

Memoria de Tesis Doctoral

**ESTUDIO DE ESTRATEGIAS PARA LA
CONSERVACIÓN DE PATATAS (cv. *Monalisa*)
MÍNIMAMENTE PROCESADAS**

Departamento de Tecnología de los Alimentos
Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos
Universidad Pública de Navarra

Presentada por:

Gloria Bobo García

Dirigida por:

Dra. Cristina Arroqui Vidaurreta

Dra. Paloma Vírseda Chamorro

Pamplona, Junio de 2014

Dedicatoria

A mis padres por apoyarme incondicionalmente.

Mis logros son los vuestros.

A Coral, Agustín y Pablo por vuestros ánimos y por cuidar siempre de mí.

A mi sobrínico, que sin todavía conocerle ha llenado mi corazón de gran
felicidad.

A todos los que, de una forma u otra, siempre habéis estado ahí,
siempre dándome fuerzas cuando las necesitaba.

Agradecimientos

A Cristina Arroqui y Paloma Vírseda, mis directoras de tesis, mi más sincero agradecimiento por haberme guiado a lo largo de este doctorado, brindándome su confianza y apoyo durante todos estos años. Muchas gracias.

A Angela, Maite, Álvaro y Oihana por acompañarme parte del camino.

A Sandra, Gabo e Idoya porque sin su ayuda y sabios consejos esta tesis no hubiera sido posible... ha sido una suerte haber tenido la oportunidad de aprender de vosotros.

A Juanjo y Gustavo porque sin su conocimiento y buen hacer no sé qué habría sido de esta tesis. Gracias por toda vuestra paciencia. Y a los profesores y personal del departamento de Tecnología de Alimentos por sus enseñanzas, consejos y ánimos durante estos años.

A todos mis compañeros de laboratorio por su amistad y por tantísimos buenos momentos que hemos pasados juntos. Gracias a todos los que compartieron su tiempo en nuestro rinconcito del café.

A MJ y a las "tres paticas de la mesa" por estar siempre ahí. Gracias por vuestro apoyo y por haber llenado estos años de grandes experiencias y de buenos momentos.

Para la realización de esta tesis Gloria Bobo García obtuvo una ayuda predoctoral de investigación del Programa de Ayudas Predoctorales para la Movilidad y Formación del Talento Investigador del Departamento de Educación del Gobierno de Navarra.

ÍNDICE

ÍNDICE	I
ÍNDICE DE FIGURAS	VII
ÍNDICE DE TABLAS.....	XIII
LISTA DE ABREVIATURAS	XVII
RESUMEN	XIX
ABSTRACT.....	XXI
ANTECEDENTES	3
1. Generalidades de la patata	3
2. Definición de producto hortofrutícola de IV gama	4
3. Situación del mercado del sector de IV gama.	6
4. Operaciones de preparación de la patata mínimamente procesada	9
5. Factores que afectan a la calidad de las PMP	11
5.1. Características de la materia prima	11
5.2. Condiciones de procesado.....	12
5.3. Condiciones de conservación	12
6. Causas de deterioro de las PMP.....	13
6.1. Deterioro microbiológico.....	13
6.2. Textura.....	14
6.3. Pardeamiento enzimático.....	16

7. Problemática en las PMP	25
7.1. Legislación vigente para patatas mínimamente procesadas.	27
8. Técnicas para la conservación de PMP.	27
8.1. Empleo de modificadores de la textura en patata.....	28
8.2. Compuestos antipardeantes en patatas.	34
OBJETIVOS.....	65
DESARROLLO DEL TRABAJO	69
Capítulo 1 . Estudio de la eficacia de compuestos antipardeantes y modificadores de textura en patata mínimamente procesada.....	75
1.1. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS.....	75
1.2. OBJETIVOS.....	79
1.3. MATERIAL Y MÉTODOS	80
1.3.1. Preparación y procesado de las PMP	80
1.3.2. Evaluación de la calidad	85
1.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	89
1.4.1. BLOQUE A: Evaluación de la eficacia de las soluciones antipardeantes seleccionadas.....	89
1.4.2. BLOQUE B: Efecto en PMP de modificadores de textura combinados con soluciones antipardeantes.	98
1.5. CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO.....	109
Capítulo 2 . Estudio del efecto sobre la textura y el pardeamiento por la aplicación de diferentes pre-tratamientos térmicos combinados con una solución antipardeante.	113

2.1. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS	113
2.2. OBJETIVOS	115
2.3. Parte 1: Efecto de la aplicación de un pre-tratamiento térmico en diferentes condiciones sobre la calidad global de PMP tratada con una solución antipardeante.	115
2.3.1. DISEÑO EXPERIMENTAL	116
2.3.2. MATERIALES Y MÉTODOS	117
2.3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	120
2.4. Parte 2: Efecto de la aplicación de un pre-tratamiento térmico sobre la PME y la textura en PMP tratada con una solución antipardeante.	146
2.4.1. DISEÑO EXPERIMENTAL	147
2.4.2. MATERIAL Y MÉTODOS	148
2.4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	153
2.5. CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO	179
Capítulo 3 . Efecto de extracto de té verde como solución antipardeante en patata mínimamente procesada.	183
3.1. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS	183
3.2. OBJETIVO	184
3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL	184
3.4. MATERIALES Y MÉTODOS	185
3.4.1. Procesado y preparación del extracto de té verde	185
3.4.2. Métodos de análisis	186
3.4.3. Análisis estadístico.....	187

3.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	188
3.5.1. Caracterización de las PMP	188
3.5.2. Composición de la atmósfera interna de las bolsas	191
3.5.3. Color	192
3.5.4. Textura	196
3.5.5. Apariencia de las PMP	198
3.6. CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO	199
Capítulo 4 . Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods	203
4.1. ABSTRACT	203
4.2. RESUMEN.....	204
4.3. INTRODUCTION.....	204
4.4. MATERIAL AND METHODS	206
4.5. RESULTS AND DISCUSSION.....	210
4.6. CONCLUSIONS	218
Capítulo 5 . Caracterización inicial y selección en base a su capacidad de inhibir la enzima polifenol oxidasa de extractos de diferentes especias	221
5.1. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS	221
5.2. OBJETIVO.....	225
5.3. MATERIAL Y MÉTODOS	225
5.3.1. Especias.....	225
5.3.2. Extracción en agua de las especias	226

5.3.3. Métodos de análisis	227
5.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	232
5.4.1. Contenido total de fenoles y actividad antioxidante de los extractos de especias	232
5.4.2. pH.....	236
5.4.3. Determinación de la capacidad de los extractos para inhibir la enzima PPO de patata (cv. <i>Monalisa</i>)	238
5.5. CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO	245
Capítulo 6 . Optimización de la extracción en agua de té verde, ajo y salvado de trigo mediante un método de superficie de respuesta y la caracterización de los extractos óptimos.	249
6.1. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS	249
6.2. OBJETIVOS	252
6.3. Optimización de la extracción de té verde, ajo y salvado de trigo mediante un método de superficie de respuesta.....	252
6.3.1. MATERIAL Y MÉTODOS.....	252
6.3.2. Métodos de análisis	253
6.3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	255
6.4. Caracterización fenólica de los extractos mediante HPLC.	275
6.4.1. DISEÑO EXPERIMENTAL	275
6.4.2. MATERIAL Y MÉTODOS.....	275
6.4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	282
6.5. CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO	284

Capítulo 7 . Estudio del efecto de la aplicación de soluciones naturales de té verde, ajo y salvado de trigo en la calidad de patata mínimamente procesada. 289

7.1. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS 289

7.2. OBJETIVO..... 290

7.3. DISEÑO EXPERIMENTAL..... 290

7.4. MATERIAL Y MÉTODOS 291

7.4.1. Procesado mínimo de las PMP 291

7.4.2. Métodos de análisis..... 291

7.4.2.3. Contenido de humedad 292

7.4.2.5. Textura 292

7.4.2.7. Apreciaciones sensoriales 292

7.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 293

7.5.1. pH 293

7.5.2. Contenido de humedad 293

7.5.3. Contenido de sólidos solubles totales 295

7.5.4. Composición de la atmósfera 295

7.5.6. Color 297

7.5.5. Textura 301

7.5.7. Apreciaciones sensoriales..... 305

7.6. CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO..... 308

CONCLUSIONES GENERALES 311

BIBLIOGRAFÍA 317

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 0.1. Principales cifras del sector de IV gama en 2012 (t) (Fuente: Comité de Fruta y Hortalizas preparadas de Fepex).	6
Figura 0.2. Volumen de consumo total de patatas, patatas procesadas y de verduras y hortalizas de IV gama, en hogares a nivel nacional desde 2008 hasta 2013. (Fuente: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio ambiente).	8
Figura 0.3. El pelado y cortado estimula la oxidación celular causando pardeamiento y crecimiento antimicrobiano en la zona dañada del tejido (Fuente: Irtwange (2006)). .	17
Figura 0.4. Esquema de la reacción de la PPO que desencadena el pardeamiento enzimático en la patata (Fuente: Trujillo (2004)).	18
Figura 0.5. Principales enzimas que actúan sobre el homogalacturonano, donde algunos residuos de ácido galacturónico se encuentran metil-esterificados.	29
Figura 0.6. Interacción mediante puentes de Ca^{+2} entre grupos carboxilo no esterificados de dos cadenas de homogalacturonanos.	30
Figura 0.7. Clasificación de los fenoles dietéticos (Fuente: Craft et al. (2012))	57
Figura 1.1. Diagrama del procesado mínimo con aplicación de un tratamiento antipardeante (Bloque A).	81
Figura 1.2. Diagrama de procesado con un choque térmico previo al tratamiento con la solución antipardeante (Bloque B).	83
Figura 1.3. Diagrama del diseño experimental dividido en dos Bloques: (A) Eficacia de soluciones antipardeantes seleccionadas y (B) Efecto en PMP de modificadores de textura combinados con las soluciones antipardeantes seleccionadas.	84
Figura 1.4. Gráfica de color del espacio CIELab.	87
Figura 1.5. Evolución de la luminosidad (a) y de la coordenada a^* (b) de las PMP a lo largo de 14 días a 4 °C tratadas con las soluciones antipardeantes seleccionadas (IC95 %, n=48).	93
Figura 1.6. Comportamiento del color de las lonchas tratadas a día 0, representando Luminosidad respecto a coordenada a^* (a) y respecto a coordenada b^* (b).	94
Figura 1.7. Comportamiento del color de las lonchas tratadas a día 7, representando Luminosidad respecto a coordenada a^* (a) y respecto a coordenada b^* (b).	94
Figura 1.8. Comportamiento del color de las lonchas tratadas a día 14, representando Luminosidad respecto a coordenada a^* (a) y respecto a coordenada b^* (b).	95
Figura 1.9. Apariencia de las PMP tratadas con las soluciones antipardeantes y el control, tras 14 días en almacenamiento a 4 °C.	96

Figura 1.10. Evolución la Fuerza máxima de corte (F_{max} , N) de las muestras tratadas con las soluciones antipardeantes en combinación con los modificadores de textura, almacenadas 14 días a 4 °C (IC95 %, n=40).	101
Figura 1.11. Comportamiento de la textura de las lonchas tratadas representando F_{max} respecto D_{fmax} para el día 0 (a); día 7 (b); día 10 (c) y día 14 (d). Pf = patata recién cortada.	102
Figura 1.12. Apariencia de las PMP tras 14 días almacenadas a 4 °C tras un pre tratamiento con choque térmico o el uso de cloruro cálcico en combinación con los tratamientos de referencia DS+AC o HR+AA.	107
Figura 2.1. Evolución de la luminosidad (a), la coordenada a^* (b) y la coordenada b^* (c) de las PMP (IC95 %, n=36).	124
Figura 2.2. Evolución de la Fuerza máxima de corte (F_{max} , N) (a) y la distancia recorrida (D_{fmax} , mm) (b) de las PMP frescas (IC95 %, n=36).	127
Figura 2.3. Evolución de la Fuerza máxima de corte (F_{max} , N) (a) y la distancia recorrida (D_{fmax} , mm) (b) de las PMP cocidas (IC95 %, n=36).	129
Figura 2.4. Evolución de la luminosidad (a), de la coordenada a^* (b) y la coordenada b^* (c) de las PMP (IC95 %, n=36).	132
Figura 2.5. Evolución de la Fuerza máxima de corte (F_{max} , N) (a) y la distancia recorrida (D_{fmax} , mm) (b) de las PMP frescas (IC95 %, n=36).	134
Figura 2.6. Evolución de la Fuerza máxima de corte (F_{max} , N) (a) y la distancia recorrida (D_{fmax} , mm) (b) de las PMP cocidas (IC95 %, n=36).	135
Figura 2.7. Evolución de la luminosidad (a), de la coordenada a^* (b) y la coordenada b^* (c) de las PMP (IC95 %, n=36).	138
Figura 2.8. Evolución de la Fuerza máxima de corte (F_{max} , N) (a) y la distancia recorrida (D_{fmax} , mm) (b) de las PMP fresca (IC95 %, n=36).	139
Figura 2.9. Evolución de la Fuerza máxima de corte (F_{max} , N) (a) y la distancia recorrida (D_{fmax} , mm) (b) de las PMP cocidas (IC95 %, n=36).	141
Figura 2.10. Evolución del grado de ablandamiento de las PMP (IC95 %, n=36).	143
Figura 2.11. Apariencia general de las patatas a día 0, pre-tratadas con choque térmico a 5 a 50 °C (arriba) o 60 °C (abajo), con presencia o no de calcio y usando un enfriamiento en hielo+agua o en hielo líquido.	144
Figura 2.12. Apariencia general de las patatas a día 14, pre-tratadas con choque térmico a 5 a 50 °C (arriba) o 60 °C (abajo), con presencia o no de calcio y usando un enfriamiento en hielo+agua o en hielo líquido.	144
Figura 2.13. Curva obtenida en un ensayo de análisis de perfil de textura (TPA).	150
Figura 2.14. Ejemplo de la recta de calibración de ácido D-galacturónico.	152
Figura 2.15. Evolución de la atmósfera interna (% O ₂ y CO ₂) de las muestras tratadas con choque térmico a 55 °C-5 min (A) o a 65 °C-5 min (B), envasadas y almacenadas durante 14 días a 4 °C. (IC95 %, n=3).	159

Figura 2.16. Evolución de los parámetros de TPA (a) dureza, (b) cohesividad, (c) adhesividad, (d) elasticidad y (e) masticabilidad de las PMP frescas de las tratadas con choque térmico a 55 °C-5min o a 65 °C-5 min (IC95 %, n=36).	164
Figura 2.17. Evolución de los parámetros de TPA (a) dureza, (b) cohesividad, (c) elasticidad y (d) masticabilidad de las PMP cocidas de las tratadas con choque térmico a 55 °C-5min o a 65 °C-5 min. (IC95 %, n=36).....	169
Figura 2.18. Apariencia de las PMP a día 0 (A); a día 7 (B) y a los 14 días (C). Donde 0= Control AP; 1= Control CT; 2= CT+AP y 3= CTCa+AP.	174
Figura 3.1. Evolución del pH de las PMP a lo largo de 14 días a 4 °C (IC95%, n=3).	188
Figura 3.2. Evolución de la composición atmosférica interna de las bolsas a lo largo del almacenamiento de 14 días a 4 °C de las PMP. Las líneas azules representan la evolución del % O ₂ y las líneas rojas representan la evolución del % CO ₂ (IC95 %, n=3).	191
Figura 3.3. Evolución de la L* (luminosidad) (a), la coordenada a* (b) y la coordenada b* (c) de las PMP almacenadas durante 14 días a 4 °C (IC95%, n=36).	194
Figura 3.4. Evolución de la textura en las PMP almacenadas durante 14 días a 4 °C. Las barras representan los valores de Fuerza máxima de corte (Fmax, N) y las líneas representan los valores de la distancia recorrida hasta el punto de Fmax (Dfmax, mm) (IC95%, n=36).	196
Figura 3.5. Apariencia de las lonchas de patata control y las tratadas con HR+AA, DS+AC o TV en los días de análisis 0, 7 y 14.	198
Figura 4.1. Standard curves for microplate assays. (a) Total phenolic content (Folin-Ciocalteu assay); (b) antioxidant activity (DPPH assay).	212
Figura 4.2. Linear regression for total phenolic content methods comparison. (a) Grape seed extract; (b) apple extract; (c) green tea extract.	215
Figura 5.1. Especies seleccionadas para este estudio.....	225
Figura 5.2. Distribución de los componentes para el análisis de la capacidad de los extractos para inhibir la PPOp, en microplaca de 96 pocillos.....	230
Figura 5.3. Contenido total de fenoles (mg equivalentes de ácido gálico/ml extracto) (a). Actividad antioxidante (µmoles de equivalentes de Trolox/ml extracto) de cada extracto (b). (IC95 %, n=15).	233
Figura 5.4. Correlación entre actividad antioxidante y el contenido total de fenoles para las especias estudiadas. Extracción en agua de las especias realizada a 55 °C durante 15 minutos (a). Extracción en agua de las especias realizada a 90 °C durante 10 minutos (b).	235
Figura 5.5. Valores de pH de los extractos en las diferentes condiciones de extracción estudiadas (IC95 %, n=3).....	237
Figura 5.6. Capacidad de inhibición de la PPOp en el rango CTF < 5 mg EAG/ml extracto de las muestras extraídas a 55 °C-15min (a); 90 °C-10min o 20 °C-30min (b). (IC 95 %, n=15).....	240

Figura 5.7. Capacidad de inhibición de la PPOp en el rango CTF 8 a 16 mg EAG/ml extracto de las muestras extraídas a 55 °C-15min o 90 °C-10min. (IC95 %, n=15).....242

Figura 5.8. Capacidad de inhibición de la PPOp en el rango de CTF 20 a 27 mg EAG/ml extracto de las muestras extraídas a 55 °C-15min o 90 °C-10min. (IC95 %, n=15).....243

Figura 5.9. Capacidad de inhibición de la PPOp en el rango de CTF 40 a 70 mg EAG/ml extracto de las muestras extraídas 55 °C-15min o 90 °C-10min. (IC 95 % n=15).244

Figura 6.1. Gráfica de superficie tridimensional donde se comparan los factores tiempo (min) y temperatura (°C) para la variable respuesta capacidad de inhibición de la PPOp.259

Figura 6.2. Gráfica de superficie tridimensional donde se comparan los factores concentración (%) y temperatura (°C) para la variable respuesta de capacidad de inhibición de la PPOp.260

Figura 6.3. Gráfica de superficie tridimensional donde se comparan los factores tiempo (min) y temperatura (°C) para la variable respuesta capacidad de inhibición de la PPOp.263

Figura 6.4. Gráfica de superficie tridimensional donde se comparan los factores concentración (%) y tiempo (min) para la variable respuesta capacidad de inhibición de la PPOp.....264

Figura 6.5. Gráfica de superficie tridimensional donde se comparan los factores concentración (%) y temperatura (°C) para la variable respuesta capacidad de inhibición de la PPOp.264

Figura 6.6. Gráficas de superficie tridimensional donde se comparan los factores tiempo (min) y Temperatura (°C) para la variable respuesta variación de luminosidad (a) y variación de coordenada a* (b).....269

Figura 6.7. Gráficas de superficie tridimensional donde se comparan los factores concentración (%) y Temperatura (°C) para la variable respuesta variación de luminosidad (a) y variación de coordenada a* (b).270

Figura 6.8. Gráfica de superficie tridimensional donde se comparan los factores concentración (%) y tiempo (min) para la variable respuesta variación de luminosidad (a) y variación de coordenada a* (b).270

Figura 6.9. Representación de L* respecto a a* tras la inmersión de las patatas en los extractos de ajo, salvado y té verde (a) y tras 7 h a temperatura ambiente (b). Representación de L* respecto a a* a tras la inmersión (c) y tras 7 h (d).....274

Figura 6.10. Diagrama del diseño experimental para la caracterización fenólica de los extractos obtenidos con las condiciones óptimas establecidas.275

Figura 6.11. Perfil de los tiempos de retención para la recta patrón de los ácidos fenólicos: ácido (1) clorogénico, (2) cafeico, (3) p-cumarico, (4) ferúlico y (5) sinapico.280

Figura 6.12. Perfil de los tiempos de retención para la recta patrón de flavonoles: (1) miricetina, (2) quercetina y (3) kaempferol.280

Figura 6.13. Perfil de los tiempos de retención para la recta patrón de 3-flavanoles: (1) ácido gálico, (2) (+)catequina, (3) (-)epigallocatequina (EGC), (4) (-)epigallocatequin galato (EGCG), (5) cafeína, (6) (-)epicatequina (EC), (7) (-)epicatequin galato (ECG)).	281
Figura 7.1. Diseño experimental para la evaluación de la calidad de PMP tratadas con soluciones naturales basadas en extractos de té verde, ajo y salvado de trigo.	290
Figura 7.2. Evolución del % O ₂ (líneas azules) y del % CO ₂ (líneas rojas) en el interior de las bolsas de las PMP tratadas con las soluciones de té verde, ajo y salvado de trigo durante 14 días a 4 °C (IC 95 %, n=3).	295
Figura 7.3. Representación de los parámetros L* respecto a a* en el momento inicial (a), tras 7 días (b) y a día 14 (c) de almacenamiento a 4°C.	300
Figura 7.4. Representación de los parámetros L* respecto a b* en el momento inicial (a), tras 7 días (b) y a día 14 (c) de almacenamiento a 4°C.	301
Figura 7.5. Representación de los parámetros fuerza máxima respecto a distancia en el momento inicial (día 0) (a), a día 7 (b) y a día 14 (c) de almacenamiento a 4°C.	304
Figura 7.6. Apariencia de las PMP tratadas con cada uno de los extractos optimizados (té verde, ajo y salvado) respecto lonchas control.	305

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 0.1. Microorganismos implicados en el deterioro de vegetales mínimamente procesados.....	14
Tabla 0.2. Inhibidores de la reacción de oxidación producida por la PPO en función del factor al que afectan.....	20
Tabla 0.3. Legislación europea para las patatas peladas, cortadas y pre-ensadas... 27	
Tabla 0.4. Estudios de compuestos antipardecantes y la descripción de su efecto en patata mínimamente procesada.	37
Tabla 0.5. Estudio de compuestos antipardecantes aplicados en frutas y otras hortalizas.	45
Tabla 0.6. Extractos naturales estudiados como posibles antipardecantes aplicados en frutas y hortalizas.	52
Tabla 1.1. Tratamientos y soluciones usadas para el estudio del Bloque B.	83
Tabla 1.2. Análisis estadístico del pH de las muestras control y tratadas con las soluciones antipardecantes evaluadas en el Bloque A.	90
Tabla 1.3. Análisis estadístico de la variación del contenido de humedad (ΔH) y sólidos solubles totales (ΔSST).....	90
Tabla 1.4. Análisis estadístico del pH de las muestras para cada tratamiento para los días 0, 7 y 14.....	98
Tabla 1.5. Análisis estadístico de la variación del contenido de humedad (ΔH) y sólidos solubles totales (ΔSST).....	100
Tabla 1.6. Análisis estadístico del color, para las coordenadas L^* y a^*	106
Tabla 2.1. Combinación de factores aplicados a las PMP (cv. <i>Monalisa</i>).	116
Tabla 2.2. Análisis estadístico del pH de las PMP al inicio y al final del almacenamiento.	121
Tabla 2.3. Análisis estadístico del contenido de humedad (% H) y contenido de sólidos solubles totales ($^{\circ}$ Brix).	122
Tabla 2.4. Combinación de factores aplicados a las PMP (cv. <i>Monalisa</i>).	147
Tabla 2.5. Análisis estadístico del pH de las PMP.	155
Tabla 2.6. Análisis estadístico del contenido de humedad de las PMP.....	157
Tabla 2.7. Análisis estadístico del contenido de sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix).	158
Tabla 2.8. Análisis estadístico de la actividad relativa de la PMP ($\% AR$).	177
Tabla 3.1. Tratamientos evaluados en PMP (cv. <i>Monalisa</i>).....	185

Tabla 3.2. Análisis estadístico del contenido de humedad (% H) y de sólidos solubles totales (SST) de las PMP.	190
Tabla 4.1. Confidence intervals at 95 % for the estimated coefficients.	213
Tabla 4.2. Validation of DPPH conventional and microplate methods by using F of the Fisher test and t of the Student test.	216
Tabla 4.3. Repeatability, intra-laboratory reproducibility and percentage of recovery for TPC and AA with the conventional and microplate methods.	217
Tabla 5.1. Reactivos y cantidades (μ l) para la reacción de la PPOp en una microplaca.	230
Tabla 5.2. La concentración inicial (mg especia /ml extracto) de los extractos obtenidos para cada tratamiento térmico.	238
Tabla 6.1. Principales compuestos fenólicos descritos en bibliografía en té verde, ajo y salvado de trigo.	251
Tabla 6.2. Diseño de Box-Behnken de factores con valores codificados aplicado para todas las especias (ajo, salvado y té verde).	256
Tabla 6.3. Valores no codificados de los factores del diseño de Box-Behnken para el ajo.	257
Tabla 6.4. Diseño de factores Box-Behnken con los valores experimentales y pronosticados para ajo.	257
Tabla 6.5. Análisis de la varianza para las variables respuesta: % inhibición PPOp para el ajo.	258
Tabla 6.6. Valores no codificados de los factores del diseño Box-Behnken para el salvado.	261
Tabla 6.7. Diseño de factores Box-Behnken con los valores experimentales y pronosticados para salvado.	261
Tabla 6.8. Análisis de la varianza para las variables respuesta: % inhibición PPOp para el salvado.	262
Tabla 6.9. Valores no codificados de los factores del diseño de Box-Behnken para el té verde.	266
Tabla 6.10. Diseño de factores Box-Behnken con los valores experimentales y pronosticados para té verde.	267
Tabla 6.11. Análisis de la varianza para las variables respuesta: ΔL^* y Δa^* , para el té verde.	268
Tabla 6.12. Resumen de las condiciones extracción para la preparación de las soluciones cuyo destino es aplicación en PMP,	271
Tabla 6.13. Caracterización de los extractos optimizados.	272
Tabla 6.14. Contenido total de fenoles (mg EAG/l) de cada una de las extracciones en etilacetato.	276

Tabla 6.15. Tiempos de retención, espectro y ecuaciones de cada compuesto patrón....	279
Tabla 6.16. Concentraciones (mg/l) de los compuestos fenólicos identificados y cuantificados mediante HPLC para cada uno de los extractos (té verde, salvado y ajo).	282
Tabla 7.1. Análisis estadístico del pH, contenido de humedad y sólidos solubles totales definen la evolución de las PMP.	294
Tabla 7.2. Análisis estadístico de la evolución del color (L*, a* y b*) de PMP tras ser tratadas con las soluciones de inmersión de té verde, ajo y salvado trigo y almacenadas durante 14 días a 4 °C.	299
Tabla 7.3. Análisis estadístico de la evolución de la fuerza máxima (N) y distancia (mm) de las PMP.	303

LISTA DE ABREVIATURAS

AA	ácido ascórbico	IC95%	Intervalo de confianza al 95%
AAox	actividad antioxidante	IPPOp	inhibición del extracto crudo de polifenol oxidasa
AC	ácido cítrico	LOD	limit of detection
AGt	ácido poligalacturónico	LOQ	limit of quantification
AI	ácido isoascórbico	MSR	método de superficie de respuesta
AM	ácido málico	NAAP	pirofosfato sódico
AP	solución antipardeante	NAC	N-acetil-L-cisteína
BHA	hidroxianisol butilado	PAL	enzima fenilalanina amonio liasa
BHT	hidroxitolueno butilado	PC	polifenoles conjugados
C	catequina	PG	enzima poligalacturonasa
CC	cloruro cálcico (CaCl ₂)	PL	polifenoles libres
CG	catequin galato	PME	enzima pectin metilesterasa
CT	choque térmico o pre-tratamiento térmico	PMEp	extracto crudo de pectin metilesterasa
CTCa	choque térmico con cloruro cálcico	PMP	patata mínimamente procesada
CTF	contenido total de fenoles	POD	enzima peroxidasa
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl	PPO	enzima polifenol oxidasa
ds	desviación estándar	PPOp	extracto crudo de la polifenol oxidasa
DS	disulfito sódico	PT	polifenoles totales
EAG	equivalentes de ácido gálico	PVP	polivinilpirrolidona
EC	epicatequina	PVPP	polivinilpolipirrolidona
ECG	(-) epicatequingalato	RP	respuesta pronosticada
EDTA	ácido etilendiaminotetraacético	SAPP	pirofosfato de ácido sódico
EGC	(-) epigalocatequina	SAS	sulfato de ácido sódico
EGCG	(-) epigalocatequingalato	SP	sorbato potásico
ES	eritorbato de sodio	SST	sólidos solubles totales
ET	equivalentes de trolox	THBQ	butil hidroquinona terciaria
GC	galocatequina	TPA	análisis de perfil de textura
GCG	galocatequin galato	TV	té verde
GSH	glutatión reducido		
H/A	baño de hielo		
HL	hielo líquido		
HR	4-hexilresorcinol		

RESUMEN

La utilización de sulfitos en hortalizas y frutas de consumo directo fue restringida por la FDA, ya que podían causar problemas en la salud. En la actualidad, en patatas mínimamente procesadas están permitidos los sulfitos debido a que estos desaparecen con el cocinado. Sin embargo, la tendencia en los últimos años es reducir o evitar su uso, motivo por el cual ha sido necesario llevar a cabo estudios en busca de una alternativa a este agente conservante.

En el presente estudio se evaluaron diferentes técnicas de conservación, lo más naturales posibles, para mantener la calidad de patatas (cv. *Monalisa*) mínimamente procesadas almacenadas durante 14 días a 4 °C.

Para ello dos estrategias fueron planteadas, por un lado la utilización de compuestos o soluciones antipardeantes, naturales o sus derivados. Por otro lado, la aplicación de modificaciones en el procesado, en combinación o no con compuestos antipardeantes. En todos los casos, el estudio se realizó en patatas laminadas de 5 mm de espesor, envasadas en aire y almacenadas 14 días a 4 °C.

Entre las alternativas estudiadas se encontraron el uso combinado de 4-hexilresorcinol con ácido ascórbico y de N-acetil-L-cisteína con ácido cítrico; la aplicación combinada de modificadores de la textura, como el cloruro cálcico o un pre-tratamiento térmico, con una solución antipardeante; y la utilización de diferentes extractos de especias, atendiendo a su capacidad para inhibir la enzima PPO y su potencial antipardeante.

Los resultados indicaron que la solución antipardeante 0,005 % HR + 2 % AA mantenía la calidad de las PMP durante 14 días a 4 °C. Se comprobó que la aplicación de un choque térmico (entre 50 y 65 °C durante 5 min) en lonchas de PMP activa la reacción de la enzima PME, lo que se traduce en un aumento de la dureza tras el cocinado, siendo el efecto más marcado a mayor temperatura del pre-tratamiento térmico. Además, se observó que la aplicación de la solución antipardeante 0,005 % HR + 2 % AA controlaba el pardeamiento enzimático que aparecía tras la aplicación de los choques térmicos, ya que se produce un mayor deterioro de la calidad visual a mayor temperatura de CT.

Asimismo, añadir cloruro cálcico (2 %) en el agua que se usa para el choque térmico, tuvo mayor efecto sobre la calidad visual de las lonchas que sobre la textura en sí misma, excepto a la temperatura de CT 65 °C donde se observó inicialmente un incremento en la dureza de las lonchas tras ser cocinadas. En general, el uso de un choque térmico a 50 °C-5 min previo a la aplicación de la solución 0,005 % HR + 2 % AA, fue la combinación que mantuvo la calidad visual de las PMP durante al menos 14 días.

En cuanto a los resultados del estudio de extractos naturales, de 14 especias evaluadas inicialmente, tan solo los extractos de té verde, ajo y salvado de trigo presentaron una capacidad para inhibir la actividad de la PPOp mayor del 50 %, en las condiciones establecidas. Se realizó una optimización de sus extracciones en agua. Sin embargo, solo las soluciones de té verde y ajo fueron capaces de controlar el pardeamiento enzimático de PMP durante los 14 días de almacenamiento a 4 °C, en las condiciones establecidas. Estos resultados indican que el té verde y el ajo poseen compuestos con capacidad para inhibir la reacción de la principal enzima responsable del pardeamiento enzimático en patatas.

ABSTRACT

The use of sulfites was restricted by the FDA in fruits and vegetables for direct consumption, due to their potential hazard for consumers. However, sulfites are still allowed in minimally processed potatoes because they are eliminated during the cooking process. Nevertheless, the current trend to reduce or avoid its use, made necessary to carry out studies to find alternatives to this preservative.

In this research work, different preservation techniques to maintain the quality of minimally processed potatoes (cv. *Monalisa*) stored for 14 days at 4 °C, were evaluated.

On the one hand, the use of antibrowning compounds, natural solutions and its derivatives was studied whilst on the other hand, modifications of the preparation process, combined or not with antibrowning compounds, was also evaluated. In all the cases, the study was carried out on 5 mm thick sliced potatoes, packed under air and stored for 14 days at 4 °C.

In the first block of experiments, the combined use of 4-hexylresorcinol with ascorbic acid and of N-acetyl-L-cysteine with citric acid was studied; in the second block, the combination of texture modifiers, such as calcium chloride or a heat shock, with an antibrowning solution was examined. Finally, in the third block, different extracts from spices, were evaluated for their ability to inhibit the enzyme PPO and their antibrowning potential.

The results indicated that the antibrowning solution of 0.005 % HR + 2 % AA was able in maintaining the quality of the MPP for 14 days at 4 °C. Also, it was found that the application of a heat shock (between 50 and 65 °C for 5 min) activated the PME enzyme, which in turn, provoked an increase in hardness after cooking the slices. This effect was more pronounced at the higher temperatures. At the same time, the heat shock activated the PPO, and this effect could be controlled

by the application of an antibrowning solution containing 0.005 % HR + 2 % AA. Also, the addition of calcium chloride (2 %) in the water used for the heat shock had a greater effect on the visual quality of the slices than on the texture, except at the highest temperature. In effect, at 65 °C an increase in the hardness of the slices was observed after cooking. In general, the combination of a heat shock at 50 °C for 5 min followed by the antibrowning solution was the best combination to maintain the visual quality of the minimally processed potatoes for at least 14 days.

Among the 14 natural extracts evaluated *in vitro*, only those from green tea, garlic and wheat bran showed a positive effect in inhibiting the activity of the PPO above 50 %. For these species, optimization was developed for water extractions. However, when applied *in vivo*, only the green tea and garlic solutions were able to control the enzymatic browning of the potatoes during 14 days of storage at 4 °C. These results indicated that both, green tea and garlic have compounds with capacity to inhibit the reaction of the PPO, the main enzyme responsible for the enzymatic browning in potatoes.

ANTECEDENTES

ANTECEDENTES

1. Generalidades de la patata

La patata (*Solanum tuberosum* L.) pertenece a la familia de las Solanaceae, la cual también incluye al tomate, pimiento, berenjena y tabaco. Es una planta dicotiledónea y potencialmente es perenne debido a su capacidad de reproducirse por tubérculos, los cuales constituyen los órganos comestibles.

La patata es uno de los principales alimentos en el mundo y ocupa el cuarto lugar en importancia después del arroz, el trigo y el maíz (FAO 2012).

Es un alimento rico en hidratos de carbono, principalmente almidón y fécula de fácil digestión, y su parte proteica presenta un alto contenido en aminoácidos y proteínas de alto valor biológico. Posee cantidades significativas de vitamina C y una importante proporción del complejo B (B₁ y B₆), además de ser rica en fibras vegetales. La piel de la patata concentra las vitaminas pero también tóxicos, por ello hay que almacenarlas en la oscuridad para evitar el reverdecimiento, que puede acumular elementos tóxicos como la solanina (Illescas et al. 2008, USDA 2008).

Las patatas del cv. *Monalisa* son tempranas, de forma ovalada, de piel amarilla y lisa, ojos superficiales y carne de color amarillo claro. Poseen buena aptitud para el lavado y son flexibles para todo uso culinario como cocer, freír, etc. Tiene presencia en el mercado durante todo el año, tanto nacional como de importación, siendo una de las variedades de mayor comercialización. Ha sido clasificada como una patata de calidad (Illescas et al. 2008).

Respecto a su uso como hortaliza mínimamente procesadas, esta variedad es muy utilizada en la zona norte de España, y es quizás la patata más versátil del mercado junto con al cv. *Kennebec*. Sin embargo, generalmente se trabaja con la patata *Agria*, ya que presenta menores problemas de oxidación en comparación con otras variedades como es el caso del cv. *Monalisa*. Sin

embargo, esta última requiere poca limpieza, lo que la hace ser también muy empleada en la industria.

2. Definición de producto hortofrutícola de IV gama

Las frutas y hortalizas frescas son elementos importantes en la dieta humana, suponen importantes fuentes de sustancias esenciales como las vitaminas y los minerales en mayor medida que otros alimentos.

La denominación "IV gama" posee una amplia terminología, donde destacan los términos: mínimamente procesados (*minimally processed*), parcialmente procesados (*partially processed*), frescos cortados (*fresh-cut*), pre-cortados (*pre-cut*), preparados para consumir (*ready to eat*), preparados para cocinar (*ready to cook*), pre-preparados (*pre-pepared*) que, en esencia, son frutas y hortalizas frescas sometidas a un número mínimo de operaciones para mantener su máxima calidad.

Las definiciones de un alimento de este tipo han ido evolucionando, Shewfelt (1987) lo definió como un producto que poseía cierto valor extra por haberlo sometido a tratamientos no convencionales como dosis bajas de irradiación aplicadas a mezclas de hortalizas, galletas saladas empacadas o alimentos gourmet refrigerados; Huxsoll y Bolin (1989) consideraban el hecho de que un alimento mínimamente procesado puede ser utilizado o no para el consumo directo, sirviendo como materia prima en otros alimentos. Más recientemente, otros autores hicieron hincapié en que un alimento mínimamente procesado es aquel cuya calidad (sensorial, organoléptica y nutricional) casi no ha sido alterada después de algún tipo de procesamiento y además posee una vida de anaquel amplia (Ohlsson 1994, Tapia de Daza et al. 1996). Para el desarrollo de un alimento mínimamente procesado muchos investigadores, han aplicado el concepto de tecnología de barreras o métodos combinados, a través de la combinación inteligente de factores de conservación utilizados comúnmente,

como altas o bajas temperaturas, control del pH o de la actividad de agua, junto con nuevas tecnologías como altas presiones, ultrasonido y pulsos eléctricos, entre otras.

La Asociación Española de Frutas y Hortalizas Lavadas y Listas para su Empleo (Afhofresh) define un producto de IV gama como "los productos vegetales, frutas y hortalizas frescas preparados, lavados y envasados que han podido ser objeto de troceado, corte o cualquier otra operación relativa a la integridad física del producto, listos para consumir o cocinar y destinados al consumo humano".

El producto mantiene sus propiedades naturales y frescura, con la diferencia de que viene lavado, troceado y envasado, sin incorporar, si es posible, ningún tipo de aditivo ni conservante. Exige como requisito imprescindible el mantenimiento de la cadena de frío para su perfecta conservación y tiene una fecha de caducidad en torno a los 7 días.

Las principales ventajas de estos productos para el consumidor y el canal de la restauración son:

- **Son 100% aprovechables.**
- **Ahorro de tiempo.** Son productos listos para su consumo y prácticos, no requieren proceso de preparación previa, tanto para los hogares como para el canal de restauración.
- **Frescura.** Conservan todas las propiedades organolépticas y nutricionales de las frutas y hortalizas en fresco.
- **Comodidad.** No requieren limpieza, ni lavado. Requieren menos espacio y no generan desperdicios.
- **Saludables.** Contribuyen a llevar una dieta sana y equilibrada, debido a las propiedades beneficiosas de las frutas y hortalizas.
- **Calidad.** Son productos sometidos a estrictas normas de calidad y seguridad alimentaria.

- **Mayor variedad.** Esta categoría ofrece variedades que no se encuentran fácilmente en la 1º gama.

3. Situación del mercado del sector de IV gama.

La aparición y el desarrollo de los productos de la IV Gama se produjo en los Estados Unidos a mediados de los años 70 para posteriormente trasladarse a Europa hacia 1980 (Alemania, Suiza, Francia, Holanda, etc.). España se incorpora a este mercado tardíamente, en 1989.

Actualmente, la IV gama en España está todavía por debajo de los niveles de otros países europeos. El 80 % del lineal de los supermercados se reparte entre dos grandes distribuidores, Verdifresh y Grupo Florette (Monje 2013).



Figura 0.1. Principales cifras del sector de IV gama en 2012 (t) (Fuente: Comité de Fruta y Hortalizas preparadas de Fepex).

Cabe destacar que el sector de IV gama está sufriendo las consecuencias de la crisis económica, que ha hecho que el consumidor reduzca el valor de su cesta de la compra y sea más racional en sus adquisiciones. El volumen de los productos básicos, consumidos en el hogar, cayó por primera vez en décadas durante el 2012, con un retroceso del 0,6 %. A pesar de esta situación, el

mercado de IV gama creció un 1,7 % en volumen, según el Comité de Fruta y Hortalizas preparadas de Fepex (Figura 0.1) (Monje 2013).

En España, la demanda de los alimentos de IV y V gama procede principalmente de empresas de catering y del canal de restauración, comedores industriales, centros de enseñanza, hospitales, instalaciones militares y cada vez más, los hogares.

En cuanto al canal HORECA, el retroceso en el consumo fuera de casa ha pasado factura a la hostelería, que en 2012 sufrió una disminución en el número de establecimientos del 3,2 % y del 3,3 % en el valor de sus ventas. Esto ha repercutido en la evolución de la IV gama en este canal. Mientras que en 2011 se hablaba de una mejora del 5 % en HORECA, un año después la cifra caía un 2 % (Figura 0.2). También se añade que muchos negocios de la distribución y de las colectividades se han visto afectados por la reducción en la asistencia de niños a los comedores, que junto con el descenso de clientela, ha provocado que los empleados hayan vuelto a realizar tareas en cocina que la IV gama suplía (Monje 2013).

A nivel mundial, los alimentos de IV gama son consumidos en mayor cantidad en países desarrollados, con alto poder adquisitivo y especialmente en medios urbanos. También existe un factor cultural importante, ya que, por ejemplo, la sociedad inglesa valora aspectos como la rapidez de los platos preparados, debido a su diferente cultura gastronómica respecto a países mediterráneos. En EE.UU. la media de consumo de productos IV gama por persona y año es de 30 kg y la media europea es de 3 kg. En Europa, Reino Unido va a la cabeza con 12 kg, seguido de Francia, con 6 kg per cápita, e Italia, con cerca de 4 kg. España se sitúa entre 1,5 y 2,8 kg (Alimentaria 2012).

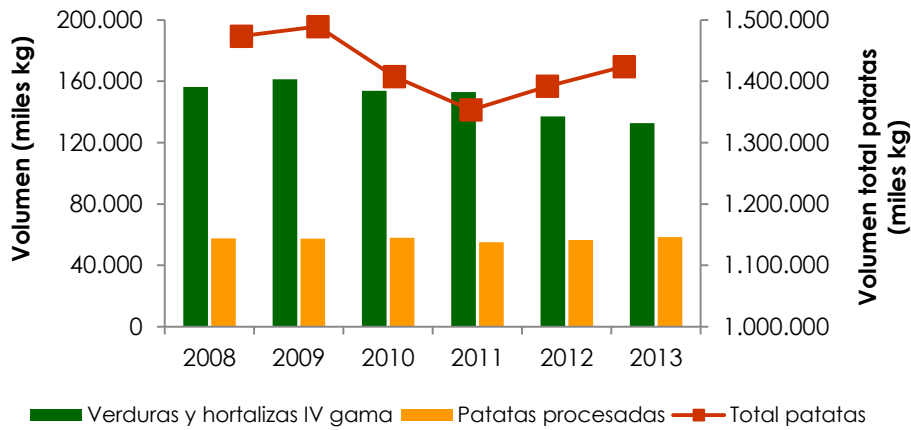


Figura 0.2. Volumen de consumo total de patatas, patatas procesadas y de verduras y hortalizas de IV gama, en hogares a nivel nacional desde 2008 hasta 2013. (Fuente: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio ambiente).

En el mercado de patata de IV gama, sin embargo, la gran mayoría de los clientes HORECA valoran positivamente las ventajas de la IV gama, ya que supone ahorro en el coste, mano de obra, tiempo y merma de producto. La patata y la cebolla ya tienen su sitio dentro de los productos IV gama. La empresa líder en patatas es "Ibérica de Patatas" con un volumen de 4200 t/año. En 2012 crearon "Patata Express" para la venta de patata pelada y cortada, con una caducidad de 10 días. Además utilizan muchas variedades de patata y tipos de corte (hasta 11), lo que les permite una mayor segmentación. La segunda empresa más importante es "Transformados de Patata de Álava" con un crecimiento en del 3 % y previsto de hasta el 5 % en 2013 (Monje 2013).

4. Operaciones de preparación de la patata mínimamente procesada

El proceso de elaboración de patata de IV Gama comienza en el campo, donde se cultiva la materia prima en las mejores condiciones (elección del cultivar, riego, labores de campo y cosechado).

La **recolección** del material vegetal debe hacerse en óptimas condiciones de higiene, en el grado justo de madurez y con el color y textura adecuados. Es un paso importante para obtener un producto de alta calidad para su distribución en el mercado.

Desde el punto de vista industrial, el proceso comienza con la **recepción y almacenamiento** de las patatas. La **selección** permite separar aquellos tubérculos que no reúnen las características mínimas de calidad. Durante la selección se elimina el material sobremadurado, defectuoso, dañado y alterado, con el fin de procesar únicamente las patatas que presenten una calidad aceptable. En estas etapas también se puede incluir un **pre-enfriamiento** para extraer el calor que contienen después de la recolección de forma rápida y reducir la temperatura para su almacenamiento. Con ello se pretende ralentizar los procesos biológicos, la senescencia y el desarrollo de daños y alteraciones.

Al inicio de la línea puede incluirse una operación de **desterrado** para la eliminación de la tierra, que puede complementarse con una fase de **lavado** con el fin de eliminar la suciedad del campo. Se recomienda realizar el lavado en agua fría (3-4 °C) y utilizar unos 8 a 10 litros de agua por cada kilogramo de producto procesado. Para la desinfección se utiliza generalmente hipoclorito de sodio.

La operación de **pelado** permite eliminar la cubierta externa de la patata, que no es comestible, con el fin de que resulte un producto más atractivo y listo para su consumo. Si bien, existen numerosas técnicas de pelado, debido a las características de naturalidad y frescura requeridas para los alimentos mínimamente procesados, sólo un reducido número de ellas puede ser utilizado.

Quedan excluidos los métodos de pelado químico (en los que se emplean ácidos, álcalis o sales), alta temperatura, congelación o presión, ya que influyen negativamente en el sabor, apariencia y textura del producto. El sistema ideal es el pelado mecánico, aunque el manual genera muchos menos daños (Bolin et al. 1977).

El **cortado** es una operación de reducción de tamaño mediante la cual, la patata adquiere el aspecto definitivo que presentará en el momento de su comercialización. Las patatas frescas se pueden cortar de formas muy diversas, siendo las más comunes en rodajas, cubos o en tiras mediante máquinas de alta velocidad.

Las operaciones de pelado y corte aceleran la actividad respiratoria. Provocan daños mecánicos y ablandamiento del tejido vegetal que los tejidos cortados constituyen barreras menos eficaces a la difusión de los gases y toleran concentraciones más elevadas de O₂ y niveles inferiores de CO₂ que en los productos intactos. De esta manera se llega a duplicar e incluso a cuadruplicar su intensidad respiratoria como respuesta al estrés del corte (Sánchez 2003). De ahí que los productos troceados deban enfriarse a 4 °C inmediatamente después del cortado.

La humedad residual y el exudado celular en la superficie de las patatas, tienden a estimular el crecimiento de hongos y bacterias, así como la oxidación enzimática, por lo que es recomendable un segundo lavado para eliminar además la fécula que se desprende durante el corte.

Inmersión en tratamiento antipardeante se utiliza para prolongar la vida útil de las patatas. El tiempo de contacto dependerá de la variedad, del tipo de corte y del tipo de envasado. En la industria existe un uso extendido de sulfitos como agente antioxidante. Sin embargo este compuesto puede provocar asma, así como sabores desagradables y una reducción del valor nutricional de las patatas (Sayavedra-Soto y Montgomery 1986, Langdon 1987, Ahvenainen, A. T.

et al. 1998, Warner et al. 2000). Lo cual ha motivado numerosas investigaciones para buscar alternativas a este producto.

El **escurrido** se realiza para eliminar los fluidos celulares que recubren el producto, eliminando el exceso de agua en el tejido. Existen diversos tipos de secado, mediante escurridores, centrífugas, tamizadoras o deshumectadores. Esta etapa es importante en la extensión de la vida útil del producto mínimamente procesado.

El **pesado y el envasado** de las patatas peladas y cortadas son las fases finales del proceso. Se busca el envase más adecuado, que incluye desde bolsas a barquetas, tarrinas o bandejas. Siempre son envases transparentes para que el consumidor pueda percibir la frescura y calidad del producto. En esta etapa también se incluiría el **etiquetado**.

El **almacenamiento** se realiza en condiciones de refrigeración hasta su consumo. La temperatura a la que tiene que estar el producto en todo el proceso, desde que se recolecta la materia prima hasta la colocación en el punto de venta debe oscilar entre los 1 y 4 °C.

5. Factores que afectan a la calidad de las PMP

5.1. Características de la materia prima

La calidad y vida útil de los alimentos procesados depende de las características fisiológicas, microbiológicas y bioquímicas del vegetal empleado como materia prima. De estas características dependerá el grado de susceptibilidad a las diferentes reacciones de deterioro.

5.2. Condiciones de procesado

El efecto del procesado es un factor muy importante, ya que dependiendo de las condiciones sanitarias y tecnológicas que se adopten, se obtendrá una mejor o peor calidad y vida útil en el alimento procesado. En el caso de las hortalizas procesadas en fresco, se aplican diferentes tratamientos simples o combinados que las salvaguarden con eficacia frente a diferentes alteraciones. Entre ellas se encuentran, fundamentalmente, las alteraciones de origen físico o mecánico (deshidratación, golpes, etc.), microbiológicas (mohos, levaduras y bacterias) y bioquímicas (pardeamiento enzimático, oxidaciones, alteraciones del aroma y el sabor, etc.). Esto es debido a que las reacciones que conducen al deterioro son aceleradas en el procesado mínimo, produciendo un impacto fisiológico, tanto más grande cuanto mayor es el grado de procesado (Ohlsson 1994, Artes et al. 2007).

5.3. Condiciones de conservación

En los vegetales mínimamente procesados, las condiciones de conservación influyen de forma determinante en su metabolismo y en la calidad del producto una vez almacenado. Es muy importante mantener la cadena de refrigeración continua durante su almacenamiento, distribución y transporte, ya que de no ser así, se producirá una pérdida irreversible de la calidad.

Otro factor muy relacionado y que también influye en el producto es el envasado. En este caso, hay que tener en cuenta el material ya que, las hortalizas mínimamente procesadas continúan respirando. Es esencial la presencia de oxígeno para que puedan mantener su integridad y calidad a través de una respiración aeróbica. Una concentración baja de O₂ (3-5 %) retarda la respiración y prolonga la vida útil (Ohlsson 1994). En patatas mínimamente procesadas las concentraciones recomendadas para la atmósfera del envase son 1-3 % O₂ y 6-9 % CO₂. Si descienden los valores de oxígeno y el CO₂ aumenta, el producto tendrá que generar energía por medio

de respiración anaeróbica, cuyos compuestos finales dan origen a sabores y olores anormales, produciendo una pérdida de la calidad del producto final (Gorny, J.R. 2003).

6. Causas de deterioro de las PMP.

La pérdida de calidad de productos mínimamente procesados puede ser originada por diversas reacciones. Éstas se pueden clasificar en cuatro grupos dependiendo de si su origen es microbiológico, enzimático, químico o físico y son las responsables de los cambios de color, aroma, textura y valor nutricional del alimento. Sin embargo, el pardeamiento y el desarrollo de microorganismos son los problemas más importantes causantes de la pérdida de la calidad y de la vida útil (Kabir 1994, Varoquaux y Wiley 1994).

6.1. Deterioro microbiológico

Debido a sus consecuencias para el consumidor final, la seguridad alimentaria es uno de los aspectos más importantes en la industria agroalimentaria. El desarrollo microbiano en los alimentos puede producir ciertos cambios no deseados y en las características sensoriales del producto, en ciertos casos, el alimento puede llegar a ser inadecuado para el consumo. Algunas de las operaciones realizadas durante el procesado de la patata, como el pelado o el cortado, provocan una pérdida de jugos celulares y exudados, los cuales constituyen pueden ser un buen sustrato para el desarrollo microbiano (Tabla 0.1).

La flora microbiana presente en un vegetal mínimamente procesado dependerá del contenido de nutrientes, tipos de células, de los microorganismos presentes antes y después del procesado, de los efectos del propio proceso y envasado y de las condiciones de almacenamiento (Alzamora et al. 1998).

Hay ciertos microorganismos (indicadores) que son utilizados en el control de la seguridad y calidad microbiológica de los alimentos. En productos mínimamente procesados, son los microorganismos aerobios mesófilos y psicrótrofos los

utilizados para estimar la flora total (Gunes y Lee 1997, Laurila et al. 1998). Esto se debe a que estos microorganismos revelan la calidad sanitaria del alimento, el grado de contaminación de la materia prima, las condiciones sanitarias durante el procesado mínimo y si las condiciones de temperatura y de tiempo empleadas han sido las adecuadas. Además, pueden ser utilizadas para la predicción de la vida útil en condiciones de almacenamiento (Tabla 0.1).

Tabla 0.1. Microorganismos implicados en el deterioro de vegetales mínimamente procesados.

Factor de deterioro	Tipo	Efectos	Prevención y control
Microorganismos patógenos	<i>Salmonella</i>	Gastroenteritis	Mantener baja temperatura durante el proceso.
	<i>E.coli</i>		
	<i>Y. enterocolitica</i>		
	<i>L. monocytogenes</i>	Meningitis	
	<i>S. aureus</i>	Enterotoxinas	
Otros microorganismos	<i>C. botulinum</i>	Botulismo	Lavado y desinfección.
	<i>Pseudomonas especies</i>	Prodedumbre blanda bacteriana	
	<i>Erwinia especies</i>	Producción de metabolitos	Uso de buenas prácticas de manipulación.
	<i>Bacterias ácido-lácticas</i>		
	<i>Levaduras</i>		
Mohos	<i>Rhizopus</i>	Podredumbre mohosa gris, negra y blanda acuosa	Evitar medios anaerobios.
	<i>Fusarium y otros</i>		

Fuente: Perez (2003).

6.2. Textura

Junto con el color, la textura es uno de los principales atributos del producto que puede influir en la aceptación final por parte del consumidor, ya que tienen muy claro que es lo que esperan, conocen las cualidades de la materia prima.

La textura de frutas y hortalizas tiene su origen en la turgencia debida a la presión, y a la composición de las paredes celulares individuales del tejido y la

lamela media que actúa de "pegamento" mantiene unidas las células individuales. Las paredes celulares están compuestas por celulosa, hemicelulosa, sustancias pécticas, proteínas y, en el caso de algunas hortalizas, lignina (Barrett et al. 2010).

Por lo tanto, el ablandamiento es otra de las causas de pérdida de calidad de los productos mínimamente procesadas. Esto es debido principalmente a cambios estructurales en las paredes celulares. En general, se considera que la degradación enzimática de los componentes de la pared celular se debe a la acción de diversas enzimas (celulasas, hemicelulasas y las enzimas pécticas), por lo que serían las principales responsables del ablandamiento. Sin embargo, el ablandamiento no se debe solamente a la acción directa de las hidrolasas sobre los componentes de la pared celular sino también a la acción de unas proteínas, las expansinas, que permiten el acceso a las hidrolasas a sus sustratos (Cosgrove 2000).

Existen diferentes factores que afectan a la textura de las patatas; por un lado, pueden ser debidos a cambios naturales y fisiológicos debido a la maduración y la senescencia. Por otro lado, el procesado (cortado y laminado) puede inducir una respuesta inmediata del tejido hacia el daño producido, ya que facilita la puesta en contacto de enzimas y sus sustratos, además de provocar una aceleración en la respiración (Toivonen y Brummell 2008).

Otro factor es la temperatura, sin embargo, su influencia en la textura puede producirse de dos formas: ablandando los tejidos de la patata (escaldado y cocinado) con la aplicación de una temperatura alta. O puede aumentar la firmeza mediante la aplicación de pre-escaldado a baja temperatura, el cual se tratará en mayor profundidad más adelante, en apartado 8.1.

6.3. Pardeamiento enzimático

Perjudica la aceptación organoléptica, nutricional y por tanto a la calidad comercial de las patatas mínimamente procesadas. Es uno de los temas que ha recibido mayor atención por parte de los investigadores por su impacto visual (Molnar-Perl y Friedman 1990, Buta y Moline 2001, Cantos et al. 2002, Hwang et al. 2002).

La amplitud con que éste fenómeno puede suceder en la PMP depende de múltiples factores: climatológicos, de tipo cultural (abonado, momento de recolección, manejo del tubérculo, condiciones de almacenamiento, etc.) (Burton 1989), estar ligados a la variedad (Pardo et al. 2000, Cantos et al. 2002, Pineli et al. 2006) o depender de la propia constitución del tubérculo (calibre y distribución interna de las sustancias precursoras del pardeamiento) (Rousselle et al. 1998).

La producción de melanina es la principal responsable del pardeamiento de frutas y hortalizas. El proceso de pardeamiento enzimático comienza con la rotura de las membranas del tejido vegetal (Figura 0.3) (Toivonen y Brummell 2008). El estrés mecánico y físico que suele ocasionarse durante la transformación de las materias primas en productos de IV Gama, crea una señal que migra a tejidos adyacentes no dañados e induce a una serie de respuestas fisiológicas (Saltveit 2000). Se puede producir un pardeamiento severo como respuesta al estrés mecánico y físico, que induce el metabolismo fenilpropanoide dando como resultado la acumulación de compuestos fenólicos (mono y/o difenólico). Con un estrés físico o un proceso de deterioro (respuesta al daño o senescencia), la compartimentalización de las células comienza a fallar. Como consecuencia, se produce la mezcla de sustratos fenólicos (catequinas, polifenoles) con la polifenol oxidasa y/o fenol peroxidasa (Vámos-Vigyázó 1981, Jiménez y García-Carmona 1999a, b, Whitaker 2003).

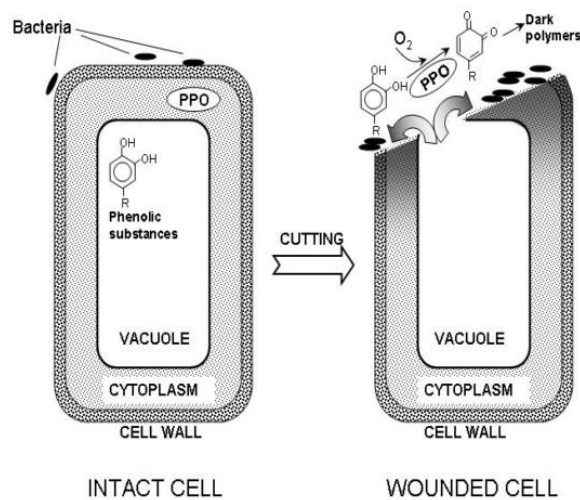


Figura 0.3. El pelado y cortado estimula la oxidación celular causando pardeamiento y crecimiento antimicrobiano en la zona dañada del tejido (Fuente: Irtwange (2006)).

La enzima PPO pertenece a las Oxidoreductasas, y han sido clasificadas por la Comisión de Enzimas (EC) con el número 1.10.3.1 y el EC. 1.14.18.1 ya que actúan sobre difenoles con oxígeno como aceptor (Vámos-Vigyázó 1981). La polifenol oxidasa también es conocida como tirosinasa, fenolasa, catecol oxidasa, o-difenoloxidasa, monofenol oxidasa o cresolasa, dependiendo principalmente de su especificidad al sustrato. Actúan sobre dos tipos de sustratos: monohidroxifenoles como por ejemplo el p-cresol, hidroxilándolos en posición orto con respecto al grupo hidroxilo original (EC 1.14.18.1), y sobre o-dihidroxifenoles tales como el catecol, oxidándolos a benzoquinona por eliminación de hidrógenos del grupo hidroxilo (EC 1.10.3.1) (Vámos-Vigyázó 1981, Zawistowski et al. 1991). En el caso de la patata, se dan ambas reacciones, sin embargo, es la reacción de la o-difenolasa la que predomina (Yoruk y Marshall 2003).

El pardeamiento consiste, básicamente, en la transformación por oxidación de sustratos fenólicos a o-quinonas. Puede catalizar dos tipos de reacciones diferentes: **(1)** ortohidroxilación de monofenoles produciéndose o-difenoles y **(2)** oxidación de los o-difenoles para producir o-quinonas (Figura 0.4). Estas últimas son moléculas muy reactivas de rápida condensación, se combinan con grupos amino o sulfidrilo de las proteínas y con azúcares reductores, mediante una reacción no enzimática, dando lugar a polímeros pardos, rojizos y negros de alto peso molecular y estructura desconocida, llamadas melaninas. La forma en que los sustratos fenólicos naturales contribuyen al pardeamiento enzimático depende de su localización y su concentración, además de influir en la intensidad del color de los pigmentos macromoleculares obtenidos de las diferentes quinonas formadas.

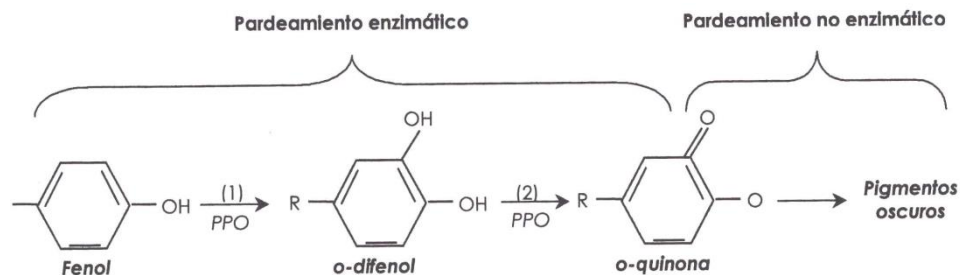


Figura 0.4. Esquema de la reacción de la PPO que desencadena el pardeamiento enzimático en la patata (Fuente: Trujillo (2004)).

La formación de o-quinonas es reversible en presencia de agentes reductores, mientras que la polimerización posterior es irreversible (McEvily et al., 1992). Esta polimerización ocurre mediante reacciones no-enzimáticas conocidas como reacciones de Maillard.

Los productos de la oxidación de compuestos fenólicos tienen potencial para interactuar con las proteínas de los alimentos lo que conduce a condensaciones

covalentes (Mathew y Parpia 1971, Nicolas et al. 2003). Estas reacciones de enlaces cruzados podrían provocar cambios en las características estructurales, funcionales y nutricionales de las proteínas, por lo que produciría una reducción en el valor nutritivo de las proteínas, debido a interacciones de las quinonas con cadenas laterales de aminoácidos esenciales de las proteínas vegetales. Los grupos -SH y -NH en los aminoácidos son en su mayoría susceptibles de enlazarse mediante las quinonas. Además, las proteínas de los alimentos que contienen grupos fenólicos tirosina o que están unidos a un ácido fenólico a través de un vínculo pseudo-peptídico, también están sujetos a modificaciones que les haría comportarse como sustratos para PPO (Matheis y Whitaker 1984).

1.6.1.1 Factores y mecanismos de inhibición de la reacción producida por la PPO

La inhibición de la PPO y la prevención del pardeamiento enzimático son a menudo tratadas como la misma cosa. Sin embargo, existen diversas formas de controlar el pardeamiento **(a)** inhibiendo la enzima, **(b)** eliminando uno de los dos sustratos de la reacción (oxígeno o polifenol), **(c)** reaccionando con los productos de la acción de la enzima, para inhibir la formación de los pigmentos coloreados procedentes de pasos secundarios de la fase no-enzimática. Además, hay que tener en cuenta que PPO es una metaloproteína con ión Cu^{+2} en su centro activo.

A veces es difícil distinguir el mecanismo por el cual se previene el pardeamiento enzimático, ya que algunos inhibidores actúan simultáneamente en la enzima y en el sustrato o producto (Walker 1975). A continuación se muestra una tabla (Tabla 0.2) que resume los principales modos de acción en la inhibición de la reacción de PPO y ejemplos para cada uno de ellos.

Tabla 0.2. Inhibidores de la reacción de oxidación producida por la PPO en función del factor al que afectan.

Factor	Modo de acción	Métodos y Compuestos
Sustratos	(1) Reducción del O ₂ o cambio en la relación O ₂ /CO ₂ /N ₂	(1) Atmósferas modificadas o controladas.
	(2) Eliminación física del O ₂ en el tejido.	(2) Ciclodextrinas, siropes, impregnación al vacío. Recubrimientos comestibles.
	(3) Eliminación de compuestos fenólicos	(3) modificación enzimática (o-metil-transferasa).
Enzima	(4) La acidificación o alcalinización	(4) Uso de acidulantes, son más sensibles al pH ácido: AC, ácido fosfórico, etc. Por si solos no son muy efectivos.
	(5) Tratamientos térmicos.	(5) Uso del escaldado para inactivación de la enzima.
	(6) Quelantes	(6) Cianida, CO, fosfatos, EDTA o ácidos orgánicos (AA)
	(7) Iones inorgánicos	(7) Fluoruro, azida o borato
	(8) Ácido benzoico y algunos sustitutos de los ácidos cinámicos	(8) Inhibidores competitivos de la enzima en patata (ácidos cinámico, p-cumárico, ferulico, m-cumárico o benzoico)
	(9) Inhibidores específicos	(9) Ácidos carboxílicos aromáticos, alcoholes alifáticos, aniones, péptidos (TV), resorcinol sustituido (HR).
	(10) Otros	(10) Polímeros solubles (PVP) o antibióticos inhibidores de la biosíntesis de las proteínas, etc
Productos	(11) Acomplejantes de quinonas	(11) Cisteína, glutatión, ácido bencenosulfínico, etc.
	(12) Agentes reductores	(12) AA, SO ₂ , metabisulfito sódico o potásico, 2-mercaptoetanol, etc.
Otros	(13) Inhibidores individuales	(13) KCN y NaN ₃
	(14) Tratamientos enzimáticos	(14) oxigenasas, o-metil transferasas o proteasas.

Tabla realizada en base a (Vámos-Vigyázó 1981, Zawistowski et al. 1991, Parkin 2008)

La disponibilidad de estos tres factores (enzima, O₂ y sustrato adecuado), su concentración, la naturaleza y la especificidad de los compuestos fenólicos, el pH, la temperatura, actividad de agua y la cantidad de O₂ disponible en el tejido definen la velocidad a la que va a ocurrir la reacción y, por tanto del pardeamiento de los tejidos vegetales. También existen diferentes factores intrínsecos del vegetal que intervienen en la intensidad del pardeamiento, como la especie, la variedad y su estado fisiológico (Ahvenainen, R. 1996).

A continuación se van a explicar los diferentes modos de acción y los compuestos más comunes que se pueden utilizar para el control de la reacción de PPO o de sus productos (resumido en la Tabla 0.2):

1. Reducción del O₂ disponible para la reacción:

- El uso de **atmósferas modificadas y controladas** e incluso la aplicación de vacío parcial. Según algunos estudios, parece que las atmósferas por si solas no controlan lo suficiente el pardeamiento y, por tanto la calidad visual aunque en combinación con otras tecnologías es posible conseguir resultados aceptables (Gunes y Lee 1997, Laurila et al. 1998, Beltrán et al. 2005, Limbo y Piergiovanni 2006, 2007, Angos et al. 2008, Ma et al. 2010). Un vacío total no debe ser usado con los vegetales, ya que se induciría a la anaerobiosis, lo que puede provocar malos olores y sabores.
- **Control directo y superficial del tejido:** para ello se pueden usar **ciclodextrinas**, las cuales son oligosacáridos con propiedades protectoras debido a su habilidad para formar complejos de inclusión de moléculas dentro del núcleo hidrofóbico o ligeramente apolar (Alvarez-Parrilla et al. 2007, Lante y Zocca 2010). También se pueden aplicar **recubrimientos y films comestibles** para el tratamiento superficial de los productos mínimamente procesados, los cuales pueden regular causas de deterioro del producto como serían el intercambio gaseoso o de vapor de agua del producto.

2. Reacciones sobre la enzima:

- Con el uso de **acidulantes** como ácidos orgánicos acidificando el tejido. El pH óptimo de la PPO se encuentra entre 5 y 7, siendo especialmente sensible a la bajada del pH. Sin embargo, el control del pardeamiento enzimático únicamente por acidificación es muy difícil, a menos que sea a pH muy bajos (Vámos-Vigyázó 1981).
- Mediante **tratamientos térmicos** severos (escaldado o esterilización para inactivar la enzima) no es posible en el caso de los vegetales de IV gama, ya que no se ajustaría a la definición de procesado mínimo.
- Aplicación de **compuestos quelantes**, los cuales actúan sobre el Cu^{+2} del centro activo de la PPO, creando un complejo con los agentes prooxidativos de la enzima, como son los iones de cobre o hierro, lo que provocaría su inactivación, o reduciendo la cantidad de cobre disponible para su incorporación dentro de la holoenzima (McEvily et al. 1992).
- **Inhibidores competitivos de la PPO:** por ejemplo, derivados del ácido cinámico y el ácido benzoico, los cuales han sido citados por diversos autores (Vámos-Vigyázó 1981, Zawistowski et al. 1991, Yoruk y Marshall 2003, Parkin 2008). Este comportamiento sugiere que la enzima tiene dos lugares específicos y separados, uno para el sustrato y otro para el inhibidor, muy cerca uno del otro (Pifferi y Cultrera 1974, Walker 1975). Duckworth y Coleman (1970) indicaron que el sustrato y el inhibidor son dependientes entre sí, es decir, según la estructura de uno la efectividad del otro se verá aumentada o disminuida. Poseen dos lugares para sustratos, uno que tiene alta afinidad por compuestos aromáticos, incluidos los sustratos fenólicos, mientras que el otro probablemente contiene el cobre de la enzima, el cual sirve para la unión de agentes que se unen al metal y el oxígeno. Los inhibidores que son ácidos aromáticos necesitan un grupo carboxilo libre en el anillo de benzeno o en su posición conjugada. Las cadenas abiertas de los ácidos deben tener al menos dos grupos conjugados

de etileno para ser activos. La metilación baja tanto la inhibición como el valor de K_i . Se llegó a la conclusión que la hidroxilación o la metilación del núcleo de benceno del inhibidor afecta a la competición con el lugar de catálisis (Walker 1975).

- **Inhibidores específicos de la PPO**, como el 4-hexilresorcinol, un derivado del resorcinol, que además posee cierto efecto sinérgico cuando se combina con ácido ascórbico (Luo y Barbosa-Cánovas 1996, Luo y Barbosa-Canovas 1997, Arias et al. 2007a, Arias et al. 2007b), ya que éste reduce las quinonas y el HR actúa sobre la PPO. Es un compuesto GRAS (Frankos et al. 1991), soluble en agua, estable, no tóxico, mutagénico o carcinógeno que además es efectivo a bajas concentraciones. La legislación permite su uso como aditivo (E-586) en gambas para la prevención de la melanosis (Iyengar y McEvily 1992, McEvily et al. 1992, Monsalve-González et al. 1995, Jiménez y García-Carmona 1997, Luo y Barbosa-Canovas 1997, UE 2011).
- Pruidze y Grigorashvili (1977) encontraron que pequeños péptidos provenientes de la extracción del té verde actuaban como inhibidores fenólicos. Su efecto puede ser reversible mediante el uso de albúmina y algunos aminoácidos.

3. Acciones sobre los productos de la reacción:

- Mediante **agentes acomplejantes de las quinonas**: se acoplan a las quinonas formando compuestos incoloros estables. Esto proporciona protección permanente mientras no sean consumidos en su totalidad. En patata han sido frecuentemente estudiados la cisteína y sus derivados como el N-acetil-L-cisteína y el glutatión reducido. La cisteína tiene un efectivo poder inhibidor sobre la enzima, pero tiene efectos negativos sobre el sabor. En el caso del NAC, su grupo tiol (grupo sulfidrílo -SH) es el que confiere un efecto antioxidante y está disponible para reducir los radicales libres. Debido a esta acción es un buen inhibidor del pardeamiento enzimático, ya que reacciona irreversiblemente con las quinonas originándose tio-ésteres, que son

compuestos incoloros y no presenta el problema de sabor de la cisteína (Dudley y Hotchkiss 1989).

- **Agentes reductores:** también actúan sobre las quinonas formadas. Son consumidos durante el proceso de reacción, por lo que dan protección de forma temporal, excepto si se utilizan en grandes cantidades. Los más estudiados y conocidos en patata mínimamente procesada son entre otros:
 - **Ácido ascórbico:** además de añadir un valor biológico al producto y de actuar como reductor de quinonas, también se comporta como un agente quelante del cobre y, su acción en el sistema PPO-polifenol es compleja. Además, puede ser oxidado directamente por la enzima, lo cual provoca que actúe como inhibidor competitivo. Se puede decir que su modo de inhibición es mixto (Vámos-Vigyázó 1981).
 - **Los sulfitos:** tienen un rol multifuncional en los alimentos y son tradicionalmente usados para prevenir el pardeamiento enzimático en frutas y hortalizas. Poseen un complejo modo de acción en el sistema PPO-polifenol. Inhiben el pardeamiento al combinarse de forma irreversible con las quinonas, formando compuestos incoloros y al mismo tiempo reducen la actividad de la enzima hacia ambos, mono y dihidroxifenoles.

7. Problemática en las PMP

Una de las tecnologías más extendida para preservar la calidad de los alimentos consiste en la utilización de agentes conservantes. Tradicionalmente, los más empleados en la industria agroalimentaria han sido los sulfitos, ya que son aditivos multifuncionales. Producen diversos efectos como: inhibir el pardeamiento enzimático y no enzimático, son agentes antimicrobianos, reductores, antioxidantes y pueden llegar a blanquear o decolorar las melaninas (pigmentos marrones o negros).

Sobre su mecanismo de acción, Kuijpers et al. (2012) encontraron que al extraer los compuestos fenólicos de la patata en presencia de sulfitos, el compuesto fenólico esperado, principalmente ácido clorogénico, no se encontró en el material extraído, sin embargo se encontraron sus derivados sulfonados. Por lo que han propuesto que la formación de o-quinonas catalizadas por la PPO es un requisito previo para la formación de estos sulfofenoles y, que la formación de estos compuestos podrían ser los responsables de la inhibición del pardeamiento.

La aplicación de sulfitos en productos mínimamente procesados se realiza con frecuencia añadiendo metabisulfito y disulfito sódico o potásico, los cuales actúan principalmente como inhibidores de la PPO y como agentes antimicrobianos, siendo más efectivos en condiciones ácidas (pH 3-5).

Al adicionar los sulfitos a los alimentos entran en contacto con su medio acuoso y sufren un proceso de disociación por el que los oxoaniones se separan de sus cationes, dependiendo del pH, la fuerza iónica y de la temperatura del medio. Se genera un equilibrio químico dinámico entre especies (dióxido de azufre, ácido sulfuroso y aniones sulfito y bisulfito), de forma que todas coexisten pero en distintas proporciones. Parte del sulfito disociado (mayoritariamente la forma bisulfito o HSO_3^-) puede unirse a ciertos componentes del alimento de forma reversible o irreversible. Dicha fracción se denomina sulfito combinado, siendo la fracción de sulfito no ligada al alimento el sulfito libre, el cual permanece en

forma disociada y en equilibrio dinámico. El conjunto de ambas fracciones se denomina sulfito total (Ávila 2011).

A pesar de su amplio uso y de su eficacia como conservantes, a los sulfitos se les atribuyen diversos efectos adversos en humanos, relacionados con su ingestión, particularmente en personas sensibles o vulnerables a los mismos. Afectan principalmente a algunos individuos asmáticos (5-10 %) y a personas con un trastorno que afecta al metabolismo de sulfitos caracterizado por un déficit de la enzima sulfito-oxidasa, habiéndose registrado en asmáticos reacciones adversas como dermatitis, dolor de cabeza, irritación del tracto gastrointestinal, urticarias, exacerbación del asma e incluso shock anafiláctico y en el caso del trastorno metabólico, hasta lesiones oculares y daño cerebral grave (Ávila 2011).

Por este motivo, en 1986 la FDA (Food and Drug Administration, U.S) restringió parcialmente su uso como conservante en frutas y verduras frescas (Sayavedra-Soto y Montgomery 1986, Langdon 1987, Ahvenainen, A. T. et al. 1998, Warner et al. 2000). Sin embargo, en el caso de las patatas, el empleo de este agente no ha sido prohibido, al tratarse de un alimento que no se consume directamente, sino que requiere cocción previa en donde el anhídrido sulfuroso (principal compuesto de los sulfitos) se pierde por evaporación.

7.1. Legislación vigente para patatas mínimamente procesadas.

En el caso de la patata procesada, la legislación europea (UE 2011) permite el uso de sulfitos con una dosis máxima de 50 mg/l entre otros compuestos, los cuales se indican en la Tabla 0.3.

Tabla 0.3. Legislación europea para las patatas peladas, cortadas y pre-envasadas.

Nº E	Compuesto	Dosis máxima
E 220-228	Dióxido de azufre y sulfitos	50 mg/kg SO ₂
E 296	Ácido málico	<i>quantum satis</i> *
E 300	Ácido ascórbico	<i>quantum satis</i>
E 301	Ascorbato sódico	<i>quantum satis</i>
E 302	Ascorbato calcico	<i>quantum satis</i>
E 330	Ácido cítrico	<i>quantum satis</i>
E 331	Citratos de sodio	<i>quantum satis</i>
E 332	Citratos de potasio	<i>quantum satis</i>
E 333	Citratos de calcio	<i>quantum satis</i>

Fuente: Reglamento UE 1129/2011. * "la cantidad adecuada"

8. Técnicas para la conservación de PMP.

Los métodos de conservación comúnmente empleados en patata mínimamente procesada son, además de mantener la cadena de frío desde el procesado hasta el consumidor final, la aplicación de agentes conservantes y el envasado en atmósferas modificadas (Ahvenainen, R. 2000). La eficacia de estos métodos aplicados de forma individual o combinados (tecnología barrera), se basa fundamentalmente en su capacidad para inhibir o controlar las reacciones de pardeamiento enzimático y el desarrollo microbiano. A su vez, el efecto que estos tratamientos ejerzan sobre el color y la textura repercutirá en la calidad final del producto.

