



UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE

ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA

TESIS DOCTORAL

EFFECTO DE LOS TRATAMIENTOS DE GEL DE ALOE,
APLICADOS EN PRE- O POST-RECOLECCIÓN SOBRE
LA CALIDAD DE FRUTOS DE HUESO Y UVA DE MESA

DIANA MARÍA NAVARRO MARTÍNEZ

INGENIERA AGRÓNOMA

2013



JOSÉ RAMÓN DÍAZ SÁNCHEZ, DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

INFORMA:

Que la Tesis titulada **“EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS DE GEL DE ALOE, APLICADOS EN PRE- O POST-RECOLECCIÓN SOBRE LA CALIDAD DE FRUTOS DE HUESO Y UVA DE MESA”**, ha sido realizada por Dña. Diana María Navarro Martínez, bajo la dirección y supervisión del Dr. Domingo Jesús Martínez Romero y la Dra. María Serrano Mula, y que el Departamento ha dado su conformidad para que sea presentada ante la Comisión de Doctorado.

Y para que conste a los efectos oportunos firma el presente certificado en Orihuela a 28 de enero de 2013.

El director del Departamento

Fdo. José Ramón Díaz Sánchez.



**MARÍA SERRANO MULA, CATEDRÁTICA DE
UNIVERSIDAD EN EL ÁREA DE FISIOLÓGÍA VEGETAL Y
DOMINGO JESÚS MARTÍNEZ ROMERO, CATEDRÁTICO
DE UNIVERSIDAD EN EL ÁREA DE TECNOLOGÍA DE
ALIMENTOS, DE LA UNIVERSIDAD MIGUEL
HERNÁNDEZ DE ELCHE**

CERTIFICAN:

Que la Tesis titulada **“EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS DE GEL DE ALOE, APLICADOS EN PRE- O POST-RECOLECCIÓN SOBRE LA CALIDAD DE FRUTOS DE HUESO Y UVA DE MESA”**, llevada a cabo por la doctoranda Dña. DIANA M^a NAVARRO MARTÍNEZ para la obtención del título de Doctor, ha sido realizada bajo nuestra Dirección.

En Orihuela a 28 de enero de 2013

Fdo: Domingo Martínez Romero.

Fdo: María Serrano Mula.

RESUMEN DE LA TESIS

Durante siglos, el *Aloe vera* se ha usado por sus propiedades medicinales y terapéuticas y en general las plantas de *Aloe sp* son catalogadas como medicinales por sus efectos antiinflamatorios, hipoglucémicos, protectores gástricos y aliviadores de quemaduras y heridas. Por otra parte, está bien constatado el papel del aloe inhibiendo la proliferación de bacterias, tanto Gram positivas como Gram negativas, así como mejorando enfermedades provocadas por diferentes especies de hongos.

La comercialización en fresco de productos hortofrutícolas es una actividad económica muy significativa en España, como resultado del desarrollo de una agricultura moderna, que incorpora nuevas tecnologías, nuevos productos y variedades. La aparición de podredumbres ocasionadas por hongos es una de las principales causas de deterioro de los frutos durante su post-recolección. Para combatir las enfermedades existen diferentes fungicidas, si bien su uso se está eliminando o restringiendo, por lo que los agricultores y productores necesitan de herramientas eficaces capaces de controlar estas enfermedades.

Con el fin de aportar soluciones a este problema, en esta Tesis se plantea realizar una serie de investigaciones, estructuradas en 5 capítulos, encaminadas a la evaluación del efecto de los tratamientos con geles de aloe sobre el control de podredumbres causadas por hongos filamentosos, así como su efecto sobre la calidad y fisiología de los frutos. De este modo, se pretende establecer si estos geles se podrían aplicar, bien en pre-cosecha o en post-recolección, en frutos con elevado interés comercial como son ciruela, cereza, melocotón, nectarina y uva de mesa, para reducir la incidencia de podredumbres y mantener su calidad durante un periodo de conservación más prolongado.

En el primer capítulo, primero se estudia el efecto *in-vitro* de diferentes concentraciones de gel de *Aloe vera* sobre la inhibición del crecimiento del micelio de dos de los hongos más comunes responsables de las podredumbres de la fruta, como son *Penicillium digitatum* y *Botrytis cinerea*. A continuación se evalúa el efecto antifúngico en post-cosecha del gel de *A. vera* (con la adición o no de timol) sobre dos variedades de nectarinas infectadas con *B. cinerea*, *P. digitatum* y *R.*

stolonifer. En este primer capítulo se comprueba que el gel de *Aloe vera* es capaz de inhibir el crecimiento *in-vitro* e *ex-vivo* de estos tres hongos comunes en post-recolección y de reducir algunos procesos específicos de la maduración estos frutos de hueso.

En el segundo capítulo, se ha comprobado que la aplicación de gel de aloe como tratamiento pre-cosecha en cerezas, melocotones y nectarinas reduce la carga microbiana en los frutos en el momento de la recolección, sin afectar al proceso de maduración en el árbol ni a los parámetros relacionados con la calidad. Así pues, estos tratamientos pre-cosecha con gel de *A. vera* conllevarían a reducir la incidencia de podredumbres en frutas de hueso durante la conservación post-recolección no modificando las propiedades organolépticas de los frutos.

En el capítulo tres se ha estudiado el efecto de los tratamientos en pre-cosecha, con gel de *Aloe vera* comercial y de elaboración propia, sobre los atributos de calidad, contaminación microbiana y aparición de podredumbres de la uva de mesa, tanto en el momento de la recolección como durante su conservación. Estos tratamientos se realizaron en uva de mesa "Autumn Royal" y "Crimson" bajo cultivo convencional y ecológico, respectivamente. En este capítulo se demuestra que el gel de *A. vera* podría ser aplicado antes de la recolección, como tratamiento para inhibir el deterioro microbiano y reducir la incidencia de podredumbres en uva de mesa durante el almacenamiento en post-cosecha, con un efecto adicional retrasando la maduración del fruto.

Por otra parte, en el capítulo 4 se estudia el efecto de los tratamientos con geles de *A. vera* y *A. arborescens* sobre diferentes parámetros relacionados con la calidad de ciruela "Santa Rosa" y melocotón "Redheaven". En este capítulo se comprueba que los geles de ambas especies de aloe pueden ser aplicados en post-recolección para retrasar el proceso de maduración ya que en los frutos tratados se produce una disminución significativa en la producción de etileno, pérdida de peso, evolución del índice de color croma y del índice de madurez.

En el último capítulo, se caracterizaron las hojas y los geles de 8 especies distintas de *Aloe* (*Aloe arborescens* Mill., *Aloe aristata* Haw, *Aloe claviflora* Strydenburg, *Aloe ferox* Mill., *Aloe mitriformis* Mill., *Aloe saponaria* Ait., *Aloe*

striata Haw., y *Aloe vera* L.) recolectadas en 3 estaciones del año. Además, también se evalúa la actividad antifúngica de las hojas de las 8 especies contra los hongos patógenos más comunes de la fruta (*Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium expansum* y *Penicillium italicum*). Los resultados muestran que existen diferencias significativas en las propiedades y la composición química del gel obtenido de las hojas según la especie de *Aloe* y del momento en el que se realice la recolección. La aparición de podredumbres sobre las hojas es diferente entre las distintas especies de *Aloe*, siendo las hojas de *A. ferox*, *A. mitriformis* y *A. saponaria* en las que menos crecieron los hongos inoculados artificialmente. El porcentaje de heridas infectadas por los diferentes hongos en las hojas de las diferentes especies de *Aloe* se correlacionó negativamente con la concentración de aloína de sus geles, lo que indica que la aloína puede ser uno de los componentes más importantes del gel de aloe más importante relacionado con la actividad antifúngica.

Así pues, otras especies de *Aloe*, como *A. ferox*, *A. mitriformis* y *A. saponaria*, podrían usarse, junto con *A. vera*, para la fabricación de geles que podrían usarse comercialmente como tratamientos pre- o post-cosecha para reducir la carga microbiana, retrasar los procesos de maduración y mantener la calidad de la uva de mesa y los frutos de hueso.

THESIS ABSTRACT

During centuries, *Aloe vera* plant has been used due to its medicinal and therapeutic properties and in general, *Aloe sp.* are categorised as medicinal plants by their effects as anti-inflammatory, hypoglycaemic, gastrointestinal protector and wound healing. On the other hand, it is well known the *Aloe vera* role on inhibiting bacterial proliferation, both gram positive and gram negative, as well as improving several diseases caused by fungi species.

The commercialisation of horticultural fresh produce is an important economic activity in Spain, as a result of the development of a modern agriculture by incorporating new technologies, new products and cultivars. Occurrence of fungal diseases caused by different fungi species is one of the main causes of fruit deterioration during postharvest storage. There are different commercial fungicides to counteract these diseases, although their use are being controlled and restricted, and thus farmers and producers are needed of some efficient tools able for controlling the postharvest diseases.

In the present PhD Thesis, structured in 5 chapters and with the aim to have available new solutions to this problem, several investigations have been carried out to evaluate the effect of treatments with aloe gels on controlling decay caused by mycelia fungi as well as their effects on fruit quality and physiology. Accordingly, the possible use of aloe gels, applied either at pre- or postharvest, on fruit commodities with great commercial interest such as plum, sweet cherry, peach, nectarine and table grape were studied.

In the first chapter, the *in vitro* effect of several *Aloe vera* gel concentrations on inhibiting the mycelium growth of the two most common fungi responsible for fruit decay, such as *Penicillium digitatum* and *Botrytis cinerea*, will be firstly assayed. Secondly, the postharvest antifungal effect of *Aloe vera* gel (alone or with the addition of thymol) on two nectarine cultivars artificially infected with *B. cinerea*, *P. digitatum* and *Rhizopus stolonifer* will be analysed. Results from this chapter permit to conclude that *Aloe vera* gel was able to inhibit the *in vitro* and *ex vivo* growth of these common fungi during postharvest storage and also to delay some specific ripening processes of these stone fruits.

In the second chapter, it is shown that application of *Aloe vera* gel as pre-harvest treatment on sweet cherries, peaches and nectarines reduced the microbial load of these fruits at time of harvesting without affecting the on-tree ripening process or quality attributes, and thus would reduce decay occurrence of stone fruits during postharvest storage without modifying the organoleptic quality.

In the third chapter, pre-harvest treatments with *Aloe vera* gel (commercial or home-made) and their effects on quality attributes, microbial population and decay occurrence on table grape at time of harvesting and after postharvest storage were studied. Treatments were carried out on 'Autumn Royal' and 'Crimson' table grape cultivars grown under conventional or organic-farming, respectively. Results from these chapter demonstrated that *Aloe vera* gel could be used before harvesting as a treatment to inhibit microbial deterioration and to reduce decay occurrence during postharvest storage of table grape, with an additional on delaying the fruit ripening process.

In the fourth chapter, the effect of post-harvest treatments with *Aloe vera* or *Aloe arborescens* gels on different parameters related to quality of 'Santa Rosa' plum and 'Redheaven' peach was assayed. It is shown that gels both aloe species could be applied as postharvest treatment to delay the ripening process, since a significant reduction in ethylene production rate, weight loss, colour changes and ripening index were obtained in treated fruit compared with untreated ones.

In the fifth chapter, the leaves and gels of 8 different *Aloe sp.* harvested at 3 seasons along the year were characterised (*Aloe arborescens* Mill., *Aloe aristata* Haw., *Aloe claviflora* Strydenburg, *Aloe ferox* Mill., *Aloe mitriformis* Mill., *Aloe saponaria* Ait., *Aloe striata* Haw., and *Aloe vera* L.). Additionally, the antifungal activity of the leaves from the 8 *Aloe sp.* against the most common fungi attacking fruit commodities (*B. cinerea*, *P. digitatum*, *P. expansum* and *P. italicum*) was studied. Results showed that significant differences existed on gel properties and chemical composition depending on the *Aloe sp.* leaf used and the harvesting season. Leaf decay occurrence and severity was different depending on the aloe sp., the *A. ferox*, *A. mitriformis* and *A. saponaria* being the leaves with reduced fungal growth after artificial fungi inoculation. The percentage of damaged injuries

of the different *Aloe sp.* was negatively correlated with aloin concentration in the gel, which would indicate that aloin could be the most important component of the Aloe gels related to antifungal activity.

Thus, other *Aloe sp.* such as *A. ferox*, *A. mitriformis* and *A. saponaria* could be used, together with *A. vera* to make gel with potential application as pre- or post-harvest treatments to table grapes and stone fruits to decrease fruit decay, delay the ripening process and maintain fruit quality.

Parte de los resultados derivados de esta Tesis Doctoral han sido difundidos a través de:

Artículos SCI:

Zapata, P.J., Navarro, D., Guillén, F., Castillo, S., Martínez-Romero, D., Valero, D., Serrano, M. 2013. Characterisation of gels from different *Aloe spp.* as antifungal treatment: Potential crops for industrial applications. *Industrial Crops and Products*. 42, 223-230.

Navarro, D., Díaz-Mula, H.M., Guillén, F., Zapata, P.J., Castillo, S., Serrano, M., Valero, D., Martínez-Romero, D. 2011. Reduction of nectarine decay caused by *Rhizopus stolonifer*, *Botrytis cinerea* and *Penicillium digitatum* with *Aloe vera* gel alone or with the addition of thymol. *International Journal of Food Microbiology*. 151, 241-246.

Castillo, S., Navarro, D., Zapata, P.J., Guillén, F., Valero, D., Serrano, M., Martínez-Romero, D. 2010. Antifungal efficacy of *Aloe vera* in vitro and its use as a preharvest treatment to maintain postharvest table grape quality. *Postharvest Biology and Technology*. 57, 183-188.

Castillo, S., Navarro, D., Zapata, P.J., Guillén, F., Valero, D., Martínez-Romero, D., Serrano, M. 2012. Using *Aloe vera* as a preharvest treatment to maintain postharvest organic table grape quality. *Acta Horticulturae*. 933, 621-626.

Comunicaciones en congresos:

Navarro, D., Castillo, S., Zapata, P.J., Guillén, F., Valero, D., Serrano, M., Martínez-Romero, D. Antifungal effect of three *Aloe vera* extracts against *Botrytis cinerea*. En 28TH INTERNATIONAL HORTICULTURAL CONGRESS. Lisboa, Agosto 2010.

Navarro, D., Pérez, H., Zapata, P. J., Valero D., Martínez-Romero, D. Efecto fisiológico de *Aloe vera* o *Aloe arborescens* en tres especies de prunus. En VI

Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. VI CYTA. , Valencia, Junio 2011.

Díaz-Mula, H.M., Navarro, D., Valero D., Martínez-Romero, D., Serrano, M. Recubrimientos con geles de *Aloe sp.* retrasan la maduración Post-recolección de ciruelas "Santa Rosa". En VI Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. VI CYTA. , Valencia, Junio 2011.

Pérez, H., Díaz-Mula, H.M., Martínez-Romero, D., Serrano, M., Valero, D. Efecto de dos geles de *Aloe sp.* sobre la fisiología y aparición de podredumbres en melocotones "Redheaven". En VI Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. VI CYTA. , Valencia, Junio 2011.

Valverde, J.M., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Guillén, F., Zapata, P.J. Efecto del uso de recubrimientos comestibles a base de dos especies de *Aloe* sobre la conservación post-cosecha de ciruela "Black Amber". En VI Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. VI CYTA. , Valencia, Junio 2011.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, a mi director de Tesis: Domingo Martínez Romero. Sin ti nada de esto se habría fraguado. Muchas gracias por confiar en mí y darme la oportunidad de introducirme en el mundo investigador como siembre había deseado. Siempre te llevaré en mi corazón.

A mi directora, María Serrano Mula, a la que he "bombardeado" con documentos y correcciones durante meses. Gracias por tu paciencia, tu dedicación y tu alegría. No pierdas nunca la ilusión por lo que haces, eso te hace grande.

A Huertas, por estar siempre al pie del cañón y ayudarme en todo lo necesario para que esta Tesis fuera posible. Has sido una excelente compañera y mejor amiga.

A todo el Grupo de Post-recolección: Fabián, Daniel, Salva, Pedro y Juanmi. Por hacerme pasar tan buenos y divertidos momentos. En especial quiero darle las gracias a Salvador Castillo, por facilitarme la mayoría de las fotos de esta Tesis. Sin la ayuda de todos vosotros esta Tesis aún no habría terminado. Gracias a todos por vuestra ayuda y alegría. Sabéis que os quiero.

A mis compañeros de trabajo: Paqui, José, Sara, Aurelia, Ana, Tamara, Wilson, David, Rosa, Rubén, Almudena, Edu, Jose M^a y Héctor. Por interesarse por la realización de esta Tesis, animarme y ofrecerme su ayuda ante cualquier duda que me ha surgido durante la redacción de la misma. Con compañeros así da gusto trabajar.

