT, J.D. MARCY, J.E. (2004). Inhibition of pathogens on fresh produce by ultraviolet energy. *International Journal of Food Microbiology*, 90, 1-8
- ZHANG, D.; QUANTICK, P.C.; GRIGOR, J.M.; WIKTOROWICZ, R.; IRVEN, J. (2000). Effects of argon on CO₂, O₂ and ethylene levels in modified atmosphere packaging of some fresh fruits and vegetables in comparison with nitrogen. En: 4th International Conference on Postharvest Science. Jerusalem, Israel.
- ZHU, M.; CHU, C.L.; WANG, S.L.; LENCKI, R.W. (2001). Influence of oxygen, carbon dioxide, and degree of cutting on the respiration rate of rutabaga. *Journal of Food Science*, 66(1), 30-37.
- ZHU, M.; CHU, C.L.; WANG, S.L.; LENCKI, R.W. (2002). Predicting oxygen and carbon dioxide partial pressures within modified atmosphere packages of cut rutabaga. *Journal of Food Science* 67(2), 714-720.