8.1. Empleo de modificadores de la textura en patata.

Respecto a la textura y como ya se comentó en el apartado 6.2, existe un comportamiento en algunas hortalizas y frutas que tiene grandes posibilidades tecnológicas como sustituto de agentes químicos, el choque térmico o pre-tratamiento térmico a baja temperatura.

La aplicación, en patata, de un choque térmico entre 50 y 80 °C puede producir un aumento de la firmeza de la patata tras el cocinado. Se ha intentado explicar este efecto a través de múltiples teorías: retrogradación del almidón, filtrado de amilasa, estabilización de la lamela media y de la pared celular por la activación de la pectin metilesterasa (PME), y por la liberación de calcio del almidón gelatinizado y la formación de puentes de calcio entre moléculas peptídicas; sin embargo es muy probable que ninguna de ellas por sí sola pueda explicar este fenómeno (Andersson et al. 1994).

En cuanto a las enzimas pécticas que intervienen en el efecto observado en la textura de las patatas, hay que indicar que existen dos grupos principales: la pectin metilesterasa que cataliza la ruptura del metilester de los ácidos poligalacturónicos y el grupo denominado Poligalacturonidasas (por ejemplo, PG), que hidrolizan los enlaces glicosídicos de los ácidos poligalacturónicos. La función de la PME es desesterificar la pectina haciéndola más fácil de degradar para la PG.

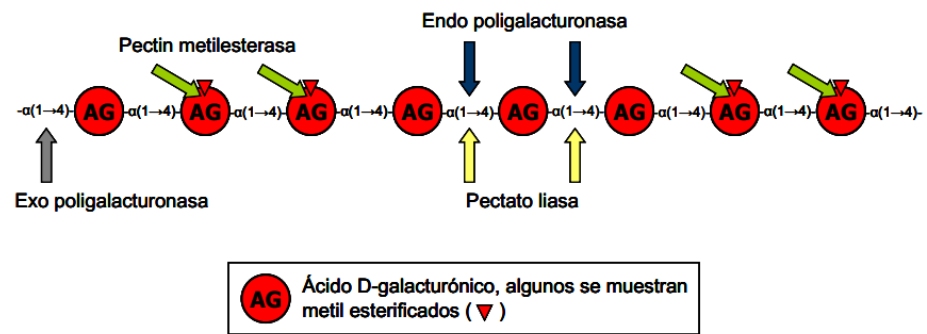


Figura 0.5. Principales enzimas que actúan sobre el homogalacturonano, donde algunos residuos de ácido galacturónico se encuentran metil-esterificados. Adaptado por Rosli (2007) (Fuente Somerville et al. (2004))

La PME es una enzima altamente específica que elimina los grupos CH_2 hidrolizándolos de $-\text{COOCH}_3$ y dejándolos como $-\text{COOH}$, por lo que hidroliza casi exclusivamente los enlaces metil-éster de las cadenas peptídicas (Figura 0.5). El resultado es un aumento de los grupos carboxilos disponibles para reaccionar con iones bivalentes como Ca^{2+} y Mg^{2+} , lo que produce una disminución de la solubilidad de la pectina, más pronunciada en presencia de sales de calcio (Adams 1991, Andersson et al. 1994, Stanley et al. 1995). Por lo tanto, aumenta el número de puentes pectato-calcio (Figura 0.6), lo cual refuerza la estructura de la pared celular, mejorando la resistencia del tejido a degradación térmica. Así que el calcio está relacionado con el mantenimiento de la calidad textural (Bartolome y Hoff 1972, Tijksens et al. 1997).

En cuanto a su temperatura de inactivación la PME presenta dos fracciones: una parte lábil que representa entre el 80-83% del total de enzimas y es inactivada entre $65\text{ }^\circ\text{C}$ y $70\text{ }^\circ\text{C}$; y una parte resistente que representa entre el 17- 20 % y se inactiva entre $70\text{ }^\circ\text{C}$ y a $T^\circ >75\text{ }^\circ\text{C}$ (Andersson et al. 1994, Anthon, G. E. et al. 2005).

El nivel de metilesterificación, controlada por la PME, afecta indirectamente a la textura, ya que los grupos ácidos libres en las regiones desesterificadas de las cadenas de ácido poligalacturónico pueden unirse al calcio (Figura 0.6). A su vez, este calcio puede unir entre sí las cadenas pécticas de la lamela media, creando así una mayor adhesión célula a célula y consiguiendo una textura más firme (Anthon, G. E. et al. 2005).

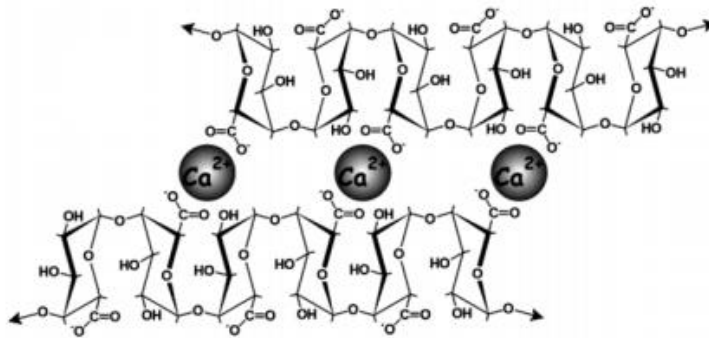


Figura 0.6. Interacción mediante puentes de Ca^{2+} entre grupos carboxilo no esterificados de dos cadenas de homogalacturonanos.

Adaptado por Rosli (2007) (Fuente: Vincken et al. (2003))

8.1.1. Pre-tratamiento térmico como modificador de la textura.

Gonzalez-Martinez et al. (2004) determinaron que un escaldado entre 60 y 70 °C inducía a la activación de la PME en patata en cuanto el tejido alcanzaba una temperatura media de 50 °C. El grado de actividad de la PME en el tejido escaldado dependía del "tiempo efectivo de exposición" a la temperatura en la que la activación/desactivación tenía lugar. En este caso, la activación ocurrió durante los primeros dos minutos de escaldado, mientras que periodos más largos indujeron a una desactivación de la enzima en el tejido.

La activación de la PME se da a una temperatura entre 50-70 °C (Andersson et al. 1994), siendo la temperatura óptima a los 55 °C. Además, el pH también es

importante a la hora de la actividad enzimática, ya que es activa a pHs entre 6,5-8,5 encontrándose su óptimo entre 7-7,5.

Según la bibliografía, el pH tiene un efecto muy significativo sobre la efectividad del calcio aplicado para el mantenimiento de la firmeza de tejidos vegetales. Pastor et al. (2006) afirmaron que el pH influye sobre el enlace cálcico-pectina, ya que, en los medios básicos las sales de calcio son menos solubles. McFeeters y Fleming (1989) observaron que el calcio inhibe la velocidad de ablandamiento de los tejidos celulares a un pH 5 y que al disminuir inhibe el ablandamiento. Hughes y Grant (1975) también investigaron el efecto del pH y de los iones de calcio en patata cocinada, viendo que la presencia de calcio en el agua de cocción tiene un efecto mucho mayor si el pH está en torno a 4,5 y va disminuyendo su efecto conforme el pH aumenta. Estos autores, también observaron que este efecto reafirmante puede desaparecer si el tiempo de cocción es excesivo. A pH 6 cocciones mayores a 5 minutos hacen que el efecto del calcio sea casi nulo.

Existen múltiples estudios donde se ha investigado los diferentes efectos del choque térmico en diversas frutas y hortalizas, como por ejemplo, en lechuga (Loaiza-Velarde et al. 1997, Martín-diana et al. 2005, Martín-Diana et al. 2006, Moreira et al. 2006, Roura et al. 2008); en apio mínimamente procesado (Loaiza-Velarde et al. 2003); tomates y judías verdes (Anthon, Gordon E. y Barrett 2005, Anthon, G. E. et al. 2005); y, en frutas, como melón (Bett-Garber et al. 2010, Casas-Forero y Cáez-Ramirez 2011), pera (Abreu et al. 2003) o kiwi (Beirão-da-Costa et al. 2008).

En patata existen múltiples estudios sobre el efecto de choque térmico sobre la textura y otros atributos, por ejemplo, Abu-Ghannam y Crowley (2006) estudiaron el uso del CT entre 60 y 100 °C durante 5 a 60 min en patatas enteras y establecieron que el CT a 65 °C-15 min la actividad de la PME era óptima y además observaron un incremento en la firmeza de la patata tras cocinarla. A 75 °C-15 min o tras 5 min a 80 o 90 °C la enzima comenzó se inactivó. Sin embargo,

Canet et al. (2005) establecieron que un CT a 60 °C durante 60 min previo al cocinado de la patata producía un aumento de la firmeza de las patatas cocidas y este aumento se debía principalmente a la actividad de la PME. Aguilar et al. (1997) también encontraron que un choque térmico de entre 60-65 °C y 30-45 min producía un aumento en la firmeza y los parámetros de TPA (masticabilidad y cohesividad) de las patatas una vez fritas.

Montanez-Saenz et al. (2003) estudiaron los cambios bioquímicos y de textura de la patata, y ellos también establecieron que la aplicación de un CT entre 60-65 °C durante 30-40 min presentaba una alta actividad de la PME y que a mayor actividad más bajaba el pH. Explicaron que el uso de 70 °C producía la gelatinización del almidón por lo que aumentaba el contenido en azúcares reductores y disminuía la firmeza.

Van Dijk et al. (2002) estudiaron el efecto de un CT sobre la química de la pared celular y la textura, estableciendo que a 60 °C y aumentando el tiempo del pre-tratamiento térmico (hasta 60 min) la firmeza de la patata aumentaba tras el cocinado. También hallaron que a mayor contenido de materia seca, más efectivo era el CT. Y por último, explicaron cómo el CT producía la activación de la PME, esto produce la degradación de la pectina, lo que aumenta el material de la pared celular, y se traduce un efecto sobre la textura de las patatas.

Además, Verlinden et al. (2000) establecieron que tanto la aplicación de un choque térmico como el cocinado disminuyen los valores de las propiedades mecánicas medidas. Sin embargo, determinaron que la tasa de las propiedades mecánicas tras el cocinado variaba en función del tiempo del pre-tratamiento térmico, es decir, a mayor tiempo más lentamente disminuyen las propiedades mecánicas. Por último, Alessandrini et al. (2011) estudiaron el efecto del cocinado a vapor sobre la actividad residual de las enzimas en patata cv. *Agria*, encontrando que a 55 °C la PME se mostraba activa, además destacaron el hecho de que existía mayor actividad en el exterior que en el interior del tubérculo.

8.1.2. Calcio como modificador de la textura.

Debido a lo explicado en el apartado anterior sobre las interacciones entre el calcio y tejido vegetal, han sido estudiadas múltiples sales de calcio para prevenir la senescencia y enriquecer nutricionalmente frutas y hortalizas. Martín-Diana et al. (2007) citaron en su trabajo que el carbonato y el citrato cálcico son las sales de calcio utilizadas cuando se pretende una mejora en el valor nutricional. Otras formas del calcio utilizadas en la industria alimentaria son el lactato cálcico, el cloruro cálcico, el fosfato cálcico etc., que son utilizados cuando el objetivo es la conservación y/o la mejora de la firmeza del producto (Luna-Guzmán y Barrett 2000, Alzamora et al. 2005, Manganaris et al. 2007). El cloruro cálcico también ha sido utilizado como agente conservante en frutas y hortalizas mínimamente procesados (ver Tabla 0.4).

8.1.3. Empleo de hielo líquido como método de enfriamiento alternativo

Tras el choque térmico es necesario realizar el enfriado del alimento mínimamente procesado de forma rápida hasta alcanzar la temperatura de almacenamiento (normalmente 4 °C), para evitar que el calor residual ayude a la degradación de la textura y favorezca el pardeamiento.

El hielo líquido se puede definir como una mezcla de partículas de hielo y una solución acuosa. Esta solución se compone de agua con uno o más solutos que provoquen la dispersión del punto de congelación, para permitir el descenso de temperatura a rangos negativos, y por consiguiente, la coexistencia de una fase sólida y otra líquida. Debido a estas características, el fluido se puede transportar por tubería, bombear, y almacenar en tanques.

Los sistemas de hielo líquido tiene dos ventajas principales: una rapidez de enfriamiento mayor comparada con el hielo en escamas o el agua de mar refrigerada, debido a su mayor capacidad de intercambio de calor; y la reducción del daño físico causado a los alimentos por su forma de partículas esféricas microscópicas (Piñeiro et al. 2004). Esta última ventaja del hielo líquido

frente al hielo en escamas es especialmente interesante cuando se trata de enfriamiento de alimentos mínimamente procesados, ya que el mayor problema de estos es el pardeamiento por daños físicos en la superficie del producto.

Sin embargo, los problemas de transferencia de agua y solutos, entre el hielo líquido y el producto agroalimentario, ha hecho que esta tecnología no haya sido capaz de desbancar los métodos tradicionales de enfriamiento. A pesar de ser un inconveniente, la transferencia de solutos podría intentar ser utilizada como algo positivo si la sal utilizada para la fabricación del hielo-gel fuera una sal de calcio, ya que este, como se ha comentado anteriormente, tiene efecto reforzante del tejido vegetal.

Hasta ahora, el hielo líquido se ha usado aplicaciones de almacenamiento y transporte. Sin embargo, la refrigeración y congelación de alimentos mediante hielo líquido por contacto directo, constituye un campo de estudio muy interesante.

8.2. Compuestos antipardeantes en patatas.

8.2.1. Revisión bibliográfica de los compuestos antipardeantes aplicados en patata mínimamente procesada

Existe un gran número de compuestos que han sido estudiados como posible alternativa al uso de sulfitos en las PMP. Los compuestos más ampliamente estudiados individualmente o en combinación con otros agentes son el ácido cítrico y el ácido ascórbico.

La acción de diversos compuestos aplicados de forma individual o combinado fueron estudiados, utilizando diversos formatos de patata como, por ejemplo, patata pelada entera, cortada en láminas o en tiras. Diferentes tiempos de inmersión y métodos (p. ej. impregnación al vacío), diversas temperaturas del agua así como las temperaturas de refrigeración y el tiempo de

almacenamiento (de pocas horas a 21 días). También se combinaban con el uso atmósferas modificadas o controladas, al vacío y con diversos tipos de envases y plásticos de envasar (Tabla 0.4). Y los parámetros analizados fueron desde color, textura, microbiología, pH, acidez titulable, etc., hasta la actividad enzimática de las principales enzimas que intervienen cuando una patata es como mínimo pelada (PPO, POD o PAL).

Cerca de 30 años se llevan estudiando el efecto de compuestos antipardeantes sobre frutas y hortaliza mínimamente procesadas. Inicialmente se realizaron estudios con ácidos orgánicos como son el ácido cítrico o el ácido ascórbico, individualmente o en combinación, para el control del pardeamiento enzimático de las patatas sin obtener grandes resultados (Langdon 1987, Sapers y Miller 1992, Ahvenainen, R. 1996, Laurila et al. 1998, Beltrán et al. 2005). El ácido ascórbico tiene una acción limitada por su concentración, y el ácido cítrico no tiene suficiente poder inhibitor solo bajando el pH del producto. Sin embargo, frecuentemente han sido estudiados en combinación con otros compuestos conservantes o antioxidantes, como por ejemplo, el AA en combinación con HR que mostró un efecto sinérgico (Monsalve-Gonzalez et al. 1993, Luo y Barbosa-Cánovas 1996, Luo y Barbosa-Canovas 1997, Dong et al. 2000, Guerrero-Beltrán et al. 2004).

El 4-hexilresorcinol es un compuesto m-difenólico que está estructuralmente relacionado con los sustratos fenólicos, siendo un inhibidor competitivo de la PPO (McEvily et al. 1992). Este compuesto es capaz de inhibir la actividad monofenolasa y o-difenolasa de la tirosinasa además de ser efectivo a bajas concentraciones y de poseer estabilidad química (Guerrero-Beltrán et al. 2004). El uso de HR solo o combinado con otros compuestos, como ya se ha comentado con anterioridad, ha sido estudiado en patatas (Mattila et al. 1995, Ahvenainen, R. 1996, Buta y Moline 2001, Hwang et al. 2002, Reyes-Moreno et al. 2002, Limbo y Piergiovanni 2006), en manzanas (Monsalve-Gonzalez et al. 1993, Monsalve-González et al. 1995, Luo y Barbosa-Cánovas 1996, Rojas-Graü et al.

2006, Alvarez-Parrilla et al. 2007, Rojas-Graü et al. 2008), en peras (Abbott y Buta 2002, Arias et al. 2007a, Arias et al. 2007b), en apio (Elzbieta et al. 2007) o alcachofas (Amodio et al. 2011) (ver Tabla 0.5).

Respecto a otros agentes antipardeantes, Molnar-Perl y Friedman (1990) indicaron que los derivados de la L-cisteína como el N-acetil-L-cisteína y glutatión reducido, podían ser alternativas efectivas al sulfito sódico en patata. Unos años después, Gunes y Lee (1997) establecieron que una combinación de 0,5 % cisteína y 2 % AC era una combinación efectiva en la inhibición del pardeamiento en PMP y Rocculi et al. (2007) estudiaron combinaciones de 0,5, 1 y 2 % de AC, AA o L-cisteína como antipardeantes y su efecto en la actividad metabólica de la patata.

También se realizaron varios estudios donde la adición de CC (0,1-0,2 %) se utilizaba como parte de diferentes combinaciones aplicadas en PMP (Sapers y Miller 1992, 1993, Ahvenainen, A. T. et al. 1998).

Buta y Moline (2001) combinaron el HR con NAC, AC y CC, sin embargo esta combinación no fue efectiva sobre la firmeza, debido a un cierto efecto osmótico. Solo NAC en su menor concentración fue efectivo respecto al pardeamiento. Reyes-Moreno et al. (2002) y Hwang et al. (2002), realizaron estudios con diferentes compuestos con potencial antipardeante en patata, sin embargo se estudiaban periodos muy cortos (horas) de almacenamiento.

En las siguientes tablas se recogen los principales trabajos realizados con compuestos antipardeantes en patatas mínimamente procesadas (Tabla 0.4) y en otros productos mínimamente procesados (Tabla 0.5).

Tabla 0.4. Estudios de compuestos antipardeantes y la descripción de su efecto en patata mínimamente procesada.

Diseño experimental	Resultados principales	Referencia
<p>Patatas peladas y cortadas en lonchas 6,3 mm. Inmersión de 1 min:</p> <p>0,2% SP +</p> <p>(1) 500 ppm DS</p> <p>(2) 1000 ppm DS</p> <p>(3) 0,3% AC+0,3% AA</p> <p>(4) 0,5% AC+0,3% AA</p> <p>(5) 0,5% AC+0,5% AA</p> <p>(6) 1,0% AC+1,0% AA</p> <p>Fueron envasadas en dos tipos de bolsa, desaireadas y sumergidas a 95 °C-2 s para incrementar la densidad de la bolsa.</p>	<p>Se realizaron medidas de color a los 14 y 20 días, no se detectaron cambios de color perceptibles ($E \leq 3$) con el empaque B900 al vacío. La combinación (4) resultó la más eficaz de todos los ensayos realizados, consiguiendo resultados similares a los obtenidos con DS.</p>	<p>Langdon (1987)</p>
<p>Compuestos antipardeantes: NAC, GSH, DS, Sulfidato sódico y Hidrosulfito sódico</p> <p>Mezcla de ácidos: - 1% AC + 1% AA + 0.2% Sorbato sódico. - 0.5% AC + 0.3% AA + 0.2% Sorbato sódico</p> <p>Concentraciones estudiadas: 5, 10, 25 y 50 mM.</p> <p>Dos tipos de envasado: - en placas (6 y 24h) - en bolsas de plástico (desaireadas) (2 y 5h).</p>	<p>Para patatas White Russet Burbank NAC y GSH aplicados a concentraciones de 25 o 50 mM, parecían ser tan efectivas como el sulfito sódico.</p> <p>La eficiencia de los sulfitos como inhibidores es independiente del pH de los baños tratados.</p> <p>El rango óptimo de pH NAC y GSH es de 7,20 - 7,55, respectivamente.</p> <p>La mezcla de ácidos es sólo efectiva en periodos cortos de tiempo.</p>	<p>Molnar-Perl y Friedman (1990)</p>

Diseño experimental	Resultados principales	Referencia
<p>Patatas tratadas con un método:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Convencional: 4% AA + 1% AC +1% SAPP +0,2% CC. - Experimental: 2,5% AA + 1% AC +1% SAPP +0,2% CC +1,9% AA-2-fosfato +1,5% AA-2-trifosfato + HCl o H₃PO₄ para conseguir un pH 2. <p>Almacenadas a 4 °C hasta 13 días.</p>	<p>En general el tratamiento Experimental fue más efectivo que el convencional. Pero con el tratamiento experimental se producen pérdidas de peso de entre 4-6%. Con el método convencional la pérdida es más gradual y como máximo de un 2 % en el mismo periodo.</p> <p>Las formulaciones basadas en AA mejoran los resultados reemplazando parte del AA por AA-fosfatos.</p>	Sapers y Miller (1992)
<p>Tres tipos de pelado con o sin digestión previa (NaOH): (1) con lejía, (2) por abrasión y (3) con vapor por alta presión.</p> <p>Inmersión de patatas durante 5 min. Tratamiento:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Convencional: 4% AA+1% AC+1% SAPP+0,2% CC - Experimental: 2,5% AA+1% AC+1% SAPP+1,6% AA-2-fosfato+1,5% AA-2-trifosfato, a un pH 2. <p>Patatas enteras envasadas y guardadas por 15 días a 4 °C y las patatas cortadas en cilindros y almacenadas en platos cubiertos, para reducir la deshidratación.</p>	<p>El digerir el tejido con lejía o por vapor por alta presión (17 % NaOH+35 °C durante t > 7-8 min) o una T° mayor de 49-55 °C durante 1 o 2 min, respectivamente, aumentó la vida útil de las patatas hasta 13-15 días a 4 °C, comparado con los 3-11 días en patatas no digeridas.</p> <p>La digestión con lejía y el tratamiento antipardeante convencional se mostraba como una alternativa viable al uso de sulfitos en patata pre-peladas.</p>	Sapers y Miller (1993)

Diseño experimental	Resultados principales	Referencia
<p>Patatas cv. Bintje, Van Gogh y Nicola</p> <p>Compuestos antipardeantes: AC (0,1, 0,3 y 0,5%), AA (0,1, 0,3, 0,5%), CC (0,1%), SP (0,2%), benzoato sódico (0,1, 0,3 y 0,5%), HR (0,005%) y DS (0,1 y 0,3%).</p> <p>Combinaciones: -AA+AC -AA+AC+CC -AA+AC+SP -AA+AC+benzoato sódico -AC+HR</p> <p>Inmersión de las lonchas de patata durante 1 o 3 minutos a 5 °C.</p> <p>Se analizaron tras 30, 60 y 120 min a 20 °C</p>	<p>Aumentó la susceptibilidad al pardeamiento de las patatas al aumentar el tiempo de almacenamiento antes del tratamiento.</p> <p>1) Efecto de los antipardeantes: funcionaron mejor las combinaciones de compuestos. La solución con 0,1 % AC+0,1 % AA+0,1 % benzoato sódico inhibió mejor el pardeamiento que el AC o AA individualmente, sin embargo el benzoato sódico al 0,3 o 0,5% fue bastante efectivo.</p> <p>2) Concluyeron que la susceptibilidad al pardeamiento podría reducirse con un tratamiento térmico (2 semanas a 15 °C) durante el almacenamiento de los tubérculos antes del pelado, debido a que se produjo un descenso de azúcares reductores durante ese período.</p>	Mattila et al. (1995)
<p>Patatas c.v. Russet-Burbank cortadas en tiras y sumergidas en:</p> <p>- 0,5 % L-cisteína - 2 % AC + 0,5 % L-cisteína - 5 % AA - 0,1 % metabisulfito potásico</p> <p>Se usaron tres tipos de pelado: NaOH, lejía y a mano.</p> <p>Fueron envasadas en atmósfera de 3 % O₂ + 9 % CO₂ + 88 % N₂</p> <p>Almacenamiento a 2 °C.</p>	<p>El procesado mínimo favorece el desarrollo de pardeamiento, ablandamiento y olores extraños. La aplicación de L-cisteína (0,5 %) y AC (2 %) fue una combinación efectiva en la prevención del pardeamiento enzimático.</p> <p>Estudiaron la tasa de respiración para diferentes envases, modificando la atmósfera mediante inyecciones de N₂.</p> <p>Conclusión: la mejor combinación de compuestos y la atmósfera elegida junto con un pelado con lejía o a mano lograban una vida útil de 3 semanas.</p>	Gunes y Lee (1997)

Diseño experimental	Resultados principales	Referencia
<p>Procesado con una relación de 1:3, durante 3 min a 5 °C y almacenado 7 días.</p> <p>- AC (0,1 a 0,5 %) y AA (0,1 a 0,5 %)</p> <p>Combinaciones:</p> <p>-AC+AA+benzoato sódico (0,1%)</p> <p>- AC+AA+CC (0,1 %)</p> <p>- Pelado con cuchillo o pelador carborundo</p> <p>- Atmósfera: al vacío o 20 % CO₂+80 % N₂</p>	<p>En patatas peladas, además de la pérdida de nutrientes y la pérdida de calidad microbiológica, se puede producir una pérdida de la textura debido a PME y PG.</p> <p>Se probaron dos tiempos de lavado. Con y sin tratamiento de calor (2 semanas a 15°C antes del pelado), así los niveles de los azúcares reductores disminuían.</p> <p>Aplicando el tratamiento de calor y aumentando los minutos de lavado se obtuvo menor grado de pardeamiento.</p> <p>El efecto de AC y AA fue menos eficaz que el uso de sulfitos.</p>	<p>Ahvenainen , A. T. et al. (1998)</p>
<p>Patatas cv. Van Gogh, Bintje y Fambo, tratadas con:</p> <p>AC y AA a 0,1 y 0,5 % combinados y con atmósfera modificada con 5 o 0 % O₂ y 20 % CO₂.</p> <p>Almacenadas a 5 °C hasta 7 días.</p>	<p>Establecieron que la oscuridad en el almacenamiento era importante.</p> <p>La limitación de los tratamientos fue la formación de olores y sabores extraños, debido a la respiración anaeróbica y/o de CO₂ absorbido por las lonchas de patata. Era mejor dejarlos unos minutos al aire libre para que desaparezcan</p> <p>En el cv. Fambo el pardeamiento fue un factor limitante, por lo que es menos adecuado para PMP.</p> <p>El cv. Bintje mostró buenos resultados con el uso combinado de 0,1 a 0,5 % AC y AA y la atmósfera de 20 % CO₂ + 80 % N₂. Tuvo una menor presencia de microorganismos cuando se aplican AC y AA.</p>	<p>Laurila et al. (1998)</p>

Diseño experimental	Resultados principales	Referencia
<p>Las patatas fueron tratadas (concentración M) con:</p> <ul style="list-style-type: none"> - 0,25 AC+0,50 NAC+0,001 HR - 0,25 AC+0,10 NAC - 0,25 AC+0,10 NAC+0,001 HR+0,05 CC - 0,05 AC+0,02 CC+0,23 AI+0,05 NAAP - 0,25 AC+0,25 NAC+0,001 HR <p>Almacenadas 21 días a 5 o 15 °C</p>	<p><i>Penicillium</i> fue limitante cuando el pardeamiento no apareció.</p> <p>A bajo pH (<2) disminuye significativamente la proliferación de los microorganismos.</p> <p>En cuanto a la firmeza, durante 15 días el tratamiento de menor concentración de NAC la mantuvo como la firmeza de las patatas control para ambas variedades.</p> <p>El tratamiento con CC muestra deterioro en firmeza debido al efecto osmótico. El tratamiento 0,25 M AC+0,10 M NAC no mostró cambios en firmeza pero sí deterioro en el pardeamiento.</p>	Buta y Moline (2001)
<p>Realizó una optimización de las patatas en cubos, que fueron sumergidas en una relación 1:5 a 25 °C probando diferentes concentraciones y combinaciones de:</p> <ul style="list-style-type: none"> - 1 a 4 g/L de AA. - 0,04 a 0,20 g/L de HR. <p>Para ambos se estudiaron inmersiones entre 3-6 h.</p>	<p>La búsqueda de la mejor combinación de agentes conservantes (HR y AA) y el tiempo de inmersión en patatas.</p> <p>Se realizó una optimización para cada agente conservante por separado y en su combinación.</p> <p>Las mejores combinaciones fueron:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 2,9 g/L AA durante 4,8 h. 2) 0,04 g/L HR durante 2,6 h. 3) 2,42 g/L AA + 0,15 g/L HR durante 5,41 h. 	Reyes-Moreno et al. (2002)
<p>Seis grupos químicos fueron estudiados:</p> <p>AA, ácidos carboxílicos, aminoácidos que contienen sulfuro, ácidos fenólicos, agentes coagulantes, otros compuestos.</p> <p>Incubaron las patatas por 3 h a 25 °C.</p>	<p>Los más efectivos fueron:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Agentes que contienen sodio: D-ascorbato sódico (1%) y NaCl (1%) - Ac. carboxílicos: ac. ketoglutarico (0,1 %), láctico (1 %) y oxalacético (1 %). - Ac. fenólicos: ac. clorogénico (0,1 %) - Agentes coagulantes: NaCl y MgCl ambas al 1 %. - NAC (1 %) y azúcares (0,1 %). 	Hwang et al. (2002)

Diseño experimental	Resultados principales	Referencia
<p>Patatas sumergidas durante 5 min en soluciones que contienen :</p> <ul style="list-style-type: none"> - 5 % ácido eritórico+1 % AC <p>Inmersiones de 2 min:</p> <ul style="list-style-type: none"> - 1 % Dietilentríamina pentaacético - 1 % NAC envasados en atmósfera modificada al 0,5 % O₂ y 95,5 % N₂. <p>Almacenadas a 1 o 6 °C durante 21 días.</p>	<p>Todos los tratamientos presentaron cambios en color, cierto crecimiento microbiológico y alteraciones sensoriales.</p> <p>El tratamiento con ácido eritórico+AC fue el único que se obtuvo resultados favorables al compararlo con la patata fresca tras 14 días a 1°C y 7 días a 6°C.</p> <p>La efectividad del tratamiento depende mucho de la temperatura de almacenamiento.</p>	Cacace et al. (2002)
<p>Inmersión a temperatura ambiente durante 3 min, en las soluciones que contienen:</p> <p>0,5, 1 o 2 % de AC, AA o L-cisteína</p> <p>Se analizaron tras la aplicación de los tratamientos (0 h) y a las 24 h a 20 °C y en una atmósfera saturada.</p>	<p>Todos los tratamientos antipardecantes aumentaron la producción de calor metabólico. Este efecto fue más alto con L-cisteína, la cual fue también la sustancia más efectiva en la inhibición del pardeamiento enzimático.</p> <p>El aumento de la actividad metabólica depende de la concentración y puede estar correlacionado con una disminución en la concentración de azúcares en el tejido, mostrando cierta evidencia de que las sustancias utilizadas para la prevención del pardeamiento enzimático pueden tener efectos fisiológicos en el tejido</p>	Rocculi et al. (2007)

Diseño experimental	Resultados principales	Referencia
<p>Patata cv. <i>Monalisa</i> en lonchas y sumergida durante 3 min a 18 o 4 °C en las soluciones:</p> <ul style="list-style-type: none"> - 0,1 o 0,5 % DS - DS+AC (0,1 -0,5 % en diferentes .combinaciones) - DS (0,1 o 0,5 %)+AA (0,5 %). - DS (0,1 o 0,5 %)+AC (0,1 o 0,5 %)+AA (0,5 %). <p>Se almacenaron en frascos de cristal para analizar la tasa de respiración a 4 °C- 5 días.</p>	<p>La mayoría de los tratamientos que analizaron (DS solo o combinado con AC y/o AA) redujeron la tasa de respiración de las patatas almacenadas a 4 °C. Su efecto dependió de la temperatura y la composición de los compuestos antipardecantes usados.</p> <p>La reducción de la tasa de respiración fue mayor cuanto mayor era la concentración de DS, y cuando AA, AC o ambos se añadían también a la solución (0,5% DS+0,5% AC+0,5% AA) a la temperatura de solución de 18 °C.</p>	<p>Petri et al. (2008)</p>
<p>Patatas cortadas en tiras y sumergidas durante 1 minuto, en las siguientes soluciones:</p> <p>Exp.1: 0,1 y 3 % SAS y AC</p> <p>Exp. 2: 0, 2 y 2,5 % SAS y AC</p> <p>Fueron almacenadas durante 14 días a 3 °C.</p>	<p>El tratamiento con un 3 % de SAS mostró los mejores resultados microbiológicos y consiguió mantener el color y la textura de las patatas durante 14 días.</p> <p>Es un acidulante viable para su uso en la industria.</p>	<p>Calder et al. (2011)</p>

Diseño experimental	Resultados principales	Referencia
<p>Patatas laminadas y sumergidas durante 3 min en una proporción de 10:1 a 7,5 °C en las siguientes soluciones:</p> <ul style="list-style-type: none"> - 1,25 % AA - 1,25 % AC - 1,25 % AA+1,25 % AC - 0,025 a 0,25 % DS <p>Usaron dos tipos de envasado:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Con flujo de aire humidificado. - Atmósfera controlada. <p>Fueron almacenadas durante 16 días a 5 °C.</p>	<p>La susceptibilidad al pardeamiento varía entre variedades.</p> <p>Las atmósferas controladas fueron efectivas en la supresión de la actividad de la enzima PAL y aumentó la concentración de compuestos fenólicos.</p> <p>El ácido clorogénico fue el ácido fenólico mayoritario y su concentración aumentó tras el laminado.</p> <p>La atmósfera controlada inhibió la acumulación de ácidos fenólicos, pero los tratamientos antipardeantes no. No había ninguna relación temporal entre la aparición del pardeamiento y los cambios en las enzimas fenólicas o en las concentraciones de los ácidos fenólicos.</p> <p>Un tratamiento de AA+AC (1,25 %) en combinación con atmósfera controlada consiguió un control adecuado del pardeamiento.</p> <p>El tratamiento de DS (0,025 %) fue efectivo cuando se combinó con una atmósfera controlada moderada (3% O₂ + 10% CO₂).</p>	<p>Ma et al. (2010)</p>
<p>Lonchas de patata cv. Russet Burbank y Norkotah fueron tratadas durante 3 min con los compuestos descritos a una concentración del 3 %:</p> <ul style="list-style-type: none"> -SAS, AC, ES, AM, SAPP y la combinación SAS+AC+ES. <p>-Con y sin ajuste del pH (2, 3, 4, 5, 6 y 7).</p> <p>Fueron almacenadas a 4 °C durante 15 días.</p>	<p>A pHs no ajustados, el control y las muestras tratadas con SAPP no mostraron diferencias significativas respecto al pardeamiento de la PPO.</p> <p>SAS, AC y AM produjeron cierta inhibición. SE y la combinación SAS+AC+ES eliminaron el pardeamiento enzimático.</p> <p>A pHs entre 5 y 7, solo ES y SAS+AC+ES fueron eficaces como inhibidores del pardeamiento.</p> <p>ES fue el más efectivo a pHs entre 2 y 7, pero SAS fue más eficaz con el pH sin ajustar.</p> <p>SAS, AC y la combinación de SAS+AC+ES inhibieron el crecimiento microbiano pero SAPP, el control y ES no mostraron efecto antimicrobiano, probablemente debido su pH.</p>	<p>Mosneagut a et al. (2012)</p>

Tabla 0.5. Estudio de compuestos antipardecantes aplicados en frutas y otras hortalizas.

Diseño experimental	Resultados principales	Referencia
MANZANA		
<p>Las manzanas cortadas en trozos fueron sumergidas durante 5 min a 25 °C en las siguientes soluciones:</p> <p>T1: 0,01 % HR+0,5 % AA+0,2 % CC</p> <p>T2: 0,5 % AA+0,2 % CC</p> <p>T3: 0,1 % CC+0,1 % DS</p> <p>T4: agua</p> <p>Fueron envasadas al vacío y almacenadas durante 8 semanas a 0,5 °C.</p>	<p>El tratamiento T1 fue eficaz inhibiendo el pardeamiento, comparable con la eficacia de los sulfitos.</p> <p>T1 mostró cierto efecto antimicrobiano y las manzanas estaban más firmes que las muestras control.</p>	Luo y Barbosa-Cánovas (1996)
<p>Las manzanas fueron laminadas y sumergidas 3 min en tratamiento antipardecante. Cinco grupos químicos con actividad antipardecante (1-0,1%):</p> <ul style="list-style-type: none"> -Ácidos carboxílicos -Derivados de AA -Aminoácidos que contienen sulfuro -Ácidos fenólicos -Otros (CaCl₂, NaCl, HR y miel). <p>Almacenadas 3 h a 25 °C.</p>	<p>De los 5 grupos químicos los inhibidores más efectivos fueron:</p> <p>Ácido carboxílicos: ácido oxálico (0,05 %) y ácido oxalacético (0,25 %).</p> <p>Derivados de AA: AA -2-fosfato.</p> <p>Aminoácidos: cisteína (0,05 %), NAC y glutatión.</p> <p>Ácidos fenólicos: ácido kojico (05 %).</p> <p>Otros: HR.</p> <p>Y la combinación de 0,02 % de ácido oxálico+1% AA o sus derivados.</p>	Son et al. (2001)
<p>Manzana mínimamente procesada tratativa mediante impregnación al vacío:</p> <p>1% AA + 0,005 % HR + 0,3 % CC y sacarosa al 20 %.</p> <p>Envasado a 2-10 % CO₂ + 2% O₂ y N₂ hasta el 100 %, envasado al vacío, en aire y con N₂.</p> <p>Almacenadas 15 días-4 °C.</p>	<p>Hicieron énfasis en la mezcla de gases dentro del envase, concluyendo que los mejores resultados en las propiedades fisicoquímicas y sensoriales fueron al usar el envasado al vacío.</p> <p>Microbiológicamente es la combinación de atmósfera modificada 2 % O₂+4 % CO₂+94 % N₂.</p>	Bieganska-Marecik et al. (2004)

Diseño experimental	Resultados principales	Referencia
<p>La manzana laminada fue sumergida durante 1 min, en las soluciones que contienen HR, glutatión, NAC y AA en combinación y a las concentraciones 0, 0,5, 1%.</p> <p>Fueron almacenadas en bolsas durante 14 días a 4 °C.</p>	<p>El pardeamiento puede ser controlado mediante el uso de compuestos naturales y en refrigeración. Concentraciones HR <0,5 %, NAC >0,75% y la combinación NAC+glutatión >0,60% fueron los tratamientos más efectivos en prevenir el pardeamiento durante 14 días a 4 °C.</p>	Rojas-Grau et al. (2006)
<p>Fueron estudiados en manzana como influyeron:</p> <p>El estado de madurez</p> <p>La atmósfera modificada</p> <p>El uso de antipardeantes: 1% NAC o 1% AA (control).</p> <p>Fueron envasadas en bandejas con aire o una mezcla de 2,5 % O₂+7 % CO₂. Almacenadas a 4°C durante 43 días.</p>	<p>Las manzanas parcialmente maduras con baja producción de etanol son adecuadas para procesado mínimo.</p> <p>El NAC fue efectivo como tratamiento para prevenir el pardeamiento, manteniendo la apariencia inicial durante 1 mes a 4 °C.</p> <p>La atmósfera modificada mantuvo la vida útil debido a una inhibición significativa de la producción de etileno.</p>	Rojas-Grau et al. (2007)
<p>Uso de tratamientos antipardeantes mediante impregnación al vacío en láminas de manzana:</p> <p>-AA(0,1, 0,5 y 1 %)</p> <p>-AC (0,1, 0,5 y 1 %)</p> <p>-HR (0,003-0,01 %)</p> <p>-NaCl (0,05-0,2 %)</p> <p>-CC (0,1-0,5 %)</p> <p>-Lactato sódico (1-1,5 %)</p> <p>-Lactato cálcico (1-4,5 %)</p> <p>-Sacarosa (10, 20 y 30 %)</p> <p>Fueron almacenadas durante 15 días a 4 °C.</p>	<p>El tratamiento 1 % AA + 0,005 % HR + 0,5 % CC con un 20% sacarosa aplicado mediante impregnación al vacío y envasado al vacío inhibió el pardeamiento y ablandamiento en rodajas de manzana durante 15 días a 4 °C.</p> <p>El AA tiene más ventajas que el AC, ya que AC al 0,8 % (a la que es efectivo) produce ablandamiento y la aparición de un sabor amargo. Al combinarlo con sacarosa mejora su efecto de control sobre el pardeamiento. El uso de CC fue más efectivo que con lactato cálcico.</p>	Bieganska-Marecik y Czapski (2007)

Diseño experimental	Resultados principales	Referencia
<p>Inmersión de láminas de manzana durante 1 min en tratamiento antipardeante:</p> <ul style="list-style-type: none"> -AA (1%) -HR (0,5 %) -NAC (1%) -Glutation (1%) -AA+HR -AA+NAC -AA+Glutation <p>Fueron Almacenadas durante 14 días a 4 °C.</p>	<p>Se observó que la actividad de PPO aumentó a lo largo del almacenamiento y la aplicación de 1% NAC o 1% Glutafión la inhibía.</p> <p>La actividad de POD fue inhibida al aplicar 0,5 % AA combinado con cualquiera de los compuestos (NAC, HR o Glutation).</p> <p>1% NAC ayudó a mantener el color de las manzanas frescas durante 14 días.</p> <p>Desde el primer día, el uso de AA por sí solo no controló el deterioro del color</p>	Rojas-Graü et al. (2008)
PERA		
<p>Láminas de peras fueron sumergidas durante 2 min en las soluciones:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Lactato cálcico (0, 0,2, 0,5 y 1 %) + AA (0, 0,5 y 1 %) - 0,5% lactato cálcico + 1 % AA + sacarosa (0,2, 0,5 y 1 %) - 0,5 % AA + 1 % lactato cálcico + HR (0,005, 0,01, 0,02 y 0,03 %) - 1 % lactato cálcico + HR (0,005, 0,01, 0,02 y 0,03 %) - Zumo de piña - 1 % AC+1 % AA - 0,2 % L-cisteína <p>Fueron envasadas con vacío parcial y almacenadas a 2-5 °C.</p>	<p>El uso de 1 % AA+1 % lactato cálcico controló el pardeamiento enzimático durante 30 días, pero presentaron ablandamiento y exudados.</p> <p>La combinación [0,01% HR + 0,5 % AA + 1 % lactato cálcico] aplicada a peras con diferentes grados de madurez y envasado con el vacío parcial en almacenamiento a 2 o 5°C consiguió una vida útil de entre 15-30 días.</p> <p>Los panelistas detectaron diferencias en el flavor diferente entre las láminas control y las peras en las que se usaba la concentración de HR era de 0,01 % HR.</p>	Dong et al. (2000)
<p>Láminas de peras cv. Anjou y cv. Battlett, fueron sumergidas durante 30 s con la solución:</p> <p>[0,001M HR + 0,5M AI + 0,025M NAC + 0,05M SP]</p> <p>El pH fue ajustado a 5,5</p> <p>Fueron almacenadas en placas de petri durante 9 días a 5 °C.</p>	<p>El tratamiento antipardeante fue efectivo para inhibir el pardeamiento durante los 9 días a 5°C en las dos variedades estudiadas.</p> <p>No se detectó crecimiento de hongos.</p> <p>La firmeza inicial o su punto de maduración no intervinieron en la efectividad del tratamiento antipardeante.</p>	Abbott y Buta (2002)

Diseño experimental	Resultados principales	Referencia
<p>Los trozos de peras fueron sumergidas durante 2 min a 15 °C en las soluciones:</p> <ul style="list-style-type: none"> - 0-3 % AA - 0-3 % NAC - 0-3 % Glutati3n - 0-2 % HR <p>Usadas individualmente o en combinaci3n. El pH estaba entre 1,8 y 5,45</p> <p>Fueron almacenadas durante 28 d3as a 4 °C.</p>	<p>Concluyeron que una soluci3n de NAC al 0,75% consegu3a controlar el pardeamiento de las peras m3nimamente procesadas hasta 28 d3as a 4 °C.</p> <p>El uso de 0,75% glutati3n control3 el pardeamiento hasta 21 d3as en las mismas condiciones.</p> <p>Ambos actuaron por inhibici3n competitiva de la PPO, formando compuestos estables sin color.</p> <p>AA o HR no fueron pudieron controlar el pardeamiento de las peras en estas condiciones.</p>	Oms-Oliu et al. (2006)
MANGO		
<p>El mango en l3minas fue sumergido durante 2 min en las soluciones:</p> <ul style="list-style-type: none"> - HR (0,001M) - SP (0,5M) - IA (0,005M) - HR + SP - HR + SP + IA - ER + SP <p>Fueron almacenadas durante 14 d3as a 10 °C.</p>	<p>Las l3minas de mango tratadas con [0,001 M HR + 0,05 M SP] o con [0,001 M HR + 0,05 M SP + 0,5 M IA] envasadas en atm3sfera modificada consiguieron controlar:</p> <ul style="list-style-type: none"> - los cambios en el color - mantuvieron el contenido de 3cidos org3nicos y de az3car - el crecimiento microbiol3gico -no afectaron a las caracter3sticas sensoriales <p>Todo ello durante 14 d3as a 10°C.</p>	Gonzalez-Aguilar et al. (2000)
<p>Mangos cortados de forma longitudinal en los que se estudiaron:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Aplicaci3n de 10 combinaciones de atm3sfera: O₂ (2,5 y 21 %) y CO₂ (0, 5, 10, 20 y 40 %) 2. Inmersi3n durante 2 min a 10 °C en AA (0,5 y 1 %) o AC (1 y 2 %). 3. Combinaci3n de ox3geno (2,5 and 21 %), AC (0 y 2 %), y CC (0 y 3 %). <p>Fueron almacenadas durante 15 d3as a 3 °C.</p>	<p>Los s3ntomas de p3rdida de vida 3til del mango son el pardeamiento del tejido, desarrollo de una apariencia glaseada, desecaci3n de la superficie y p3rdida de firmeza.</p> <p>El uso de una baja concentraci3n de O₂ combinando con CC (3 %) fue efectivo, ya que el O₂ controla el pardeamiento y la apariencia glaseada y el CC reduce la velocidad de p3rdida de firmeza (pero no lo para).</p> <p>Este tratamiento consigui3 una vida 3til de 15 d3as a 3 °C.</p>	de Souza et al. (2006)

Diseño experimental	Resultados principales	Referencia
OTROS		
<p>APIO: Apio cortado fue sumergido en las soluciones: - AA (0,2-0,5 %) - HR (0,003-0,01 %) - NaCl (0,1-0,5 %) - Lactato sódico (2-3 %) Fueron envasados bolsas con aire durante 12 días a 4 °C.</p>	<p>Solo el tratamiento con AA tuvo un efecto positivo sobre la calidad del apio cortado. Un aumento en la concentración de 0,2 a 0,5 % AA consiguió una mejora del color, del sabor intrínseco y controló la calidad microbiológica.</p>	<p>Elzbieta et al. (2007)</p>
<p>ALCACHOFA: Cinco cultivares de alcachofas, que eran cortadas en cuartos fueron sumergidas en las siguientes soluciones: Exp. 1: - NaCl (0,5 y 1 %) - AC (0,5 y 1 %) - AA (0,5 y 1 %) - Etanol (0,5 y 1 %) - Cisteína (0,25 y 0,5 %) - HR (0,01 %) Exp. 2: - AC (1 y 2 %) - AA (1 y 2 %) - Cisteína (0,5 y 1 %) -1% AA+1% AC+0,5%Cisteína Fueron envasadas en bandejas conectadas a un flujo continuo de aire humidificado y almacenadas a 5 °C y evaluadas a lo largo de 120 min.</p>	<p>El tratamiento con L-Cisteína al 0,5 % fue el más efectivo para controlar el pardeamiento en alcachofa según lo evaluado por atributos de color y puntuación subjetiva de la apariencia. La efectividad de este tratamiento fue mejorada al aumentar el pH de la solución desde su pH natural (2,1) a pH 3.</p>	<p>Amodio et al. (2011)</p>

8.2.2. Uso de extractos naturales como soluciones antipardeantes en productos mínimamente procesados.

Como ya se ha comentado en el apartado 6.3, hay estudios que indican algunos ácidos fenólicos, principalmente ácidos hidoxicinámicos, como el ácido benzoico y algunos sustitutos de los ácidos cinámicos pueden actuar como inhibidores de la PPO (Walker 1975, Vámos-Vigyázó 1981, Parkin 2008, Verma et al. 2009). En patata, algunos fenoles como el ácido cinámico, p-cumárico, ferulico o el ácido benzoico mostraron tener un comportamiento de inhibidores competitivos de la enzima. Por un lado, Xie et al. (2003) encontraron que algunos flavonoles pueden actuar como inhibidores fenólicos de la PPO, de los cuales la quercetina presentó el mayor poder de inhibición, seguido por la miricetina y el kaempferol, sin embargo determinaron que su capacidad era limitada o débil. Por otro lado, Jiménez y García-Carmona (1999a) y (1999b) realizaron ensayos *in vitro* con miricetina y quercetina en extracto purificado de PPO de semillas de habas y encontraron en estos compuestos un comportamiento de sustratos, es decir, se oxidaban en presencia de la enzima PPO.

El salvado de arroz contiene compuestos que podrían estar relacionados con la inhibición del pardeamiento enzimático de frutas y hortalizas. Algunos investigadores indicaron que el salvado de arroz, además de los ácidos fenólicos (ácido ferúlico, sinapico, siringico, p-cumarico y vainillico) además de contener otros fitoquímicos bioactivos como orizanoles, tocoferoles, tocotrienoles, fitoesteroles y fosfolípidos (Theerakulkait y Boonsiripiphat 2007, Boonsiripiphat y Theerakulkait 2009, Sukhonthara y Theerakulkait 2011, 2012), los cuales están relacionados con posibles beneficios para la salud, como antioxidantes.

También se ha indicado que ciertas proteínas, péptidos y aminoácidos podrían inhibir el pardeamiento enzimático reduciendo las o-quinonas o actuando como quelantes del cobre del centro activo de PPO. Existen estudios sobre las proteínas, hidrolizados de proteínas y aminoácidos de la leche (Kahn 1985);

péptido de la miel (Ates et al. 2001); proteína de salvado de trigo (Ortíz-Estrada et al. 2012); y péptidos de cebolla (Gnangui et al. 2010).

Teniendo en cuenta que en los últimos años ha aumentado la preocupación, por parte del consumidor, por utilizar alimentos más saludables exigiendo a la vez mayor calidad y comodidad en su uso. Además, con la información que los trabajos comentados, se abre la puerta a la posibilidad sobre la existencia de algunos extractos de plantas, como especias y té los cuales son fuentes importantes de polifenoles y de otros compuestos bioactivos, que podrían contener en su composición posibles “protectores” del pardeamiento enzimático.

Las especias, té y diferentes partes de plantas han sido usados desde la prehistoria tanto para sazonar y/o preservar algunos alimentos como por sus propiedades antisépticas y medicinales.

Existen diversos estudios que han explorado el uso de extractos y zumos de diferentes plantas, como posibles agentes antipardeantes. Se puede analizar, por un lado su capacidad para inhibir la reacción de la PPO (*in vitro*) y por otro lado, su capacidad de control del pardeamiento de la fruta u hortaliza (*in vivo*). Esto es debido a que la efectividad que pueden mostrar a nivel *in vitro* puede variar tras su aplicación en la matriz real del alimento, ya que en este caso interviene otros factores como el almacenado, la temperatura y la propia evolución fisiológica del producto.

En la Tabla 0.6 se muestran diversos estudios en sobre de extractos de plantas aplicados en frutas y hortalizas, pudiendo ser *in vitro* o *in vivo*.

Tabla 0.6. Extractos naturales estudiados como posibles antipardeantes aplicados en frutas y hortalizas.

Extracto	Producto	Resultados principales	Referencia
Té verde	Lechuga	No se observaron diferencias significativas en el uso de extracto de té verde (0,25g/100 ml a 20 °C) y la aplicación de un tratamiento clorado, en el pardeamiento y a nivel sensorial. La aplicación de extracto de TV mantiene la actividad antioxidante de las muestras.	Martín-Diana et al. (2008)
	Manzana	El extracto de TV (30 mg/ml) inhibió la actividad de la PPO un 42 %. También fue efectivo al aplicar extracto de TV (15 mg/ml durante 5 min) en manzana mínimamente procesada.	Soysal (2009)
Salvado de arroz	Patata, plátano y manzana	Su aplicación en patata resultó ser significativamente más efectiva que en plátano o manzana, tanto a nivel in vitro como a nivel in vivo.	Theerakulkait y Boonsiripiphat (2007)
	Patata	La extracción obtenida a 40 °C durante 30 min en un ratio de 1:3 (salvado:agua) fue efectiva inhibiendo la PPO de la patata. Al aumentar el tiempo y la temperatura en la extracción, la capacidad de inhibición y el contenido fenólico disminuyeron.	Boonsiripiphat y Theerakulkait (2009)
	Patata, manzana y plátano	La efectividad del extracto de salvado de arroz sobre la inhibición del pardeamiento en puré de patata fue mayor que en puré de manzana y no fue efectivo en plátano.	Sukhonthara y Theerakulkait (2011)
	Patata y plátano	La capacidad de inhibición del extracto en agua del salvado de arroz sobre la PPO fue mayor en patata que en plátano. En ambos casos la inhibición dependía de la concentración del extracto. En base a la cinética estudiada, establecieron que el salvado de arroz actuaba como un inhibidor mixto, es decir, que parece actuar directamente en la enzima, más que sobre el sustrato.	Sukhonthara y Theerakulkait (2012)
	Patata	Estudiaron el extracto de proteína de salvado de arroz y su efecto sobre el color en puré de patata y sobre su PPO. Mostró inhibición del pardeamiento en la patata y capacidad de inhibición de la PPO, en el rango de pH 4-5. Es una posible alternativa como agente antipardeante natural en la industria.	Kubglomsong y Theerakulkait (2013)

Extracto	Producto	Resultados principales	Referencia
Zumo de piña	Plátano	La aplicación de zumo de piña en láminas de plátano fue efectiva pero solo durante algunas horas. Para controlar el pardeamiento a más largo plazo fue más efectivo el uso de NAC+AC.	Moline et al. (1999)
	Patata, champiñón, manzana y plátano	Compararon el efecto sobre el pardeamiento del extracto de cáscara de piña respecto al ácido cítrico (pH 3,8) aplicado en formato puré y en lonchas. En el formato de puré, el extracto de piña fue efectivo solo en patata y en plátano. Sin embargo, en formato loncha, solo fue efectivo en plátano.	Theerakulkait y Saisung (2006)
	Plátano	El zumo de piña aplicado en lonchas de plátano fue inhibió el pardeamiento durante 3 días a 15 °C Su efecto fue similar al conseguido con AA (8 mM) pero menor al obtenido con DS (4 mM). Se fraccionó el zumo de piña y se aplicó en puré de plátano, mostrando una capacidad de inhibición similar al AA durante 24 h a 5 °C.	Chaisakdanugull et al. (2007)
	Manzana	Aplicaron zumo de piña (20 °Brix) en cubos de manzana a concentraciones entre 0 a 5 % (v/v) y fueron tratados con altas presiones y almacenadas 4 semanas. La combinación de zumo de piña y altas presiones fue efectiva como alternativa para el mantenimiento de la calidad de manzana mínimamente procesada.	Perera et al. (2010)
Cebolla	Patata	El extracto de cebolla, sometido a un calentamiento de 100°C durante 10 min, fue más eficaz que el extracto sin el tratamiento térmico. Inhibió de forma efectiva la actividad de la PPO de patata. El efecto fue mayor si el extracto de cebolla con tratamiento térmico se mezclaba con glicina o con glucosa.	Lee et al. (2002)
	Pera	El extracto de cebolla con tratamiento térmico fue más efectivo sobre la PPO de pera que inhibiendo el pardeamiento al añadirlo al zumo de pera. Se estableció que el extracto de cebolla actúa como inhibidor no competitivo de la PPO.	Kim, Mi-Jeong et al. (2005)

Extracto	Producto	Resultados principales	Referencia
Ajo	Lechuga	Evaluaron diferentes combinaciones de soluciones antipardeantes, donde los mejores resultados fueron con la mezcla de ácido cítrico (2 g/l), 1 g/l CC y 250 g/l extracto de ajo. Controló el pardeamiento enzimático durante 9 días a 5°C, no se apreció pérdida de peso y controló el crecimiento microbiano entre otros parámetros.	Ihl et al. (2003)
	Tomates	Evaluaron la capacidad antimicrobiana, su efecto sobre el color y la textura de los compuestos bioactivos de aceite de ajo, aceite del árbol del té, jasmonato de metilo y etanol aplicados a tomate mínimamente procesado y almacenado 15 días a 5 °C. Los aceites mantuvieron en mejores condiciones el color y la textura.	Ayala-Zavala et al. (2008)
Clavo, cardamomo, canela, jengibre y nuez moscada	Manzana	Los extractos de cardamomo y clavo fueron los más efectivos en el control del pardeamiento tras un almacenamiento de 24 h a 20 °C. El cardamomo y el jengibre fueron más efectivos controlando el pardeamiento y el crecimiento microbiano de las manzanas almacenadas 4 semanas a 4 °C. Y fueron sensorialmente más aceptadas.	Essa et al. (2004)
Champiñón "Enokitake"	Manzana	El extracto fue preparado en tres tipos de solventes (acetona, etanol y agua caliente). Los tres fueron efectivos inhibiendo la PPO de champiñón. El extraído en acetona fue el más efectivo reduciendo el pardeamiento en láminas de manzana. Y el extraído en agua inhibía el pardeamiento en zumo de manzana al menos durante 6 h, su efectividad además dependía de la concentración,	Jang, M. S. et al. (2002)

Extracto	Producto	Resultados principales	Referencia
Zumo de ruibarbo	Manzana	Usaron zumo de ruibarbo como antipardeante en rodajas de manzana mínimamente procesada, aplicando diversas concentraciones (5-100 %). Las rodajas tratadas con concentraciones por encima del 20 % mostraron eficacia controlando el pardeamiento 120 min a temperatura ambiente.	Son et al. (2000)
Extractos naturales de diferentes plantas	Patata y champiñón	Este estudio comparó el efecto de 60 extractos de plantas sobre la actividad de PPO de champiñón y PPO de papa. Algunos extractos tenían diferentes efectos sobre las enzimas de diferente origen, un extracto que inhibe una PPO podría ser un activador para la otra. Como un ejemplo de ello, el extracto de mate (<i>Ilex paraguariensis</i>) fue investigado en más detalle.	Kuijpers et al. (2014)

La revisión de estas investigaciones indican que existen muchas variables que intervienen en la determinación de la efectividad que puede tener un extracto como antipardeante, desde el tipo de ensayo (in vivo o in vitro) y sus condiciones, tanto de aplicación como de extracción (solvente, concentración, temperatura, pH, tipo de aplicación en el alimento, etc.); el vegetal al que se aplica e incluso las condiciones de almacenamiento establecidas.

8.2.2.1. Extracción y caracterización de los extractos de plantas.

Existen muchos trabajos dirigidos al estudio del perfil fenólico y de las propiedades antioxidantes de las plantas. Los disolventes empleados normalmente son metanol, etanol, acetona o hexano en busca de la máxima extracción de los compuestos (Shan et al. 2005, Kim, Kyung-Hee et al. 2006a, Leelarungrayub et al. 2006, Yanishlieva et al. 2006, Muchuweti et al. 2007, Silva et al. 2007, Wojdyło et al. 2007, Bozin et al. 2008, Rusak et al. 2008, Hossain et al. 2011, Bordoloi et al. 2012, Lv et al. 2012, Erol 2013).

La elección del solvente para este trabajo de investigación fue en base a que el destino final de los extractos es para su aplicación como tratamiento

antipardeante por contacto directo en patata, la cual es procesada manteniéndola sumergida en agua a 4 °C de forma continua. Esto limita el número de solventes a utilizar y el tipo de aplicación. Por ello, se descartaron otras posibilidades como por ejemplo, emulsiones de aceites esenciales en agua debido a la dificultad para controlar tanto el mantenimiento de la propia emulsión como su reparto homogéneo sobre la superficie de la patata. Otra alternativa sería el uso de films comestibles, pero esto implicaría una metodología que se aleja del objeto de esta investigación.

Los objetivos en general de los trabajos consultados iban desde el estudio de la presencia de antioxidantes y su perfil fenólico en los extractos polares obtenidos de una infusión o decocción de hierbas y té; la evaluación nutricional de compuestos bioactivos y de su actividad antioxidante, debido a que se toman de forma habitual en diversos países de forma medicinal; al efecto de la técnica usada para el tratamiento térmico y cómo afecta a la extracción; comparativas entre tipos de extracción (acetona vs. agua o metanol vs. agua); también se ha estudiado el efecto en la extracción de la temperatura del agua; o incluso de la composición y comportamiento de extractos desodorizados y obtenidos en agua (Gadow et al. 1997, Triantaphyllou et al. 2001, Dorman et al. 2004, Atoui et al. 2005, Hinneburg et al. 2006, Leelarungrayub et al. 2006, Büyükbalci y El 2008, Rusak et al. 2008, Nkhili et al. 2009, Kratchanova et al. 2010, Unachukwu et al. 2010, Chan et al. 2011, Kim, I. S. et al. 2011).

Como ya se ha visto, por un lado tiene importancia el tipo de extracción que se va a realizar y, por otro lado la composición de las especias y té que se van a utilizar. Se han recopilado información sobre los principales compuestos fenólicos que se pueden encontrar en las especias elegidas para este estudio, para conocer los posibles compuestos presentes y poder establecer las condiciones para una caracterización de los extractos estudiados.

Para ayudar a la comprensión de la información que se va a comentar a continuación se ha incluido un ejemplo de clasificación de los compuestos fenólicos (Figura 0.7).

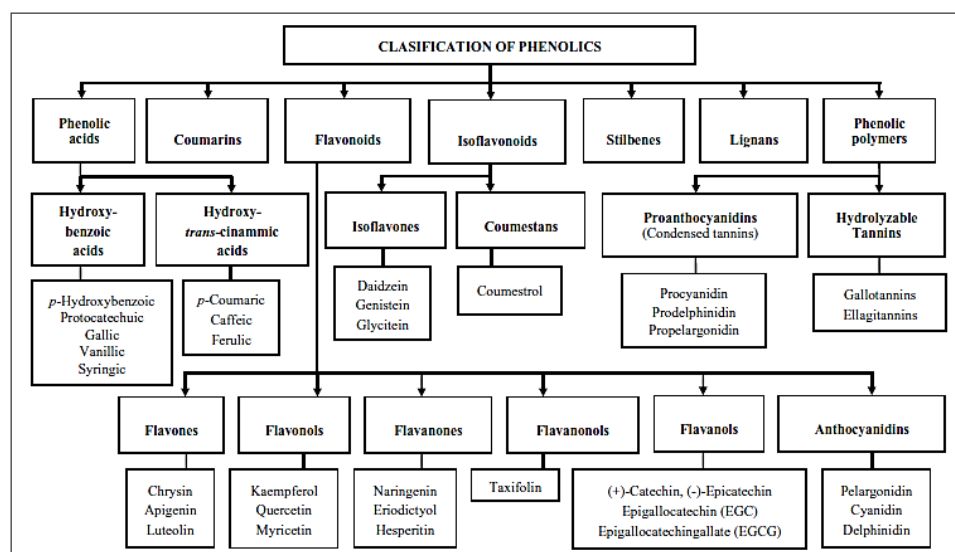


Figura 0.7. Clasificación de los fenoles dietéticos (Fuente: Craft et al. (2012))

En cuanto a los estudios del perfil fenólico de **extractos de té verde**, se encontraron principalmente 3-flavonoles, que son los compuestos más interesantes y característicos. Los fenoles mayoritarios son (-)EGCG, (-)ECG, (-)EGC y (-)EC, además de otros derivados de 3-flavonoles (Cabrera et al. 2006).

Un ejemplo de que no todas las reacciones de oxidación tienen un efecto negativo sobre la calidad de los productos es que las catecol oxidasas (PPO) intervienen en la oxidación de los 3-flavonoles durante la fermentación del té produciendo los compuestos característicos de los tés en sus diferentes grados (negro, rojo y oolong). Estos compuestos son los responsables de color y sabor del té (Shahidi y Naczki 1995). Sin embargo, para este estudio nos vamos a centrar en

la composición que presenten de flavonoles y los ácidos fenólicos, los cuales son los posibles inhibidores de la PPO, como ya se ha comentado.

Otros posibles inhibidores del pardeamiento no tienen por qué ser fenoles, de hecho, ya se comentó en apartado 6.3, las hojas de té verde posees algunos péptidos en su composición pueden tener capacidad para inhibir la PPO (Pruidze y Grigorashvili 1977).

Los principales compuestos caracterizados en **extractos de ajo** fueron ácidos fenólicos, destacando los ácidos ferúlico y p-cumarico, y algunos flavonoles. Sin embargo, existen ciertos compuestos no fenólicos que podrían actuar en cierta manera sobre la reacción de la PPO, ya que el ajo contiene, dentro de su fracción volátil, una serie de compuestos característicos de las plantas *Allium*, que son los compuestos organosulfuro, dentro de los cuales se encuentran sulfuro de dialilo, disulfuro de dialilo, S-etil cisteína y N-acetil cisteína. Además, a partir de los organosulfuro, se pueden originar tiosulfatos, los cuales pueden ser muy inestables dando lugar a una gran variedad de compuestos sulfuro como por ejemplo, ajoeno, que a altas temperaturas (~100 °C) pueden formar compuestos polisulfuros que contienen cinco átomos de sulfuro (Yin et al. 2002, Lanzotti 2006). Fahey et al. (2001) realizaron un estudio sobre la capacidad de diferentes compuestos que contienen sulfuro como posible alternativa a los sulfitos, donde allyl isotiocianato fue seleccionado.

El **salvado de trigo** es la capa externa del cereal. El ácido ferúlico es su ácido fenólico mayoritario (Zhou et al. 2004, Verma et al. 2009). Sin embargo, este fenol no se encuentra en el resto del cereal, está principalmente localizado en el salvado Kim, K. et al. (2006b). Miyazawa et al. (2003) establecieron que el ácido protocatéquico presente en el salvado de arroz negro (*Oryza sativa* L. Indica) mostraba cierta capacidad para inhibir la actividad de la tirosinasa de champiñón.

Kubglomsong y Theerakulkait (2013) indicaron la importancia que las condiciones de extracción podrían tener la eficacia de la extracción compuestos antiparadeantes activos en el salvado de arroz. En cuanto al uso de salvado, existen diversos estudios sobre extractos de salvado de arroz y su posible capacidad para inhibir la PPO de patata y de plátano, así como su posible efecto antipardante (Theerakulkait y Boonsiripiphat 2007, Sukhonthara y Theerakulkait 2011, 2012). Sin embargo, no se han encontrado estudios con extracto de salvado de trigo, un cereal mucho más cultivado en nuestro país.

En **clavo**, que son las yemas de la planta, los compuestos mayoritarios son el ácido gálico y los flavonoles quercetina, mirecetina y kaempferol, muchos de ellos glucosidados, también destaca la presencia de eugenol y taninos (Shan et al. 2005, Yanishlieva et al. 2006, Wojdyło et al. 2007).

En la composición de la **nuez moscada**, la cual es un fruto, se puede encontrar ácidos fenólicos, donde el principal fue el ácido cafeico y, también catequinas (Shan et al. 2005, Wojdyło et al. 2007).

En **jengibre**, que es un rizoma, se encontraron diversos ácido fenólicos, como el ácido cafeico entre otros y destaca la presencia de gingerol (Shan et al. 2005).

En **pimienta**, tanto blanca como negra, las cuales son frutos, se han encontrado amidas fenólicas (protocatéuico, vanillinico, ácido caféico) y glicósidos del kaempferol, quercetina, rhamnetina (Shan et al. 2005, Yanishlieva et al. 2006, Wojdyło et al. 2007).

Y por último y respecto a la composición de hierbas culinarias, se encontró que el **orégano** posee ácidos fenólicos como ácido cafeico, p-cumarico, neoclorogénico, p-hidroxibenzoico, ácido ferulico, ácido rosmarinico y derivados del cafeoil. En **romero** se detectaron también ácido cafeico, vainillinico, p-cumarico, otros ácidos fenólicos y catequinas (Shan et al. 2005, Muchuweti et al. 2007, Wojdyło et al. 2007).

Las hojas de **menta** contienen 3-flavanoles como las catequinas y EGCG, algunos flavonoles como quercetina y ácidos fenólicos, como por ejemplo, ácido ferúlico, sirengico, gálico, vainillinico, p-cumarico, cafeico, rosmarinico o protocatéquico (Atoui et al. 2005, Shan et al. 2005, Muchuweti et al. 2007, Wojdyło et al. 2007, Lv et al. 2012).

Las hojas de **tomillo** pueden contener en su composición ácidos fenólicos como el ácido cafeico, p-cumarico, ferulico, cinámico, gálico, rosmarinico y quínico entre otros y flavanoles como la quercetina (Shan et al. 2005, Wojdyło et al. 2007, Roby et al. 2013).

En la **mejorana** se identificó ácido gálico, clorogénico, cafeico, p-cumarico, ferulico, rosmarinico, entre otros (Roby et al. 2013).

Por último, en **salvia** se han identificado ácidos fenólicos como ácido clorogénico, cafeico, quinico, p-cumarico, ferulico, cinámico, rosmarinico, hidroxibenzoico, vainillinico. Dentro de los flavanoles, quercetina y luteolina y, también se detectaron catequinas (Atoui et al. 2005, Shan et al. 2005, Muchuweti et al. 2007, Wojdyło et al. 2007, Roby et al. 2013).

8.2.2.2. Legislación vigente.

A nivel normativo, los antioxidantes están regulados en esencia por el reglamento UE (2011) y CE (2008) donde se contemplan las condiciones y exigencias para el uso de todo tipo de aditivos. En el reglamento se definen los antioxidantes como "sustancias que prolongan la vida útil de los alimentos protegiéndolos del deterioro causado por la oxidación, como el enranciamiento o los cambios de color" y establece la lista de aditivos alimentarios permitidos por la UE y sus dosis máximas.

Dentro de los antioxidantes se han establecido dos grandes grupos, los naturales y los sintéticos. Dentro de los naturales se encuentra el ácido ascórbico y los

ascorbatos (E 300, 301, 302, 304), los tocoferoles y alfa-tocoferol (E 306-309), y el extracto de romero (E 395). En cuanto a los sintéticos se encuentran los galatos, los derivados bencénicos (BHT y BHA), la THBQ, el ácido eritórico y el 4-hexilresorcinol (Anónimo 2013).

Por otro lado, se han establecido otros dos grupos, no oficiales, que serían los sinérgicos de antioxidantes y los bioantioxidantes. Los primeros son sustancias naturales o sintéticas que potencian el efecto de otras sustancias antioxidantes (UE 2011), como serían el ácido cítrico y citratos, el selenio o el zinc. Los bioantioxidantes, sin embargo no están regulados por el reglamento. Éstos son compuestos naturales (vitaminas, colorantes y flavonoides) que debido a su estructura química especial tienen propiedades saludables y con cierta capacidad tecnológica antioxidante, si es agregado al alimento de forma adecuada. Pueden ser el futuro para la protección oxidativa de los alimentos, tanto para reducir los niveles de uso de los aditivos, como para mejorar la frescura, estabilidad y prolongar la vida útil de los alimentos. Un ejemplo son los carotenos y las xantofilas (permitidos ya como colorantes), la coenzima Q10, algunos flavonoides (quercetina) y multitud de especias, entre ellas el orégano (Anónimo 2013).

La tendencia actual según diversas empresas del sector de aditivos es la búsqueda de productos efectivos, a ser posible de origen natural y con el menor impacto en el listado de ingredientes y en el coste económico, así como que estos compuestos deben ser seguros, no afectar al sabor y el olor final, y por supuesto deben lograr una protección efectiva respecto a la oxidación. El mercado de los bioantioxidantes ha crecido cerca de un 50 % en los últimos años (Anónimo 2013).

OBJETIVOS

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Encontrar un tratamiento alternativo a los sulfitos para la conservación de la patata (cv. Monalisa) mínimamente procesada, mediante el estudio de diversas estrategias como son el empleo de compuestos antipardeantes o con la aplicación de modificaciones en el procesado.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar el control sobre el pardeamiento enzimático de los compuestos seleccionados como alternativa a los sulfitos en patata (cv. *Monalisa*) mínimamente procesada, almacenada 14 días a 4 °C.
2. Evaluar el efecto sobre la textura y el pardeamiento enzimático del uso combinado de modificadores de la textura con soluciones antipardeantes aplicado en patata (cv. *Monalisa*) mínimamente procesada, almacenada 14 días a 4 °C.
3. Evaluar y caracterizar diferentes especias, extraídas en agua, como compuestos con potencial antipardeante, cuya finalidad sería su aplicación en patata (cv. *Monalisa*) mínimamente procesada. Para ello se establecieron tres objetivos:
 - 3.1. Determinar la capacidad de los extractos de especias elegidos para la inhibición de la polifenol oxidasa, así como su capacidad antioxidante y su contenido polifenólico, para seleccionar los extractos más efectivos.
 - 3.2. Optimizar la extracción en agua de las especias seleccionadas.
 - 3.3. Evaluar la eficacia de las soluciones optimizadas para el control del pardeamiento enzimático de patata (cv. *Monalisa*) mínimamente procesada, almacenada 14 días a 4 °C.

DESARROLLO DEL TRABAJO

DESARROLLO DEL TRABAJO

Esta tesis recoge el trabajo realizado para la obtención del grado de doctor, y su principal objetivo es contribuir en la búsqueda de alternativas a los sulfitos en la conservación de patata (cv. *Monalisa*) mínimamente procesada.

Los sulfitos son empleados por su efectividad y bajo coste. En patatas mínimamente procesadas la legislación europea permite su uso hasta una dosis máxima de 50 ppm SO₂ (UE 2011), debido a que se cocina antes de consumir. Sin embargo, para frutas y hortalizas de consumo directo fueron restringidos por la FDA, ya que suponen un potencial riesgo para la salud. Es previsible que en un futuro se prohíba su uso, por lo que es necesario buscar una alternativa eficaz.

Para ello el trabajo realizado en esta tesis se puede dividir en tres bloques con diferentes objetivos, pero con la meta en común de conseguir la conservación de patata mínimamente procesada que mantenga su calidad mediante la aplicación de técnicas de conservación efectivas y lo más naturales posible:

1. Estudio de alternativas basadas en compuestos con capacidad antipardeante.

Se realizó una aproximación a los compuestos que según la bibliografía presentaban capacidad para la inhibición o reducción del pardeamiento enzimático, y se estudió el efecto que producían en patata (cv. *Monalisa*) mínimamente procesada, en las condiciones establecidas en esta tesis.

2. Estudio de modificaciones en el procesado.

Se aplicaron técnicas de conservación físicas mediante modificaciones en el procesado y su posible uso combinado con soluciones antipardeantes para evaluar su efecto en la conservación las patatas (cv. *Monalisa*) mínimamente procesadas,

3. Estudio de alternativas basadas en extractos naturales.

Dentro de la búsqueda de compuestos antipardeantes, también se

seleccionaron extractos procedentes especias para evaluar su posible potencial como antipardeantes en patata (cv. Monalisa) mínimamente procesada.

En cuanto al **primer bloque** (Capítulo 1, Bloque A), se utilizaron agentes conservantes para reducir o inhibir los efectos producidos por las reacciones de oxidación en las que interviene la enzima polifenol oxidasa en PMP. Como solución de referencia se empleó disulfito sódico (DS; E-223) con ácido cítrico y se comparó su efecto respecto a dos compuestos: N-acetil-L-cisteína y 4-hexilresorcinol. Ambos se aplicaron en las patatas de forma combinada con ácidos orgánicos. El NAC se usó combinado con AC, en base a los resultados de la tesis de (Trujillo 2004). El HR se usó combinado con AA, ya que diferentes estudios indicaban que esta combinación tenía un efecto sinérgico en el control del pardeamiento. Los resultados de este bloque llevaron al planteamiento de un diseño experimental en el que se incluyera un estudio del efecto de estas soluciones antipardeantes sobre la textura de las patatas, así como la opción de explorar a su vez algunos de los métodos para modificación de la textura.

El **segundo bloque** se divide en **tres secciones**:

En la **primera sección** (Capítulo 1. Bloque B), se comparó el efecto en la textura y la calidad visual que tiene el uso combinado de los modificadores de la textura, un pre-tratamiento térmico o cloruro cálcico, con las soluciones antipardeantes DS+AC o HR+AA. El cloruro cálcico fue elegido debido a que es un compuesto tradicionalmente utilizado en la industria para modificar la textura en frutas y hortalizas y que mostró cierto efecto antipardeante. En cuanto al uso de pre-tratamiento térmico, existen estudios que indican un aumento de la firmeza del tejido al aplicar un choque térmico a baja temperatura. Un ensayo previo fue realizado para la selección de la temperatura y duración de pre-tratamiento.

En la **segunda sección** (Capítulo 2.1), en base a los resultados de la primera sección y los del trabajo con hielo líquido para su aplicación en la industria de Manzanos (2010), se estableció un diseño experimental para estudiar el efecto en el color y la textura de PMP, de la aplicación combinada de un pre-tratamiento térmico a diferentes temperaturas y tiempo con un tratamiento antipardeante. Además se evaluó el efecto de la presencia del cloruro cálcico en el agua del pre-tratamiento térmico, y compararon dos sistemas de enfriamiento (baño de hielo vs. hielo líquido) de las muestras tras ser sometidas a los pre-tratamientos térmicos.

En la **tercera sección** (Capítulo 2.2) y en base a los resultados obtenidos en la segunda sección, se planteó un estudio para evaluar el efecto sobre la actividad relativa de la PME y la textura, a lo largo del almacenamiento, del uso combinado de un pre-tratamiento térmico, a dos temperaturas más altas, con un tratamiento antipardeante. Además se evaluó el efecto en la textura de la presencia del cloruro cálcico.

El **tercer bloque** fue desarrollado debido a que una de las principales limitaciones del primer bloque y de muchos de los estudios existentes, es que utilizan compuestos sintéticos, de origen natural o no, que además no están aprobados para su uso en productos mínimamente procesados. Por ello se realizó una revisión bibliográfica para buscar algunas alternativas menos convencionales y, sobre todo, más naturales. Es decir, que su uso no conlleve tantas limitaciones y reticencias legales debido a que son compuestos usados como conservantes e ingredientes culinarios a lo largo de la historia del hombre.