A mis "compañeros de viaje". Gracias por velar mis sueños.

A mis "damas de honor", Nuria, Ana, Chabela y Ana M^a. Vosotras me habéis visto crecer y convertirme en lo que soy. Por comprender mis prolongadas ausencias y acudir en mi ayuda siempre que os he necesitado. Por esas cenas y cafés que me dais, y los que nos quedan por compartir, porque son como aire

fresco para mí. Prometo que a partir de ahora nuestras quedadas serán más frecuentes.

A Tania y Raquel. Gracias por estar ahí día tras día, por darme ánimos cuando más los necesitaba, por vuestros consejos y sobretodo por vuestra amistad. Derrocháis y contagiáis vuestra alegría, por eso sin vosotras el trabajo en el laboratorio no sería lo mismo. Pero, ¿qué puedo deciros que no sepáis ya? Raquel, mi Rachel, eres un ejemplo de constancia, paciencia y perseverancia. Gracias por regalarme esos trayectos en tren, porque sin ti no son lo mismo. Tania, gracias por ser mi mentora y guiarme por el camino de la genética. Trabajar junto a ti ha sido un regalo por el que estaré eternamente agradecida. Empezaste siendo una compañera de trabajo, pero te has convertido en una amiga con todas las letras. Os quiero, chicas.

A mis padres. Gracias por hacer de intermediarios en el continuo tráfico de información entre mis directores y yo. Gracias por salir corriendo y solucionarme "la papeleta" cuando os lo he pedido, e incluso sin pedirlo. Gracias por apoyarme y animarme en los momentos en los que he tenido ganas de tirar la toalla. Gracias por vuestro amor incondicional. Os quiero.

¡Sergito! Gracias por regalarme esos momentazos que tanto echo de menos desde hace un año. Porque aunque no lo quiera reconocer, estoy deseando que llegues de Valencia para verte y que me hagas reír con tus payasadas. Cuando estoy contigo vuelvo a ser una niña. Porque aunque seas un cafre y a veces me saques de mis casillas, sigues siendo mi hermano y te quiero... ¡Ezaaaaah!

A Felipe, mi marido, mi mitad, mi compañero, mi amigo. Este último año junto a ti ha sido como un sueño del que nunca querría despertar. Tu sola presencia ha sido suficiente para saber que no estaba sola en esto y que estabas a mi lado para darme aliento cuando más lo he necesitado. Gracias por aguantar mis malos momentos estos últimos meses, porque soy consciente de que he estado muy susceptible e irritable. A pesar de todo, me has seguido regalando tu amor incondicional. Has tenido toda la paciencia del mundo conmigo. Por todo esto y mucho más... TE QUIERO.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. HISTORIA DEL ALOE.....	1
1.2. SISTEMÁTICA, CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS Y ESPECIES DE INTERÉS.....	3
1.3. EL CULTIVO DEL ALOE.....	7
1.4. ANATOMÍA DE LA HOJA.....	8
1.5. EL GEL DE ALOE.....	11
1.6. SITUACIÓN DEL CULTIVO DE CEREZA, CIRUELA, MELOCOTÓN, NECTARINA Y UVA DE MESA.....	14
1.6.1 CEREZO.....	14
1.6.2 CIRUELO.....	16
1.6.3 MELOCOTÓN Y NECTARINA.....	17
1.6.4 UVA DE MESA.....	20
1.7. MADURACIÓN Y CALIDAD DEL FRUTO.....	23
1.7.1 FISIOLÓGÍA DE LA MADURACIÓN.....	23
1.7.2 CALIDAD ORGANOLÉPTICA, NUTRITIVA Y FUNCIONAL.....	25
1.7.3 PÉRDIDAS DE CALIDAD EN POST-RECOLECCIÓN.....	29
1.8. TECNOLOGÍAS DE CONSERVACIÓN.....	31
1.8.1 CONSERVACIÓN EN FRÍO.....	31
1.8.2 COMBINACIÓN DEL FRÍO CON OTRAS TECNOLOGÍAS.....	32
1.9. PODREUMBRES EN POST-COSECHA.....	35
1.9.1 PROBLEMÁTICA DE LOS FUNGICIDAS SINTÉTICOS.....	37
1.9.2 POSIBLES ALTERNATIVAS CON COMPUESTOS NATURALES.....	40
2. OBJETIVOS.....	45

3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	49
3.1. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	49
3.1.1. CAPÍTULO 1. EFECTO <i>IN-VITRO</i> E <i>IN-VIVO</i> DEL GEL DE <i>ALOE VERA</i> SOBRE EL CRECIMIENTO DE DIFERENTES ESPECIES DE HONGOS.....	49
3.1.1.1. Experimento <i>in-vitro</i>	49
3.1.1.2 Experimento <i>in-vivo</i>	49
3.1.2. CAPÍTULO 2: EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS DE FRUTOS DE HUESO, EN PRE-RECOLECCIÓN, CON GEL DE <i>Aloe vera</i> SOBRE LA CARGA MICROBIANA Y LA CALIDAD DE LOS FRUTOS EN EL MOMENTO DE LA RECOLECCIÓN.....	50
3.1.3. CAPÍTULO 3: EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS DE UVA DE MESA, EN PRE-RECOLECCIÓN, CON GEL DE <i>Aloe vera</i> SOBRE SU CALIDAD EN EL MOMENTO DE LA RECOLECCIÓN Y DURANTE LA CONSERVACIÓN.....	50
3.1.4. CAPÍTULO 4: EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS DE CIRUELA Y MELOCOTÓN, EN POST-RECOLECCIÓN, CON GELES DE <i>Aloe vera</i> Y <i>Aloe arborescens</i> SOBRE SU CALIDAD DURANTE LA CONSERVACIÓN.....	51
3.1.5 CAPÍTULO 5: CARACTERIZACIÓN DEL GEL DE OCHO ESPECIES DE <i>Aloe</i> OBTENIDO EN DIFERENTES ESTACIONES DEL AÑO.....	51
3.1.5.1. Experimento I.....	51
3.1.5.2. Experimento II.....	51
3.2. MATERIAL VEGETAL.....	52
3.3. MATERIAL MICROBIOLÓGICO Y LIÓFILO.....	61
3.4. TÉCNICAS ANALÍTICAS.....	62
3.4.1. PÉRDIDAS DE PESO.....	62
3.4.2. FIRMEZA.....	62
3.4.3. COLOR.....	63
3.4.4. DIMENSIONES DE LA HOJA Y RENDIMIENTO DEL GEL.....	64
3.4.5. TASA DE RESPIRACIÓN.....	65
3.4.6. PRODUCCIÓN DE ETILENO.....	66
3.4.7. CONCENTRACIÓN DE ALOÍNA.....	68

3.4.8.	EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE POLIAMINAS.....	69
3.4.9.	CUANTIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS Y LÍPIDOS TOTALES.....	69
3.4.10.	CUANTIFICACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL.....	70
3.4.11.	CUANTIFICACIÓN DE LOS FENOLES TOTALES.....	72
3.4.12.	SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES, ACIDEZ TITULABLE E ÍNDICE DE MADURACIÓN.....	74
3.4.13.	DETERMINACIONES MICROBIOLÓGICAS: VOLUMEN DE INFECCIÓN, CARGA MICROBIANA E INCIDENCIA DE PODREDUMBRES.....	75
3.4.14.	VALORACIÓN VISUAL DEL RASPÓN Y DE LA MEDIA LUNA.....	77
3.4.15.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS EXPERIMENTALES.....	78
4.	CAPÍTULOS.....	81
4.1.	EFFECTO <i>IN-VITRO</i> E <i>IN-VIVO</i> DEL GEL DE <i>Aloe vera</i> SOBRE EL CRECIMIENTO DE DIFERENTES ESPECIES DE HONGOS.....	81
4.1.1.	INTRODUCCIÓN.....	81
4.1.2.	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	82
4.1.2.1.	Experimento <i>in-vitro</i>	82
4.1.2.2.	Experimento <i>in-vivo</i>	85
4.1.3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	87
4.1.3.1.	Experimento <i>in-vitro</i>	87
4.1.3.2.	Experimento <i>in-vivo</i>	92
4.1.4.	CONCLUSIONES.....	101
4.2.	EFFECTO DE LOS TRATAMIENTOS DE FRUTOS DE HUESO, EN PRE-RECOLECCIÓN, CON GEL DE <i>Aloe vera</i> SOBRE LA CARGA MICROBIANA Y LA CALIDAD DE LOS FRUTOS EN EL MOMENTO DE LA RECOLECCIÓN.....	102
4.2.1.	INTRODUCCIÓN.....	102
4.2.2.	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	103
4.2.3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	105

4.2.4.	CONCLUSIONES.....	118
4.3.	EFFECTO DE LOS TRATAMIENTOS DE UVA DE MESA, EN PRE-RECOLECCIÓN, CON GEL DE <i>Aloe vera</i> SOBRE SU CALIDAD EN EL MOMENTO DE LA RECOLECCIÓN Y DURANTE LA CONSERVACIÓN.....	119
4.3.1.	INTRODUCCIÓN.....	119
4.3.2.	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	121
4.3.3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	124
4.3.4.	CONCLUSIONES.....	138
4.4.	EFFECTO DE LOS TRATAMIENTOS DE CIRUELA Y MELOCOTÓN, EN POST-RECOLECCIÓN, CON GELES DE <i>Aloe vera</i> Y <i>Aloe arborescens</i> SOBRE SU CALIDAD DURANTE LA CONSERVACIÓN.....	139
4.4.1.	INTRODUCCIÓN.....	139
4.4.2.	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	139
4.4.3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	141
4.4.4.	CONCLUSIONES.....	150
4.5.	CARACTERIZACIÓN DEL GEL DE OCHO ESPECIES DE <i>Aloe</i> OBTENIDO EN DIFERENTES ESTACIONES DEL AÑO.	151
4.5.1.	INTRODUCCIÓN.....	151
4.5.2.	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	152
4.5.3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	154
4.5.4.	CONCLUSIONES.....	170
5.	CONCLUSIONES GENERALES.....	173
6	BIBLIOGRAFÍA.....	177



INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. HISTORIA DEL ALOE

En la prehistoria, los hombres utilizaban las plantas que tenían a su alrededor imitando el comportamiento de los animales, que utilizaban éstas para aliviar sus dolencias, aunque también aprendían sus usos tóxicos por las intoxicaciones propias de la falta de experiencia. Cuando el hombre empezó a vivir en sociedad, el conocimiento del uso de las plantas pasaría a ser específico de hechiceros y similares, según la época de la que se tratase.

Hoy en día, es fundamental que los fármacos con orígenes naturales y exhaustivamente estudiados se antepongan, en su medida terapéutica, al uso de los derivados sintéticos, que con un uso malo o excesivo tienen efectos contradictorios superiores a los fitofármacos naturales en su gran mayoría. Además, la OMS (Organización Mundial de la Salud) manifestó en 1996 que el 80% de la población mundial depende, para su atención primaria de la salud, de las plantas medicinales (Braveman y Tarimo, 1996).

En lo que respecta al aloe, su universalidad a lo largo de la historia es la señal evidente de que sus propiedades han estado presentes y a la orden del día en muy variadas civilizaciones, tal es así, que sobrevivió más que las propias civilizaciones que la utilizaban. El dato más antiguo sobre el uso terapéutico del aloe procede de Sumeria, que posteriormente se convertiría en la poderosa Mesopotamia, donde se encontraron unas tablas de arcilla en la ciudad de Nippur que databan del siglo XVIII a.C. y en las que se describen sus propiedades laxantes (Stevens, 2001). En los monumentos funerarios del antiguo Egipto existen referencias gráficas del aloe y en el Papiro de Ebers o Libro Egipcio de los Remedios (s. XVI a.C.) aparecen fórmulas medicinales que incluyen el aloe como ingrediente de bálsamos para tratar el catarro (Farelli, 2002).

A partir de 1600 existe constancia de que comenzó la difusión del aloe hacia Oriente, debido a los mercaderes árabes, llegando incluso a China (Dehin, 2000). Desde el Renacimiento hasta prácticamente nuestros días, el avance del uso del aloe ha llevado dos direcciones claramente diferenciadas, una en las

naciones árabes, costas del Mediterráneo, África, Oriente Medio, India, China y países americanos donde estaba implantado su cultivo y sus diferentes usos y en la otra dirección se encuentran la mayoría de los países occidentales en los que se redujo su uso a simple purgante y/o laxante.

En los últimos años se han realizado y se siguen llevando a cabo diversas investigaciones sobre los efectos del aloe. Recientemente están surgiendo en el mercado multitud de productos, especialmente cosméticos, que poseen en su composición jugo de aloe, e incluso se está empezando a utilizar en acabados para ciertos tipos de tejidos que estén en contacto con la piel. Actualmente existen numerosos sellos que certifican la calidad de los productos con base de aloe, aunque no todos tienen un reconocimiento internacional. En 1990 se creó el IASC (International Aloe Scientific Council) a partir de un grupo de industriales del aloe que pretendían evitar la competencia desleal y estandarizar la calidad de los productos procedentes del aloe (Fotografía 1). A partir de una serie de análisis dieron como resultado un certificado de garantía para los consumidores. El certificado incluye la revisión de las instalaciones de fabricación y la verificación del proceso. Esto garantiza que el producto reúne o excede los estándares fijados por la industria del aloe. Además, en el año 2010 se creó en España la Asociación Nacional de Empresarios del Aloe (Asocialoe) (Fotografía 2), cuyo objetivo, entre otros, es convertir los productos de *Aloe vera* producidos en España en el referente de todos los producidos dentro del continente europeo y competir, con mejor calidad y rendimiento, con los productos de *Aloe vera* producidos fuera de la Unión Europea.



Fotografía 1: Certificado del IASC

Fuente: <http://www.iasc.org>



asocialoe

Asociación Nacional
de empresarios del Aloe

Fotografía 2: Logotipo de la Asociación Nacional de empresarios del Aloe. **Fuente:**

<http://asocialoe.com/>

1.2. SISTEMÁTICA, CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS Y ESPECIES DE INTERÉS

La sistemática del aloe sería como sigue: División Magnoliophyta o Angiosperma (plantas con semilla protegida por un fruto y óvulos en el interior del ovario), Clase *Liliopsida* o *Monocotiledónea* (que poseen embriones con un solo cotiledón u hoja embrionaria), Subclase *Liliidae* (ovario trilocular y tricarpelar con numerosos primordios seminales), Orden *Liliales*, Familia Aloaceae (Izco *et al.*, 1997). Esta familia incluye cinco géneros y unas 700 especies, a menudo de alto interés ornamental, por la vistosidad de sus flores y hojas, que suelen ser espinescentes en los bordes y dispuestas en roseta basal, de cuyo centro parte un escapo con numerosas flores en racimos terminales. Las flores son actinomorfas y trímeras, con tépalos petaloideos, connados en un periantio tubuloso y vivamente coloreado de amarillo, naranja o púrpura, coloraciones que justifican la frecuente ornitofilia del grupo. El fruto suele ser una cápsula loculicida y las semillas son generalmente aladas y poseen un embrión recto embebido en un endospermo coriáceo.

El género más importante de la familia Aloaceae es *Aloe sp*, con unas 400 especies caracterizadas por poseer hojas suculentas y con fotosíntesis CAM (metabolismo ácido de crasuláceas), aunque sus dimensiones pueden variar entre especies (Newton, 2001). Sin embargo, la especie más utilizada a lo largo de la historia y también actualmente es el *Aloe vera* L. A continuación se describen las características botánicas de las especies que se han estudiado en esta Tesis:

***Aloe arborescens* Miller** (Fotografía 3a): Esta especie de aloe se convierte en un arbusto de múltiples cabezas dispuestas en roseta y de 2 ó 3 m de altura (International Aloe Science Council, 2012). En los márgenes de las hojas aparecen dientes claramente definidos. Sus flores son color escarlata, y de ellas se extrae un componente para el tinte que también suele utilizarse en cosmética. Esta planta es originaria de Sudáfrica y se adapta a una gran variedad de hábitats, pero crece sobretodo en zonas montañosas y bosques. Es una planta típica de jardín. Para su buen crecimiento necesita luz del sol directa, buen drenaje y suelo enriquecido con compost. Puede tolerar las sequías y las heladas moderadas, aunque no las severas.

Aloe sp



a) *Aloe arborescens*



b) *Aloe aristata*



c) *Aloe claviflora*



d) *Aloe ferox*



e) *Aloe mitrifomis*



f) *Aloe saponaria*



g) *Aloe striata*



h) *Aloe vera*

Fotografía 3: Imágenes de las diferentes especies de *Aloe* de la parcela ecológica de la EPSO. **Fuente:** S. Castillo y elaboración propia.