Ante el hecho de que algunos extractos de plantas podrían poseer cierta capacidad antipardeante, se desarrolló un amplio estudio de extractos naturales que, además implicó la puesta a punto de diferentes métodos para la evaluación y caracterización de estos extractos. Las extracciones de especias se

realizaron en agua, debido a que durante todo el procesado las patatas se mantienen sumergidas en agua para evitar el inicio de las reacciones de oxidación de la PPO. Por tanto, este bloque se dividió en **tres secciones**:

En la **primera sección** (Capítulo 3) se estableció un ensayo inicial basado en la aplicación de un extracto en agua de té verde en PMP. El té verde fue seleccionado porque existían trabajos que sugerían un cierto poder inhibidor de la PPO y antipardeante, pero en patata no había sido estudiado.

En la **segunda sección** (Capítulo 4, 5 y 6) y en base a los resultados de la primera sección, se desarrolló otra forma de extracción en agua y de aplicación de las soluciones naturales obtenidas. Se optó por realizar extractos en agua muy concentrados (extracto madre) para luego diluir para su uso. Este método facilitaba la preparación de las soluciones y la manipulación de las cantidades de extracto durante el procesado. Se escogieron 14 especias con reconocidas propiedades antioxidantes, conservantes y/o por su uso culinario en patata. Se seleccionaron las más efectivas para realizar una optimización de su extracción en agua, debido a que cada especia puede proceder de una parte diferente de la planta (tallo, hoja, bulbo o semilla), lo que significa que las condiciones de extracción no tienen por qué ser las mismas para cada una de ellas, así como la concentración a la que pueden ser efectivas.

En la **tercera sección** (Capítulo 7), el objetivo fue evaluar qué capacidad antipardeante mostraban los extractos optimizados al aplicarlos *in vivo*, es decir, al sumergir las patatas (cv. *Monalisa*) mínimamente procesadas con estas soluciones naturales.

CAPÍTULO 1. Estudio de la eficacia de compuestos antipardeantes y modificadores de textura en patata mínimamente procesada

CAPÍTULO 1 . Estudio de la eficacia de compuestos antipardeantes y modificadores de textura en patata mínimamente procesada.

1.1. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

A lo largo de los años se han estudiado diversos compuestos por su capacidad por su capacidad antipardeante en frutas y hortalizas. Las alternativas seleccionadas para este estudio fueron:

COMPUESTOS ANTIPARDEANTES

4-hexilresocinol

Varios autores han destacado que HR combinado con ácido ascórbico se producía un efecto sinérgico (Monsalve-Gonzalez et al. 1993, Luo y Barbosa-Canovas 1997, Dong et al. 2000, Guerrero-Beltrán et al. 2004). Monsalve-González et al. (1995) indicaron que en manzana, la aplicación de concentraciones mayores de 0,03 % HR se puede producir un aumento del contenido residual en el tejido y podría influir en el sabor de esta.

En mínimamente procesados existen diversas investigaciones que han utilizado HR solo o combinado con otros compuestos con un objetivo antipardeante y conservante, sin embargo en patata los estudios fueron en combinación con otros compuestos (más de dos) y/o con tiempos cortos de almacenamiento. Por ejemplo, Mattila et al. (1995) estudiaron en patatas pre-peladas, de diferentes cultivares, el efecto de diversos agentes conservantes (AC y AA con o sin CC o SP; o una solución de 0,5 % AC y 0,005 % HR). La apariencia fue evaluada a los 30, 60 y 120 min tras el tratamiento. La solución que contenía 0,1 % AC+0,1 % AA+0,1 % benzoato sódico fue más efectiva que el uso de AC o AA individualmente, aunque benzoato sódico a 0,3 o 0,5 % fue bastante efectivo. En este caso el la solución con HR + AC no redujo el pardeamiento en patata.

Reyes-Moreno et al. (2002) optimizaron los compuestos HR y AA como soluciones antipardeantes en patata, sin embargo los tiempos de inmersión eran muy largos (3-6 h) como para ser prácticos en la industria.

Ha sido un compuesto mucho más estudiado en manzanas o peras, por ejemplo, Luo y Barbosa-Canovas (1995) realizaron un estudio sobre el pardeamiento enzimático en manzanas mínimamente procesadas, aplicando tratamientos como 0,005-0,03 % HR, 0,5 % AA y 0,2 % CaCl₂, tanto de forma individual como en combinación. Las concentraciones de HR tan bajas como 0,005 % fueron efectivas. Sin embargo, en este caso, la solución que contenía 0,01 % HR + 0,5 % AA + 0,2 % CaCl₂ fue la más efectiva evaluada en manzanas envasadas en vacío parcial y almacenadas a 4,4 °C durante 14 días. Los mismos autores, en 1996, confirmaron que una solución de HR+AA, aplicado en manzanas mínimamente procesadas almacenadas 8 semanas a 0,5 °C, controlaba el pardeamiento enzimático al mismo nivel que los sulfitos, con la ventaja añadida de que HR+AA no blanqueaba las muestras. En 1997, realizaron además un estudio en siete cultivares de manzana diferentes, donde HR+AA se mostró efectivo en la mayoría de ellas.

Dong et al. (2000) encontraron que a las concentraciones de 0,005 y 0,01 % fueron efectivos en combinación con 0,5 % de ácido ascórbico para prevenir el pardeamiento en peras mínimamente procesadas. En la evaluación sensorial los panelistas encontraron que la concentración 0,01 % de HR fue detectada.

Para este trabajo, se realizaron unos ensayos preliminares para seleccionar las concentraciones de HR y AA a estudiar. Además de confirmar que el uso combinado de HR+AC no poseía capacidad para controlar el pardeamiento enzimático en patata (cv. *Monalisa*).

N-acetil-L-cisteína

Es un compuesto que posee grupos tiol y han sido estudiados como inhibidores del pardeamiento enzimático. Rojas-Graü et al. (2006) establecieron que el

pardeamiento en manzanas mínimamente procesadas puede ser controlado durante 14 días a 4 °C tanto con NAC sólo (a concentraciones > 0,75 %), como combinado con glutatión y con HR. Además, Oms-Oliu et al. (2006) también encontraron que el uso de NAC (0,75 %) era efectivo para el control del pardeamiento en peras almacenadas durante 28 días a 4 °C. Molnar-Perl y Friedman (1990) explicaron que el uso de NAC es preferible al de L-cisteína, porque presenta un umbral inferior de sabor, mayor inhibición del pardeamiento enzimático y mejor estabilidad.

En patata, Buta y Moline (2001) estudiaron el efecto que producía el uso combinado de inhibidores de la PPO con ácidos orgánicos. Una de las mejores formulaciones fue 0,25 M AC+0,001 M HR + 0,25 M NAC, el cual mantuvo la calidad de las patatas durante 14 días, el principal factor limitante fue microbiológico. Sin embargo, la combinación de HR y NAC sería una solución costosa, ya que ambos componentes tienen un precio alto al ser compuestos sintéticos.

Trujillo (2004) indicó que la solución que contenía 0,5 % NAC con 2 % AC, mantuvo la calidad de PMP (cv. *Monalisa*) fresco desde el punto vista sensorial, fisicoquímico y microbiológico durante 14 días a 4°C. Esta solución antipardeante va a ser utilizada en este capítulo como alternativa a los sulfitos. Además, la misma autora optimizó la cantidad de metabisulfito sódico a usar, reduciendo la concentración a 0,1 % DS si se combinaba con ácido cítrico (0,5%), el cual actúa de forma sinérgica, potenciando la efectividad del metabisulfito de sodio tanto en la inhibición del pardeamiento como en la reducción del crecimiento microbiano de las patatas (cv. *Monalisa*) mínimamente procesadas, dando muy buenos resultados durante 14 días a 4°C.

MODIFICADORES DE TEXTURA

Otro aspecto importante que se debe tener en cuenta es la textura del producto final, lo cual es esencial para presentar un producto de óptima calidad y que cumpla las expectativas que tienen los consumidores sobre la textura que tienen las verduras y frutas (Toivonen y Brummell 2008, Barrett et al. 2010).

Cloruro cálcico

El cloruro cálcico (E-507) ha sido ampliamente utilizado como reafirmante en frutas y verduras en la industria para alimentos enteros o mínimamente procesados. El uso de este compuesto puede también reducir el pardeamiento y el deterioro por madurez, la descomposición o el ablandamiento en frutas y hortalizas enteros o cortados según lo citado por Pastor et al (2006).

Pre-tratamiento térmico

Otra de las posibles alternativas para modificar la textura es el uso de pre-tratamientos térmicos o choques térmicos a baja temperatura. Podría ser una alternativa para evitar las consecuencias, en la textura, de la aplicación de algunos compuestos antipardeantes, así como el efecto del propio procesado aplicado a las patatas. Permitiría mejorar la calidad del producto sin necesidad del uso adicional de otros compuestos químicos, acercándolo más a la filosofía de un producto lo más natural posible.

Gonzalez-Martinez et al. (2004) demostraron que el grado de actividad de la PME en tejidos escaldados de patata dependía del "tiempo de exposición efectivo" a la temperatura a la cual la activación o desactivación de la enzima tiene lugar. Montanez-Saenz et al. (2003) también llegaron a la conclusión de que las modificaciones producidas a las sustancias pécticas de la pared celular y lamela media eran las principales responsables del aumento en la textura que se producían en tiras de patata sometidas a un choque térmico a baja temperatura. Verlinden et al. (2000) realizaron un estudio en rodajas de patata aplicando un choque térmico de 55, 60 y 75 °C durante 7,5 y 15 min. Evaluaron

los cambios producidos en la textura de la patata durante y tras el choque térmico durante el enfriamiento, para ello utilizó dos tipos de medidas instrumentales del atributo textura.

Para este estudio, también se realizaron ensayos previos para establecer el pre-tratamiento térmico a aplicar en las lonchas de patata (cv. *Monalisa*).

1.2. OBJETIVOS

Analizar la eficacia de los compuestos antipardeantes seleccionados como alternativa a los sulfitos y su efecto sobre la calidad de las PMP (cv. *Monalisa*). Para ello se realizaron dos bloques de ensayos:

En el **Bloque A**, el objetivo fue evaluar el efecto, en PMP, de las combinaciones antipardeantes más prometedoras encontradas en bibliografía respecto a una solución de disulfito sódico combinado con ácido cítrico (DS+AC) como tratamiento tradicional.

En el **Bloque B**, el objetivo fue explorar la introducción de modificadores de la textura en las PMP, como son la adición de cloruro cálcico a la solución antipardeante o la aplicación de un choque térmico suave a las lonchas de patatas antes de sumergirlas en la solución antipardeante seleccionada del Bloque A y DS+AC, para así comparar su efecto.

1.3. MATERIAL Y MÉTODOS

1.3.1. Preparación y procesado de las PMP

Los tubérculos de patata (*Solanum tuberosum*, cv. *Monalisa*) procedían del norte de España (Álava), con un calibre de 40-80 mm, se almacenaban a 8 °C hasta su utilización. Los valores que caracterizan la materia prima usada para cada ensayo fueron:

Bloque A: 79,53±3,03 % de humedad; 7,8±0,16 °Brix de sólidos solubles totales y un pH 6,06±0,05.

Bloque B: 77,57±0,74 % de humedad; 7,8±0,20 °Brix de sólidos solubles totales y pH 5,89±0,11.

Los agentes utilizados en este estudio fueron 4-hexilresorcinol y N-acetil-L-cisteína (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania), disulfito sódico (E-223), L-(+)-ácido ascórbico (E-300), ácido cítrico anhidro y cloruro de calcio (Panreac, Barcelona, España).

PROCESADO DE PMP

Los tubérculos fueron desinfectados en NaClO (300 ppm, Gunes y Lee (1997)) durante 5 minutos, enjuagados durante 3 min, pelados a mano con peladores y cortados en lonchas de 5 mm de espesor usando cortadora industrial Robot-Coupe CL 52. Las lonchas se mantenían sumergidas en agua desionizada hasta su tratamiento o embolsado, para eliminar el exceso de almidón y los otros componentes celulares. La proporción utilizada de patata y solución fue 1:3 (p/v) y todo el proceso fue realizado con el agua a 4 °C. En este punto las lonchas de patata tenían dos posibles destinos dependiendo del ensayo que fuera a realizarse:

Bloque A. Evaluación de la eficacia de soluciones antipardeantes seleccionadas.

Una vez cortadas, se escurrían las láminas y éstas eran sumergidas en la solución antipardeante correspondiente durante 7 min a 4 °C (Figura 1.1). El tratamiento Control consistía en patatas mínimamente procesadas a las que no se les aplicó ningún tratamiento antipardeante.

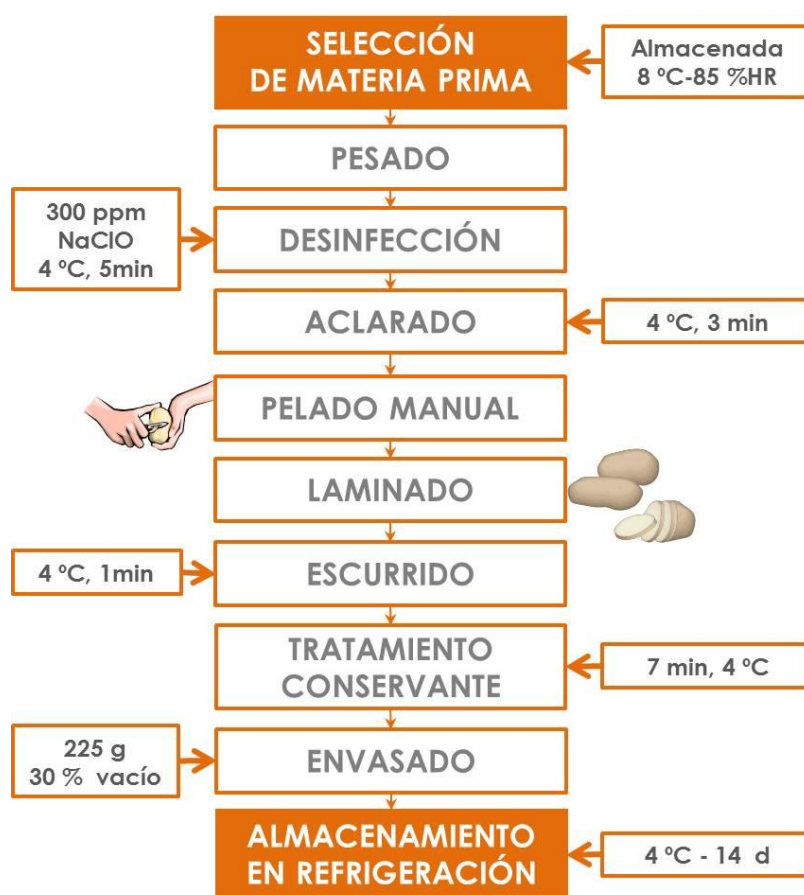


Figura 1.1. Diagrama del procesado mínimo con aplicación de un tratamiento antipardeante (Bloque A).

En base a la bibliografía y a un ensayo previo en el cual se estudiaron la combinación de HR (0,005, 0,01 y 0,02 %) en combinación con AC o AA (0,5, 1 y 2 %). Por un lado, la combinación HR+AC no consiguió inhibir el pardeamiento enzimático de las PMP (cv. *Monalisa*) almacenadas 14 días a 4 °C, ya que se observaron coloraciones rosáceas y grisáceas en la superficie de las lonchas. Por otro lado, se confirmó que la combinación de HR+AA funcionaba, tal como indicaban algunos estudios. Se eligió 2 % AA debido a su mecanismo de inhibición está vinculado a su concentración y su consumo, asegurando así la mayor cantidad de AA en la solución. Y las concentraciones finales de HR elegidas (0,005 y 0,02 % HR) fueron seleccionadas porque incluso la menor concentración de HR fue efectiva y la concentración más alta servía para realizar una comparación en su efecto sobre las patatas.

Las soluciones utilizadas fueron preparadas en agua desionizada (% p/v). Los tratamientos estudiados fueron: 0,1 % disulfito sódico + 0,5 % ácido cítrico (DS+AC), 0,5 % N-acetil-L-cisteína + 2 % ácido cítrico (NAC+AC), 0,005 % 4-hexilresorcinol + 2 % ácido ascórbico (0,005%HR+AA) y 0,02 % 4-hexilresorcinol + 2 % ácido ascórbico (0,02%HR+AA).

Bloque B. Efecto en PMP de modificadores de textura combinados con soluciones antipardeantes.

En el caso de aplicar un choque térmico como tratamiento previo, tras el escurrido, las lonchas de patatas se sumergían en una marmita con camisa de agua caliente E5CS a una temperatura de régimen de 50 °C durante 5 minutos. Posteriormente se enfriaban en un baño de hielo con el objetivo de parar el tratamiento térmico y bajar su temperatura hasta 6 ± 1 °C (Figura 1.2). Tras este enfriamiento se realizaba otro escurrido y se sumergían las láminas en la solución antipardeante correspondiente (Tabla 1.1) durante 7 min a 4 °C.



Figura 1.2. Diagrama de procesado con un choque térmico previo al tratamiento con la solución antipardeante (Bloque B).

Tabla 1.1. Tratamientos y soluciones usadas para el estudio del Bloque B.

Abreviatura	Solución antipardeante	Modificador de textura
DS+AC	0,1 % DS + 0,5 % AC	X
0,005 % HR+AA	0,005 % HR + 2 % AA	X
DS+AC+0,2 % CC	0,1 % DS + 0,5 % AC	0,2 % Cloruro cálcico
0,005 HR+AA+0,2 % CC	0,005 % HR + 2 % AA	0,2 % Cloruro cálcico
DS+AC+50°C/5'	0,1 % DS + 0,5 % AC	CT 50 °C-5 min
0,005 HR+AA+50°C/5'	0,005 % HR + 2 % AA	CT 50 °C- 5 min

En ambos Bloques (A y B), se trataban con las soluciones antipardeantes 900 g de patata y se envasaban en bolsas de LDPE de 0,80 μm de espesor (22×16,5 cm). Se envasaban 225 g de lonchas de patata en cada bolsa que era sellada con una envasadora Sammic con un vacío del 30 %, para poder observar si se

hinchaban debido a actividad microbiana. Se almacenaron durante 14 días a 4 ± 1 °C en oscuridad hasta su análisis. El diseño experimental de los Bloques A y B se muestran en la Figura 1.3. Se prepararon cuatro bolsas por tratamiento y día de análisis.

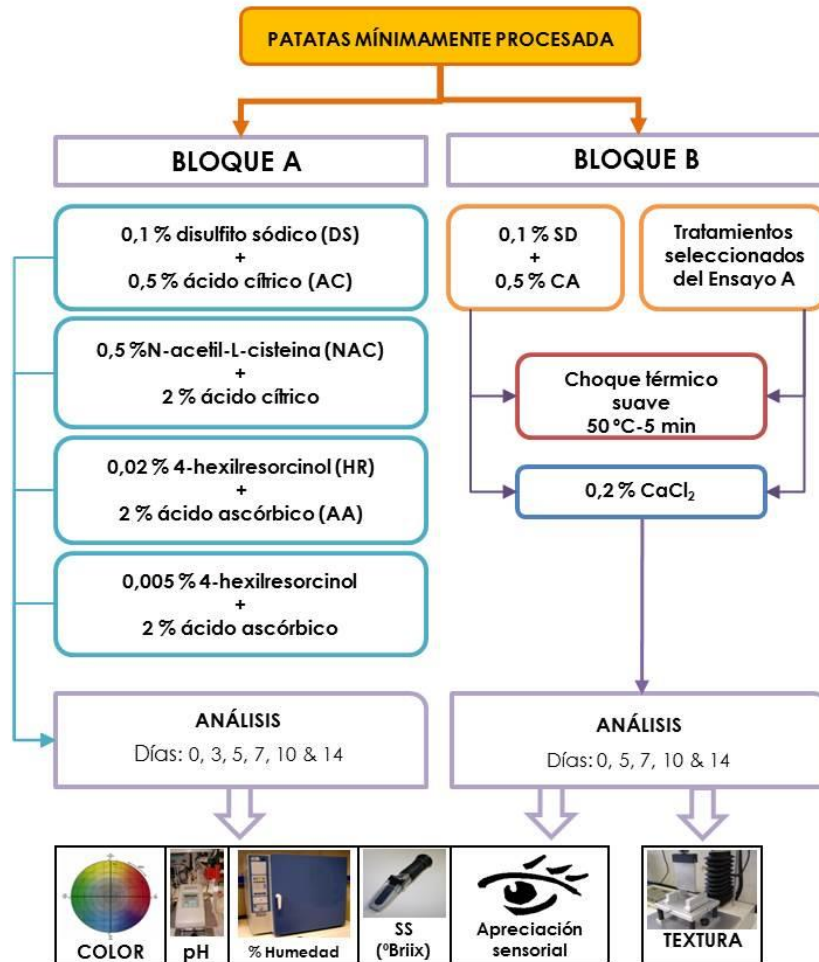


Figura 1.3. Diagrama del diseño experimental dividido en dos Bloques: (A) Eficacia de soluciones antipardeantes seleccionadas y (B) Efecto en PMP de modificadores de textura combinados con las soluciones antipardeantes seleccionadas.

1.3.2. Evaluación de la calidad

Se realizaron las medidas en diferentes días de almacenamiento. Para el **bloque A** fueron 0, 3, 5, 7, 10 y 14 y para el **bloque B** fueron 0, 5, 7, 10 y 14.

1.3.2.1. pH

El pH de las muestras tratadas con diferentes soluciones (Bloque A y B) se determinó según el método oficial 981.12 de la AOAC (2000). Se hizo puré aproximadamente 100 g de lonchas de patata mediante un homogeneizador, efectuándose inmediatamente tres medidas con un pH-metro Sentron 1001 ISFET (Sentron Europe B.V.) dotado de un accesorio de penetración y compensación automática de temperatura. Se realizaron un total de tres determinaciones para cada bolsa y su media fue la medida final.

1.3.2.2. Contenido de sólidos solubles totales

Para la determinación del contenido de sólidos solubles totales (SST) de las muestras (Bloque A y B), se trituraron 100 g de muestra hasta obtener su jugo. Se tomaron una o dos gotas de dicho jugo y se aplicaron en la ventana de medición de un refractómetro portátil para determinación de contenido de azúcares solubles (°Brix) (North China Optical Instruments Factory, Mod. SZJ-A) previamente calibrado. Se realizaron un total de tres determinaciones para cada bolsa y su media fue la medida final. En este caso, se calculó la variación del contenido de SST (Ecuación 1).

$$\Delta\text{SST} = \text{SST}_{\text{d14 tto}} - \text{SST}_{\text{pf}} \quad (1)$$

Donde $\text{SST}_{\text{d14 tto}}$ corresponde al contenido de SST en el último día de almacenamiento (°Brix) y SST_{pf} corresponde al contenido de SST de la patata fresca (°Brix).

1.3.2.3. Contenido de humedad

La determinación de la pérdida de agua del material vegetal durante el almacenamiento (Bloque A y B), se realizó siguiendo un procedimiento

adaptado a partir de los métodos oficiales AOAC 930.15 y 934.01 (AOAC 2000). Se tomaron muestras de aproximadamente 5 g de peso fresco, en bandejas desechables de aluminio, que se secaron en estufa de convección (J. P. Selecta) a 105 °C hasta alcanzar peso constante. Las determinaciones gravimétricas se realizaron empleando una báscula de alta precisión Gram serie BH (Gram Precision S. L.), efectuando una determinación por bolsa (n=4 por tratamiento). El contenido de humedad de las muestras (% H) se calculó de acuerdo a la Ecuación 2:

$$\% \mathbf{H} = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100 \quad (2)$$

Donde P_i indica peso inicial de la muestra (g) y P_f indica su peso final (g).

En este capítulo, fue calculada la variación del contenido de humedad (ΔH) como se indica a continuación (Ecuación 3):

$$\Delta \mathbf{H} = H_{d14\text{tto}} - H_{pf} \quad (3)$$

Donde $H_{d14\text{tto}}$ corresponde al contenido de humedad (%) en el último día de almacenamiento y H_{pf} corresponde al contenido de humedad (%) de la patata fresca.

1.3.2.4. Color

La determinación del color superficial de las lonchas de patata se llevó a cabo de forma instrumental los días de análisis establecidos (Bloque A y B). Se empleó un espectrofotómetro Minolta CM-2500d (Konica Minolta Sensing Inc.) en el espacio de color *CIELab* y como sistema de referencia el iluminante 65/observador 10°. Previamente a cada medición se calibró el aparato según el espacio de color $L^*a^*b^*$ de la CIE mediante una pastilla blanca de sulfato de Bario ($L^* = 99,37$; $a^* = -0,07$; $b^* = -0,14$). En este modelo, L^* es la luminosidad que establece el grado de claridad de la muestra, donde los valores positivos son colores claros y los negativos indican colores oscuros. Las coordenadas a^* y b^* definen el plano de cromaticidad, en el que valores positivos de a^* indican

colores rojizos y los negativos colores hacia el verde. En el caso de b^* , los valores positivos tienden al color amarillo y los valores negativos indican color azul (Figura 1.4). En estos ensayos se realizaron 12 mediciones por cada bolsa, tratamiento y día ($n=48$ por tratamiento). Como valor para cada loncha, se tomó el promedio de tres disparos aleatorios realizados sobre la superficie de la loncha.

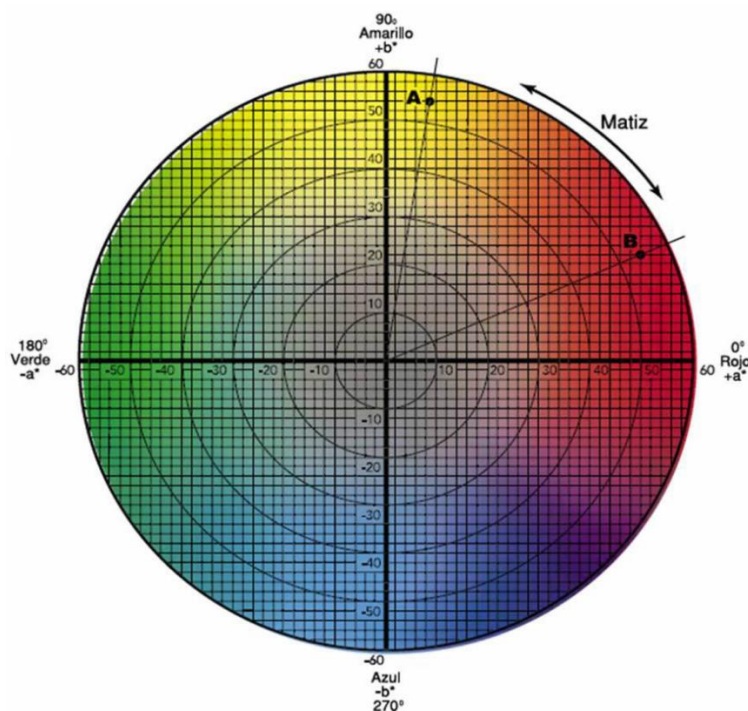


Figura 1.4. Gráfica de color del espacio CIELab.

1.3.2.5. Textura

Los ensayos (Bloque B) se llevaron a cabo en discos de patata extraídos de la zona parenquimática central de cada loncha de patata mediante un sacabocados de acero inoxidable de 27 mm de diámetro. Los discos se dejaron atemperar durante al menos media hora a temperatura ambiente (≈ 20 °C)

antes de comenzar los ensayos. El ensayo consistía en hacer bajar la cuchilla y aplicar una fuerza constante sobre el disco de patata hasta que este se parte por la mitad. Se realizaron un total de 40 determinaciones Fuerza/Distancia por cada tratamiento y día (n=40 por tratamiento), a partir de las cuales se calcularon los parámetros de fuerza máxima de corte (F_{max} , en N) y distancia de la superficie a la que se obtiene dicha fuerza ($D_{F_{max}}$, en mm). Para ello se empleó un texturómetro TA-XT2i (Stable Micro Systems Ltd.) con una célula de carga de 25 kg y usando el accesorio cuchilla Warner Bratzler. Los parámetros de ensayo fueron 10 mm/s para la fase previa del test (aproximación), 2 mm/s durante el test (fase de corte) y 10 mm/s durante la fase posterior (elevación de la cuchilla hasta la posición de origen), método descrito por Angos et al. (2008).

1.3.2.6. Apreciaciones sensoriales

Evaluación de la apariencia: se efectuó antes de abrir el envase mediante observación directa de la muestra con el fin de evaluar si la muestra presentaba algún cambio en el color, aparición de exudación, abombamiento de la bolsa, cualquier anomalía que se presente y posteriormente, durante la realización de las determinaciones de color instrumental.

Evaluación del olor: justo al abrir la bolsa se aspiraba el olor de su interior con el fin de detectar cualquier clase de olor extraño, como por ejemplo olores indicativos de descomposición o de fermentación.

Evaluación de la sensación al tacto: se examinaba la rigidez de las láminas de patata, presionándolas y flexionándolas para establecer su grado de firmeza.

1.3.2.7. Análisis estadístico

Se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento y día, los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) empleando el paquete estadístico SPSS 15.0 para Windows. En el caso de diferencias significativas entre los tratamientos ($\alpha = 0,05$) se realizaba la comparación mediante el test de Tukey.

1.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.4.1. BLOQUE A: Evaluación de la eficacia de las soluciones antipardeantes seleccionadas.

1.4.1.1. pH

El pH de cada solución antipardeante utilizada fue:

DS+AC	NAC+AC	0,005 % HR+AA	0,02 % HR+AA
2,87±0,08	2,47±0,05	3,22±0,15	3,02±0,15

Las lonchas de patata tratadas experimentaron una acidificación tras la aplicación de las soluciones antipardeantes a día 0 (Tabla 1.2), tal y como era de esperar en base a los pHs iniciales de las soluciones antipardeantes. Las muestras tratadas con NAC + CA sufrieron la mayor bajada de pH ($p < 0,05$) de entre todos los tratamientos. El hecho de bajar el pH de las patatas puede ralentizar el crecimiento microbiano y hasta cierto punto las reacciones de pardeamiento enzimático. Sin embargo, con el almacenamiento en 4 ± 1 ° C, los valores de pH de las muestras tratadas muestran tendencia a aumentar. El tratamiento 0,005 % HR+AA presentó un pH significativamente mayor ($p < 0,05$) que el resto de tratamientos, a día 14, lo cual puede estar relacionado el pH propio de la solución (pH 3,22).

Este comportamiento, el aumento del pH durante el almacenamiento, también se observó en el estudio de Trujillo (2004) y podría explicarse por dos posibles mecanismos. Por un lado, los ácidos orgánicos (ascórbico y ácido cítrico), como antioxidantes o agentes quelantes se consumieron al actuar como inhibidores del pardeamiento (Gorny, J. R. 1997). Por otro lado, el metabolismo del vegetal tiende a equilibrar la acidificación en el tejido causada por soluciones de inmersión y una vía para mantenerla es la homeostasis del pH celular que podría producir un aumento significativo en el metabolismo del ácido cítrico y el málico (Holcroft y Kader 1999). Lo cual podría explicar que las muestras control, las

únicas sin estar expuestas a las soluciones ácidas, se comporten justamente al contrario, es decir, su pH disminuye a lo largo del almacenamiento.

Tabla 1.2. Análisis estadístico del pH de las muestras control y tratadas con las soluciones antipardeantes evaluadas en el Bloque A.

Tratamiento	Día 0	Día 7	Día 14
Control	6,06±0,08 ^{a*}	5,95±0,04 ^d	5,79±0,04 ^b
0,005 % HR + 2 % AA	5,32±0,04 ^c	5,74±0,05 ^c	5,92±0,14 ^c
0,02 % HR + 2 % AA	5,17±0,06 ^b	5,65±0,05 ^b	5,89±0,13 ^{ab}
0,5 % NAC + 2 % AC	5,00±0,04 ^a	5,42±0,07 ^a	5,69±0,09 ^{ab}
0,1 % DS + 0,5 % AC	5,30±0,03 ^c	5,41±0,03 ^a	5,66±0,07 ^a

^{a-d} letras diferentes indica diferencias significativas entre los tratamientos para cada día.

* Media±ds (n=4).

1.4.1.2. Variación del contenido de humedad y de los sólidos solubles totales

La **variación en el contenido en humedad** (Tabla 1.3) de todos los tratamientos no presenta diferencias significativas incluido el control ($p>0,05$), lo cual puede indicar que las soluciones no parecen afectar al contenido de humedad de las muestras, ya que evolucionan a lo largo del tiempo de forma similar.

Tabla 1.3. Análisis estadístico de la variación del contenido de humedad (ΔH) y sólidos solubles totales (ΔSST).

Tratamiento	ΔH	ΔSST
Control	-0,34±0,96 ^{a*}	0,32±0,18 ^c
0,02 % HR + 2 % AA	-2,46±0,77 ^a	0,23±0,08 ^c
0,005 % HR + 2 % AA	-0,15±1,32 ^a	-0,42±0,29 ^b
0,5 % NAC + 2 % AC	-0,32±1,10 ^a	-0,63±0,17 ^b
0,1 % DS + 0,5 % AC	-1,28±0,45 ^a	-1,13±0,21 ^a

^{a-d} letras diferentes indica diferencias significativas entre los tratamientos para cada parámetro. * Media±ds (n=4).

En cuanto a la **variación en el contenido de sólidos solubles totales**, sí que se observaron diferencias significativas (Tabla 1.3). La inmersión de las lonchas en cada una de las soluciones produce un efecto diferente sobre este parámetro. Es decir, la patata control aumenta su contenido en SST al final del almacenamiento al igual el tratamiento 0,02 % HR+AA ($p>0,05$). Esto puede ser debido al stress del procesado o se puede estar produciendo el "endulzamiento". Este fenómeno se debe a la transformación del almidón en azúcares reductores producido por la exposición a la temperatura de almacenamiento de 4 °C, inferior a los 10 °C habitualmente aconsejados para limitar este fenómeno durante el almacenamiento de tubérculo intacto (Burton 1989). Este fenómeno, inevitable al trabajar en un producto mínimamente procesado, el cual necesita de una refrigeración moderada.

Sin embargo, el resto de tratamientos muestran una reducción del contenido SST al final del almacenamiento (5,5 % para 0,005 % HR+AA; 8 % para NAC+AC y 14,6 % para DS+AC). En el caso de DS+AC, se detectó exudación en las muestras del último día, lo que pudo influir en el descenso tan significativo ($p<0,05$) que se observa.

1.4.1.3. Color

Diferentes autores han utilizado los parámetros L^* y a^* como indicadores del pardeamiento de las superficies cortadas de hortalizas como la patata y de frutas como las peras y las manzanas (Monsalve-Gonzalez et al. 1993, Rojas-Graü et al. 2008). Un descenso en los valores de L^* reflejan un oscurecimiento y un aumento en el valor de a^* indica un aumento en la tonalidad rojiza del tejido (Rocha y Morais 2003).

A día 0, la aplicación de los tratamientos no afecta a la luminosidad de las muestras ($p>0,05$) (Figura 1.5 a). A lo largo del almacenamiento se observa como las muestras control presentan valores significativamente más bajos ($p<0,05$) respecto a las muestras tratadas con las soluciones antipardeantes, destacando

el día 10 en el cual las muestras control y las tratadas con NAC+AC no se diferencian ($p>0,05$), mostrando este tratamiento un comportamiento irregular a lo largo del almacenamiento. A día 14 los tratamientos 0,005 % HR+AA y DS+AC tenían una L^* significativamente mayor al resto ($p<0,05$).

En cuanto la evolución de la coordenada a^* (Figura 1.5 b), a día 0, el valor de las patatas tratadas con 0,02 % HR+AA es significativamente más bajo ($p<0,05$) que con el tratamiento DS+AC ($-0,91\pm 0,35$ y $-0,71\pm 0,39$, respectivamente). A partir de ese día se observan dos comportamientos diferentes, las patatas tratadas con las soluciones que contienen HR con AA y, el otro, el de las muestras tratadas con las soluciones DS+AC o NAC+AC, por lo que parece que el tipo de ácido orgánico utilizado influye en a^* .

Al final del almacenamiento, la concentración de HR 0,02 %+AA mostró valores significativamente más altos de a^* ($p<0,05$) respecto a 0,005 % HR+AA, lo cual indica una tendencia más marcada hacia las coloraciones rojizas a mayor concentración de HR. Por otro lado, las muestras tratadas con DS+AC y las tratadas con NAC+AC presentaron los valores más bajos de a^* ($p<0,05$). Sin embargo, en el caso de la solución de NAC+AC, aunque presentaron valores bajos de a^* al analizar, con el hecho de que también mostró una luminosidad más baja que otros tratamientos en los últimos días de almacenamiento, podría indicar que muestra una ligera tendencia al oscurecimiento general pero sin afectar o evidenciarse en la coordenada a^* .

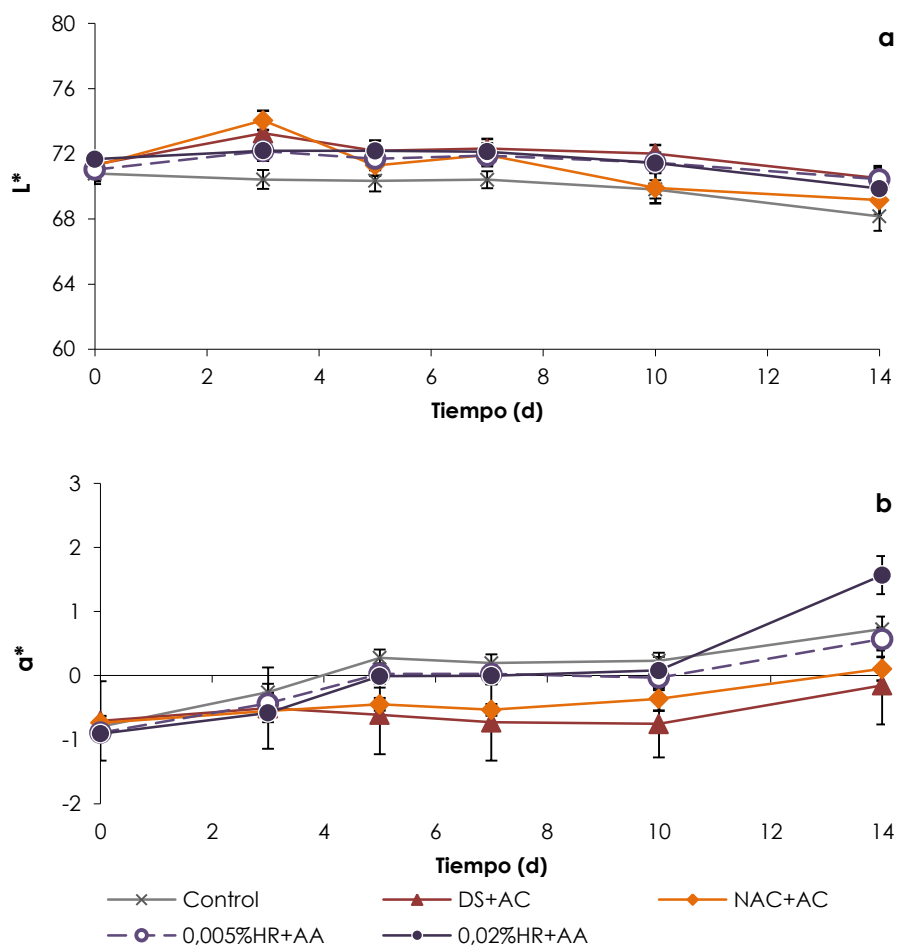


Figura 1.5. Evolución de la luminosidad (**a**) y de la coordenada a^* (**b**) de las PMP a lo largo de 14 días a 4 °C tratadas con las soluciones antipardeantes seleccionadas (IC95 %, n=48).

Para observar de una forma global el comportamiento del color de las muestras analizadas, se presentan a continuación gráficas que representa la luminosidad con respecto a ambas coordenadas (a^* y b^*) (Figura 1.6, Figura 1.7 y Figura 1.8).

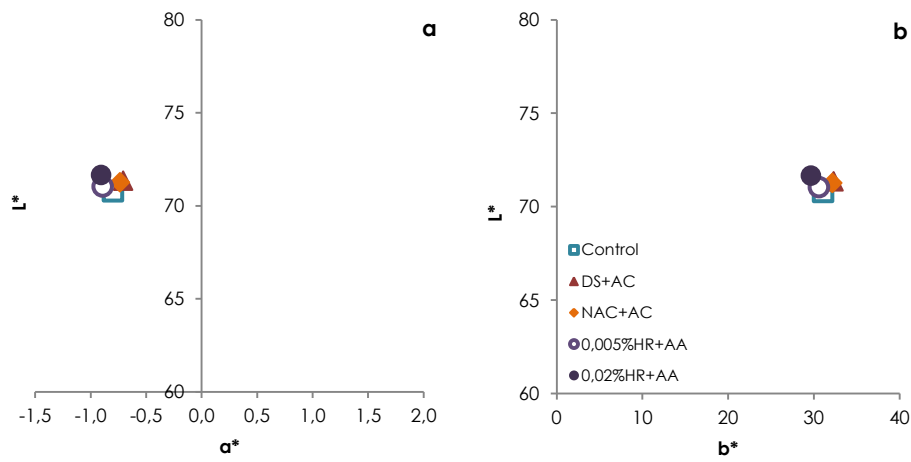


Figura 1.6. Comportamiento del color de las lonchas tratadas a **día 0**, representando Luminosidad respecto a coordenada a* (**a**) y respecto a coordenada b* (**b**).

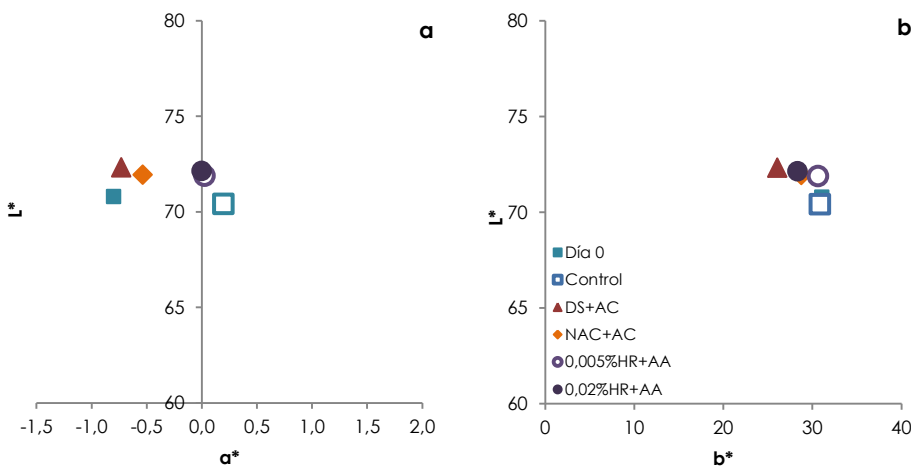


Figura 1.7. Comportamiento del color de las lonchas tratadas a **día 7**, representando Luminosidad respecto a coordenada a* (**a**) y respecto a coordenada b* (**b**).

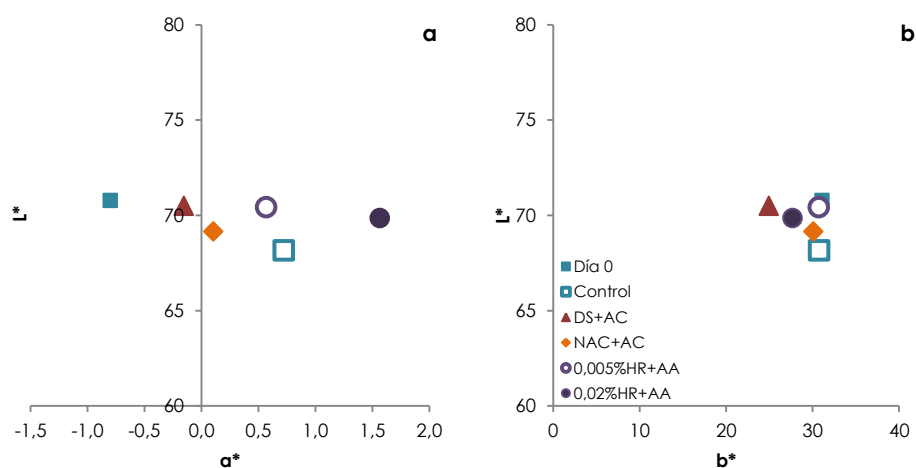


Figura 1.8. Comportamiento del color de las lonchas tratadas a **día 14**, representando Luminosidad respecto a coordenada a^* (**a**) y respecto a coordenada b^* (**b**).

A día 0 (Figura 1.6), se observa que la aplicación de las soluciones antipardeantes no afectó en gran medida en el color de las muestras, tal y como se ha comentado. A día 7 (Figura 1.7 a), se observa la diferencia de comportamiento entre los tratamientos con HR+AA y DS+AC y NAC+AC. Siendo las muestras tratadas con las soluciones que contenían HR+AA, los que se alejaron más rápidamente de los valores iniciales de patata respecto a la coordenada a^* . Respecto a b^* (Figura 1.7 b), destaca como las lonchas tratadas con SD+AC muestra valores más bajos que el resto, lo que indica que se aleja de la coloración amarillenta característica de la patata fresca. Tras los 14 días de almacenamiento (Figura 1.8 a) las lonchas tratadas con DS+AC presentaron los valores de color más cercanos a los valores iniciales, seguido por el tratamiento NAC+AC y por 0,005HR+AA. Respecto a los valores de b^* (Figura 1.8 b) se mantiene la tendencia observada en las muestras tratadas con DS+AC, lo que concuerda con la pérdida de intensidad del color amarillo que se apreció en las lonchas tratadas con esta solución.

1.4.1.4. Apreciaciones sensoriales

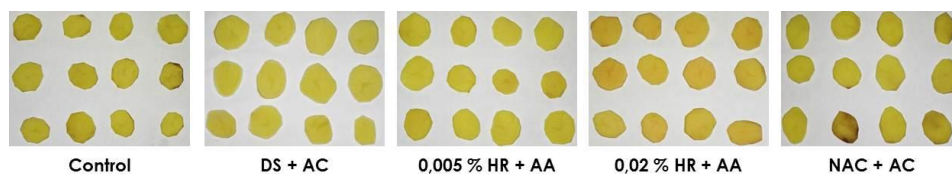


Figura 1.9. Apariencia de las PMP tratadas con las soluciones antipardeantes y el control, tras **14 días** en almacenamiento a 4 °C.

En cuanto a las observaciones registradas durante los análisis, en el último día de almacenamiento (Figura 1.9) y respecto a la apariencia de las patatas, no se detectaron defectos ni coloraciones pardeadas en las muestras tratadas con 0,005 % HR+AA y DS+AC.

La aplicación de DS+AC produjo al final del almacenamiento cierta exudación. Calder et al. (2011) indicaron que la aplicación de ácido sulfato de sodio (Na_2SO_4) provocaba al final del almacenamiento de 14 días cierta exudación en PMP. Indicaron que la acidez inicial podría haber hidrolizado los tejidos de la patata o haber causado una gradación iónica que empujaba la humedad fuera provocando los esos exudados.

La aplicación de la solución que contiene HR+AA presentaba cierta sequedad superficial, más similar al comportamiento observado en las muestras control, aunque estas últimas, a día 5, ya mostraban un pardeamiento enzimático evidente.

Respecto a la apariencia de las muestras tratadas con 0,02 % HR+AA, a partir del día 7, sufrió una ligera intensificación del color, pero no era pardeado enzimático, también se detectó un cambio en el olor más pronunciado.

Con la aplicación de NAC+AC, se detectó un ligero cambio en la coloración desde el día 5, y aunque los resultados instrumentales mostraban un comportamiento relativamente adecuado (valores altos de a^* pero bajos de L^*),

se observaron coloraciones pardas puntuales en la superficie de corte de las lonchas (los bordes), lo que parece que no era fácilmente registrado instrumentalmente. Es decir, no controla el pardeamiento enzimático al nivel que lo hace DS+AC. Por esta razón y porque es un compuesto muy caro, este tratamiento fue descartado para el siguiente ensayo (Bloque B).

La decoloración detectada en algunas lonchas de patata tratadas con DS+AC, también fue observado en manzana tratada con soluciones con sulfitos (Luo y Barbosa-Cánovas 1996).

Luo y Barbosa-Cánovas (1995) y Dong et al. (2000), en manzana y en pera, también encontraron que las concentraciones más bajas de HR en combinación con AA seguían mostrando eficacia respecto al control del pardeamiento, incluso mejor que a concentraciones mayores de 4-hexilresorcinol.

Por lo que la solución con 0,005% HR + 2% AA, es alternativa al tratamiento DS+AC, ya que se muestra igual de eficaz en el control del pardeamiento de PMP (cv. *Monalisa*).

1.4.2. BLOQUE B: Efecto en PMP de modificadores de textura combinados con soluciones antipardeantes.

En el bloque A se ha evaluado el comportamiento del color tras la aplicación de las distintas soluciones antipardeantes, ya que el pardeamiento enzimático es el principal factor de deterioro en este producto. En el Bloque B se va a centrar en evaluar el efecto sobre la textura que provoca el tratamiento 0,005 % HR + 2 % AA (Bloque A), que demostró ser eficaz frente al pardeamiento. A la vez se pretende explorar el comportamiento de la textura y el color de las lonchas de patata tratadas con la solución antipardeante combinadas con modificadores de textura.

1.4.2.1. pH

Tal y como se observó en el Bloque A, las muestras sufren una acidificación inicial, ya que el pH de la patata fresca es de 6,06. La bajada de pH más significativa fue con el tratamiento DS+AC ($p < 0,05$). En ambos casos DS+AC+CC y HR+AA+CC, el pH fue significativamente más alto que sus tratamientos de referencia ($p < 0,05$), debido quizás a que la presencia de CC amortigua esta acidificación debido a que no es un compuesto ácido (Tabla 1.4).

Tabla 1.4. Análisis estadístico del pH de las muestras para cada tratamiento para los días 0, 7 y 14.

Tratamiento	Día 0	Día 7	Día 14
DS+AC	5,25±0,05 ^{a*}	5,37±0,04 ^{ab}	5,48±0,05 ^b
DS+AC+CC	5,46±0,08 ^c	5,39±0,05 ^b	5,45±0,05 ^{ab}
DS+AC+50°C/5'	5,38±0,10 ^{ab}	5,31±0,03 ^a	5,39±0,04 ^a
HR+AA	5,32±0,04 ^{ab}	5,81±0,06 ^d	5,94±0,06 ^c
HR+AA+CC	5,61±0,04 ^d	5,79±0,08 ^d	5,96±0,10 ^c
HR+AA+50°C/5'	5,40±0,14 ^{bc}	5,68±0,03 ^c	5,91±0,10 ^c

^{a-d} letras diferentes indica diferencias significativas entre los tratamientos para cada día.

* Media±ds (n=4).

Tras 7 días de almacenamiento, crean dos grupos diferenciados ($p < 0,05$), en función del tipo de solución antipardeante de referencia aplicada (HR+AA o DS+AC). En las muestras tratadas con HR+AA con o sin modificadores de textura se produce un aumento progresivo del pH ($p > 0,05$) llegando a un valor homogéneo de entre 5,9-6 tras 14 días de almacenamiento. En los tres casos (HR+AA con o sin modificadores) hubo diferencias significativas entre el día 0 y el día 14 ($p < 0,05$). Las muestras tratadas con DS+AC con o modificadores de textura, tuvieron un pH entre 5,4 y 5,5 al final del ensayo. A lo largo del tiempo no hubo cambios significativos en su pH ($p > 0,05$).

1.4.2.2. Variación del contenido de humedad y de sólidos solubles totales

En cuanto a la **variación en el contenido de humedad** (ΔH ; Tabla 1.5) de las muestras, en todos los casos el % de humedad final fue mayor que el inicial. El tratamiento HR+AA+50 °C/5' presenta una variación significativamente mayor que el resto de tratamientos, lo que indica que retuvo mucha humedad a lo largo del almacenamiento, debido a la humedad adicional por el choque térmico combinado con el carácter ligeramente hidrofóbico del HR. La exposición a mayor humedad también se detecta con el tratamiento DS+AC+50 °C/5', cuya variación en humedad es mayor que sus homólogos. La adición o no de CC no parece afectar de forma significativa a la humedad de las lonchas.

Respecto a la **variación en el contenido de sólidos solubles totales** (ΔSST ; Tabla 1.5), en el caso de los tratamientos con la solución de referencia DS+AC, no se detectaron diferencias significativas ($p > 0,05$). El tratamiento de HR+AA con o sin CC presenta un contenido de SST al final del almacenamiento mayor que el inicial. Al aplicar el pre-tratamiento térmico con HR+AA, el comportamiento fue significativamente diferente e inverso ($p < 0,05$).

Tabla 1.5. Análisis estadístico de la variación del contenido de humedad (ΔH) y sólidos solubles totales (ΔSST).

Tratamiento	ΔH	ΔSST
DS+AC	0,39±0,82 ^a	0,30±0,14 ^{ab}
DS+AC+CC	0,10±0,90 ^a	-0,05±0,26 ^{ab}
DS+AC+50°C/5'	1,36±1,16 ^{ab}	0,15±0,87 ^{ab}
HR+AA	1,54±1,06 ^{ab}	1,03±0,37 ^b
HR+AA+CC	1,69±1,40 ^{ab}	0,97±0,21 ^b
HR+AA+50°C/5'	3,15±0,86 ^b	-0,55±0,66 ^a

^{a-b} letras diferentes indica diferencias significativas entre los tratamientos para cada parámetro. * Media \pm ds (n=4).

1.4.2.3. Textura

Lo primero que destaca en la Figura 1.10 son las dos tendencias distintas que aparecen, respecto a la fuerza de corte, en función de la solución antipardeante de referencia aplicada, independientemente del modificador de textura utilizado. A día 0, las lonchas tratadas con el choque térmico, con independencia de la solución antipardeante aplicada después, presentaron valores significativamente más altos ($p < 0,005$) que sus respectivos tratamientos de referencia (DS+AC y HR+AA).

En las muestras tratadas con DS+AC hubo una disminución de la fuerza de cizallado durante el almacenamiento y, en el caso de DS+AC+50 °C/5', apareció exudaciones desde el día 0, lo que refuerza la aparición de esa pérdida de textura, a pesar del aumento en la dureza observado inicialmente de las lonchas tras el choque térmico. A partir del día 5 no se observan diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los tres tratamientos (DS+AC, DS+AC+CC y DS+AC+50 °C/5').

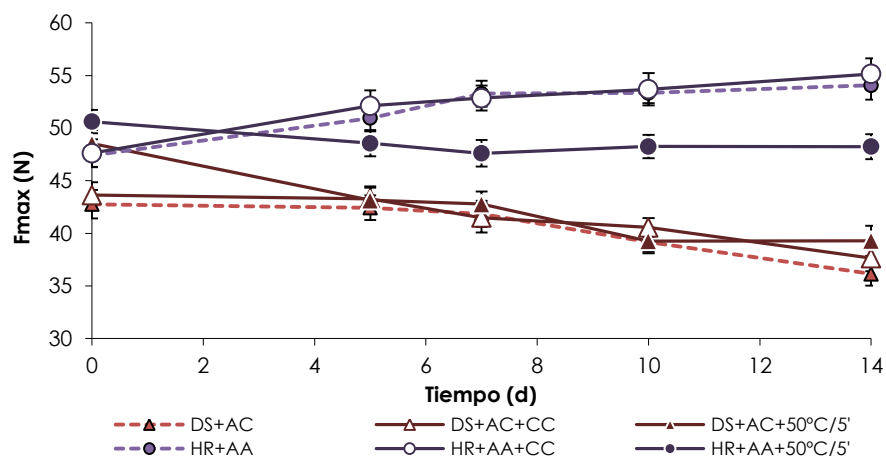


Figura 1.10. Evolución la Fuerza máxima de corte (F_{max} , N) de las muestras tratadas con las soluciones antipardeantes en combinación con los modificadores de textura, almacenadas 14 días a 4 °C (IC95 %, n=40).

Respecto a la evolución observada para las muestras tratadas con HR+AA, cualquiera de los tratamientos muestran una mayor dureza que las lonchas tratadas con DS+AC ($p > 0,05$). Los valores de F_{max} de las muestras tratadas con HR+AA+50 °C/5' disminuyen respecto al día 0, manteniéndose significativamente más bajos ($p < 0,05$) y constantes que HR+AA y HR+AA+CC, a lo largo del tiempo. Las patatas tratadas con 0,005 % HR+ 2 % AA+ 0,2 % CC no muestran de diferencias significativas ($p > 0,05$) con respecto al tratamiento de referencia a lo largo del tiempo. Este resultado indica que, en el caso de PMP (cv. *Monalisa*) y en las condiciones establecidas, la concentración de 0,2 % CC no produce un efecto evidente en la textura de las patatas en fresco. Sin embargo, Luo y Barbosa-Canovas (1995) obtuvo resultados aceptables en color y textura en rodajas de manzana almacenadas a 0,5 °C durante 50 días y tratadas con 0,01 % HR + 0,5 % AA + 0,2 % CC, después de comparar diferentes combinaciones de esos agentes.

A continuación se muestran las gráficas que representan la F_{max} respecto a D_{fmax} para observar el comportamiento global de la textura y su evolución de las muestras tratadas.

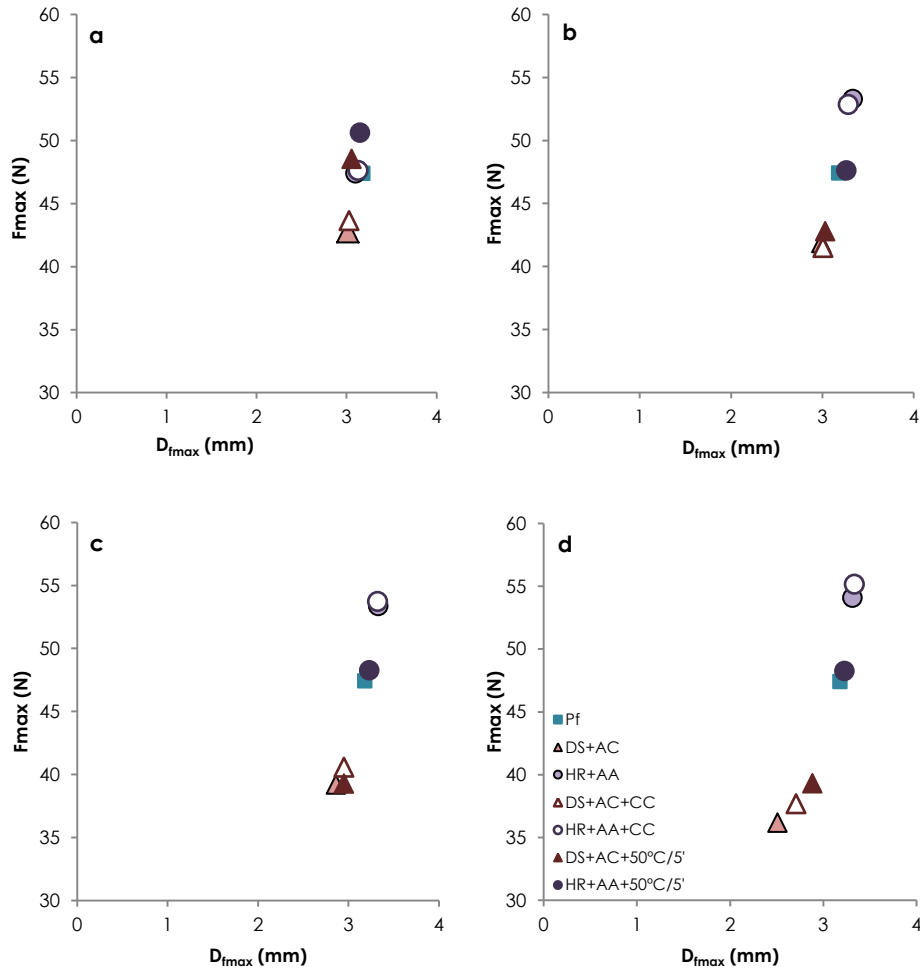


Figura 1.11. Comportamiento de la textura de las lonchas tratadas representando F_{max} respecto D_{fmax} para el día 0 (a); día 7 (b); día 10 (c) y día 14 (d). Pf = patata recién cortada.

La patata recién cortada sin aplicación de tratamientos antipardeantes, tenía una F_{max} 47,4 N y D_{fmax} 3,18 mm. Los valores son aproximadamente un 50 % más bajos que los indicados por Alvarez y Canet (1998), en patata fresca cv. Monalisa (92,6 N). Estos valores son más parecidos a los mostrados por Harada et al. (1985) con valores entre 53,6 a 83,4 N.

En la Figura 1.11 (a) destaca el hecho de que la aplicación de un pre-tratamiento térmico antes del tratamiento antipardeante produce un efecto inicial la textura de las patatas, ya que se observa en ambos casos, HR+AA+50 °C/5' y DS+AC+50 °C/5', un aumento en la F_{max} necesaria para cizallar los discos de patata tratados respecto a los tratamientos de referencia (HR+AA y DS+AC), para una misma D_{fmax} .

Las soluciones antipardeantes utilizadas también tienen influencia en la textura, como es el caso de DS+AA, que con o sin la adición de CC, muestra una disminución de la F_{max} para valores similares de D_{fmax} , lo que indica una disminución de la dureza de las lonchas al ser tratadas con esta solución. La aplicación de HR+AA con o sin CC no produce un cambio aparente en la dureza inicial de la patata, se mantiene en valores cercanos a los de la patata recién cortada (P_f).

Tras 7 días en almacenamiento a 4 °C (Figura 1.11 b), las lonchas tratadas con DS+AC+50 °C/5' sufren una disminución marcada de la F_{max} , lo que indica un inicio de ablandamiento de las muestras mostrando valores similares a las patatas tratadas con DS+AC y DS+AC+CC. Esto puede ser debido a la exudación detectada desde el primer momento, lo que estaría fomentando este ablandamiento. En cuanto a los resultados al añadir 0,2 % CC junto a la solución HR+AA, no se observan diferencias en las F_{max} y D_{fmax} respecto al tratamiento de referencia (HR+AA). Al contrario de la aplicación de un choque térmico con HR+AA, cuyos resultados se mantienen cercanos a los valores de una patata recién cortada.

A día 10 (Figura 1.11c) se mantienen las tendencias observadas en los primeros 7 días, aunque destaca la evolución del ablandamiento de las muestras tratadas con DS+AA, solo o con CC o con pre-tratamiento 50 °C/5', donde se disminuyó la fuerza máxima de corte ($F_{max} \sim 40$ N). Comienza a detectarse exudación en las bolsas de DS+AC y DS+AC+CC.

Tras 14 días (Figura 1.11 d), las muestras tratadas con DS+AC, DS+AC+CC y con DS+AC+50 °C/5' presentaron los valores más bajos de fuerza de corte (< 40 N) y de distancia de rotura (< 3 mm), lo cual indica que las lonchas estaban blandas y poco flexibles. En este día de análisis se observó un aumento de las exudaciones detectadas en las bolsas.

La aplicación de HR+AA, con y sin la adición de CC, se comportaron de forma similar, aumentó la fuerza máxima de ruptura y en cierta medida la distancia de ruptura, lo cual indica que las lonchas eran más duras pero mantienen una cierta elasticidad. Esto se podría relacionar con la ligera sequedad detectada en la superficie de las lonchas.

Por último, destacar que la aplicación del choque térmico combinado con la solución antipardeante 0,005 % HR + 2 % AA, el cual mantiene los valores de textura cercanos, durante los 14 días, a los de la patata fresca. Esto se podría relacionar con el aspecto húmedo que se observó durante los análisis, similares al aspecto de una loncha recién cortada. Este tratamiento parece aportar una cierta humedad, que consigue mantener a lo largo del almacenamiento, debido quizás a la naturaleza ligeramente hidrofóbica del 4-hexilresorcinol.

1.4.2.4. Color

A día 0, no se observan diferencias significativas en la **luminosidad** (L^*) de las muestras, independientemente del tratamiento aplicado ($p>0,05$) (Tabla 1.6). Tras 7 días, la luminosidad es diferente en función de los tratamientos antipardeantes aplicados, sin importar que tipo de modificador de textura. Al final del almacenamiento las muestras tratadas con DS+AC, DS+AC+CC o DS+AC+50 °C/5' no se diferencian en la luminosidad ($p>0,05$) y, los tres presentan valores de L^* significativamente más altos que cualquiera de las patatas tratadas con HR+AA o sus combinaciones ($p<0,05$). Las lonchas tratadas con HR+AA y HR+AA+CC, poseen valores de luminosidad similares entre sí ($p>0,05$) y significativamente más altos que HR+AA+50 °C/5'.

A lo largo del tiempo, no se observaron diferencias significativas en la luminosidad ($p>0,05$), excepto para HR+AA+50 °C/5min cuya luminosidad descendió significativamente respecto al día 0 ($p<0,05$).

Cabe destacar el aumento en la luminosidad de todos los tratamientos cuyo tratamiento de referencia es DS+AC, lo que puede estar relacionado con su propiedad blanqueante. En cuanto a la luminosidad de las patatas tratadas con las soluciones que contienen HR+AA descendió ligeramente. Los resultados sin modificadores concuerdan con las apreciaciones visuales, que se registraron en este bloque y en el bloque A, donde las muestras tratadas con HR+AA mostraban un color más intenso comparado con las muestras tratadas con DS+AC.

Tabla 1.6. Análisis estadístico del color, para las coordenadas L* y a*.

Coordenada	Tratamiento	Día 0	Día 7	Día 14
L*	DS+AC	72,40±2,04 ^{a*}	72,54±2,53 ^b	73,29±2,15 ^c
	DS+AC+CC	72,43±2,23 ^a	72,65±2,36 ^b	73,05±2,27 ^c
	DS+AC+50°C/5'	71,83±2,59 ^a	72,34±2,30 ^b	73,30±2,25 ^c
	HR+AA	72,24±2,36 ^a	70,73±2,56 ^a	70,71±2,56 ^b
	HR+AA+CC	72,28±2,22 ^a	70,75±3,14 ^a	70,73±2,17 ^b
	HR+AA+50°C/5'	71,87±2,43 ^a	70,21±2,56 ^a	69,38±2,74 ^a
a*	DS+AC	-0,48±0,24 ^{bc}	-0,81±0,27 ^a	-1,23±0,54 ^a
	DS+AC+CC	-0,38±0,34 ^c	-0,44±0,34 ^b	-0,93±0,50 ^b
	DS+AC+50°C/5'	-0,54±0,30 ^{ab}	-0,47±0,27 ^b	-0,38±0,33 ^c
	HR+AA	-0,53±0,29 ^{ab}	0,21±0,60 ^c	-0,06±0,60 ^d
	HR+AA+CC	-0,48±0,40 ^{bc}	0,42±0,52 ^d	0,41±0,07 ^e
	HR+AA+50°C/5'	-0,60±0,36 ^a	0,12±0,38 ^c	0,10±0,49 ^d

^{a-e} diferente letra indica diferencias significativas entre los tratamientos para cada día y coordenada. * Media±ds (n=48).

Así como en la luminosidad se observó un comportamiento diferente en función de la solución antipardeante, en la **coordenada a***, esta tendencia no se observa (Tabla 1.6). A día cero la aplicación de DS+AC+CC mostró valores de a* significativamente más altos ($p < 0,05$) y HR+AA+50 °C/5' tenía los más bajos ($p < 0,05$). Tras 7 días las muestras tratadas con DS+AC solo, mostraron un valor de a* significativamente más bajo ($p < 0,05$) que al combinarlos con cualquiera de los modificadores de textura.

La aplicación del tratamiento con HR+AA+CC produjo un significativo aumento del parámetro a* ($p < 0,05$) respecto a HR+AA y HR+AA+55 °C/5', que se mantuvieron sin cambios significativos ($p > 0,05$) hasta el final del almacenamiento. Tras los 14 días, las muestras con el tratamiento DS+AC+55 °C/5' tuvieron una evolución con tendencia a aumentar su valor, justo al

contrario que los tratamientos con DS+AC y DS+AC+CC. Las cuales se alejaban más al valor 0 de a^* , lo que confirma, junto con el aumento de la luminosidad, que se estaba produciendo un blanqueamiento de las muestras, tal y como se apreció visualmente durante los análisis.

1.4.2.5. Apreciaciones sensoriales

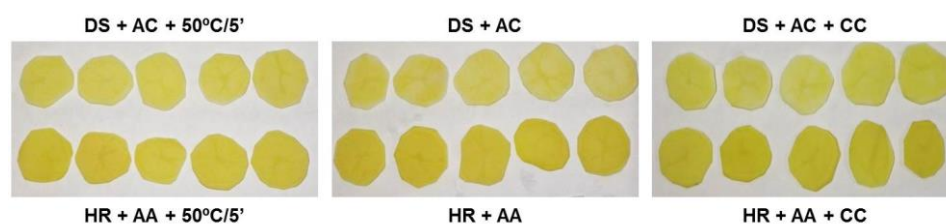


Figura 1.12. Apariencia de las PMP tras 14 días almacenadas a 4 °C tras un pretratamiento con choque térmico o el uso de cloruro cálcico en combinación con los tratamientos de referencia DS+AC o HR+AA.

Con el tratamiento DS+AC, las muestras presentaron un color ligeramente pálido, sin presencia de pardeamiento y una textura al tacto firme al inicio (Figura 1.12). Al final del almacenamiento, se observaron áreas en algunas lonchas más claras que el resto del tejido (blanqueamiento) y se detectó ablandamiento y un aumento de su flexibilidad, se podían doblar más sin que se rompiera. Se detectaba el olor característico de los sulfitos que en los últimos días fue más marcado, sobre todo a partir del día 10. La apariencia fue en general buena aunque se observó una tendencia a la exudación que fue evidente el día 14 (1-2 ml). Con el tratamiento DS+AC+CC, las lonchas presentaron en general buen color, olor, textura y apariencia, no se observaron grandes diferencias, tal y como se ha indicado con los resultados instrumentales.

La aplicación de un choque térmico previo a una inmersión en DS+AC afectó negativamente a la calidad global de la PMP (cv. *Monalisa*), debido a la

aparición de exudación en las bolsas desde el primer día esto provocó una aceleración del deterioro (exudación de cerca de 10 ml a día 14).

El tratamiento de HR+AA muestra una apariencia global buena, no se observaron cambios evidentes ni en color ni en textura, aunque si se detectó un ligero cambio en olor al final del ensayo. También comenzó una ligera desecación superficial en los últimos días de almacenamiento.

Con el tratamiento HR+AA+CC el comportamiento de las lonchas fue similar al tratamiento de referencia, excepto en que se detectó un aumento en la dureza de las lonchas a partir del día 5 (dificultad para doblarlas) y un efecto de desecación superficial mucho más marcado al final del almacenamiento.

El tratamiento de HR+AA+50 °C/5' mostró una apariencia general buena a lo largo de todo el almacenamiento, hasta el punto que fue mejor que el tratamiento de referencia, ya que mantuvieron un aspecto de recién cortadas hasta el final, lo que ayudaba el hecho de que la superficie se mantuviera húmeda (pero no exudación) (Figura 1.12).

1.5. CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO

BLOQUE A

La aplicación de la solución que contiene HR+AA a la menor concentración estudiada (0,005 % HR+2 % AA) presenta, en general, resultados comparables a los obtenidos por el uso de la solución de referencia 0,1 % DS+0,5 % AC.

La solución 0,5 % NAC+2 % AC presenta cierto control sobre el pardeamiento, pero no mejora los resultados obtenidos por la solución 0,1 % DS+0,5 % AC

BLOQUE B

Aplicar un choque térmico (50 °C durante 5 min) mejora la apariencia de las patatas tratadas con la solución 0,005 % HR+2 % AA.

El uso combinado de choque térmico combinado (50 °C durante 5 min) con la solución antipardeante 0,1 % DS+0,5 % A, provoca una pérdida de calidad inaceptable.

La adición de CaCl₂ al 0,2 % a las soluciones antipardeantes y en las condiciones establecidas en este estudio, no mostró ninguna mejora evidente sobre la textura o el color.

CAPÍTULO 2. Estudio del efecto sobre la textura y el pardeamiento por la aplicación de diferentes pre-tratamientos térmicos combinados con una solución antipardeante

CAPÍTULO 2. Estudio del efecto sobre la textura y el pardeamiento por la aplicación de diferentes pre-tratamientos térmicos combinados con una solución antipardeante.

2.1. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

Con este capítulo se realizó para ampliar el estudio comenzado en capítulo 1, mediante la combinación de un pre-tratamiento a baja temperatura previo a la aplicación del tratamiento antipardeante.

El escaldado es una operación muy utilizada en el procesado industrial de patata para eliminar aire de los tejidos e inducir una liberación de azúcares acumulados y así controlar las reacciones de Maillard en procesos de fritura posteriores gelatinizando el almidón e inactivando enzimas presentes en el tejido (Bartolome y Hoff 1972, Andersson et al. 1994, Verlinden et al. 2000, Van Dijk et al. 2002). Y como ya se ha comentado en el apartado 8.1, en el caso de vegetales ricos en almidón y pectinas, como la patata, se pueden emplear pre-tratamientos térmicos entre 50 y 80 °C para inducir un aumento de la firmeza de la patata tras el cocinado (Andersson et al. 1994).

En base a lo comentado en Antecedentes, complementar el uso de un choque térmico suave (entre 40-70 °C durante 5 min o menos) en presencia de calcio, parece que es una alternativa interesante. El calor puede ser aplicado junto al calcio, lo que aumentaría la disponibilidad de iones calcio en contacto con la las patatas. Luna-Guzmán y Barrett (2000) compararon diferentes temperaturas (20, 40, 60 °C) para tratar melón mínimamente procesado con cloruro cálcico. El uso de 60 °C mejoró la acción beneficiosa de la solución de calcio en comparación con las otras dos temperaturas. Resultados similares observaron Rico et al. (2007) que detectaron que el uso de temperaturas elevadas mejoraba

la difusión del calcio en el tejido de zanahoria y con ello mejoraban su calidad, especialmente hablando del mantenimiento de la textura y la reducción del pardeamiento en comparación con temperaturas más bajas. De esta forma tanto el calcio endógeno como el añadido ayudarían a mantener firme el tejido vegetal mediante la acción de la PME (Stanley et al. 1995).

Además el calcio también puede ayudar a mantener por más tiempo la apariencia fresca de los productos mínimamente procesados controlando el desarrollo de pardeamiento enzimático. El control del pardeamiento ha sido observado en diferentes estudios con frutas como por ejemplo los melocotones (Manganaris et al. 2007) y piña (Hewajulige et al. 2003). Dong et al. (2000) describieron el efecto del tratamiento combinado de 4HR, AA y lactato cálcico sobre pera, encontrándolo efectivo en textura y el pardeamiento, hasta 30 días de almacenamiento entre 2 y 5 °C en atmósfera en vacío parcial.

Severini et al. (2003) recomendaron el uso de CC o de una solución de CC con ácido láctico en patatas, respecto al uso de otras sales cálcicas. También indicaron su posible efecto de blanqueamiento en lonchas de patata, además de su efecto ya conocido, y comentado, sobre la textura y la retención de la turgencia de las células.

Tras la aplicación de un choque térmico es necesario el enfriado rápido de las lonchas de patata hasta la temperatura de almacenamiento para evitar que el calor residual ayude a la degradación de la textura y favorezca el pardeamiento.

En la industria alimentaria se utiliza la pre-refrigeración en hortalizas y frutas con el fin de reducir la respiración de las mismas justo después de su recolección, frenando de esta manera el deterioro fisiológico del producto. Esta necesidad de pre-refrigeración originó el desarrollo de diferentes técnicas como la propuesta por Hardenburg y Anderson (1980) utilizando hielo en escamas en el enfriamiento de brócoli, maíz o espinaca.

Sin embargo, en productos pesqueros se comenzó a utilizar otro tipo de hielo: el hielo líquido. Éste era aplicado principalmente en la refrigeración de sardinas, de atún y de gambas. Las condiciones de preparación del hielo líquido fueron establecidas en función de los resultados obtenidos por Manzanos (2010), quien estudió diversas sales y concentraciones, y su efecto en lonchas de patatas cv. *Monalisa*.

2.2. OBJETIVOS

Parte 1: Evaluar el efecto de aplicar un pre-tratamiento térmico, a diferentes temperaturas, en presencia o no de calcio y con dos tipos de enfriamiento, combinado con una solución antipardeante sobre la calidad global de PMP (cv. *Monalisa*) y específicamente sobre la textura de la patata tanto fresca como cocinada.

En base a los resultados de la Parte 1, se estableció el objetivo de la parte 2.

Parte 2: Evaluar el efecto que tiene la aplicación de un pre-tratamiento térmico a diferentes temperaturas, en presencia o no de cloruro cálcico, combinado con una solución antipardeante, sobre la enzima PME y sobre la textura de la patata fresca y cocinada, en PMP (cv. *Monalisa*).

2.3. Parte 1: Efecto de la aplicación de un pre-tratamiento térmico en diferentes condiciones sobre la calidad global de PMP tratada con una solución antipardeante.

Se establecieron dos temperaturas de choque térmico, 50 °C ya utilizada en Capítulo 1 y 60 °C, que se encuentra dentro del rango de activación de la PME. Las patatas fueron pre-tratadas con presencia o no de calcio en el agua del choque térmico, y se enfriaron posteriormente de dos formas: **(1)** con un baño

de agua y hielo y **(2)** con hielo líquido; para finalmente ser tratadas con la solución antipardeante que mostró resultados prometedores en el Capítulo 1 (0,005 % HR + 2 % AA). Para evaluar el efecto de estos factores se analizaron la textura de la patata no solo en fresco sino también tras el cocinado, momento en el cual se puede apreciar si se ha producido un aumento en la firmeza de la patata debido a la activación de la PME, así como el color y parámetros físico-químicos.

2.3.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

El pre-tratamiento térmico se realizó a dos temperaturas diferentes, por lo que se realizaron dos bloques de ensayos:

BLOQUE 1: 60 °C durante 5 minutos

BLOQUE 2: 50 °C durante 5 minutos

Para cada bloque se realizaron las combinaciones indicadas en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1. Combinación de factores aplicados a las PMP (cv. *Monalisa*).

Tratamiento	Choque Térmico	Enfriamiento		Tratamiento antipardeante
	2 % CaCl ₂	[Hielo/agua]	Hielo líquido	0,005%HR + 2% AA
Control	x	x	x	x
Control+ AP	x	x	x	y
Control + CT	x	y	x	x
CT + [H/A] + AP	x	y	x	y
CTCa + [H/A] + AP	y	y	x	y
CTCa + HL + AP	y	x	y	y

Se prepararon bolsas por triplicado para cada tratamiento y día de análisis (día 0 y 14). Se analizó el color, pH, SST, contenido de humedad y la textura mediante corte por cizallado de PMP fresca y tras ser cocinada.

2.3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.3.2.1. Procesado mínimo de la patata y preparación de las muestras

Procesado mínimo con la aplicación del pre-tratamiento térmico descrito en el Capítulo 1 (*apartado 1.3.1*, Bloque B). Es decir, patatas eran lavadas, peladas y cortadas en rodajas, las lonchas eran tratadas con el choque térmico, si así se establece en el diseño (Tabla 2.1), tras lo cual se enfriaban, para posteriormente sumergirlas en la solución antipardeante, si el diseño lo indicaba (ver diagrama de procesado en Figura 1.2).

En cuanto al cloruro cálcico, este se añadía al agua del choque térmico en la marmita antes de añadir las patatas. La temperatura de las patatas y del agua fue controlada mediante sondas de temperatura y un sistema de adquisición de datos.

El enfriamiento de las lonchas de patatas se llevó a cabo en un baño de hielo (H/L) en el que permanecían durante 7 minutos hasta alcanzar 6 °C.

En el caso de aplicar el enfriamiento con hielo gel (HL), primero había que producirlo (*apartado 2.3.2.1.1*) y cuando se utilizaba las patatas se sumergían durante 80 s, tiempo que tardaban las patatas en bajar hasta 6 °C.

Una vez alcanzada la temperatura las patatas podían ser tratadas con el tratamiento antipardeante o envasarse directamente, tal y como se ha explicado en Capítulo 1.

2.3.2.1.1. Generación de hielo

El hielo líquido o gel está conformado por millones de micro cristales de hielo suspendido en una solución líquida. Estos cristales miden entre 0.25 y 0.5 milímetros de diámetro.

El hielo gel se produce con un generador STS Miniligs B103. El hielo líquido se generaba en un evaporador de superficie barrida que emplea como

refrigerante el R 404 A. Como fluido anticongelante se ha optado por una mezcla de agua y CC (Panreac, Barcelona, España) a una concentración del 2 %. La selección se basa en un trabajo de Manzanos (2010) sobre el efecto de diferentes tipos de hielo líquido en patata (cv. *Monalisa*). Se utiliza un conductímetro Conductivity Probe FYA641LF3 para la medida de la conductividad eléctrica del hielo líquido para controlar una generación homogénea.

2.3.2.1.2. Cocinado de la patata

En esta parte también se analizó la textura de las patatas tras el cocinado, para ello se tomaban 12 discos de patata por bolsa, tratamiento y día de análisis, se perforaban las lonchas de patata formando discos 2,7 cm de diámetro. En un vaso de precipitados pyrex se calentaban 500 ml de agua hasta la temperatura de 98 ± 1 °C donde las muestras fueron cocidas durante 10 minutos. Los discos de patata se enfriaron en 1 litro de agua durante 5 min hasta alcanzar temperatura ambiente. Por último se retiraba el exceso de agua de los discos con papel de filtro para llevarlos a analizar la textura.

2.3.2.2. Métodos de análisis

2.3.2.2.1. pH

Este método ha sido descrito en Capítulo 1 (apartado 1.3.2.1). La media de las tres mediciones fue el valor final por bolsa, por lo que cada tratamiento presentaba tres medias por día.

2.3.2.2.2. Contenido en sólidos solubles totales

Este método ha sido descrito en Capítulo 1 (apartado 1.3.2.2). La media de las tres mediciones era el valor de la bolsa, por lo que cada tratamiento presentaba tres medias por día.

2.3.2.2.3. Contenido de humedad

Este método ha sido descrito en Capítulo 1 (apartado 1.3.2.3). Para el cálculo del porcentaje de humedad se aplica la Ecuación 2. Se realizaba una medida por bolsa, cada tratamiento presentaba tres medias por día.

2.3.2.2.4. Color

En el Capítulo 1 ya ha sido explicado con detalle en qué consistía el método de análisis del color instrumental (apartado 1.3.2.4). Se medían 12 lonchas por bolsa, por cada tratamiento había 3 bolsas y se analizó a día inicial y final del ensayo. La media de tres disparos fue el valor final de cada loncha (n=36 por tratamiento).

2.3.2.2.5. Textura

El método ha sido descrito en detalle en el Capítulo 1 (apartado 1.3.2.5). Se usó el texturómetro TA.XTPlus texture analyser (Stable Micro System) con una célula de carga de 30 kg. Se analizaron 12 lonchas por bolsa, al inicio y al final del almacenamiento a 4 °C.

El análisis se realizó en discos procedentes de lonchas recién salidas de la bolsa y una vez cocinadas cocinadas.

También se calculó el grado de ablandamiento de las muestras (Ecuación 4) a partir de la fuerza máxima de corte (Fmax) obtenida de las muestras frescas y cocinadas. El grado de ablandamiento indica la diferencia de comportamiento de las muestras a lo largo del almacenamiento (Chiavaro et al. 2006).

$$\% \text{ Ablandamiento} = \left(1 - \frac{F_{\max \text{ patata cocinada}}}{F_{\max \text{ patata sin cocinar}}} \right) \times 100 \quad (4)$$

Donde $F_{\max \text{ patata cocinada}}$ es la Fmax de las PMP tras el cocinado y $F_{\max \text{ patata sin cocinar}}$ es la Fmax de las patatas frescas para cada tratamiento y día.

2.3.2.2.6. Apreciaciones sensoriales

La apariencia, el olor, la textura y los posibles exudados fueron registradas en cada día de análisis, tal y como se explicó Capítulo 1 (apartado 1.3.2.6).

2.3.2.2.7. Análisis estadístico

Se obtenían tres repeticiones por tratamiento y día, los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) empleando el paquete estadístico SPSS 15.0 para Windows. En el caso de diferencias significativas entre los tratamientos ($\alpha = 0,05$), se realizaba una comparación mediante el test de Tukey.

2.3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.3.3.1. Caracterización de las patatas PMP tratadas

En cuanto al pH de las patatas (Tabla 2.2), primero indicar que el pH de las patatas, a las cuales se les aplicó el tratamiento antipardecante 0,005 % HR+ 2 % AA (pH solución = $2.85 \pm 0,01$), disminuyó significativamente ($p < 0,05$) respecto a Control o Control CT a ambas temperaturas, como era de esperar por lo observado en el capítulo anterior. Aunque los tratamientos con cloruro cálcico, presentaron un pH significativamente mayor que sin la presencia de este ($p < 0,05$), debido quizás al pH alto que posee este compuesto a una concentración de 2 % en solución ($7,73 \pm 0,02$).

Tras 14 días, lo más destacable fue que los pHs aumentaron significativamente ($p < 0,05$). Los valores de pH del bloque CT 50°C-5 min eran significativamente mayores que con el pre-tratamiento 60 °C-5 min. Esto puede ser debido a que una mayor temperatura acelere procesos metabólicos y fisiológicos que afecten al pH del tejido.

Tabla 2.2. Análisis estadístico del pH de las PMP al inicio y al final del almacenamiento.

Tratamiento	d0	d14
Control	5,71±0,13* ^b _α	5,92±0,07 ^a _β
Control AP	5,41±0,04 ^a _α	5,98±0,13 ^a _β
CT 50 ° C – 5 min		
Control CT	5,71±0,01 ^c _A α	6,09±0,10 ^a _β
CT+H/A+AP	5,23±0,00 ^a _A α	5,67±0,03 ^a _A β
CTCa+H/A+AP	5,25±0,01 ^{ab} _A α	5,67±0,02 ^a _A β
CTCa+HL+AP	5,34±0,03 ^b _A α	5,69±0,05 ^a _A β
CT 60 ° C – 5 min		
Control CT	5,87±0,01 ^d _B	---
CT+H/A+AP	5,19±0,03 ^a _A α	5,27±0,05 ^a _B α
CTCa+H/A+AP	5,45±0,03 ^c _B α	5,34±0,04 ^b _B β
CTCa+HL+AP	5,34±0,03 ^b _A α	5,42±0,06 ^c _B β

^{a-d} letras diferentes indica diferencias significativas entre los tratamientos para cada temperatura y día. ^{A-B} letras diferentes indica diferencias significativas entre los tratamientos para cada temperatura y día. ^{α-β} indica diferencias significativas entre el día 0 y 14 para cada temperatura y tratamiento. * Media±ds (n=3).

El **contenido de humedad** (%) (Tabla 2.3) de los controles (control y control AP) no mostraron diferencias significativas ($p>0,05$) entre ellos manteniéndose constante a lo largo del tiempo.

Las patatas tratadas con el CT 50 °C-5 min no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p>0,05$) y se mantuvieron constantes a lo largo del almacenamiento. Sin embargo, al aplicar CT 60 °C-5 min el contenido de humedad aumentó significativamente ($p<0,05$) respecto al bloque CT 50 °C. Y, al contrario que éste, el contenido de humedad disminuyó significativamente tras 14 días en almacenamiento ($p<0,05$) y a la vez eran significativamente más bajos que los valores de CT 50 °C a día 14 ($p<0,05$). Lo que indica una pérdida de estructura con el pre-tratamiento térmico más intenso, ya que produce pérdida de humedad, lo que puede estar relacionado con los exudados encontrados en las bolsas. Sin embargo, los tratamientos con calcio mayor temperatura se ha

podido difundir mejor al interior de las lonchas y con ello mantener la estructura mejor, reduciendo hasta cierto punto esa pérdida de exudados (Martín-Diana et al. 2007).

Tabla 2.3. Análisis estadístico del contenido de humedad (% H) y contenido de sólidos solubles totales (°Brix).

Tratamiento	% Humedad		Sólidos solubles totales (°Brix)	
	d0	d14	d0	d14
Control	80,30±2,01* ^a _α	80,36±2,48 ^a _α	6,5±0,5* ^a _α	7,4±0,4 ^a _β
Control AP	82,27±2,63 ^a _α	81,05±2,25 ^a _α	6,5±0,5 ^a _α	6,5±0,5 ^b _α
CT 50 ° C – 5 min				
Control CT	79,17±0,95 ^a _A	78,42±1,88 ^a _A	6,0±0,0 ^a _B	6,0±1,1 ^a _A
CT+H/A+AP	80,15±1,61 ^a _A	79,85±1,60 ^a _B	6,0±0,0 ^a _A	6,0±0,0 ^a _A
CTCa+H/A+AP	78,32±0,56 ^a _A	79,29±1,39 ^a _A	7,0±0,0 ^b _B	6,0±0,0 ^a _A
CTCa+HL+AP	78,52±1,30 ^a _A	79,58±0,84 ^a _A	7,0±0,0 ^b _B	7,1±0,2 ^b _B
CT 60 ° C – 5 min				
Control CT	83,29±0,66 ^a _B	75,76±0,82 ^a _B	5,5±0,0 ^b _A	6,0±0,0 ^a _B
CT+H/A+AP	82,23±1,86 ^a _A	76,39±0,27 ^a _B	6,0±0,0 ^a _A	6,0±0,0 ^a _A
CTCa+H/A+AP	82,38±1,64 ^a _B	78,39±0,29 ^{ab} _B	6,0±0,0 ^a _A	6,0±0,0 ^a _A
CTCa+HL+AP	82,34±0,27 ^a _B	79,55±0,55 ^b _B	6,0±0,0 ^a _A	6,0±0,0 ^a _A

^{a-d} letras diferentes indica diferencias significativas entre los tratamientos para cada temperatura y día. ^{A-B} letras diferentes indica diferencias significativas entre los tratamientos para cada temperatura y día. ^{α-β} indica diferencias significativas entre el día 0 y 14 para cada temperatura y tratamiento. * Media±ds (n=3).

El **contenido de sólidos solubles totales** (°Brix) (Tabla 2.3) en las patatas control aumentó significativamente tras 14 días almacenado ($p < 0,05$), lo cual puede ser debido al "endulzamiento" de la patata al estar refrigerada a 4 °C que produce una transformación del almidón en azúcares (Burton 1989). Sin embargo, una vez aplicado la solución antipardeante este efecto no se observa, resultados similares a Capítulo 1, donde la aplicación de las soluciones antipardeantes se retardaba la aparición del endulzamiento.

A día cero, al aplicar el CT 50 °C- 5 min se observaron dos comportamientos, la presencia de CC aumenta significativamente el contenido de SST. Sin embargo, con el CT 60 °C este comportamiento no se observa. Tras 14 días solo las muestras tratadas con CTCa 50°C+HL+AP mantuvieron alto el contenido de SST ($p<0,05$), puede ser debido a que las lonchas estuvieron expuestas a un mayor contenido de iones calcio (con el CT y con el HL). Con el CT 60 °C, el contenido de SST al final se mantuvo constante en general, por lo que el tratamiento inicial parece afectar de forma más significativa que el almacenamiento.

2.3.3.2. Efecto del tratamiento térmico

En este apartado se comparan los controles y los tratamientos control CT y CT+H/A+AP, para evaluar el efecto que produce el uso del choque térmico combinado o no con una solución AP en la calidad visual y de textura de las PMP.

Color

En cuanto a los controles, se observó el efecto de la solución antipardeante 0,005 % HR+2 % AA (Control AP) sobre la PMP, principalmente en la coordenada a^* , donde los valores a día cero son más bajos ($p<0,05$) que las muestras Control. Sin embargo, tras 14 días los valores de Control AP se incrementaron ($p<0,05$).

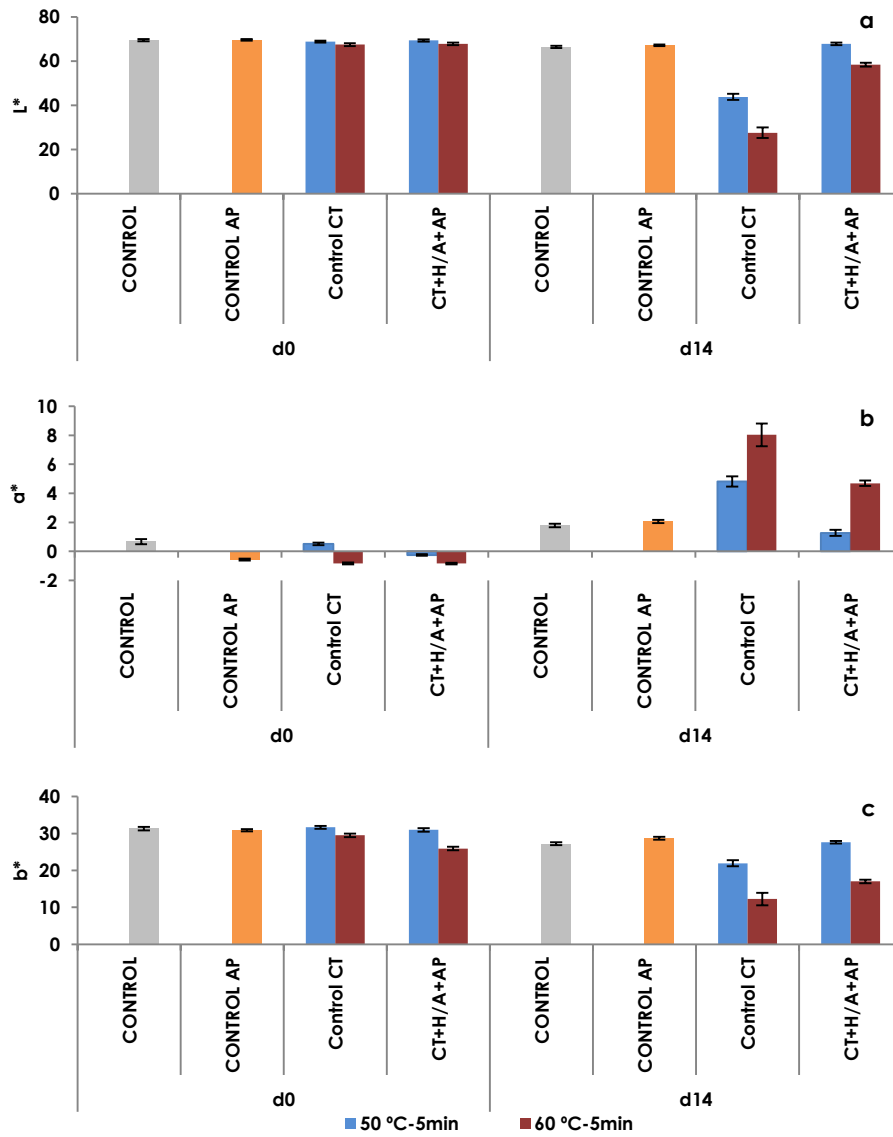


Figura 2.1. Evolución de la luminosidad (a), la coordenada a* (b) y la coordenada b* (c) de las PMP (IC95 %, n=36).

Respecto al comportamiento de la **luminosidad** (Figura 2.1 a), a día cero, no mostró diferencias significativas entre el control CT o CT+H/A+AP, para ninguna de las temperaturas. Sin embargo, se observó una reducción significativa de L^* al aplicar 60 °C-5 min respecto al uso de 50 °C-5 min ($p<0,05$).

Tras los 14 días de almacenamiento, solo cuando se combina el CT con AP (CT+H/A+AP) la luminosidad se mantiene similar a muestras sin CT (control y control AP). Sin embargo, el pre-tratamiento a 60 °C afectó significativamente a la luminosidad, siendo menor que con el pre-tratamiento de 50 °C ($p<0,05$). Por tanto, parece que la solución antipardeante tiene un papel fundamental para mantener la luminosidad de las patatas que han sido pre-tratadas térmicamente.

En cuanto la **coordenada a^*** (Figura 2.1 b), a día 0 se observó una reducción significativa al aplicar CT solo (control CT) y CT+H/A+AP con 60 °C-5 min si se comparaba con el pre-tratamiento 50 °C-5 min (con o sin AP) ($p<0,05$). Tras los 14 días de almacenamiento a 4 °C los valores de a^* aumentaron de forma significativa respecto al día 0 y a los controles sin CT (control y control AP) ($p<0,05$). La aplicación del pre-tratamiento térmico solo (control CT) influyó significativamente sobre los valores de a^* , mostrando valores más altos a mayor temperatura aplicada, lo que indicaba, junto a los valores de L^* bajos, un pardeamiento y un afecto más marcado con la temperatura de 60 °C. Es decir, parece que hubo activación de la PPO. Al combinar el CT con la solución antipardeante (0,005 % HR+2 %AA) los valores de a^* se mantuvieron significativamente más bajos ($p<0,05$), lo que indicaba una menor presencia de coloraciones pardas-rojizas, obteniendo además mejores resultados con el pre-tratamiento más suave (50 °C-5 min), tal y como se observó en Capítulo 1 (Bloque B).

Para la **coordenada b^*** (Figura 2.1 c) se observó el mismo comportamiento, la aplicación de 60 °C en este caso reduce significativamente el valor de b^* y el

efecto es más marcado con la aplicación de CT+H/A+AP ($p<0,05$). Con un CT 50 °C los valores de b^* se mantienen sin cambios ($p>0,05$). Tras 14 días los valores se mantienen altos (amarillos) en el caso de aplicar CT+H/A+AP para ambas temperaturas al comparar con los resultados de control CT ($p<0,05$). Aunque es a la temperatura de 50 °C donde los valores son significativamente más altos ($p<0,05$).

Conclusión, el choque térmico afectó de forma negativa al color de las muestras, ya que parece que activa la PPO perdiendo calidad a lo largo del almacenamiento (Vamos-Viyazgo, 1981). Y la adición de una solución antipardeante reduce ese deterioro de color, que es más pronunciado al usar 60 °C-5 min. La aplicación de un CT 50 °C-5 min combinado con solución AP mantiene de forma aceptable los valores de color, aunque el almacenamiento afecta finalmente a la calidad.

Yemenicioğlu (2002) estudiaron el efecto de temperaturas bajas (50 °C) sobre patata entera sin pelar, establecieron que tiempos largos como 60 min podía controlar la actividad de la PPO sin afectar a la firmeza. Anthon, Gordon E. y Barrett (2002) intentaron realizar un modelo de inactivación térmica de la PPO de patatas entre otras enzimas, pero explicaron que debido a las diferentes isoformas que puede tener y las complejas cinéticas, debían desarrollar un modelo más complicado. Sus resultados mostraban actividad residual en la enzima tras 800 s aplicando 62,5 °C.

En este trabajo, al trabajar con lonchas, se ha propiciado la puesta en contacto de sustratos y enzima y se la ha expuesto durante algunos segundos a su temperatura óptima (25-30 °C) sin llegar a aplicar una temperatura que la inactive, o no el suficiente tiempo.

Textura de PMP fresca

Como se observó en el Capítulo 1, la aplicación de AP tuvo cierto efecto sobre la textura disminuyendo la dureza y la elasticidad de las muestras, manteniendo los valores cercanos a los valores de patata recién cortada. Además, las muestras control mostraron un cierto aumento de la dureza (Fmax) y elasticidad (Dfmax). El control AP no presentó diferencias significativas ($p>0,05$) entre el día 0 y 14.

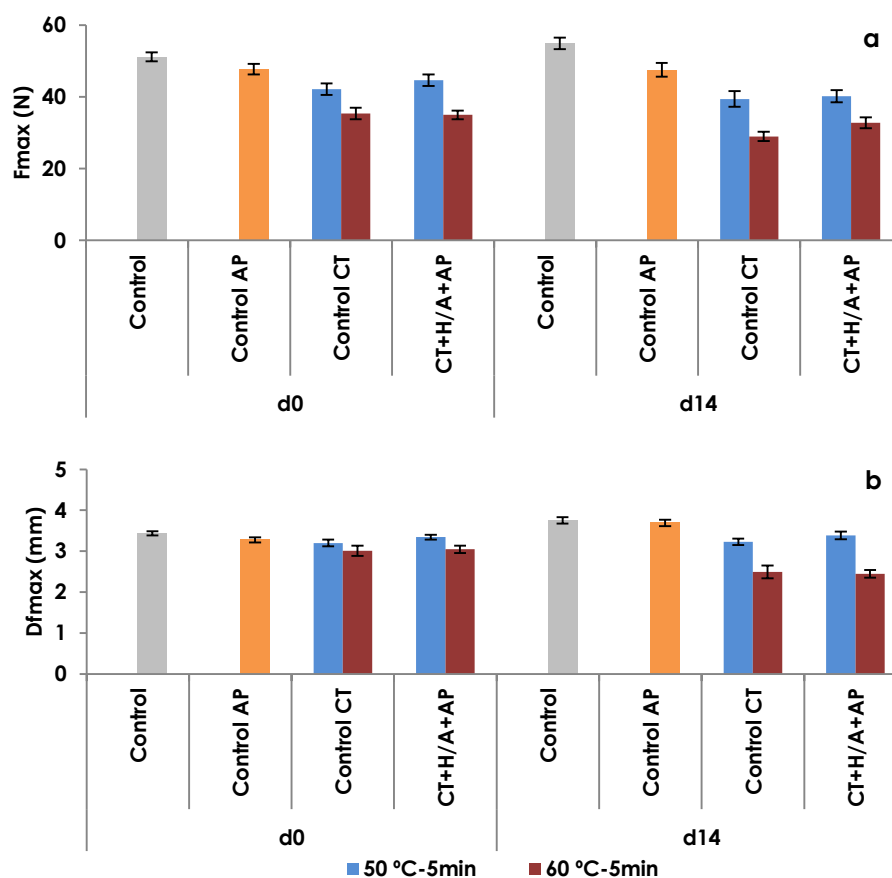


Figura 2.2. Evolución de la Fuerza máxima de corte (Fmax, N) **(a)** y la distancia recorrida (Dfmax, mm) **(b)** de las PMP frescas (IC95 %, n=36).

Los valores de Fmax (Figura 2.2 a) y distancia (Figura 2.2 b) se redujeron tras la aplicación del CT tanto para ambos tratamientos como para ambas temperaturas. La aplicación de 50 °C-5 min mantuvo los valores significativamente más altos que tras la aplicación de 60 °C-5 min ($p < 0,05$), donde la fuerza máxima de cizallado necesaria fue menor en ambos tratamientos. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre la aplicación del CT solo o con AP para ambas temperaturas ($p > 0,05$).

Tras 14 días la fuerza máxima se redujo significativamente respecto a los valores iniciales. El efecto del choque térmico de 60 °C-5min siguió mostrando valores más bajos que tras la aplicación de 50 °C-5 min ($p < 0,05$).

El comportamiento de la textura de las patatas en fresco, indicó que a mayor temperatura aplicada, aunque sea un tiempo corto, producía cierta pérdida de la dureza y reducción de la flexibilidad de la patata, lo que no implicaba necesariamente que sea una pérdida inaceptable, porque es una detección a nivel instrumental.

Textura PMP cocinada

Inicialmente y tras cocer los discos de patata, las muestras Control AP presentan una mayor fuerza máxima respecto al Control ($p < 0,05$), lo que implica que la adición de la solución AP produce un efecto sobre la dureza (Figura 2.3 a). En cuanto a las diferencias entre las temperaturas del choque térmico que se observaron en patatas sin cocinar desaparecen ($p > 0,05$). La aplicación del CT combinado con solución AP a las dos temperaturas muestra un aumento significativo de la dureza ($p < 0,005$). Sin embargo, es la aplicación del tratamiento CT 60 °C+H/A+AP donde se observa la mayor dureza en las lonchas cocidas respecto a CT 50 °C+H/A+AP, al contrario de lo que se observó en la patata fresca. Tras 14 días se mantuvo el mismo comportamiento.

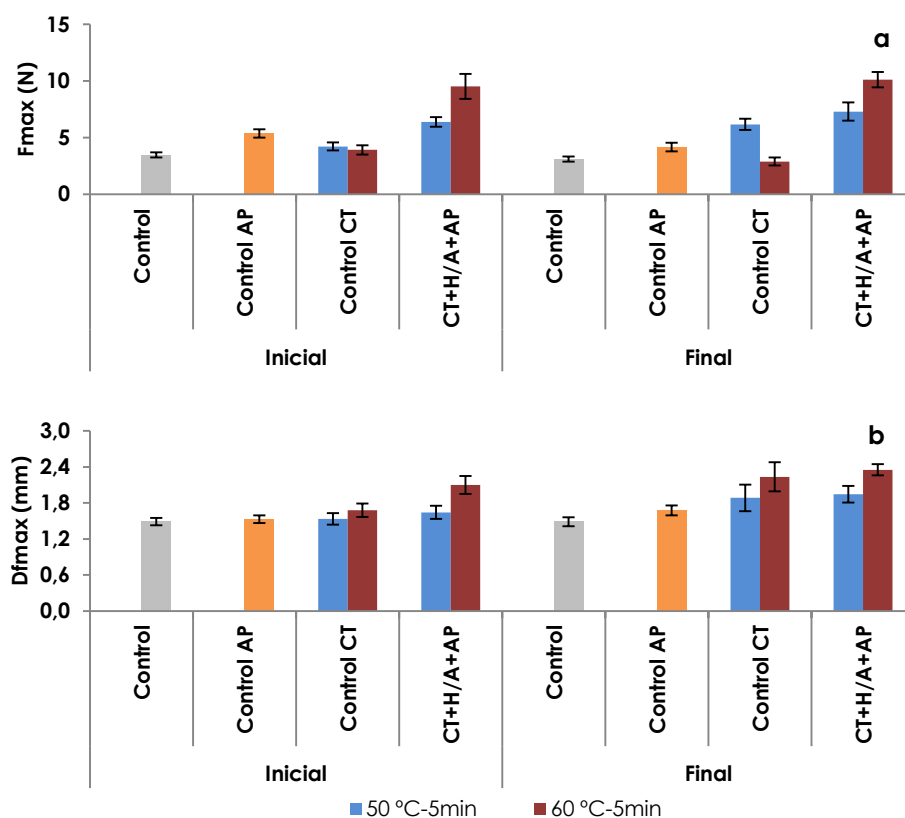


Figura 2.3. Evolución de la Fuerza máxima de corte (F_{max} , N) **(a)** y la distancia recorrida (D_{fmax} , mm) **(b)** de las PMP cocidas (IC95 %, $n=36$).

En cuanto al parámetro distancia (Figura 2.3 b) se produjo el mismo comportamiento, ya que existen diferencias significativas entre las temperaturas el CT, pero al aplicar el tratamiento CT 60 °C+H/A+AP la flexibilidad aumentó significativamente respecto a 50 °C-5min ($p<0,05$).

En resumen, el hecho de aplicar un CT solo no parece influir de forma evidente en la dureza de la patata tras el cocinado, se puede observar al comparar las muestras Control y Control AP respecto a Control CT. Pero, la aplicación de la

solución 0,005 % HR+ 2 % AA influyó aumentando la dureza de las patata cocida. Y por último, tras el cocinado la dureza de las patatas se ve evidentemente aumentada por la aplicación del pre-tratamiento térmico y una posterior adición de la solución AP, ya que muestra un aumento de la dureza con ambas temperaturas, aunque no parece afectar a la flexibilidad. Por lo que es evidente que la enzima PME se ha llegado a activar y a la mayor temperatura la activación es mayor.

Destaca que la acidificación de las lonchas debido al tratamiento AP influye en ese refuerzo, que es más evidente con el CT más severo (60 °C-5 min). En este caso, puede que la acidificación esté mejorando la solubilidad del calcio endógeno, lo que favorece los enlaces Ca-pectina que aumentan tras la activación y acción de la PME (Pastor et al. 2006). Hecho que se ve reforzado por la mayor dureza que se produce al aplicar más temperatura, lo que implica un efecto mayor en la activación de la PME y por tanto de grupos carboxilo libres para reaccionar con el calcio de la solución.

2.3.3.3. Efecto del tipo de enfriamiento

En este apartado se comparan los tratamientos CTCa+H/A+AP y CTCa+HL+AP respecto al control CT, es decir, el efecto que produce el uso de dos tipos de enfriamiento en la calidad visual y de textura de las PMP. Para el enfriamiento con hielo líquido es necesario el uso de calcio en el choque térmico para evitar el efecto osmótico al sumergir las patatas. Por ello se compara con el choque térmico en presencia de CC en ambos casos.

Color

La **luminosidad** a día cero (Figura 2.4 a) fue significativamente más baja en las muestras control CT que para los tratamientos combinados, CTCa+H/A+AP y CTCa+HL+AP, ($p < 0,05$). Aplicar el pre-tratamiento 50 °C-5 min mantiene la luminosidad significativamente más alta que con el pre-tratamiento 60°C-5min

en todos los tratamientos ($p < 0,05$). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos enfriados con H/A o con hielo líquido ($p > 0,05$) para cualquiera de las temperaturas de choque térmico. Tras 14 días, se mantuvo este comportamiento, y como se esperaba, la luminosidad de las muestras control CT fue significativamente más baja ($p < 0,05$). El efecto del choque térmico a 60°C -5min produjo una disminución significativa de la luminosidad al compararla con las muestras pre-tratadas con 50°C -5min ($p < 0,05$).

Respecto a la **coordenada a^*** (Figura 2.4 b), aplicar un tipo de enfriamiento u otro no cambia significativamente los valores de a^* dentro de cada choque térmico estudiado, tanto al inicio como al final del almacenamiento. El hecho de combinar el choque térmico con solución AP mantiene los valores de a^* significativamente bajos tanto a día 0 como 14 ($p < 0,05$), con independencia del modo de enfriamiento.

En cuanto a la **coordenada b^*** (Figura 2.4 c), no se observan diferencias significativas sobre la coloración amarilla de las patatas entre el uso de un enfriamiento con baño de hielo (H/A) o con hielo líquido (HL) dentro de cada pre-tratamiento térmico ($p > 0,05$). Destaca que la aplicación de 50°C -5 min mantiene los valores significativamente altos ($p < 0,05$) como los de las muestras tratadas sólo con antipardeante.

En conclusión, no existe diferencias significativas a nivel de calidad visual instrumental entre el uso de tipo de enfriamiento por baño de hielo o hielo gel. Como ya se había observado, la aplicación del CT 60°C -5 min afecta en mayor medida al color que la aplicación de 50°C -5 min.

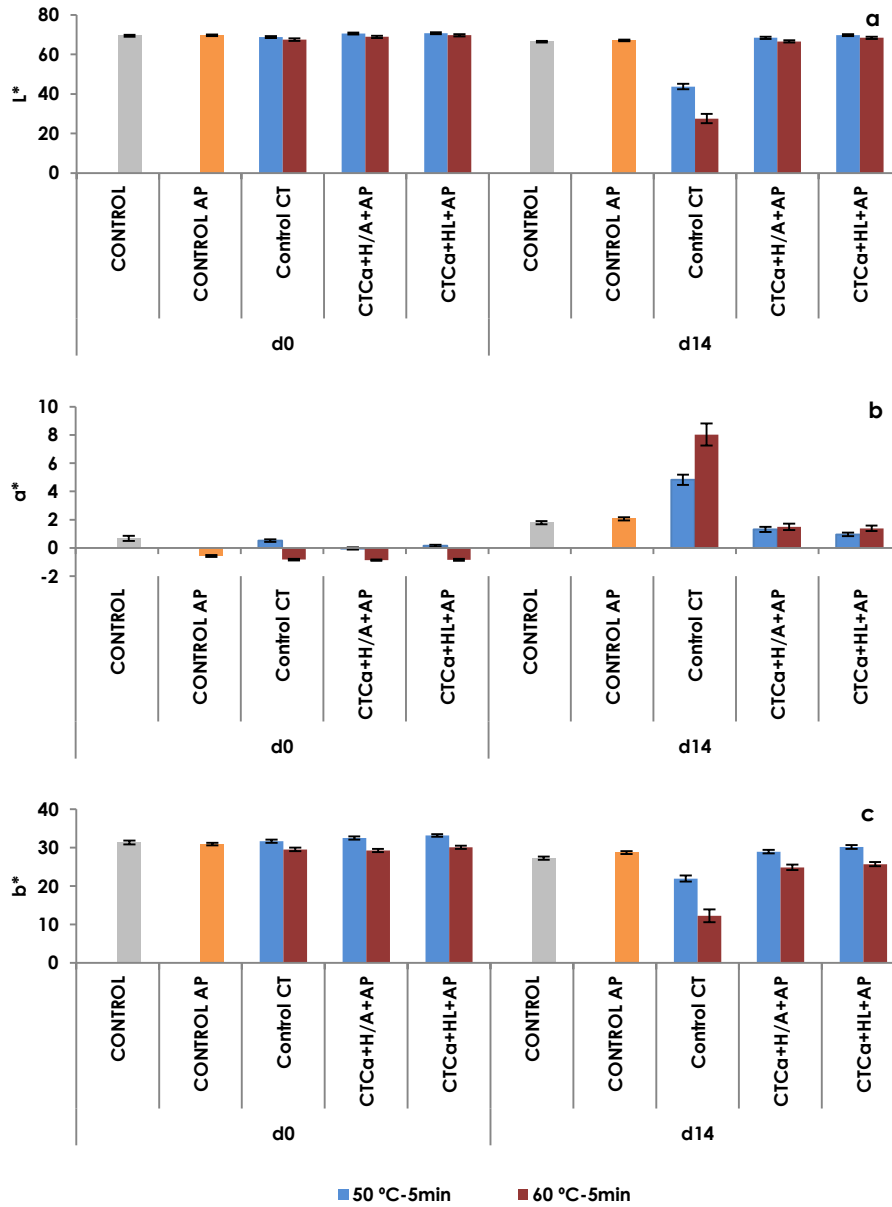


Figura 2.4. Evolución de la luminosidad (a), de la coordenada a* (b) y la coordenada b* (c) de las PMP (IC95 %, n=36).

Textura PMP fresca

Entre los dos tipos de enfriamiento, para cada temperatura y tanto al inicio como al final del almacenamiento, no se observaron diferencias significativas en ni en la fuerza máxima de corte ni en la distancia ($p > 0,05$) (Figura 2.5), es decir las muestras presentaban un comportamiento similar en dureza y flexibilidad.

El aplicar el CT 60 °C-5min produce una disminución significativa en F_{max} y D_{fmax} en todos los tratamientos ($p < 0,05$) respecto al uso de un CT 50 °C-5 min. También se apreció una disminución significativa de la F_{max} entre el día 0 y 14 al aplicar CT 60 °C-5 min.

Por lo tanto, el choque térmico es la variable que influye principalmente en la textura de las PMP en fresco, en esta comparativa, donde cuanto más intenso es el pre-tratamiento, más evidente es la disminución de la dureza, a nivel instrumental.

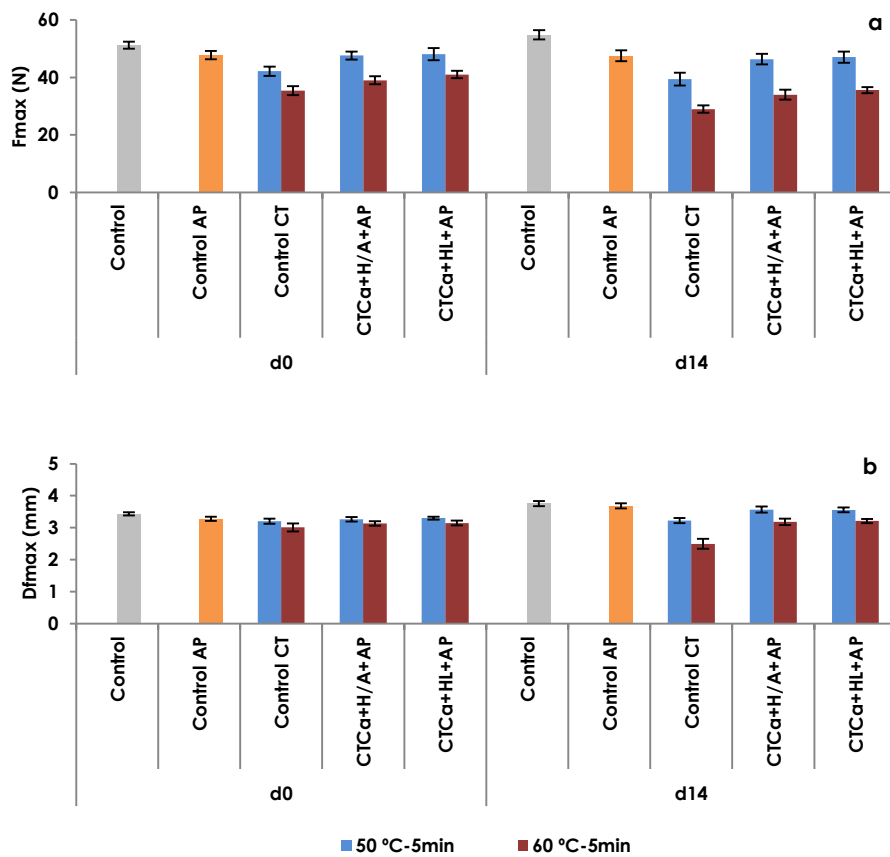


Figura 2.5. Evolución de la Fuerza máxima de corte (F_{max} , N **(a)**) y la distancia recorrida (D_{fmax} , mm) **(b)** de las PMP frescas (IC95 %, $n=36$).

Textura PMP cocinada

Del comportamiento de la textura de las muestras tras el cocinado, destaca el aumento significativo de la fuerza máxima (Figura 2.6 a) al ser aplicado cualquiera de los pre-tratamientos térmicos para los tratamientos CTCa+H/A+AP y en mayor medida en las muestras CTCa+HL+AP ($p<0,05$). Sin embargo, la distancia (Figura 2.6 b) no varió significativamente entre los tratamientos con

ninguno de los dos choques térmicos y ni al principio ni al final del almacenamiento ($p>0,05$). Es decir, en este caso el tipo de enfriamiento influye en la dureza de las lonchas. Sin embargo, este aumento puede haber sido motivado por la doble exposición (en tiempo y concentración) a la solución de CC (en el choque térmico y con enfriamiento) más que al tipo de enfriamiento en sí.

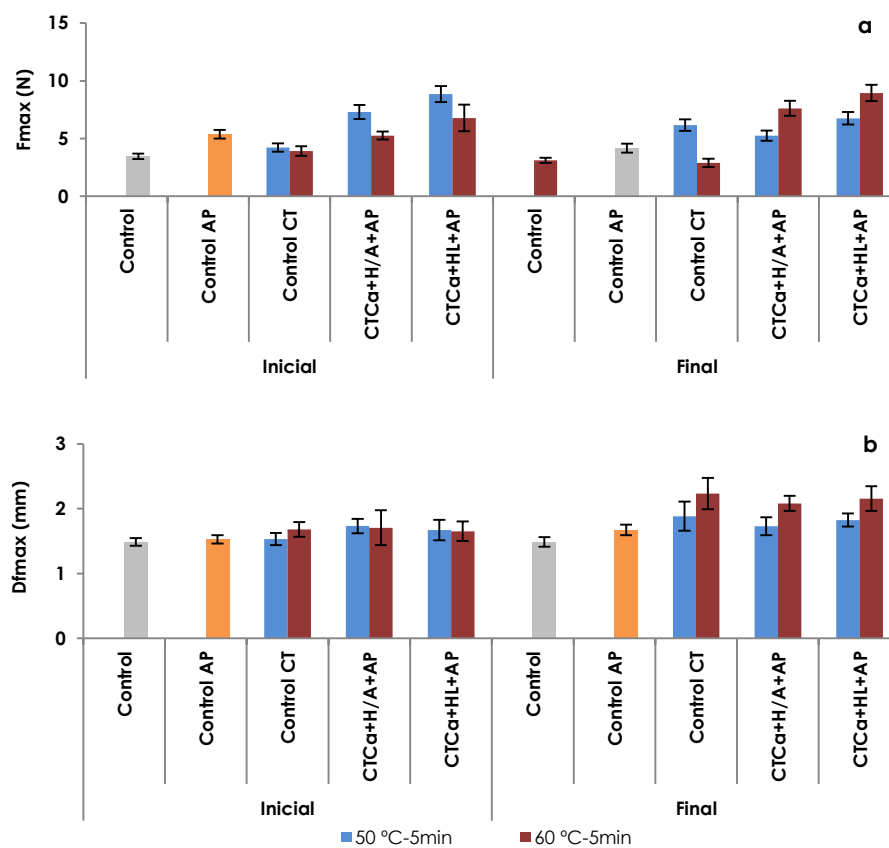


Figura 2.6. Evolución de la Fuerza máxima de corte (F_{max} , N) **(a)** y la distancia recorrida (D_{fmax} , mm) **(b)** de las PMP cocidas (IC95 %, $n=36$).

A día 0, la aplicación del CT 60°C-5min produce una reducción significativa de la fuerza máxima en los tratamientos CTCa+H/A+AP y CTCa+HL+AP respecto a 50 °C-5 min ($p<0,05$). Aunque este comportamiento cambia tras 14 días almacenadas, donde la Fmax de las muestras tratadas con CT 50 °C-5 min disminuyó y con el CT 60 °C-5 min aumentó significativamente junto con la distancia ($p<0,05$), lo que indica un cierto aumento en la dureza y en la elasticidad de las lonchas de patata. Puede ser debido a que el CT 60 °C se ha activado la PME y con la presencia de calcio exógeno hayan reforzado la estructura, pero solo fue evidente cuando aparecen los procesos biológicos naturales de senescencia de la patata durante almacenamiento.

En conclusión, es el choque térmico el factor que influye de forma evidente sobre la calidad de las patatas, siendo mayor el deterioro cuando mayor es la temperatura del choque térmico. El enfriar las patatas con hielo líquido no muestra ventajas significativas respecto al baño de hielo, excepto tras el cocinado. Sin embargo, HL implica tratarlas con calcio (un agente más dentro del procesado mínimo) para reducir la osmosis además del costo de la propia producción del hielo. Por todo ello se descarta el uso de hielo líquido en futuros ensayos, ya que aunque permite enfriar las muestras de forma rápida y efectiva no aporta grandes ventajas al menos en su uso mediante contacto directo con producto y en las condiciones estudiadas.

2.3.3.4. Efecto del calcio con el choque térmico

Color

En Figura 2.7 (a), el tratamiento CTCa+H/A+AP mostraba una **luminosidad** significativamente mayor que Control CT o CT+H/A+AP en el día de su aplicación ($p<0,05$). Tras 14 días los tratamientos con 50 °C-5 min con o sin calcio en el choque térmico y combinadas con AP muestran valores significativamente altos

de L^* respecto a todos los controles ($p < 0,05$). Aunque en todos los casos la luminosidad bajó tras los 14 días ($p < 0,05$).

En cuanto la **coordenada a^*** (Figura 2.7 b), como ya se ha comentado el pre-tratamiento a $60\text{ }^\circ\text{C}$ mostró a día cero valores de a^* significativamente más bajos que con $50\text{ }^\circ\text{C}$ ($p < 0,05$). Tras 14 días, CT+H/A+AP pre-tratado con $60\text{ }^\circ\text{C}$ y los controles CT mostraron valores significativamente altos de a^* ($p < 0,05$), mayor tendencia hacia rojos, aunque solo en los controles CT se presentaba además unos valores de L^* bajos. Destaca el hecho de que la combinación CTCa+H/A+AP con CT $60\text{ }^\circ\text{C}$ -5 min consigue mantener los valores de a^* significativamente más bajos que el mismo tratamiento sin la presencia de calcio ($p < 0,05$). Sin embargo, no se observa ese efecto en patatas pre-tratadas a $50\text{ }^\circ\text{C}$ ($p > 0,05$).

En cuanto a la **coordenada b^*** (Figura 2.7 c), a día 0 se obtuvo un aumento en los valores de b^* al añadir cloruro cálcico al choque térmico, aunque en menor medida cuando se aplica CT $60\text{ }^\circ\text{C}$ -5 min. Tras 14 días la coloración amarilla de las muestras es menor ($p < 0,05$), siendo el CT $50\text{ }^\circ\text{C}$ -5min el que presentó mayores valores respecto a los tratamientos con CT $60\text{ }^\circ\text{C}$ -5 min ($p < 0,05$).

Las patatas cuando fueron pre-tratadas a $50\text{ }^\circ\text{C}$ – 5 min y en presencia de CC al 2% mantuvieron la calidad visual, reduciendo el deterioro que sufre el color al ser tratadas térmicamente. Aunque CT $60\text{ }^\circ\text{C}$ -5 min afecta más al deterioro del color que $50\text{ }^\circ\text{C}$, el uso de CC en la solución consigue controlarlo mejor.

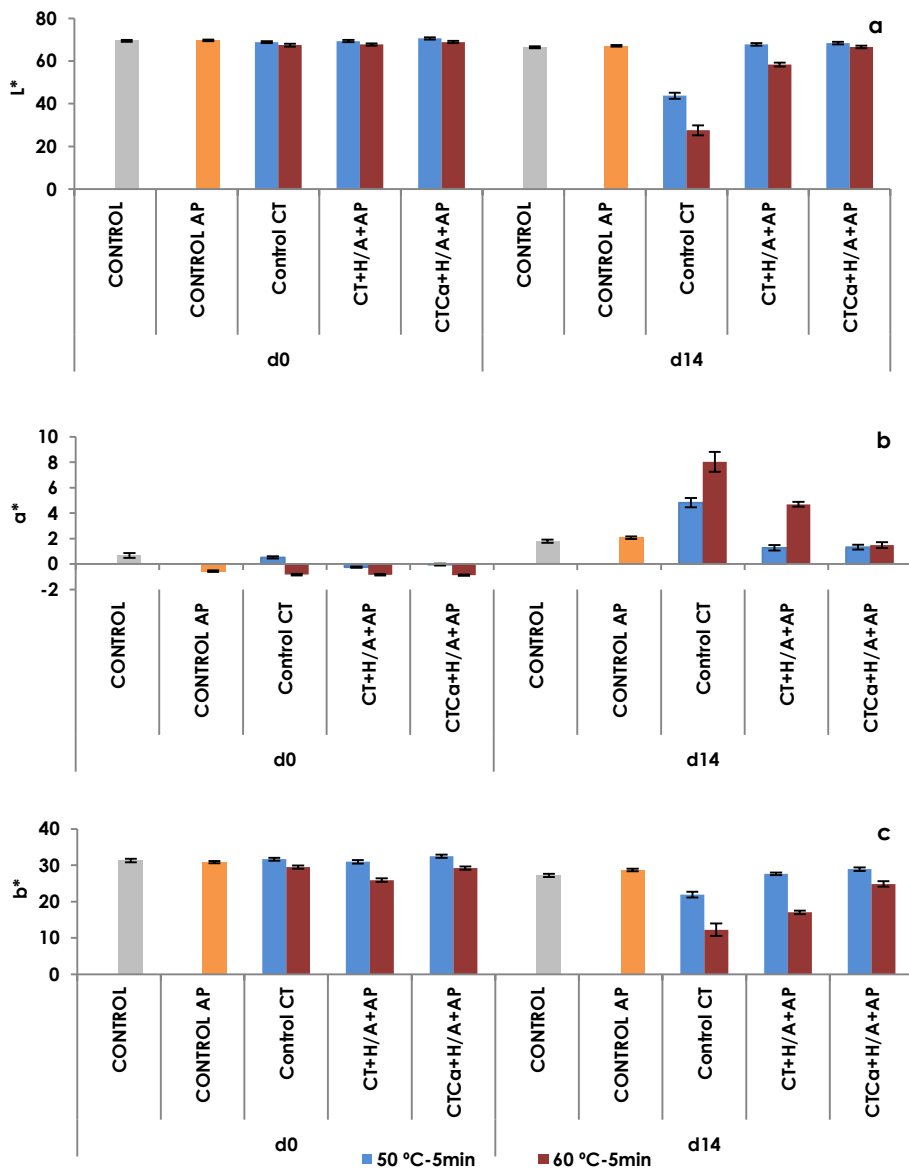


Figura 2.7. Evolución de la luminosidad (a), de la coordenada a* (b) y la coordenada b* (c) de las PMP (IC95 %, n=36).

Textura PMP fresca

Inicialmente con el choque térmico de 50°C-5min no se observaron diferencias significativas en la fuerza máxima y la distancia (Figura 2.8 a y b) en presencia o no de cloruro cálcico ($p < 0,05$). Sin embargo, tras 14 días hubo un aumento significativo de la fuerza máxima y la distancia en presencia de CC ($p < 0,05$). Lo que puede indicar que el efecto fue leve pero en el momento de mayor deterioro, al final del almacenamiento, el refuerzo producido por el pre-tratamiento térmico aplicado en presencia de calcio fuera más evidente.

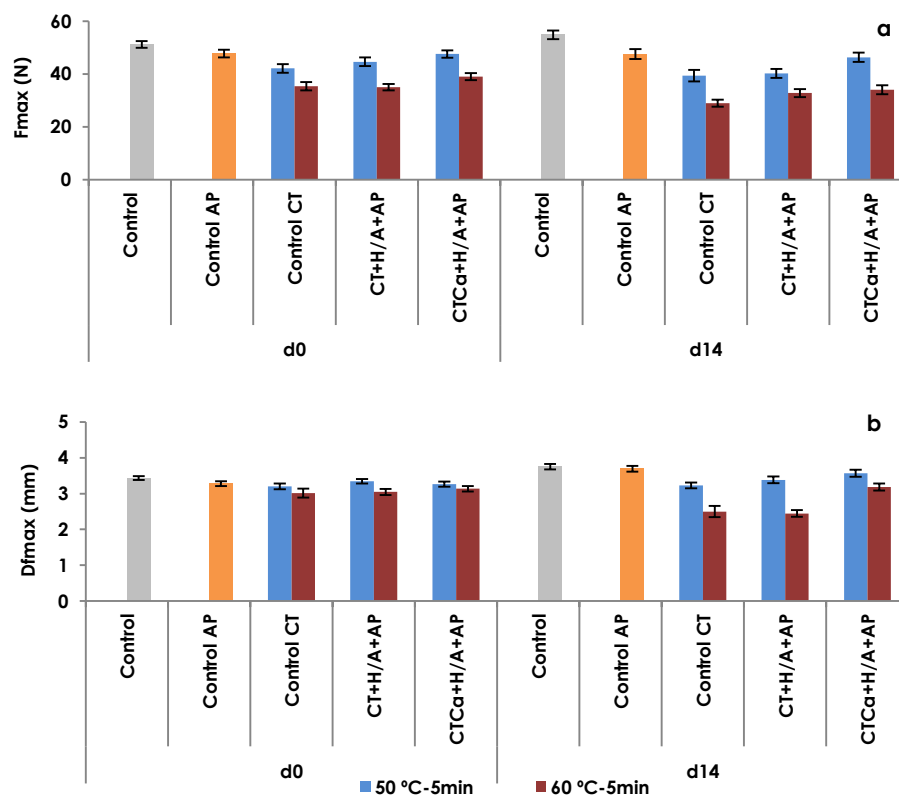


Figura 2.8. Evolución de la Fuerza máxima de corte (Fmax, N) (a) y la distancia recorrida (Dfmax, mm) (b) de las PMP fresca (IC95 %, n=36).

Cuando se aplicó CT 60 °C- 5 min el comportamiento fue al contrario, a día 0 la fuerza máxima había aumentado significativamente con CTCa+H/A+AP, pero no respecto a la distancia, lo que indica una mayor dureza pero sin cambio en la flexibilidad. Tras 14 días esas diferencias desaparecen en la fuerza máxima de cizallado pero aumenta significativamente la distancia de las muestras tratadas con CTCa+H/A+AP, mostrándose más flexibles y menos duras. Todo ello puede ser debido a que con un aumento de 10 °C en el CT el efecto en la patata es más visible e inmediato y la presencia de iones Ca^{+2} exógenos se fomentaron los enlaces Ca-pectina. Sin embargo, también es un tratamiento más severo aplicado a un tejido sin la protección, por ejemplo, de la piel. Por ello, esta temperatura también ha podido producir un mayor estrés y acelera los metabolismos y reacciones en la patata, lo que produce un deterioro de la estructura de las PMP.

En patata sin cocinar, se obtiene mayor fuerza máxima de corte con el pre-tratamiento de 50 °C-5min, tanto al inicio como al final del almacenamiento.

Textura PMP cocinada

Tras el cocinado de las PMP, el comportamiento de la textura cambia drásticamente. Con el CT 60 °C-5 min los tratamientos CT+HA+AP y CTCa+H/A+AP presentan una fuerza máxima de corte y distancia significativamente mayor que su control CT ($p < 0,05$), siendo el tratamiento CT 60 °C+H/A+AP el que muestra una dureza y una elasticidad mayor en presencia de calcio en el choque térmico (Figura 2.9 a y b). Si se comparan los valores de fuerza máxima entre el inicio y el final del almacenamiento no se encuentran diferencias significativas para CT+H/A+AP ($p > 0,05$).

Al aplicar el CT 50 °C-5 min y a día 0 se observa un aumento significativo de la fuerza máxima ($p < 0,05$) cuando se comparan Control CT, CT+H/A+AP y CTCa+H/A+AP y no se encuentra ningún cambio significativo entre estos

tratamientos en el parámetro distancia ($p>0,05$). Tras 14 días, todos los tratamientos, excepto CTCa 50 °C+H/A+AP, muestran un aumento significativo de la elasticidad de las muestras ($p>0,05$).

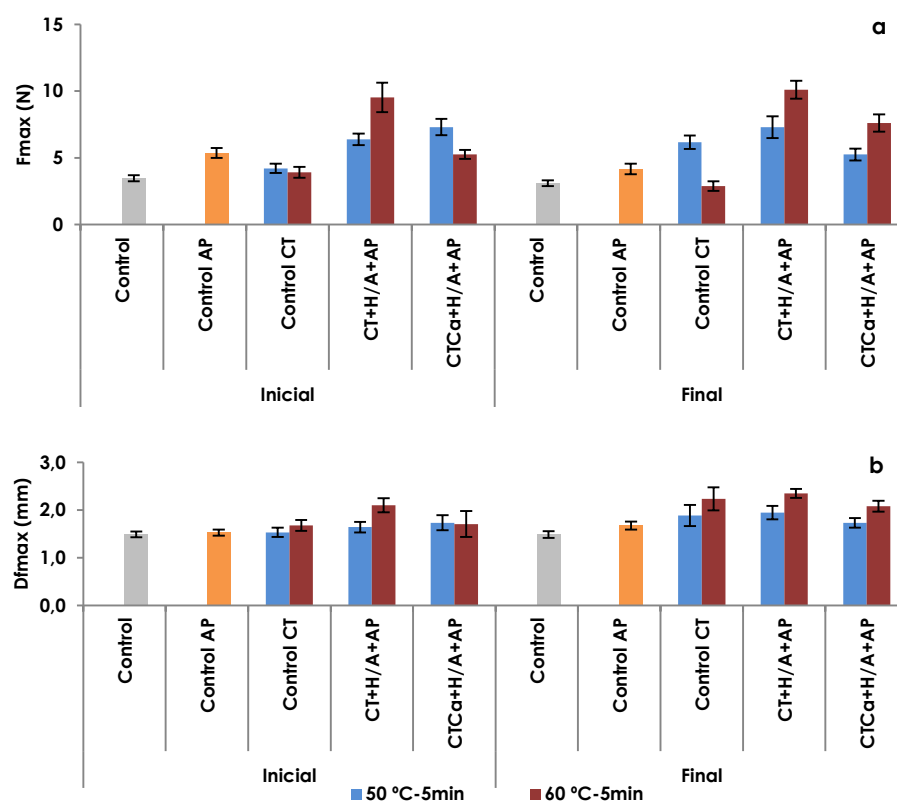


Figura 2.9. Evolución de la Fuerza máxima de corte (F_{max} , N) **(a)** y la distancia recorrida (D_{fmax} , mm) **(b)** de las PMP cocidas (IC95 %, $n=36$).

El aplicar un choque térmico en las PMP y tratarlas después con una solución antiparadeante aumenta la dureza de las mismas. Cuando se analiza las PMP frescas que han sufrido una pre-tratamiento de 60 °C-5 min se detecta una disminución en la fuerza máxima de las muestras. Sin embargo, tras el cocinado

de los discos, el efecto del choque térmico aplicado fue más evidente, ya que aumenta la firmeza de esas muestras respecto a las muestras control, pero no es tan evidente el papel que juega el calcio sobre la estructura de las lonchas una vez cocidas.

La presencia de calcio a nivel de calidad de la textura de las lonchas, parece tener más importancia en el deterioro de la estructura de las patatas en fresco que una vez cocinadas.

2.3.3.5. Grado de ablandamiento de las PMP

Tanto al inicio como al final del almacenamiento en Figura 2.10, las muestras control AP muestran un menor grado de ablandamiento que las patatas sin ningún tratamiento (control) ($p < 0,05$). Lo que confirmaría el aumento de dureza que se observó al aplicar la solución antipardeante, que acidifica el tejido después de su aplicación. Tras 14 días a 4 °C en ambos casos el grado de ablandamiento aumentó significativamente ($p < 0,05$)

Las patatas tratadas sólo con choque térmico, para ambos casos (control CT 50 °C-5 min o 60 °C-5min), presentan un grado de ablandamiento significativamente más alto ($p < 0,05$) tanto al principio como al final del almacenamiento, seguramente aumentado por la excesiva cantidad de exudados encontrados en las bolsas. De entre los CT con CC, el CT 50 °C-5 min aplicado al tratamiento CTCa+HL+AP muestra el menor grado de ablandamiento (81,25 %) ($p < 0,05$). Tras 14 días es el tratamiento CTCa+H/A+AP el que presenta un menor ablandamiento (81,48 %) entre los tratamientos. Cuando el CT es 60 °C-5 min, es el tratamiento CT+H/A+AP el que presenta el menor grado de ablandamiento de entre los tratamientos estudiados, tanto al inicio como al final del almacenamiento (73,81 y 69,57 %, respectivamente).

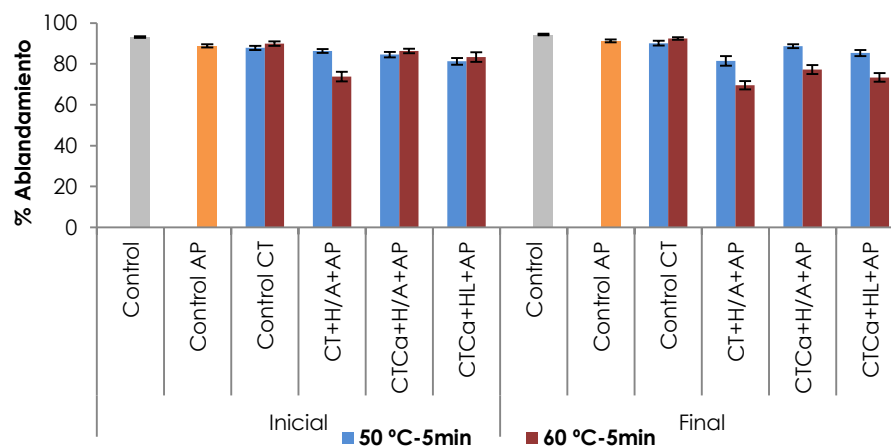


Figura 2.10. Evolución del grado de ablandamiento de las PMP (IC95 %, n=36).

Comparando los bloques de CT de 50 °C y 60 °C, principalmente las diferencias se observaron al final del almacenamiento, donde son las patatas pre-tratadas a 60 °C durante 5 min presentaron menor ablandamiento. Chiavaro et al. (2006) establecieron que un mayor tiempo de exposición a una temperatura mayor a 50 °C puede producir inicialmente una disminución de la firmeza en crudo, el efecto en la textura se termina observando tras el cocinado. Esencialmente, se ha producido una mayor activación de la PME en las patatas a 60 °C, lo que produce un refuerzo de las paredes celulares. Esto es una ventaja cuando comienza la degradación natural de las patatas con el paso del tiempo, ya que poseen más cantidad de enlaces Ca-pectina que mantiene mejor la textura global del tejido.

2.3.3.6. Apariencia general de las PMP

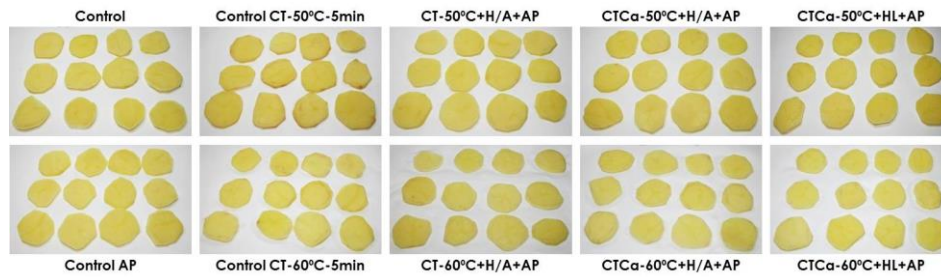


Figura 2.11. Apariencia general de las patatas a **día 0**, pre-tratadas con choque térmico a 5 a 50 °C (arriba) o 60 °C (abajo), con presencia o no de calcio y usando un enfriamiento en hielo+agua o en hielo líquido.

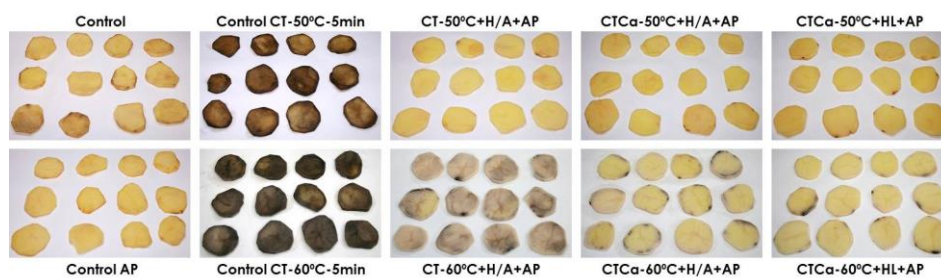


Figura 2.12. Apariencia general de las patatas a **día 14**, pre-tratadas con choque térmico a 5 a 50 °C (arriba) o 60 °C (abajo), con presencia o no de calcio y usando un enfriamiento en hielo+agua o en hielo líquido.

La combinación CT+AP en cualquiera de sus tratamientos presentaban buen aspecto y nada de exudación (Figura 2.11). Las PMP tratadas con control CT 50 °C al revisarse tras 24 h en almacenamiento a 4 °C, ya comenzaban a tener exudados (~5 ml). En el caso de aplicar 60 °C-5 min el comportamiento inicial era muy similar a CT 50 °C, con una exudación relativamente mayor (8-10 ml).

Tras 14 días de almacenamiento (Figura 2.12), las patatas control muestran apariencia inaceptable, aunque sin exudados y con textura firme. El control AP

tiene una apariencia aceptable, sin exudados y textura característica de patata, lo que era de esperar por los resultados de Capítulo 1.

Las patatas control CT 50 °C presentaron un aspecto desagradable y exudados (~9 ml). En cuanto a la apariencia de las patata tratadas con choque térmico y solución antipardeante, el mantenimiento de una apariencia aceptable se puede clasificar como CTCa 50°C+HL+AP > CTCa 50 °C+H/A+AP > CT 50 °C+H/A+AP, pero las diferencias eran mínimas. Tampoco se observaron exudados y la firmeza de las patatas era aceptable.

Cuando el choque térmico fue de 60 °C-5 min, las patatas control CT poseían una apariencia aún más desagradable que con 50 °C, era evidente la activación de la PPO y además presentaban una alta exudación (~60 ml). En cuanto a la apariencia de las patata tratadas con choque térmico y solución antipardeante (0,005 % HR+ 2 % AA), el mantenimiento de una apariencia aceptable se puede clasificar como CTCa 60 °C+HL+AP > CTCa 60 °C+H/A+AP > CT 60 °C+H/A+AP. Por lo que se confirma el efecto sobre el color de la presencia de calcio exógeno (2%) aplicado a las lonchas de patata. Sin embargo, se detectaron exudados en todos los casos, de un color rosáceo debido las reacciones de PPO. Y fueron las patatas tratadas con CTCa 60 °C+HL+AP las que presentaron menor exudación, debido a una mayor concentración de iones calcio presentes durante el procesado, ya que se usó cloruro cálcico con el agua del CT y con el hielo líquido durante enfriamiento, además se evidencia un cierto efecto antipardeante ya observado por otros autores pero a concentraciones menores (Pastor, 2006; Buta y Moline, 2001). Además de que el aplicar CT 60 °C-5 min favorece la difusión de los iones hacia el interior del tejido.

2.4. Parte 2: Efecto de la aplicación de un pre-tratamiento térmico sobre la PME y la textura en PMP tratada con una solución antipardeante.

El diseño experimental de esta parte se planteó para dar respuesta a algunas dudas surgidas en el ensayo anterior (Capítulo 2, Parte 1).

Para ello se modificaron las temperaturas del agua de los pre-tratamientos térmicos alejándolas del límite inferior (50 °C) y por supuesto manteniéndola por debajo del límite superior, la temperatura de inactivación de la pectin metilesterasa (70 °C). Por ello se seleccionaron 55 °C y 65 °C, temperaturas indicadas en bibliografía como el rango de mayor actividad de la PME (Gonzalez-Martinez et al. 2004, Abu-Ghannam y Crowley 2006, Alessandrini et al. 2011)

Por otro lado, debido al efecto observado en las patatas no se modificó el tiempo de inmersión, porque hay estudios que indican un mayor efecto sobre la enzima PME a mayor tiempo de exposición, pero son investigaciones para patatas que van a ser inmediatamente cocinadas o congeladas (Aguilar et al. 1997, Canet et al. 2005). Debido a la activación de la PPO observada se mantuvo un tiempo corto de inmersión, para que produzca el menor impacto sobre las muestras.

En este ensayo también se va a añadir cloruro cálcico en el agua del escaldado a baja temperatura para observar el posible efecto al combinarse con la acción de la PME. Sin embargo, esta vez se ajustó el pH del medio a 6, para mejorar la solubilidad de la sal y con ello su disponibilidad para reforzar la estructura de la lamela media y la pared primaria (McFeeters y Fleming 1989, Andersson et al. 1994, Pastor et al. 2006).

2.4.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

El pre-tratamiento térmico se aplicó a dos temperaturas diferentes, por lo que se realizaron dos bloques de ensayos:

BLOQUE 1: 55 °C durante 5 minutos (CT 55 °C-5 min)

BLOQUE 2: 65 °C durante 5 minutos (CT 65 °C-5 min)

Con cada temperatura de choque térmico se siguió el diseño indicado en la Tabla 2.4, a continuación.

Tabla 2.4. Combinación de factores aplicados a las PMP (cv. Monalisa).

	Choque Térmico	Enfriamiento	Tratamiento Antipardeante
Tratamiento	2 % CaCl ₂ *	[Hielo/agua]	0,005 % HR + 2 % AA
Control AP	x	x	y
Control CT	x	y	x
CT + AP	x	y	y
CTCa + AP	y	y	y

* Fue ajustado el pH a 6 mediante ácido ascórbico del agua para choque térmico con cloruro cálcico al 2 %.

Se prepararon bolsas por triplicado para cada tratamiento y día de análisis (días 0, 7 y 14). Se determinaron la textura de las PMP frescas y tras ser cocinadas mediante un análisis de perfil de textura (TPA); la actividad residual de la enzima PME; composición de la atmósfera interna de las bolsas; pH; sólidos solubles totales y contenido de humedad.

2.4.2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.4.2.1. Preparación de muestras y procesado mínimo de las patatas

El procesado mínimo se realizó tal y como se ha explicado en el Capítulo 1 (*apartado 2.3.2.1* bloque B, Figura 1.2).

En cuanto a la aplicación y a la concentración de cloruro cálcico (2 %), fue como se ha descrito en Parte 1 de este capítulo (*apartado 2.3.2.1*).

2.4.2.1.1 Cocinado de las patatas.

Se realizó como ha sido explicado previamente en el apartado 2.3.2.1.2, en la Parte 1 de este mismo Capítulo.

2.4.2.2. Métodos de análisis

2.4.2.2.1. pH

Este método ha sido descrito en Capítulo 1 (*apartado 1.3.2.1*). La media de las tres mediciones fue el valor final por bolsa, por lo que cada tratamiento presentaba tres medias por día.

2.4.2.2.2. Contenido de sólidos solubles totales

Este método ha sido descrito en Capítulo 1 (*apartado 1.3.2.2*). La media de las tres mediciones era el valor de la bolsa, por lo que cada tratamiento presentaba tres medias por día.

2.4.2.2.3. Contenido de humedad

Este método ha sido descrito en Capítulo 1 (*apartado 1.3.2.3*). Para el cálculo del porcentaje de humedad se aplica la Ecuación 2. Se realizaba una medida por bolsa, cada tratamiento presentaba tres medias por día.

2.4.2.2.4. Determinación de la composición de la atmósfera interna de las bolsas

La composición de la atmósfera interna de las bolsas almacenadas se determinó mediante un analizador de gases de espacio de cabeza Gaspac-2 (Systech Instruments, Inc.) equipado con una celda magnetodinámica y un analizador de absorción infrarroja, que permiten obtener el contenido (%) de las muestras en O₂ y CO₂ simultáneamente. Antes de abrir las bolsas para los análisis destructivos se realizaron las medidas de los triplicados de cada tratamiento y día.

2.4.2.2.5. Textura: Análisis de Perfil de Textura

A diferencia del ensayo de textura que se realizó en la Parte 1 de este capítulo, en este ensayo se optó por evaluar la textura de las patatas frescas y cocinadas con un ensayo de perfil de textura (TPA), ya que es un análisis que imita la masticación del producto mediante dos ciclos de compresión-descompresión lo cual produce una curva de fuerza-tiempo, a partir de la cual se obtienen una serie de parámetros. Mediante estos parámetros, que describen características mecánicas, se pueden sub-dividir en características sensoriales primarias (dureza, elasticidad, adhesividad y cohesividad) y secundarias (fracturabilidad, gomosidad y masticabilidad).

Las condiciones de ensayo usadas fueron descritas por Chiavaro et al. (2006). El ensayo consistía en la aplicación de dos ciclos con un nivel de compresión del 20 % a discos de patata de 5 mm de espesor con el accesorio SMSP/75 desplazándose a lo largo del eje principal a una velocidad constante de 1 mm/s y con un periodo de descanso entre ciclos de 3 s. Se utilizó el texturómetro TA.XTPlus texture analyser (Stable Micro System) con una célula de carga de 30 kg.

Los parámetros considerados en este estudio se definen como: **dureza** (fuerza máxima del primer ciclo de compresión en N), **cohesividad** (A_2/A_1 , adimensional), **adhesividad** (área negativa (A_3) bajo la línea base entre los ciclos de compresión, N·s), **elasticidad** (relación entre el tiempo pasado al final de la

primera compresión y el inicio de la segunda, adimensional), **masticabilidad** (dureza x cohesividad x elasticidad en N).

A continuación se muestra un ejemplo de curva de TPA obtenido en este estudio y donde se indican los parámetros descritos (Figura 2.13).

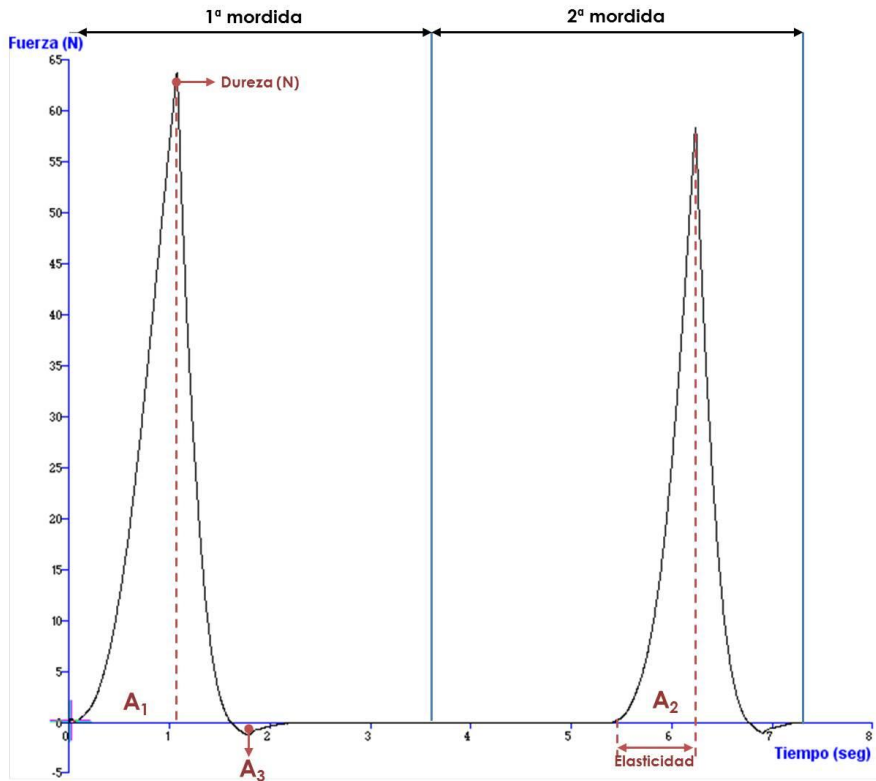


Figura 2.13. Curva obtenida en un ensayo de análisis de perfil de textura (TPA).

Se analizaron 12 discos de 27 mm de diámetro por bolsa, tratamiento y día. Cada tratamiento constaba de 3 bolsas y los días de análisis fueron 0, 7 y 14 en ambos bloques de temperatura.

2.4.2.2.6. Determinación de la actividad de pectin metilesterasa

Se analizaron las muestras antes del cocinado. El método se basó en los trabajos de Hagerman y Austin (1986) y Gonzalez-Martinez et al. (2004) con algunas modificaciones.

2.4.2.2.6.1. Extracción de PME en patata mínimamente procesada (PMEp)

Cada extracto enzimático (3 por tratamiento/día) se preparó homogeneizando 33 g de patata con 55 ml de solución de NaCl al 8,8 % a 4 °C durante 4 minutos con una batidora. La mezcla se mantuvo 15 minutos en agitación a 4 °C y se filtró a vacío con whatman nº1. El filtrado obtenido se centrifugó a 20000 xg durante 20 minutos a 4 °C, usando una centrifuga 3K30 (Sigma). El sobrenadante se filtró utilizando filtros Millipore de 0,45 µm y, el filtrado obtenido fue el extracto crudo de la enzima (PMEp). Se mantenían a 4 °C hasta la medición y, antes de analizar, el extracto debía ser ajustado a un pH 7,5 con NaOH (0,25, 0,1 y 0,01 M), justo antes de la medición para evitar el pardeamiento del extracto.

2.4.2.2.6.2. Medición de la actividad residual de PME_p

La actividad residual enzimática se midió utilizando un espectrofotómetro Cintra 20 UV-visible de doble haz (GBC Scientific Equipment pty ltd.). La mezcla de reacción contenía 0,55 ml de buffer de fosfato potásico 0,003 M (Panreac, Barcelona, España), 2 ml de solución de pectina cítrica 0,05 % (p/v) (Sigma, Steinheim, Alemania), 0,15 ml de bromotimol azul al 0,01 % (p/v) preparado en buffer fosfato de potasio 0,003 M (pH 7,5) y 0,3 ml PMEp. Todos los reactivos se ajustaron a pH 7,5 con NaOH (0,1 y 1 N).

La cinética se realizó a temperatura ambiente, monitoreando el cambio en la absorbancia a 620 nm cada 30 s durante 3 minutos. Como consecuencia de la hidrólisis del enlace éster se genera metanol, y el C-6 presente en los residuos de ácido galacturónico de las pectinas se transforma en un grupo carboxilo. La disociación de este grupo carboxilo genera protones que producen un descenso en el pH del medio de reacción, el cual es responsable del viraje del indicador

bromotimol azul. Por su parte, el viraje del indicador (desde el azul hacia el amarillo) hace que la absorbancia a 620 nm descienda.

Para el ensayo se realizó una calibración para cada día de análisis (0, 7 y 14) a temperatura ambiente con D-ácido galacturónico como estándar (Figura 2.14) y la actividad expresada como μmol de ácido galacturónico producido por minuto. La actividad residual enzimática (AR), se define como la relación entre la actividad de la enzima después del tratamiento y para cada día y la actividad de la muestra control en cada día de análisis. Su cálculo se realizó con la siguiente ecuación (5):

$$\% \text{AR} = \frac{A_t}{A_c} \times 100 \quad (5)$$

Donde A_t indica la actividad enzimática de las patatas tratadas con choque térmico y A_c es la actividad enzimática de las patatas control sin choque térmico.

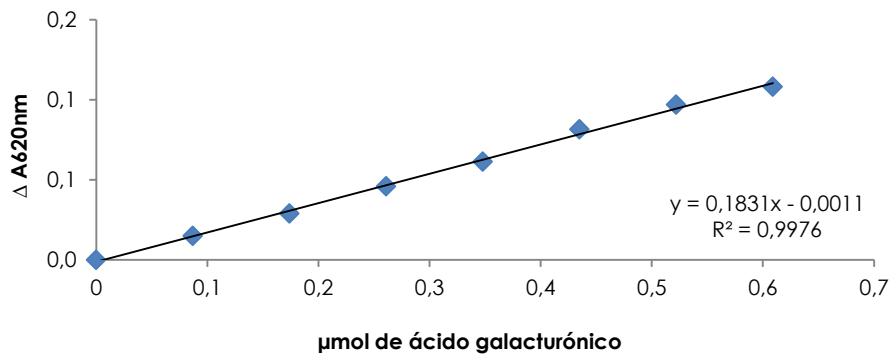


Figura 2.14. Ejemplo de la recta de calibración de ácido D-galacturónico.

2.4.2.2.7. Análisis estadístico

Se obtenían tres repeticiones por tratamiento y día, los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) empleando el paquete estadístico SPSS 15.0 para Windows. En el caso de diferencias significativas entre los tratamientos ($\alpha = 0,05$), se realizaba una comparación mediante el test de Tukey.