***Aloe aristata* Haw** (Fotografía 3b): es una especie endémica de Sudáfrica, de pequeño tamaño y carente de tallo, que presenta una roseta basal compuesta de hojas suculentas y curvadas hacia adentro. La superficie de las hojas se caracteriza por tener unas pequeñas protuberancias de color blanco y los márgenes de las hojas están ribeteados de suaves dientes blancos. Las flores son de un color naranja rojizo, con forma tubular. Esta planta es sensible al exceso de agua.

***Aloe claviflora* Strydenburg** (Fotografía 3c): *Aloe claviflora* crece en grandes grupos, normalmente en disposición circular o semi-circular (van Wyk, 2000). Las plantas jóvenes generalmente carecen de tallo, pero las de más edad pueden tener tallos cortos que crecen horizontales al suelo. A diferencia de otras especies de *Aloe sp* que crecen en regiones áridas, *Aloe claviflora* no tiene rosetas verticales, sino que éstas miran hacia fuera, dándole una forma asimétrica característica (van Wyk, 2000). Las hojas miden hasta 20 cm de largo, tienen espinas marrones a lo largo de los bordes y son de color verde grisáceo, a veces con un aspecto blanquecino que se acentúa debido a la falta de agua. La planta en sí es muy resistente y puede sobrevivir a menudo durante varias temporadas sin agua, lo que induce que las hojas se tornen de un color blanquecino para ayudar a reflejar el sol como mecanismo de adaptación a la sequía. Otra característica típica es el ángulo en que se producen las inflorescencias, que nunca es recto, sino que siempre crecen en un ángulo inclinado casi postrado en el suelo. Normalmente las inflorescencias no son ramificadas, aunque en algún caso pueden aparecer hasta 4 ramas. Las flores tienen forma cónica y el conjunto de todas ellas da lugar a un ramo de forma triangular de hasta 30 cm de largo. Los brotes y las flores jóvenes son de color rojo brillante, pero se vuelven de color amarillo o blanquecino a medida que envejecen con el tiempo. En cuanto a su hábitat, *Aloe claviflora* se encuentra en zonas extremadamente áridas del interior de Sudáfrica, en hábitats que van desde el suelo de piedra plana hasta extensiones de arena bien drenadas y elevaciones rocosas y colinas.

***Aloe ferox* Miller** (Fotografía 3d): es originaria de Sudáfrica. Es una planta con tallo simple que alcanza los 2 ó 3 m de altura, con crecimiento lento. Las hojas son de color verde glauco de 1 m de longitud y 15 cm de ancho, lanceoladas, carnosas y a veces con espinas en ambas caras. Los márgenes están

provistos de dientes rojizos o marrones. Las flores se producen agrupadas en densas y largas inflorescencias de color rojo o anaranjado, con manchas marrones en los lóbulos internos. Florece en invierno. Su principal propiedad es que es un excelente laxante (International Aloe Science Council, 2012). El *A. ferox* crece en una gran variedad de hábitats, aunque es común en las laderas rocosas.

***Aloe mitriformis* Miller** (Fotografía 3e): esta especie es endémica de Namibia y Sudáfrica. Es una planta suculenta con las hojas agrupadas en rosetas basales de unos 25 cm de altura que forman pequeñas colonias. Las hojas son anchas, cortas, carnosas y de color verde-azulado sin manchas o líneas pero con los márgenes armados con espinas. Las flores son tubulares, de color rojo y nacen en racimos desde una corta inflorescencia de unos 45 cm de altura.

***Aloe saponaria* Ait.** (Fotografía 3f): es una planta suculenta con las hojas agrupadas en roseta basal. Alcanza hasta un metro de altura, aunque suele medir unos 30 cm y posee un tallo corto. Las hojas son carnosas, largas, anchas y lanceoladas, de color verde rojizo, moteadas con puntos blancos y con los márgenes dentados. Posee inflorescencias en racimos, generalmente de forma más esférica que otros aloes como *Aloe arborescens* Mill, con flores tubulares de color naranja rojizo que se encuentran al final de un tallo erecto que surge de la roseta. Esta especie es endémica de Sudáfrica. Puede tolerar las sequías y las heladas moderadas, aunque no las severas y necesita bastante espacio para el desarrollo de sus raíces.

***Aloe striata* Haw** (Fotografía 3g): esta especie de *Aloe* es endémica de Sudáfrica. Puede tener la roseta de hojas sentada o sobre un tronco caído sobre el suelo de hasta 1 m. Tiene las hojas color verde azulado, ovado-lanceoladas, de hasta 50 x 20 cm que carecen de espinas y sus bordes son de color rosado. La inflorescencia está ramificada en forma de corimbo y las flores son de color rojo coral (van Wyk y Smith, 1996). *A. striata* Haw es una planta típica de jardín, ya que es relativamente fácil de cultivar en una amplia variedad de condiciones climáticas, siempre y cuando se encuentre bien drenada, con luz solar directa y que no tenga exceso de agua y puede resistir las heladas y la sequía prolongada.

***Aloe vera* L. (*Aloe barbadensis* Miller)** (Fotografía 3h): es una planta originaria de África del norte, perenne, con hojas dispuestas en rosetas, alcanzando los 40-50 cm de largo y los 6-10 cm de grosor (Schweizer, 1994). Las hojas son alargadas, lanceoladas, y parecen brotar directamente del suelo en los ejemplares juveniles; aunque las plantas adultas presentan un tallo corto y robusto. Las flores del *Aloe vera* L. son pequeñas, tubulares, y se presentan en inflorescencias densas de color frecuentemente amarillo o rojo.

1.3. EL CULTIVO DEL ALOE

La planta de aloe es originaria de Sudáfrica, pero actualmente se cultiva en todo el mundo, excepto en regiones de tundra, desiertos y la selva tropical. El aloe se adapta perfectamente a condiciones de clima tropical y subtropical, y se desarrolla muy bien en los climas cálidos y subcálidos característicos de las zonas denominadas monte espinoso tropical, bosque espinoso premontano y estepa espinosa montano bajo, entre los 0 y 3000 m de altitud, con temperaturas entre los 16 y 25 °C. Esta planta no tolera las temperaturas por debajo de los 0 °C, la humedad relativa superior a 60% y requiere al menos 600 mm de precipitación y mucha luminosidad. La planta tarda aproximadamente 4 años para alcanzar la madurez y el cultivo tiene una vida útil de alrededor de 12 años.

Existen plantaciones en África, Australia, EE.UU, América central, México, Rusia, Japón y también en Europa meridional, sobretudo en España, aunque la mayoría del aloe que se encuentra en Europa proviene de EEUU y de Méjico. En Italia se está empezando a cultivar, pero hoy en día las dimensiones de las plantaciones son todavía limitadas. En España, concretamente en Andalucía, Canarias y levante peninsular, las condiciones son óptimas para su desarrollo, debido a que por su situación geográfica, se beneficia del clima soleado todo el año (Martín, 2002). Sin embargo, la principal zona de cultivo se encuentra en las Islas Canarias, con aproximadamente 150 hectáreas de plantaciones de aloe y un total de 10 millones de plantas. También se encuentran otras áreas importantes de producción como Mallorca (Islas Baleares) y varias regiones del territorio continental, donde destacan cultivos aislados de productores independientes o pequeñas empresas en Sevilla, Cádiz, Córdoba, Granada, Murcia y Almería. Casi

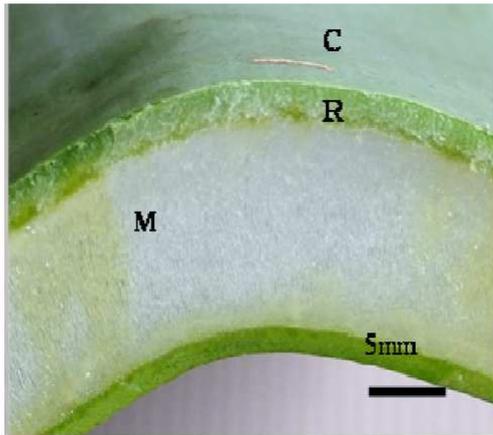
todas las plantaciones se refieren a la especie *Aloe vera* L. En total, se estiman unas 250 a 300 hectáreas de producción de aloe en toda España.

A diferencia de la mayor parte de los países sudamericanos, africanos y asiáticos, España, como estado miembro de la comunidad Europea, tiene que seguir procedimientos de control de la calidad productiva muy estrictos que cumplan con la normativas CEE. De esta manera, las producciones biológicas poseen una certificación estatal, garantizando que el aloe no procede de cultivos excesivamente explotados tanto físicos como químicamente. Se considera que España, Grecia e Israel pueden ser, en la actualidad, las mejores zonas de producción y abastecimiento de aloe que existe en el mundo. En la UE no existe una normativa exacta para la comercialización del gel de aloe, sin embargo, no está permitido el uso de gel en los alimentos dentro de la UE, pero sí se permite la comercialización de alimentos que contengan aloe que hayan sido elaborados fuera de la UE. La Asociación de productores de aloe en España quiere normalizar el uso del aloe en alimentación y que se considere un alimento, como lo es en países cercanos como Suiza, Marruecos, etc.

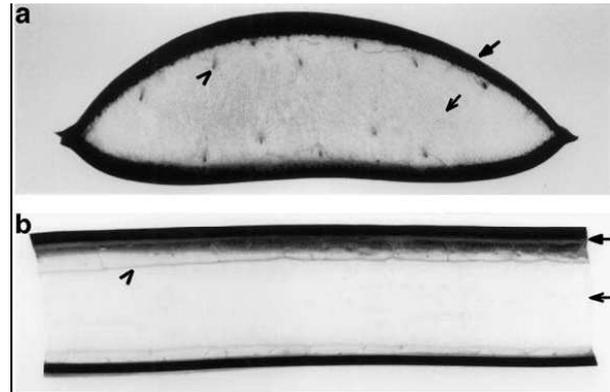
1.4. ANATOMÍA DE LA HOJA

En general, todas las especies de aloe tienen hojas carnosas con una anatomía similar (Smith, 1993) y en un corte transversal se pueden distinguir claramente dos zonas: una capa exterior o corteza de color verde, y un cuerpo interior o tejido esponjoso, denominado gel, que es de color blanquecino y entre ambas capas se encuentran los haces vasculares, aunque en algunas especies están en las capas más externas del tejido esponjoso (Fotografía 4 a y b).

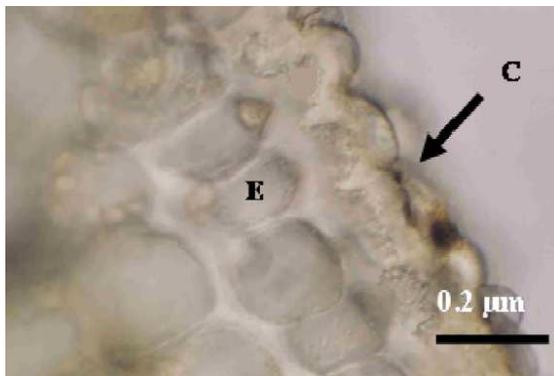
La corteza puede ser más o menos gruesa dependiendo de la especie. La capa más externa de la corteza es la epidermis, formada por células epidérmicas, resistentes y flexibles, entre las que se encuentran los estomas, que permiten el intercambio gaseoso con el exterior y que son más números en el envés de la hoja que en el haz (Coopoosamy y Naidoo, 2011). Recubriendo la epidermis hay una gruesa capa de cutícula (Fotografía 5) y debajo de la epidermis existen 15-20 capas de células fotosintéticas de forma poligonal (Fotografía 6).



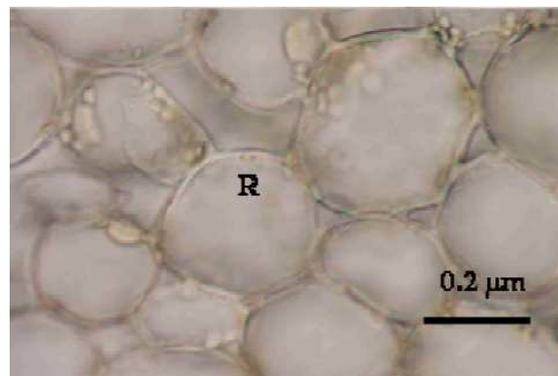
Fotografía 4a: Corte de la hoja de *A. excelsa*. R = corteza; M = mesófilo; C = cutícula. Las células entre la corteza y el mesófilo indican la presencia de exudados foliares. **Fuente:** Cooposamy y Naidoo, 2011.



Fotografía 4b: Vista de las secciones de la hoja de *A. vera*: sección transversal (a) y sección longitudinal (b). Las flechas abiertas indican la corteza y las cerradas la pulpa. Las cabezas de las flechas abiertas indican los haces vasculares. **Fuente:** Ni *et al.*, 2004.



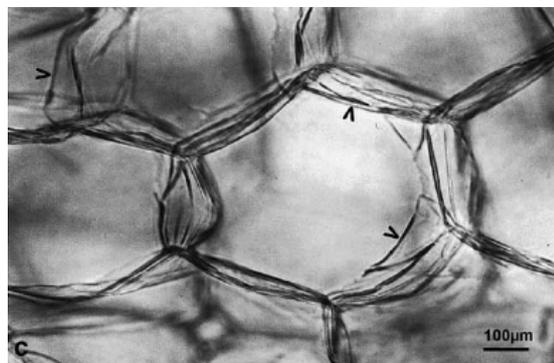
Fotografía 5: Microscopía óptica de la sección transversal de una hoja de *A. excelsa*. E = epidermis; C = cutícula. **Fuente:** Cooposamy y Naidoo, 2011.



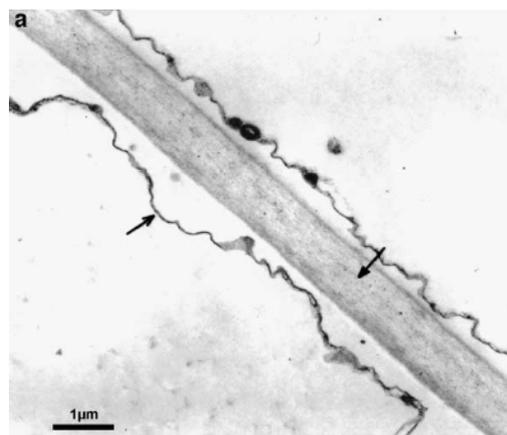
Fotografía 6: Microscopía óptica de la sección transversal de una hoja de *A. excelsa*. Se observan varias capas de células fotosintéticas. **Fuente:** Cooposamy y Naidoo, 2011.

El cuerpo interior de la hoja, pulpa o gel, está formado por un tejido esponjoso cuyas células poseen pared celular, membrana plasmática y restos de orgánulos degenerados, con la función de almacenaje de agua (Fotografías 7 y 8) y tamaños que pueden alcanzar hasta 1 mm de diámetro (Ni *et al.*, 2004). Es en

este tejido mucilaginoso de color claro donde se encuentra la mayor parte de los principios activos de la planta y el que se usa, generalmente, en productos medicinales, cosméticos y nutracéticos, por las propiedades de los polisacáridos que contiene, entre los que destacan mananos y sustancias pécticas (Grindlay y Reynolds, 1986; Ni *et al.*, 2004). Esta parte a veces se seca para formar *Aloe vera* concentrado o diluido con agua para crear productos de jugo de aloe. No obstante, existen diferencias en la composición y concentración de los diferentes compuestos activos entre las diferentes especies del género *Aloe* sp (van Wyk *et al.*, 1995; Yagi *et al.*, 1998).

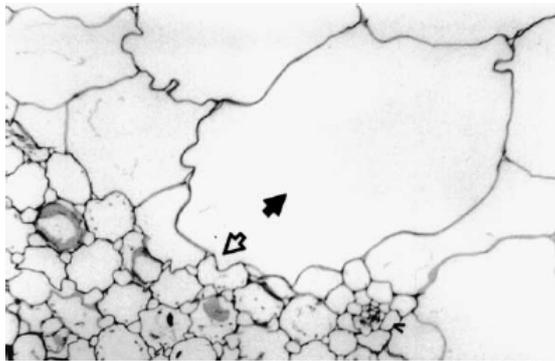


Fotografía 7: Vista microscópica de la pulpa fresca de hojas de *A. vera* bajo un aumento de 10x. Las flechas indican las paredes celulares de las células del mesófilo. **Fuente:** Ni *et al.*, 2004.

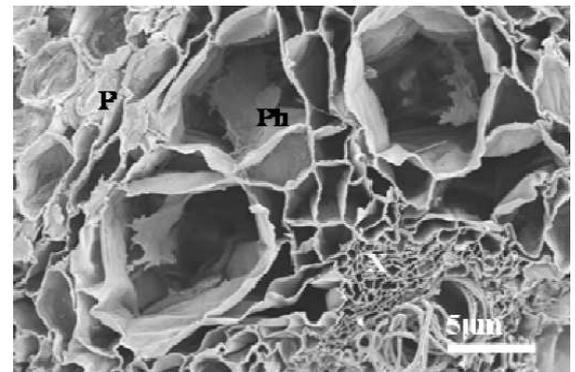


Fotografía 8: Imagen de microscopía electrónica de la pulpa de una hoja de *A. vera* L. La flecha de la derecha indica la pared celular y la de la izquierda la membrana plasmática. **Fuente:** Ni *et al.*, 2004.

Entre la corteza y el gel se encuentran los haces vasculares (Fotografías 9 y 10) con el xilema en el centro y el floema formando un círculo a su alrededor y rodeando al floema varias capas de células parenquimáticas que contienen látex, que puede observarse a simple vista, cuando se corta la hoja, como un exudado amarillento (Fotografía 4a).



Fotografía 9: Corte histológico de una hoja de *A. vera*. La flecha negra indica la pulpa, la blanca la corteza y la punta de flecha abierta un haz vascular. **Fuente:** Ni *et al.*, 2004.



Fotografía 10: Microscopía electrónica de barrido de un haz vascular de una hoja de *A. excelsa*. X = xilema; Ph = floema; P = parénquima. **Fuente:** Coopoosamy y Naidoo, 2011.

1.5. EL GEL DE ALOE

El gel de *Aloe vera* es la gelatina mucilaginosa obtenida del tejido esponjoso interior de las hojas. En su estado natural, el gel está protegido en el interior de las hojas por la carnosa envoltura exterior, pero una vez que la hoja es cortada, el gel se expone al aire, lo que provoca una rápida oxidación y descomposición, dando como resultado una importante disminución de sus propiedades biológicas. Para evitar esta degradación, es necesario encontrar un método de estabilización adecuado, pero independientemente del método y de la calidad relativa del gel de la planta, los mejores resultados se obtendrán cuando las hojas sean procesadas inmediatamente después de ser cortadas. Esto es debido a que la degradación del gel comienza por reacciones enzimáticas naturales y también al crecimiento de bacterias ante la presencia de oxígeno (Ramachandra y Srinivasa-Rao, 2008).

Actualmente existen diferentes técnicas de estabilización, pero todas coinciden en los siguientes pasos: lavado de la hoja recién cortada con un bactericida, separación mecánica del gel de la corteza exterior. La separación del gel podría facilitarse con la filtración del gel obtenido, estabilización mediante el empleo de frío o calor y/o la adición de conservantes u otros aditivos, como el ácido cítrico, ácido ascórbico o ácido fosfórico, aunque los más utilizados son los dos primeros. En la estabilización por frío todo el proceso se realiza a baja temperatura. Otra medida de esterilización en el proceso en frío consiste en exponer el gel a luz ultravioleta, seguido de una microfiltración. Por otro lado, la estabilización por calor se logra sometiendo el gel de aloe a un tratamiento de pasteurización a alta temperatura. Según Aloecorp (2012), la actividad biológica del gel de *A. vera* se mantiene esencialmente intacta cuando se calienta a 65 °C durante periodos inferiores a 15 minutos. Largos periodos de tiempo o temperaturas más altas (superiores a 75 °C) reducen en gran medida los niveles de actividad. Sin embargo, otros expertos afirman que el método óptimo de esterilización es HTST (High Temperature Short Time), seguido de una rápida refrigeración a 5 °C o menos. Finalmente, Bill Coats descubrió y patentó la técnica de conservación que consiste en dejar incubar el gel dentro de cubas, añadiendo vitamina C (ácido ascórbico), vitamina E (tocoferol) y sorbitol para impedir que se oxide (Coats, 1979).

Las técnicas más utilizadas son la estabilización por frío y la estabilización por calor. En la primera, todo el proceso. Según Coats (1979) (fundador de Aloe Vera of America), la utilización de enzimas como la glucosa oxidasa y catalasa, inhiben el crecimiento de organismos aerobios en el gel de *A. vera*, por lo que puede esterilizarse fácilmente. Fue, quien más perfeccionada que existe actualmente. Consiste Trabajando con temperaturas precisas obtuvo una reacción química perfecta que permitió la conservación del producto.

Se han aislado diversos compuestos del tejido parenquimático central y del exudado de las células adyacentes a los haces vasculares. El exudado amarillo contiene derivados de 1,8 dihidroxiantraquinona y sus glucósidos, que se utilizan principalmente por sus efectos catárticos (Vázquez *et al.*, 1996). Se ha demostrado que la pulpa contiene proteínas, lípidos, aminoácidos, vitaminas,

enzimas, compuestos inorgánicos y compuestos orgánicos, además de los diferentes hidratos de carbono (Tabla 1).

Tabla 1. Composición química del gel de *A. vera*

Antraquinonas / antronas	Aloe-emodina, ácido aloético, antranol, aloína A y B (conocidos conjuntamente como barbaloina), isobarbaloina, emodina y ester del ácido cinámico
Carbohidratos	Mannan, Acemannan, glucomannan acetilado, glucogalactomannan, galactano, galactogalacturano, arabinogalactano, galactoglucoarabinomannan, sustancias pecticas, xilano, celulosa
Cromonas	8-C-glucosil-(2'-O-cinamoil)-7-O-metilaloediol A, 8-C-glucosil-(S)-aloesol, 8-C-glucosil-7-O-metil-(S)-aloesol, 8-C-glucosil-7-O-metilaloediol, 8-C-glucosil-noreugenina, isoaloesina D, isorabaicromona, neoaloesina A
Enzimas	Fosfatasa alcalina, amilasa, carboxipeptidasa, catalasa, ciclo-oxidase, ciclo-oxigenasa, lipasa, oxidasa, fosfoenolpiruvato carboxilasa, superóxido dismutasa
Compuestos Inorgánicos	Calcio, cloro, cromo, cobre, hierro, magnesio, manganeso, potasio, fósforo, sodio, zinc.
Compuestos orgánicos y lípidos	Ácido arachidónico, ácido γ -linolenic, esteroides (campesterol, colesterol, β -sitosterol), triglicéridos, triterpenos, gibberelinas, ligninas, sorbato de potasio, ácido salicílico, ácido úrico
Amino ácidos esenciales y no-esenciales	Alanina, arginina, ácido aspártico, ácido glutámico, glicina, histidina, hidroxiprolina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, treonina, tirosina, valina
Proteínas	Lectinas y sustancias similares
Azúcares	Manosa, glucosa, L-ramnosa, aldopentosa
Vitaminas	B1, B2, B6, C, β -caroteno, colina, ácido fólico, α -tocoferol
Hormonas	Auxinas, giberelinas

Fuentes: Hamman (2008); Sharrif-Moghaddasi y Verma (2011).

Igualmente, existen evidencias de la variación taxonómica en la composición de polisacáridos, aunque destacan los mananes y pectinas (Ni y Tizard, 2004; Reynolds, 2004). Las grandes fluctuaciones en la composición de los polisacáridos de *A. vera* se han explicado por el hecho de que los residuos de manosil están contenidos en un polisacárido de reserva con una influencia

estacional, así como grandes variaciones entre los cultivares en términos de cantidades de polisacáridos que contienen manosa dentro de las células del parénquima (Feminia *et al.*, 1999).

Las propiedades medicinales del aloe se encuentran en el gel y se han reconocido desde hace siglos (Nandal *et al.*, 2012). Entre estas propiedades medicinales destacan la cicatrización de las heridas (Choi *et al.*, 2001), efecto antidiabético (Tanaka *et al.*, 2006), anti-inflamatorio (Reynolds y Dweck, 1999), inmunomoduladores (Im *et al.*, 2005), anticancerígeno (Steenkamp y Stewart, 2007), anti-hepático (Chandan *et al.*, 2007), antimicrobiano (Alves *et al.*, 2004; Habeeb, *et al.*, 2007), aumento de la absorción intestinal (Vinson *et al.*, 2005; Hamman y Viljoen, 2008) e hidratación de la piel (Dal'Beló *et al.*, 2006). Por otra parte, el látex contiene elevada concentración de antraquinonas que son las responsables del efecto laxante del aloe (van Wyk *et al.*, 1995; Yagi *et al.*, 1998).

1.6. SITUACIÓN DEL CULTIVO DE CEREZA, CIRUELA, MELOCOTÓN, NECTARINA Y UVA DE MESA

1.6.1. CEREZO

Las principales especies de cerezo cultivadas en el mundo son el cerezo dulce (*Prunus avium*), el guindo o cereza agria (*Prunus cerasus*) y el cerezo "Duke", híbrido de los anteriores (Moreno, 2001). Ambas especies son originarias del Sureste de Europa y Oeste de Asia. El cerezo dulce tuvo su origen probablemente entre el mar Caspio y el mar Negro, difundiéndose después hacia Europa y Asia. En España se cultiva principalmente esta especie.

El cerezo tiene una gran capacidad de adaptación a distintas áreas edafo-climáticas de la Zona Templada (Moreno, 2001), ya que prefiere los suelos con buen drenaje, ligeramente calizos, exposiciones con buena iluminación y aireación, laderas suaves de montaña y secanos frescos.

La cereza (Fotografía 11) es una fruta de verano cuya producción se destina principalmente al consumo en fresco. Las variedades más utilizadas para este fin son: "Burlat", "Marvin", "Stark Hardy Giant", "Celeste", "Van", "Bing", "Sunburst", "Hedelfingen", "Summit" y "Sweetheart". La recolección de la cereza se realiza cuando ésta ha alcanzado un grado de madurez adecuado para su consumo (abril-julio), puesto que al ser un fruto no climatérico no sigue madurando después de la recolección. Además, los canales de distribución deben ser lo más rápidos y eficientes posibles. Las cerezas que van a circuitos de comercialización más largos deben almacenarse a 0-4 °C. En ocasiones, inmediatamente después de la cosecha, se realiza un pre-enfriamiento con agua o aire forzado para mantener la calidad del fruto. También se utilizan plásticos con diferente permeabilidad gaseosa para limitar las pérdidas de peso del fruto y realizar un envasado en atmósferas modificadas (Moreno, 2001).



Fotografía 11: Cerezas "Skeena" (a) y cerezas "Prime Giant" (b) en el laboratorio de Post-recolección. **Fuente:** S. Castillo.

El principal productor de cerezas a nivel mundial es Turquía (417.905 t), mientras que España (80.300 t) ocupa el quinto lugar, por detrás de Italia (Tabla 2), siendo así el segundo país productor de la Unión Europea. En España, los mayores productores de cereza en 2010 fueron Aragón, Comunidad Valenciana y Extremadura.

1.6.2. CIRUELO

La ciruela (Fotografía 12) es un fruto carnosos de endocarpo leñoso y aplastado que contiene una almendra amarga no comestible en su interior y el color de la carne interior no suele corresponder con el del exterior. Las ciruelas pueden dividirse en dos grupos: las ciruelas europeas (*Prunus domestica* Lindl) y las ciruelas japonesas (*Prunus salicina* Lindl). La ciruela "Santa Rosa" que hemos estudiado en el capítulo 4 pertenece a este último grupo. El ciruelo europeo tuvo su origen probablemente en la región del Cáucaso, difundiéndose después hacia Europa y Asia. Por su parte, el ciruelo Japonés es originario de China, aunque se ha difundido a partir de su cultivo en Japón. Más recientemente, el interés de este cultivo en Estados Unidos llevó a la creación de nuevas variedades, bien difundidas en la actualidad en algunas regiones del área mediterránea (Moreno y Negueroles, 2001).



Fotografía 12: Ciruela "Santa Rosa" en el laboratorio de Post-recolección. **Fuente:** S. Castillo.

El ciruelo japonés es mucho menos exigente en horas de frío y, en general, presenta fechas de floración más tempranas. Por ello se adapta mejor a zonas cálidas, con menor riesgo de heladas primaverales. El ciruelo requiere, preferiblemente, suelos fértiles, con buen drenaje, ligeramente calizos,

exposiciones con buena iluminación y aireación, y cultivo en regadío o secanos frescos.

Las ciruelas europeas se destinan principalmente a la industria del desecado, mientras que las japonesas se destinan al consumo en fresco. Las variedades más usadas para este último fin son: "Red Beaut", "Golden Japan", "Santa Rosa", "Black Amber", "Black Gold", "Black Diamond", "Friar", "Angelino" y "Autumn Giant" (Moreno y Negueroles, 2001).

La ciruela es un fruto climatérico, por lo que continúa el proceso de maduración una vez recolectada. No obstante, hay que elegir bien las fechas de recolección (mayo-septiembre) para que el fruto pueda alcanzar un contenido en azúcares deseable para el consumo (Valero y Serrano, 2010). Las ciruelas que van a circuitos de comercialización más largos deben almacenarse a 0-4 °C. En ocasiones, inmediatamente después de la cosecha, se realiza un pre-enfriamiento con agua o aire forzado para mantener la calidad del fruto. También es necesario el mantenimiento de una elevada humedad relativa para evitar la deshidratación del fruto durante el almacenamiento (Moreno y Negueroles, 2001).

El principal productor de ciruelas a nivel mundial es China (5.664.826 t), mientras que España (192.000 t) ocupa el undécimo lugar, por detrás de India (Tabla 2), situándose como el tercer país productor de la Unión Europea, por detrás de Francia e Italia. En España, los mayores productores de cereza en 2010 fueron Extremadura, Comunidad Valenciana y Andalucía.

1.6.3. MELOCOTÓN Y NECTARINA

La aparición del melocotón (*Prunus persica*) (Fotografía 13) en España coincide con la colonización romana, que extendió los frutales por Europa Occidental. Los musulmanes continuaron con el cultivo de árboles frutales y a su vez introdujeron otras especies. A principios del siglo XX se empiezan a seleccionar genotipos de melocotonero a partir de poblaciones procedentes de semilla y se fijan por medio del injerto. Aparecen plantaciones regulares de melocotonero, un comercio apreciable e incluso se inicia la exportación. La

expansión de la superficie de cultivo, el aumento notable de la producción y de las exportaciones se produce a partir de 1970 (Badenes, 2001).



Fotografía 13: Melocotones en el laboratorio de Post-recolección. **Fuente:** S. Castillo.

La nectarina (*Prunus persica* var. *nectarina*) (Fotografía 14) es un fruto derivado de la mutación de los melocotones comunes. El fruto es una drupa (pericarpo membranoso, mesocarpo pulposo y endocarpo leñoso), de forma más o menos globosa con una línea de sutura y una cavidad alrededor del pedúnculo. Su piel es lisa, de coloración atrayente, pulpa muy sabrosa y el hueso no está adherido a la pulpa.



Fotografía 14: Nectarinas en el laboratorio de Post-recolección. **Fuente:** S. Castillo.

El melocotonero y el nectarino son frutales que se han adaptado a numerosas condiciones ambientales con la excepción de zonas muy frías o climas tropicales. Se pueden cultivar en secano cuando la pluviometría es superior a 500 mm, sin embargo, los rendimientos en estas condiciones son muy bajos, por lo que se recomienda el cultivo en regadío. Se requieren suelos francos, bien drenados y no calizos (Badenes, 2001).

Existen dos grupos de melocotones según el tipo de fruto: los de pulpa blanda y sin adherencia al endocarpio, destinados principalmente al consumo en fresco, y los de pulpa dura y fuertemente adherida, los cuales, aunque también se consumen en fresco, se destinan principalmente a la industria. Además, el melocotonero es la especie de frutal de mayor dinamismo varietal, ya que cada año aparecen novedades en el mercado y la renovación varietal es de las más rápidas. Debido a las características climáticas y de producción, la distribución varietal varía con el tiempo y con las áreas de cultivo. Teniendo en cuenta estas limitaciones, algunas de las principales variedades cultivadas son (Badenes, 2001):

- Andalucía Occidental, más Almería: grupo "Florida", grupo "Crest", "Silver King", "Armking" y "Red Diamond".
- Andalucía Oriental, excepto Almería: "Catherina", "Marujas", serie "Baby Gold" y "Amarillo de Agosto".
- Aragón: variedades tipo "Crest", "Merril Gem Free", "Redhaven", "Redglobe" y "Catherina".
- Cataluña: "Springtime", "Prime Rosa", "Alexandra", "Cardinal" y grupo "Crest".
- Murcia: grupo "Florida", grupo "Crest", "Marujas", "Paraguayos" y "Jerónimos".
- C. Valenciana: grupo "Florida", grupo "Crest", "Silver King", "Caldesi 2000" y "Marujas".