2.4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.4.3.1. Caracterización de los tratamientos aplicados

El tratamiento en el cual las PMP se trataban solo con la solución antipardeante (0,005 % HR +2 % AA) son las llamadas patatas Control AP, la media fue calculada a partir de 6 bolsas, debido a que no mostraron diferencias significativas entre ellas. Para el resto de tratamientos, donde se incluye el choque térmico, las medias fueron tres valores por tratamiento y día.

pH

Analizando el **pH** de las muestras (Tabla 2.5), las lonchas tratadas únicamente con el choque térmico presentaban inicialmente pHs significativamente más altos de entre los tratamientos para una misma temperatura CT ($p < 0,05$), ya que son las únicas lonchas no tratadas con la solución antipardeante. No se observaron diferencias en el pH de todas las muestras en las que se adicionó la solución AP ($p > 0,05$). Al comparar entre bloques (CT 55 °C vs CT 65 °C) no se observaron diferencias entre ningún de los tratamientos ($p > 0,05$), lo cual indicaría que los cambios en el pH de las lonchas fueron debidos principalmente al uso de 0,005 % HR + 2 % AA.

A lo largo del almacenamiento, y tal como se había observado con anterioridad (Cap1 y 2.1), las patatas Control AP sufren un incremento ($p < 0,05$) en su pH, principalmente en los 7 primeros días de almacenamiento. En el resto de

tratamientos (CT+AP y CTCa+AP) se observa esa misma tendencia, es decir, en los primeros 7 días sufrieron un incremento significativo para posteriormente y, hasta el fin del almacenamiento, disminuir significativamente ($p < 0,05$) en todos los casos excepto CTCa 55°C+AP. Y sin embargo, las muestras tratadas solo con los CT a baja temperatura (55 o 65 °C) no cambiaron ($p > 0,05$) a lo largo del tiempo, lo que vuelve a indicar que los choques térmicos por sí solos no afectaron al pH.

Por otro lado, en melocotones mínimamente procesados no encontraron que la aplicación de un pre-tratamiento térmico por sí mismo modificara el pH del tejido (Steiner et al. 2006). Además, Rocculi et al. (2007) relacionaron el pH con la respiración, ya que aumentaba cuando el pH disminuía. El tejido sufre un exceso de H^+ al bajar el pH mediante un bombeo activo de H^+ mediante ATPasas por la membrana plasmática, aumentando así la demanda de energía respiratoria y por tanto al bajar el pH disminuyen las tasas de respiración. Y a largo del almacenamiento también intervendría el complejo metabolismo de carbohidratos que incluye la utilización de azúcares en la respiración y/o la posible movilización del almidón.

Tabla 2.5. Análisis estadístico del pH de las PMP.

Tratamiento	pH		
	d0	d7	d14
Control AP	5,24±0,06* α	5,99±0,10 β	6,05±0,07 β
CT 55 °C - 5 min			
Control CT	6,05±0,03 $b_A \alpha$	6,03±0,05 $c_A \alpha$	5,90±0,08 $b_A \alpha$
CT+AP	5,16±0,03 $a_A \alpha$	5,45±0,03 $a_A \beta$	5,28±0,07 $a_A \alpha$
CTCa+AP	5,26±0,08 $a_A \alpha$	5,56±0,05 $b_A \beta$	5,45±0,02 $a_A \beta$
CT 65 °C - 5 min			
Control CT	6,13±0,02 $b_A \alpha$	6,14±0,03 $b_A \alpha$	6,10±0,22 $b_A \alpha$
CT+AP	4,70±0,05 $a_A \beta$	5,03±0,04 $a_A \gamma$	4,82±0,02 $a_A \alpha$
CTCa+AP	4,88±0,01 $a_A \alpha$	5,19±0,04 $a_A \beta$	5,05±0,15 $a_A \alpha$

^{a-c} Letras minúsculas diferentes indica diferencias significativas entre los tratamientos para cada temperatura y día. **A-B** Letras mayúsculas diferentes indica diferencias significativas entre los temperaturas para cada tratamiento y día. $\alpha-\gamma$ indica diferencias significativas entre el día 0 y 14 para cada temperatura y tratamiento. *Media±ds (n=3).

Contenido de humedad de las PMP

En cuanto al **contenido de humedad (%)** de las muestras (Tabla 2.6), las lonchas Control AP presentaban un valor de 84,89 % de humedad y a lo largo del tiempo no mostraron cambios significativos ($p>0,05$).

Respecto al bloque CT 55 °C, a día 0 no se observaron diferencias significativas entre las muestras control CT y las tratadas CT+AP y CTCa+AP ($p>0,05$), la tendencia a lo largo del almacenamiento no es muy clara. Parece que la aplicación del choque térmico no produce cambios significativos a lo largo del tiempo ($p>0,05$). Sin embargo, una vez aplicado el tratamiento antipardeante y tras 7 días de almacenamiento, el contenido de humedad se redujo ($p<0,05$) hasta valores de 82,4-83,3 %, debido quizás a que la acidez que produce en el tejido provoca que el tejido se hidrolice del tejido y con ello una cierta pérdida

de la humedad e incluso exudados (Steiner et al. 2006). Además estos autores también observaron que un CT y calcio podían reducir la pérdida de humedad debido al mayor número de puentes formados. Por lo tanto, al aplicar el CT 65 °C se reforzó la estructura de la patata en mayor medida que a 55 °C, evitando una mayor hidrolización del tejido y pérdida de humedad.

Así también se podría explicar la diferencia de comportamiento entre aplicar 55 °C o 65 °C, destacando el tratamiento CTCa+AP, ya que el día de procesado no mostraron diferencias significativas ($p>0,05$), pero a lo largo del almacenamiento se observa una disminución significativa en el contenido de humedad de usar 55 °C (85,9 %) respecto a 65 °C (82,7 %).

Cuando el choque térmico es aplicado en presencia de calcio (CTCa+AP) el comportamiento es al contrario, aumenta la humedad de las muestras hasta 85,9 % en el día 14 ($p<0,05$), es decir, las lonchas retuvieron la humedad. Lo que va en concordancia con lo explicado anteriormente relacionado con el refuerzo de la estructura del tejido por la actuación de PME y el aumento de puentes pectina-Ca por la presencia de calcio exógeno.

En cuanto al efecto de aplicar CT 65 °C, no se observaron diferencias significativas ($p>0,05$) ni entre los tratamientos ni en su evolución a lo largo del tiempo.

Tabla 2.6. Análisis estadístico del contenido de humedad de las PMP.

Tratamiento	Contenido de humedad (%)		
	d0	d7	d14
Control AP	84,89±2,00* α	84,53±1,10 α	84,88±0,96 α
	CT 55 °C - 5 min		
Control CT	85,64±0,46 $^a_{A\alpha}$	86,28±0,41 $^c_{A\alpha}$	85,53±1,61 $^{ab}_{A\alpha}$
CT+AP	85,00±0,26 $^a_{A\beta}$	82,38±0,23 $^a_{A\alpha}$	83,30±0,62 $^a_{A\alpha}$
CTCa+AP	84,40±0,90 $^a_{A\alpha}$	84,78±0,26 $^b_{A\alpha}$	85,90±0,41 $^b_{A\beta}$
	CT 65 °C - 5 min		
Control CT	85,74±1,26 $^a_{A\alpha}$	82,99±2,09 $^a_{A\alpha}$	82,56±1,98 $^a_{A\alpha}$
CT+AP	83,65±0,85 $^a_{A\alpha}$	83,12±0,66 $^a_{A\alpha}$	83,52±0,02 $^a_{A\alpha}$
CTCa+AP	83,70±0,53 $^a_{A\alpha}$	83,03±0,94 $^a_{B\alpha}$	82,71±1,42 $^a_{B\alpha}$

^{a-c} Letras minúsculas diferentes indica diferencias significativas entre los tratamientos para cada temperatura y día. **A-B** Letras mayúsculas diferentes indica diferencias significativas entre los temperaturas para cada tratamiento y día. $\alpha-\gamma$ indica diferencias significativas entre el día 0 y 14 para cada temperatura y tratamiento. * Media±ds (n=3)

Contenido en sólidos solubles de las PMP

Acerca del efecto sobre los **sólidos solubles totales** (°Brix) (Tabla 2.7), destacan las diferencias significativas entre las muestras Control tratadas con 55 °C y 65 °C ($p<0,05$), donde su contenido fue mayor a temperatura más alta de CT.

En cuanto al bloque CT 55 °C, el contenido en sólidos solubles fue más bajo que las muestras Control AP, aunque a lo largo del almacenamiento SST no variaron significativamente al igual que las muestras control AP ($p>0,05$). Excepto por un ligero aumento inicial ($p>0,05$) de las patatas tratadas con CTCa+AP (5,5 respecto 5 °Brix), no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en cada día analizado.

Analizando el bloque de choque térmico a 65 °C-5min, las patatas tratadas con CTCa+AP se comportaron de manera diferente con respecto al control CT y CT+AP, ya que presentaban un valor inicial más bajo ($p<0,05$), similar al obtenido

con CT 55 °C y a lo largo del almacenamiento no sufrieron cambios en su contenido. En los casos de control CT y CT+AP comenzaron con un contenido de sólidos solubles totales significativamente altos ($p < 0,05$), y en la primera semana de almacenamiento descendió significativamente (de 7 a 4-5 °Brix).

Tabla 2.7. Análisis estadístico del contenido de sólidos solubles (°Brix).

Tratamiento	Sólidos solubles totales (°Brix)		
	d0	d7	d14
Control AP	6,0±0,0* α	6,0±0,0 α	6,1±0,2 α
CT 55 °C - 5 min			
Control CT	5,0±0,0 α_A	4,7±0,3 α_A	5,0±0,0 α_A
CT+AP	5,0±0,0 α_A	5,0±0,0 α_A	5,0±0,0 $\alpha_A^{\alpha\beta}$
CTCa+AP	5,5±0,0 α_A	5,0±0,0 α_A	5,2±0,3 α_A
CT 65 °C - 5 min			
Control CT	7,0±0,0 β_B	4,0±0,0 β_B	4,0±0,0 β_B
CT+AP	7,0±0,0 β_B	5,0±0,0 β_B	4,7±0,3 β_B
CTCa+AP	5,0±0,0 α_A	5,0±0,0 β_A	5,0±0,0 β_A

α - β Letras minúsculas diferentes indica diferencias significativas entre los tratamientos para cada temperatura y día. A - B Letras mayúsculas diferentes indica diferencias significativas entre las temperaturas para cada tratamiento y día. α - γ indica diferencias significativas entre el día 0 y 14 para cada temperatura y tratamiento. *Media±ds (n=3)

El choque térmico influyó sobre el contenido de sólidos solubles, lo que podría estar relacionado con la aparición de exudados en los tratamientos con CT, sin embargo, con CTCa+AP se observó menor pérdida de exudados lo que produjo un menor cambio en el contenido de SST.

2.4.3.2. Composición de la atmósfera interna de las bolsas

La atmósfera de las patatas Control AP evoluciona disminuyendo la concentración de O₂ de forma drástica en el primer día de almacenamiento y

de forma más suave hasta el séptimo día donde se acerca al límite de anaerobiosis hasta el final del almacenamiento (Figura 2.15 A).

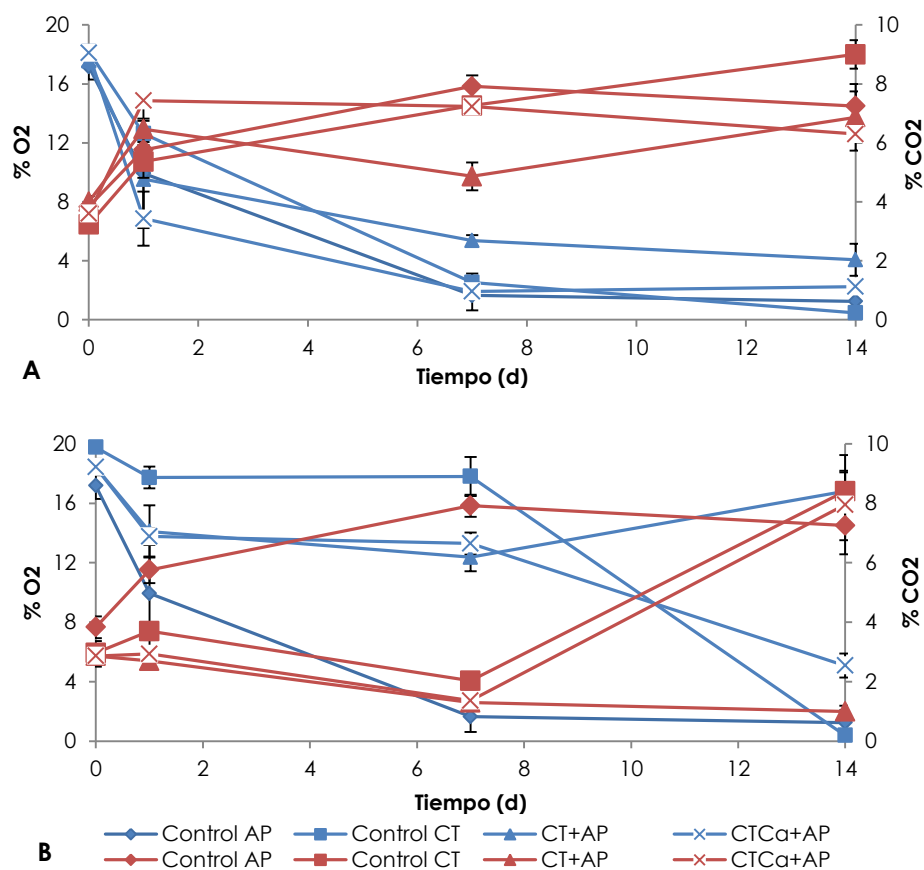


Figura 2.15. Evolución de la atmósfera interna (% O₂ y CO₂) de las muestras tratadas con choque térmico a 55 °C-5 min (**A**) o a 65 °C-5 min (**B**), envasadas y almacenadas durante 14 días a 4 °C. (IC95 %, n=3).

La evolución de la atmósfera de las bolsas del bloque CT 55 °C-5 min se comportó como era previsible, cuando sufren algún tipo de estrés, consumiendo el O₂ presente y lo que aumentaba el contenido en CO₂ (Figura 2.15 B). En el

momento del envasado se detectaron diferencias significativas entre el contenido de O₂ de las patatas control CT (18,2 %) y con las tratadas CT+AP (17,6 %). En cuanto al porcentaje de CO₂ inicial en control CT fue significativamente más bajo (3,2 %) que las de las muestras CT+AP (4,0 %) ($p < 0,05$). Esto podía indicar que la combinación del choque térmico y la solución antipardeante provocaban más estrés en las patatas que la sola aplicación del CT. Durante los siguientes 7 días en almacenamiento a 4 °C, siguen respirando y reduciendo su concentración de O₂ hasta valores entre 2 y 5 %, el límite de concentración de O₂ por debajo de la cual comenzaría la anaerobiosis. A día 1 y 7 las bolsas con las muestras tratadas con CTCa+AP presentaban la menor concentración de O₂ ($p < 0,05$), y, por tanto que habían sufrido un incremento de la respiración tras el procesado. Aunque al final del procesado, son las muestras Control AP y CT las que presentan los valores más bajos de O₂ (1,2 y 0,5 %, respectivamente) y como consecuencia los más valores más altos de CO₂ (7,2 y 9 %). Y las muestras tratadas con CT+AP fueron las que menor respiración tuvieron, ya que presentaron la concentración más alta de O₂ (4 %).

Respecto a la evolución de la atmósfera de las bolsas del bloque CT 65 °C-5 min, el aplicar esta temperatura afectó a la respiración de las patatas. Por ello, se observaron concentraciones altas de O₂ y bajas de CO₂ durante los siete primeros días de almacenamiento, lo que indica un nivel de respiración muy bajo. Tuvieron dos comportamientos diferentes, las patatas control CT y las patatas tratadas además con la solución antipardeante (CT+AP y CTCa+AP). Donde control CT presentaba la concentración más alta de O₂ ($p < 0,05$) durante 7 días. Tras una semana almacenadas y debido quizás a los daños sufridos y a la temperatura de almacenamiento, parece que durante la semana siguiente de almacenamiento se recupera en cierta medida y cambia la composición de la atmósfera radicalmente. Es decir, las patatas Control CT redujeron su concentración de O₂ (0,4 %) de forma significativa ($p < 0,05$) correspondiendo con un aumento de CO₂ (8,4 %). Las bolsas del tratamiento CTCa+AP mostraron un

comportamiento similar al control CT pero, en cuanto a % O₂, fue significativamente mayor que éste último (5,1 %) ($p < 0,05$). El tratamiento CT+AP que había mostrado un cierto aumento al final del almacenamiento con el CT 55 °C, parece que con CT 65 °C mostraba esta tendencia aún más marcada, pero en este caso parece ser que la patata no reacciona tras 7 días de almacenamiento mostrando un comportamiento anómalo, a la inversa del esperado.

Steiner et al. (2006) observó que al aumentar la intensidad del tratamiento térmico se reducía la tasa de respiración en melocotones. Lo que coincide con las observaciones realizadas cuando se aplicaba 65 °C de tratamiento térmico.

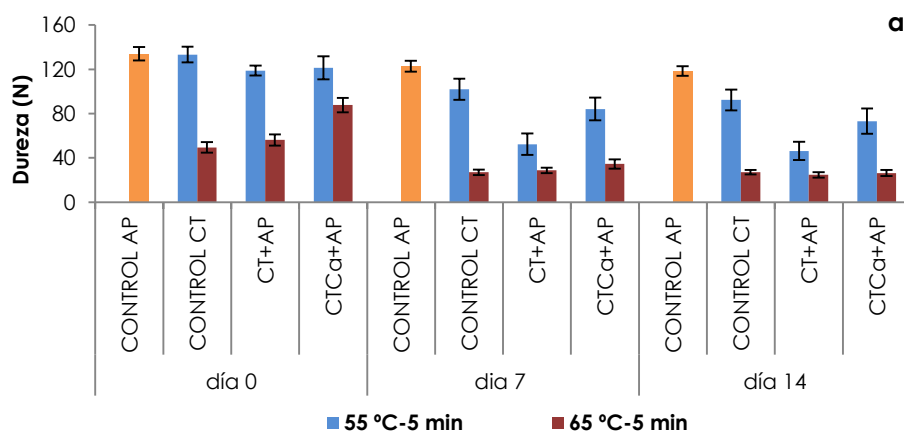
2.4.3.3. Efecto en la textura de las PMP

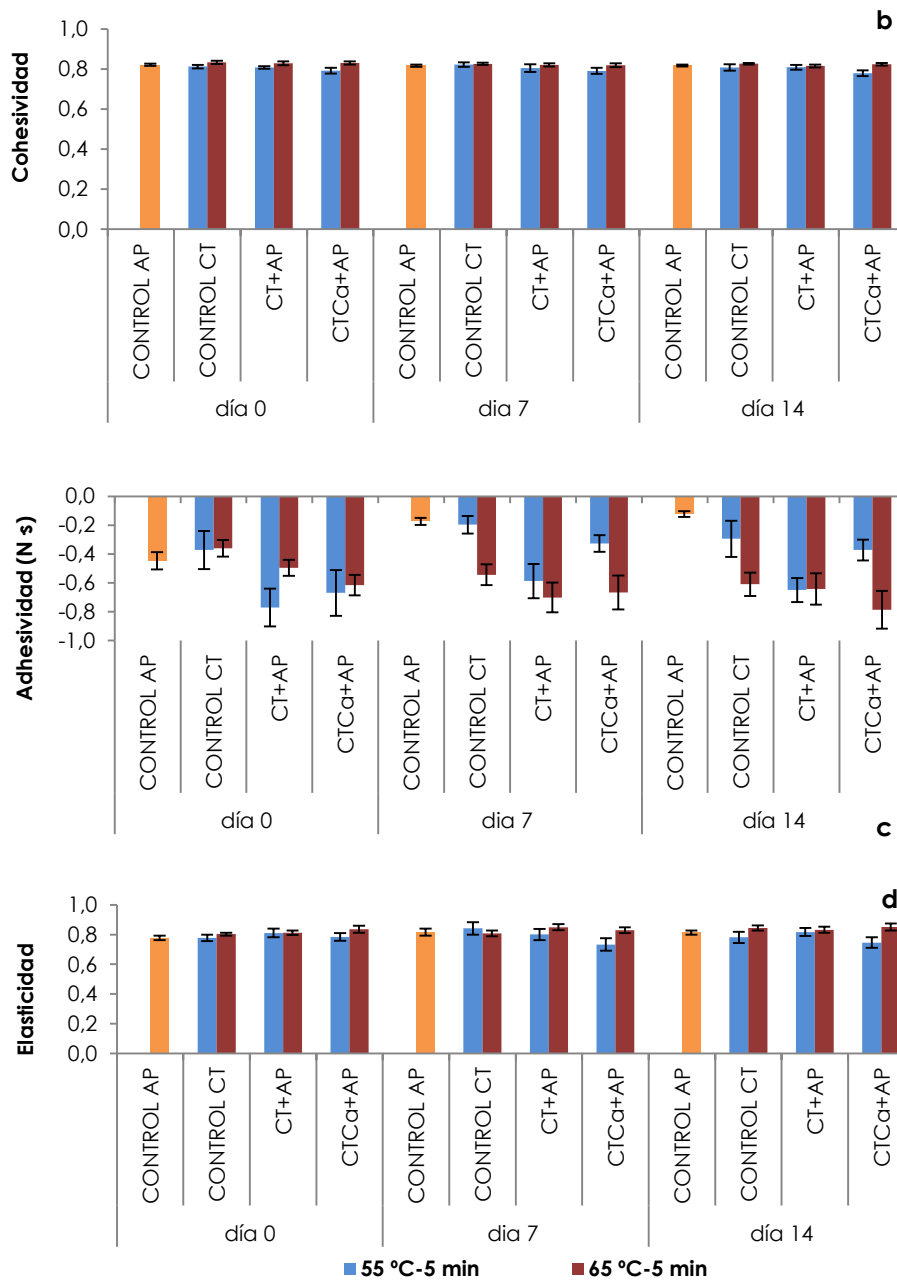
2.4.3.3.1. Evolución de la textura de las PMP frescas

En cuanto a la **dureza (N)** (Figura 2.16 a), al aplicar la temperatura de pre-tratamiento de 65 °C se produjo una pérdida significativa de la dureza en la patata fresca ($p < 0,05$). No se observaron diferencias significativas entre control AP y control CT 55°C ($p > 0,05$).

Inicialmente se observó un descenso significativo en la dureza de las patatas CT+AP y CTCa+AP respecto al su control CT ($p < 0,05$). Sin embargo, en el caso de CT 65 °C el comportamiento fue diferente, la adición de cloruro cálcico en el agua de pre-tratamiento térmico produjo un aumento significativo de la dureza respecto a las muestras control CT y CT+AP. Tras los 7 primeros días hubo una disminución significativa de la dureza en todos los casos y se mantuvo constante hasta el final del almacenamiento. Con el CT 55 °C aparece el mismo comportamiento observado a CT 65°C, es decir, un aumento significativo de la dureza de las muestras CTCa+AP respecto CT+AP ($p < 0,05$).

En base a estos resultados, parece que aplicar 55 °C afecta ligeramente a la dureza de la patata cuando se combina con la solución antipardeante, y aunque inicialmente la presencia de calcio en la solución no parece influir con el paso del almacenamiento y el desarrollo fisiológico normal de una patata que ha sufrido un estrés. Es posible observar el efecto de refuerzo de calcio en combinación con la temperatura, hecho que a 50 °C-5 min no había sido posible observar (Parte 1). Sin embargo, al aplicar una temperatura más severa (65 °C-5 min), los cambios esperados de activación de la PME fueron más marcados combinado con su consecuente interacción con el calcio endógeno para reforzar la lamela media y la pared celular y cuyo efecto aumentó por la presencia de calcio exógeno (con el pH ajustado para que fuera más soluble). Aunque hay que apuntar que la dureza sigue siendo más baja ($p < 0,05$) que los tratamientos homólogos tratados a 55 °C.





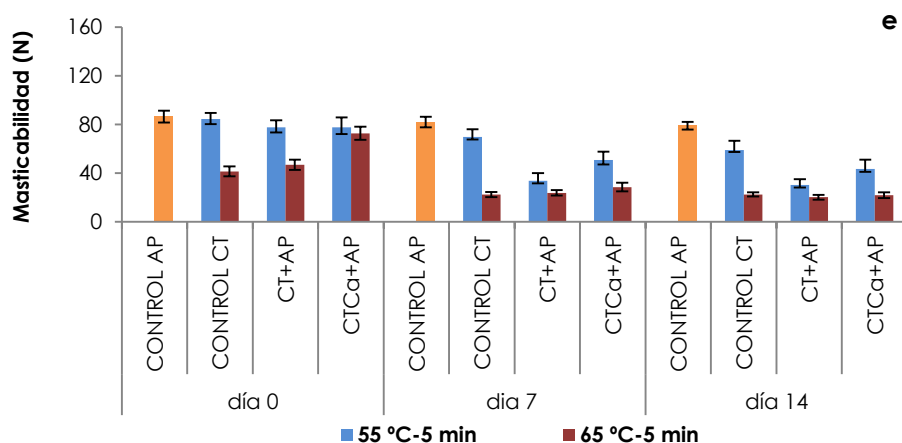


Figura 2.16. Evolución de los parámetros de TPA **(a)** dureza, **(b)** cohesividad, **(c)** adhesividad, **(d)** elasticidad y **(e)** masticabilidad de las PMP frescas de las tratadas con choque térmico a 55 °C-5min o a 65 °C-5 min (IC95 %, n=36).

Respecto a la **cohesividad** (Figura 2.16 b) de las lonchas, destacó que sus valores iniciales, en todos los casos, se mantienen estables a lo largo de todo el almacenamiento ($p>0,05$). En el día de procesado los tratamientos no parecen afectar de forma significativa la cohesividad de las lonchas, ya que no se observaron diferencias significativas respecto control AP independientemente del CT ($p>0,05$).

En el Bloque CT 55 °C-5 min, el control CT tuvo una cohesividad significativamente mayor que la obtenida al aplicar CT+AP y CTCa+AP. Este comportamiento cambió al final del almacenamiento donde con el tratamiento CTCa+AP tuvo una cohesividad menor que en los demás tratamientos ($p>0,05$).

En el Bloque CT 65 °C-5 min, a día 0 no se observaron diferencias significativas entre el control CT y el resto de tratamientos ni el control AP. A lo largo del tiempo, CTCa+AP a 65 °C muestra valores de cohesividad significativamente mayores que con CT 55°C ($p<0,05$). Sin embargo, en el caso de CT+AP no se

observaron diferencias significativas entre temperaturas de CT ($p > 0,05$). La diferencia de 10 °C en el pre-tratamiento y la presencia de calcio exógeno influyeron en la obtención de una cohesividad mayor de la estructura de la patata.

En cuanto a la **adhesividad** (N·s) (Figura 2.16 c), inicialmente no se observaron diferencias significativas entre control AP y el resto de tratamientos ($p > 0,05$), a excepción de CT 55 °C+AP y CTCa+AP a 65 °C ($p < 0,05$).

En el Bloque de 55 °C-5 min, a día 0 las muestras control CT presentaron una menor adhesividad ($p < 0,05$). Al aplicar la solución antipardeante aumenta la adhesividad con o sin la presencia de CC ($p < 0,05$).

En el Bloque de CT 65 °C-5 min la adhesividad aumentó significativamente en el siguiente orden: control CT < CT+AP < CTCa+AP. Solo en el caso de CT+AP se obtuvo una menor adhesividad con el CT65 °C respecto a CT 55°C ($p < 0,05$).

A lo largo del almacenamiento la adhesividad de las patatas control AP disminuyó significativamente ($p < 0,05$) (día cero -0,4 vs. día 14 -0,17 N·s). También ocurrió con CTCa+AP cuando se aplicó CT 55 °C ($p < 0,05$). Sin embargo, en las muestras Control CT65 °C y CT65 °C+AP aumentó significativamente la adhesividad a lo largo del tiempo.

Comparando los bloques entre sí, destacaron las muestras Control CT que inicialmente no mostraban diferencias significativas y, a lo largo del almacenamiento el pre-tratamiento térmico 55 °C-5 min disminuyó la adhesividad de las patatas y con 65 °C-5 min aumentó (día 14: -0,3 vs -0,6). El mismo comportamiento se observó para CTCa+AP (día 14: -0,4 vs -0,8 N·s).

Estos resultados indicaron que una mayor temperatura de CT aumentaba la cohesividad de la loncha y, en presencia de calcio el efecto era mayor, lo que viene relacionado con lo ya comentado sobre el refuerzo en la estructura del tejido con esta combinación de factores.

En cuanto a la **elasticidad** de la patata (Figura 2.16 d), en el día de procesado no se observaron diferencias entre los tratamientos respecto a las muestras Control AP ($p>0,05$), excepto en el caso de CTCa+AP con el CT 65 °C. La elasticidad de las patatas tratadas con control AP aumentó tras 7 días y posteriormente se mantuvo constante.

A día cero en el bloque CT 55 °C no se observaron diferencias significativas en la elasticidad de los tratamientos ($p>0,05$), durante el resto del almacenamiento CTCa+AP mostraron valores significativamente más bajos que el resto de tratamientos ($p<0,05$).

En el bloque CT 65 °C y para el día 0, control CT tuvo una elasticidad menor ($p<0,05$) que las muestras tratadas con CTCa+AP, durante los siguientes 7 días este comportamiento se mantuvo, aunque al final del almacenamiento las diferencias entre los tratamientos desaparecieron ($p>0,05$).

Al comparar entre Bloques, destaca el tratamiento CTCa+AP, ya que muestra siempre una mayor elasticidad tras aplicar CT 65 °C ($p<0,05$) y con el tiempo fue cada vez más evidente. La presencia de calcio parece que mantiene una alta elasticidad en las patatas.

En cuanto al último parámetro, **masticabilidad** (N) (Figura 2.16 e), su comportamiento fue similar al que se observó en el parámetro dureza, debido a que la masticabilidad se calcula a partir de la dureza, la cohesividad y la elasticidad.

A día 0 la masticabilidad del control AP no muestra diferencias significativas respecto a los tratamientos que han recibido CT 55 °C ($p>0,05$), pero es significativamente mayor que los tratados con el CT 65 °C ($p<0,05$). La masticabilidad de las muestras control AP disminuyó con el tiempo ($p<0,05$).

En el día de procesado, las lonchas con un CT 65 °C y el tratamiento CTCa+AP mostraron una masticabilidad mayor que CT+AP o control CT ($p<0,05$). A lo largo

del tiempo y, en todos los casos, la masticabilidad disminuyó significativamente ($p < 0,05$), principalmente en la primera semana.

Los tratamientos con un CT 55 °C-5 min y aunque disminuyó a lo largo del tiempo, su masticabilidad fue siempre significativamente más alta que a CT 65 °C ($p < 0,05$), destacando control CT 55 °C que presenta la mayor masticabilidad para cada día de entre las muestras pre-tratadas ($p < 0,05$).

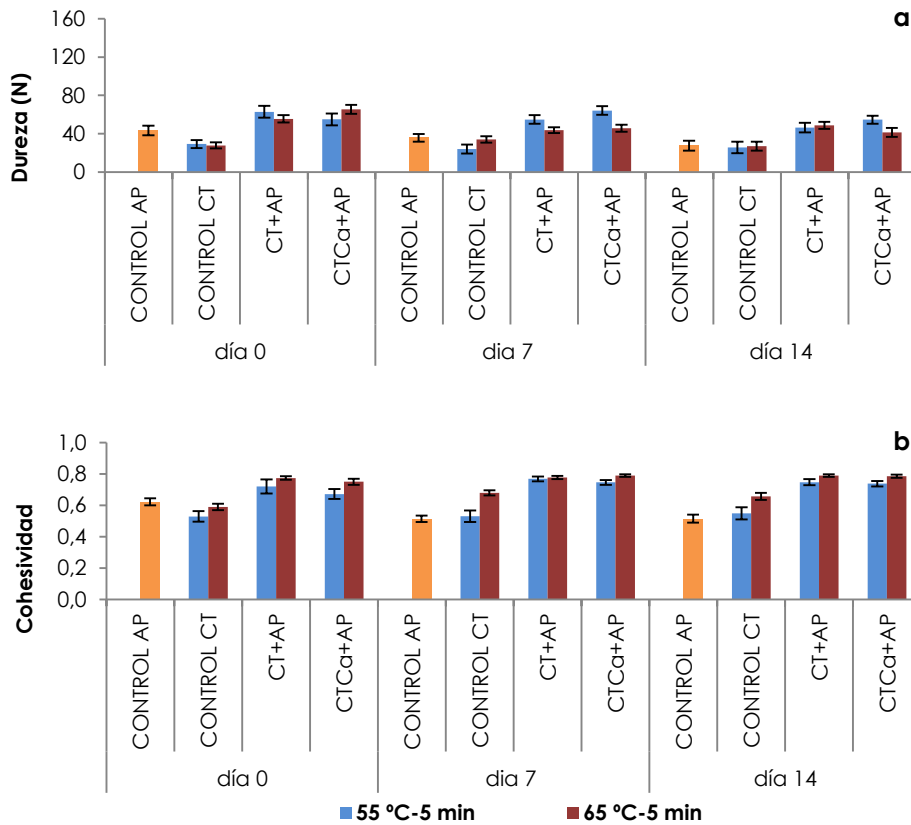
2.4.3.3.2. Evolución de la textura de las PMP cocinadas

La mayor parte de la materia seca de la patata es almidón por lo que durante el cocinado y, por tanto el ablandamiento, el principal fenómeno que ocurre está asociado a la gelatinización del mismo, la cual está relacionada con los cambios de textura que se producen durante el cocinado. Entre 90 y 100 °C se produce una gelatinización rápida y se produce un cierto grado de solubilización de las sustancias pécticas (Verlinden et al. 1995).

En patata cocida la firmeza (sensorial) está relacionada con la gelatinización del almidón y con la estabilización de las sustancias pécticas en la pared celular y la lamela media. La dureza instrumental también está asociada a las sustancias pécticas y correlacionada con la primera ruptura del tejido (F_{max} o fracturabilidad) y depende de la cohesión y la viscosidad. La cohesión intracelular está relacionada con el contenido de amilosa del almidón, los poliuronidos (principalmente pectina) y con el contenido de iones calcio y magnesio, pero no con las proteínas y los metales pesados (Andersson et al. 1994).

Durante el cocinado se produce una separación intracelular, aumentando la distancia entre células. Esto indicaría que se ha producido una hidratación de la matriz de la pared celular, lo que afecta al espesor de la lamela media y a su viscosidad y por tanto disminuiría la fuerza máxima necesaria para la separación

celular de la patata. Como ya se había comentado, el contenido de almidón es el factor determinante en la textura de la patata. Y los materiales pécticos tienen el efecto contrario al del almidón en la textura. Es decir, el almidón tiende a redondear las células y a su separación, mientras que el material péctico tiende a prevenir la separación celular mediante una fuerza de cohesividad. Los iones calcio, mediante su unión a moléculas pécticas, contrarrestan la tendencia al aumento de la lamela media cuando actúa la temperatura del agua, lo que provocaría sino la separación celular (Andersson et al. 1994).



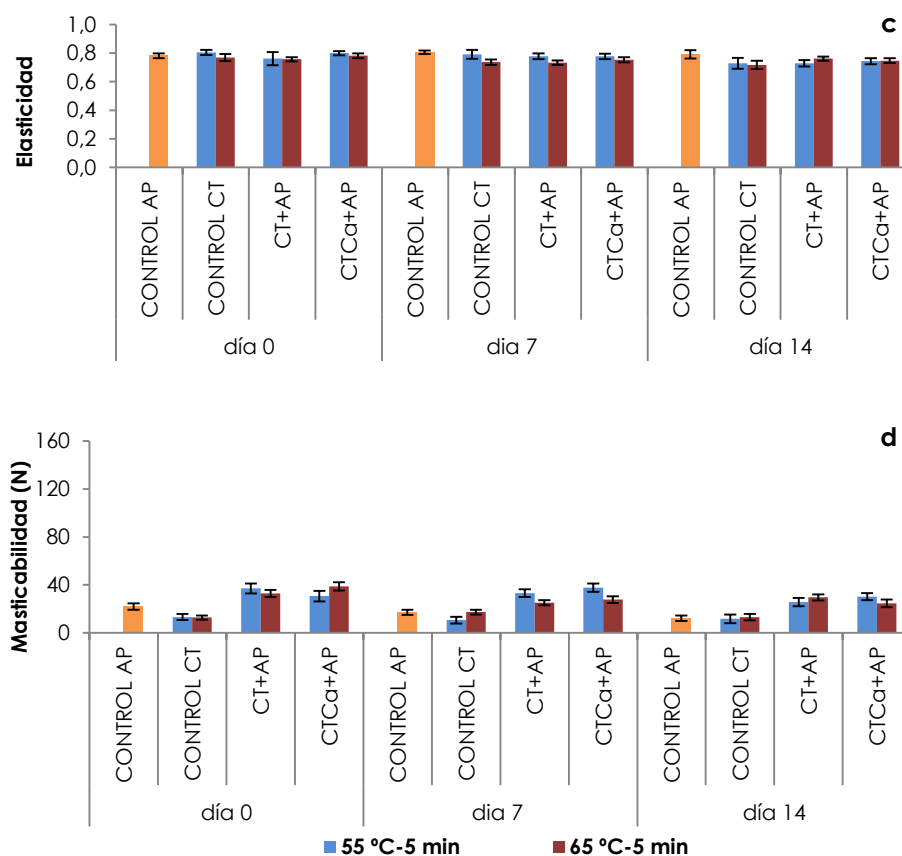


Figura 2.17. Evolución de los parámetros de TPA **(a)** dureza, **(b)** cohesividad, **(c)** elasticidad y **(d)** masticabilidad de las PMP cocidas de las tratadas con choque térmico a 55 °C-5min o a 65 °C-5 min. (IC95 %, n=36).

Empezando por el parámetro **dureza** (N) (Figura 2.17 a), tal y como era de esperar, las patatas una vez cocinadas han perdido cerca de un 50 % de la dureza que presentaban en fresco (Figura 2.16 a), debido a todos los cambios físicos y químicos que se producen al aplicarles un segundo tratamiento térmico (98 °C-10 min) en este caso severo. Dentro del cocinado también se observan

diferencias en la dureza de las lonchas en función del tratamiento que han sufrido.

A día cero, todos los tratamientos estudiados presentan una dureza significativamente mayor (CT+AP y CTCa+AP a 55 y 65 °C) o menor (control CT 55 o 65 °C) que el control AP ($p < 0,05$). Parece que la aplicación del choque térmico en combinación con la solución antipardeante aumenta la dureza final, es decir tras el cocinado. Como ya se había observado en la Parte 1 de este capítulo.

Al comparar entre bloques, el tratamiento CT+AP con CT 55 °C presentó mayor dureza que CTCa+AP ($p < 0,05$). Sin embargo, en presencia de calcio (CTCa+AP) y con el CT 65 °C-5 min las lonchas tenían mayor dureza ($p < 0,05$).

A lo largo del almacenamiento se produce una pérdida de la dureza, lo cual también fue observado en patata fresca. Los principales cambios que producen esa pérdida de dureza se dan en los primeros 7 días, lo que puede estar relacionado con los cambios en la respiración de las patatas, la cual también fue diferente entre el Bloque CT 55 °C o 65 °C. Al final del almacenamiento desaparecieron las diferencias en la dureza, llegando incluso a ser más firmes las patatas tratadas con CT+AP a 55°C ($p < 0,05$) que con 65 °C. El mayor estrés de la patata a mayor temperatura, junto con los cambios en la composición de la atmósfera interna y los cambios naturales por evolución del producto en almacenamiento han podido intervenir en la dureza final. Rocculi et al. (2007) indicaron que a largo del almacenamiento también interviene el complejo metabolismo de carbohidratos que incluye la utilización de azúcares en la respiración y/o la posible movilización del almidón.

En cuanto a la **cohesividad**, Alvarez y Canet (1998) indicaron que en patata (cv. *Monalisa*) se espera una cohesividad menor cuando ésta se cocina, ya que el tratamiento térmico reduce la cohesión intracelular. Este comportamiento es más evidente en los controles AP y CT que cuando se combinaron entre ellos,

donde la cohesividad es significativamente mayor ($p < 0,05$) durante todo el almacenamiento (Figura 2.17 (b)).

No se observaron diferencias significativas en la cohesividad ($p > 0,05$) entre usar o no calcio con cualquiera de las temperaturas de pre-tratamiento. Lo que vuelve a indicar que la combinación de un choque térmico con la solución antipardeante, además de controlar el pardeamiento producido por el CT y el deterioro natural de las patatas, también interviene en el refuerzo de la estructura del tejido al acidificar la patata, como ya se ha comentado anteriormente.

Al comparar entre bloques, en general se observa una mayor cohesividad con el CT 65 °C que con 55 °C ($p < 0,05$). Lo que puede ser debido a una mayor activación de la PME con la temperatura más severa. También se observa este efecto en los controles CT donde cohesividad de control CT 65 °C es mayor que control CT 55 °C a lo largo de todo el almacenamiento.

Respecto a la **adhesividad**, (grafico no mostrado), no se encontraron diferencias significativas entre los controles, ni entre tratamientos y ni entre temperaturas de CT. Lo que si se observó fue una disminución de los valores de adhesividad respecto a las patatas frescas, tal y como indicaron Álvarez y Canet (1998) para patata cv. *Monalisa*. La máxima adhesividad en patata fresca fue de $-0,79 \text{ N} \cdot \text{s}$ y para cocinada fue de $-0,65 \text{ N} \cdot \text{s}$. Los valores más bajos de adhesividad encontrados en la patata cocinada fueron de $-0,46$ respecto al $-0,12$ de la patata fresca.

En cuanto a la **elasticidad** (Figura 2.17 c), al aplicar un CT 55 °C-5 min, no hubo diferencias significativas entre los tratamientos en ninguno de los días de análisis ($p > 0,05$). Con CT 65 °C-5 min, solo en el último día de almacenamiento se observó que CT+AP poseía una elasticidad significativamente más alta que control CT 65 °C. Por lo que parece que el aplicar un choque térmico con o sin presencia de calcio y tras cocer las láminas de patata, no afectaba

especialmente la elasticidad de la patata. Sin embargo, si se comparan los bloques entre sí, inicialmente sólo el control CT55 °C mostró una elasticidad significativamente mayor que al aplicar CT 65 °C-5 min ($p < 0,05$). Tras 14 días esas diferencias desaparecieron ($p > 0,05$). En el caso de CTCa+AP no hubo diferencias significativas entre ningún día ni a CT55 ni a 65 °C ($p > 0,05$). En general, parece que la tendencia era perder cierta elasticidad a lo largo del tiempo. Excepto el control CT y CT+AP (55 °C) que mantuvieron sus valores de elasticidad constantes durante todo el almacenamiento.

Por último, los valores de **masticabilidad** (N) tras el cocinado (Figura 2.17 d), al igual que la dureza, disminuyeron cerca de un 50 %. Las patatas control CT para ambas temperaturas y Control AP muestran valores significativamente bajos de masticabilidad respecto a los tratamientos CT+AP y CTCa+AP ($p < 0,05$). El control CT muestra la fuerza de masticabilidad más baja en el día de procesado ($p < 0,05$). Y en las lonchas control AP la fuerza de masticabilidad tendía a disminuir a lo largo del tiempo ($p < 0,05$).

Por lo tanto, la combinación de CT y solución antipardeante posterior produjo un cambio en la pared celular que mantuvo mejor la estructura celular cuando se le aplicaba un tratamiento térmico severo, como es el caso de un cocinado (98 °C-5 min). Como se ha explicado, la exposición de las patatas recién expuestas a un CT junto con la bajada de pH que se produce al introducirlas en la solución AP, produce la combinación de un aumento de carboxilos libres en la pectina junto con una mayor solubilidad del calcio, esto lleva a la creación de un mayor número de puentes pectina-Ca que reforzaron la estructura celular tras el cocinado, viéndose incrementado el efecto al exponer a las patatas a calcio exógeno. Sin embargo, durante el almacenamiento comienzan a intervenir otros muchos factores que afectan a la textura general en diferente medida, como ya se ha comentado.

En resumen, se detectan instrumentalmente dos tipos de comportamientos, en función de si se evalúa la patata en fresco o cocinada. El aplicar calcio y la

mayor de las temperaturas se produce un efecto de refuerzo de la pared celular observado mediante los parámetros de textura dureza, cohesión y masticabilidad. Aunque la cohesividad se mantiene a lo largo del tiempo, la dureza y la masticabilidad se redujeron por el almacenamiento. Sin embargo, el aplicar una temperatura más severa tiene consecuencias negativas a nivel visual, como se va a mostrar en apartado 2.4.3.3.

No se han encontrado estudios con quienes comparar estos resultados, debido a que en otros estudios, por un lado se realizaban principalmente en patatas enteras e incluso con piel (Abu-Ghannam y Crowley 2006) o en cilindros relativamente grandes (Gonzalez-Martinez et al. 2004), en los cuales el tiempo de exposición a la temperatura objetivo era diferentes según se medía en el centro o exterior de la patata. Por otro lado, iban a ser posteriormente cocidas o fritas sin sufrir un almacenamiento prolongado. Estas condiciones permiten estudios a temperaturas entre 55 y 65 °C y tiempos más largos (15-60min), donde se observa un efecto mayor del pre-tratamiento térmico y de su interacción con el calcio (Abu-Ghannam y Crowley 2006). El estudio encontrado en mínimamente procesados realizaba el pre-tratamiento en patata entera y sin pelar, para después, tras un enfriamiento de 24 h, realizar el procesado mínimo (Tsouvaltzis et al. 2011) o en melocotón donde se optó por una temperatura baja (40 °C) y tiempos de exposición muy largos (70 a 120 min) (Steiner et al. 2006). O por ejemplo, Ng y Waldron (1997) que aplicaba en patatas un choque de 50 °C-3h, sugiriendo que la optimización del choque térmico requería la presencia de calcio.

2.4.3.4. Apariencia general de las PMP tratadas

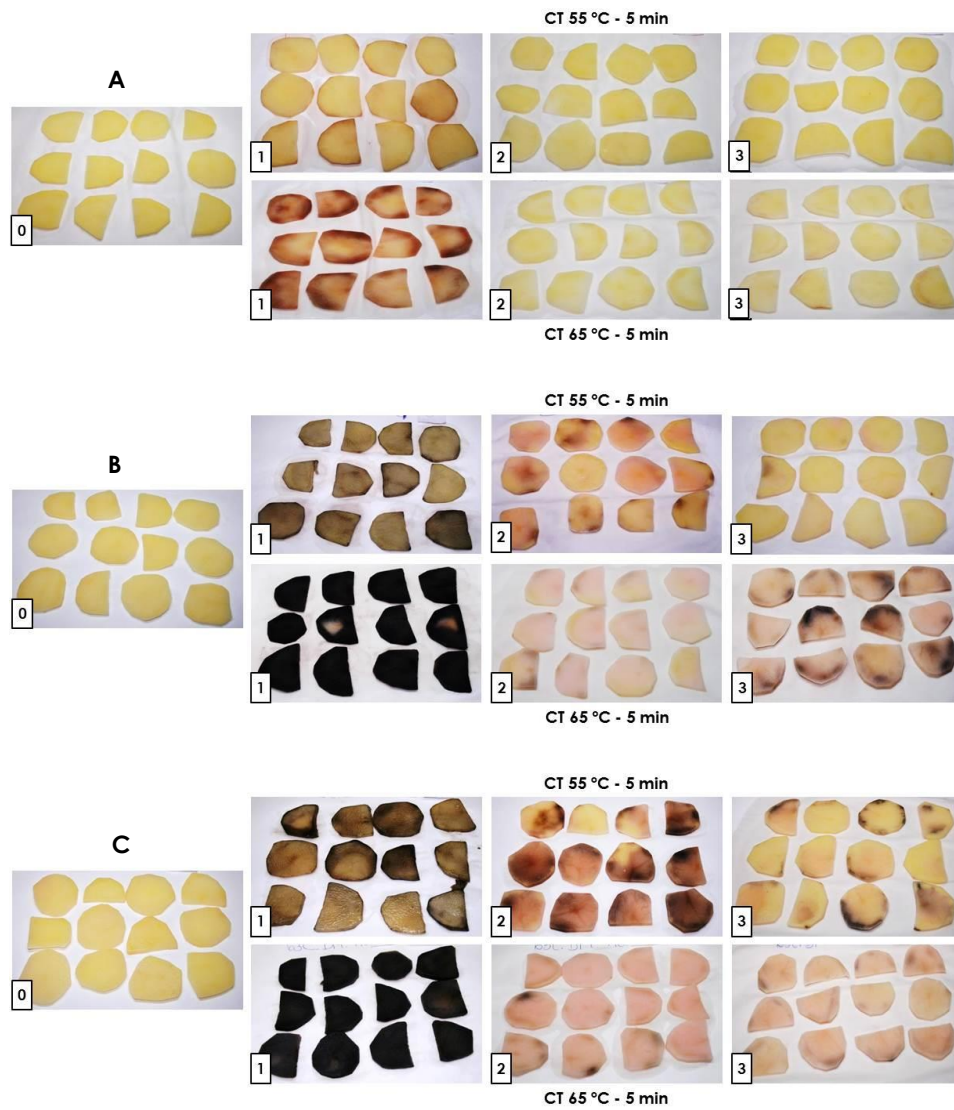


Figura 2.18. Apariencia de las PMP a día 0 (**A**); a día 7 (**B**) y a los 14 días (**C**). Donde 0= Control AP; 1= Control CT; 2= CT+AP y 3= CTCa+AP.

En Figura 2.18 se puede ver por la apariencia de las patatas tratadas con los CT, un efecto activador de la temperatura sobre la PPO, tal y como se concluyó en base al color instrumental en Parte 1, lo que las hace inaceptables desde el mismo día de procesado, donde la refrigeración por sí misma no produce mejora alguna.

Al combinar las muestras pre-tratadas térmicamente con la solución antipardeante, se observa un efecto de control del pardeamiento inicial. Aunque tras 7 días en almacenamiento (Figura 2.18 B) sólo en el caso de aplicar CTCa 55 °C +AP se consiguió una apariencia relativamente aceptable.

Y tras 14 días de almacenamiento, Figura 2.18 (C), ya eran completamente inaceptables todas las muestras tratadas con un choque térmico, a ambas temperaturas, además de presentar un exudación: control CT > CT+AP >> CTCa+AP.

En este caso se observa que el aumento de temperatura donde se sumergen a 55 °C-5 min, es suficiente como para que la solución AP no sea lo suficientemente efectiva para controlar el deterioro de la calidad visual de las muestras, por lo que solo serían aplicables temperaturas menores de 55 °C, en base a los resultados y al comportamiento de las lonchas con el CT a 50 °C (Capítulo 1 y 2 en Parte 1).

Solo el control AP mantuvo una apariencia aceptable los 14 días (Figura 2.18 C), como también era de esperar por los ensayos anteriormente evaluados (Capítulo 1 y 2 Parte 1).

2.4.3.5. Comportamiento de la pectin metilesterasa

La teoría parece simple, si se aplica un calor de entre 50 y 70 °C a una muestra de patata, durante un tiempo variable que está en función de la morfología de esta, se activará la PME ligada a la pared celular. Esta enzima cataliza la eliminación de los grupos metilo de la cadena del ácido poligalacturónico, lo que provoca la liberación de metanol, pectinas de bajo metoxilo y formación de ácidos pécticos. Estos ácidos pueden reaccionar con iones calcio presentes en el medio para formar complejos insolubles de pectato de calcio, dejando un mayor número de grupos carboxilo libres que pueden luego enlazar cationes y formar pectinas reticuladas, las cuales pueden agregarse y asentarse (Anthon, Gordon E. y Barrett 2002). Por lo tanto interesa aplicar temperaturas y tiempos que no inactiven la enzima muy rápidamente, para que pueda actuar lo suficiente para reforzar la estructura de la pared celular.

Andersson et al. (1994) indicaron que el aumento de la firmeza en las patatas tras un CT a baja temperatura solo se observa tras el cocinado, con el que se inactivan definitivamente todas las enzimas de la patata y se produce la descompartimentalización de las membranas celulares (rotura de tejidos). Esto libera muchos iones de calcio endógeno que se enlazan con las pectinas en los grupos carboxilo que quedaron libres cuando actuó la PME. Este comportamiento ha quedado constatado con numerosos estudios no solo en patatas, en zanahorias, tomates, judías o en frutas como los melocotones (Anthon, Gordon E. y Barrett 2002, 2005, Anthon, G. E. et al. 2005, Steiner et al. 2006).

El grado de activación-desactivación de la PME está en función de la composición de la patata, de la temperatura del pre-tratamiento, del tiempo de exposición y de cómo se distribuye el calor en la muestra tratada. E incluso se pueden dar un fenómeno que consiste en la liberación de las enzimas que no estaban disponibles (Gonzalez-Martinez et al. 2004). Tijskens et al. (1997) estudiaron la cinética de la PME en patatas y revelaron la existencia de dos

formas isoméricas de la enzima, una en forma ligada y otra soluble. Por lo que el retraso en la disminución de la actividad medida en las muestras en ciertas condiciones, es debido a que se está produciendo la conversión de enzima ligada a enzima libre.

Por último, en cuanto al efecto del almacenamiento sobre las patatas, las enzimas están actuando de forma natural sobre la textura, liberándose diferentes sustancias debido a la degradación, lo que se traduce en la pérdida de dureza observada en las muestras de este estudio, más evidente en las patatas en fresco.

Por todo ello, los valores que se presentan a continuación de actividad residual (% AR) son sólo orientativos, ya que se realiza con muestras diferentes para cada día de análisis y que además se vieron sometidas posteriormente a un almacenamiento.

Tabla 2.8. Análisis estadístico de la actividad relativa de la PME β (% AR).

Tratamiento	Día	Actividad residual	
		CT 55 °C – 5 min	CT 65 °C – 5 min
Control CT	0	103,2±5,0* ^a _{Aβ}	82,2±3,5 ^b _{Bα}
	7	77,5±3,9 ^a _{Aα}	71,7±0,2 ^a _{Aα}
	14	81,8±6,1 ^a _{Aα}	75,0±4,6 ^a _{Aα}
CT+AP	0	103,4±1,9 ^a _{Aγ}	80,5±5,7 ^a _{Bα}
	7	97,1±1,7 ^b _{Aβ}	98,4±2,3 ^b _{Aβ}
	14	77,9±1,9 ^a _{Bα}	98,6±5,4 ^a _{Aβ}
CTCa+AP	0	99,2±5,4 ^a _{Aα}	96,7±0,1 ^c _{Aβ}
	7	88,2±7,3 ^{ab} _{Aα}	82,2±5,1 ^a _{A$\alpha\beta$}
	14	81,8±0,6 ^a _{Aα}	93,0±5,7 ^{ab} _{Aα}

^{a-c} letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos para un mismo día y CT. ^{A-B} letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre bloque CT para un mismo día y tratamiento. ^{α - γ} letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los días para un mismo tratamiento y bloque CT. *Media \pm ds (n=3).

Teniendo en cuenta lo comentado anteriormente, con el pre-tratamiento de 55 °C-5 min a día cero no se observaron diferencias significativas ($p>0,05$) en la actividad residual entre los tratamientos, donde en las muestras control CT 55 °C se obtuvieron valores $> 100 \%$ (Tabla 2.8).

En cuanto al pre-tratamiento de 65 °C-5 min, las muestras tratadas con CTCa+AP (96,7 %) presentaron un valor significativamente más alto ($p<0,05$) que el resto a día cero.

Al comparar entre choque térmicos a día cero, sólo las muestras control CT y CT+AP mostraron una actividad relativa significativamente más alta con 55 °C-5 min que con 65 °C ($p<0,05$). Esto podría explicarse si se tiene en cuenta que a mayor temperatura se consigue activar más enzimas pero a la vez también comienza su inactivación por el propio tratamiento y su tiempo de exposición. Esto requería un estudio cinético específico para determinar el comportamiento de activación-inactivación para esas temperaturas, tiempo y cultivar de patata.

En general, se observa una tendencia a disminuir el % AR a lo largo del almacenamiento, lo que podría estar relacionado con procesos naturales de degradación por el almacenado, seguramente acelerados por los propios pre-tratamientos térmicos. Aunque encontramos dos excepciones, la aplicación de CT 65 °C +AP con valores crecientes de AR y, en el caso de CTCa 55 °C+AP y control CT 65 °C, que no presentaron diferencias significativas ($p>0,05$).

2.5. CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO

Parte 1. El efecto sobre las PMP del uso combinado de choque térmico (50 o 60 °C-5 min) con solución antipardeante 0,005 % HR+2 % AA y la modificación de diferentes aspectos del procesado.

Efecto choque térmico

Los choques térmicos aplicados (50 y 60 °C – 5 min) afectan de forma negativa tanto a la textura como al color de las PMP.

El choque térmico reduce la dureza de las PMP frescas, siendo más pronunciado el efecto con la temperatura más alta. Sin embargo, se observa un incremento en la dureza de las patatas tras el CT 60 °C- 5 min una vez cocinadas.

La aplicación de un choque térmico afecta de forma significativa los parámetros de color evaluados pero con el empleo posterior de la solución antipardeante 0,005 % HR+2 % AA es capaz de controlar e incluso evitar este deterioro.

Efecto tipo enfriamiento

No se han encontrado diferencias significativas entre el uso de baño de hielo y de hielo líquido para enfriar las muestras en los parámetros analizados de textura y color ni en el aspecto visual de las muestras. Por lo que no se justifica, en las condiciones estudiadas, el uso de hielo líquido.

Empleo de cloruro cálcico

El uso de cloruro cálcico ayuda a reducir el deterioro de color provocado por el choque térmico, lo cual fue evidente cuando utilizaba hielo líquido ya que las patatas eran sometidas a un doble baño de calcio.

Respecto a la textura, fue mayor el efecto del choque térmico, tanto en la patata sin cocinar como cocinada, que el de la presencia de calcio en el agua del pre-tratamiento térmico.

Parte 2. El efecto sobre la textura y la enzima PME de las PMP tratadas con una combinación de choque térmico (55 o 65 °C-5 min), en presencia o no de calcio, y una solución antipardeante 0,005 % HR+2 % AA.

La aplicación de los CT ensayados, en general, refuerzan la textura de la patata tras el cocinado en las condiciones estudiadas. No se observó una relación directa de este fenómeno con la actividad relativa de la enzima PME medido en la PMP a lo largo del almacenamiento. Y ambas temperaturas producían un deterioro en la calidad visual de las lonchas.

En conclusión, de las condiciones ensayadas, aquella que mantiene en mayor medida la calidad global de las PMP (apariencia aceptable y sin exudaciones) es el uso combinado de choque térmico a 50 °C-5 min con 0,005 % HR+2 % AA.

Conclusiones finales del empleo de modificadores de textura.

La modificación de las condiciones de procesado de PMP establecidas en este estudio (choque térmico, adición de calcio y tipo de enfriamiento), no resultaron en una mejora evidente de la calidad global de las patatas.

Sin embargo, se han explorado aspectos del procesado que podrían ser útiles en futuras investigaciones para facilitar la obtención de alternativas al uso de compuestos sintéticos en la conservación de frutas y hortalizas mínimamente procesadas.

CAPÍTULO 3. Efecto de extracto de té verde como solución antipardeante en patata mínimamente procesada

CAPÍTULO 3 . Efecto de extracto de té verde como solución antipardeante en patata mínimamente procesada.

3.1. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

Observando los resultados de los capítulos anteriores, es evidente que la combinación de HR+AA funciona, el hecho de que no sea legal usarlo en hortalizas, motivó el dar un paso más allá y buscar alternativas más naturales que se puedan añadir a las PMP para el control del pardeamiento.

Debido a que el principal objetivo en esta tesis es conservar la calidad de las PMP de la forma más natural posible, se decidió cambiar el rumbo de la investigación hacia la búsqueda de alternativas naturales. Para realizar una incursión inicial en esta área, se seleccionó el té verde (*Camellia sinensis sp.*) en base a la bibliografía, ya que parecía tener posibilidades bastante interesantes.

Según Pruidze y Grigorashvili (1977) existen unos pequeños péptidos en el té verde con cierta capacidad para la inhibición de la PPO, la principal enzima responsable de la pérdida de calidad a nivel visual.

Además, Martín-Diana et al. (2008) estudiaron el uso de té verde como alternativa natural para aumentar la vida útil de lechuga mínimamente procesada evaluándolo respecto a un tratamiento con cloro en la lechuga. Además valoraron su efecto sobre la calidad sensorial y nutricional y en el pardeamiento tanto, a nivel de color de la lechuga como enzimáticamente, estudiando la actividad de las enzimas PPO y POD. La concentración baja de TV no mostró diferencias respecto al uso de cloro en la aceptación de las propiedades sensoriales y en pardeamiento.

Soysal (2009) realizó un estudio sobre la capacidad de extractos de té verde para inhibir la PPO y su control del pardeamiento de manzanas mínimamente procesadas.

El té verde (*Camellia sinensis* sp.) ha sido utilizado durante miles de años como bebida saludable y natural. Es la bebida más consumida en todo el mundo y es rica en compuestos polifenólicos conocidos como flavonoides del té. Estos compuestos (catequinas, teaflavinas y tearubiginas) poseen propiedades antioxidantes. Se ha demostrado que los extractos de té verde tienen mayor capacidad antioxidante que las de té negro, y su actividad antioxidante total se correlacionaba fuertemente con el contenido fenólico total del té en todos los casos (Amarowicz y Shahidi 2003).

Debido a que no se han encontrado estudios sobre la capacidad antipardeante de té verde sobre patata de IV gama, envasada y almacenada durante un tiempo relativamente largo, se ha desarrollado este capítulo.

3.2. OBJETIVO

Evaluar el efecto antipardeante de un extracto de té verde aplicado en patata (cv. Monalisa) mínimamente procesada, almacenada 14 días a 4 °C, comparándolo con la eficacia de dos soluciones con capacidad antipardeantes demostrada.

3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se establecieron como tratamientos para comparar, tanto el agente tradicional, DS+AC, como la alternativa estudiada en el capítulo 1, 0,005 % HR+2 % AA (Tabla 3.1) y evaluar el efecto en el color, la textura y parámetros físico-químicos del extracto de té verde en patata (cv. Monalisa) mínimamente procesada almacenadas durante 14 días a 4 °C.

Tabla 3.1. Tratamientos evaluados en PMP (cv. *Monalisa*).

Abreviaturas	Tratamiento antipardeante (p/v)
Control	PMP sin ningún tratamiento antipardeante
DS+AC	0,1 % Disulfito de sodio + 0.5 % ácido cítrico
HR+AA	0,005 % 4-hexilresorcinol + 2 % ácido ascórbico
TV	0,25 % solución de extracto de té verde

Las muestras fueron preparadas por triplicado para cada tratamiento y día. Se determinó el color, la textura, la composición de la atmósfera interna de la bolsa, pH, contenido de sólidos solubles totales y de humedad. Los días de análisis fueron 0, 3, 7, 10 y 14.

3.4. MATERIALES Y MÉTODOS

3.4.1. Procesado y preparación del extracto de té verde

Patatas (cv. *Monalisa*) fueron procesadas como se ha explicado en el Capítulo 1 (apartado 1.3.1). Es decir, fueron seleccionadas, desinfectadas, lavadas, peladas, cortadas y tratadas con las soluciones antipardeantes, indicadas en Tabla 3.1, durante 7 minutos. Las patatas control no fueron tratadas. Todas las muestras fueron envasadas y almacenadas durante 14 días a 4 °C.

3.4.1.1. Preparación del extracto y caracterización

Se realizaron unos ensayos preliminares para seleccionar la concentración con la que trabajar, partiendo de las concentraciones usadas por Martín-Diana et al. (2008) y, por lo que se evaluó el efecto sobre PMP, almacenada 14 días a 4 °C, de los extractos de TV a las concentraciones de 1, 0,5 y 0,25 g de té verde en 100 ml de agua destilada.

Las hojas de té verde (SoriaNatural, Soria) se mantuvieron en agua destilada a 90 °C durante 5 minutos, se separaron las hojas y se filtró para obtener lo que sería el extracto a usar. Se procesaron las patatas tal y como se ha descrito en Capítulo

1, sumergiendo las patatas en las soluciones de TV durante 7 minutos. La concentración del extracto más efectiva fue 0,25 g/100 ml solución. Los resultados coinciden con los obtenidos por Martín-Diana et al. (2008), donde la concentración más efectiva también fue la más baja de las estudiadas.

En base a estos resultados, para el procesado final, se prepararon 9 litros de solución de té verde a la concentración de 0,25 g/100 ml infusión extraído a 90 °C-5min. La solución de TV se mantuvo a 4 °C, hasta su utilización, para estar a la temperatura de procesado de las patatas.

También se caracterizó el extracto mediante el método para la determinación del contenido total de fenoles (CTF), basado en el método Folin-Ciocalteu que será descrito en detalle en el capítulo 4 (apartado 4.4.3).

En base a este método y para este extracto, con una concentración de 2,4 mg especia/ml de solución, se determinó que el contenido de fenoles totales del extracto de té verde fue de $169,5 \pm 2,9$ mg de EAG/l de solución.

3.4.2. Métodos de análisis

3.4.2.1. pH

Este método de análisis ha sido descrito en detalle en el capítulo 1 (*apartado 1.3.2.1*).

3.4.2.2. Contenido en sólidos solubles totales

Este método de análisis ha sido descrito en detalle en el Capítulo 1 (*apartado 1.3.2.2*).

3.4.2.3. Contenido de humedad

Este método de análisis ha sido descrito en detalle en el Capítulo 1 (*apartado 1.3.2.3*). Para el cálculo del porcentaje de humedad se aplicó la Ecuación 2.

3.4.2.4. Determinación de la composición de atmósfera interna

Este método de análisis de la textura ha sido descrito en detalle en el Capítulo 2 (*apartado 2.4.2.2.4*).

3.4.2.5. Color

El método de análisis del color instrumental ha sido descrito en detalle en el Capítulo 1 (*apartado 1.3.2.4*). El color fue medido en la superficie de 12 lonchas por bolsa, para cada tratamiento y día de análisis (n=36).

3.4.2.5. Textura

El análisis de textura ha sido descrito en detalle en el capítulo 1 (*apartado 1.3.2.5*), para ello se utilizó un texturómetro TA.XTPlus texture analyser (Stable Micro System) con una célula de carga 30 kg y se analizaron 12 discos de patata por bolsa (n=36).

3.4.3. Análisis estadístico

Se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento y los datos fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA) empleando el paquete estadístico SPSS 15.0 para Windows. En el caso de detectar diferencias significativas entre los tratamientos ($\alpha = 0,05$) se compararon mediante el test de Tukey.

3.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.5.1. Caracterización de las PMP

pH

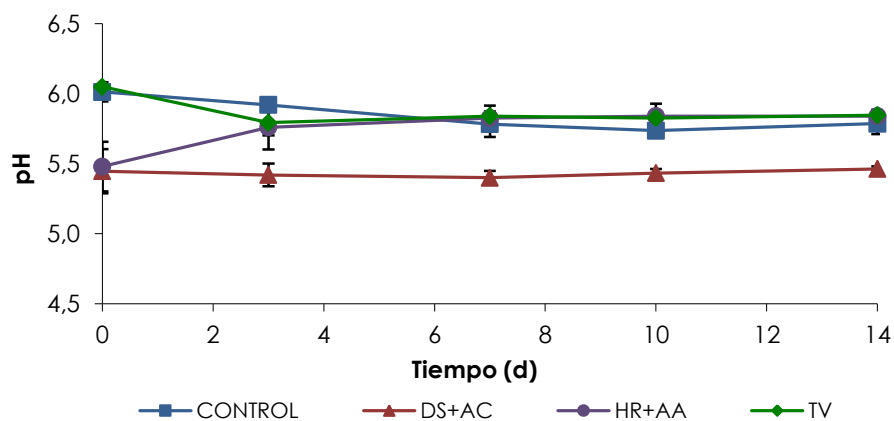


Figura 3.1. Evolución del pH de las PMP a lo largo de 14 días a 4 °C (IC95%, n=3).

En Figura 3.1 se puede ver la evolución del pH, en el día del procesado se observó una bajada significativa del pH de las muestras tratadas con HR+AA y DS+AC ($p < 0,05$), es decir, al ser sumergidas en soluciones ácidas (pH $3,22 \pm 0,15$ y $2,87 \pm 0,08$, respectivamente), lo cual ya había sido observado en Capítulo 1. Sin embargo, el pH de la solución de té verde es de $5,31 \pm 0,10$, por ello las muestras control y las tratadas con la solución de TV mostraron un pH cercano a 6, significativamente más altos que los tratados con soluciones ácidas ($p < 0,05$).

Tras 3 días en almacenamiento las muestras tratadas con HR+AA sufrieron un aumento significativo del pH del 5,5 inicial a un 5,8 ($p < 0,05$), comportamiento ya comentado en capítulos anteriores (capítulo 1 y 2). Sin embargo, el pH de las muestras tratadas con TV bajó significativamente de 6,05 a 5,79 ($p < 0,05$), lo que

coincide con el comportamiento que tienen las patatas Control, ya observado anteriormente. El pH de las patatas tratadas con DS+AC (pH~5,4) fue significativamente menor que el resto de tratamientos ($p < 0,05$), a lo largo de todo el almacenamiento. Finalmente, el pH de las muestras control, HR+AA y TV no mostraron diferencias significativas entre ellas y tampoco a lo largo del almacenamiento a partir del día 3 ($p > 0,05$).

Contenido de humedad

Al analizar el **contenido de humedad** (%) de las muestras para cada tratamiento (Tabla 3.2), indicar que no se encontraron diferencias significativas para ninguno de los tratamientos ($p > 0,05$) a lo largo del almacenamiento. El % humedad de las patatas estaba entre 85,46 y 88,68 %. Tampoco se observaron diferencias significativas entre los tratamientos hasta el día 10 ($p > 0,05$). El último día de análisis, el contenido de humedad de las muestras control fue significativamente más bajo (85,46 %) que las PMP tratadas con HR+AA, DS+AC y TV ($p < 0,05$).

En general, las PMP mantuvieron un contenido de humedad que corresponde con lo esperado. Los valores promedio para la materia prima el día del procesado (85,5 %) se situaron levemente por encima de los encontrados por Pardo et al. (2000) para el mismo cultivar (81,8 %).

Contenido sólidos solubles totales

Respecto al **contenido de sólidos solubles totales** (°Brix) (Tabla 3.2), en las lonchas control aumentó significativamente hasta un valor de 7 °Brix, a lo largo del almacenamiento ($p < 0,05$). Lo que indica un aumento en el contenido de azúcares de las patatas control y, concuerda con el comportamiento ya observado anteriormente (*apartado 1.4.1.2*), también en patatas control. Donde se indicó que podría deberse a la transformación del almidón en azúcares reductores ("endulzamiento"), al mantener las muestras en refrigeración de 4 °C.

En el día del procesado los tratamientos no mostraron diferencias significativas ($p>0,05$), con unos valores entre 5,5 y 5,9 °Brix, valores esperados para un producto con bajo contenido en azúcar como la patata.

Al comparar entre tratamientos, en general, se observó un contenido en SST significativamente más alto en las muestras control respecto a las lonchas tratadas (HR+AA, DS+AC y TV) ($p<0,05$). Analizando cada tratamiento individualmente a lo largo del tiempo, el contenido en SST, tanto HR+AA, DS+AC o TV, aumentó significativamente a partir del día 7 en almacenamiento ($p<0,05$).

Tabla 3.2. Análisis estadístico del contenido de humedad (% H) y de sólidos solubles totales (SST) de las PMP.

Día	Tratamiento	Contenido humedad (%)	SST (°Brix)
0	CONTROL	85,45±0,78 ^{aA*}	5,9±0,1 ^{aA}
	DS+AC	87,87±0,97 ^{aA}	5,5±0,1 ^{aA}
	HR+AA	88,05±1,25 ^{aA}	5,7±0,2 ^{aA}
	TV	86,67±0,66 ^{aA}	5,7±0,0 ^{aA}
3	CONTROL	86,86±0,52 ^{aA}	6,0±0,0 ^{bAB}
	DS+AC	86,84±1,64 ^{aA}	5,5±0,1 ^{aA}
	HR+AA	87,66±0,99 ^{aA}	5,9±0,1 ^{bAB}
	TV	85,90±1,68 ^{aA}	5,9±0,1 ^{bAB}
7	CONTROL	86,98±1,12 ^{aA}	6,4±0,1 ^{bC}
	DS+AC	88,68±2,10 ^{aA}	5,9±0,0 ^{aAB}
	HR+AA	86,23±0,95 ^{aA}	6,1±0,0 ^{abB}
	TV	87,73±1,24 ^{aA}	5,9±0,1 ^{aAB}
10	CONTROL	86,67±1,01 ^{aA}	6,3±0,0 ^{aBC}
	DS+AC	86,62±1,61 ^{aA}	6,0±0,0 ^{aB}
	HR+AA	87,43±0,13 ^{aA}	6,1±0,0 ^{aB}
	TV	87,21±1,05 ^{aA}	6,1±0,1 ^{aB}
14	CONTROL	85,46±0,08 ^{aA}	7,0±0,1 ^{bD}
	DS+AC	87,68±0,02 ^{bA}	5,9±0,0 ^{aB}
	HR+AA	87,18±0,04 ^{abA}	6,2±0,0 ^{aB}
	TV	87,59±0,04 ^{abA}	6,2±0,0 ^{aB}

^{a-b} letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos para un mismo día de análisis. ^{A-B} indican diferencias significativas entre los días para un mismo tratamiento. *Media ±ds (n=3).

En general, las lonchas de PMP tratadas también mostraron una tendencia a aumentar su contenido de SST, observado en las muestra control, solo que tardan más tiempo en ser evidente, a partir de una semana en almacenamiento a 4 °C. Por lo que, parece que los tratamientos antipardecantes modifican en cierto grado el fenómeno de endulzamiento observado.

3.5.2. Composición de la atmósfera interna de las bolsas

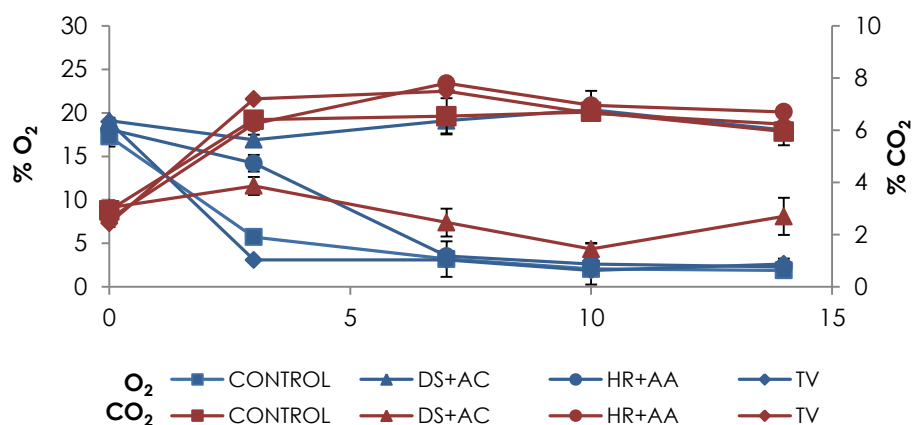


Figura 3.2. Evolución de la composición atmosférica interna de las bolsas a lo largo del almacenamiento de 14 días a 4 °C de las PMP. Las **líneas azules** representan la evolución del % O₂ y las **líneas rojas** representan la evolución del % CO₂ (IC95 %, n=3).

En cuanto a la evolución de la atmósfera interna de las bolsas (Figura 3.2), lo primero que destaca es el comportamiento de las patatas tratadas con DS+AC, que es significativamente diferente al resto de tratamientos incluido el control ($p < 0,05$). Estas bolsas mantienen una alta concentración de O₂ y una baja concentración de CO₂ a partir del día 3 y hasta el final del almacenamiento. Esto indica que las patatas tratadas con DS+AC tienen una respiración muy limitada, resultados que ya comentaron Petri et al. (2008), cuyo estudio evidenció que la

aplicación de DS, combinado con ácidos orgánicos como AA o AC, disminuía la tasa de respiración de PMP (cv. *Monalisa*). Esto demuestra que su acción sobre el metabolismo de las patatas es fuerte, afectándolas a nivel fisiológico.

El resto de tratamientos incluidos las patatas control, muestran una atmósfera interna más acorde con lo esperado en un producto mínimamente procesado, el cual ha sufrido un pelado y cortado, es decir, estrés. Las patatas control, y las tratadas con HR+AA y TV, mostraron una disminución en el % O₂, desde un 17-18 % O₂ inicial a un 2-3 % O₂ al final del almacenamiento. El tercer día de almacenamiento, fue el único en el que se detectaron diferencias significativas en la concentración de O₂ de los tratamientos incluido el control ($p < 0,05$) (TV < Control < HR+AA < SD+AC) y, en cuanto a la concentración de CO₂, se puede ordenar de menos a más concentrado: SD+AC < HR+AA = Control < TV. Los resultados en TV podrían indicar que, en los tres primeros días de almacenamiento, sufrió mayor estrés que el resto de los tratamientos PMP. Fonseca et al. (2002) indicaron que la actividad respiratoria de las patatas cortadas laminadas puede llegar a aumentar hasta 5 veces en comparación con patatas enteras, lo cual afectaría a la vida útil potencial de este producto.

3.5.3. Color

Respecto a los valores de **luminosidad (L*)** (Figura 3.3 a), inicialmente, para la patata control fueron levemente superiores a los recogidos por Pardo et al. (2000) para el cv. *Monalisa* (L* = 67,1 vs 65,9). A día cero, no se hubo diferencias significativas entre los tratamientos y las muestras control ($p > 0,05$). A partir del día 3, las patatas control mostraron una luminosidad significativamente más baja que las patatas tratadas con solución antipardeante, incluido el TV, ($p < 0,05$) y se mantuvieron así a lo largo del tiempo ($p > 0,05$).

Las PMP tratadas con DS+AC, HR+AA o TV no mostraron diferencias significativas entre ellas durante los 7 primeros días de almacén (L* 65-66). A día 10, los valores de L* en las lonchas tratadas con DS+AC fueron significativamente más altos

respecto al control (67,0 y 61,3, respectivamente). Al final del almacenamiento la luminosidad de las lonchas tratadas con HR+AA y DS+AC fue significativamente mayor ($p<0,05$) que con TV y, todos ellos muestran valores de L^* significativamente mayores que las patatas control ($p<0,05$), con valores de L^* 67,1, 67,2, 65,3 y 60,7, respectivamente.

El extracto de té verde mostró valores de luminosidad al mismo nivel que las otras soluciones antipardeantes (HR+AA o SD+AC).