La recolección del melocotón y la nectarina va desde abril a agosto, aunque existen variedades tardías que se recolectan entre septiembre y octubre. Al ser frutos climatéricos, para conseguir una mayor calidad de los mismos hay que recolectarlos en el punto óptimo de maduración y para ello se debe determinar el

calibre, el color, la firmeza, los SST y la acidez titulable. Algunos estudios realizados, han asociado una mayor calidad del fruto, y consecuentemente una mayor aceptación por parte de los consumidores, con un mayor contenido en SST (Parker *et al.*, 1991; Mitchell *et al.*, 1990). La temperatura de conservación del melocotón y la nectarina debe estar entre -1 y 1 °C, aunque en función de la variedad y el tiempo que se desea conservar, puede variar entre 0 y 5 °C. Se recomienda una humedad relativa de 90-95%. Se debe mantener la cadena de frío y una buena recirculación del aire dentro de la cámara. La atmósfera controlada solo se utiliza en casos muy concretos y las condiciones son: 1,2% de O₂ y 3-5% CO₂ (Badenes, 2001).

El principal productor de melocotones y nectarinas a nivel mundial es China (10.828.348 t), mientras que España (1.134.750 t) ocupa el cuarto puesto, por detrás de Estados Unidos (Tabla 2), situándose como el segundo país productor de la Unión Europea, por detrás de Italia. En España, los mayores productores de melocotón en 2010 fueron Aragón, Cataluña y Murcia y los principales productores de nectarina fueron Cataluña, Aragón y Extremadura.

1.6.4. UVA DE MESA

La uva (Fotografía 15) es un fruto carnoso, con una pulpa jugosa y dulce y que nace apiñado en largos racimos compuestos por varios granos redondos o alargados. Se cultiva en gran variedad de suelos, prefiriendo los sueltos y bien drenados. Las parcelas en ladera, bien ventiladas, con inviernos suaves, veranos calurosos y secos, y otoños suaves y secos son las mejores (Martínez, 2001).

En España la uva de mesa se destina fundamentalmente al consumo en fresco. Una pequeña cantidad de Moscatel de Málaga, se pasifica en Alicante y Málaga y el destrío se destina a destilación de alcohol (Martínez, 2001). Existen variedades de uva de mesa apirenas (sin semillas) y con semillas. Dentro de las apirenas las principales variedades son "Sugraone", "Flame", "Centennial", "Dawn", "Autum", "Esmerald" y "Crimson". Por su parte, las variedades con semillas más utilizadas son "Red Globe", "Autum Black", "Diamante" y "Victoria".



Fotografía 15: Uva "Crimson" en la finca "Las Cabezuelas". **Fuente:** S. Castillo.

La recolección de la uva (*Vitis vinifera* L.) en España se suele dar desde mediados de junio a principios de diciembre. Las uvas, como otros frutos no climatéricos, no maduran después de cosechadas, alcanzando el óptimo de aceptabilidad en apariencia, sabor y textura mientras están en la vid. Su índice de madurez se ha basado, tradicionalmente, en el contenido de sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix) y en la acidez titulable. La apariencia es determinada principalmente por el color. El grado estándar designa el porcentaje de bayas por racimo, el cual debe mostrar una intensidad mínima de color y cobertura (Nelson, 1979). Gran parte de la producción de la uva de mesa se comercializa nada más recogida y confeccionada, no obstante, cuando se producen picos en la producción (octubre-noviembre) se almacena en cámaras frigoríficas, empleando generadores de SO_2 (Martínez, 2001).

La composición de la uva varía según se trate de uvas blancas o tintas. En ambas destacan dos tipos de nutrientes: los azúcares (siendo la glucosa y la fructosa más del 99% de los hidratos de carbono en el zumo de uva y constituyendo del 12 al 27% del peso fresco de la baya madura) (Hofacher *et al.*, 1976) y las vitaminas (principalmente ácido fólico y vitamina B6). La fracción ácida de las uvas está formada principalmente por los ácidos tartárico y málico, constituyendo alrededor del 90% de la acidez total (Winkler *et al.*, 1974).

El principal productor de uva a nivel mundial es China (8.651.831 t), mientras que España (6.107.200 t) ocupa el cuarto puesto, por detrás de Estados Unidos (Tabla 2), situándose como el segundo país productor de la Unión Europea, por detrás de Italia. El cultivo de la uva tiene una amplia tradición en España y si bien en pequeñas cantidades, se encuentra muy difundido por todas las áreas vitícolas, es en las zonas interiores pero próximas a las costas de Andalucía, Valencia y Murcia donde realmente ha adquirido un gran desarrollo y donde se produce la uva de mayor calidad (Martínez, 2001). En España, los mayores productores de uva de mesa en 2010 fueron la R. de Murcia, la C. Valenciana y Andalucía.

Tabla 2. Principales países productores de cereza, ciruela, melocotón, nectarina y uva.

País	Producción de cerezas (toneladas)	Producción de ciruelas (toneladas)	Producción de melocotones y nectarinas (toneladas)	Producción de uva (toneladas)
Argentina	-	-	318.000	2.616.610
Chile	59.000	298.000	357.000	2.755.700
China	-	5.664.826	10.828.348	8.651.831
España	80.300	192.000	1.134.750	6.107.200
EE.UU.	284.130	492.964	1.255.090	6.777.730
Francia	-	280.415	324.401	5.848.960
Grecia	-	-	639.400	-
India	-	200.000	-	-
Irán	255.500	269.139	500.000	2.255.670
Italia	115.476	207.497	1.590.660	7.787.800
Rumanía	70.290	624.884	-	-
Rusia	66.700	-	-	-
Serbia	-	426.846	-	-
Turquía	417.905	240.806	534.903	4.255.000
Ucrania	73.000	-	-	-
Uzbekistán	75.000	-	-	-

Fuente: FAOSTAT, base de datos de la FAO.

1.7. MADURACIÓN Y CALIDAD DEL FRUTO

1.7.1. FISIOLÓGÍA DE LA MADURACIÓN

La maduración de los frutos carnosos es un proceso genéticamente programado que supone una serie de cambios en el color, aroma, sabor y textura que hacen que el fruto adquiera las características apreciadas por los consumidores. Sin embargo, desde el punto de vista botánico, la función del fruto es la dispersión de las semillas, por lo tanto, la maduración en los frutos carnosos va encaminada a convertir al fruto en un órgano atractivo para los animales, de manera que llame su atención para que éstos se lo coman y contribuyan a la dispersión de semillas en sus heces. Por ello, la maduración es un proceso controlado que debe ocurrir cuando las semillas están totalmente desarrolladas y este control es hormonal. No obstante, las hormonas implicadas en el control de la maduración se sintetizan o cambian su concentración en un momento determinado debido a que los enzimas implicados en ello cambian su actividad. En definitiva, hay síntesis de nuevos enzimas, lo que es un proceso regulado por la expresión diferencial de ciertos genes implicados, por lo que se dice que la maduración es un proceso genéticamente programado. Un caso excepcional son los frutos partenocárpicos que no contienen semillas y se desarrollan de forma natural en algunas especies sin un proceso de fecundación previo, pero estimulado por diferentes factores, como las bajas temperaturas. Esta particularidad ha sido aprovechada en agricultura para la selección de variedades que produzcan frutos sin semillas, que pueden ser más atractivos para los consumidores, tal es el caso de las variedades de naranjas, mandarinas o uvas sin semillas o de los plátanos, que todos los cultivados son partenocárpicos, aunque la especie silvestre sí que tiene semillas.

En cualquier caso, tanto en los frutos con semillas como en los partenocárpicos, durante la maduración de los frutos carnosos se producen cambios en el color, debidos a la degradación de clorofilas, y síntesis de otros pigmentos como carotenoides y antocianinas, cambios en el sabor y el aroma debidos a disminución de ácidos orgánicos, aumento de azúcares simples (glucosa, sacarosa y fructosa), disminución de almidón, síntesis de compuestos aromáticos, disminución de la astringencia y se produce un ablandamiento por

degradación parcial de los componentes de la lámina media y de la pared celular primaria de las células que forman la parte carnosa del fruto, que son de tipo parenquimático (Valero y Serrano, 2010).

El control hormonal del proceso de maduración depende del tipo de fruto, y en general, se distinguen dos grupos de frutos en cuanto a la fisiología de la maduración: climatéricos y no climatéricos, según que su maduración esté controlada o no por el etileno (Adams-Phillips *et al.*, 2004; Barry y Giovannoni, 2007; Giovannoni, 2001).

Los frutos **climatéricos** son aquellos en los que la maduración está controlada por la hormona etileno, una hormona gaseosa que se produce en todos los tejidos vegetales y que tiene varios efectos en el desarrollo de la planta, y concretamente en los frutos climatéricos estimula el proceso de maduración, lo acelera y provoca la abscisión o caída del fruto. En estos frutos, un pequeño aumento de la producción de etileno estimula su propia síntesis (producción autocatalítica) y una aplicación de etileno exógeno, les provoca un adelanto en la maduración, aunque una vez iniciada la síntesis autocatalítica de etileno, no responden a posteriores aplicaciones. Asociado al pico de etileno se produce un pico de respiración que se conoce como respiración climatérica. Así pues, se denomina climaterio al periodo durante el cual se producen los cambios bioquímicos comentados anteriormente, que se inician por la producción autocatalítica de etileno, que señala el cambio de la fase de crecimiento a la fase de senescencia, implica un aumento en la respiración y conduce de forma irreversible a la maduración del fruto. Ejemplos de frutos climatéricos son: melocotón, albaricoque, manzana, tomate, plátano, kiwi, mango, etc. Esta producción de etileno asociada a la maduración en los frutos climatéricos se produce tanto durante su maduración en el árbol, como después de la recolección, siempre que la recolección se produzca en un estado pre-climatérico, en el que el fruto ha adquirido su capacidad para madurar.

Los frutos **no climatéricos** son aquellos en los que la maduración no está controlada hormonalmente por el etileno. En estos frutos no se produce aumento en la síntesis de etileno asociado a la maduración (no hay síntesis autocatalítica) y hay una disminución gradual de la respiración y en general, los cambios

bioquímicos son lentos durante el desarrollo y maduración del fruto en la planta. Son frutos no climatéricos los cítricos, uvas, cerezas, fresas, pimientos, etc.

1.7.2. CALIDAD ORGANOLÉPTICA, NUTRITIVA Y FUNCIONAL

El término calidad implica el grado de excelencia de un producto y su adecuación para un uso concreto. La calidad es una definición subjetiva y comprende un gran número de propiedades o características, entre las que se incluyen propiedades **organolépticas** o sensoriales, como apariencia, textura, sabor y aroma, propiedades **nutritivas**, debidas a los componentes químicos del producto que pueden ser usados en el metabolismo como fuente de energía o de vitaminas y propiedades **funcionales**, que serían aquellas que aportan algún beneficio al organismo relacionado con la prevención de ciertas enfermedades o con el mantenimiento del estado de salud en general (Abbott, 1999; Cruz-Hernández y Paredes-López, 2012; Boeing *et al.*, 2012). En cualquier caso, el concepto de calidad depende del contexto, del producto alimenticio y de las connotaciones socioculturales de los consumidores. Shewfelt (1999) sugirió que las características propias del producto determinan su calidad y que la percepción y respuesta de los consumidores determinarían la aceptabilidad.

Calidad organoléptica o sensorial

Los consumidores usan sus sentidos, vista, olfato, gusto, tacto e incluso el oído, para evaluar la calidad y como resultado de todos ellos juzgan la aceptabilidad del fruto o producto vegetal. No obstante, en investigación y para aplicaciones comerciales, se prefieren las medidas instrumentales a las evaluaciones sensoriales, ya que las primeras reducen la subjetividad, son más precisas y traducen sus propiedades a un lenguaje común para investigadores, industria y consumidores. En este sentido, las técnicas instrumentales para determinar la calidad sensorial de los frutos se han diseñado para imitar la apreciación humana, existiendo una relación entre los atributos sensoriales determinados analíticamente y la apreciación de los consumidores. Así, el color se detecta por medidas electromagnéticas, normalmente ópticas, la textura mediante propiedades mecánicas y el gusto y el aroma por propiedades químicas.

Por otra parte, los frutos son muy variables, por lo que la calidad de un fruto individual puede ser muy diferente de la de otro, siendo esencial determinar estadísticamente el número de frutos y el número de medidas por fruto que hay que realizar para tener una media representativa.

Dentro de las propiedades responsables de la calidad sensorial de los frutos está incluida la **apariencia**, determinada por la forma, tamaño, color y ausencia de defectos, el principal criterio que usan los consumidores para comprar o no un fruto. Esta apariencia está determinada por un gran número de factores que concurren durante el cultivo, entre los que destacan factores biológicos (microorganismos, insectos y otros agentes biológicos que causan plagas y enfermedades), factores fisiológicos (como desequilibrios nutricionales y estado de maduración), factores culturales (clima, suelo, relaciones hídricas e intensidad luminosa), daños mecánicos y características genéticas (Kays, 1999). Así pues, para cualquier producto vegetal se deben realizar las prácticas culturales más apropiadas para conseguir la mejor apariencia posible.

Entre las propiedades sensoriales de los frutos quizá sea el **color** la más importante, ya que los consumidores establecen una clara relación entre el color y la calidad de un producto y además, es el primer atributo del producto que se aprecia. El color se debe a la presencia de pigmentos, que según su estructura química se pueden agrupar en cuatro grandes categorías: clorofilas, de color verde, carotenoides, de color amarillo, naranja y rojo, antocianos, con colores que varían del rojo al azulado, y betalainas de color morado, más o menos intenso (Tanaka *et al.*, 2008; Lightbourn *et al.*, 2008).

La **textura** del fruto también es una cualidad muy importante, aunque a su vez es difícil de definir, ya que depende de un amplio rango de atributos. Según Sams (1999) se puede definir como la sensación general que se obtiene en la boca al morder y masticar un fruto y que comprende características mecánicas, como dureza, crujibilidad y viscosidad, características geométricas, como tamaño y forma de las partículas y características químicas, como contenido en jugo y en grasas. En definitiva, la textura depende de la estructura de las células que forman un fruto, sobre todo de su pared celular, así como de sus constituyentes

bioquímicos y de su contenido en agua o turgencia. Además, las características más apreciadas de textura varían con el tipo de fruto y con las preferencias del consumidor, aunque en general, para la mayoría de los frutos los consumidores prefieren una textura firme.

La firmeza de los frutos en el momento de la recolección depende de sus características genéticas y de su estado de maduración, aunque también se ve influenciada por factores ambientales y agronómicos. Así, por ejemplo, un exceso de nitrógeno o de potasio puede disminuir la firmeza (Sams, 1999), produciéndose el mismo efecto por las deficiencias de calcio (Serrano *et al.*, 2002; Serrano *et al.*, 2004), mientras que un nivel relativamente alto de salinidad haría aumentar la firmeza (Botella *et al.*, 2000). Por tanto, un adecuado manejo del cultivo será fundamental para obtener frutos con la textura adecuada, lo que repercutirá en incrementar su calidad.

Finalmente, la composición química, sobretodo en lo referente al contenido en azúcares, ácidos orgánicos y en ciertos compuestos volátiles serán los determinantes del **sabor** y del **aroma** (Shiratake y Martinola, 2007; Valero y Serrano, 2010) y por tanto, de capital importancia en la calidad gustativa.

Calidad nutritiva

Los frutos carnosos, que son con los que se ha trabajado en esta tesis, en general poseen un alto contenido en agua, próximo al 90%, aportan una cierta cantidad de carbohidratos, fundamentalmente en forma de azúcares y son pobres en proteínas y lípidos, por lo que aportan pocas calorías a la dieta. Sin embargo, aportan sustancias minerales y una gran variedad de vitaminas, tanto hidrosolubles como liposolubles, así como de aminoácidos esenciales. Además son fuente importante de minerales.

Calidad funcional

Además de las propiedades nutritivas comentadas anteriormente, los frutos poseen también propiedades funcionales, que son aquellas relacionadas con la disminución del riesgo de padecer enfermedades o con el mantenimiento de un

buen estado de salud (Boeing *et al.*, 2012). En este sentido, al consumo de frutas y hortalizas se le ha atribuido un fuerte efecto protector contra la aparición de infarto (Kant *et al.*, 2000; Bazzano *et al.*, 2002; Engelfriet *et al.*, 2010), así como en la prevención de enfermedades de tipo coronario, del infarto isquémico (Joshiyura *et al.*, 1999; Kang *et al.*, 2006) y de ciertos tipos de cáncer (Vainio y Weiderpass, 2006). Además, como beneficio añadido, el consumo de frutas y hortalizas disminuye la presión sanguínea (John *et al.*, 2002). El Instituto Nacional de Cáncer y el Consejo de Investigación Nacional de los Estados Unidos han recomendado que como mínimo se deben consumir cinco piezas de frutas y hortalizas al día (Thompson *et al.*, 1999). Esta recomendación también se impulsa a nivel europeo y en los últimos congresos de Postcosecha y de Tecnología de Alimentos, en los cuales siempre se aboga por esta línea.