En cuanto a la **coordenada a^*** (Figura 3.3 b), la materia prima inicialmente (control a día cero) presentó un valor de a^* de -0,69, más alto que el indicado por Pardo et al. (2000), que trabajando con el mismo cultivar, obtuvieron valores de a^* -2,9.

Cabe destacar dos efectos iniciales en cuanto a la aplicación inicial de los tratamiento, por un lado, DS+AC disminuye el valor de a^* (-0,95) significativamente respecto al resto de tratamientos ($p<0,05$). Por otro lado, la aplicación de TV en las lonchas de patatas aumentó el valor de a^* (+0,05) significativamente respecto al resto de tratamientos ($p<0,05$). Esto pudo ser debido a que el extracto de té verde, que tiene un color amarillo-marronaceo, puede estar aportando cierta coloración a las patatas. A lo largo del tiempo se mantuvo el comportamiento de estos dos tratamientos, en dos tendencias diferenciadas. Respecto a la evolución a lo largo del tiempo, las muestras tratadas con DS+AC mantuvieron sus valores por debajo de cero durante todo el almacenamiento, hasta el día 10, donde sufrió un incremento ($p<0,05$). Las lonchas tratadas con TV mostraron los valores más altos de a^* ($p<0,05$), lo que podría esperarse, ya que partían desde un valor inicial más alto. Las muestras control tuvieron un gran incremento ($p<0,05$) entre el día 0 y el 3, sin mostrar variación hasta el final. En las muestras tratadas con HR+AA los valores de a^* fueron incrementándose ($p<0,05$) durante los 10 primeros días. A día 14, se detectaron diferencias significativas entre todos los tratamientos incluido el control (SD+AC<Control<HR+AA<TV).

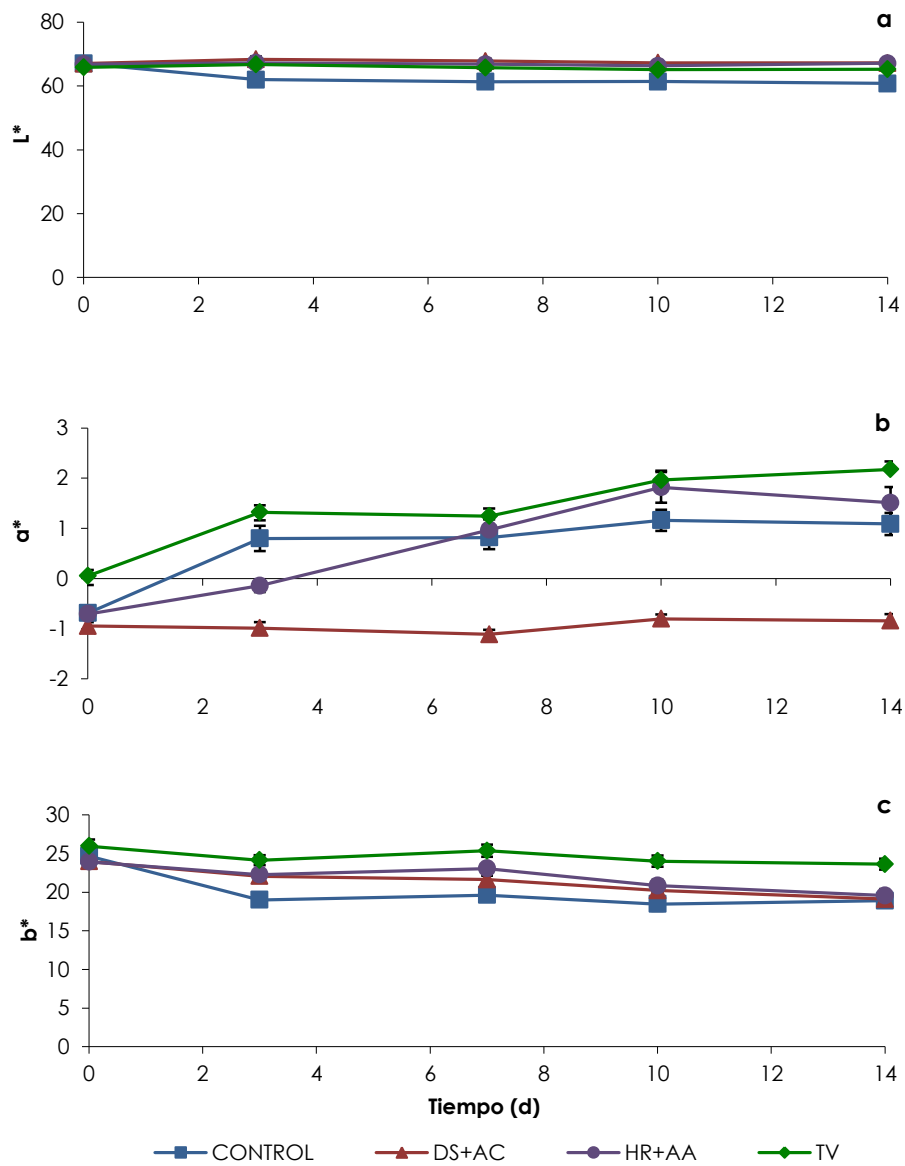


Figura 3.3. Evolución de la L* (luminosidad) (a), la coordenada a* (b) y la coordenada b* (c) de las PMP almacenadas durante 14 días a 4 °C (IC95%, n=36).

En cuanto a la **coordenada b***, la materia prima empleada presentó, el día del procesado, valores entre 23,92 y 25,96, bastante próximos a los publicados por Pardo et al. (2000). En la Figura 3.3 (c) destaca el efecto que produce la aplicación de TV en las PMP, con valores de b* significativamente más altos que el resto de tratamientos ($p < 0,05$) hasta el final del almacenamiento (25,96 respecto a 19-20 de los otros tratamientos). Lo que reforzaría la teoría de que el extracto aportó un cierto color a las patatas.

En general, los valores de b* presentan una tendencia a disminuir a lo largo del almacenamiento, es decir, pierden cierta tonalidad amarilla. Pero, se observan tres comportamientos diferenciados, la ya comentada que se produce por la inmersión de las lonchas en té verde; la que se observa en las patatas tratadas con HR+AA y SD+AC con unos valores intermedios de b*, que puede deberse a los ácidos orgánicos y, por último, el de las muestras control que debido al proceso de pardeamiento que sufren su coloración amarilla disminuye imponiéndose las coloraciones pardas o grisáceas (ver fotos, Figura 3.5).

Respecto a los resultados de color para TV y HR+AA, habría que indicar que, para el caso del TV, los valores altos de a* se pueden explicar por el color que le aporta el extracto durante la inmersión de las lonchas, lo que se mantiene y combina con la tendencia las coloraciones rojizas que sufren de por sí las patatas a lo largo del almacenamiento. Pero, al contrario que con las muestras control, las lonchas tratadas con TV mantenían un valor de L* alto, lo que indicaría que no se está produciendo un pardeamiento, a menos de forma evidente. En cuanto a las patatas tratadas con HR+AA y como ya se indicó en los Capítulos 1 y 2, el propio tratamiento produce un aumento en los valores de a*, pero como en el caso del TV, al mostrar valores altos de L*, no se puede establecer que haya realmente pardeamiento, lo que fue evidente visualmente en los capítulos anteriores. Por último, comentar que los valores bajos de a* y altos de L* en patatas DS+AC, estarían indicando una tendencia al blanqueamiento de la superficie, también comentado en Capítulos 1 y 2.

En base a estos resultados, la calidad visual de las lonchas de PMP tratadas con la solución de té verde, se comporta al mismo nivel que las otras soluciones, HR+AA o SD+AC, cuyas capacidades antipardeantes ya han sido demostradas (Capítulo 1).

3.5.4. Textura

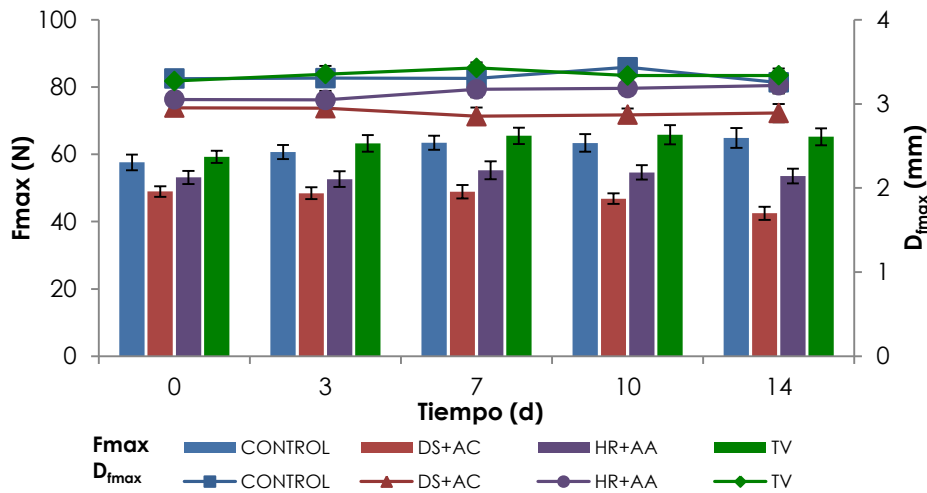


Figura 3.4. Evolución de la textura en las PMP almacenadas durante 14 días a 4 °C. Las barras representan los valores de Fuerza máxima de corte (Fmax, N) y las líneas representan los valores de la distancia recorrida hasta el punto de Fmax (Dfmax, mm) (IC95%, n=36).

Respecto a la **fuerza máxima de corte** (Fmax, N) (Figura 3.4, barras), se observan tres grupos estadísticamente diferenciados ($p < 0,05$) que están compuestos, de mayor fuerza a menor, por Control = TV > HR+AA > DS+AC. A día 0 los valores fueron de 57,3, 59,2, 53,1 y 49,0 N, respectivamente. Los grupos se mantienen a lo largo del tiempo, acentuándose las diferencias.

En las muestras control y las tratadas con TV aumentó la dureza significativamente entre los días 0 y 3 ($p < 0,05$), manteniéndose después a lo largo del tiempo. Las patatas tratadas con DS+AC no mostraron diferencias significativas en la dureza hasta el día 14, en el que sufre un descenso significativo ($p < 0,05$). Lo que puede estar relacionado con las exudaciones detectadas en ese día y ya observadas en el Capítulo 1 (*apartado 1.4.2.3*). Y las lonchas tratadas con HR+AA no mostraron ninguna diferencia significativa en su dureza a lo largo todo el almacenamiento ($p > 0,05$).

En cuanto a la **deformación (D_{fmax})** sufrida por el corte de cizallado (Figura 3.4, líneas), en los tres primeros días de almacenamiento se observaron dos grupos diferenciados estadísticamente, control y TV $>$ HR+AA y DS+AC ($p < 0,05$). Tras 7 y 10 días de almacén se diferenciaron en tres grupos TV $>$ HR+AA $>$ DS+AC hasta el final del almacenamiento ($p < 0,05$), donde la distancia recorrida para alcanzar la fuerza máxima de corte fue significativamente más baja con DS+AC que con el resto de tratamientos ($p < 0,05$), lo que significa que las patatas en este caso eran blandas y además se partían con facilidad. Las patatas control y las tratadas con TV se muestran como unas patatas flexibles pero firmes. Ninguno de los tratamientos mostró cambios significativos en la D_{fmax} a lo largo del tiempo ($p > 0,05$).

3.5.5. Apariencia de las PMP

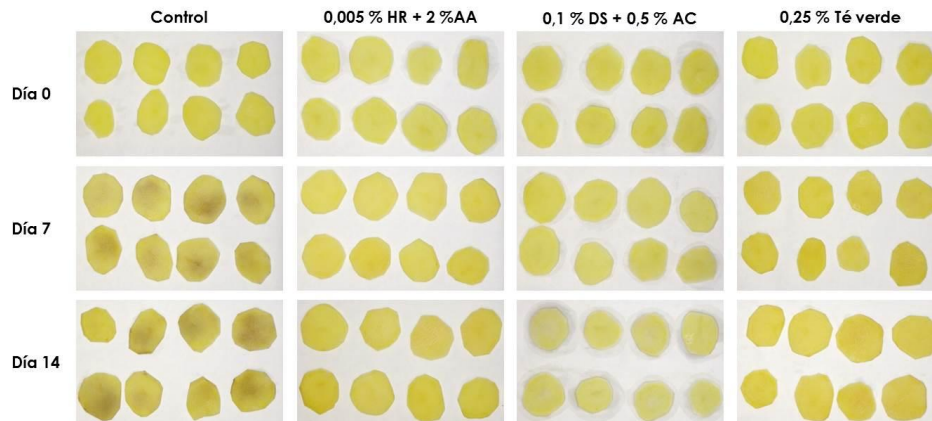


Figura 3.5. Apariencia de las lonchas de patata control y las tratadas con HR+AA, DS+AC o TV en los días de análisis 0, 7 y 14.

En Figura 3.5 se presenta el aspecto que tenían las muestras en los días 0, 7 y 14. A día cero no se observaron diferencias entre las lonchas control y las tratadas a nivel visual, comportamiento que se mantuvo hasta el día 3 (no mostrado).

Tras 7 días almacenadas a 4 °C, las patatas control muestran signos evidentes de pardeamiento enzimático, lo que ya las hace inaceptables (Figura 3.5). El resto de tratamientos presentaban una apariencia aceptable, en el caso de HR+AA se detectó una ligera sequedad superficial y en las lonchas tratadas con DS+AC se detectó un ligero aumento de humedad en las muestras. En las muestras con TV se detectó cierta diferencia en la intensidad del color de las patatas, pero en ningún caso pardeamiento.

A día 10, en las muestras tratadas con DS+AC se detectó cierta exudación (~0,9 ml) y un cierto olor extraño en las bolsas. Esto último puede que sea debido al uso de los ácidos orgánicos, porque también fue detectado en las bolsas de HR+AA. En las bolsas con lonchas tratadas con TV se intuía solo el olor a té verde.

Al final del almacenamiento las muestras control eran inaceptables, pero mantenían una textura firme. En las patatas tratadas con HR+AA se observó una coloración más marcada, ya comentada instrumentalmente, pero no se observó pardeamiento, su superficie estaba ligeramente seca, un ligero olor en la bolsa y la textura firme. Las patatas tratadas con DS+AC se mostraron pálidas, ligeramente blandas y flexibles, lo que puede deberse a la exudación que sufrieron (~6,3 ml) y olor marcado en el interior de la bolsa. Las patatas tratadas con TV presentaban una apariencia aceptable, sin olores extraños y textura firme.

3.6. CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO

La solución de TV (0,25 g/100 ml solución) aplicada en lonchas de patatas (cv. *Monalisa*) mínimamente procesadas consiguió controlar el pardeamiento enzimático de la patata durante 14 días a 4 °C al nivel de la solución de referencia 0,1 % DS+0,5 % AC y de la alternativa seleccionada 0,005 % HR+2 % AA.

Estos resultados llevan a pensar que hay campo a investigar, basado en extractos naturales de especias y tés, los cuales pueden contener un alto poder antioxidante o poseer en su composición inhibidores de la reacción de la enzima PPO, pudiéndose descubrir soluciones naturales con capacidad antipardeante en patata.

CAPÍTULO 4. Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods

Publicado on-line:

GLORIA BOBO-GARCÍA, GABRIEL DAVIDOV-PARDO, CRISTINA ARROQUI, PALOMA VÍRSEDA, MARÍA R. MARÍN-ARROYO Y MONTSERRAT NAVARRO (2014). Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.

Factor de impacto 2012: 1,759

Factor de impacto los últimos cinco años: 1,770

Este artículo ha sido eliminado por restricciones de derechos de autor

CAPÍTULO 5. Caracterización inicial y selección en base a su capacidad de inhibir la enzima polifenol oxidasa de extractos de diferentes especias

CAPÍTULO 5 . Caracterización inicial y selección en base a su capacidad de inhibir la enzima polifenol oxidasa de extractos de diferentes especias

5.1. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

Parkin (2008) estableció que “los inhibidores similares a los sustratos nativos pueden ocupar competitivamente el sitio de unión de fenoles” como, por ejemplo, el ácido cinámico, ácido p-cumarico, ácido ferúlico y ácido benzoico. Walker (1975) y posteriormente Zawistowski (1999) dijeron que el ácido benzoico y algunos ácidos fenólicos son los inhibidores competitivos más encontrados en la bibliografía para la PPO en cerezas, manzanas, peras, melocotones y patatas, siendo el ácido cinámico el compuesto con mayor poder de inhibición seguido del ácido p-cumarico y el ferúlico. Natella et al. (1999) y Kweon et al. (2001) explicaron que los ácidos fenólicos son compuestos antioxidantes que actúan como captadores de radicales libres. Y Chang (2009) indicó como posibles inhibidores fenólicos los flavonoles, de los cuales el de mayor poder de inhibición sería la quercetina, seguido por la miricetina y el kaempferol. Aunque indicaron que son inhibidores débiles, así como que los flavonoles glicosidados son aún más débiles que sus correspondientes agliconas.

Esta información y los resultados esperanzadores del capítulo 3 (solución de té verde como antipardeante), llevan a plantearse estudiar extractos o soluciones de especias (diferentes partes de plantas) como fuentes de polifenoles, y también como compuestos altamente antioxidantes, entre los que se podrían encontrarse algunos “protectores” del pardeamiento enzimático. Si la composición fenólica que posee tiene una capacidad de inhibición más poderosa que su aportación de sustratos a la reacción de la enzima PPO. Por ejemplo, Theerakulkait y Boonsiripiphat (2007) y Boonsiripiphat y Theerakulkait

(2009) estudiaron el potencial de extractos de salvado de arroz como inhibidores de la PPO, debido a que entre otros compuestos antioxidantes, uno de los ácidos fenólicos mayoritarios en su composición era el ácido ferulico, entre otros compuestos fitoquímicos.

Sin embargo, es importante tener en cuenta que en la composición de las especias también se pueden encontrarse otros compuestos no fenólicos que podrían actuar como inhibidores.

Existen tantos factores que influyen en la actividad de la enzima PPO, que en base a la información que existe en bibliografía sobre, por ejemplo, los perfiles fenólicos y la capacidad antioxidante de cada especia así como la cantidad de fenoles, diferente según el método de extracción, el origen de la enzima y sus condiciones de reacción, que es muy difícil establecer un criterio para la selección de las especias. Por ello, las especias se eligieron en función de su uso en cocina e industria y a referencias bibliográficas, como por ejemplo, con el té verde, como ya se explicó en Capítulo 3, y el salvado de trigo que se seleccionó por los resultados encontrados sobre el salvado de arroz y porque el trigo es uno de los cultivos más importante por encima del arroz.

Respecto a la medición de la capacidad de los extractos para inhibir la reacción de oxidación de PPO, inicialmente para establecer su eficacia se sumergían las frutas y hortalizas para evaluar el efecto. Sin embargo, en los últimos años han aumentado los trabajos en los que además se completan con el estudio de la actividad de la enzima expuesta a la acción de estos compuestos (*in vitro*).

En cuanto a los métodos de medición de la actividad de la PPO, Yoruk y Marshall (2003) enumeraron las distintas técnicas que existían. Por ejemplo, actividad de PPO respecto a sustratos monofenólicos puede determinarse espectrofotométricamente a 400-500 nm midiendo la velocidad de formación de la o-quinona correspondiente. Otro sería el método continuo espectrofotométrico utilizando 3-metil-2-benzotiazolinona hidrazona (MBTH)

como el agente nucleofílico con o-quinonas, el ensayo mostró actividad de PPO monofenolasa y difenolasa. Sin embargo, algunos aductos MBTH-quinona mostraron problemas de solubilidad bajo ciertas condiciones de ensayo. La medición de la actividad de la PPO se ha usado con muy distintos objetivos. Por ejemplo, Cabezas-Serrano et al. (2009) y Cantos et al. (2002) usaron este método para correlacionar diversos parámetros (contenido fenólico, ácido ascórbico, actividad antioxidante o contenido en azúcares) y enzimas (PPO, PAL y POD) en el proceso de pardeamiento de las patatas para establecer que parámetros (bioquímicos o fisiológicos) son los más influyentes o se encuentran correlacionados en el desarrollo del pardeamiento enzimático de las patatas mínimamente procesadas (Cantos et al. 2002). O para determinar la susceptibilidad de los diferentes cultivares al pardeamiento y poder seleccionar los cultivares idóneos para destinar a mínimamente procesados (Cabezas-Serrano et al. 2009).

En patata, se han realizado estudios de la actividad enzimática respecto a la aplicación de tratamientos antipardeantes y/o tratamientos físicos para determinar sus mecanismos de inhibición y para seleccionar los tratamientos más eficaces. Por ejemplo, Ma et al. (2010) tenían como objetivo re-evaluar tratamientos antipardeantes (ácidos cítrico y ascórbico) frente a una variedad de patata altamente susceptible al pardeamiento (cv. *Pacific Russet*) y, por otro lado, minimizar la concentración de sulfitos combinados o no con atmósferas modificadas (3 % O₂+12 % CO₂). Determinaron que las atmósferas controladas sólo retardaban ligeramente la pérdida de calidad de patatas. Que el ácido clorogénico era el ácido fenólico más importante en la reacción y que su concentración aumentaba considerablemente tras el cortado de la patata. No detectaron ninguna relación temporal entre la aparición del pardeamiento tras cortar la patata y los cambios en las enzimas fenólicas o en las concentraciones de los ácidos fenólicos.

En los trabajos de Lee et al. (2002) (en patata) y Kim, Mi-Jeong et al. (2005) (en pera) se estudiaron el posible efecto inhibidor de extractos de cebolla (con un tratamiento térmico o sin él) sobre la PPO y el pardeamiento de patata o de pera. Jang, M. S. et al. (2002) estudiaron la actividad de la PPO del champiñón en presencia de diferentes extractos del champiñón japonés "Enokitake" (extraído en etanol, acetona y agua caliente) y, su posible uso en la prevención del pardeamiento en zumo de manzana. Hsu et al. (2007) utilizaron diferentes extractos de *Lavendula sp.* para evaluar las propiedades de inhibición en función de la actividad de la enzima tirosinasa del champiñón (EC 1.14.18.1) de tres tipos de sustrato (L-DOLPA, catecol, ácido 3,4-dihidroxifenilacético).

Existen diversos trabajos sobre el extracto de salvado de arroz en patata, manzana y plátano donde se estudió el efecto inhibidor de este extracto sobre la PPO y tras su aplicación en purés o lonchas de patata o plátano o manzana y, en sus últimas investigaciones realizan comparativas con antipardeantes químicos estudiados tradicionalmente para evaluar su poder inhibidor en patata (Theerakulkait y Boonsiripiphat 2007, Sukhonthara y Theerakulkait 2011, 2012, Kubglomsong y Theerakulkait 2013).

En cuanto a las condiciones establecidas en este estudio, los resultados de unos ensayos preliminares realizados, mostraron que una sola condición de extracción (T° -t) para todas las especias y su aplicación en PMP a unas diluciones fijas, no permitía valorar adecuadamente el efecto antipardeante para cada una de ellas. Por lo tanto, se seleccionaron unas condiciones generales de extracción para este estudio inicial, una temperatura de infusión (90 °C-10 min) basado en Martín-Diana et al. (2008) y otra más suave (55 °C-15 min) basado en Essa et al. (2004). Estos últimos autores, además, se obtuvo la idea para el cambio en la forma de usar la extracción, ya que preparaban un extracto concentrado de la especia (extracto madre) a partir de la cual se diluye a la concentración elegida para obtener la solución final. Y por último, una extracción a temperatura ambiente y largo tiempo (25 °C-30min), solo para los casos excepcionales en los

que se presentaron problemas en la extracción a mayores temperaturas (Boonsiriphat y Theerakulkait 2009).

5.2. OBJETIVO

Realizar una caracterización inicial de las especias elegidas extraídas en agua, en diferentes condiciones y aplicadas a diferentes concentraciones, para seleccionar las más eficaces para inhibir la PPO.

5.3. MATERIAL Y MÉTODOS

5.3.1. Especias

Los extractos se prepararon a partir de diferentes hierbas y especias, en diferentes formatos. Se utilizaron las pimientas, el clavo, el jengibre y la nuez moscada (Ducros, Sabadell) en formato polvo. En el caso de especias que son hojas el formato comercial fue deshidratado como el té verde, tomillo (Soria natural, Soria), romero, mejorana, orégano, menta (Ducros, Sabadell) y salvia (Flor del Pirineo, Manresa). El salvado de trigo (Int-salim, Barcelona) cuyo formato era en hojuelas. El ajo estaba picado y deshidratado (Ducros, Sabadell).



Figura 5.1. Especias seleccionadas para este estudio.

5.3.2. Extracción en agua de las especias

La extracción se realizó en agua y debido a que pertenecen a diferentes partes de la planta como son hojas (té verde, tomillo, salvia, orégano, romero, menta y mejorana), yema (clavo), bulbo (ajo), frutos (nuez moscada, y pimientas), rizoma (jengibre) o capas externas del cereal (salvado) hubo ligeras variaciones en la extracción de alguno de ellos.

Se prepararon por triplicado los extractos en agua de las 14 especias y se extrajeron en dos condiciones: 55 °C - 15 minutos o 90 °C - 10min. En tres casos (salvado, jengibre y pimienta blanca) la aplicación de una temperatura de 90 °C provocaba problemas limitando la extracción. Se optó por un tratamiento alternativo a baja temperatura y largo tiempo (25 °C-30 min). La proporción especia/agua usada fue de 10 g en 60 ml de agua destilada.

Tras el tratamiento térmico la mezcla fue filtrada con gasa de quesería para separar la parte sólida del extracto. Después se filtró la parte líquida (papel de filtro, Whatman nº 1) mediante vacío. En el caso del té verde, orégano, menta, jengibre, nuez moscada y pimienta blanca y negra, una vez se enfriaron los extractos a 4 °C se observaban precipitados que podrían dificultar las medidas. Por ello se centrifugaron (3K30, Sigma) a 8000 xg durante 10 minutos a 4 °C.

Con pimienta negra, nuez moscada y clavo al ser extraídos a 90 °C-10 min, posteriormente no se podía filtrar con la tela de quesería, por lo que se centrifugó la mezcla de especia y agua para después filtrar con papel de filtro (Whatman nº 1) mediante vacío. En el caso del salvado, el jengibre y pimienta negra tratadas a altas temperaturas se obtenía un "puré" que no se separaba correctamente ni centrifugando. Para estas tres especias se aplicó un tratamiento 25 °C – 30 minutos (Sukhonthara y Theerakulkait 2012) y se siguió el procedimiento anteriormente descrito.

Todos los extractos se guardaron a 4 °C con un barrido de N₂ para reducir la evolución de los compuestos del extracto. Siempre se prepararon el día anterior

a ser analizados, simulando el proceso que se llevaría a cabo en esta tesis, para su aplicación en patata mínimamente procesada.

5.3.3. Métodos de análisis

5.3.3.1. Contenido total de fenoles

Se aplicó el método de determinación de fenoles totales mediante Folin-Ciocalteu para microplacas descrito en el Capítulo 4 (*apartado 4.4.3*).

5.3.3.2. Actividad antioxidante

Se aplicó el método de determinación de la actividad antioxidante mediante el análisis del radical libre comercial DPPH (2,2-difenil picrilhidrazil) para microplacas descrito en el Capítulo 4 (*apartado 4.4.4*).

5.3.3.3. pH

Se analizó el pH de los extractos según el método indicado en Capítulo 1 (*apartado 1.3.2.1*). Tomando 40 ml de cada extracto y se realizaban tres medidas del pH cuya media era el valor de la repetición del extracto (n=3 por especie y condición de extracción).

5.3.3.4. Determinación de la capacidad de inhibición de la PPOp

Prácticamente en la totalidad de trabajos consultados se realizaba el estudio espectrofotométrico de la actividad de la enzima en cubeta. Con pocas excepciones como es el caso de la investigación de Jang, J. H. y Moon (2011), el cual utilizó un lector multiplacas para el estudio de la actividad de la polifenol oxidasa en manzana mínimamente procesada tratada con ultrasonidos y ácido ascórbico. También se encontraron una serie de trabajos en los que se utilizaba lector multiplacas para la determinación de la capacidad de inhibición de diferentes tipos de extractos procedentes de plantas de Turquía o Japón (Kittisak y Boonchoo 2001, Masuda et al. 2005, Senol et al. 2010, Orhan et al. 2012). Sin

embargo en estos casos se utilizaba L-DOPA o L-tirosina como sustratos de la reacción. En los artículos revisados, el sustrato normalmente utilizado en el caso del estudio de la actividad de la patata fue catecol (1,2-dihidroxibenzeno) a una concentración entre 0,5 a 2 M, el cual se oxida a o-benzoquinona. La absorbancia más usada es 420 nm, y el pH de la reacción varía entre 6,2 y 7 a una temperatura de incubación de entre 25 y 30 °C (Duangmal y Owusu Apenten 1999, Lee et al. 2002, Yemenicioğlu 2002, Nourian et al. 2003, Pineli et al. 2006, Hsu et al. 2007, Theerakulkait y Boonsiriphat 2007, Martín-Diana et al. 2008, Boonsiriphat y Theerakulkait 2009, Lante y Zocca 2010, Sukhonthara y Theerakulkait 2012, Kubglomsong y Theerakulkait 2013).

Tomando como base esta información y al artículo Masuda et al. (2005) se puso a punto un método para medir la capacidad de los extractos para inhibir la PPO, que se basa en comparar la efectividad de los compuestos respecto a una reacción sin presencia de inhibidor y se utilizó el espectrofotómetro con lector multiplacas Scientific Multiskan Go (ThermoFisher Scientific Inc.).

Para llevar a cabo este ensayo se realizaban tres pasos: la obtención del extracto crudo de PPO de patata cv. *Monalisa*; la caracterización, midiendo su actividad, como control de la extracción de la PPOp; y por último la medición de la capacidad de los extractos de especias para inhibir la PPOp.

5.3.3.4.1. Obtención del extracto crudo de PPO de patata

El método empleado se basó en lo descrito en diversos trabajos realizando ciertas modificaciones (Cho y Ahn 1999, Soliva-Fortuny et al. 2001, Oms-Oliu et al. 2006, Rojas-Graü et al. 2008).

Se homogenizaron 25 g de patata con 50 ml de buffer McIlvaine a pH 6,5 con NaCl 1 M (Panreac, Barcelona, España) y 5 % PVPP (Fluka, Steinheim, Alemania) con una batidora a máxima velocidad durante 2 min en frío (4 °C). La mezcla se filtró mediante vacío con papel de filtro (Whatman n° 1, Buckinghamshire, Reino Unido) a 4 °C. El filtrado se centrifugó (Sigma 3K30) a 25500 xg durante 20 min a 4

°C. El sobrenadante fue guardado con un barrido con N₂ y congelado a -78 ± 2 °C hasta su uso, ya que era lo que se denominó como extracto crudo de la enzima (PPOp).

5.3.3.4.2. Determinación de la actividad de la PPOp

El método empleado se basó en lo descrito por Soliva-Fortuny et al. (2001) y Rojas-Graü et al. (2008) para medir la actividad de la PPO en cubeta.

En cubeta de 1 cm (Sarstedt, Nümbrecht, Alemania) se añadieron 3 ml de catecol 50 mM junto con 0,075 ml de extracto crudo de enzima PPOp. En un espectrofotómetro Scientific Multiskan Go (ThermoFisher Scientific Inc.) se midieron a 400 nm los cambios por la reacción a 25 °C cada 5 s durante 2 min. Como blanco de la reacción se utilizó buffer McIlvaine (pH 6,5). Una unidad de actividad de PPOp fue definida como el cambio de la absorbancia en 0,001 por minuto y mililitro inmediatamente después de la adición del extracto de enzima. El ratio de la reacción inicial se estima a partir de la zona lineal de la curva.

5.3.3.4.3. Determinación de la capacidad de los extractos para inhibir la PPOp

Se optó por un método que se basa en la comparación de las capacidades de inhibición (%), mediante mediciones espectrofotométricas con lector multiplacas, donde se evaluaba el desarrollo de la reacción en presencia y ausencia de un posible inhibidor. Utilizar un método en microplacas permitió realizar una gran cantidad de mediciones, lo que significaba mayor número de comparaciones en un mismo ensayo además de poder realizar más repeticiones a un menor costo.

El desarrollo de éste método se realizó en base a lo descrito por Masuda et al. (2005) pero con ciertas modificaciones. Por un lado, algunas condiciones se establecieron en función de lo encontrado en bibliografía y a ensayos preliminares, como el uso de catecol como sustrato y que la reacción se llevara a cabo a pH 6,5 (Traverso-Rueda y Singleton 1973, Nourian et al. 2003,

Theerakulkait y Boonsiriphat 2007, Boonsiriphat y Theerakulkait 2009) o el uso de PPOp diluida (1:9, v/v) en buffer McIlvaine para una medición adecuada en los pocillos.

En una microplaca (96-pocillos F/bottom; NUNC, Roskilde, Dinamarca), los reactivos y sus cantidades correspondientes, para cada pocillo, se describen en Tabla 5.1 y su distribución en la microplaca se puede ver en la Figura 5.2.

Tabla 5.1. Reactivos y cantidades (µl) para la reacción de la PPOp en una microplaca.

Descripción	B. McIlvaine	Inhibidor	Enzima	Catecol
A	120	0	40	40
B	160	0	0	40
C	80	40	40	40
D	120	40	0	40
Blanco	200	0	0	0

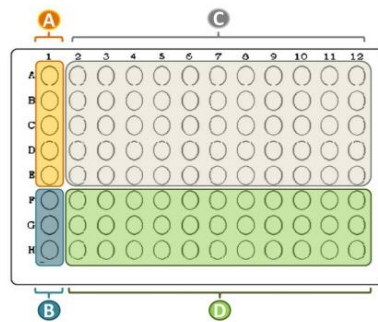


Figura 5.2. Distribución de los componentes para el análisis de la capacidad de los extractos para inhibir la PPOp, en microplaca de 96 pocillos.

Para comenzar con la reacción, primero se añadían el buffer McIlvaine (pH 6,5), el inhibidor y el extracto de enzima diluida (1:9, v/v). Se introducía la microplaca en el espectrofotómetro y se agitaba durante 5 min (velocidad media y continua) e incubaba otros 5 min a 25 °C. Luego se añadía catecol 200 mM (Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Alemania) y se agitaba e incubaba otra vez durante 5 min cada una a 25 °C.

Las medidas se realizaron a 420 nm y 25 °C en un espectrofotómetro multiplacas Scientific Multiskan Go (ThermoFisher Scientific Inc.). A la absorbancia obtenida se le resta la absorbancia del blanco y para determinar la capacidad de los extractos para inhibir la PPOp (% IPPOp) se realiza el cálculo en la Ecuación 9.

$$\% \text{ Inhibición de PPOp} = \left[\left(\frac{(A-B)-(C-D)}{(A-B)} \right) \times 100 \right] \quad (9)$$

Donde A corresponde a la absorbancia obtenida por la reacción de PPOp sin la presencia de un inhibidor; B es el blanco de las medidas de A; C corresponde a la absorbancia obtenida por la reacción de PPOp en presencia del inhibidor a estudiar; y D es el blanco de las medidas de C.

En este capítulo se evaluaron los extractos de las especias elegidas a diferentes concentraciones, establecidas en base al contenido total de fenoles, para comparar su capacidad de inhibición a un rango similar de cantidad de fenoles. Los rangos establecidos en este estudio fueron: <5, 8 a 16, 20 a 27 y 40 a 70 mg EAG/ml extracto. La actividad inicial del PPOp fue de $5662,0 \pm 57,8$ UA/min ml.

5.3.3.5. Análisis estadístico

Se realizaron tres extracciones por especia y condiciones de extracción y los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) empleando el paquete estadístico IBM SPSS Statistics 21 para Windows. En el caso de detectar diferencias significativas entre los tratamientos ($\alpha= 0,05$) se compararon mediante el test de Tukey.

5.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.4.1. Contenido total de fenoles y actividad antioxidante de los extractos de especias

El **contenido total de fenoles (CTF)** de las 14 especias muestra gran variedad de valores (Figura 5.3 a). El CTF para los extractos obtenidos a **55 °C-15 min**, fue desde el máximo contenido de 788,6±42,99 mg EAG/ml del extracto del clavo a el valor mínimo de 4 ± 0,6 mg EAG/ml extracto de la pimienta blanca. Entre las especias con un contenido medio-alto es encontraron mejorana, orégano, té verde y menta que va desde 355,9±4,8 hasta 178,3±2,0 mg EAG/ml extracto. Los valores medios de CTF estarían entre 100 y 25 mg EAG/ml extracto donde se encontraron salvia, romero, tomillo, pimienta negra y jengibre. Y las especias con contenidos bajos (< de 25 mg EAG/ml extracto) fueron nuez moscada, ajo, salvado de trigo y pimienta blanca.

En las condiciones de extracción de **90 °C-10 min** el máximo extraído fue de 457,2±59,8 mg EAG/ml del extracto de clavo a 11,7±0,5 mg EAG/ml del extracto de nuez moscada. Con valores altos-medios estaban mejorana, orégano, menta, té verde, salvia y romero cuyo contenido estaba entre 376,6±14,8 y 130,5±16,8 mg EAG/ml extracto. Y las especias con un CTF < 100 mg EAG/ml extracto fueron tomillo, pimienta negra, ajo y nuez moscada.

En el caso de la extracción a **25 °C-30 min**, utilizada sólo para las especias jengibre, salvado y pimienta blanca, CTF máximo fue del jengibre (26,0±0,5 mg EAG/ml extracto) y el mínimo en pimienta blanca (3,5±0,08 mg EAG/ml extracto).

Las condiciones de extracción afectan al contenido total de fenoles (CTF) de algunas especias. Clavo, pimienta negra, nuez moscada y ajo mostraron una reducción significativa ($p < 0,05$) en su CTF al aplicar 90 °C-10 min respecto a la extracción a 55 °C-15 min. Menta, salvia, romero y tomillo tuvieron un comportamiento inverso, es decir, su CTF aumentó significativamente ($p < 0,05$) al aplicarle 90 °C-10 min. Este último caso, tiene en común que todas pertenecen a

la familia *Lamiaceae*. Las excepciones a este comportamiento dentro de esta familia son la mejorana y el orégano. En las extracciones de té verde no se encontraron diferencias significativas entre el CTF para las dos condiciones de extracción ($p>0,05$). Para el caso de las especias extraídas a 20 °C-30 min o a 55 °C-15 min, los extractos de jengibre y salvado de trigo no mostraron diferencias significativas entre ambas condiciones de extracción ($p>0,05$). Sin embargo, los extractos de pimienta blanca presentó un CTF significativamente mayor a 55 °C-15 min ($p<0,05$).

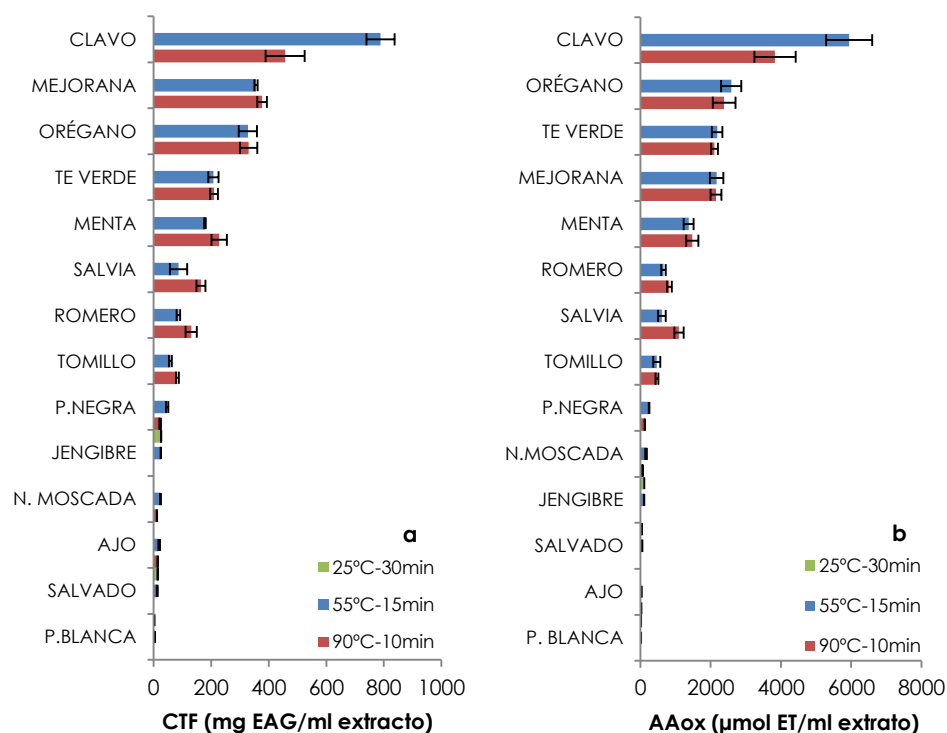


Figura 5.3. Contenido total de fenoles (mg equivalentes de ácido gálico/ml extracto) **(a)**. Actividad antioxidante (µmoles de equivalentes de Trolox/ml extracto) de cada extracto **(b)**. (IC95 %, n=15).

Respecto a la **actividad antioxidante (AAox)** de los extractos en la condición de extracción de **55 °C-15 min** (Figura 5.3 b) la máxima actividad antioxidante obtenida fue también con el extracto de clavo ($5944,5 \pm 577,7$ $\mu\text{mol ET/ml}$ extracto) y el valor mínimo pertenecía a la pimienta blanca ($17,3 \pm 2,5$ $\mu\text{mol ET/ml}$ extracto). Otros extractos que presentaron valores altos-medios fueron orégano, té verde, mejorana y menta ($2585,0 \pm 254,3$ a $1374,2 \pm 123,7$ $\mu\text{mol ET/ml}$ extracto). Romero, salvia, tomillo, pimienta negra, nuez moscada y jengibre presentaron valores medios que van desde $652,9 \pm 56,8$ hasta $103,8 \pm 1,5$ $\mu\text{mol ET/ml}$ extracto. Las extracciones de salvado, ajo y pimienta blanca mostraron una AAox baja (<de 50 $\mu\text{mol ET/ml}$ extracto).

En las condiciones de extracción de **90 °C-10 min**, el clavo también presentaba el valor máximo de actividad antioxidante de entre las 14 especias ($3830,2 \pm 519,0$ $\mu\text{mol ET/ml}$ extracto) y el extracto de ajo el valor más bajo ($29,7 \pm 1,0$ $\mu\text{mol ET/ml}$ extracto). Las extracciones de orégano, té verde, mejorana, menta y salvia mostraron valores altos (desde $2383,0 \pm 285,1$ a $1098,0 \pm 114,2$ $\mu\text{mol ET/ml}$ extracto). Romero, tomillo y pimienta negra tienen una actividad antioxidante media-baja ($824,4 \pm 62,8$ a $123,0 \pm 4,82$ $\mu\text{mol ET/ml}$ extracto). Las extracciones de nuez moscada y ajo presentaron valores menores de 60 $\mu\text{mol ET/ml}$ extracto.

Para las condiciones de **25 °C-30 min** el máximo valor pertenece al ajo ($109,0 \pm 2,1$ $\mu\text{mol ET/ml}$ extracto) y el menor para pimienta blanca ($12,4 \pm 1,2$ $\mu\text{mol ET/ml}$ extracto).

Como en el caso del CTF, en algunas especias se observó que el cambio de condiciones de extracción afecta a su actividad antioxidante. En los extractos de clavo, pimienta negra, nuez moscada y ajo disminuyó significativamente la AAox al aplicar el tratamiento de 90 °C-10 min ($p < 0,05$). Lo cual parece corresponder a la disminución del CTF descrita anteriormente. Sin embargo, aunque se detectó un aumento significativo en el CTF de algunas especias pertenecientes a la familia *Lamiaceae* (menta, salvia, romero y tomillo) esto no repercutía en un aumento en la AAox, excepto para salvia y romero donde la

AAox aumentó significativamente al aplicar 90 °C-10 min ($p < 0,05$). Orégano y té verde no mostraron cambios significativos ($p > 0,05$) en la AAox entre las condiciones de extracción.

En cuanto al jengibre y el salvado el cambio de condiciones, de 25 °C-30 min a 55 °C-15 min, no produjo un cambio significativo en su actividad antioxidante, lo que corresponde con el comportamiento observado en el CTF. Al igual que la pimienta blanca, que presentaba un aumento significativo de la AAox al aplicar 55 °C-15 min ($p < 0,05$).

En relación al comportamiento observado entre el CTF y AAox, existen diversos estudios dónde se realiza una correlación entre estos dos parámetros para determinar hasta qué punto la actividad antioxidante de los extractos deriva de su contenido fenólico (Shan et al. 2005, Silva et al. 2007, Rusak et al. 2008, Kratchanova et al. 2010).

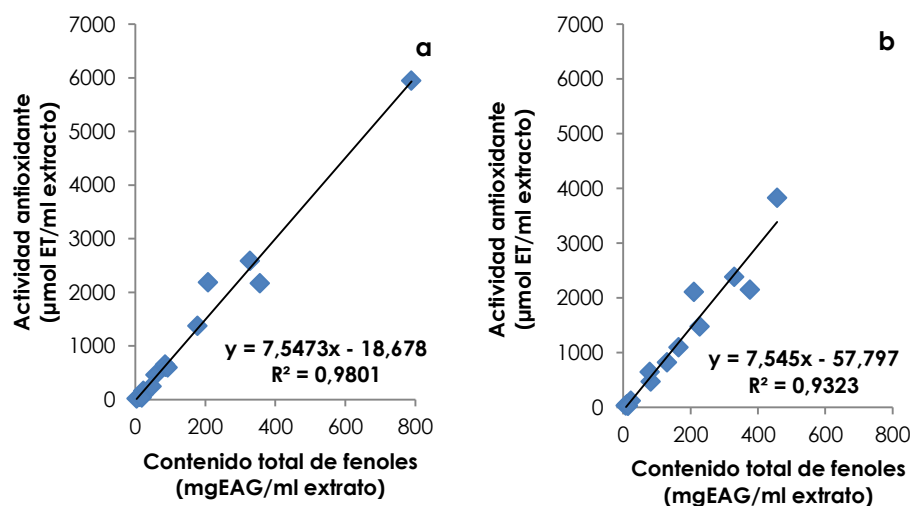


Figura 5.4. Correlación entre actividad antioxidante y el contenido total de fenoles para las especias estudiadas. Extracción en agua de las especias realizada a 55 °C durante 15 minutos **(a)**. Extracción en agua de las especias realizada a 90 °C durante 10 minutos **(b)**.

La correlación entre el CTF y la AAox para las extracciones realizadas a 55 °C-15 min (Figura 5.4 a) se define mediante la ecuación [$y = 7,5473x - 18,678$], obteniendo una alta correlación lineal ($R^2 = 0,98$) ($n=42$). Para el caso de las extracciones a 90 °C-10 min (Figura 5.4 b) también se obtuvo una alta correlación lineal positiva ($R^2 = 0,93$) ($n=33$) aunque ligeramente menor con la ecuación [$y = 7,5274x - 52,582$].

La alta correlación observada en ambos casos confirmaría que los compuestos fenólicos de las especias estudiadas son los principales responsables de la actividad antioxidante de los extractos. Como indica el estudio de Shan et al. (2005), la relación entre ambos parámetros ha sido ampliamente estudiada en diversos trabajos en hortalizas, frutas y hierbas medicinales donde obtuvieron una buena correlación lineal. Sin embargo, existen otros en los que no se obtenía esta relación lineal, e indicaron que podía ser debido a que el número de especias estudiadas en esos casos fue reducido y la diferencia entre los valores máximo y mínimo obtenidos era pequeña. Todo ello concuerda con la correlación lineal conseguida en este estudio donde se presenta una selección relativamente alta de especias y la diferencia entre sus valores es amplia. Al mismo tiempo, Rice-Evans et al. (1996) indicaron que las propiedades antioxidantes de los ácidos fenólicos y los flavonoides se debían a sus propiedades redox, a su habilidad para quelar metales y supresor del oxígeno singulete.

5.4.2. pH

El rango de pHs de los extractos encontrados iba desde $6,26 \pm 0,03$ del extracto de salvado de trigo a $4,09 \pm 0,02$ del clavo en las extracciones realizadas a 55 °C-15 min. Con 90 °C-10 min los valores fueron desde $6,19 \pm 0,03$ del ajo al $4,03 \pm 0,04$ del clavo (Figura 5.5).

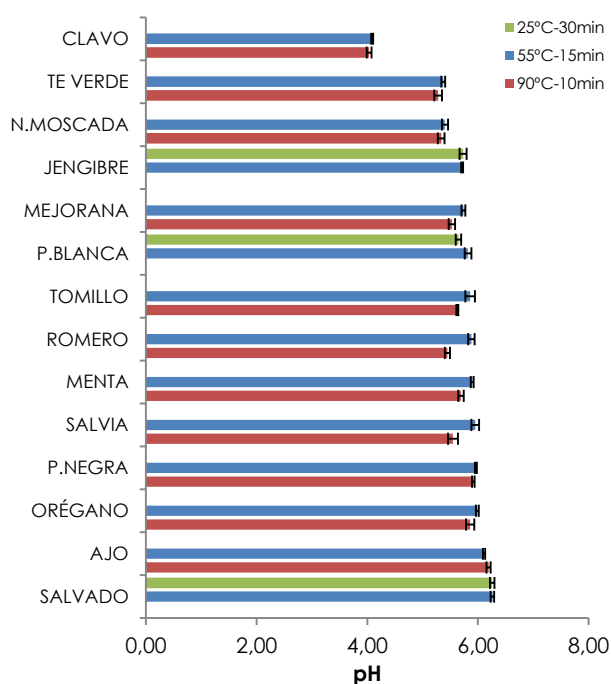


Figura 5.5. Valores de pH de los extractos en las diferentes condiciones de extracción estudiadas (IC95 %, n=3).

En cuanto a cómo afecta al pH las condiciones de extracción estudiadas, cabe destacar la disminución significativa de este tras la aplicación de tratamiento de 90 °C-10 min en el caso de mejorana, tomillo, romero, menta, salvia y orégano ($p < 0,05$), cuyo pH se encuentra entre 5,5 a 6,0, las cuales tienen en común que todas pertenecen a la familia de *Lamiaceae*. La excepción respecto a las *Lamiaceae* es la pimienta blanca (*Piperaceae*), para la cual también se detectó un descenso del pH entre la aplicación del tratamiento a 25 °C-30 min y a 55 °C-15 min. Con el ajo, el pH aumenta significativamente ($p < 0,05$) al comparar 55 °C-15 min con 90 °C-10 min.

5.4.3. Determinación de la capacidad de los extractos para inhibir la enzima PPO de patata (cv. *Monalisa*)

Para realizar el estudio de la capacidad de inhibición de las especias sobre la PPOp, se establecieron como referencia 4 rangos en función de CTF: < 5, 8 - 16, 20 - 27 y 40 - 70 mg EAG/ml extracto. Los extractos de cada especia se prepararon a las diferentes concentraciones establecidas, de forma que encajaran en el mayor número de rangos. El objeto de esta selección fue poder evaluar la capacidad de inhibición de los extractos a un CTF parecido y así poder conocer los rangos de concentración de los extractos más efectiva, para posteriores estudios.

Las concentraciones iniciales de los extractos (extractos madre) obtenidos se presentan en la Tabla 5.2, a partir de los cuales se prepararon las diferentes diluciones a la concentración final (en %, v/v) indicada en cada rango establecido.

Tabla 5.2. La concentración inicial (mg especia /ml extracto) de los extractos obtenidos para cada tratamiento térmico.

Extracto	55 °C-15 min	90 °C-10 min	20°C-30 min
TOMILLO	264,1±18,6*	304,7±25,5	
SALVIA	233,0±13,6	267,4±4,6	
ROMERO	229,1±11,5	265,7±43,1	
MEJORANA	247,7±11,6	261,2±7,3	
SALVADO TRIGO	258,2±20,3		219,8±9,1
ORÉGANO	228,3±5,9	250,0±14,2	
MENTA	238,1±20,7	243,7±13,2	
TÉ VERDE	244,0±9,6	289,0±5,1	
JENGIBRE	241,5±12,7		220,0±8,2
NUEZ MOSCADA	166,6±3,7	249,0±36,3	
CLAVO	181,3±8,9	271,9±11,8	
PIMIENTA NEGRA	200,8±4,5	293,3±45,7	
PIMIENTA BLANCA	191,0±8,8		196,7±8,7
AJO	220,2±8,9	235,1±9,0	

* Media±ds (n=3)

En el rango de **CTF < 5 mg EAG/ml extracto** (Figura 5.6), se observó un mayor número de muestras debido a que existen especias con valores muy bajos de CTF y por tanto dos o incluso tres de sus concentraciones entran en el mismo rango. Por ejemplo, nuez moscada, pimienta blanca y salvado obtenidos a 55°C-15min; nuez moscada y ajo extraídos a 90 °C-10 min; y las tres especias extraídas a 20 °C-30 min (salvado, jengibre y pimienta blanca).

Con la condición de extracción de 55 °C-15 min (Figura 5.6 a), se observa que existen especias que a sus menores concentraciones no superan el 10 % de inhibición, es decir, no mostraron capacidad para inhibir la reacción, como por ejemplo, tomillo, menta, orégano, mejorana, salvia, romero, pimienta blanca y jengibre. Destaca que una gran parte pertenecen a la familia de *Lamiaceae*. Las especias con una capacidad de inhibición entre >10 % y <50 % fueron pimienta blanca con una concentración del 20 %, jengibre al 6 y 12 %, pimienta negra al 2 y 6 %, clavo al 0,4 % y ajo al 4 %.

Se estableció que las especias y las concentraciones con una capacidad de inhibición de PPOp $\geq 50\%$, serían seleccionados para estudios posteriores como extractos con posible eficacia para la inhibición de la PPOp. Por encima de este porcentaje se encontraban el salvado a sus tres concentraciones, el ajo al 14 y 20 % y té verde al 1,6 %. El ajo al 20 % mostró una capacidad de inhibición significativamente más alta que el resto ($p < 0,05$). El ajo al 14 % y el té verde al 1,6 % presentaron un porcentaje de inhibición de PPOp estadísticamente igual ($72,9 \pm 1,3$ y $72,3 \pm 1,7$ %, respectivamente) en las mismas condiciones de extracción y mismo rango de CTF.

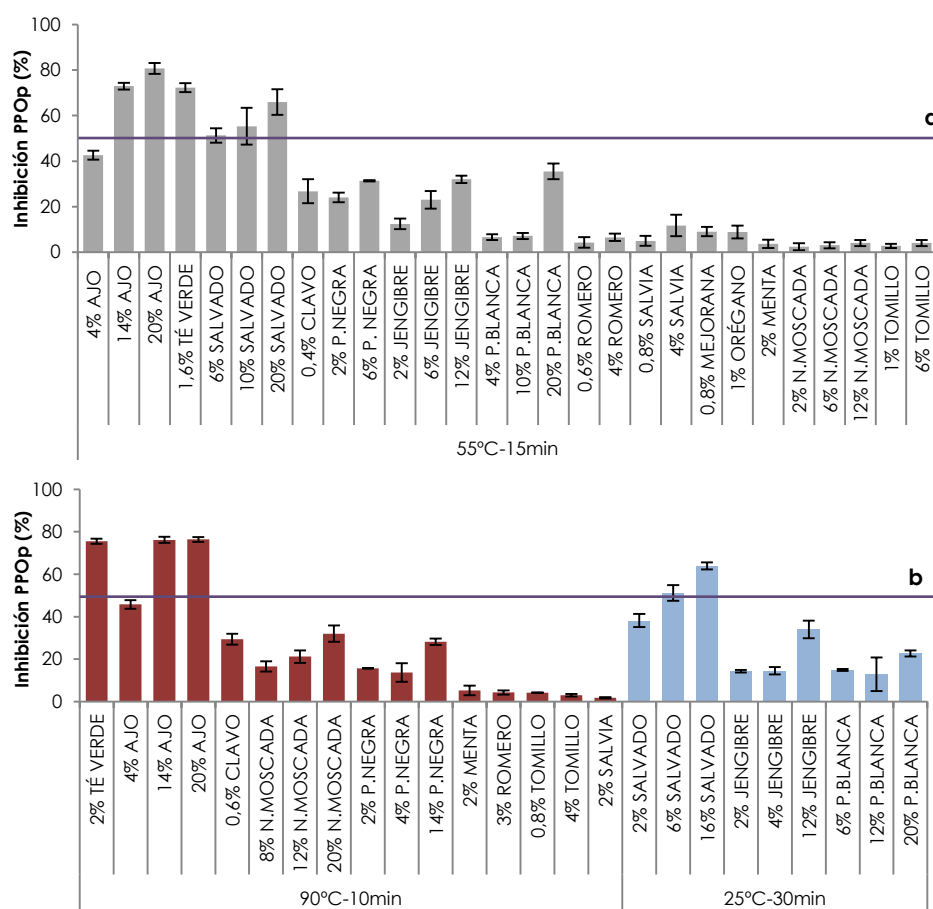


Figura 5.6. Capacidad de inhibición de la PPOp en el rango CTF < 5 mg EAG/ml extracto de las muestras extraídas a 55 °C-15min **(a)**; 90 °C-10min o 20 °C-30min **(b)**. (IC 95 %, n=15).

En las condiciones de 90 °C-10min (Figura 5.6 b) los extractos de especias que no mostraron capacidad de inhibición fueron salvia, tomillo, romero y menta. Por lo que parece que a bajas concentraciones la familia *Lamiaceae* no presenta una capacidad de inhibición destacable, es decir, aunque muestran una AAox

media-alta, no es condición suficiente como para inhibir la reacción, en las condiciones establecidas para este estudio, debido a la composición propia de estas especias. Entre los extractos con una capacidad de inhibición de entre 10 y 50 % se encuentran pimienta negra y nuez moscada en sus tres concentraciones, el clavo al 0,6 % y, por último, ajo al 4 % ($45,8 \pm 1,8$ % IPPOp). Los extractos con una capacidad de inhibición de PPOp ≥ 50 % fueron té verde al 2 % y ajo al 14 y 20 % (entre 75,6 y 76,4 % inhibición) y entre ellos no existieron tampoco diferencias significativas ($p < 0,05$).

En cuanto a las especias extraídas durante 30 minutos a 25 °C (Figura 5.6 b), todas presentaron una cierta capacidad de inhibición. Sin embargo, sólo el salvado mostró una capacidad de inhibición de PPOp > 50 %, siendo más eficaz la concentración de 16 % que la concentración del 6 % ($p < 0,05$).

En resumen, para el rango CTF < 5 mg EAG/ml extracto, el té verde a concentraciones muy bajas (1,6 y 2 %) e independientemente del tratamiento de extracción ($p > 0,05$) presenta un alto porcentaje de inhibición y el ajo, a pesar de su bajo CTF, también se muestra eficaz y parece relacionarse con la concentración. El ajo al 14 y 20 % mostraron diferencias significativas entre las condiciones de extracción de 55 °C-15 min y 90 °C 15 min ($p < 0,05$). Lo que refuerza la idea de que para la inhibición de la PPOp, solo la capacidad antioxidante de un extracto no es suficiente sino que es más importante la composición del extracto y sus condiciones de extracción. TV y ajo son un ejemplo claro de extractos eficaces, a nivel *in vitro*, poseyendo ambas dos capacidades antioxidantes y contenido fenólico muy distinto.

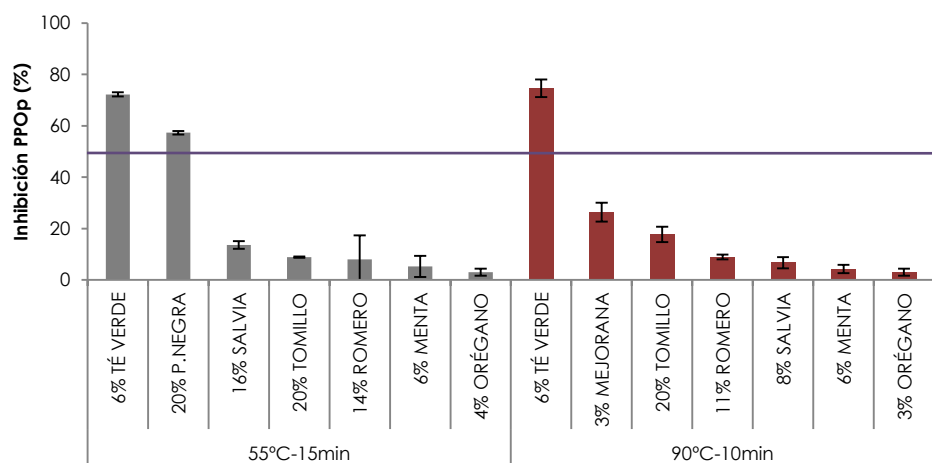


Figura 5.7. Capacidad de inhibición de la PPOp en el rango CTF 8 a 16 mg EAG/ml extracto de las muestras extraídas a 55 °C-15min o 90 °C-10min. (IC95 %, n=15).

En el rango de CTF de 8 a 16 mg EAG/ml extracto (Figura 5.7) y en la condición de extracción de **55 °C-15 min** mostró que los extractos de orégano, menta, romero y tomillo en las concentraciones analizadas no mostraron capacidad de inhibición de la PPOp. La pimienta negra a concentración de 20 % y el té verde al 6 % con el mayor porcentaje de inhibición ($72,2\pm 0,2$ %) presentando una capacidad de inhibición ≥ 50 %.

En las condiciones de extracción de **90 °C-10 min** solo el té verde al 6 % superó el 50 % de inhibición de PPOp ($75,3\pm 4,3$ %). Sin embargo, los extractos de las especias pertenecientes a la familia *Laminaceae* como orégano, menta, salvia y romero no mostraron capacidad de inhibición de la PPOp. A excepción de la mejorana al 3 %, la cual mostró una capacidad de inhibición significativamente mayor que los otros extractos de su misma familia ($p < 0,005$).

Los valores de inhibición del extracto de té verde no presentaron diferencias significativas entre los dos tipos de extracciones estudiadas en el rango de CTF estudiado ($p < 0,05$).

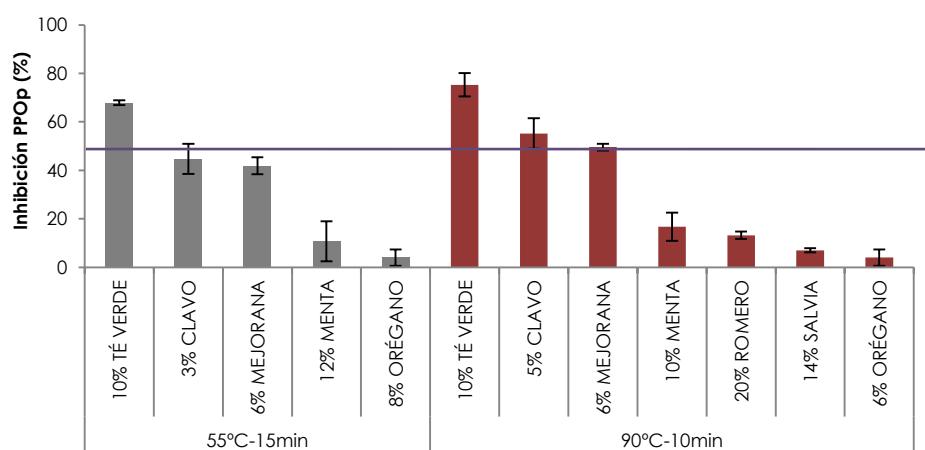


Figura 5.8. Capacidad de inhibición de la PPOp en el rango de CTF 20 a 27 mg EAG/ml extracto de las muestras extraídas a 55 °C-15min o 90 °C-10min. (IC95 %, n=15).

En el rango de CTF de 20 a 27 mg EAG/ml (Figura 5.8), el extracto de té verde a la concentración de 10 % mostró una capacidad de inhibición significativamente mayor en ambas condiciones de extracción que el resto de extractos ($p < 0,05$). Pero, en el caso del tratamiento de 90 °C-10 min, el clavo a la concentración del 5 % y mejorana al 6 %, mostraron también una inhibición de PPOp ≥ 50 %. La capacidad de inhibición del resto de extractos de la familia *Lamiaceae*, aun utilizando concentraciones mayores siguen sin mostrar mucho potencial inhibitor (< 20 % IPPOp).

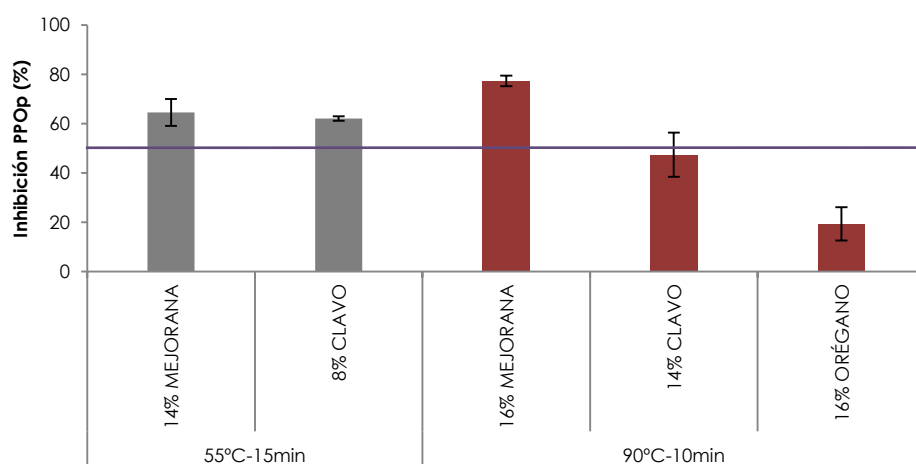


Figura 5.9. Capacidad de inhibición de la PPOp en el rango de CTF 40 a 70 mg EAG/ml extracto de las muestras extraídas 55 °C-15min o 90 °C-10min. (IC 95 % n=15).

En el rango de CTF de 40 a 70 mg EAG/ml extracto (Figura 5.9), la mejorana a las concentraciones de 14 % y 16 %, para las condiciones de extracción de 55 °C-15 min y 90 °C-10 min, respectivamente, muestra porcentajes altos de inhibición de PPOp ($64,5 \pm 4,8$ % y $77,3 \pm 1,9$ %). El extracto de clavo a la concentración de 8 %, extraído a 55 °C-15 min, no presentó diferencias significativas respecto a la mejorana en las mismas condiciones ($p > 0,05$). Pero su capacidad inhibidora fue significativamente mayor que el extracto de clavo al 14 % extraído a 90 °C-10 min ($p < 0,05$).

En el clavo, parecía que aumentar la concentración afecta a la capacidad de inhibición en las condiciones *in vitro* establecidas. También se ha observado que el aumento de la temperatura afecta al CTF y a su AAox. En cuanto a la mejorana ocurre lo mismo, sólo muestra una capacidad de inhibición evidente a la concentración más alta, presentando una AAox similar al té verde, aunque con un mayor CFT.

5.5. CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO

Se encontró que el CTF de los extractos estaba altamente correlacionado con la AAox de los mismos, lo que indica que son los principales compuestos que aportan las propiedades antioxidantes de las especias.

Los extractos de especias que presentaron al menos dos concentraciones cuya capacidad de inhibición era $\geq 50\%$ fueron, té verde, ajo y salvado de trigo. Cabe destacar que estos dos últimos extractos presentaban bajo CTF (< 20 mg EAG/ml) y de AAox (< 50 μ mol ET/ml).

En cuanto a la influencia de la concentración del extracto con respecto a su capacidad de inhibición, mientras que el té verde ($> 70\%$ IPPOp) no muestra diferencias significativas entre las concentraciones, en el caso de los extractos de ajo y de salvado de trigo sí influía.

Las especias pertenecientes a la familia *Lamiaceae*, a excepción de la mejorana, poseen baja o nula capacidad para inhibir la PPOp.

La capacidad de los extractos de nuez moscada, jengibre y pimienta (blanca y negra) para inhibir la PPOp es por lo general baja ($< 50\%$), incluso en sus concentraciones más altas.

El extracto de clavo a las mayores concentraciones estudiadas (5 y 16 %) mostró capacidad de inhibición. Fue el extracto con mayor CTF y AAox de todos los estudiados.

La determinación de la AAox o el CTF no sirven por sí solos como parámetros para establecer que grado de efectividad va a tener el extracto en la inhibición de la PPO.

CAPÍTULO 6. Optimización de la extracción en agua de té verde, ajo y salvado de trigo mediante un método de superficie de respuesta y la caracterización de los extractos óptimos

CAPÍTULO 6 . Optimización de la extracción en agua de té verde, ajo y salvado de trigo mediante un método de superficie de respuesta y la caracterización de los extractos óptimos.

6.1. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

Los extractos de té verde, ajo y salvado de trigo mostraron una capacidad de inhibición de la polifenol oxidasa de la patata, en las condiciones in vitro y de extracción establecidas en el capítulo anterior, mayor del 50 %. Debido al origen diferente de las especias seleccionadas (hoja, bulbo y capas externas de la semilla), pareció necesaria una optimización de las condiciones de extracción en agua para cada una de ellas.

Para la realización de la optimización se optó un diseño experimental formulado de forma que se pueda desarrollar un modelo empírico para examinar la interacción de los diferentes parámetros asociados responsables de la extracción en agua de las especias usando un método de superficie de respuesta, y además de identificar las condiciones óptimas para un sistema multivariable de extracción. El MSR es un conjunto de técnicas estadísticas y matemáticas útiles para la modelación y análisis de los problemas en los que una respuesta de interés está influenciada por diversas variables y el objetivo es optimizar esta respuesta. Los modelos de segundo orden son ampliamente utilizados en MSR (Ebadnejad et al. 2013). El Diseño Box-Behnken (DBB) es una clase de diseño de segundo orden rotativo o casi rotativo que se basa en diseños factoriales incompletos de tres niveles. Es un diseño adecuado porque permite la estimación de los parámetros del modelo cuadrático; la construcción de diseños secuenciales; la detección de falta de ajuste del modelo además de uso de bloques (Ferreira et al. 2007).

El MSR, es un método que se ha sido usado para optimizar, por ejemplo, la extracción de compuestos fenólicos en trigo (Liyana-Pathirana y Shahidi 2005); para la extracción acelerada de compuestos antioxidantes en romero, mejorana y orégano (Hossain et al. 2011); otros estudios centrados en reducir el pardeamiento o extender la vida útil de hortalizas y frutas como la optimización del tiempo de escaldado para extender la vida útil de lechuga mínimamente procesada (Rico et al. 2008); el uso de MSR para el estudio del efecto de los antipardeantes y el almacenado en el color de las manzanas (Rojas-Graü et al. 2006), optimización de los compuestos aplicados en la inhibición del pardeamiento en pera (Oms-Oliu et al. 2006), así como la optimización de pre-tratamientos a baja temperatura para mantener la calidad de peras (Abreu et al. 2003). Específicamente en prevención del pardeamiento de patata, Reyes-Moreno et al. (2002) usaron MSR para la optimización de compuestos antipardeantes y Severini et al. (2003) optimizaron un escaldado en soluciones salinas para prevenir el pardeamiento enzimático.

En cuando al perfil fenólico para este capítulo, se han recopilado, en Tabla 6.1, los compuestos fenólicos mayoritarios que se han encontrado en bibliografía, en té verde, ajo y salvado de trigo. Se prestó mayor atención a los compuestos que la literatura ha indicado que podrían actuar como inhibidores de la PPO, como los ácidos fenólicos (ácido p-cumarico, ferúlico, ácido benzoico y cinámico) y los flavanoles (quercetina, miricetina y kaempferol) que actuarían de forma más débil como posibles inhibidores de PPO (Ullah 1991, Chang 2009). Así como aquellos compuestos conocidos como sustratos de la PPOp como el ácido clorogénico, el cafeico, ya que es importante conocer si la especia es una fuente importante de estos.

Tabla 6.1. Principales compuestos fenólicos descritos en bibliografía en té verde, ajo y salvado de trigo.

Solvente	Clase Fenoles	Fenoles	Referencia
Té verde (<i>Camellia Sinensis</i>)			
Agua	Ac. Fenólicos	Ac. clorogénico; ac. p-cumarico; ac. gálico	Horžić et al. (2009)
	3-Flavanoles	C; GC; EGC; EGCG; EC; GCG; ECG	
metanol (60%)	Flavonoles	Derivados glicosidados	Lin et al. (2008)
	3-Flavanoles	C; EGCG	
En agua y etilacetato	3-Flavanoles	EC; EGC; ECG; EGCG; Cafeína	Erol (2013)
	Flavonoles	Quercetina glicosidada; Kaempferol glicosidado	
Agua y etilacetato	3-Flavanoles	C; EGCG; Cafeína	Atoui et al. (2005)
	Flavonoles	Miricetina glicosidada; Kaempferol glicosidado	
Revisión, diferentes métodos	Ac. Fenólicos	Ac. gálico	Ragaert et al. (2007)
	3-Flavanoles	C; CG; GC; GCG; EC; EGC; ECG; EGCG; cafeína	
	Flavonoles	Derivados glicósidos de quercetina y kaempferol	
Agua o Metanol	Ac. Fenólicos	Ac. gálico	Unachukwu et al. (2010)
	3-Flavanoles	C; CG; GC; GCG; EC; EGC; ECG; EGCG; cafeína	
Ajo (<i>Allium sativum</i>)			
Agua o Etanol	Ac. Fenólicos	Ac. homoprotocatéquico; ac. cafeico; ac. p-hidroxibenzoico; ac. p-cumarico; ac. ferúlico; ac. vainillínico; ac. elágico	Drozd et al. (2011)
Extracción a 90 °C en HCl al 50 % (agua/etanol) Dilución en metanol	Ac. Fenólicos	Ac. protocatechuic; ac. p-hydroxybenzoico; ac. vainillínico; ac. cafeico; ac. p-coumarico; ac. ferulico; ac. sinapico.	Gorinstein et al. (2008)
	Flavonoles	Quercetina; Kaempferol	
Revisión general	Flavonoles	Quercetina; Miricetina;	Lanzotti (2006)
Salvado de trigo (<i>Triticum spp.</i>)			
80 % etanol y reconstituido con agua	Ac. Fenólicos	Ac. cafeico; ac. p-cumarico; ac. ferúlico; ac. sinápico; ac. salicílico ac. siringico; ac. vainillínico	Verma et al. (2009)
80 % metanol	Ac. Fenólicos	Ac. p-hidroxibenzoico; ac. vainillínico; ac. cafeico; ac. siringico; ac. p-cumarico; ac. ferulico	Kim, Kyung-Hee et al. (2006a)
Metanol y ácido acético	Ac. Fenólicos	ac. p-hidroxibenzoico; ac. vainillínico; vanilina; ac. siringico; ac. p-cumarico; ac. ferulico; ac. salicílico	Menga (2010)

6.2. OBJETIVOS

El **primer objetivo** fue determinar las condiciones de extracción en agua (temperatura, tiempo y concentración) en las cuales las especias seleccionadas en el apartado anterior (té verde, ajo y salvado) son más efectivas.

El **segundo objetivo** fue determinar el perfil fenólico de las soluciones optimizadas utilizando cromatografía líquida de alta eficacia, cuantificando mediante patrones los compuestos fenólicos presentes que podrían tener un cierto potencial inhibidor sobre la PPO, en base a lo encontrado en bibliografía.

6.3. Optimización de la extracción de té verde, ajo y salvado de trigo mediante un método de superficie de respuesta.

6.3.1. MATERIAL Y MÉTODOS

6.3.1.1. Extracción de especias

En base al estudio realizado en capítulo 5 y a la experiencia obtenida durante su desarrollo, se establecieron los niveles de los factores para el diseño Box-Behnken para el té verde, el ajo y el salvado de trigo. Se barajó la posibilidad de estudiar también el clavo, pero fue descartado en base a los resultados obtenidos en ensayos preliminares, al ser aplicado en patatas, ya que se observó que a pesar de mostrar cierta capacidad de inhibición, a nivel *in vitro*, una vez aplicado en patata se producía una ligera "tinción" al sumergirlas y con el tiempo se observó un deterioro de la calidad visual de las lonchas de patata.

Para la extracción:

En función del diseño establecido en Tabla 6.2, se aplicaron las condiciones de extracción y en todos los casos se usó una relación especia/agua destilada para la extracción de 1/6 (p/v), la mezcla se filtraba con tela de quesería y, posteriormente:

- En el caso del ajo y el té verde se filtraron mediante vacío con filtro de papel (Whatman nº1) y el té verde se centrifugaba (3K30, Sigma) a 8000xg durante 10 min a 4 °C.
- Los filtrados de salvado siempre se centrifugaban primero en las condiciones indicadas anteriormente y luego eran filtrados al vacío con papel de filtro (Whatman nº1).

Todos los extractos se guardaban con un barrido de nitrógeno y a 4 °C hasta el momento de analizar.

6.3.2. Métodos de análisis

6.3.2.1. Determinación de la capacidad de los extractos para inhibir la enzima PPO de patata (cv. *Monalisa*)

Se aplicó el método para microplacas descrito en detalle en el Capítulo 5 (apartado 5.3.3.4).

6.3.2.2. Color de PMP mediante ensayo acelerado

Excepcionalmente, y como se verá en el apartado de Resultados y discusión (6.4), en el caso de la optimización de té verde, se realizó la determinación del color de patatas (cv. *Monalisa*) al ser sumergidas en los extractos obtenidos en las condiciones indicadas en Tabla 6.2 en un ensayo acelerado.

Para ello, las patatas se procesaron tal y como se explicó en Capítulo 1 (apartado 1.3.1), en agua a 4 °C en una relación 1:3 (patata: agua destilada), se cortaban en lonchas de patata de 5 mm de espesor. Para el tratamiento de estas con el extracto, se sumergían 5 lonchas de patata en 100 ml extracto durante 7 minutos. Posteriormente se mantenían en una bolsa a temperatura ambiente durante 7h. El color de las patatas fue medido tras el tratamiento con las soluciones de especias y al cabo de 7h con un colorímetro Minolta obteniendo los valores de $L^*a^*b^*$, tal y como se indicó en Capítulo 1 (apartado

1.3.2.4). Se utilizaron la variación de L^* y de a^* (ΔL^* y Δa^*) calculadas como la diferencia entre el valor final ($t= 7$ h) respecto al valor inicial tras la inmersión ($t=0$ h).

6.3.2.3. Análisis estadístico

La aptitud del modelo se evaluó mediante el coeficiente de determinación, la fracción de variación que explica el modelo y el análisis de varianza (ANOVA). Además, se representaron las ecuaciones polinómicas como gráficos de superficie con el fin de visualizar la relación entre las respuestas y los niveles de cada factor experimental y para deducir las condiciones óptimas. La regresión y análisis de varianza (ANOVA) se llevaron a cabo utilizando el paquete de software Minitab 16.

6.3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El diseño de Box–Behnken constaba de tres niveles con tres variables independientes (temperatura, tiempo y concentración) fue aplicado para obtener unas funciones de ajuste en base a las variables respuesta capacidad de inhibición de PPOp (% IPPOp) para la extracción en agua de las especias seleccionadas (ajo, salvado y té verde) donde los valores fueron presentados como el valor medio \pm desviación estándar. Se consideraron diferencias estadísticamente significativas a nivel $\alpha < 0.05$. Este diseño fue seleccionado debido al número reducido de experimentos necesarios para estimar las funciones de respuesta complejos. Para el diseño experimental de la Box–Behnken de tres factores y niveles y dos bloques, un total de 30 corridas experimentales son necesarias. El diseño experimental, común para las tres especias, con las variables independientes codificadas se enumera en la Tabla 6.2. Los valores sin codificar se presentan en las tablas como X_1 (temperatura, °C), X_2 (tiempo, min) y X_3 (concentración, % v/v), son diferentes para cada especia, ya que cada una tiene unos límites diferentes.

Para predecir el punto óptimo, el modelo de ecuación fue expresada de acuerdo con la siguiente Ecuación (10) de segundo orden:

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i x_i + \sum \beta_{ii} x_i^2 + \sum \beta_{ij} x_i x_j \quad (10)$$

Donde Y es la respuesta pronosticada por el modelo y β_0 , β_i , β_{ii} , β_{ij} son las constantes de los coeficientes de regresión del modelo x_i y x_j representan los términos lineales, cuadráticos y de interacción de las variables independientes codificadas, respectivamente. El coeficiente de determinación (R^2) se usa para evaluar precisión y calidad de la ecuación cuadrática completa.

Tabla 6.2. Diseño de Box-Behnken de factores con valores codificados aplicado para todas las especias (ajo, salvado y té verde).

Tratamiento	Bloque	Temperatura	Tiempo	Concentración
1	1	-1	-1	0
2	1	+1	-1	0
3	1	-1	+1	0
4	1	+1	+1	0
5	1	-1	0	-1
6	1	+1	0	-1
7	1	-1	0	+1
8	1	+1	0	+1
9	1	0	-1	-1
10	1	0	+1	-1
11	1	0	-1	+1
12	1	0	+1	+1
13	1	0	0	0
14	1	0	0	0
15	1	0	0	0
16	2	-1	-1	0
17	2	+1	-1	0
18	2	-1	+1	0
19	2	+1	+1	0
20	2	-1	0	-1
21	2	+1	0	-1
22	2	-1	0	+1
23	2	+1	0	+1
24	2	0	-1	-1
25	2	0	+1	-1
26	2	0	-1	+1
27	2	0	+1	+1
28	2	0	0	0
29	2	0	0	0
30	2	0	0	0

6.3.3.1. AJO

Los valores seleccionados para cada nivel y factor (Tabla 6.3) se seleccionaron en base a los resultados observados en el capítulo 6.

En la Tabla 6.4 se presentan los resultados experimentales obtenidos tras la aplicación del diseño Box-Behnken indicado y se comparan con los valores pronosticados para comprobar el funcionamiento del modelo.

Tabla 6.3. Valores no codificados de los factores del diseño de Box-Behnken para el ajo.

Factor	Símbolo	Nivel		
		-1	0	+1
Temperatura (°C)	X_1	55	72,5	90
Tiempo (min)	X_2	5	10	15
Concentración(% v/v)	X_3	1	3,5	6

Tabla 6.4. Diseño de factores Box-Behnken con los valores experimentales y pronosticados para ajo.

Tratamiento	% Inhibición PPOp		Tratamiento	% Inhibición PPOp	
	Experimental	Pronosticada		Experimental	Pronosticada
1	41,7	41,9412	16	40,9	41,9412
2	44,5	41,8264	17	42,9	41,8264
3	39,9	38,2109	18	32,8	38,2109
4	45,2	45,6412	19	47,4	45,6412
5	15,1	13,8115	20	15,3	13,8115
6	12,3	13,5796	21	12,5	13,5796
7	51,0	50,9269	22	53,2	50,9269
8	57,4	58,4742	23	56,8	58,4742
9	12,0	14,2162	24	15,0	14,2162
10	19,1	15,9882	25	13,8	15,9882
11	57,8	56,9509	26	55,1	56,9509
12	56,0	55,2635	27	56,0	55,2635
13	42,4	43,8259	28	41,4	43,8259
14	43,9	43,8259	29	44,0	43,8259
15	46,3	43,8259	30	44,9	43,8259

Se realizó análisis de varianza para el diseño experimental establecido para evaluar la idoneidad de la función de respuesta a un nivel de significación de 0,05. El efecto cuadrático y linealidad de las variables independientes, sus coeficientes de regresión y la interacción en la respuesta, se analizaron las variables (Tabla 6.5). La bondad de ajuste del modelo fue verificada por el coeficiente de determinación (R^2) que indica si es un buen modelo estadístico.

Tabla 6.5. Análisis de la varianza para las variables respuesta: % inhibición PPOp para el ajo.

Fuente	% Inhibición PPOp			
	gl	MC	F	P*
Regresión	9	813,54	160,19	0,000
Lineal	3	107,75	21,22	0,000
Cuadrado	3	159,32	31,37	0,000
Interacción	3	21,57	4,25	0,018
Error residual	20	5,07		
Falta de ajuste	3	10,68	2,61	n.s.*
Error puro	17	4,09		
Total	29			
R² (%)			98,63	

*Significativo cuando $p < 0,05$; * n.s.= no significativo; gl=grado de libertad; MC= media de cuadrados.

Se aplicó el análisis de la varianza para un modelo cuadrático completo para ambos parámetros. En Tabla 6.5 el parámetro % IPPOp muestra un coeficiente de determinación alto (98,63 %) lo que indica que la ecuación obtenida a partir del modelo cuadrático se ajusta adecuadamente. No presenta falta de ajuste ($p > 0,05$). El diseño experimental en base al % inhibición de la enzima PPOp provee suficiente nivel de predicción para construir una ecuación polinomial de segundo-orden, Ecuación (1):

$$Y = -13,2040 + 0,521120x_1 + 14,5898x_3 - 1,27425x_3^2 + 0,0215575x_1x_2 + 0,0444522x_1x_3$$

(11)

En cuanto al comportamiento de los factores respecto a la variable respuesta, capacidad de inhibición PPOp, el análisis de varianza muestra que X_1 , X_3 , X_3^2 , X_1X_2 y X_1X_3 son términos de la ecuación significativos. En la gráfica de superficie 3D (Figura 6.2) se observa que la concentración del extracto es el factor que influye de forma decisiva sobre la capacidad de inhibición de PPOp, ya que como se observa en Figura 6.1, el tiempo y la temperatura a diferentes niveles aplicados a los extractos obtienen valores similares de inhibición de PPOp. Sin embargo, al aumentar la concentración aumenta la inhibición sobre la PPOp, independientemente de a qué temperatura se haya obtenido el extracto. Parece que a mayor cantidad de compuestos más efectividad se observa.

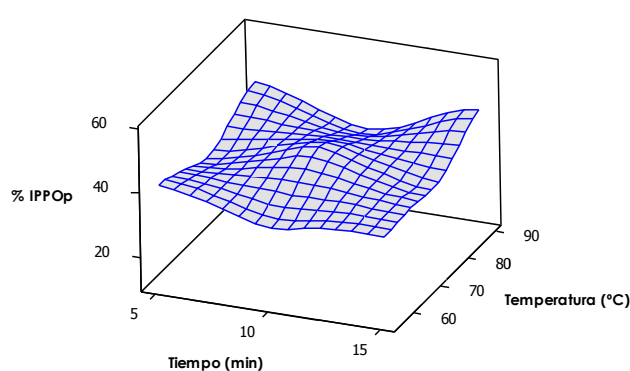


Figura 6.1. Gráfica de superficie tridimensional donde se comparan los factores tiempo (min) y temperatura (°C) para la variable respuesta capacidad de inhibición de la PPOp.

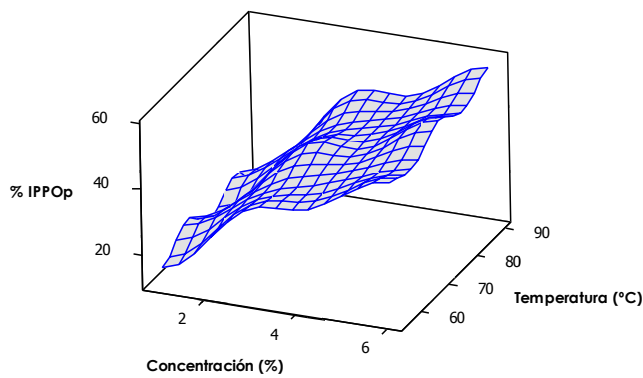


Figura 6.2. Gráfica de superficie tridimensional donde se comparan los factores concentración (%) y temperatura (°C) para la variable respuesta de capacidad de inhibición de la PPOp.

Para la optimización de la respuesta final, se maximizaron los resultados del parámetro que determina la capacidad de inhibición de PPOp obteniendo las condiciones de extracción más adecuadas en base al modelo obtenido. En este caso, con la optimización se obtuvo el máximo porcentaje de inhibición de PPOp (59,3%) con una temperatura de extracción de 90°C aplicada durante 15 minutos sobre el ajo y se usa a una concentración del 6 %. Se obtuvo una deseabilidad para esta optimización de 0,8210. Cuanto más cercana a 1 esté la deseabilidad más cerca están las respuestas pronosticadas de los requisitos.

6.3.3.2. SALVADO

Los valores para cada nivel y factor (Tabla 6.6) se establecieron en un rango de temperatura entre 25 a 55 °C. Esta selección se realizó en base a lo encontrado en bibliografía y lo observado durante la preparación del extracto. Y por el mismo motivo se amplió el rango de tiempo. En la Tabla 6.7 se presentan los resultados experimentales y los pronosticados tras la aplicación del diseño Box-Behnken para comprobar el funcionamiento del modelo.

Tabla 6.6. Valores no codificados de los factores del diseño Box-Behnken para el salvado.

Factor	Símbolo	Nivel		
		-1	0	+1
Temperatura (°C)	X_1	25	40	55
Tiempo (min)	X_2	15	22,5	30
Concentración (% v/v)	X_3	1	3,5	6

Tabla 6.7. Diseño de factores Box-Behnken con los valores experimentales y pronosticados para salvado.

Tratamiento	%Inhibición PPOp		Tratamiento	%Inhibición PPOp	
	Experimental	Pronosticada		Experimental	Pronosticada
1	48,3	46,6832	16	47,6	46,6832
2	47,9	47,3903	17	48,0	47,3903
3	45,4	44,3207	18	41,8	44,3207
4	46,9	45,0278	19	40,9	45,0278
5	27,2	22,2932	20	16,5	22,2932
6	21,4	23,0003	21	24,6	23,0003
7	55,7	54,7228	22	53,4	54,7228
8	57,5	55,4300	23	54,5	55,4300
9	31,1	26,6552	24	20,2	26,6552
10	28,0	24,2927	25	23,3	24,2927
11	57,7	59,0849	26	58,8	59,0849
12	56,3	56,7224	27	58,0	56,7224
13	48,5	47,2928	28	47,6	47,2928
14	49,4	47,2928	29	42,0	47,2928
15	48,9	47,2928	30	47,3	47,2928

En el caso de los extractos de salvado de trigo, al aplicar un análisis de la varianza para un modelo cuadrático completo en el parámetro % IPPOp se observó que los términos de interacción no eran significativos estadísticamente ($p < 0,05$). Lo que llevo a realizar un nuevo análisis de varianza eliminando los términos no significativos, por lo que se aplicó un modelo lineal + cuadrados para obtener un modelo con variables estadísticamente significativas. En la Tabla 6.8 se presentan los resultados del análisis de la varianza.

Tabla 6.8. Análisis de la varianza para las variables respuesta: % inhibición PPOp para el salvado.

Fuente	% Inhibición PPOp			
	gl	MC	F	P*
Regresión	6	759,46	80,26	0,000
Lineal	3	65,83	6,96	0,002
Cuadrado	3	108,58	11,47	0,000
Error residual	23	9,46		
Falta de ajuste	6	2,64	0,22	n.s.
Error puro	17	201,81		
Total	29			
R² (%)			95,44	

* Significativo cuando $p < 0,05$; n.s.= no significativo; gl=grado de libertad; MC= media de cuadrados.

Los resultados para el salvado de trigo (Tabla 6.8), para la variable respuesta % IPPOp, muestran una regresión estadísticamente significativa y el coeficiente de determinación es del 95,44 %, lo que indica que la ecuación obtenida a partir del modelo se ajusta adecuadamente. Tampoco presenta falta de ajuste ($p > 0,05$). La ecuación de regresión (Ecuación 12) construida con los coeficientes no codificados es:

$$Y = 13,5407x_3 - 1,00783x_3^2 \quad (12)$$

En cuanto al comportamiento de los factores respecto a la variable respuesta % IPPOp para el salvado de trigo, los términos X_3 y X_3^2 son significativos en este modelo. Existen efectos cuadráticos y por tanto la relación entre el % IPPOp y la concentración del extracto sigue una línea curva. En la gráfica de superficie (Figura 6.3) donde se muestra la temperatura ($^{\circ}\text{C}$) respecto al tiempo (min) se observa que no se producen grandes cambios en el % IPPOp. Sin embargo, al graficar el comportamiento del factor concentración se evidencia que a mayor concentración mayor es el % IPPOp sin influir en gran medida la temperatura o tiempo aplicado al extracto (Figura 6.4 y Figura 6.5).

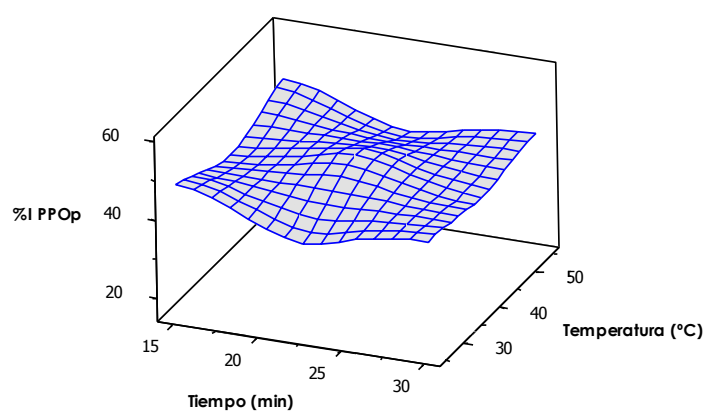


Figura 6.3. Gráfica de superficie tridimensional donde se comparan los factores tiempo (min) y temperatura ($^{\circ}\text{C}$) para la variable respuesta capacidad de inhibición de la PPOp.

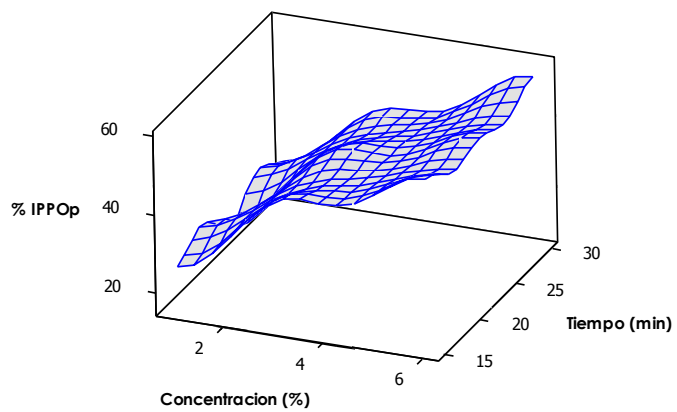


Figura 6.4. Gráfica de superficie tridimensional donde se comparan los factores concentración (%) y tiempo (min) para la variable respuesta capacidad de inhibición de la PPOp.

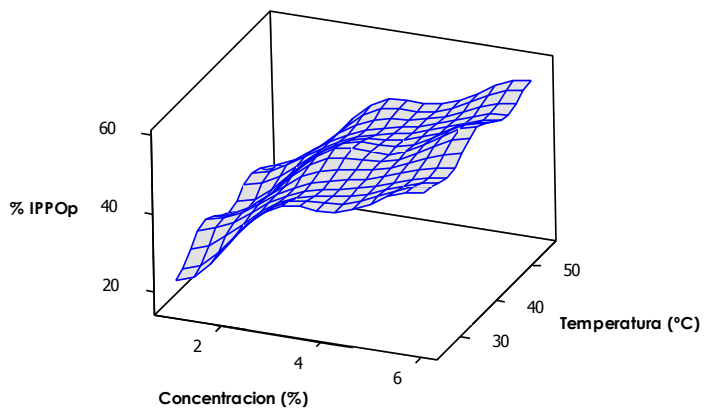


Figura 6.5. Gráfica de superficie tridimensional donde se comparan los factores concentración (%) y temperatura (°C) para la variable respuesta capacidad de inhibición de la PPOp.

En base a estos resultados, la optimización de la extracción de salvado de trigo para la variable respuesta % IPPOp muestra un modelo de regresión aceptable. Por lo que las condiciones de extracción para esta extracción fueron una temperatura 41°C aplicada durante 15 minutos y a una concentración in vitro del 6%, con lo que se obtendría el máximo porcentaje de inhibición de PPOp (59,1 %). Se obtuvo una deseabilidad para esta optimización de 0,8183.

6.3.3.3. TÉ VERDE

Inicialmente los valores para cada nivel y factor se seleccionaron en base a los resultados observados en el barrido de especias. En el caso del té verde se aplicó desde una temperatura media (55°C) hasta cerca de la ebullición (90°C) como se utilizaría para obtener una infusión y a un tiempo de entre 5 minutos y 15 minutos.

Sin embargo, una vez analizados los resultados, los extractos mostraron que la variable respuesta % IPPOp no proporcionaba un modelo fiable ($R^2 = 36,05\%$) capaz de explicar el comportamiento de los valores. Además de presentar un coeficiente de determinación bajo y el análisis de regresión no era estadísticamente significativo ($p > 0,05$). Este resultado puede ser debido a que independientemente de la combinación de factores aplicada el % IPPOp era alto, ya que los resultados no variaban más allá de un rango entre 63 al 70 % IPPOp. Esta tendencia se había observado previamente en el capítulo 5.

Por ello se establecieron como variables para la optimización las coordenadas de color L^* y a^* de las patatas tratadas con la solución.

TÉ VERDE: variables respuesta ΔL^* y Δa^*

Los valores para cada nivel y factor son los mismos establecidos en el diseño anterior excepto en la concentración, ya que atendiendo a los ensayos preliminares realizados, se estableció que para poder trasladar los resultados encontrados *in vitro* en patatas era necesario aplicar un factor 5, es decir, para su aplicación en la matriz real (como PMP). En Tabla 6.9 se muestran los valores utilizados para cada nivel y factor.

Como se ha comentado, en este caso se van a utilizar dos variables respuesta, ΔL^* y Δa^* , ya que el propio extracto puede producir un cambio en el color inicial, por ello se utiliza la diferencia de color entre el momento final (7h) y el inicial tras la inmersión. El Δb^* presentó una baja regresión, por lo que quedó descartada para esta optimización.

En la Tabla 6.10 se presentan los resultados experimentales y los pronosticados tras la aplicación del diseño Box-Behnken para comprobar el funcionamiento del modelo.

Tabla 6.9. Valores no codificados de los factores del diseño de Box-Behnken para el té verde.

Factor	Símbolo	Nivel		
		-1	0	+1
Temperatura (°C)	X_1	55	72,5	90
Tiempo (min)	X_2	5	10	15
Concentración (% v/v)	X_3	5	17,5	30

Tabla 6.10. Diseño de factores Box-Behnken con los valores experimentales y pronosticados para té verde.

Tratamiento	ΔL^*		Δa^*	
	Experimental	Pronosticada	Experimental	Pronosticada
1	-1,0402	-1,35137	1,5662	1,76025
2	-2,6391	-2,82369	2,1697	2,22021
3	-2,0503	-1,43317	2,3581	2,19416
4	-3,6799	-2,90549	2,2759	2,65411
5	1,0122	1,20333	0,9290	0,74046
6	0,9257	-0,26900	1,3399	1,20042
7	-2,6578	-2,68153	2,8357	2,97882
8	-3,2753	-4,15386	3,0982	3,43877
9	-1,9680	-0,76140	1,1615	1,02592
10	-0,0066	-0,84321	1,0190	1,45983
11	-3,7326	-4,64627	2,9719	3,26428
12	-4,2089	-4,72807	3,3994	3,69818
13	-2,5370	-2,26321	2,0436	2,19369
14	-2,2855	-2,26321	2,4109	2,19369
15	-1,5045	-2,26321	2,2155	2,19369
16	-0,7796	-1,35137	1,5579	1,76025
17	-2,4084	-2,82369	2,3060	2,22021
18	-1,1963	-1,43317	2,6790	2,19416
19	-3,2337	-2,90549	2,7446	2,65411
20	1,1826	1,20333	1,1974	0,74046
21	-0,9464	-0,26900	1,0292	1,20042
22	-2,9961	-2,68153	2,2240	2,97882
23	-5,0470	-4,15386	4,0636	3,43877
24	-1,3661	-0,76140	0,8390	1,02592
25	-0,1739	-0,84321	1,3384	1,45983
26	-5,2314	-4,64627	3,9691	3,26428
27	-5,2703	-4,72807	4,1982	3,69818
28	-2,6217	-2,26321	2,3183	2,19369
29	-2,3641	-2,26321	1,7880	2,19369
30	-2,2665	-2,26321	2,3859	2,19369

El coeficiente de determinación de la variable respuesta ΔL^* es del 87,43 % y 86,71 % para $\Delta \alpha^*$, lo cual indica que se pueden utilizar ambos parámetros para calcular la optimización de la extracción (Tabla 6.11). No presenta falta de ajuste ($p > 0,05$). ΔL^* se ajusta a un modelo lineal+cuadrados y $\Delta \alpha^*$ se ajusta a un modelo lineal.

Tabla 6.11. Análisis de la varianza para las variables respuesta: ΔL^* y $\Delta \alpha^*$, para el té verde.

Fuente	ΔL^*				$\Delta \alpha^*$			
	gl	MC	F	P	gl	MC	F	P
Regresión	6	12,63	26,67	0,000	6	3,65	25,01	0,000
Lineal	3	23,02	48,73	0,000	3	7,21	49,34	0,000
Cuadrado	3	2,18	4,62	0,011	3	0,10	0,69	n.s.
Error residual	23	0,47			23	0,15		
Falta de ajuste	6	0,71	1,84	n.s.	6	0,21	1,67	n.s.
Error puro	17	0,39			17	0,12		
Total	29				29			
R² (%)			87,43				86,71	

* Significativo cuando $p < 0,05$; n.s.= no significativo; gl=grado de libertad; MC= media de cuadrados.

Se muestran a continuación las ecuaciones de regresión con los coeficientes no codificados correspondientes a ΔL^* (Y_{L^*}) y $\Delta \alpha^*$ (Y_{α^*}) (Ecuación 13 y 14).

$$Y_{L^*} = 13,5374 - 0,374501x_1 - 0,0174618x_3 + 0,00229266x_1x_1 - 0,0226939x_2x_2 \quad (13)$$

$$Y_{\alpha^*} = -2,36031 + 0,0744417x_1 - 0,0709813x_2 + 0,0838448x_3 \quad (14)$$

En cuanto al comportamiento de los factores respecto a la variable respuesta ΔL^* se observa que X_1 , X_3 , X_1X_1 y X_2X_2 son los términos significativos de la ecuación. Lo que indica que la temperatura y la concentración tienen un comportamiento cuadrático. El $\Delta \alpha^*$ tiene un comportamiento lineal donde intervienen los tres factores (X_1 , X_2 y X_3). Para interpretar los resultados, hay decir que valores más cercanos a cero o positivos de ΔL^* significa que las lonchas mantienen el color

respecto a su color inicial. En Δa^* valores cercanos a cero o incluso negativos indican menor coloración rojiza-parda. En la gráfica de superficie (Figura 6.6 a) se observa que, en el caso de ΔL^* es la temperatura el factor que más influye aunque se observan los valores más cercanos a cero a la temperatura más baja y con el tiempo más corto. Respecto a Δa^* (Figura 6.6b) es el tiempo el que interviene en la extracción, donde a tiempos más cortos se obtienen valores más bajos de Δa^* .

Al graficar el comportamiento del factor temperatura respecto a la concentración (Figura 6.7 a y b) se observa que en general a menor concentración se obtienen valores cero o positivos ΔL^* respecto a los tiempos más largos y cortos de tratamiento (Figura 6.6 a). También se observa que a menor tiempo de tratamiento y baja temperatura de extracción se obtienen los valores más bajos de Δa^* (Figura 6.6 b).

En cuanto a las gráficas que representan tiempo respecto a concentración (Figura 6.7 a y b), a la concentración más baja usada se obtienen los valores más cercanos a cero o positivos de ΔL^* (Figura 6.8 a) y los más bajos posibles de Δa^* . En el caso de ΔL^* su ecuación evidencia que el tiempo no es un factor que influya de forma importante en este diseño. Para Δa^* , al ser lineal, los tres factores influyen en diferente medida.

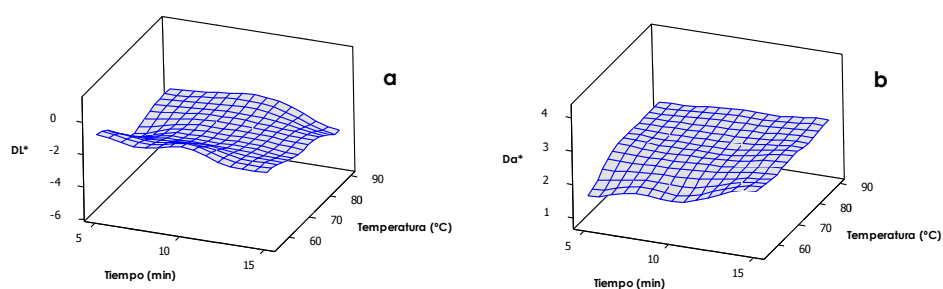


Figura 6.6. Gráficas de superficie tridimensional donde se comparan los factores tiempo (min) y Temperatura (°C) para la variable respuesta variación de luminosidad **(a)** y variación de coordenada a^* **(b)**.

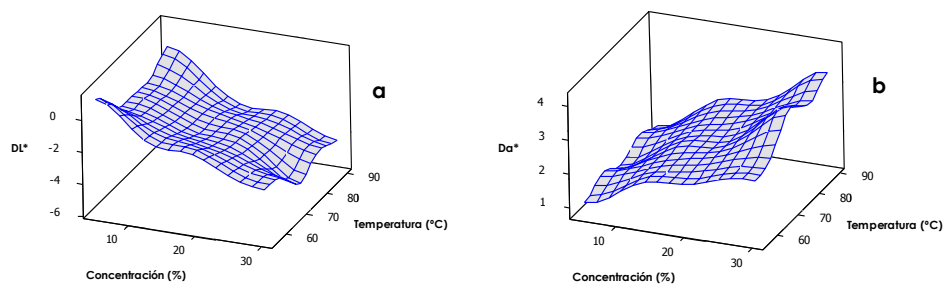


Figura 6.7. Gráficas de superficie tridimensional donde se comparan los factores concentración (%) y Temperatura (°C) para la variable respuesta variación de luminosidad **(a)** y variación de coordenada a^* **(b)**.

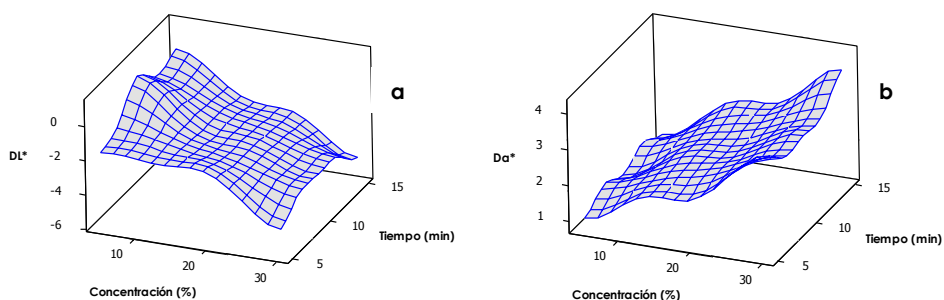


Figura 6.8. Gráfica de superficie tridimensional donde se comparan los factores concentración (%) y tiempo (min) para la variable respuesta variación de luminosidad **(a)** y variación de coordenada a^* **(b)**.

La optimización de la extracción en agua de té verde se realizó en base a las dos variables respuesta ΔL^* y Δa^* . Como se venía observando en el comportamiento de los factores en las gráficas de los tratamientos ensayados las siguientes condiciones óptimas de extracción fueron una temperatura del agua de 55°C aplicada durante 7 minutos y a una concentración del 5 %, con lo que se obtendría ΔL^* de 1,01 y para Δa^* es de 0,66. Se obtuvo una deseabilidad compuesta para esta optimización de 0,6896.

6.3.3.4. CARACTERIZACIÓN GENERAL DE LOS EXTRACTOS OPTIMIZADOS

Para caracterizar las soluciones de té verde, ajo y salvado de trigo optimizados, en su forma final para la aplicación en las patatas, para ser evaluados como soluciones antipardeantes en PMP. Se determinaron el pH, el contenido total de fenoles, la actividad antioxidante y la capacidad de inhibición de la PPOp (% IPPOp) tal y como se describieron en capítulo 5, y el color instrumental según lo establecido en este capítulo (apartado 6.3.2.2). Los extractos preparados por triplicado y las soluciones fueron obtenidos como se indica en Tabla 6.12 .

Tabla 6.12. Resumen de las condiciones extracción para la preparación de las soluciones cuyo destino es aplicación en PMP,

Extracto	Tratamiento óptimo			d*	RP
	Tª (°C)	t (min)	Conc.** (%)		
AJO	90	15	30	0,821994	% IPPOp= 59,3
SALVADO	41	15	30	0,818325	% IPPOp= 59,1
TÉ VERDE	55	7	5	0,689615	$\Delta L^* = 1,01$ $\Delta a^* = 0,66$

*d= deseabilidad. ** Concentración % (v/v).

Los extractos de ajo y salvado presentan los pHs más altos (Tabla 6.13). El té verde tiene un pH de 5,27, que sigue siendo relativamente alto respecto a los pH de otras soluciones antipardeantes que se han estudiado. Estos datos concuerdan con los obtenidos en el capítulo 5.

Los valores de inhibición son altos (>50%), como era de esperar. Si se comparan los valores con los pronosticados por los modelos (Tabla 6.12) se observa que el porcentaje de inhibición pronosticado para el extracto de ajo, es el que se acerca más al valor real. Por el contrario, los valores para salvado se alejan un poco de lo obtenido con un valor más alto, a pesar del alto coeficiente de determinación del modelo.

Respecto a los valores de CTF y AAox, el té verde presenta valores medios-altos, mientras que en ajo y salvado son bajos en ambos casos, cerca de un 91 % menos de AAox que el té verde y un CTF un 48 y 52 % menor que té verde.

Tabla 6.13. Caracterización de los extractos optimizados.

Extracto	pH	Concent. Extracto*	% IPPOp	CTF **	AAox***
TÉ VERDE	5,27 ± 0,0117	11,9±0,2	67,6 ±0,9	13,5 ± 0,0	179,2 ± 7,7
AJO	6,31 ± 0,0250	63,7±3,0	52,5 ±1,6	6,9 ± 0,2	15,2 ± 0,04
SALVADO	6,25 ± 0,0133	64,0±1,5	64,9 ±3,4	6,4 ± 0,1	17,0 ± 0,2

* mg especia seca/ml solución diluida (TV 5 %, ajo y salvado 30 %)

** mg EAG/ml extracto

***µmoles ET/ml extracto

Color en lonchas de patata

A continuación se presentan los parámetros de color para observar el comportamiento de cada extracto aplicado a patata mediante en un ensayo acelerado, donde se mantuvieron a temperatura ambiente durante 7 h.

Los extractos parece que añadieron cierta luminosidad inicial respecto al control (Figura 6.9 a). Tras 7 horas a temperatura ambiente (Figura 6.9 b) aumentó el valor de a* para té verde y salvado, pero el ajo muestra el valor más bajo de a*. Y en general bajó la luminosidad con todos los extractos, sin embargo todas las patatas tratadas con especias mostraron valores más altos de L* que el control.

Al comparar la luminosidad respecto al parámetro b* (Figura 6.9 c) se observa mayores valores de b* para los tres extractos respecto a al control, tras la inmersión de las lonchas. Después de 7 h a temperatura ambiente, b* aumentó en cierta medida para todos los casos, es decir, tienden a aumentar su coloración más amarilla (Figura 6.9 d).

Al aplicar el extracto de té verde (5 %), el ajo (30 %) y el salvado de trigo (30 %) en patatas, mediante un ensayo acelerado, para estudiar cómo afecta al color superficial, parecen alternativas viables en la reducción del pardeamiento en PMP y no solo de la inhibición de la PPOp. Para ello, sería necesario evaluar cómo evolucionan las patatas tras ser tratadas con estos extractos, envasadas y almacenadas a 4 °C durante 14 días, poniendo a prueba su capacidad para controlar el pardeamiento, ya que intervienen variables intrínsecas de un producto mínimamente procesado.

En té verde existen estudios, pero no en patata, y en el capítulo 3 de esta tesis ya se hizo una primera aproximación al mundo de los extractos naturales. En cuanto al salvado, se ha explorado la viabilidad de extracto de salvado de arroz como inhibidor de la PPO en patata y plátano, pero con ensayos principalmente in vitro e in vivo de corta duración (Theerakulkait y Boonsiripiphat 2007, Sukhonthara y Theerakulkait 2012, Kubglomsong y Theerakulkait 2013). Del ajo no se ha encontrado estudios en este sentido usando el extracto de forma individual.

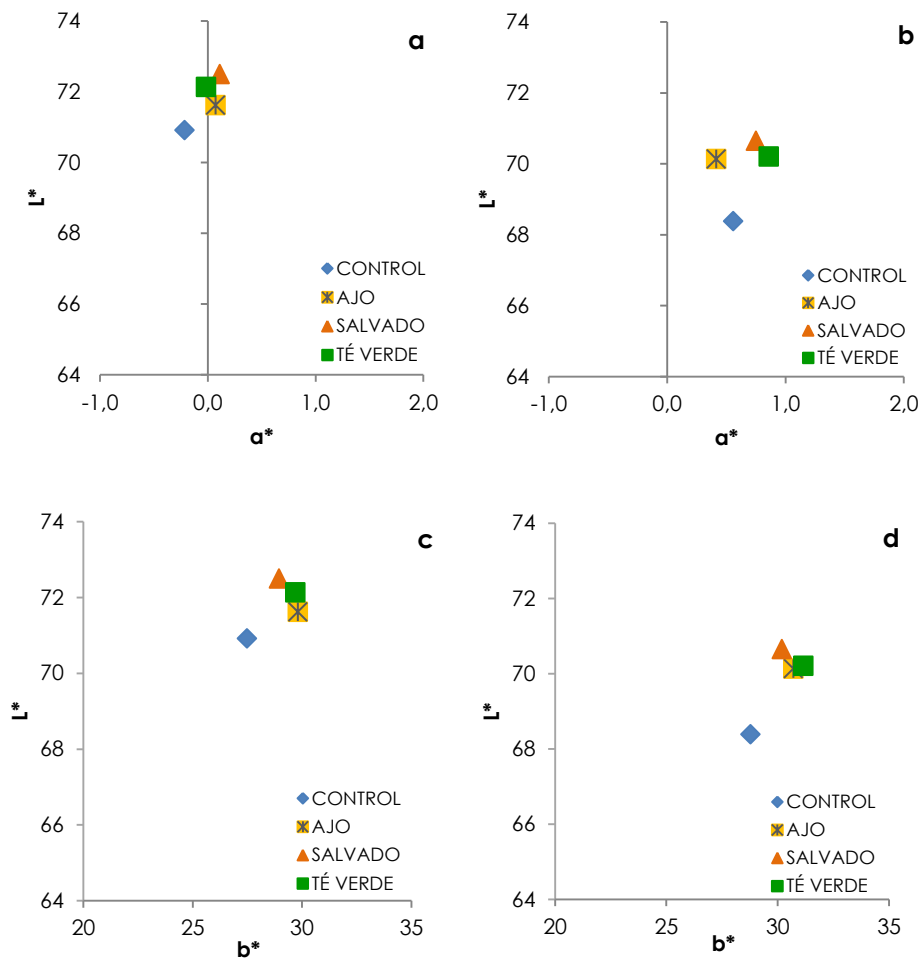


Figura 6.9. Representación de L^* respecto a a^* tras la inmersión de las patatas en los extractos de ajo, salvado y té verde **(a)** y tras 7 h a temperatura ambiente **(b)**. Representación de L^* respecto a a^* a tras la inmersión **(c)** y tras 7 h **(d)**.

6.4. Caracterización fenólica de los extractos mediante HPLC.

6.4.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

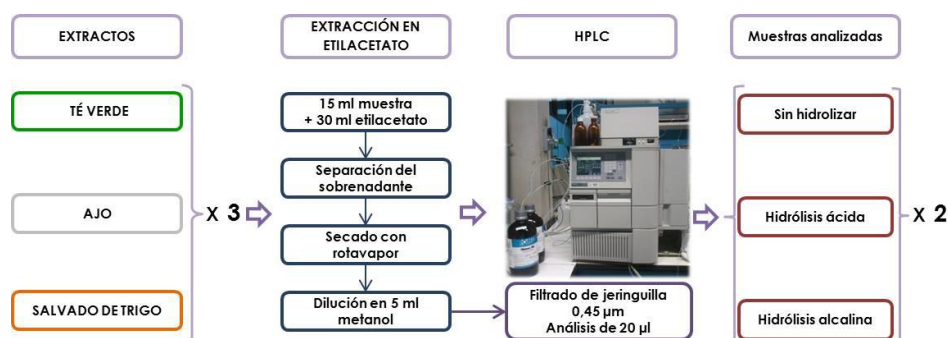


Figura 6.10. Diagrama del diseño experimental para la caracterización fenólica de los extractos obtenidos con las condiciones óptimas establecidas.

6.4.2. MATERIAL Y MÉTODOS

6.4.2.1. Preparación de los extractos de té verde, ajo y salvado de trigo para su análisis en HPLC.

Las soluciones de especias se prepararon como se ha indicado en Capítulo 5 (apartado 6.3.1.1). Pero para poder ser analizadas en el HPLC, además debían extraerse los fenoles que pueden contener para su identificación y cuantificación.

Para ello se tomó como referencia el método de extracción de Atoui et al. (2005). Se añadieron, en un frasco con tapón, 15 ml de muestra (extracto en agua de especia) y 30 ml de etilacetato (Panreac; Barcelona, España). Se agitó durante 5 minutos y posteriormente se centrifugó (Medifriger BL-S, Selecta) a 2000 xg durante 2 minutos. Se recogió el sobrenadante y se repitieron los pasos anteriores el número de veces indicadas en Tabla 6.14, para una máxima extracción. Después se juntaron todos los sobrenadantes, se evaporó el etilacetato del sobrenadante con un rotavapor (Büchi, mod. R-200/205) a 40 °C y

170 mbar de presión. Cuando el extracto estuvo totalmente seco, se añadieron 5 ml de metanol (Oppac, Navarra, España) para disolverlo, obteniendo la muestra final utilizada para el análisis de HPLC. Se guardaron en congelación a -75 ± 2 °C hasta su utilización.

6.4.2.2. Determinación del número de extracciones en etilacetato a usar para obtener la máxima cantidad de los fenoles.

Para estimar cuántas extracciones en etilacetato son necesarias para extraer la máxima cantidad de polifenoles se realizó un análisis del contenido total de fenoles (Folin-Ciocalteu) tras cada extracto de etilacetato (Tabla 6.14). Una vez preparados los extractos en agua de cada especia se realizaron cinco extracciones en etilacetato tal como se ha explicado en el apartado anterior (apartado 6.4.2.1).

Tabla 6.14. Contenido total de fenoles (mg EAG/l) de cada una de las extracciones en etilacetato.

	Té verde	Salvado	Ajo
1ª extracción	327,1±13,31	72,0±4,03	148,8 ±61,56
2ª extracción	89,0± 4,60	33,3±1,95	25,1±1,37
3ª extracción	37,2±0,777	7,7±1,5	5,2±2,3
4ª extracción	18,2±0,802	6,0±0,8	n.c*
Dilución	1:20	No	No
Nº extracciones final	4	4	3

*n.c = no cuantificable

6.4.2.3. Hidrólisis ácida y alcalina

Cuando se analiza la muestra sin hidrolizar se cuantifican los polifenoles libres (PL). Al hidrolizar las muestras se obtiene la cantidad de polifenoles totales (PT). Para obtener las cantidad de polifenoles conjugados (PC), lo que se hizo fue restar la cantidad de polifenoles libres de los totales ($PC = PT - PL$).

Si a las muestras se les realiza una hidrólisis alcalina se hidrolizan los ácidos fenólicos. Si se aplica la hidrólisis ácida se hidrolizan los flavonoles. Los 3-

flavanoles (catequinas) no se hidrolizan. Se utilizó el método descrito por Lin et al. (2008).

Hidrólisis alcalina:

Un mililitro de la alícuota (muestra de extracto) se seca mediante estufa de vacío (Binder VD53) a 40 °C. Añadir 300 µl NaOH 4 N y mantener a temperatura ambiente y con atmósfera de N₂ durante 18 h. Añadir 0,15 ml HCl 12 N (37 %) para conseguir pH 1 y 0,55ml de metanol Filtrar con filtro 0,45 µm para HPLC y medir en pinchazos de 20 µl. Su destino era el método de HPLC para ácidos fenólicos (*apartado 6.4.2.4*).

Hidrólisis ácida:

A 0,5 ml de alícuota se añaden 0,1 ml HCL (12N). Calentar a 85 °C durante 2 h. Enfriar a temperatura ambiente y añadir 0,4 ml de metanol. Filtrar con 0,45 µm y pinchar 20 µl de muestra por pinchazo. Su destino era el método de HPLC para de ácidos fenólicos (*apartado 6.4.2.4*).

6.4.2.4. Descripción de los métodos para la medida de ácidos fenólicos, flavonoles y 3-flavanoles mediante HPLC.

El método para ácidos fenólicos aplicado en este estudio se utiliza para cuantificar tanto los ácidos fenólicos (320 nm) como los flavonoles (360 nm). También se utilizó un método para la cuantificación de los 3-flavanoles (catequinas).

Todas las muestras antes de ser analizadas fueron filtradas con una jeringuilla-filtro de 0,45 µm y en todos los casos se utilizaron 20 µl de cada muestra.

Se analizaron en un cromatógrafo Waters 2695 (Waters, USA) equipado con detector variable UV/VIS Waters 996 (Waters, USA). Para la separación se utilizó una columna LiChrosphere RP-18, 5 µm, 250x4 mm (Merck; Darmstadt, Alemania).

Para el análisis de los **ácidos fenólicos y flavonoles** la fase móvil utilizada fue agua/ácido acético (98/2, v/v) a un flujo de 0,8 ml/min. La detección para ácidos fenólicos se realizó a 320 nm y para los flavonoles se realizó a 360 nm, método desarrollado por Martínez (2013).

Para el análisis de **3-flavonoles** la fase móvil utilizada fue agua/ácido perclórico (0,06% v/v) a un flujo de 1 ml/min. La detección para ácidos fenólicos se realizó a 280 nm, basado en el método descrito por Davidov-Pardo (2012).

6.4.2.5. Identificación y cuantificación de fenoles en base a patrones

6.4.2.5.1. Reactivos de patrones

Todos los patrones fueron de grado analítico para HPLC. Ácido cafeico, ácido p-cumarico, ácido ferúlico, ácido sinápico, quercetina (+)catequina y (-)epicatequina de Sigma-Aldrich Chemie (Steinheim, Alemania). Ácido gálico y cafeína de Panreac (Barcelona, España). Ácido clorogénico, miricetina, kaempferol, (-)epicetequin galato, (-)epigalocatequin galato y (-)epigalocatequina de Extrasynthese (Genay, Francia).

6.4.2.5.2. Rangos de las rectas patrón

Los resultados obtenidos con los patrones se presentan en Tabla 6.15. En el caso de los ácidos fenólicos se prepararon en metanol y el rango de la recta patrón fue de 0,6 a 30 mg/l para el ácido clorogénico y de 1 a 50 mg/l para ácido cafeico, p-cumarico, ferúlico y sinápico.

Los patrones de flavonoles se prepararon también en metanol. El rango de las rectas patrón fue de 10 a 100 mg/l para los tres flavonoles estudiados (miricetina, quercetina y kaempferol).

Los patrones de los 3-flavonoles se prepararon en 50/50 (agua /metanol, v/v). El rango de las rectas patrón fue de 2 a 200 mg/l para ácido gálico, (+)catequina,

(-)-epigallocatequina (EGC), (-)-epigallocatequina galato (EGCG), (-)-epicatequina (EC) y (-)-epicatequina galato (ECG). Para la cafeína fue de 20 a 400 mg/l.

Tabla 6.15. Tiempos de retención, espectro y ecuaciones de cada compuesto patrón.

Abs (nm)	FENOL	Tiempo Retención (min)	Espectro (nm)	Ecuaciones	R ²
320	Ac. Clorogénico	15,65	218,0 / 325,5	$y = 22598x - 3542,3$	0,9997
	Ac. Cafeico	17,15	215,6 / 239,1 / 323,2	$y = 38931x - 2757,9$	0,9998
	Ac. P-Cumarico	21,98	227,4 / 308,9	$y = 45360x - 2213$	0,9998
	Ac. Ferúlico	22,48	216,8 / 235,6 / 323,2	$y = 38275x - 2834,9$	0,9999
	Ac. Sinápico	22,70	237,9 / 323,2	$y = 33576x + 3029,4$	0,9994
360	Miricetina	26,95	(213,3) / 253,3 / 373,0	$y = 12901x - 108557$	0,9975
	Quercetina	30,23	254,4 / 370,6	$y = 22812x - 50369$	0,9993
	Kaempferol	33,71	265,1 / 363,6	$y = 29650x - 40161$	0,9995
280	Ac. Gálico	10,32	214,5 / 269,8	$y = 15045x - 6331,5$	0,9999
	(+)Catequina	35,25	278,1	$y = 3984,3x - 7665$	0,9999
	(-)-Epigallocatequina	36,60	269,8	$y = 1006,6x - 6883,6$	1
	(-)-Epigallocatequin galato	49,24	273,3	$y = 6480,6x - 50267$	0,9945
	Cafeína	49,51	272,2	$y = 16236x - 529620$	0,998
	(-)-Epicatequina	50,69	278,1	$y = 3887,9x + 65,095$	0,9993
	(-)-Epicatequin galato	60,03	276,9	$y = 9999,3x - 1141,1$	0,9997

En las ecuaciones de cuantificación de los patrones: **y** representa el área (UA); **x** representa la concentración del patrón (mg/l).

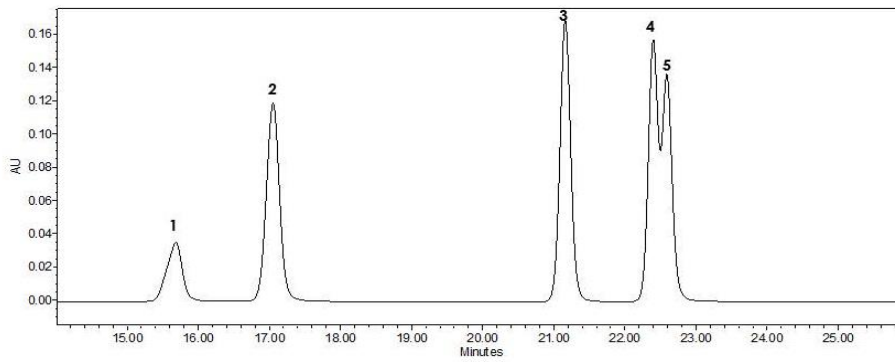
6.4.2.5.3. Perfiles correspondientes a los patrones analizados:

Figura 6.11. Perfil de los tiempos de retención para la recta patrón de los **ácidos fenólicos**: ácido (1) clorogénico, (2) cafeico, (3) p-cumarico, (4) ferúlico y (5) sinapico.

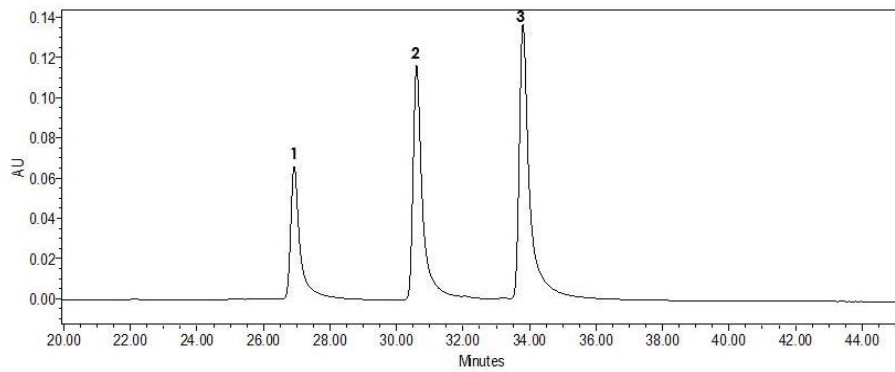


Figura 6.12. Perfil de los tiempos de retención para la recta patrón de **flavonoles**: (1) miricetina, (2) quercetina y (3) kaempferol.

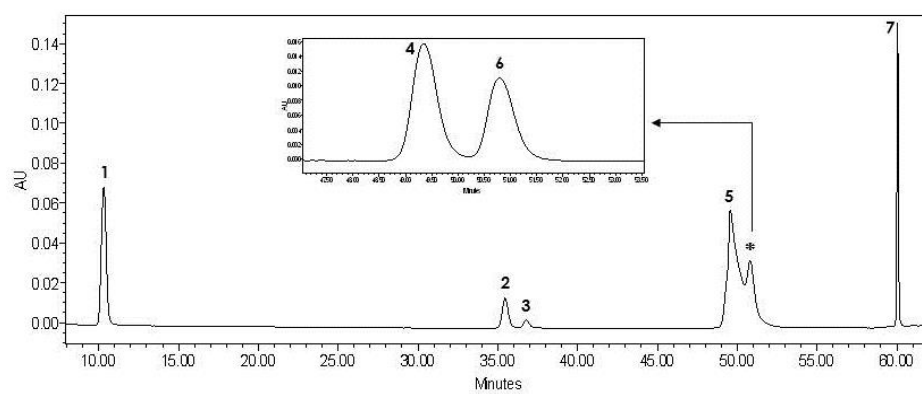


Figura 6.13. Perfil de los tiempos de retención para la recta patrón de **3-flavonoles**: (1) ácido gálico, (2) (+)catequina, (3) (-)epigallocatequina (EGC), (4) (-)epigallocatequin galato (EGCG), (5) cafeína, (6) (-)epicatequina (EC), (7) (-)epicatequin galato (ECG)).

6.4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En general se han identificado y en algunos casos cuantificado, la mayoría de los principales compuestos fenólicos indicados en bibliografía (Tabla 6.1).

Tabla 6.16. Concentraciones (mg/l) de los compuestos fenólicos identificados y cuantificados mediante HPLC para cada uno de los extractos (té verde, salvado y ajo).

Familia	Fenol	Libres	Conjugados	Totales
Té verde				
Ac. Fenólicos	Ác. Gálico	364,493 (19,625)*	n.d.**	364,493 (19,625)
	Ac. p-cumarico	n.d.	36,950 (4,604)	36,950 (4,604)
Flavonoles	Miricetina	212,489 (2,326)	276,543 (2,255)	320,740 (0,284)
	Quercetina	n.d.	87,148 (5,766)	87,148 (5,766)
	Kaempferol	n.d.	43,612 (2,473)	43,612 (2,473)
3-Flavanoles	Cafeína	3909,270 (64,636)	n.d.	3909,270 (64,636)
	EGCG	3258,960 (51,117)	n.d.	3258,960 (51,117)
	EGC	2629,241 (5,866)	n.d.	2629,241 (5,866)
	ECG	685,836 (18,891)	n.d.	685,836 (18,891)
Ajo				
Ac. Fenólicos	Ac. sinapico	n.c.***	n.c.	1,352 (0,077)
	Ac. ferúlico	n.c.	n.c.	1,143 (0,022)
	Ac. p-cumarico	n.c.	n.c.	n.c.
Salvado				
Ac. Fenólicos	Ac. ferúlico	31,083 (0,712)	2,011 (0,248)	33,095 (0,901)
	Ac. p-cumarico	n.c.	n.c.	n.c.

*Desviación estandar. ** n.d.= no se ha detectado; ** n.c = no cuantificable.

En el **extracto de té** verde se detectó el ácido gálico que pertenece a los ácidos hidroxibenzoicos, también encontrado en diversos trabajos (Ragaert et al. 2007, Horžić et al. 2009, Unachukwu et al. 2010, López De Dicastillo et al. 2011). El ácido p-cumarico pertenece a los ácidos hidroxicinámicos, sin embargo, este compuesto se ha encontrado conjugado en su totalidad. También se han encontrado los tres flavanoles estudiados, miricetina, que era el compuesto mayoritario de este grupo, quercetina y kaempferol solo en su forma conjugada, lo que coincide con la bibliografía, ya que en todos los casos detectaron los flavonoles como compuestos glicosidados (Kim, Mi-Jeong et al. 2005, Ragaert et al. 2007, Erol 2013). Los 3-flavanoles son los compuestos fenólicos característicos del té verde, por ello se analizaron para caracterizarlo. Como era de esperar se encontraron tres de los principales 3-flavanoles (EGCG, EGC y ECG), siendo el mayoritario el EGCG como indican todos los estudios sobre té verde. Y por otro lado se encuentra la cafeína (xantina), compuesto estimulante del sistema nervioso central que forma parte de las propiedades del té y que resulta ser el compuesto fenólico mayoritario del extracto del té verde. (Atoui et al. 2005, Unachukwu et al. 2010, López De Dicastillo et al. 2011, Erol 2013, Kubglomsong y Theerakulkait 2013)

En el **extracto de ajo** sólo se encontraron ácidos fenólicos aunque en otros estudios se habían encontrado flavonoles (Lanzotti 2006, Gorinstein et al. 2008). El compuesto mayoritario fue el ácido cafeico y en menor medida se detectaron ferúlico y sinápico. También se identificó el ácido p-cumario pero no se pudo cuantificar (<1 mg/l). El ácido cafeico, es biosintetizado mediante una hidroxilación la cual produce el ester cafeico del ácido shikímico, el cual se convierte a ácido clorogénico. Ambos ácidos fenólicos pueden ser sustratos de la enzima PPO (Vámos-Vigyázó 1981). Aunque debido a su baja concentración parece que no tiene mayor efecto sobre la reacción, ya que, al menos en los resultados in vitro, el extracto de ajo funciona de forma eficaz como inhibidor del

pardeamiento. Los compuestos no fenólicos puede que tengan una mayor influencia sobre la reacción enzimática en este caso.

Por último, el **salvado de trigo** presenta una concentración de fenoles relativamente baja, de los cuales sólo pudo ser cuantificado el ácido ferulico, lo que es lógico, ya que es el ácido fenólico mayoritario en el salvado. Sin embargo, hay que tener en cuenta que existen estudios que establecen que la mayoría de los fenoles presentes en el grano del trigo son insolubles y ligados a los componentes de la pared celular (Verma et al. 2009). También se detectó ácido p-cumárico pero no se pudo cuantificar.

Por los resultados obtenidos, el único fenol común para todas las especias, en las condiciones establecidas en este estudio, fue el p-cumárico, y por la poca cantidad detectada no parece plausible que sea el principal componente que actúa como inhibidor. Puede que sea una actuación combinada de algunos compuestos y/o puede que sean compuestos no fenólicos, los que realmente estén actuando como inhibidores de la reacción de PPO.

6.5. CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO

Optimización de la extracción en agua de té verde, ajo y salvado de trigo

En base a los resultados del MSR, en la extracción de ajo influye principalmente el grado de concentración del mismo, mostrando una capacidad predicha para inhibir la PPOp de 59,3 %, en las condiciones de extracción obtenidas (90 °C- 15 min)

En la extracción de salvado de trigo, también es la concentración el que influye en mayor medida. La máxima concentración en las condiciones de extracción óptimas de 41 °C y 15 minutos se obtenía una % IPPOp del 59,1 %.

La extracción de té verde, tiene la particularidad de ser efectiva (aproximadamente 70 % IPPOp), independientemente de las condiciones de procesado y concentración. En base a las variables ΔL^* y Δa^* la extracción optimizada se realizaba aplicando 55 °C durante 7 minutos y usando la menor concentración evaluada.

Perfil polifenólico de los extractos de té verde, ajo y salvado de trigo

En el perfil polifenólico del extracto de té verde se encontraron p-cumarico como ácidos fenólicos y, entre los flavanoles, la miricetina fue el compuesto mayoritario. También se cuantificaron compuestos característicos del té verde, el ácido gálico y 3-flavanoles.

En los perfiles polifenólicos de los extractos de salvado de trigo y ajo sólo se detectaron ácidos fenólicos. En ajo ácido sinápico, ferúlico y p-cumárico en muy bajas concentraciones. En el salvado de trigo sólo se identificaron ácido ferúlico y p-cumarico, y cuantificado sólo el ácido ferúlico.

CAPÍTULO 7. Estudio del efecto de la aplicación de soluciones naturales de té verde, ajo y salvado de trigo en la calidad de patata mínimamente procesada

CAPÍTULO 7. Estudio del efecto de la aplicación de soluciones naturales de té verde, ajo y salvado de trigo en la calidad de patata mínimamente procesada.

7.1. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

Una vez establecidas las condiciones óptimas de las extracciones en agua para cada una de las especias, y realizada su caracterización. Era necesario comprobar, en planta piloto, la efectividad de estos extractos aplicados sobre PMP (cv. *Monalisa*).

Existen estudios donde se explora el uso de especias para extender la vida útil de productos mínimamente procesados:

Martín-Diana et al. (2008) usaron **té verde** como posible agente conservante en lechuga mínimamente procesada y que ya ha sido comentado en otros apartados (Capítulo 3, apartado 3.1).

Diversos autores han llevado a cabo una serie de investigaciones sobre extracto de **salvado** de arroz en patata y plátano como posible alternativa en la reducción de la actividad de la polifenol oxidasa y como consecuencia al pardeamiento (Theerakulkait y Boonsiripiphat 2007, Boonsiripiphat y Theerakulkait 2009, Sukhonthara y Theerakulkait 2011, 2012, Kubglomsong y Theerakulkait 2013). Optimizaron su extracción, analizaron su actividad como inhibidor, estudiaron su acción cuando era desgrasado el salvado y realizaron estudios de corta duración sobre patata y plátano en puré o en lonchas.

Ihl et al. (2003) estudiaron diferentes combinaciones de compuestos con el objetivo de aumentar la vida útil de la lechuga mínimamente procesada. Para ello utilizaron **extracto de ajo** cuyo solvente era el agua y lo combinaron con ácido cítrico, cloruro cálcico o pectina. Observaron mejora en el color pero no

microbiológicamente, probarían con una mayor concentración de ajo (>250 g/l).

7.2. OBJETIVO

Evaluar el efecto que tienen los extractos seleccionados de té verde, salvado de trigo y ajo en la calidad de patata mínimamente procesada (cv. *Monalisa*) almacenada durante 14 a días 4 °C.

7.3. DISEÑO EXPERIMENTAL



Figura 7.1. Diseño experimental para la evaluación de la calidad de PMP tratadas con soluciones naturales basadas en extractos de té verde, ajo y salvado de trigo.

Se prepararon tres bolsas de 225 g (formato para consumidor) por tratamiento y día de análisis (0, 3, 7, 10 y 14) (Figura 7.1). Las lonchas que fueron sumergidas solo en agua, fueron las muestras control. El resto fueron sumergidas 7 minutos en las soluciones 5 % de té verde, 30 % de ajo y 30 % de salvado de trigo a 4 °C. El

día previo al ensayo se prepararon las extracciones de las especias según lo descrito en Capítulo 6 y se guardaron a 4 °C hasta su dilución en las barquetas para el tratamiento de las patatas al día siguiente en el procesado.

7.4. MATERIAL Y MÉTODOS

7.4.1. Procesado mínimo de las PMP

El procesado de la patata (cv. *Monalisa*) se realizó tal y como se ha descrito en Capítulo 1 (*apartado 1.3.1 para Bloque A*). Las patatas una vez desinfectadas, peladas y laminadas, todo el proceso lo realizaron sumergidas en agua a 4 °C. Una vez cortadas y escurridas eran sumergidas 7 min en las soluciones naturales seleccionadas, en una proporción 1:3 y a una temperatura de 4 °C, después eran escurridas y envasadas en bolsas con 225 g de lonchas de patata, y almacenadas durante 14 días a 4 °C.

La preparación de las soluciones naturales, se realizó como se ha descrito en el Capítulo 6 (*apartado 6.3.1.1*), aplicando las condiciones de extracción establecidas (6.3.3.4), filtrado con tela de quesería o, en el caso del salvado, centrifugar a 8000 xg durante 10 min a 4 °C. El filtrado obtenido se volvió a filtrar al vacío papel de filtro con Whatman nº 1 y se guardaban hasta su uso a 4 °C con barrido de N₂ en el espacio de cabeza.

7.4.2. Métodos de análisis

7.4.2.1. pH

Este método de análisis ha sido descrito en detalle en el Capítulo 1 (*apartado 1.3.2.1*).

7.4.2.2. Contenido en sólidos solubles totales

Este método de análisis ha sido descrito en detalle en el Capítulo 1 (*apartado 1.3.2.2*).

7.4.2.3. Contenido de humedad

El método de análisis ha sido descrito en detalle en el Capítulo 1 (*apartado 1.3.2.3*). Para el cálculo del porcentaje de humedad se aplica la Ecuación 2.

7.4.2.4. Composición de la atmósfera interna de las bolsas

Este método de análisis ha sido descrito en detalle en el Capítulo 2 (*apartado 2.4.2.2.4*).

7.4.2.5. Textura

El método de análisis de la textura ha sido descrito en detalle en el Capítulo 1 (*apartado 1.3.2.5*). El texturómetro usado fue TA.XTPlus texture analyser (Stable Micro System) con una célula de carga 30 kg, utilizando 12 lonchas por bolsa analizada.

7.4.2.6. Color

El método de análisis del color instrumental ha sido descrito en detalle en el Capítulo 1 (*apartado 1.3.2.4*).

7.4.2.7. Apreciaciones sensoriales

Se recogieron las observaciones en cada día de análisis y tratamiento. Se registró la apariencia de las patatas, la existencia o no de zonas coloreadas, es decir, si se observa pardeado. Se analizaba si olores extraños eran detectados tras abrir la bolsa y tras cinco minutos, para evaluar la pérdida de la intensidad de lo detectado inicialmente. Se registró si había sequedad superficial de la patata o en su caso la presencia de exudación.

7.4.2.8. Análisis estadístico

Se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento y los datos fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA) empleando el paquete estadístico IBM SPSS Statistics 21 para Windows. En el caso de detectar diferencias significativas entre los tratamientos ($\alpha = 0,05$) se compararon mediante el test de Tukey.

7.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.5.1. pH

En cuanto al **pH** de las lonchas tratadas con las soluciones naturales (Tabla 7.1), todas mostraron valores similares al del control, no parecen influir como lo hacen otros tratamientos antiparadeantes basados en compuestos ácidos. Se comportaron como si hubieran sido sumergidas en agua, ya que el pH de las soluciones es similar al del agua (ajo y salvado pH~6,3) y el pH de té verde más bajo (pH 5,27) (Tabla 6.13).

Las muestras control fueron las únicas donde fue evidente la disminución del pH a lo largo del tiempo mostrándose significativamente diferentes a día 10 y a día 14 con el menor valor ($5,68 \pm 0,06$). Las patatas tratadas no parecen mostrar ninguna tendencia concreta a lo largo del tiempo. El rango de pH va desde pH $> 5,6$ a pH $< 5,95$.

7.5.2. Contenido de humedad

En cuanto al contenido de humedad (%) (Tabla 7.1), en los 7 primeros días no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,05$). Y tampoco existen diferencias significativas a lo largo del tiempo para las patatas control y las tratadas con té verde o ajo ($p > 0,05$). Las lonchas tratadas con salvado de trigo mostraron un aumento significativo a día 10 y 14 ($p < 0,05$). En estos dos últimos días también se observa un comportamiento diferente en las lonchas tratadas con ajo mostrándose ligeramente menor el contenido de humedad ($p < 0,05$).

Tabla 7.1. Análisis estadístico del pH, contenido de humedad y sólidos solubles totales definen la evolución de las PMP.

Tratamiento	d0	d3	d7	d10	d14
pH					
Control	5,89 ^{Cb} (0,08)*	5,82 ^{Cb} (0,04)	5,83 ^{Cc} (0,03)	5,76 ^{Bc} (0,11)	5,68 ^{Aa} (0,06)
Té Verde	5,85 ^{Cab} (0,04)	5,75 ^{Aa} (0,08)	5,80 ^{BCbc} (0,02)	5,83 ^{Ca} (0,04)	5,73 ^{Aa} (0,02)
Ajo	5,83 ^{Ba} (0,03)	5,94 ^{Cc} (0,03)	5,76 ^{Aa} (0,03)	5,93 ^{Cb} (0,01)	5,84 ^{Bb} (0,03)
Salvado	5,80 ^{BCa} (0,02)	5,88 ^{Dbc} (0,05)	5,79 ^{Bb} (0,02)	5,86 ^{CDab} (0,06)	5,72 ^{Aa} (0,04)
Contenido de humedad (%)					
Control	80,42 ^{Aa} (0,14)*	80,95 ^{Aa} (1,15)	82,70 ^{Aa} (2,8)	80,72 ^{Ab} (0,41)	82,27 ^{Ab} (0,93)
Té Verde	79,40 ^{Aa} (1,0)	81,10 ^{Aa} (0,09)	80,65 ^{Aa} (1,02)	80,52 ^{Ab} (0,12)	80,55 ^{Aab} (1,153)
Ajo	79,70 ^{Aa} (0,75)	80,70 ^{Aa} (0,58)	79,95 ^{Aa} (1,06)	79,76 ^{Aa} (0,13)	79,50 ^{Aa} (0,38)
Salvado	78,88 ^{Aa} (0,51)	79,90 ^{ABa} (0,55)	79,79 ^{ABa} (0,72)	80,28 ^{Bab} (0,14)	80,98 ^{Bab} (0,51)
Sólidos solubles (° Brix)					
Control	5,0 ^{Aa} (0,0)*	5,0 ^{Aa} (0,0)	5,7 ^{Cc} (0,29)	5,5 ^{BCc} (0,0)	5,3 ^{Bb} (0,3)
Té Verde	5,0 ^{Aa} (0,0)	5,0 ^{Aa} (0,0)	5,0 ^{Aa} (0,0)	5,0 ^{Aa} (0,0)	5,0 ^{Aa} (0,0)
Ajo	5,0 ^{Aa} (0,0)	5,0 ^{Aa} (0,0)	5,5 ^{Bb} (0,0)	5,5 ^{Bc} (0,0)	5,5 ^{Bc} (0,0)
Salvado	5,0 ^{Aa} (0,0)	5,0 ^{Aa} (0,0)	5,5 ^{Cb} (0,0)	5,3 ^{Bb} (0,3)	5,0 ^{Aa} (0,0)

^{a-c} indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos (columna) para cada día. ^{A-D} indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los días de almacenamiento para cada tratamiento (fila). * Desviación estándar ($n = 9$ para pH y SST y $n = 3$ para % H)

7.5.3. Contenido de sólidos solubles totales

A día 0 y 3 no se observaron diferencias significativas en el contenido de sólidos solubles totales ($^{\circ}$ Brix) (Tabla 7.1) entre los tratamientos ($p < 0,05$). Tras siete días en almacenamiento comienza a haber cambios en los SST, ya que, excepto con el té verde, el resto de tratamientos muestran un incremento significativo en SST a lo largo del tiempo ($p < 0,05$), y diferencias entre los tratamientos sin una tendencia marcada ($p < 0,05$). Este comportamiento ha sido observado en anteriores capítulos (*apartados 1.4.1.2 y 3.5.1*), en las muestras control, y podría ser debido al "endulzamiento" que se produce al exponerlas a temperaturas de refrigeración. Al aparecer de nuevo este comportamiento, cabe pensar que el pH de las soluciones aplicadas interviene en este fenómeno, ya que con soluciones ácidas se ralentizaba la aparición del endulzamiento.

7.5.4. Composición de la atmósfera

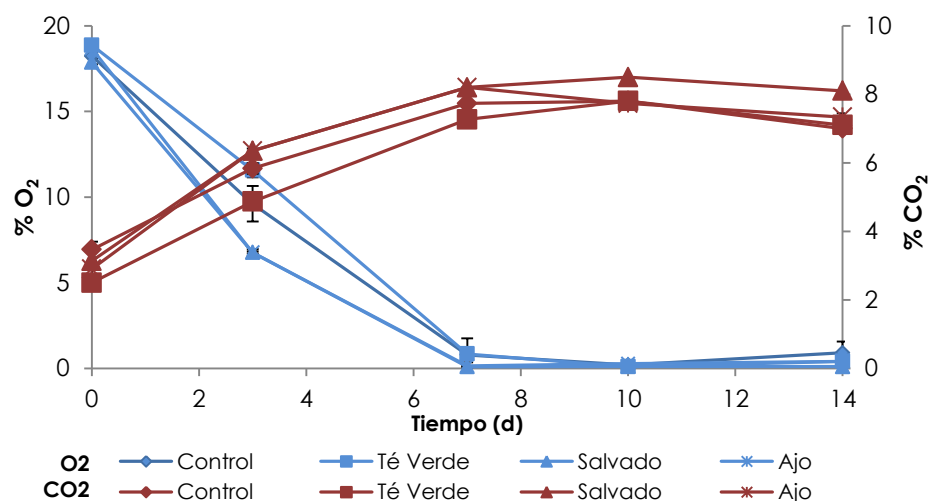


Figura 7.2. Evolución del % O₂ (líneas azules) y del % CO₂ (líneas rojas) en el interior de las bolsas de las PMP tratadas con las soluciones de té verde, ajo y salvado de trigo durante 14 días a 4 °C (IC 95 %, n=3).

Como se puede observar en la gráfica (Figura 7.2) el contenido inicial de O₂ fue de aproximadamente un 18 % O₂ y de 2,5 a 3,5 % de CO₂. Tras siete días en almacenamiento, las patatas, tanto las control como las tratadas, llegaron a una atmósfera menor del 1% O₂ y de alrededor del 8 % CO₂, lo cual indica que puede haberse iniciado la anaerobiosis. Todos los tratamientos se comportan de forma similar. Este consumo de oxígeno está relacionado con el aumento en la tasa de respiración de las patatas debido a que el procesado les provoca estrés, que puede llegar a incrementarse 5 veces su tasa respiratoria respecto a la de una patata entera (Fonseca et al. 2002).

A partir del séptimo día de análisis los resultados no mostraron diferencias significativas en ninguno de los casos ($p < 0,05$). Este comportamiento indicaban que las patatas respiran, están vivas tras el procesado además de estresadas, momento en el cual (tras ser "dañadas") se activa la PPO como sistema de defensa de la patata facilitado además por los cortes realizados, que ponen en contacto los sustratos y las enzimas. Esto es debido a que uno de los productos finales de la reacción de la PPO son las quinonas y los polímeros insolubles y oscuros, melaninas, que impregnan el tejido y sirven de barrera para posibles infecciones (Vámos-Vigyázó 1981). Lo que puede explicar la tendencia a secarse la superficie de las patatas control.

Analizando el comportamiento de los tratamientos para cada día, las muestras tratadas con té verde y ajo el día tres de análisis mostraron los dos valores extremos, es decir, el tratamiento con té verde presentó el valor significativamente más alto de O₂ y por ende el más bajo de CO₂ ($p < 0,05$). Y por el contrario, las muestras tratadas con ajo presentaron el valor más bajo de O₂ y más alto de CO₂ ($p < 0,05$). Sin embargo, el día 7 de análisis, no se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos respecto a la concentración de O₂, pero con el CO₂ el tratamiento con té verde fue significativamente más bajo respecto al resto.

7.5.6. Color

En cuanto a la **luminosidad** (L^*) (Tabla 7.2) se observó que el control y las muestras tratadas con la solución de salvado de trigo tienen un comportamiento similar, es decir, existe un descenso significativo de L^* al comparar el día cero con el resto de días ($p < 0,05$) y respecto a los otros dos tratamientos ($p < 0,05$), té verde y ajo. En cuanto al tratamiento con té verde se observó una disminución significativa de L^* entre el día cero ($73,09 \pm 2,10$) y el 14 ($71,02 \pm 2,18$) ($p < 0,05$). Sin embargo, el ajo no mostró diferencias significativas a lo largo del tiempo.

Comparando los tratamientos entre sí para cada día, decir que las PMP tratadas con té verde y ajo muestran los valores significativamente más altos de luminosidad en todos los días de análisis respecto a lonchas Control y Salvado ($p < 0,05$).

El **coordenada a^*** indica tendencia a colores rojizos en sus valores positivos que combinado con valores de L^* son bajos indicaría tendencia al pardeamiento. En el momento de la aplicación no mostraron diferencias significativas ($p > 0,05$), al contrario de lo observado en Capítulo 3 con una solución de té verde, en el que se observó un incremento en la coordenada a^* respecto al resto de tratamientos (DS+AC o HR+AA), aunque cabe destacar que el valor inicial también fue cercano a cero ($a^* = 0,05$). Hay que tener en cuenta que los extractos fueron extraído en diferentes condiciones (90 °C-5 min, una extracción más intensa) y a una concentración diferente (2,4 mg TV /ml extracto, un 79 % más bajo que la solución utilizada en este capítulo).

Todos los tratamientos y el control muestran un aumento significativo en sus valores de a^* entre el día 0 y el 3 ($p < 0,05$). Las patatas tratadas con salvado de trigo mostraron el mayor incremento del valor de a^* a lo largo del tiempo ($p < 0,05$). La solución de ajo aplicada a las patatas produce un aumento significativo en el último día de almacén ($1,66 \pm 0,51$), pero se mantiene significativamente más bajo respecto al resto de tratamientos ($p < 0,05$).

Destaca la falta de diferencias significativas entre las patatas control y las tratadas con ajo ($p>0,05$). Sin embargo, era apreciable la presencia de pardeamiento en el caso de las muestras control, y la falta de él en las de ajo. Esto es debido a que las muestras control presentaban una sequedad superficial con presencia evidente de almidón seco adherido, lo que aportaba un color blanquecino dando valores de a^* más bajos, se debe tener en cuenta los valores bajos de L^* en el control, que son un indicativo pardeamiento (ver Figura 7.6). Este hecho se observa mejor en los gráficos (Figura 7.3) donde se representan ambos parámetros.

Por último, comparando los valores de la **coordenada b^*** para todos los tratamientos se encontró un descenso significativo ($p<0,05$) entre el día cero y el resto de días, es decir, que disminuye la coloración amarillenta, tendencia ya observada en Capítulo 3, pero los valores son altos (>25 y <30), ya que con la aplicación de compuestos sintéticos como DS+AC o HR+AA los valores bajaban hasta aproximadamente 19.

Respecto a la comparativa entre los tratamientos a día cero, los tratamientos con té verde, ajo y salvado de trigo no mostraron diferencias significativas entre ellos ($p<0,05$) y son significativamente más altas que el control ($p<0,05$). Este último muestra en todos los días los valores de b^* más bajos respecto al resto de tratamientos. El día 10 de análisis las patatas tratadas con té verde y ajo mostraron valores significativamente más altos que en patatas tratadas con salvado ($p<0,05$), cuyo valor fue el más bajo ($24,27\pm 2,88$). Sin embargo, el día catorce estas diferencias desaparecieron ($p>0,05$).

Tabla 7.2. Análisis estadístico de la evolución del color (L^* , a^* y b^*) de PMP tras ser tratadas con las soluciones de inmersión de té verde, ajo y salvado trigo y almacenadas durante 14 días a 4 °C.

Tratamiento	d 0	d 3	d 7	d 10	d 14
L^*					
Control	70,54 ^{Ba} (3,13)*	66,39 ^{Aa} (6,70)	67,74 ^{Aa} (5,58)	67,74 ^{ABa} (4,73)	65,18 ^{Aa} (3,98)
Té Verde	73,09 ^{Cb} (2,10)	70,49 ^{BCb} (2,55)	71,21 ^{ABc} (2,37)	71,21 ^{ABb} (2,28)	71,02 ^{Ac} (2,18)
Ajo	72,54 ^{Ab} (2,25)	72,21 ^{Ab} (3,13)	71,54 ^{Ac} (2,30)	71,54 ^{Ab} (2,12)	71,53 ^{Ac} (2,01)
Salvado	71,81 ^{Bab} (2,74)	67,90 ^{Aa} (4,95)	66,91 ^{Ab} (3,83)	66,91 ^{Aa} (3,85)	68,40 ^{Ab} (3,45)
a^*					
Control	0,026 ^{Aa} (0,48)	1,03 ^{Bb} (0,97)	1,18 ^{Ba} (0,639)	1,14 ^{Ba} (0,67)	1,31 ^{Ba} (0,71)
Té Verde	0,020 ^{Aa} (0,37)	1,28 ^{Bb} (0,66)	1,59 ^{Cb} (0,629)	1,81 ^{Cb} (0,54)	1,85 ^{Cb} (0,54)
Ajo	-0,084 ^{Aa} (0,43)	0,62 ^{Ba} (0,57)	1,03 ^{Ca} (0,564)	1,31 ^{Ca} (0,51)	1,66 ^{Dab} (0,51)
Salvado	0,058 ^{Aa} (0,41)	1,27 ^{Bb} (1,17)	2,34 ^{Cc} (0,863)	3,05 ^{Dc} (0,95)	2,45 ^{Cc} (0,81)
b^*					
Control	25,69 ^{Ba} (2,32)	20,68 ^{Aa} (3,36)	19,70 ^{Aa} (3,74)	20,51 ^{Aa} (3,04)	19,66 ^{Aa} (3,77)
Té Verde	28,51 ^{Bb} (2,16)	26,10 ^{Ac} (2,08)	26,40 ^{Ac} (2,53)	26,99 ^{Ac} (1,96)	26,79 ^{Ab} (1,83)
Ajo	27,72 ^{Bb} (2,21)	25,34 ^{Abc} (2,75)	26,08 ^{Abc} (2,41)	26,46 ^{Ac} (2,45)	26,40 ^{Ab} (2,20)
Salvado	28,12 ^{Bb} (2,56)	24,45 ^{Ab} (3,08)	24,73 ^{Ab} (2,81)	24,27 ^{Ab} (2,88)	25,51 ^{Ab} (2,63)

^{A-D} indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los días de almacenamiento para cada tratamiento (fila). ^{a-d} indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos para cada día (columna). *Desviación estándar ($n=36$).