¿Cuáles son las razones por las cuales una dieta rica en frutas y hortalizas previene todas estas enfermedades? Una posible razón del efecto que tienen las frutas y hortalizas contra enfermedades cardiovasculares, cerebrovasculares y cáncer, podría encontrarse en la presencia de ciertos fitoquímicos, que engloban sustancias como ascorbato, carotenoides, tocoferoles y compuestos fenólicos, y que presentan características estructurales y potenciales redox que les hacen efectivos en el combate contra los radicales libres de oxígeno a través de varios mecanismos: inhibición de radicales libres, descomposición de peróxidos, inactivación de metales y captura de radicales de oxígeno (Haminiuk *et al.*, 2012; Fernández-García *et al.*, 2012; Cruz-Rus *et al.*, 2012; Avello y Suwalsky, 2006).

Concretamente, los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de las plantas biosintetizados a partir de la ruta del ácido siquímico y la ruta de los fenilpropanoides (Dixon y Paiva, 1995). Estos compuestos son hidrosolubles, en contraste con otros antioxidantes encontrados en frutos, como los carotenoides y tocoferoles, que son liposolubles. Asimismo, tienen distintos mecanismos para actuar como antioxidantes (Kalt *et al.*, 2001): como atrapadores de radicales libres, impidiendo la formación del radical peróxido, como atrapadores de iones metálicos de transición y trabajando junto con el ascorbato en la defensa oxidativa.

Hoy se sabe que ellos, o sus metabolitos, cruzan la mucosa intestinal y acceden al interior de las células del organismo, contribuyendo a los mecanismos de defensa antioxidante. No obstante, Duthie (1999), exponía que los compuestos fenólicos eran absorbidos pobremente y rápidamente metabolizados, enfrentando este efecto con el de la vitamina C, la cual exhibía una alta biodisponibilidad y por tanto se alzaba con el título del antioxidante hidrosoluble más importante.

Los compuestos fenólicos pueden ser clasificados de diferentes maneras, si bien dada la complejidad del tema, no es posible una clasificación perfecta y exhaustiva de todos ellos. No obstante, se suelen clasificar generalmente en dos grandes subgrupos: los no flavonoides y los flavonoides. Entre los no flavonoides se encontrarían los ésteres de ácidos hidroxicinámicos, entre los que destacan el ácido clorogénico, caféico, ácido gálico y elágico (dímero del ácido gálico), formando parte estos dos últimos de los taninos hidrolizables. Se incluyen también en este grupo otros compuestos fenólicos simples. Estos últimos, y sobretodo aquellos que son volátiles pueden contribuir al flavor de los alimentos y a su aroma, como vainillina, isoeugenol, eugenol, siringol (Tomás-Barberán y Espín 2001). Por otra parte, los flavonoides incluyen cuatro grandes familias: los flavonoles, siendo los más importantes el Kaempferol y la quercetina, los flavonóloles y flavonas, antocianos, chalconas y los flavanoles. Esta última familia incluye a los taninos condensados o procianidinas. A los polímeros de flavanol o taninos condensados, se les denomina proantocianidinas o procianidinas, debido a que en medio fuertemente ácido dan lugar por hidrólisis a cianidina (Zamora, 2003).

1.7.3. PÉRDIDAS DE CALIDAD EN POST-RECOLECCIÓN

Los frutos carnosos poseen, en general, una vida corta post-cosecha (Mitchell y Kader, 1989a) debido fundamentalmente al avance del proceso de maduración que conlleva a una sobre-maduración, que reduce su calidad en un tiempo relativamente corto, que dependerá de la temperatura y otras condiciones de conservación (Kader y Mitchell, 1989). Además, los frutos pierden agua rápidamente y se deshidratan, como resultado del proceso de transpiración, que consiste en el movimiento del vapor de agua desde el fruto al ambiente, y que

depende de las características de la superficie del fruto y de la humedad relativa, velocidad del aire y temperatura de la cámara de conservación (Crisosto *et al.*, 1993; Mitchell, 1987; Mitchell y Kader, 1989b). Por otra parte, se producen problemas de podredumbres debido al ataque de diferentes microorganismos, que puede verse agravado en frutos sobremaduros o que hayan sufrido heridas durante la manipulación.

El estado de madurez del fruto en el momento de la recolección determinará su calidad comestible, su susceptibilidad a daños mecánicos y en general su potencial vida útil de comercialización (Crisosto, 1994; Kader y Mitchell, 1989). Así, los frutos recolectados demasiado maduros serán incapaces de resistir las exigencias de la comercialización y serán susceptibles de ser atacados por microorganismos que les causen podredumbres (Mitchell *et al.*, 1991). Estos frutos tendrán una vida útil post-cosecha bastante corta y desarrollarán sabores y olores indeseables, además de una textura no adecuada. Por otra parte, los frutos recolectados demasiado temprano serán incapaces de madurar y obtener su mejor calidad de aroma y textura. Con el creciente volumen de frutos que se comercializan en mercados lejanos, ha habido una tendencia a recolectar los frutos poco maduros con la idea de que así podrían soportar bien el transporte a larga distancia. El resultado, a menudo, no ha sido satisfactorio, ya que tales frutos son más sensibles a deshidratarse y desarrollar la rotura interna de los tejidos.

Las heridas en los frutos son debidas, aparte de al entorno natural, al manejo en la recolección, el envasado, comercialización y transporte (Mitchell y Kader, 1989b). Los daños mecánicos son, posiblemente, la causa más importante de pérdida de calidad en los productos frescos por efecto indirecto de la creación de una herida en la superficie del producto (Valero y Serrano, 2010). Por tanto, se debe monitorizar y supervisar todo el sistema para reducir los posibles daños. Esto incluye asesoramiento y supervisión de los recolectores, los jefes de campo, los obreros de las líneas de confección, los envasadores y los transportistas.

En la actualidad, después de la recolección, los frutos y otros productos hortícolas son sometidos a un proceso de conservación, que dependiendo del producto será más o menos largo, con el fin de disminuir las diferencias entre la

producción y las necesidades del mercado en ciertos momentos. De esta forma se consigue escalonar la oferta a los consumidores, adaptándose en lo posible a las exigencias del mercado. El tiempo máximo de conservación post-recolección estará determinado por las características intrínsecas del producto y por las técnicas de conservación empleadas.

1.8. TECNOLOGÍAS DE CONSERVACIÓN

1.8.1. CONSERVACIÓN EN FRÍO

La conservación a baja temperatura es el método más utilizado para controlar la maduración de las frutas y mantener su calidad. La baja temperatura disminuye la velocidad de las reacciones metabólicas que tienen lugar en las células, entre las que se incluye la respiración, además disminuye la transpiración, reduce la incidencia de podredumbres debidas a patógenos y aumenta la resistencia a daños mecánicos. Por otra parte, disminuye también la síntesis de etileno y más aún, baja la sensibilidad de los tejidos vegetales a esta hormona (Agar *et al*, 2000; Nanos *et al*, 2002; Wills *et al*, 2001; Génard y Gouble, 2005) con el consiguiente beneficio en retardar los procesos de sobremaduración y la pérdida de calidad asociada, con lo que se produce un aumento considerable del tiempo de almacenamiento con una calidad óptima. En los frutos no climatéricos se retrasa la senescencia.

Por otra parte, en la conservación de los frutos a bajas temperaturas se debe tener en cuenta el fenómeno del *chilling injury* (CI). El CI es un trastorno fisiológico que ocurre en frutos de origen tropical y subtropical, cuando se almacenan a bajas temperaturas, normalmente inferiores a 10-13 °C. Además, en algunos productos los efectos de los cortos periodos de exposición a bajas temperaturas pueden ser acumulativos. Sin embargo, el CI se desarrolla más rápido y más intensamente cuando los frutos sensibles se almacenan a una temperatura entre 2 y 10 °C que cuando se almacenan a 0 °C o menos, pero siempre por encima de su punto de congelación (Valero y Serrano, 2010). Por lo tanto, la vida de almacenamiento máxima del fruto se puede lograr cerca o por

debajo de 0 °C según su contenido de sólidos solubles (Serrano *et al.*, 1996; Crisosto *et al.*, 1999; Lurie y Crisosto, 2005).

Los principales síntomas producidos por CI en los frutos son lesiones superficiales, picaduras, zonas hundidas y decoloración (lo cual ocurre con más frecuencia en frutos con piel gruesa como los cítricos), desecación, pérdida de agua, decoloración interna, marchitamiento, harinosidad, pardeamiento de la pulpa (especialmente en nectarinas y melocotones), rotura de los tejidos, maduración irregular o lenta, aceleración de la senescencia y de la producción de etileno, acortamiento de la vida útil del fruto, cambios de composición que afectan a sabor y la textura del fruto, pérdida de capacidad de crecimiento y aumento de las podredumbres debido a la salida de solutos hacia el exterior de las células, lo que fomenta el crecimiento de microorganismos, especialmente de hongos (Valero y Serrano, 2010).

La detección del CI es muy complicada, ya que los síntomas suelen aparecer cuando se extrae el fruto de la temperatura de refrigeración y cuando se expone a altas temperaturas y pueden tardar varios días en desarrollarse o incluso no llegar a hacerse visibles en la superficie del fruto.

1.8.2. COMBINACIÓN DEL FRÍO CON OTRAS TECNOLOGÍAS

El almacenaje en frío no es suficiente para mantener la calidad de los frutos el tiempo necesario para su transporte y distribución en mercados lejanos, por lo que es necesario encontrar técnicas aliadas al frío con el objetivo de retrasar lo máximo posible los procesos de deterioro, así como evitar efectos indeseables que el frío causa en los productos vegetales sensibles al CI.

De este modo, existen desde hace tiempo técnicas como las **atmósferas protectoras**, entre las que se encuentran dos tipos de envases según las modificaciones que experimenta el ambiente gaseoso que rodea al producto: atmósferas controladas y atmósferas modificadas. Las primeras consisten en la sustitución del aire por un gas o mezcla de gases cuya proporción se fija de acuerdo a las necesidades del producto y que se controla a lo largo del periodo de

almacenamiento post-cosecha. Normalmente se mantienen niveles bajos de O₂ y elevados de CO₂ en la atmósfera en la que está almacenado el fruto para evitar podredumbres y aumentar la vida útil. En general, se previene la senescencia del fruto. A nivel comercial las atmósferas controladas se aplican tanto para retardar la maduración (Gobantes *et al.*, 2001) y prolongar el período de conservación, como para acelerar los procesos metabólicos (maduración acelerada o desverdización) con el fin de comercializar los frutos fuera de época (Kader, 1980). La eficacia de la atmósfera controlada depende de factores intrínsecos (especie, variedad, grado de madurez en recolección, etc.) y extrínsecos (temperatura, nivel de CO₂, O₂, etc.). Por tanto es evidente que conocer los "puntos críticos" (tolerancia), en función de la especie y la variedad, es fundamental para optimizar los tratamientos (Richardson y Meheriuk, 1982).

La tecnología de atmósferas modificadas (MAP) consiste en empaquetar el producto vegetal en films plásticos con una determinada permeabilidad a los gases. Las frutas y hortalizas, continúan respirando después de la recolección, con lo que se modifica la composición gaseosa del interior del envase. Los films poliméricos, con permeabilidades selectivas al CO₂, O₂ y vapor de agua permiten establecer en el interior del envase atmósferas empobrecidas en O₂ y enriquecidas de CO₂ por la propia respiración del producto, así como elevadas humedades relativas. Estas condiciones retardan el desarrollo fisiológico de la maduración y la senescencia y reducen radicalmente las pérdidas de peso, manteniendo la calidad de los frutos durante mayores períodos de tiempo (O'Beirne, 1990). Los films usados más frecuentemente por MAP son polietileno (PE), polipropileno (PP), cloruro de polivinilo (PVC) y poliestireno (Lange, 2000; Artés-Hernández *et al.*, 2006; Rai y Paul, 2007).

Además de los envases ya descritos, también existe otra técnica de conservación basada en los **envases activos**. Éstos tienen la finalidad de aumentar la vida útil del producto y mantener o potenciar sus propiedades organolépticas. Este tipo de envase implica la utilización de agentes antimicrobianos, absorbentes de humedad, oxígeno o de dióxido de carbono, emisores de etanol y captadores de etileno, entre otros. Los **tratamientos químicos** son otra técnica coadyuvante al frío. Los fungicidas e insecticidas se muestran como tratamientos poco aceptados por el consumidor por su

potencialidad tóxica. En este sentido el uso de cloruro cálcico (CaCl_2) o de fitorreguladores naturales (poliaminas o ácido giberélico) presenta mayores ventajas, ya que al ser sustancias naturales no tendrían problemas de toxicidad (Serrano *et al.*, 2004).

Los **choques térmicos** con temperatura de 40-50 °C durante muy poco tiempo han sido eficaces en controlar el desarrollo de hongos y parásitos, retardar el ablandamiento, e incrementar la tolerancia a las bajas temperaturas (Paull, 1990).

En los **tratamientos hipobáricos**, una bomba de vacío evacua parte del aire del recinto hasta alcanzar la presión deseada. La reducción de la presión parcial del aire disminuye la disponibilidad de oxígeno y, por tanto, las reacciones de oxidación y los procesos metabólicos del alimento. Gracias a ello, la maduración y senescencia de los productos vegetales frescos se retrasan (García *et al.*, 2006). Sin embargo, esta es una tecnología costosa, usada solamente en productos como las flores que permiten este coste añadido.

Otras tecnologías: ozono, SO_2 , irradiación, etc., son tratamientos que se aplican en casos específicos para el control de insectos, bacterias y hongos. No obstante, a pesar de que se han realizado varios estudios de investigación sobre el uso de radiaciones para aumentar el tiempo de conservación de los frutos, esta técnica parece tener consecuencias no deseadas para la salud, por lo que su aplicación comercial no va a ser posible.

En el futuro, los tratamientos post-cosecha deberán orientarse a tecnologías poco agresivas, con productos naturales que no tengan efectos perjudiciales para el medio ambiente ni para la salud de los consumidores. Por otra parte, la producción de plantas transgénicas también puede tener una importancia notable en la post-recolección de productos vegetales comercializados en fresco.

1.9. PODREDUMBRES EN POST-COSECHA

Las pérdidas post-cosecha de frutas pueden alcanzar valores muy altos, suponiendo más del 25% de la producción total de los países industrializados y más del 50% en los países en desarrollo, si el manejo post-cosecha y las condiciones de almacenamiento no son óptimas (Gustavsson *et al.*, 2011). Dentro de estas pérdidas, las podredumbres de frutos causadas por hongos son las más importantes, llegando a alcanzar entre un 4 y 6% por enfermedades post-cosecha (Viñas *et al.*, 2006). Las podredumbres en los frutos son debidas al ataque de diversos hongos patógenos, debido fundamentalmente a la alta cantidad de nutrientes que hay en el fruto, su elevado contenido de agua, bajo pH y porque, después de la cosecha, los frutos han perdido la mayor parte de la resistencia intrínseca que los protege mientras están unidos a la planta (Droby *et al.*, 1992). En contraste a los patógenos que atacan en el campo, la mayoría de los patógenos de post-cosecha son saprófitos. Estos son incapaces de penetrar directamente a través de la cutícula de la fruta, por lo que requieren una herida para su penetración. No obstante, las podredumbres post-cosecha pueden ser el resultado de una infección latente antes de la recolección o de contaminación durante la recolección o infección durante la manipulación post-cosecha. Estas infecciones pueden desarrollarse y manifestar los síntomas durante el almacenamiento, transporte y comercialización (Barkai-Goland, 2001). Un hecho que a veces se pasa por alto por los productores y manipuladores de fruta, es que los problemas de podredumbres están relacionados con aspectos específicos de campo. Por lo tanto, es necesario dar el primer paso para reducir las podredumbres en post-cosecha antes de que los frutos sean recolectados. Consciente de la importancia de estos procesos, la mayoría de las industrias agrícolas que se ocupan de los productos hortícolas han desarrollado una serie de pautas llamadas "Buenas Prácticas Agrícolas (BPA)".

Los patógenos que causan las enfermedades post-cosecha más importantes son de varias especies pertenecientes a los géneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Gloeosporium*, *Mucor*, *Monilinia*, *Penicillium*, *Rhizopus* y otros géneros (Barkai-Goland, 2001). En concreto, los principales hongos causantes de podredumbres en los frutos de hueso y uva de mesa son los que se muestran en la tabla 3 (Coates y Jonson, 1980):

Tabla 3. Principales hongos causantes de podredumbres en frutos de hueso y uva de mesa.