Para evaluar el comportamiento global del color se representan a continuación los valores de L^* respecto a las coordenadas a^* o b^* .

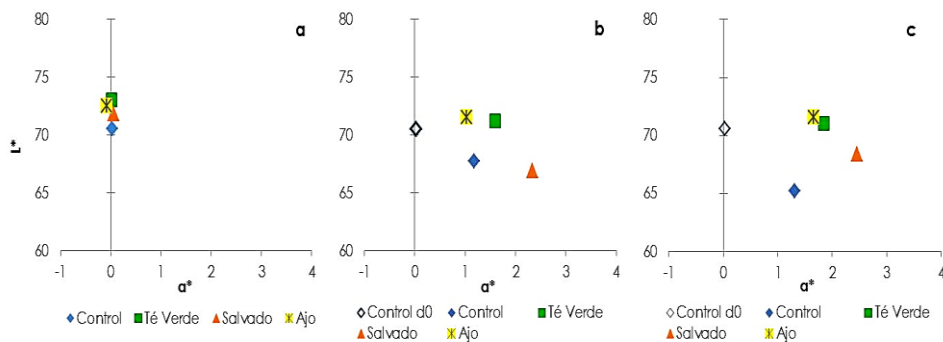


Figura 7.3. Representación de los parámetros L^* respecto a a^* en el momento inicial (a), tras 7 días (b) y a día 14 (c) de almacenamiento a 4°C.

En la Figura 7.3 a se observa fácilmente como las muestras tratadas y el control tienen valores altos de L^* y valores de a^* alrededor de cero. En el día 7 de análisis (Figura 7.3 b), comenzaron a diferenciarse dos grupos, un grupo con el control y salvado, con valores que muestran un descenso pronunciado en la luminosidad y un aumento de los valores de a^* (tienden a coloraciones marronaceas) lo que indica el comienzo del pardeamiento. El otro grupo está compuesto por los tratamientos de té verde y ajo que mantienen la luminosidad alta, aunque aumentan en los valores de a^* pero en menor medida que el otro grupo. Lo que indica que mantienen bastante bien la apariencia de las lonchas mediante el control del pardeamiento en las condiciones de almacenamiento establecidas (ver Figura 7.6). Y el día 14 (Figura 7.3 c) si se compara con las lonchas control, la solución de salvado muestra una capacidad inhibición del pardeamiento baja. Sin embargo, el té verde y ajo presentan una capacidad alta.

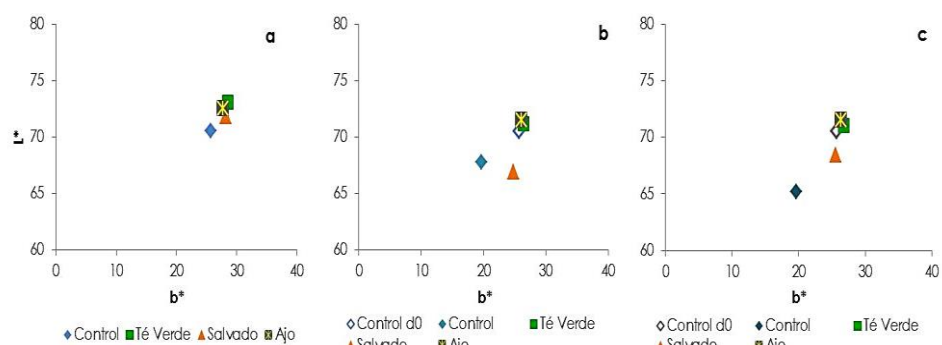


Figura 7.4. Representación de los parámetros L* respecto a b* en el momento inicial (a), tras 7 días (b) y a día 14 (c) de almacenamiento a 4°C.

Analizando las gráficas L* respecto a b*, en el día cero (Figura 7.4 a) no se observa ningún comportamiento anómalo. Tras 7 días (Figura 7.4 b), se forman los mismos grupos diferenciados vistos anteriormente, ya que no hay que olvidar que los tres parámetros están interrelacionados. El grupo de las soluciones de té verde y ajo mantienen valores similares al control a día cero. El otro grupo con el control y el salvado producen un descenso de la luminosidad y los valores de b* en control se distancian significativamente de las lonchas tratadas. En la Figura 7.4 (c), representando los valores tras 14 días, se diferencia de forma muy evidente las muestras control de las tratadas con té verde, salvado de trigo o ajo.

7.5.5. Textura

La textura viene descrita por la fuerza máxima (N) y la distancia (mm) a la que se produce. En general, una fuerza máxima alta y una distancia pequeña indicarían que la patata es firme (dura y poco flexible) y, en el caso de mostrar valores bajos de fuerza y una distancia grande, indicaría una patata flexible poco firme.

En cuanto a la fuerza máxima (F_{max}) a lo largo del tiempo para cada tratamiento (Tabla 7.3) se observó que a partir del día 7 los valores aumentaron significativamente ($p < 0,05$), excepto para el tratamiento con ajo donde el aumento significativo en los valores de F_{max} se produjo el día 3. El aumento en fuerza máxima a lo largo del almacenamiento, ya había sido observado en muestras control y tratadas con HR+AA, en el Capítulo 2 (Bloque A).

Si se comparan los tratamientos entre sí para cada día, cabría destacar que las PMP tratadas con la solución de ajo a día cero muestra el valor significativamente más bajo ($55,63 \pm 4,6$ N) respecto al tratamiento con té verde o muestras control ($p < 0,05$). Y los días 7, 10 y 14 las PMP tratadas con la solución de ajo siguen mostrando el mismo comportamiento, sin mostrar diferencias a lo largo del tiempo ($p > 0,05$), mantuvieron en valores de F_{max} similares a las patatas control a día 0, durante todo el almacenamiento.

Analizando el parámetro de distancia (mm) a lo largo del tiempo, los tratamientos con ajo y el té verde no muestran diferencias significativas a lo largo del almacenamiento, es decir, mantienen similar flexibilidad aunque aumente la dureza. El control y las muestras tratadas con salvado muestran un comportamiento similar entre sí, donde los valores de distancia no cambian los dos primeros días de análisis, y a partir del día 7 aumenta la distancia de forma significativa ($p < 0,05$) es decir, aumenta su flexibilidad a la vez que su resistencia al corte, puede indicar cierto comportamiento gomoso de las lonchas.

Tabla 7.3. Análisis estadístico de la evolución de la fuerza máxima (N) y distancia (mm) de las PMP.

Tratamiento	d0	d3	d7	d10	d14
Fuerza máxima (N)					
Control	61,36 ^{Ab} (8,35)*	63,14 ^{Aab} (8,31)	73,60 ^{Bb} (10,00)	73,07 ^{Bb} (9,20)	70,07 ^{Bb} (9,76)
Té verde	66,07 ^{Ac} (7,55)	65,25 ^{Ab} (5,87)	68,58 ^{ABb} (8,29)	71,82 ^{Bb} (9,67)	71,54 ^{Bb} (8,30)
Ajo	55,63 ^{Aa} (4,64)	60,31 ^{Ba} (7,22)	61,46 ^{Ba} (6,13)	63,17 ^{Ba} (7,29)	62,95 ^{Ba} (6,58)
Salvado	58,76 ^{Aab} (7,87)	60,44 ^{Aa} (8,77)	70,63 ^{Bb} (10,02)	69,35 ^{Bb} (6,93)	68,36 ^{Bab} (10,25)
Distancia (mm)					
Control	3,42 ^{Aa} (0,27)	3,49 ^{ABab} (0,27)	3,63 ^{BCa} (0,27)	3,73 ^{Cb} (0,30)	3,69 ^{Cb} (0,25)
Té verde	3,51 ^{Aa} (0,22)	3,56 ^{Ab} (0,23)	3,60 ^{Aa} (0,30)	3,61 ^{Aab} (0,29)	3,66 ^{Aab} (0,16)
Ajo	3,38 ^{Aa} (0,22)	3,49 ^{Aab} (0,17)	3,50 ^{Aa} (1,3)	3,50 ^{Aa} (0,26)	3,51 ^{Aa} (0,30)
Salvado	3,41 ^{Aa} (0,32)	3,39 ^{Aa} (0,33)	3,65 ^{Ba} (0,25)	3,58 ^{ABab} (0,29)	3,55 ^{ABab} (0,36)

^{a-c} indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos para cada día (columna). ^{A-C} indica diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los días de almacenamiento para cada tratamiento (fila). * Desviación estándar ($n=36$).

Para visualizar de forma global los parámetros de textura, se han representado los valores de F_{max} respecto D_{fmax} , para analizar el comportamiento de las PMP tratadas con las soluciones naturales.

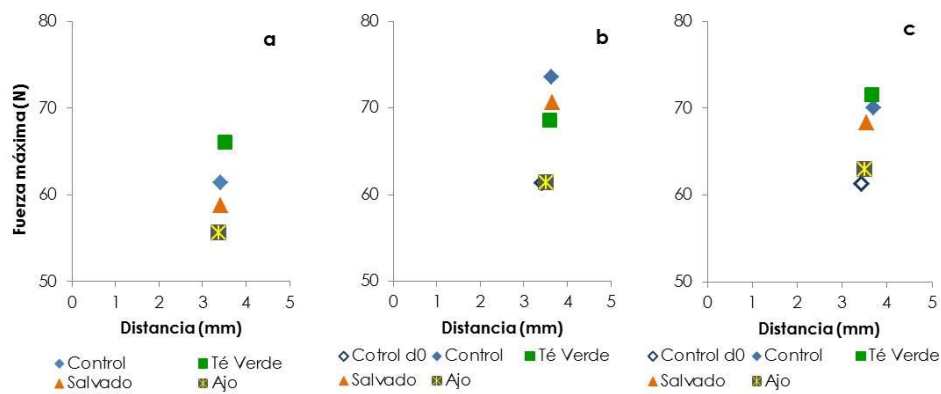


Figura 7.5. Representación de los parámetros fuerza máxima respecto a distancia en el momento inicial (día 0) **(a)**, a día 7 **(b)** y a día 14 **(c)** de almacenamiento a 4°C.

Cabe destacar que las lonchas tratadas con la solución de ajo fueron las que mantuvieron una firmeza similar a las de las muestras control en el día cero, es decir, no han mostrado cambios en la firmeza a lo largo del tiempo (Figura 7.5). Esto puede estar también vinculado a las apreciaciones sensoriales (*apartado 7.5.7*) registradas de las lonchas tratadas con ajo, las cuales mantuvieron una humedad superficial e interior que no se apreció en el resto de tratamientos.

En cuanto al resto de tratamientos se observa un aumento en la fuerza máxima, lo cual produce un aumento en la dureza en general. Esto puede ser en parte debido a la sequedad superficial detectada a lo largo del almacenamiento que en mayor o menor medida se observó antes o después en el análisis (*apartado 7.5.7*). Este comportamiento se observó también en las patatas mínimamente procesadas tratadas con 4-hexilresorcinol y AA y sobre todo en las patatas control (Capítulo 1, *apartado 1.4.2.3*).

7.5.7. Apreciaciones sensoriales

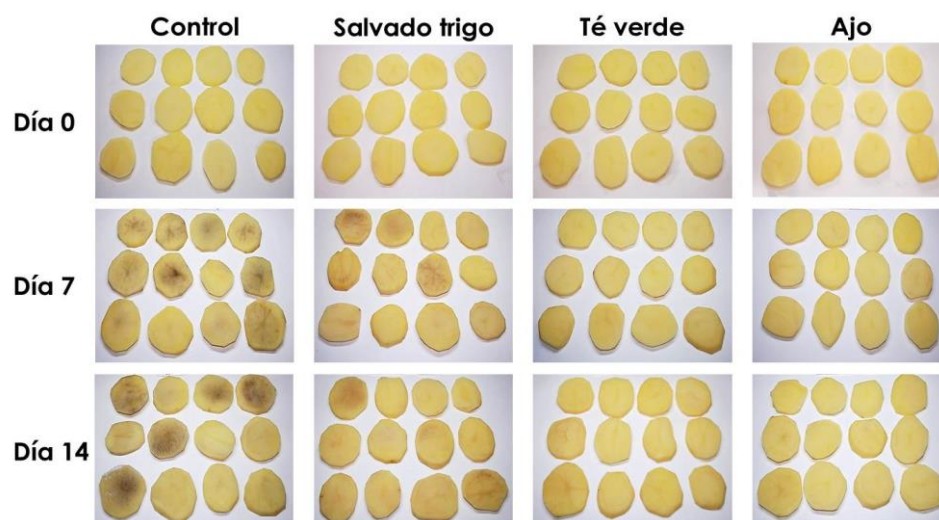


Figura 7.6. Apariencia de las PMP tratadas con cada uno de los extractos optimizados (té verde, ajo y salvado) respecto lonchas control.

Las apreciaciones registradas acerca de la apariencia son apoyadas por las fotos que se presentan en Figura 7.6. Las muestras control al séptimo día ya no eran aceptables, presentaban un pardeamiento marrónáceo y se detectó almidón (polvo blanquecino) sobre la superficie, así como una deshidratación general de la patata, lo que podría explicar el aumento en la dureza de estas muestras. Y el olor en bolsa fue normal excepto en el último día que ya se detectaba un ciertos olores extraños.

Las patatas tratadas con salvado de trigo mostraron un cierto pardeamiento a partir del día 7 aunque era más suave que en las muestras control, las cuales ya no eran aceptables a nivel visual. Tras 14 días están pardeadas pero en menor intensidad que las control, lo que concuerda con los resultados instrumentales de color. En cuanto al olor, en los últimos días de almacén sí que se detectaron

ciertos olores extraños, lo cual es lógico tras lo comentado sobre la composición de la atmósfera interna de las bolsas.

Las muestras tratadas con las soluciones de ajo y de té verde consiguieron mantener una apariencia aceptable de las lonchas a lo largo de los 14 días de almacenamiento a 4 °C. Las lonchas tratadas con ajo destacaron por su luminosidad, que no fue tan evidente en el caso del té verde, pero puede ser debido a que el extracto de té verde era oscuro, lo que se detectó instrumentalmente con valores más altos de a^* . En cuanto al olor, en el caso del tratamiento de té verde el comportamiento fue como el de salvado y control, es decir, los últimos días se detectó ciertos olores extraños. Sin embargo, en el caso del ajo, inicialmente fue muy evidente el olor de la solución, punzante y penetrante. Según avanzó el almacenamiento se mantuvo el olor del ajo pero en menor medida y en los últimos días se mezclaba ligeramente con el olor extraño que se detectaba en el resto de tratamientos.

Por último comentar que, así como el uso de TV en lonchas de patatas producía una ligera sequedad según avanzaba el almacenamiento, con el uso del ajo fue todo lo contrario, se mantuvieron con una cierta humedad superficial (como de recién cortada) durante los 14 días y, no se observó en absoluto exudación. Esto parece que pudo ayudar al mantenimiento de la textura de las patatas similar al de una patata recién cortada, como se observó a nivel instrumental.

Debido a que en el séptimo día de almacenamiento se detectó una disminución significativa del oxígeno en la bolsa, se realizó un cocinado de las muestras que mejor aspecto mantenían y se valoró si se detectaba en ellas el sabor esperado de las patatas o si se detectaban sabores extraños. Para ello las lonchas de muestras control, té verde y ajo se cocinaron a 98 °C-10 min (sin sal) (explicado en detalle en capítulo 3). Se probaron los 5 discos cocinados.

Los resultados fueron que las lonchas **control** sabían a patata cocida normal, pero su color ya no era aceptable. Las muestras tratadas con **té verde** también

sabían a patata cocida. Con la aplicación en la patata del extracto de **ajo** se detectó un ligero sabor a ajo, su característica sensación punzante en boca. Pero era un sabor agradable, aunque no es el sabor esperado de una patata cocida.

En función de los resultados obtenidos para las soluciones de té verde y de ajo parecen alternativas prometedoras contra el pardeamiento de las PMP (cv. *Monalisa*) almacenadas 14 días a 4 °C. Si se tienen en cuenta los resultados de la caracterización del Capítulo 6 (apartado 6.3.3.4), el extracto de salvado presentaba una capacidad de inhibición alta, pero al aplicarse en patatas mínimamente procesadas mantiene el grado de inhibición de forma limitada. Por los resultados, parece que algunos de sus compuestos tienen un papel de sustratos, que terminan siendo más potentes que la posible capacidad inhibidora que se observa al inicio. Los ensayo *in vitro*, como ya se han comentado tienen una serie de limitaciones (mayor grado de contacto enzima-inhibidor, tiempo de exposición corto y limitaciones en las concentraciones). Pero pueden ser una herramienta para evaluar y seleccionar previamente compuestos para estudiar posteriormente en una matriz real de alimento y sus condiciones.

7.6. CONCLUSIONES DEL CAPÍTULO

El color instrumental mostró que los tratamientos TV (5 %) y Ajo (30 %) son capaces de reducir el deterioro visual, controlando el avance del pardeamiento observado en las muestras control. El salvado ha mostrado una capacidad de control del pardeamiento limitada (<7 días).

La textura de la patata, al final del almacenamiento, con respecto al control aumentó en el caso del té verde y del salvado de trigo. El ajo mantuvo valores similares a los de una patata recién cortada durante todo el almacenamiento.

El pH, SST, y la humedad se mantuvieron en los mismos rangos que el control a lo largo del almacenamiento, a excepción con el ajo que mostró una reducción de su contenido de humedad al final del almacenamiento.

Los resultados de color concuerdan con las apreciaciones recogidas durante los análisis. Lo que lleva a concluir que un extracto de té verde o de ajo podrían ser unas alternativas naturales al uso de sulfitos en PMP (cv. Monalisa).

CONCLUSIONES GENERALES

CONCLUSIONES GENERALES

1. Selección inicial de compuestos con capacidad antipardeante como alternativa a los sulfitos en PMP.

El tratamiento con 0,005 % HR + 2 % AA, la menor concentración de HR evaluada, fue la mejor alternativa al tratamiento de sulfitos, 0,1 % SD + 0,5 % AC, ya que mantiene la calidad visual de las lonchas de patata mínimamente procesadas durante 14 días a 4 °C.

La solución alternativa de 0,5 % NAC + 2 % AC muestra cierto control sobre el color de la patata a nivel instrumental. Sin embargo, visualmente, se detectaron defectos puntuales marcados en las zonas de corte, por lo que solo fue efectivo para controlar el pardeamiento durante 7 días en patata cv. *Monalisa*.

Por otro lado, cabe destacar que las lonchas de patata tratadas con 0,1 % SD + 0,5 % AC mostraron una ligera tendencia al blanqueamiento de la superficie y cierta exudación que se detectaba al final del almacenamiento.

2. Efecto sobre la calidad de la PMP de los modificadores de la textura aplicados en el procesado.

La aplicación de un choque térmico a 50 °C- 5 min previo al tratamiento antipardeante 0,005 % HR + 2 % AA, mantiene la calidad visual y de textura aceptable durante 14 días almacenadas a 4 °C.

La aplicación de choques térmicos entre 50-65 °C durante 5 min disminuye la dureza de las PMP pero la incrementan cuando las PMP son cocinadas,

esto es debido a que se ha producido la activación de la enzima PME. Este efecto es mayor cuanto más alta es la temperatura aplicada.

El choque térmico afecta a la calidad visual de las PMP al acelerar la actividad de la PPO. Sin embargo, si se usa combinado con la solución antipardeante 0,005 % HR + 2 % AA, se observó una disminución drástica del pardeamiento enzimático producido en las lonchas de PMP, principalmente a las temperaturas de 50 y 60 °C-5 minutos.

La adición de 0,2 % de CC a las soluciones antipardeantes estudiadas no muestra ningún efecto en el control del deterioro de la calidad visual ni de la textura. Pero la aplicación a las patatas de un choque térmico (55 y 65 °C durante 5 min) con presencia de CC al 2 % en el agua del tratamiento térmico y, posteriormente tratadas con la solución antipardeante 0,005 % HR + 2 % AA, no muestra una mejora en la calidad global de las patatas, por lo que no se justificaría, en las condiciones estudiadas, aplicar esta combinación en las patatas mínimamente procesadas.

En cuanto al tipo de enfriamiento a utilizar, no se encontraron diferencias significativas entre usar un baño de hielo y hielo líquido, por lo que no parece justificado el empleo de este último, dado que incrementa el coste y puede ocasionar efectos negativos en la calidad.

3. Validación de métodos espectrofotométricos de AAox y CTF para lector de multiplacas.

Se validaron un método para determinar el contenido total de fenoles y otro para la actividad antioxidante, ambos para lector multiplacas, que permiten realizar un mayor número de ensayos en menor tiempo, mayor número de repeticiones y además reducir el coste respecto al uso de los métodos convencionales en cubeta.

4. Selección y optimización de extractos de especias.

De 14 especias elegidas, solo el té verde, el ajo y el salvado de trigo presentaron mayor capacidad para inhibir la PPOp.

Se observó una relación directa entre la actividad antioxidante y el contenido total de fenoles de los extractos estudiados y respecto a ambas condiciones de extracción (55 °C-15 min o 90 °C-10 min). Sin embargo, por un lado, una mayor capacidad antioxidante o contenido fenólico no equivalen a una mayor capacidad en la inhibición de la PPO, debido a que son muchos y muy diversos los mecanismos por los que se puede inhibir la reacción de oxidación de la PPO. Por otro lado, con el uso de extractos de especias existe una línea muy delgada entre los que podrían actuar como sustratos y los que, por el contrario, tendrían un efecto inhibitor.

En base a los resultados del MSR, en la extracción de ajo influye principalmente el grado de concentración del mismo, mostrando una capacidad predicha para inhibir la PPOp de 59,3 %, en las condiciones de extracción obtenidas (90 °C- 15 min).

En la extracción de salvado de trigo, también es la concentración el que influye en mayor medida. A la máxima concentración, en las condiciones de extracción óptimas de 41 °C y 15 minutos, se predice un % IPPOp del 59,1 %.

La extracción de té verde tiene la particularidad de ser efectiva (aproximadamente 70 % IPPOp), independientemente de las condiciones de extracción. La extracción optimizada del té verde es a 55 °C y 5 minutos aplicada a la mínima concentración.

En cuanto a la caracterización fenólica de los extractos, el té verde, que posee el mayor contenido de fenoles de entre las especias optimizadas, también muestra la mayor variedad en tipos de fenoles estudiados, tanto ácidos fenólicos como flavonoles y 3-flavanoles. Sin embargo, los extractos de ajo y salvado de trigo muestran solo ácidos fenólicos y en cantidades muy bajas.

5. Capacidad antipardeante de los extractos de especia seleccionados sobre la calidad de PMP.

Las soluciones seleccionadas de té verde y de ajo mantienen la calidad de la patata a lo largo del tiempo de almacenamiento, tanto a nivel visual como de textura.

La solución de salvado de trigo mostró una eficacia limitada en el control del pardeamiento.

6. Valoración final.

Las soluciones de té verde y el ajo, en las condiciones estudiadas, poseen un potencial antipardeante suficiente como para mantener su efecto a lo largo de un almacenamiento de 14 días a 4 °C.

No se pudo establecer qué compuestos son los que producen este efecto, pero estos resultados se podrían explicar por la existencia de pequeños péptidos en el caso de té verde y compuestos organosulfurados en el caso del ajo.

Aun quedarían aspectos a seguir investigando en relación a la calidad de las patatas mínimamente procesadas tratadas con las soluciones que han funcionado como antipardeantes, cómo su capacidad antimicrobiana, los resultados en otras variedades de patatas o al emplear atmósferas modificadas.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- Abbott, J. A. y Buta, J. G. (2002). Effect of antibrowning treatment on color and firmness of fresh-cut pears. *Journal of Food Quality* 25(4): 333-341.
- Abreu, M., Beirão-da-Costa, S., Gonçalves, E. M., Beirão-da-Costa, M. L. y Moldão-Martins, M. (2003). Use of mild heat pre-treatments for quality retention of fresh-cut 'Rocha' pear. *Postharvest Biology and Technology* 30(2): 153-160.
- Abu-Ghannam, N. y Crowley, H. (2006). The effect of low temperature blanching on the texture of whole processed new potatoes. *Journal of Food Engineering* 74(3): 335-344.
- Adams, J. B. (1991). Significance of enzymes in individual vegetables. *Food Enzymology*. Fox, P. F. Essex, England, Elsevier Science Publishers LTD. 1: 499-544.
- Aguilar, C. N., Anzaldúa-Morales, A., Talamás, R. y Gastélum, G. (1997). Low-temperature blanch improves textural quality of french-fries. *Journal of Food Science* 62(3): 568-571.
- Aguirre, O. L., García, G. F. J., García, J. T., Illera, F. M., Juncadella, R. M., Lizondo, C. M. y al., e. (2001). Validación de métodos analíticos. Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria. Barcelona.
- Ahvenainen, A. T., Hurme, E. U., Hägg, M., Skyttä, E. H. y Laurila, E. K. (1998). Shelf-life of prepeeled potato cultivated, stored, and processed by various methods. *Journal of Food Protection* 61(5): 591-600.
- Ahvenainen, R. (1996). New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruit and vegetables. *Trends in Food Science and Technology* 7(6): 179-187.
- Ahvenainen, R. (2000). Minimally processing of fresh-cut produce. *Minimally processed fruits and vegetables*. Publication, A.: 277-288.
- Al-Duais, M., Müller, L., Böhm, V. y Jetschke, G. (2009). Antioxidant capacity and total phenolics of *Cyphostemma digitatum* before and after processing: use of different assays. *European Food Research and Technology* 228(5): 813-821.

- Alessandrini, L., Romani, S., Rocculi, P., Sjöholm, I. y Rosa, M. d. (2011). Effect of steam cooking on the residual enzymatic activity of potatoes cv. Agria. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 91(12): 2140-2145.
- Alimentaria (2012). Comodidad , funcionalidad e innovación , claves del éxito de los productos de IV y V gama. *Alimentaria: Investigación, tecnología y seguridad*(431): 64.
- Alvarez-Parrilla, E., de la Rosa, L. A., Rodrigo-García, J., Escobedo-Gonzalez, R., Mercado-Mercado, G., Moyers-Montoya, E., Vazquez-Flores, A. y Gonzalez-Aguilar, G. A. (2007). Dual effect of beta-cyclodextrin on the inhibition of apple polyphenol oxidase by 4-hexylresorcinol (HR) and methyl jasmonate (MJ). *Food Chemistry* 101(4): 1363-1373.
- Alvarez, M. D. y Canet, W. (1998). Rheological characterization of fresh and cooked potato tissues (cv. Monalisa). *European Food Research and Technology* 207(1): 55-65.
- Alzamora, S. M., Salvatori, D., Tapia, M. S., López-Malo, A., Welti-Chanes, J. y Fito, P. (2005). Novel functional foods from vegetable matrices impregnated with biologically active compounds. *Journal of Food Engineering* 67(1-2): 205-214.
- Alzamora, S. M., Tapia, M. S. y Welti Chanes, J. (1998). New strategies for minimally processed foods. The role of multitarget preservation. *Food Science and Technology International* 4(5): 353-361.
- Amarowicz, R. y Shahidi, F. (2003). Presence of two forms of methylated (-)-epigallocatechin-3-gallate in green tea. *Food / Nahrung* 47(1): 21-23.
- Amodio, M. L., Cabezas-Serrano, A. B., Peri, G. y Colelli, G. (2011). Post-cutting quality changes of fresh-cut artichokes treated with different anti-browning agents as evaluated by image analysis. *Postharvest Biology and Technology* 62(2): 213-220.
- Andersson, A., Gekas, V., Lind, I., Oliveira, F. y Öste, R. (1994). Effect of preheating on potato texture. *Crit Rev Food Sci Nutr* 34(3): 229-251.
- Angos, I., Virseda, P. y Fernandez, T. (2008). Control of respiration and color modification on minimally processed potatoes by means of low and high O₂/CO₂ atmospheres. *Postharvest Biology and Technology* 48(3): 422-430.
- Anónimo (2013). Antioxidantes: barrera a favor de la calidad. *Tecnifood* 88: 24-37.

- Anthon, G. E. y Barrett, D. M. (2002). Kinetic Parameters for the Thermal Inactivation of Quality-Related Enzymes in Carrots and Potatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(14): 4119-4125.
- Anthon, G. E. y Barrett, D. M. (2005). Characterization of the Temperature Activation of Pectin Methylesterase in Green Beans and Tomatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(1): 204-211.
- Anthon, G. E., Blot, L. y Barrett, D. M. (2005). Improved firmness in calcified diced tomatoes by temperature activation of pectin methylesterase. *Journal of Food Science* 70(5): 342-347.
- AOAC (2000). *Official Methods of Analysis*, AOAC International.
- Arias, E., González, J., Oria, R. y Lopez-Buesa, P. (2007a). Ascorbic acid and 4-hexylresorcinol effects on pear PPO and PPO catalyzed browning reaction. *Journal of Food Science* 72(8): C422-429.
- Arias, E., González, J., Peiró, J. M., Oria, R. y Lopez-Buesa, P. (2007b). Browning prevention by ascorbic acid and 4-hexylresorcinol: Different mechanisms of action on polyphenol oxidase in the presence and in the absence of substrates. *Journal of Food Science* 72(9): C464-470.
- Artes, F., Gomez, P. A. y Artes-Hernandez, F. (2007). Physical, physiological and microbial deterioration of minimally fresh processed fruits and vegetables. *Food Science and Technology International* 13(3): 177-188.
- Asociación Española de Frutas y Hortalizas Lavadas, Listas para el consumo (2013). IV Gama. Disponible en <http://www.afhorfresh.es>.
- Ates, S., Pekyardimci, S. y Cokmus, C. (2001). Partial characterization of a peptide from honey that inhibits mushroom polyphenol oxidase. *Journal of Food Biochemistry* 25(2): 127-137.
- Atoui, A. K., Mansouri, A., Boskou, G. y Kefalas, P. (2005). Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry* 89(1): 27-36.
- Ávila, I. (2011). Los sulfitos como conservantes y su control en los alimentos: ¿Beneficio o riesgo para la salud?. Disponible en <http://www.madridsalud.es/temas/aditivos.php>.
- Ayala-Zavala, J. F., Oms-Oliu, G., Odriozola-Serrano, I., Gonzalez-Aguilar, G. A., Alvarez-Parrilla, E. y Martin-Belloso, O. (2008). Bio-preservation of fresh-cut

- tomatoes using natural antimicrobials. *European Food Research and Technology* 226(5): 1047-1055.
- Barrett, D. M., Beaulieu, J. C. y Shewfelt, R. (2010). Color, flavor, texture, and nutritional quality of fresh-cut fruits and vegetables: Desirable levels, instrumental and sensory measurement, and the effects of processing. *Crit Rev Food Sci Nutr* 50(5): 369-389.
- Bartolome, L. G. y Hoff, J. E. (1972). Firming of potatoes: Biochemical effects of preheating. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 20(2): 266-270.
- Beirão-da-Costa, S., Cardoso, A., Martins, L. L., Empis, J. y Moldão-Martins, M. (2008). The effect of calcium dips combined with mild heating of whole kiwifruit for fruit slices quality maintenance. *Food Chemistry* 108(1): 191-197.
- Beltrán, D., Selma, M. V., Tudela, J. A. y Gil, M. I. (2005). Effect of different sanitizers on microbial and sensory quality of fresh-cut potato strips stored under modified atmosphere or vacuum packaging. *Postharvest Biology and Technology* 37(1): 37-46.
- Bett-Garber, K. L., Watson, M. A., Lea, J. M., Champagne, E. T. y Lamikanra, O. (2010). Effect of combined underwater processing and mild pre-cut heat treatment on the sensory quality and storage of fresh-cut cantaloupe melon. *Journal of Food Quality* 33(4): 424-438.
- Bieganska-Marecik, R. y Czapski, J. (2007). The effect of selected compounds as inhibitors of enzymatic browning and softening of minimally processed apples. *Acta science Polish, Technology Alimentary* 6(3): 37-49.
- Bieganska-Marecik, R., Czapski, J. y Czaczyk, K. (2004) The effect of modified atmosphere packaging on the quality of minimally processed apples. 7(2).
- Bolin, H. R., Stafford, A. E., King, A. D. y Huxsoll, C. C. (1977). Factors affecting the storage stability of shredded lettuce. *Journal of Food Science* 42(5): 1319-1321.
- Boonsiriphat, K. y Theerakulkait, C. (2009). Extraction of rice bran extract and some factors affecting its inhibition of polyphenol oxidase activity and browning in potato. *Preparative Biochemistry and Biotechnology* 39(2): 147-158.
- Bordoloi, A., Kaur, L. y Singh, J. (2012). Parenchyma cell microstructure and textural characteristics of raw and cooked potatoes. *Food Chemistry* 133(4): 1092-1100.

- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A. y Igic, R. (2008). Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food Chemistry* 111(4): 925-929.
- Burton, W. G. (1989). Postharvest physiology. Capítulo 12. The potato: 430-449.
- Buta, J. G. y Moline, H. E. (2001). Prevention of browning of potato slices using polyphenoloxidase inhibitors and organic acids. *Journal of Food Quality* 24(4): 271-282.
- Büyükbalci, A. y El, S. (2008). Determination of *in vitro* antidiabetic effects, antioxidant activities and phenol contents of some herbal teas. *Plant Foods for Human Nutrition (Formerly Qualitas Plantarum)* 63(1): 27-33.
- Cabezas-Serrano, A. B., Amodio, M. L., Cornacchia, R., Rinaldi, R. y Colelli, G. (2009). Suitability of five different potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.) to be processed as fresh-cut products. *Postharvest Biology and Technology* 53(3): 138-144.
- Cabrera, C., Artacho, R. y Giménez, R. (2006). Beneficial effects of green tea - A review. *Journal of the American College of Nutrition* 25(2): 79-99.
- Cacace, J., Delaquis, P. y Mazza, G. (2002). Effect of chemical inhibitors and storage temperature on the quality of fresh-cut potatoes. *Journal of Food Quality* 25(3): 181-195.
- Calder, B. L., Kash, E. A., Davis-Dentici, K. y Bushway, A. A. (2011). Comparison of sodium acid sulfate to citric acid to inhibit browning of fresh-cut potatoes. *Journal of Food Science* 76(3): S164-S169.
- Canet, W., Alvarez, M. D. y Fernández, C. (2005). Optimization of low-temperature blanching for retention of potato firmness: Effect of previous storage time on compression properties. *European Food Research and Technology* 221(3): 423-433.
- Cantos, E., Tudela, J. A., Gil, M. I. y Espín, J. C. (2002). Phenolic compounds and related enzymes are not rate-limiting in browning development of fresh-cut potatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(10): 3015-3023.
- Casas-Forero, N. y Cáez-Ramírez, G. (2011). Cambios morfométricos y de calidad por aplicación de tres fuentes de calcio bajo tratamiento térmico suave en melón (*Cucumis melo* L.) fresco precortado. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 10(3): 431-444.

- CE (2008). Aditivos alimentarios. Reglamento (CE) N° 1333/2008. Parlamento Europeo y del consejo de la UE.
- Cosgrove, D. J. (2000). Expansive growth of plant cell walls. *Plant Physiology and Biochemistry* 38(1/2): 109-124.
- Craft, B. D., Kerrihard, A. L., Amarowicz, R. y Pegg, R. B. (2012). Phenol-based antioxidants and the *in vitro* methods used for their assessment. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 11(2): 148-173.
- Chaisakdanugull, C., Theerakulkait, C. y Wrolstad, R. E. (2007). Pineapple juice and its fractions in enzymatic browning inhibition of banana [Musa (AAA group) Gros Michel]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(10): 4252-4257.
- Chan, K. W., Iqbal, S., Khong, N. M. H. y Babji, A. S. (2011). Preparation of deodorized antioxidant rich extracts from 15 selected spices through optimized aqueous extraction. *Journal of Medicinal Plant Research* 5(25): 6067-6075.
- Chang, T. S. (2009). An updated review of tyrosinase inhibitors. *International Journal of Molecular Sciences* 10(6): 2440-2475.
- Cheng, Z., Moore, J. y Yu, L. (2006). High-throughput relative DPPH radical scavenging capacity assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(20): 7429-7436.
- Chiavaro, E., Barbanti, D., Vittadini, E. y Massini, R. (2006). The effect of different cooking methods on the instrumental quality of potatoes (cv. Agata). *Journal of Food Engineering* 77(1): 169-178.
- Cho, Y. K. y Ahn, H. K. (1999). Purification and characterization of polyphenol oxidase from potato: I. Purification and properties. *Journal of Food Biochemistry* 23(6): 577-592.
- Davidov-Pardo, G. (2012). Thermal stability and microencapsulation of polyphenolic extracts from grape seeds. *Food Technology*, Universidad Pública de Navarra. Pamplona, Navarra.
- de Souza, B. S., O'Hare, T. J., Durigan, J. F. y de Souza, P. S. (2006). Impact of atmosphere, organic acids, and calcium on quality of fresh-cut 'Kensington' mango. *Postharvest Biology and Technology* 42(2): 161-167.

- Dong, X., Wrolstad, R. E. y Sugar, D. (2000). Extending shelf life of fresh-cut pears. *Journal of Food Science* 65(1): 181-186.
- Dorman, H. J. D., Bachmayer, O., Kosar, M. y Hiltunen, R. (2004). Antioxidant properties of aqueous extracts from selected *Lamiaceae* species grown in Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(4): 762-770.
- Drozd, M., Thomas, M. y Nowak, R. (2011). Determination of phenolic acids in raw garlic (*Allium sativum* L.) and onion (*Allium cepa* L.) bulbs. *Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska, Sectio DDD: Pharmacia* 24(1): 121-127.
- Duangmal, K. y Owusu Apenten, R. K. (1999). A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var. *Romano*). *Food Chemistry* 64(3): 351-359.
- Duckworth, H. W. y Coleman, J. E. (1970). Physicochemical and Kinetic Properties of Mushroom Tyrosinase. *Journal of Biological Chemistry* 245(7): 1613-1625.
- Dudley, E. D. y Hotchkiss, J. H. (1989). Cysteine as an inhibitor of polyphenol oxidase. *Journal of Food Biochemistry* 13(1): 65-75.
- Ebadnejad, A., Karimi, G. R. y Dehghani, H. (2013). Application of response surface methodology for modeling of ball mills in copper sulphide ore grinding. *Powder Technology* 245(0): 292-296.
- EEC, C. R. E. (1990). Determining community methods for the analysis of wine. N° 2676/90.
- Elzbieta, R. K., Janusz, C. y Katarzyna, C. (2007). The effect of pretreatment of shredded celeriac using solutions of enzymatic browning inhibitors on the quality of minimally processed product. *Journal of Food Quality* 30(5): 594-608.
- Erol, N. T. (2013). Determination of phenolic compounds from various extracts of green tea by HPLC. *Asian Journal of Chemistry* 25(7): 3860-3862.
- Essa, H. A., Nadir, A. E. S. y Hamad, K. I. (2004). Effect of anti-browning and anti-microbial constituents of some spices on the quality and safety of apple slices. *Modelling, Measurement and Control C* 64(3-4): 15-33.
- EURACHEM (1998). *The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. Eurachem. Middlesex.

- Fahey, J. W., Zalcmann, A. T. y Talalay, P. (2001). The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry* 56(1): 5-51.
- FAO (2012). Crops production data. Disponible en <http://faostat.fao.org>.
- Ferreira, S. L. C., Bruns, R. E., da Silva, E. G. P., dos Santos, W. N. L., Quintella, C. M., David, J. M., de Andrade, J. B., Breikreitz, M. C., Jardim, I. C. S. F. y Neto, B. B. (2007). Statistical designs and response surface techniques for the optimization of chromatographic systems. *Journal of Chromatography A* 1158(1-2): 2-14.
- Fonseca, S. C., Oliveira, F. A. R. y Brecht, J. K. (2002). Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. *Journal of Food Engineering* 52(2): 99-119.
- Frankos, V. H., Schmitt, D. F., Haws, L. C., McEvily, A. J., Iyengar, R., Miller, S. A., Munro, I. C., Clydesdale, F. M., Forbes, A. L. y Sauer, M. R. (1991). Generally recognized as safe (GRAS) evaluation of 4-hexylresorcinol for use as a precessing aid for prevention of melanosis in shrimp. *Regulatory toxicology and pharmacology* 14: 202-212.
- Fukumoto, L. R. y Mazza, G. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(8): 3597-3604.
- Gadow, A. V., Joubert, E. y Hansmann, C. F. (1997). Comparison of the antioxidant activity of rooibos tea (*Aspalathus linearis*) with green, oolong and black tea. *Food Chemistry* 60(1): 73-77.
- Gnangui, S. N., Niamke, S. L. y Kouame, L. P. (2010). Partial characterization of a new peptide from ivorian red onion that inhibits polyphenol oxidase and enzymatic browning of edible yam (*Dioscorea cayenensis-rotundata* cv Longbô). *Chiang Mai Journal of Science* 37: 464-475.
- Gonzalez-Aguilar, G. A., Wang, C. Y. y Buta, J. G. (2000). Maintaining quality of fresh-cut mangoes using antibrowning agents and modified atmosphere packaging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(9): 4204-4208.
- Gonzalez-Martinez, G., Ahrne, L., Gekas, V. y Sjöholm, I. (2004). Analysis of temperature distribution in potato tissue during blanching and its effect on the absolute residual pectin methylesterase activity. *Journal of Food Engineering* 65(3): 433-441.

- Gorinstein, S., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Namiesnik, J., Najman, K., Drzewiecki, J., Cvikrova, M., Martincova, O., Katrich, E. y Trakhtenberg, S. (2008). Comparison of the main bioactive compounds and antioxidant activities in garlic and white and red onions after treatment protocols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(12): 4418-4426.
- Gorny, J. R. (1997). Modified atmospheres packaging and the fresh-cut revolution. *Perishables Handling Newsletter*(90): 4-5.
- Gorny, J. R. (2003). A summary of CA and MA requirements and recommendations for fresh-cut (minimally processed) fruits and vegetables. *Acta Horticulturae (ISHS)* 600: 609-614.
- Guerrero-Beltrán, J. A., Swanson, B. G. y Barbosa-Cánovas, G. V. (2004). Inhibition of polyphenoloxidase in mango puree with 4-hexylresorcinol, cysteine and ascorbic acid. *LWT - Food Science and Technology* 38(6): 625-630.
- Gunes, G. y Lee, C. Y. (1997). Color of minimally processed potatoes as affected by modified atmosphere packaging and antibrowning agents. *Journal of Food Science* 62(3): 572-582.
- Hagerman, A. E. y Austin, P. J. (1986). Continuous spectrophotometric assay for plant pectin methyl esterase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 34(3): 440-444.
- Harada, T., Tirtohusodo, H. y Paulus, K. (1985). Influence of the composition of potatoes on their cooking kinetics. *Journal of Food Science* 50(2): 463-468.
- Hardenburg, R. E. y Anderson, R. E. (1980). Effect of postharvest calcium and other chemical treatments on softening, scald, bitter pit and breakdown of stored apples. XIV International Congress of Refrigeration, Venice, Italy, Progress in refrigeration science and technology.
- Herald, T. J., Gadgil, P. y Tilley, M. (2012). High-throughput micro plate assays for screening flavonoid content and DPPH-scavenging activity in sorghum bran and flour. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 92(11): 2326-2331.
- Hewajulige, I. G. N., Wilson Wijeratnam, R. S., Wijesundera, R. L. C. y Abeysekere, M. (2003). Fruit calcium concentration and chilling injury during low temperature storage of pineapple. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83(14): 1451-1454.

- Hinneburg, I., Damien Dorman, H. J. y Hiltunen, R. (2006). Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food Chemistry* 97(1): 122-129.
- Holcroff, D. M. y Kader, A. A. (1999). Controlled atmosphere-induced changes in pH and organic acid metabolism may affect color of stored strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology* 17: 19-32.
- Hollman, P. C., Cassidy, A., Comte, B., Heinonen, M., Richelle, M., Richling, E., Serafini, M., Scalbert, A., Sies, H. y Vidry, S. (2011). The biological relevance of direct antioxidant effects of polyphenols for cardiovascular health in humans is not established. *J Nutr* 141(5): 989S-1009S.
- Horszwald, A. y Andlauer, W. (2011). Characterisation of bioactive compounds in berry juices by traditional photometric and modern microplate methods. *Journal of Berry Research* 1(4): 189-199.
- Horžić, D., Komes, D., Belščak, A., Ganić, K. K., Iveković, D. y Karlović, D. (2009). The composition of polyphenols and methylxanthines in teas and herbal infusions. *Food Chemistry* 115(2): 441-448.
- Hossain, M. B., Barry-Ryan, C., Martin-Diana, A. B. y Brunton, N. P. (2011). Optimisation of accelerated solvent extraction of antioxidant compounds from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), marjoram (*Origanum majorana* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) using response surface methodology. *Food Chemistry* 126(1): 339-346.
- Hsu, C. K., Chang, C. T., Lu, H. Y. y Chung, Y. C. (2007). Inhibitory effects of the water extracts of *Lavendula* sp. on mushroom tyrosinase activity. *Food Chemistry* 105(3): 1099-1105.
- Hughes, J. C. y Grant, A. (1975). Texture of cooked potatoes. 4. Comparison of texture measured by compressive strength and a retained weight method. *Potato Research* 18(2): 237-242.
- Huxsoll, C. C. y Bolin, H. R. (1989). Processing and distribution alternatives for minimally processed fruits and vegetables. *Food Technology* 43(2): 124-128.
- Hwang, T. Y., Son, S. M. y Moon, K. D. (2002). Screening of effective browning inhibitors on fresh cut potatoes. *Food Science and Biotechnology* 11(4): 397-400.
- ICH (2005). *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology*, Q2(R1). European Medicines Agency. London.

- Ihl, M., Aravena, L., Scheuermann, E., Uquiche, E. y Bifani, V. (2003). Effect of immersion solutions on shelf-life of minimally processed lettuce. *LWT - Food Science and Technology* 36(6): 591-599.
- Illescas, J. L., Bacho, O. y Ferrer, S. (2008). Frutas y hortalizas: guía práctica - Patata. Empresa Nacional Mercasa. Madrid.
- Irtwange, S. (2006). Keeping Freshness in Fresh-cut Horticultural Produce. Texas, International Commission of Agricultural Engineering (CIGR, Commission Internationale du Genie Rural). 8: 1-12.
- Iyengar, R. y McEvily, A. J. (1992). Anti-browning agents: alternatives to the use of sulfites in foods. *Trends in Food Science & Technology* 3: 60-64.
- Jang, J. H. y Moon, K. D. (2011). Inhibition of polyphenol oxidase and peroxidase activities on fresh-cut apple by simultaneous treatment of ultrasound and ascorbic acid. *Food Chemistry* 124(2): 444 - 449.
- Jang, M. S., Sanada, A., Ushio, H., Tanaka, M. y Ohshima, T. (2002). Inhibitory effects of 'enokitake' mushroom extracts on polyphenol oxidase and prevention of apple browning. *LWT - Food Science and Technology* 35(8): 697-702.
- Jesionkowska, K., Sijtsema, S. J., Konopacka, D. y Symoneaux, R. (2009). Dried fruit and its functional properties from a consumer's point of view. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 2009: 85-88.
- Jiménez, M. y García-Carmona, F. (1997). 4-Substituted Resorcinols (Sulfite Alternatives) as Slow-Binding Inhibitors of Tyrosinase Catecholase Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45(6): 2061-2065.
- Jiménez, M. y García-Carmona, F. (1999a). Myricetin, an antioxidant flavonol, is a substrate of polyphenol oxidase. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79(14): 1993-2000.
- Jiménez, M. y García-Carmona, F. (1999b). Oxidation of the flavonol quercetin by polyphenol oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47(1): 56-60.
- Kabir, H. (1994). Fresh-cut vegetables. Modified atmosphere food packaging. Brods, A. L. y Rendón, V. A.: 155-160.

- Kahn, V. (1985). Effect of proteins, protein hydrolyzates and amino acids on o-dihydroxyphenolase activity of polyphenol oxidase of mushroom, avocado, and banana. *Journal of Food Science* 50(1): 111-115.
- Kim, I. S., Yang, M. R., Lee, O. H. y Kang, S. N. (2011). Antioxidant activities of hot water extracts from various spices. *International Journal of Molecular Sciences* 12(6): 4120-4131.
- Kim, K.-H., Tsao, R., Yang, R. y Cui, S. W. (2006a). Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions. *Food Chemistry* 95(3): 466-473.
- Kim, K., Tsao, R., Yang, R. y Cui, S. (2006b). Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions. *Food Chemistry* 95(3): 466-473.
- Kim, M.-J., Kim, C. Y. y Park, I. (2005). Prevention of enzymatic browning of pear by onion extract. *Food Chemistry* 89(2): 181-184.
- Kittisak, L. y Boonchoo, S. (2001). A new dimeric stilbene with tyrosinase inhibitory activity from *Artocarpus gomezianus*. *Journal of Natural Products* 64: 1457-1459.
- Kratchanova, M., Denev, P., Ciz, M., Lojek, A. y Mihailov, A. (2010). Evaluation of antioxidant activity of medicinal plants containing polyphenol compounds. Comparison of two extraction systems. *Acta Biochimica Polonica* 57(2): 229-234.
- Kubglomsong, S. y Theerakulkait, C. (2013). Effect of rice bran protein extract on enzymatic browning inhibition in potato puree. *International Journal of Food Science and Technology* 49(2): 551-557.
- Kuijpers, T. F. M., Narváez-Cuenca, C. E., Vincken, J. P., Verloop, A. J. W., Van Berkel, W. J. H. y Gruppen, H. (2012). Inhibition of enzymatic browning of chlorogenic acid by sulfur-containing compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60(13): 3507-3514.
- Kuijpers, T. F. M., Van Herk, T., Vincken, J. P., Janssen, R. H., Narh, D. L., Van Berkel, W. J. H. y Gruppen, H. (2014). Potato and mushroom polyphenol oxidase activities are differently modulated by natural plant extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62(1): 214-221.

- Kweon, M. H., Hwang, H. J. y Sung, H. C. (2001). Identification and antioxidant activity of novel chlorogenic acid derivatives from bamboo (*Phyllostachys edulis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49(10): 4646-4655.
- Langdon, T. (1987). Preventing of browning in fresh prepared potatoes without the use of sulfiting agents. *Food Technology* 41(5): 64, 66-67.
- Lante, A. y Zocca, F. (2010). Effect of beta-cyclodextrin addition on quality of precooked vacuum packed potatoes. *LWT- Food Science and Technology* 43(3): 409-414.
- Lanzotti, V. (2006). The analysis of onion and garlic. *Journal of Chromatography A* 1112(1-2): 3-22.
- Laurila, E. K., Hurme, E. U. y Ahvenainen, R. T. (1998). Shelf life of sliced raw potatoes of various cultivar varieties - Substitution of bisulfites. *Journal of Food Protection* 61(10): 1363-1371.
- Lee, M. K., Kim, Y. M., Kim, N. Y., Kim, G. N., Kim, S. H., Bang, K. S. y Park, I. (2002). Prevention of browning in potato with a heat-treated onion extract. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 66(4): 856-858.
- Leelarungrayub, N., Rattanapanone, V., Chanarat, N. y Gebicki, J. M. (2006). Quantitative evaluation of the antioxidant properties of garlic and shallot preparations. *Nutrition* 22(3): 266-274.
- Limbo, S. y Piergiorganni, L. (2006). Shelf life of minimally processed potatoes: Part 1. Effects of high oxygen partial pressures in combination with ascorbic and citric acids on enzymatic browning. *Postharvest Biology and Technology* 39(3): 254-264.
- Limbo, S. y Piergiorganni, L. (2007). Minimally processed potatoes: Part 2. Effects of high oxygen partial pressures in combination with ascorbic and citric acid on loss of some quality traits. *Postharvest Biology and Technology* 43(2): 221-229.
- Lin, L. Z., Chen, P. y Harnly, J. M. (2008). New phenolic components and chromatographic profiles of green and fermented teas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(17): 8130-8140.
- Liyana-Pathirana, C. y Shahidi, F. (2005). Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. *Food Chemistry* 93(1): 47-56.

- Loaiza-Velarde, J. G., Mangrich, M. E., Campos-Vargas, R. y Saltveit, M. E. (2003). Heat shock reduces browning of fresh-cut celery petioles. *Postharvest Biology and Technology* 27(3): 305-311.
- Loaiza-Velarde, J. G., Tomás-Barberá, F. A. y Saltveit, M. E. (1997). Effect of intensity and duration of heat-shock treatments on wound-induced phenolic metabolism in iceberg lettuce. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 122(6): 873-877.
- López De Dicastillo, C., Nerín, C., Alfaro, P., Catalá, R., Gavara, R. y Hernández-Muñoz, P. (2011). Development of new antioxidant active packaging films based on ethylene vinyl alcohol copolymer (EVOH) and green tea extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59(14): 7832-7840.
- Luna-Guzmán, I. y Barrett, D. M. (2000). Comparison of calcium chloride and calcium lactate effectiveness in maintaining shelf stability and quality of fresh-cut cantaloupes. *Postharvest Biology and Technology* 19(1): 61-72.
- Luo, Y. y Barbosa-Canovas, G. V. (1995). Enzymatic browning of new and traditional apple cultivars and the inhibition by 4-hexylresorcinol. IFT, Annual Meeting.
- Luo, Y. y Barbosa-Canovas, G. V. (1997). Enzymatic browning and its inhibition in new apple cultivars slices using 4-hexylresorcinol in combination with ascorbic acid. *Food Science and Technology International* 3(3): 195-201.
- Luo, Y. y Barbosa-Cánovas, G. V. (1996). Preservation of apple slices using ascorbic acid and 4-hexylresorcinol. *Food Science and Technology International* 2(5): 315-321.
- Lv, J., Huang, H., Yu, L., Whent, M., Niu, Y., Shi, H., Wang, T. T. Y., Luthria, D., Charles, D. y Yu, L. L. (2012). Phenolic composition and nutraceutical properties of organic and conventional cinnamon and peppermint. *Food Chemistry* 132(3): 1442-1450.
- Ma, Y., Wang, Q., Hong, G. y Cantwell, M. (2010). Reassessment of treatments to retard browning of fresh-cut Russet potato with emphasis on controlled atmospheres and low concentrations of bisulphite. *International Journal of Food Science and Technology* 45(7): 1486-1494.
- Manganaris, G. A., Vasilakakis, M., Diamantidis, G. y Mignani, I. (2007). The effect of postharvest calcium application on tissue calcium concentration, quality attributes, incidence of flesh browning and cell wall physicochemical aspects of peach fruits. *Food Chemistry* 100(4): 1385-1392.

- Manzanos, A. (2010). Determinación del efecto del hielo líquido en las operaciones de enfriado tras el shock térmico y el tratamiento con antipardeantes. Universidad Pública de Navarra, Pamplona, Navarra.
- Martín-Diana, A. B., Rico, D. y Barry-Ryan, C. (2008). Green tea extract as a natural antioxidant to extend the shelf-life of fresh-cut lettuce. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 9(4): 593-603.
- Martin-diana, A. B., Rico, D., Barry-Ryan, C., Mulcahy, J., Frías, J. y Henehan, G. T. M. (2005). Effect of heat shock on browning-related enzymes in minimally processed iceberg lettuce and crude extracts. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 69(9): 1677-1685.
- Martín-Diana, A. B., Rico, D., Frías, J., Henehan, G. T. M., Mulcahy, J., Barat, J. M. y Barry-Ryan, C. (2006). Effect of calcium lactate and heat-shock on texture in fresh-cut lettuce during storage. *Journal of Food Engineering* 77(4): 1069-1077.
- Martín-Diana, A. B., Rico, D., Frías, J. M., Barat, J. M., Henehan, G. T. M. y Barry-Ryan, C. (2007). Calcium for extending the shelf life of fresh whole and minimally processed fruits and vegetables: a review. *Trends in Food Science and Technology* 18(4): 210-218.
- Martínez, D. (2013). Balance polifenólico en ratones con cáncer de colon inducido, alimentados con una dieta alta en grasa y suplementada con un extracto de manzana. Universidad Pública de Navarra, Pamplona, Navarra.
- Masuda, T., Yamashita, D., Takeda, Y. y Yonemori, S. (2005). Screening for tyrosinase inhibitors among extracts of seashore plants and identification of potent inhibitors from *Garcinia subelliptica*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 69(1): 197-201.
- Matheis, G. y Whitaker, J. R. (1984). Modification of proteins by polyphenol oxidase and peroxidase and their products. *Journal of Food Biochemistry* 8(3): 137-162.
- Mathew, A. G. y Parpia, H. A. (1971). Food browning as a polyphenol reaction. *Advance in food research*. Chichester. London, Academic Press Inc. 19: 75-145.
- Mattila, M., Ahvenainen, R. y Hurme, E. (1995). Prevention of browning of pre-peeled potato. COST 94 Postharvest treatment of fruit and vegetables.

Proceedings of Workshop on Systems and Operations for Post-Harvest Quality, Brussels, Belgium, Commission of the European Communities.

- McEvily, A. J., Iyengar, R. y Otwell, W. S. (1992). Inhibition of enzymatic browning in foods and beverages. *Crit Rev Food Sci Nutr* 32(3): 253-273.
- McFeeters, R. F. y Fleming, H. P. (1989). Inhibition of cucumber tissue softening in acid brines by multivalent cations: Inadequacy of the pectin "egg box" model to explain textural effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 37(4): 1053-1059.
- Menga, V. (2010). Effects of genotype, location and baking on the phenolic content and some antioxidant properties of cereal species. *International Journal of Food Science and Technology* 45(1): 7-16.
- Miyazawa, M., Oshima, T., Koshio, K., Itsuzaki, Y. y Anzai, J. (2003). Tyrosinase Inhibitor from Black Rice Bran. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(24): 6953-6956.
- Moline, H. E., Buta, J. G. y Newman, I. M. (1999). Prevention of browning of banana slices using natural products and their derivatives. *Journal of Food Quality* 22(5): 499-511.
- Molnar-Perl, I. y Friedman, M. (1990). Inhibition of browning by sulfur amino acids. 3. Apples and potatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38(8): 1652-1656.
- Monje, M. (2013). IV gama. *Alimarket*(271): 113.
- Monsalve-Gonzalez, A., Barbosa-Canovas, G. V., Cavalieri, R. P., McEvily, A. J. y Iyengar, R. (1993). Control of browning during storage of apple slices preserved by combined methods. 4-hexylresorcinol as anti-browning agent. *Journal of Food Science*: 58 (4) 797-800, 826 58(4): 797-800.
- Monsalve-González, A., Barbosa-Canovas, G. V., McEvily, A. J. y Iyengar, R. (1995). Inhibition of enzymatic browning in apple products by 4-hexylresorcinol. *Food Technology April*: 110-118.
- Montanez-Saenz, J. C., Ortiz-Cisneros, J., Reyes-Vega, M., Contreras-Esquivel, J. C. y Aguilar, C. N. (2003). Biochemical and textural changes in potato tissue during water immersion at low temperatures. *Food Science and Biotechnology* 12(3): 233-237.

- Moreira, M., Ponce, A., Del Valle, C. E. y Roura, S. I. (2006). Ascorbic Acid Retention, Microbial Growth, and Sensory Acceptability of Lettuce Leaves Subjected to Mild Heat Shocks. *Journal of Food Science* 71(2): S188-S192.
- Mosneaguta, R., Alvarez, V. y Barringer, S. A. (2012). The Effect of Antibrowning Agents on Inhibition of Potato Browning, Volatile Organic Compound Profile, and Microbial Inhibition. *Journal of Food Science* 77(11): C1234-C1240.
- Muchuweti, M., Kativu, E., Mupure, C. H., Chidewe, C., Ndhala, A. R. y Benhura, M. A. N. (2007). Phenolic composition and antioxidant properties of some spices. *American Journal of Food Technology* 2(5): 414-420.
- Müller, L., Gnoyke, S., Popken, A. M. y Böhm, V. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Science and Technology* 43(6): 992-999.
- Murcia, M. A., Vera, A. M., Martínez-Tomé, M. y Frega, N. (2003). Sustancias antioxidantes presentes en los alimentos. Acción, dosis y su eficacia en la promoción de la salud. Nueva Imprenta S.A. Madrid
- Natella, F., Nardini, M., Di Felice, M. y Scaccini, C. (1999). Benzoic and cinnamic acid derivatives as antioxidants: Structure-activity relation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47(4): 1453-1459.
- Ng, A. y Waldron, K. W. (1997). Effect of steaming on cell wall chemistry of potatoes (*Solanum tuberosum* cv. *Bintje*) in relation to firmness. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45(9): 3411-3418.
- Nicolas, J., Billaud, C., Philippon, J. y Rouet-Mayer, M. A. (2003). BROWNING: Enzymatic and Biochemical Aspects. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (Second Edition). Ed: Caballero, B. Oxford, Academic Press: 678-686.
- Nkhili, E., Tomao, V., El Hajji, H., El Boustani, E.-S., Chemat, F. y Dangles, O. (2009). Microwave-assisted water extraction of green tea polyphenols. *Phytochemical Analysis* 20(5): 408-415.
- Nourian, F., Ramaswamy, H. S. y Kushalappa, A. C. (2003). Kinetics of quality change associated with potatoes stored at different temperatures. *LWT-Food Science and Technology* 36(1): 49-65.
- Ohlsson, T. (1994). Minimal processing - Preservation methods of the future: an overview. *Trends in Food Science & Technology* 5(11): 341-344.

- Oms-Oliu, G., Aguiló-Aguayo, I. y Martín-Belloso, O. (2006). Inhibition of browning on fresh-cut pear wedges by natural compounds. *Journal of Food Science* 71(3): S216-S224.
- Orhan, I. E., Guner, E., Ozturk, N., Senol, F. S., Erdem, S. A., Kartal, M. y Sener, B. (2012). Enzyme inhibitory and antioxidant activity of *Melia azedarach* L. naturalized in anatolia and its phenolic acid and fatty acid composition. *Industrial Crops and Products* 37(1): 213-218.
- Ortiz-Estrada, A., Mercado-Ruiz, J., García-Robles, J., Islas-Rubio, A., Mendoza-Wilson, A. y Balandrán-Quintana, R. (2012). Wheat bran globulins: Competitive inhibitors of mushroom tyrosinase. *Food Science and Biotechnology* 21(3): 633-635.
- Pardo, J. E., Alvarruiz, A., Pérez, J. I., Gomez, R. y Varón, R. (2000). Physical-chemical and sensory quality evaluation of potato varieties (*Solanum Tuberosum* L.). *Journal of Food Quality* 23(2): 149-160.
- Parkin, K. L. (2008). Enzimas: Fenoloxidasas. *Fennema-Química de los alimentos*. Damodaran, S., Parkin, K. L. y Fennema, O. R. Zaragoza, Editorial Acirbia: 327-435.
- Pastor, C., Pérez, L., Cbiralt, A. y González-Martínez, C. (2006). Papel del calcio en el procesado de frutas y hortalizas. *Alimentación, equipos y tecnología* 25(209): 103-106.
- Perera, N., Gamage, T. V., Wakeling, L., Gamlath, G. G. S. y Versteeg, C. (2010). Colour and texture of apples high pressure processed in pineapple juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 11(1): 39-46.
- Perez, L. E. (2003). Aplicación de métodos combinados para el control del desarrollo del pardeamiento enzimático en pera (variedad blanquilla) mínimamente procesada. *Tecnología de los alimentos en el Instituto de Ingeniería de Alimentos, Universidad Politécnica de Valencia*. Valencia.
- Petri, E., Arroqui, C., Angos, I. y Virseda, P. (2008). Effect of preservative agents on the respiration rate of minimally processed potato (*Solanum tuberosum* cv. *Monalisa*). *Journal of Food Science* 73(3): C122-C126.
- Pifferi, P. G. y Cultrera, R. (1974). Enzymatic degradation of anthocyanins: The role of sweet cherry polyphenol oxidase. *Journal of Food Science* 39(4): 786-791.

- Pineli, L. L. O., Moretti, C. L., Almeida, G. C., Santos, J. Z., Onuki, A. C. A. y Nascimento, A. B. G. (2006). *Ciência e Tecnologia de Alimentos* (Campinas). Caracterização química e física de batatas ágata e monalisa minimamente processadas 26(1): 127-134.
- Piñeiro, C., Barros-Velázquez, J. y Aubourg, S. P. (2004). Effects of newer slurry ice systems on the quality of aquatic food products: A comparative review versus flake-ice chilling methods. *Trends in Food Science and Technology* 15(12): 575-582.
- Pruidze, G. N. y Grigorashvili, G. Z. (1977). Extraction and properties of an inhibitor of o-diphenoloxidase and peroxidase from tea leaf. *Applied Biochemistry and Microbiology* 13(1): 76-81.
- Ragaert, P., Devlieghere, F. y Debevere, J. (2007). Role of microbiological and physiological spoilage mechanisms during storage of minimally processed vegetables. *Postharvest Biology and Technology* 44(3): 185-194.
- Reyes-Moreno, C., Parra-Inzunza, M. A., Miln-Carrillo, J. y Zazueta-Niebla, J. A. (2002). A response surface methodology approach to optimise pretreatments to prevent enzymatic browning in potato (*Solanum tuberosum* L.) cubes. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82(1): 69-79.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. y Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine* 20(7): 933-956.
- Rico, D., Martín-Diana, A. B., Barry-Ryan, C., Frías, J. M., Henehan, G. T. M. y Barat, J. M. (2008). Optimisation of steamer jet-injection to extend the shelf-life of fresh-cut lettuce. *Postharvest Biology and Technology* 48(3): 431-442.
- Rico, D., Martín-Diana, A. B., Frías, J. M., Barat, J. M., Henehan, G. T. M. y Barry-Ryan, C. (2007). Improvement in texture using calcium lactate and heat-shock treatments for stored ready-to-eat carrots. *Journal of Food Engineering* 79(4): 1196-1206.
- Rivero-Perez, M. D., Muniz, P. y Gonzalez-Sanjose, M. L. (2007). Antioxidant profile of red wines evaluated by total antioxidant capacity, scavenger activity, and biomarkers of oxidative stress methodologies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(14): 5476-5483.
- Roby, M. H. H., Sarhan, M. A., Selim, K. A. y Khalel, K. I. (2013). Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme

- (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial Crops and Products* 43(0): 827-831.
- Rocculi, P., Galindo, F. G., Mendoza, F., Wadso, L., Romani, S., Rosa, M. D. y Sjöholm, I. (2007). Effects of the application of anti-browning substances on the metabolic activity and sugar composition of fresh-cut potatoes. *Postharvest Biology and Technology* 43(1): 151-157.
- Rocha, A. y Morais, A. (2003). Shelf life of minimally processed apple (cv. *Jonagored*) determined by colour changes. *Food Control* 14(1): 13-20.
- Rojas-Grau, M. A., Grasa-Guillem, R. y Martín-Belloso, O. (2007). Quality changes in fresh-cut Fuji apple as affected by ripeness stage, antibrowning agents, and storage atmosphere. *Journal of Food Science* 72(1): S36-S43.
- Rojas-Graü, M. A., Sobrino-López, A., Tapia, M. S. y Martín-Belloso, O. (2006). Browning inhibition in fresh-cut 'Fuji' apple slices by natural antibrowning agents. *Journal of Food Science* 71(1): S59-S65.
- Rojas-Graü, M. A., Soliva-Fortuny, R. y Martín-Belloso, O. (2008). Effect of natural antibrowning agents on color and related enzymes in fresh-cut "Fuji" apples as an alternative to the use of ascorbic acid. *Journal of Food Science* 73(6): S267-272.
- Rosli, H. G. (2007). Degradación de pared celular en frutillas. Análisis de sus componentes, evolución de la actividad enzimática y expresión de genes asociados. Universidad Nacional de General San Martín, Buenos Aires, Argentina.
- Roura, S. I., Pereyra, L. y del Valle, C. E. (2008). Phenylalanine ammonia lyase activity in fresh cut lettuce subjected to the combined action of heat mild shocks and chemical additives. *LWT - Food Science and Technology* 41(5): 919-924.
- Rousselle, P., Robert, Y. y Crosnier, J. C. (1998). *La Patata*. Mundi-Prensa.
- Rusak, G., Komes, D., Likić, S., Horžić, D. y Kovač, M. (2008). Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. *Food Chemistry* 110(4): 852-858.
- Saltveit, M. E. (2000). Wound induced changes in phenolic metabolism and tissue browning are altered by heat shock. *Postharvest Biology and Technology* 21(1): 61-69.

- Sánchez-Moreno, C. (2002). Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International* 8(3): 121-137.
- Sánchez, M. T. (2003). *Procesos de Elaboración de Alimentos y Bebidas*. Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Sapers, G. M. y Miller, R. L. (1992). Enzymatic browning control in potato with ascorbic acid-2-phosphates. *Journal of Food Science* 57(5): 1132-1135.
- Sapers, G. M. y Miller, R. L. (1993). Control of enzymatic browning in pre-peeled potatoes by surface digestion. *Journal of Food Science* 58(5): 1076-1078.
- Sayavedra-Soto, L. A. y Montgomery, M. W. (1986). Inhibition of polyphenoloxidase by sulfite. *Journal of Food Science* 51(6): 1531-1536.
- Schmidt, B. M., Erdman, J. W. y Lila, M. A. (2005). Effects of Food Processing on Blueberry Antiproliferation and Antioxidant Activity. *Journal of Food Science* 70(6): s389-s394.
- Senol, F. S., Orhan, I., Yilmaz, G., Cicek, M. y Sener, B. (2010). Acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, and tyrosinase inhibition studies and antioxidant activities of 33 *Scutellaria L. taxa* from Turkey. *Food and Chemical Toxicology* 48(3): 781-788.
- Severini, C., Baiano, A., De Pilli, T., Romaniello, R. y Derossi, A. (2003). Prevention of enzymatic browning in sliced potatoes by blanching in boiling saline solutions. *LWT- Food Science and Technology* 36(7): 657-665.
- Shahidi, F. y Naczk, M. (1995). *Food phenolics: Sources, Chemistry, Effects and Applications*. Lancaster.
- Shan, B., Cai, Y. Z., Sun, M. y Corke, H. (2005). Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(20): 7749-7759.
- Shewfelt, R. L. (1987). Quality of minimally processed fruits and vegetables. *Journal of Food Quality* 10(3): 143-156.
- Sies, H. (2010). Polyphenols and health: update and perspectives. *Arch Biochem Biophys* 501(1): 2-5.

- Silva, E. M., Souza, J. N. S., Rogez, H., Rees, J. F. y Larondelle, Y. (2007). Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. *Food Chemistry* 101(3): 1012-1018.
- Soliva-Fortuny, R. C., Grigelmo-Miguel, N., Odriozola-Serrano, I., Gorinstein, S. y 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.
- Somerville, C., Bauer, S., Brininstool, F., Gacette, M., Hamann, T., Milne, J., Osborne, E., Paredes, A., Persson, S., Raab, T., Vorwerk, S. y Youngs, H. (2004). Toward a systems approach to understanding plant cell walls. *Science* 306: 2206-2211.
- Son, S. M., Moon, K. D. y Lee, C. Y. (2000). Rhubarb juice as a natural antibrowning agent. *Journal of Food Science* 65(8): 1288-1289.
- Son, S. M., Moon, K. D. y Lee, C. Y. (2001). Inhibitory effects of various antibrowning agents on apple slices. *Food Chemistry* 73(1): 23-30.
- Soysal, C. (2009). Effects of green tea extract on "golden delicious" apple polyphenoloxidase and its browning. *Journal of Food Biochemistry* 33(1): 134-148.
- Stanley, D. W., Bourne, M. C., Stone, A. P. y Wismer, W. V. (1995). Low-temperature blanching effects on chemistry, firmness and structure of canned green beans and carrots. *Journal of Food Science* 60(2): 327-333.
- Steiner, A., Abreu, M., Correia, L., Beirão-da-Costa, S., Leitão, E., Beirão-da-Costa, M., Empis, J. y Moldão-Martins, M. (2006). Metabolic response to combined mild heat pre-treatments and modified atmosphere packaging on fresh-cut peach. *European Food Research and Technology* 222(3): 217-222.
- Sukhonthara, S. y Theerakulkait, C. (2011). Effect of commercially defatted rice bran extract on browning of vegetable and fruit puree. *Kasetsart Journal - Natural Science* 45(4): 730-735.
- Sukhonthara, S. y Theerakulkait, C. (2012). Inhibitory effect of rice bran extract on polyphenol oxidase of potato and banana. *International Journal of Food Science and Technology* 47: 482-487.
- Tapia de Daza, M. S., Alzamora, S. M. y Chanes, J. W. (1996). Combination of preservation factors applied to minimal processing of foods. *Crit Rev Food Sci Nutr* 36(6): 629-659.

- Theerakulkait, C. y Boonsiripiphat, K. (2007). Effects of rice bran extract on browning and polyphenol oxidase activity in vegetable and fruit. *Kasetsart Journal: Natural Science* 41(5): 272-278.
- Theerakulkait, C. y Saisung, P. (2006). Effect of pineapple shell extracts on browning in fresh vegetable and fruit puree and slices. *Kasetsart Journal: Natural Science* 40(5): 182-188.
- Tijskens, L. M. M., Waldron, K. W., Ng, A., Ingham, L. y van Dijk, C. (1997). The kinetics of pectin methyl esterase in potatoes and carrots during blanching. *Journal of Food Engineering* 34(4): 371-385.
- Toivonen, P. M. A. y Brummell, D. A. (2008). Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology* 48(1): 1-14.
- Traverso-Rueda, S. y Singleton, V. L. (1973). Catecholase activity in grape juice and its implications in winemaking. *American Journal of Enology and Viticulture* 24(3): 103-109.
- Triantaphyllou, K., Blekas, G. y Boskou, D. (2001). Antioxidative properties of water extracts obtained from herbs of the species Lamiaceae. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 52(4): 313-317.
- Trujillo, Y. (2004). Optimización del uso de agentes conservantes, en la mejora de la calidad y la vida útil de patata cv. Monalisa mínimamente procesada. *Tecnología de los Alimentos*, Universidad Pública de Navarra, Pamplona, Navarra. España.
- Tsouvaltzis, P., Deltsidis, A. y Brecht, J. K. (2011). Hot water treatment and pre-processing storage reduce browning development in fresh-cut potato slices. *HortScience* 46(9): 1282-1286.
- UE (2011). Lista de aditivos alimentarios de la Unión. Reglamento (UE) N° 1129/2011, Boletín Oficial de la Unión Europea.
- Ullah, M. R. (1991). Tea. *Food Enzymology*. Ed: Fox, P. F. Essex, England, Elsevier Science Publishers LTD. 2: 163-187.
- Unachukwu, U. J., Ahmed, S., Kavalier, A., Lyles, J. T. y Kennelly, E. J. (2010). White and green teas (*Camellia sinensis* var. *sinensis*): variation in phenolic, methylxanthine, and antioxidant profiles. *Journal of Food Science* 75(6): C541-C548.

- USDA (2008). Potatoes, raw and skin, Agricultural Research Service United States Department of Agriculture. Disponible en <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/3137?fg=&man=&facet=&format=&count=&max=25&offset=&sort=&qlookup=potato>.
- Valenzuela B., A. (2004). Tea consumption and health: Beneficial characteristics and properties of this ancient beverage. *Revista chilena de nutrición* 31: 72-82.
- Vámos-Vigyázó, L. (1981). Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. *Crit Rev Food Sci Nutr* 15(1): 49-127.
- Van Dijk, C., Fischer, M., Beekhuizen, J. G., Boeriu, C. y Stolle-Smits, T. (2002). Texture of cooked potatoes (*Solanum tuberosum*). 3. Preheating and the consequences for the texture and cell wall chemistry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(18): 5098-5106.
- Varoquaux, P. y Wiley, R. (1994). Biological and biochemical changes in minimally processed refrigerated fruits and vegetables. *Minimally processed refrigerated fruits and vegetables C., W. R.* New York, USA, Chapman and Hall: 226-268.
- Verlinden, B. E., Nicolai, B. M. y De Baerdemaeker, J. (1995). The starch gelatinization in potatoes during cooking in relation to the modelling of texture kinetics. *Journal of Food Engineering* 24(2): 165-179.
- Verlinden, B. E., Yuksel, D., Baheri, M., De Baerdemaeker, J. y van Dijk, C. (2000). Low temperature blanching effect on the changes in mechanical properties during subsequent cooking of three potato cultivars. *International Journal of Food Science & Technology* 35(3): 331-340.
- Verma, B., Hucl, P. y Chibbar, R. N. (2009). Phenolic acid composition and antioxidant capacity of acid and alkali hydrolysed wheat bran fractions. *Food Chemistry* 116(4): 947-954.
- Vincken, J. P., Schols, H. A., Oomen, R. J. F. J., McCann, M. C., Ulvskov, P., Voragen, A. G. J. y Visser, R. G. F. (2003). If homogalacturonan were a side chain of rhamnogalacturonan I. Implications for cell wall architecture. *Plant Physiology* 132(4): 1781-1789.
- Walker, J. R. L. (1975). Enzymic browning in foods: A review. *Enzyme Technol Dig* 4(3): 89-100.

- Warner, C. R., Diachenko, G. W. y Bailey, C. J. (2000). Sulfites: an important food safety issue. *Food Testing & Analysis* August/September.
- Whitaker, J. R. (2003). ENZYMES: Functions and Characteristics. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition)*. Ed: Caballero, B. Oxford, Academic Press: 2119-2125.
- Wojdyło, A., Oszmiański, J. y Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry* 105(3): 940-949.
- Xie, L. P., Chen, Q. X., Huang, H., Wang, H. Z. y Zhang, R. Q. (2003). Inhibitory effects of some flavonoids on the activity of mushroom tyrosinase. *Biochemistry (Moscow)* 68(4): 487-491.
- Yanishlieva, N. V., Marinova, E. y Pokorný, J. (2006). Natural antioxidants from herbs and spices. *European Journal of Lipid Science and Technology* 108(9): 776-793.
- Yemenicioğlu, A. (2002). Control of polyphenol oxidase in whole potatoes by low temperature blanching. *European Food Research and Technology* 214(4): 313-319.
- Yin, M. C., Hwang, S. W. y Chan, K. C. (2002). Nonenzymatic antioxidant activity of four organosulfur compounds derived from garlic. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(21): 6143-6147.
- Yoruk, R. y Marshall, M. R. (2003). Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: A review. *Journal of Food Biochemistry* 27(5): 361-422.
- Zawistowski, J., Biliaderis, C. G. y Eskin, N. A. M. (1991). *Polyphenol Oxidase. Oxidative Enzymes in foods*. London, Elsevier: 217-273.
- Zhang, Q., Zhang, J., Shen, J., Silva, A., Dennis, D. y Barrow, C. (2006). A Simple 96-Well Microplate Method for Estimation of Total Polyphenol Content in Seaweeds. *Journal of Applied Phycology* 18(3): 445-450.
- Zhou, K., Su, L. y Yu, L. (2004). Phytochemicals and antioxidant properties in wheat bran. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(20): 6108-6114.