Frutos de hueso	Hongos
Podredumbre marrón	<i>Monilinia</i> spp.
Podredumbre por <i>Rhizopus</i>	<i>Rhizopus</i> spp.
Podredumbre gris	<i>Botrytis cinerea</i>
Podredumbre azul y verde	<i>Penicillium</i> spp.
Podredumbre por alternaría	<i>Alternaria alternata</i>
Uva	Hongos
Podredumbre gris	<i>Botrytis cinerea</i>
Podredumbre azul y verde	<i>Penicillium</i> spp.
Podredumbre por <i>Rhizopus</i>	<i>Rhizopus</i> spp.

Las infecciones más comunes entre los frutos de climas templados se producen antes de la recolección y permanecen quiescentes (inactivas o latentes) desde la floración, crecimiento y maduración del fruto. El hongo coloniza el tejido necrótico y luego permanece en reposo en la base del receptáculo floral. Varios meses después, cuando los frutos se cosechan, las infecciones se desarrollan como una pudrición en la base del pedúnculo del fruto maduro. El proceso de infección se inicia cuando los conidios germinan en la superficie del tejido del fruto para producir un tubo germinal y un apresorio. El hongo puede cesar su crecimiento después de la formación del apresorio permaneciendo en un estado inactivo hasta que se produce la maduración del fruto y se dan las condiciones ambientales específicas para su proliferación. De esta manera el hongo reanuda su actividad y coloniza el tejido del fruto, lo que lleva al desarrollo de los síntomas típicos de la podredumbre. Este tipo de infecciones inactivas pueden no ser visibles en el momento de la recolección, sin embargo, los síntomas pueden desarrollarse más rápidamente después de la cosecha, sobre todo si las condiciones de almacenamiento son favorables al desarrollo del patógeno, como sería una elevada humedad relativa y una temperatura no demasiado baja.

Los patógenos post-cosecha pueden infectar tanto a través de lesiones superficiales o mediante aberturas naturales, como estomas y lenticelas. Las

lesiones pueden variar en tamaño desde microscópicas hasta claramente visibles y pueden surgir de numerosas maneras:

- Por daños mecánicos, tales como cortes, abrasiones, lesiones y golpes de presión que comúnmente ocurren durante la recolección y el procesado de la fruta (Jarimopas *et al.*, 2009).
- Por lesiones causadas por insectos, que pueden tener lugar antes de la cosecha y que aún no se detectan en el momento de la manipulación, pero proporcionan los sitios ideales de infección para muchos hongos (Coates y Johnson, 1980; Ogawa, *et al.*, 2000).
- Por tratamientos químicos utilizados después de la recolección, como el cloro, que puede producir lesiones si se aplican incorrectamente (Coates y Johnson, 1980; LeBoeuf *et al.*, 2005).
- Por lesiones fisiológicas, como daños por frío y daños por calor que pueden producir lesiones susceptibles de ser infectadas (Lim *et al.*, 2007).
- Por la presencia de etileno (Palou *et al.*, 2003).

Las pérdidas post-cosecha producidas por podredumbres se pueden reducir minimizando todos los factores comentados anteriormente, aunque en la mayoría de los casos, esto no es suficiente, y el principal medio para controlar todas estas enfermedades ha sido el uso de fungicidas sintéticos (Eckert, 1991). Sin embargo, el uso de fungicidas post-cosecha está cada vez más limitado debido a los riesgos ambientales y toxicológicos, y en algunos países europeos, el tratamiento con fungicidas en post-cosecha ha sido incluso prohibido (Adaskaveg y Förster, 2010).

1.9.1. PROBLEMÁTICA DE LOS FUNGICIDAS SINTÉTICOS

Para los patógenos de post-cosecha que infectan antes de la recolección, es necesaria la aplicación de fungicidas en campo. Esto puede implicar la aplicación repetida de fungicidas de contacto durante la estación de crecimiento, y/o la aplicación estratégica de fungicidas sistémicos (Michailides y Manganaris, 2009). No obstante, El calendario de aplicación y el tipo de fungicida usado dependerá principalmente del patógeno y de cuándo se produce la infección.

Las desventajas del empleo de los fungicidas superan a los beneficios, debido al uso excesivo e indiscriminado de productos químicos sintéticos. Por lo tanto, las restricciones sobre su uso han evolucionado gracias a su carcinogenicidad y teratogenicidad (Castro *et al.*, 1999), la toxicidad residual alta y aguda, largo periodo de degradación, la contaminación del medio ambiente (Palou *et al.*, 2008), los efectos en los alimentos (Unnikrishnan y Nath, 2002) y los seres humanos (Lingk, 1991), el alto costo y el desarrollo de la resistencia a los productos químicos de uso común (Reimann y Deising, 2000; Zahida y Masud, 2002). Por lo tanto, se han hecho esfuerzos para desarrollar estrategias alternativas que sean seguras para los seres humanos y para el medio ambiente (Wilson *et al.*, 1999). Además, el uso repetido y continuo de fungicidas ha llevado al desarrollo de cepas resistentes de hongos, haciendo a los fungicidas ineficaces contra estas cepas (Brent y Hollomon, 2007). Debido al grave problema que representan los residuos de productos químicos para la salud humana, los diferentes Estados y en especial los más desarrollados han establecido una serie de límites máximos de residuos (LMR) bastante restrictivos, en muchos casos por debajo de los recomendados por el Codex Alimentarius (FAO/OMS).

La existencia de diferencias entre los Estados miembros de la UE con respecto a los LMR permitidos representa en algunos casos una barrera para el comercio, y en especial para las exportaciones de nuestra fruta al resto de los países de la UE. Para eliminar estos obstáculos y favorecer la libre circulación de mercancías, el consejo de la UE en la directriz 76/895/CEE de 2005 y modificada por el Reglamento 839/2008 intenta uniformizar las legislaciones de los diferentes Estados, objetivo que no se ha conseguido todavía, ya que queda por regular la mayoría de los plaguicidas. Además, la aparición de cepas patogénicas resistentes, con el consiguiente incremento de las dosis de fungicidas, aumenta el coste de la conservación y el nivel de pérdidas por podredumbres y supone una dificultad añadida para la exportación de estos productos (Viñas *et al.*, 2006).

Además de los requisitos más exigentes en la agricultura sostenible, la gestión integrada de los cultivos y la producción orgánica, han dado lugar a la necesidad de desarrollar otros métodos para el control de las podredumbres post-cosecha. El uso de métodos no químicos, fungicidas no selectivos y tratamientos

físicos, como el uso de calor, el almacenamiento a baja temperatura, ha tenido un éxito significativo (Lurie, 2001).

Así pues, para evitar el uso de fungicidas en post-cosecha y mantener la resistencia al desarrollo de hongos causantes de las podredumbres de los frutos durante la post-cosecha deben aplicarse una serie de medidas, tales como las que siguen:

Control de las condiciones ambientales como son la temperatura, humedad relativa y concentraciones de gases CO₂ y O₂ impiden el crecimiento y proliferación de podredumbres causadas por los hongos (Sugar, 2009).

Prácticas higiénicas. Mantener la higiene durante el proceso de manipulación es crucial para minimizar las fuentes de inóculos y reducir las infecciones cruzadas. Entre estas prácticas podemos encontrar varias como son: reducir los restos de vegetales infectados; usar aguas de lavado frías y desinfectadas; no utilizar herramientas, equipos y envases sucios; limitar los daños de los tejidos producidos por lesiones mecánicas, daños fisiológicos o químicos (de Reuck *et al.*, 2008).

Tratamientos de calor. El calor aplicado a los frutos después de la recolección es una herramienta de control para algunas enfermedades post-cosecha. El calor mata a los patógenos, sin embargo un exceso de éste puede ser perjudicial para la fisiología y calidad del fruto (Fruk *et al.*, 2012).

Agentes de control biológico. El uso de microorganismos antagonistas es una oportunidad para el control de las enfermedades post-cosecha. Estos microorganismos aislados (levaduras, bacterias) pueden proceder de diferentes fuentes como de alimentos fermentados o superficie de hojas (Janisiewicz y Korsten, 2002). La actividad antagonista de agentes de control biológico ha sido ampliamente demostrada. Los mecanismos de acción de la mayoría de los agentes de control biológico de enfermedades post-cosecha son poco conocidos. Se asume, generalmente, que implican una interacción compleja entre el huésped, el patógeno antagonista y el medio ambiente, y puede tener los procesos de: competición por nutrientes y espacio, parasitismo y la producción de enzimas

líticas, inducción de resistencia y producción de sustancias antimicrobianas (Nunes, 2012).

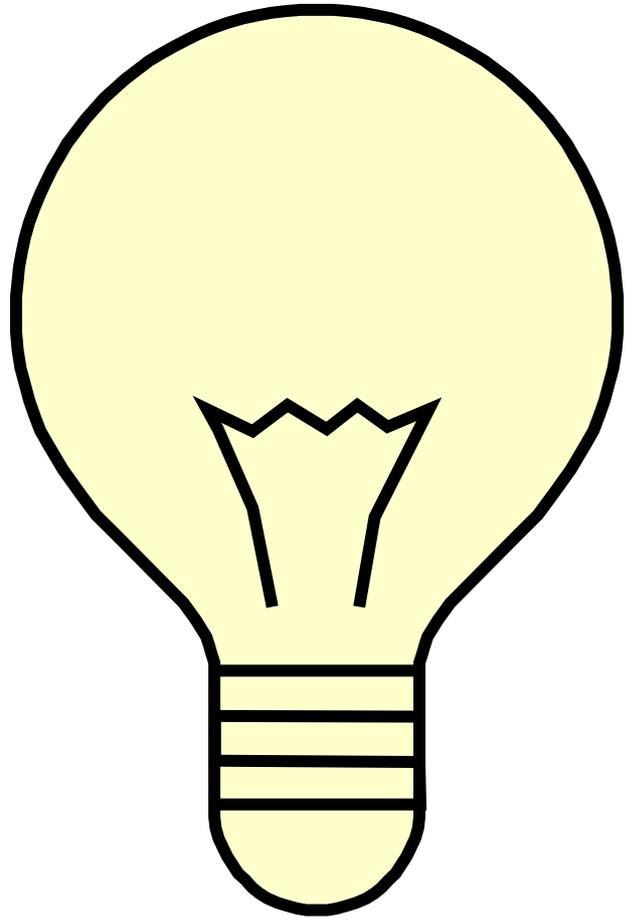
Compuestos Naturales Algunos de los compuestos naturales más empleados para el control de las podredumbres en postcosecha han sido los siguientes (Sharma y Pongener, 2010): compuestos aromáticos como acetaldehído y hexanal, ácido acético, jasmonatos, quitosán, aceites esenciales y extractos de plantas, entre otros. Algunos de estos compuestos han sido utilizados directamente sobre los frutos aunque no han tenido gran aceptación por parte de los consumidores debido a sus efectos adversos, tales como la detección por parte de los consumidores de sabores extraños y aromas indeseables. Se han intentado desarrollar distintas matrices para posteriormente emplearlos como recubrimientos o desarrollar envases activos (Valero *et al.*, 2006; Pérez-Gago *et al.*, 2010; Contreras-Oliva *et al.*, 2012).

1.9.2. POSIBLES ALTERNATIVAS CON COMPUESTOS NATURALES

Los efectos colaterales de los fungicidas sintéticos han hecho que se busquen estrategias alternativas para conseguir la reducción de pérdidas en post-recolección sin que se ponga en peligro la salud humana. En este sentido, se ha comprobado que varios productos naturales (particularmente de origen vegetal) tienen poder antimicrobiano, son específicos en su acción y no son tóxicos para el consumidor ni para el medio ambiente, por lo que están despertando un gran interés. Entre estos compuestos naturales, se encuentran los aceites esenciales sintetizados en las plantas aromáticas. Los aceites esenciales más comunes, así como la descripción de los principales componentes utilizados en la industria alimentaria y de las propiedades antioxidantes o antimicrobianas se han revisado recientemente (Serrano *et al.*, 2008).

Por otra parte, el Grupo de Investigación de Post-recolección de la UMH registró la Patente para el uso de *Aloe vera* como recubrimiento de frutas y hortalizas (Martínez-Romero *et al.*, 2003c). Posteriormente demostró que las cerezas "Starkin" y la uva de mesa "Crimson Seedles", al ser recubiertas con gel de *A. vera*, retrasaban los cambios relacionados con los procesos de maduración.

Así, tanto en cerezas como en uvas se redujo la tasa de respiración, se retrasaron las pérdidas de peso y firmeza así como la evolución del color y el incremento en el índice de maduración (Valverde *et al.*, 2005b; Serrano *et al.*, 2006; Martínez-Romero *et al.*, 2006; Castillo *et al.*, 2010).



OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

Habitualmente los cultivos tradicionales son tratados con diversos productos químicos de síntesis antes y durante la post-recolección, para así evitar o reducir el crecimiento de microorganismos. Sin embargo, cada vez es más importante el interés de los consumidores por alimentos de una excelente calidad organoléptica, nutritiva y funcional, pero sin la utilización de compuestos de síntesis como medio de conservación para garantizar la seguridad. Además, se une la limitación legal de realizar tratamientos con fungicidas para el control de podredumbres por parte de la Unión Europea. En este sentido, los productores están obligados a comercializar frutos de elevada calidad, satisfaciendo las necesidades del consumidor, alargar la vida útil hasta la llegada a destinos lejanos, y trabajar con tecnologías más rentables y menos contaminantes, por lo que se hace necesario disponer de alternativas rentables, naturales para el control de podredumbres.

En la actualidad el gel de *Aloe vera* se está intentando emplear como producto natural para aliviar y evitar enfermedades en humanos y animales, muchas de ellas producidas por microorganismos (bacterias, levaduras y hongos) por el poder antimicrobiano del aloe. Por otro lado, algunos compuestos del *Aloe vera* poseen un contrastado valor funcional; en este caso habría que mencionar las antraquinonas (compuestos con un alto poder antioxidantes), aminoácidos libres y polisacáridos.

El objetivo global de esta Tesis Doctoral es obtener geles de aloe, que sea aplicable antes de la recolección o en la post-recolección, con el fin de mantener la calidad y control de podredumbres producidas por hongos de tipo filamentoso en frutos de hueso y uva de mesa. Este gel natural podría servir como alternativa al uso de los antifúngicos químicos o bien reducir las concentraciones en las que se aplican.

Para alcanzar este objetivo global se pretende desarrollar los siguientes objetivos concretos:

- Estudiar el efecto antifúngico *in-vitro* del gel de *Aloe vera* sobre hongos filamentosos, así como su efecto antifúngico en post-cosecha sobre fruta de hueso.
- Evaluar los efectos de los extractos de aloe aplicados en pre-cosecha a melocotón, nectarina, cereza, ciruela y uva de mesa, sobre la aparición de podredumbres y los parámetros relacionados con la calidad (organoléptica, nutritiva y funcional) en el momento de la recolección.
- Comprobar la eficacia del extracto de aloe aplicado en post-recolección, a nivel fisiológico, sobre los parámetros de calidad, y sobre la incidencia de podredumbres.
- Caracterizar los geles de distintas especies de aloe (*A. ferox*, *A. vera*, *A. aristata*, *A. arborecens*, *A. spinosissima*, *A. striata* y *A. saponaria*) a partir de distintas épocas del año y comparar su actividad antifúngica frente a los principales hongos causantes de las podredumbres que afectan a los frutos de hueso y uva de mesa y relacionar la actividad antifúngica de los diferentes extractos con su contenido en fenoles y aloína.



MATERIAL Y MÉTODOS

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para alcanzar los objetivos propuestos, esta Tesis se ha estructurado en 5 capítulos, los cuales se describirán sucintamente a continuación:

3.1.1. CAPÍTULO 1. EFECTO *IN-VITRO* E *IN-VIVO* DEL GEL DE *Aloe vera* SOBRE EL CRECIMIENTO DE DIFERENTES ESPECIES DE HONGOS

3.1.1.1 Experimento *in-vitro*

En este experimento se estudió el poder de inhibición *in-vitro* del gel de *Aloe vera in-vitro* sobre los micelios de dos de los hongos más comunes en post-recolección, *Botrytis cinerea* CECT2100 y *Penicillium digitatum* CECT2954 (Colección Española de Cultivos Tipo).

3.2.2.2 Experimento *in-vivo*

En este experimento se evaluó el poder antifúngico en post-cosecha del gel de *A. vera* solo o con la adición de timol sobre dos variedades de nectarinas, "Flavela" y "Flanoba", infectadas con *B. cinerea*, *P. digitatum* y *Rizopus stolonifer*. Además, se estudió el efecto del tratamiento con gel de aloe sobre los atributos de calidad de estos frutos infectados. Para ello, se utilizaron diferentes técnicas analíticas, tales como la medida de la pérdida de peso, la firmeza, el volumen de infección de los hongos inoculados en los frutos, la determinación de la tasa de respiración y la producción de etileno de las nectarinas.

3.1.2. CAPÍTULO 2. EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS DE FRUTOS DE HUESO, EN PRE-RECOLECCIÓN, CON GEL DE *Aloe vera* SOBRE LA CARGA MICROBIANA Y LA CALIDAD DE LOS FRUTOS EN EL MOMENTO DE LA RECOLECCIÓN

En este capítulo se estudia el efecto que el gel de *A.vera* tiene sobre la carga microbiana de diferentes frutos de hueso en el momento de la recolección. Los frutos estudiados son dos de tipo no climatérico, como las cerezas de las variedades "Prime Giant" y "Skeena", y dos frutos climatéricos, como las nectarinas de la variedad "Garofa" y los melocotones de la variedad "Reach Lady". Además, en este capítulo también se quiere analizar el efecto que estos geles de *A. vera* tienen sobre diferentes parámetros relacionados con la calidad del fruto. Para estudiar dichos parámetros se analizaron el color, la firmeza, los sólidos solubles totales (SST), la acidez titulable (AT) y el índice de maduración (SST/AT) de los frutos.

3.1.3. CAPÍTULO 3. EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS DE UVA DE MESA, EN PRE-RECOLECCIÓN, CON GEL DE *Aloe vera* SOBRE SU CALIDAD EN EL MOMENTO DE LA RECOLECCIÓN Y DURANTE LA CONSERVACIÓN

En este capítulo se estudia el efecto que el gel de *A. vera*, aplicado en pre-cosecha, tiene sobre la contaminación microbiana, aparición de podredumbres y atributos de calidad de dos variedades de uva de mesa: "Autumn Royal" y "Crimson", bajo cultivo convencional y ecológico, respectivamente. Para analizar los atributos de calidad se realizaron las siguientes determinaciones analíticas: tasa de respiración, firmeza, pérdida de peso, color, SST, AT, valoración visual del raspón.

3.1.4. CAPÍTULO 4. EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS DE CIRUELA Y MELOCOTÓN, EN POST-RECOLECCIÓN, CON GELES DE *Aloe vera* Y *Aloe arborescens* SOBRE SU CALIDAD DURANTE LA CONSERVACIÓN

El objetivo de este capítulo es analizar el efecto que los geles de *A. vera* y *A. arborescens* aplicados en post-cosecha tienen sobre la evolución de los atributos relacionados con la calidad de la ciruela "Santa Rosa" y el melocotón "Redhaven" durante 6 días de conservación a 20 °C. Para estudiar dichos atributos se analizaron la tasa de respiración, la producción de etileno, la firmeza, las pérdidas de peso, el color y el índice de madurez de los frutos.

3.1.5. CAPÍTULO 5. CARACTERIZACIÓN DEL GEL DE OCHO ESPECIES DE *Aloe* OBTENIDO EN DIFERENTES ESTACIONES DEL AÑO

Este experimento tiene como finalidad caracterizar los geles estables obtenidos a partir de distintas especies de *Aloe* (*A. ferox*, *A. vera*, *A. aristata*, *A. arborescens*, *A. spinosissima*, *A. striata* y *A. saponaria*) y comparar su actividad antifúngica frente a los principales hongos causantes de las podredumbres que afectan a los frutos de hueso y uva de mesa. Para ello, el capítulo se dividió en 2 experimentos.

3.1.5.1. Experimento I

El primer experimento del capítulo 5 consistió en estudiar las características de las hojas de 8 especies diferentes de *Aloe* recolectadas en 3 momentos distintos del año (invierno, primavera y verano). Las determinaciones que se realizaron para ello fueron las siguientes: dimensiones de la hoja y rendimiento del gel, y cuantificación de la actividad antioxidante total, polifenoles totales, concentración de aloína, poliaminas, proteínas y lípidos totales en los geles.

3.1.5.2. Experimento II

El segundo experimento de este capítulo consistió en inocular en las hojas de 8 especies diferentes de *Aloe* recolectadas en verano, varios hongos patógenos

comunes en los frutos (*Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium expansum* y *Penicillium italicum*) para evaluar así la capacidad de los distintos hongos de crecer sobre las hojas de las distintas especie de *Aloe*, lo que reflejará la actividad antifúngica de las plantas de aloe. Además, se realizó una correlación entre la concentración de aloína y el crecimiento de los hongos en las heridas inoculadas.

3.2. MATERIAL VEGETAL

Aloe sp.

Durante la realización de esta Tesis se han utilizado 8 especies diferentes de *Aloe*: *Aloe arborescens* Mill. (capítulos 4 y 5), *Aloe aristata* Haw (capítulo 5), *Aloe claviflora* Strydenburg (capítulo 5), *Aloe ferox* Mill. (capítulo 5), *Aloe mitriformis* Mill. (capítulo 5), *Aloe saponaria* Ait. (capítulo 5), *Aloe striata* Haw. (capítulo 5) y *Aloe vera* L. (capítulos 1, 2, 4 y 5), las cuales han sido descritas anteriormente en la introducción. Estas especies han sido cultivadas en condiciones estándar en la parcela ecológica de la Universidad Miguel Hernández, en la Escuela Politécnica Superior de Orihuela, Alicante, España (**Fotografía 16**). Las plantas de 2 años de edad se trasplantaron a nuestra parcela en el año 2008, dejando una separación entre plantas es de unos 50 cm y dotándolas con la protección de 2 láminas de film de polietileno negro de 70 µm de espesor para evitar el crecimiento de malas hierbas. Además, la parcela cuenta con un sistema de riego por goteo bajo las láminas de plástico, con un gotero autocompensante de 4 L/h por planta, en el que se aplicaba además la fertilización necesaria. El riego solo se utilizó durante los primeros 6 meses después del trasplante (un riego de 3 horas cada 2 semanas) y en verano 2 veces al mes.

Las hojas seleccionadas para la obtención del gel de las diferentes especies de *Aloe* tenían 3 años de edad, puesto que es en ese momento se consideran ya adultas y la concentración de principios activos es mayor que en las hojas más jóvenes. Las hojas se seleccionaron de forma homogénea y representativa en cuanto a forma, peso, tamaño y color, desechándose aquellas que presentaban

fisiopatías, daños u otras alteraciones. El corte se realizó sobre las hojas más bajas, exteriores y más próximas a la tierra, ya que, además de ser las hojas de más edad, de esta forma se daña menos la planta. Antes de cortar la hoja, ésta se lavaba con una solución de agua y etanol.



Fotografía 16: Parcela ecológica de distintas especies de *Aloe* en la Escuela Politécnica Superior de Orihuela. **Fuente:** S. Castillo.

Una vez recogidas las muestras, se llevaron inmediatamente al Laboratorio de investigación del Grupo de Post-recolección del Departamento de Tecnología de Alimentos en la Escuela Politécnica Superior de Orihuela. Una vez allí se realizaron las operaciones que se muestran en el **esquema 1**.

El lavado de las hojas de aloe se realizó en un baño con agua e hipoclorito sódico (100 ppm) durante 5 minutos, para así eliminar microorganismos y restos de materia orgánica proveniente del campo. Una vez que las hojas estuvieron lavadas y secadas, se pesaron individualmente para, posteriormente, obtener los rendimientos de piel y pulpa. El peso se determinó en una balanza marca Mettler modelo PC-4400, con dos cifras decimales de precisión $\pm 0,01$ g.

A continuación, se realizó la separación de la piel y la pulpa. Para esto se empleó un cuchillo afilado con el que se cortaron las hojas longitudinalmente sobre una bandeja de gran tamaño (**Fotografía 17**) y, seguidamente, con una cuchara, se raspó suavemente el mucílago hasta quedar completamente separado del parénquima cortical o piel (**Fotografía 18**).



Fotografía 17: Corte transversal de una hoja de *Aloe vera*. **Fuente:** Propia.

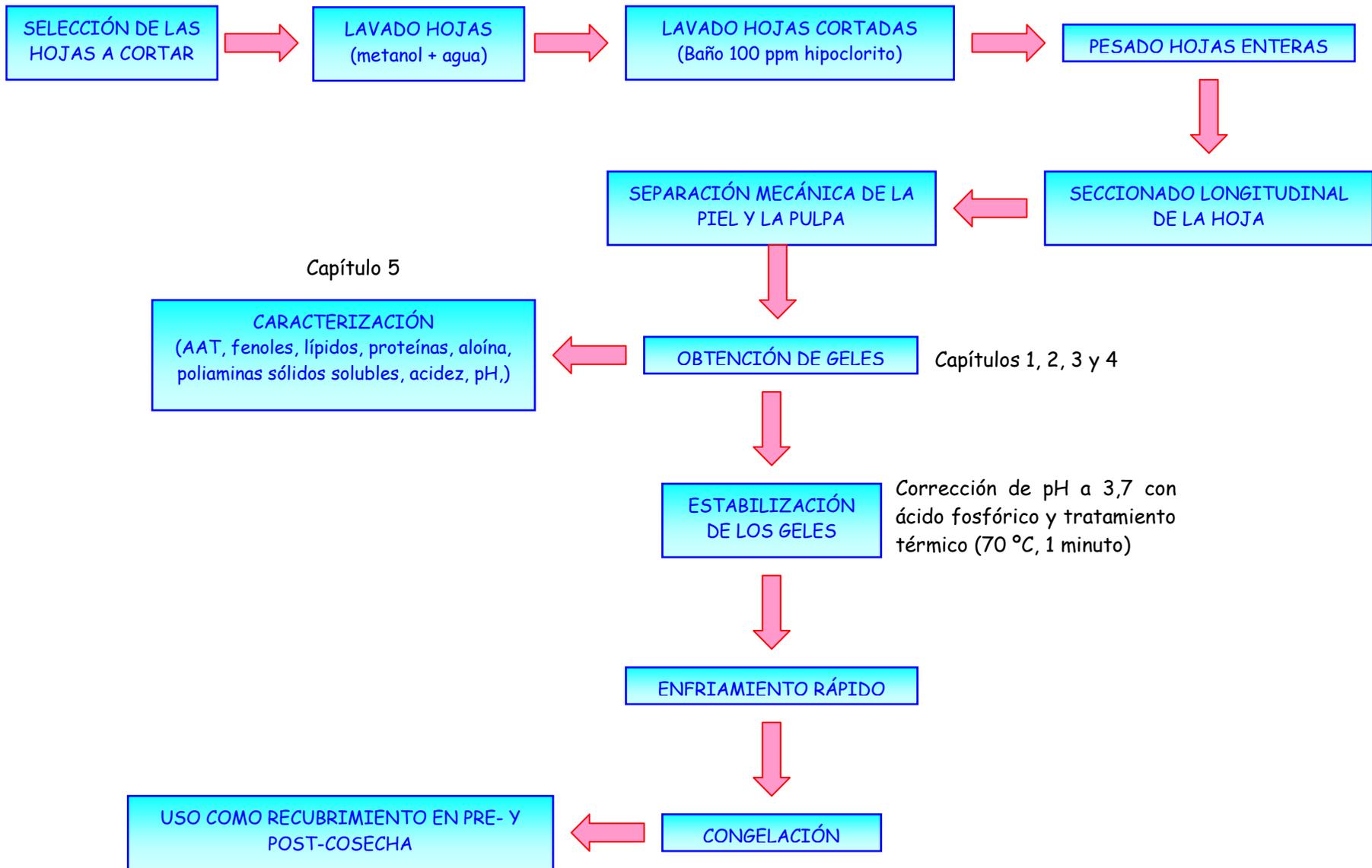


Fotografía 18: Separación de la piel y la pulpa en una hoja de *Aloe vera*. **Fuente:** Propia.

Posteriormente, se pesaron de forma individual la piel y la pulpa obtenidas de cada hoja, con el fin de poder obtener los rendimientos de piel y pulpa. Se continuó cortando la pulpa obtenida, tras la separación de las partes de la hoja, en trozos muy pequeños para facilitar el posterior triturado. Tras el triturado se realizó el filtrado de la pulpa. Una vez hecho esto, ya se pudo realizar la caracterización de sólidos solubles, acidez y pH, las cuales explicaremos detalladamente más adelante (capítulo 5).

Una vez concluidas dichas determinaciones se siguieron dos procedimientos distintos: por un lado, el gel de aloe obtenido se almacenó en tubos Falcon que se congelaron para posteriores extracciones y determinaciones de proteínas, lípidos, aloína, fenoles, actividad antioxidante total y poliaminas. Para realizar los tratamientos de campo (capítulos 2 y 3) y los tratamientos post-recolección (capítulos 1 y 4) los geles de aloe se estabilizaron con ácido fosfórico, hasta alcanzar un pH de 3,7, y un tratamiento térmico que consistió en introducir los

geles de aloe en un autoclave Trade Raypa® R. Espinar, S.L. modelo a 70 °C durante 1 minuto. Posteriormente los geles se congelaron a -20 °C para su posterior uso.



Esquema 1: Diagrama de flujo del proceso de obtención y caracterización de los geles de aloe.

Además, también se utilizó en los capítulos 1, 2 y 3 un gel de *Aloe vera* comercial obtenido a partir de plantas cultivadas en condiciones ecológicas, adquirido en AVISA (Aloe Vera Internacional Sociedad Anónima, Fuerteventura, Islas Canarias, España) (**Fotografías 19 y 20**), y enviado a la EPSO en condiciones de frío.



Fotografía 19: Parcela ecológica de *A. vera* en AVISA, Fuerteventura, Islas Canarias, España. **Fuente:** D. Martínez-Romero.



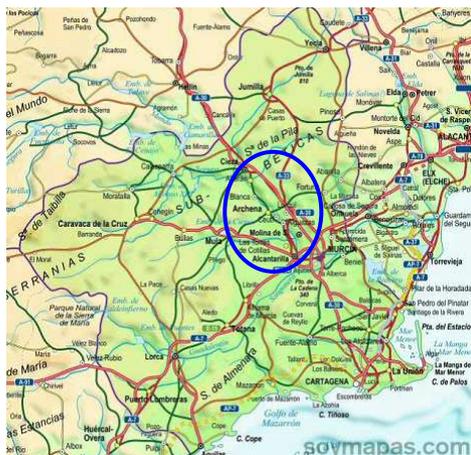
Fotografía 20: Hojas de *A. vera* ya recogidas en AVISA, Fuerteventura, Islas Canarias, España. **Fuente:** D. Martínez-Romero.

Frutos empleados: Cultivos

Para la realización de los diferentes experimentos que constituyen esta Tesis se han utilizado distintas variedades de frutos. Todos ellos se recolectaron en la zona del sureste español (**Fotografía 21**) Así, en el capítulo 1 trabajamos con 2 variedades de nectarina, "Flavela" y "Flanoba", ambas suministradas por la empresa "Frutas Esther" y cultivadas en la finca que dicha empresa tiene en la localidad de Campotejar, Murcia, España (**Fotografía 22 a y b**). La finca se encuentra situada a $38^{\circ} 06' 53.06''$ N y $1^{\circ} 12' 54.16''$ S.



Fotografía 21: Mapa físico de España. **Fuente:** <http://zonu.com>.



Fotografía 22a: Mapa de la Región de Murcia. **Fuente:** <http://sovmapas.com>

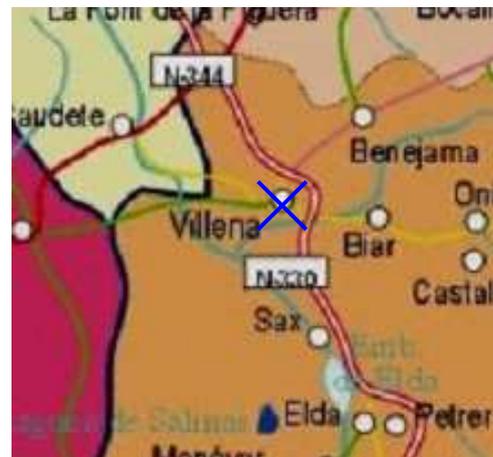


Fotografía 22b: Mapa ampliado de una zona de la Región de Murcia. **Fuente:** <http://sovmapas.com>

En el capítulo 2, los frutos utilizados fueron dos variedades de cereza ("Prime Giant" y "Skeena"), una variedad de nectarina ("Garofa") y otra de melocotón ("Reach Lady"). Las cerezas nos fueron suministradas por la empresa "Los Frutales" cuya finca se encontraba en el término municipal de Villena, Alicante, España (**Fotografía 23 a y b**). La finca se encuentra situada a 38° 35' 24.38" N y 0° 50' 45.68" S. Por otra parte, las nectarinas y los melocotones procedían de "Frutas Esther". Las nectarinas se recolectaron de la finca que la empresa tiene en Campotejar, Murcia, España (**Fotografía 22 a y b**), sin embargo, los melocotones procedían de una finca que la empresa tiene en el término municipal de Jumilla, concretamente en Ajunzalejo, Murcia, España (**Fotografía 22 a y 24**). Esta finca está situada a 38° 19' 50.48" N y 1° 19' 03.05" S.



Fotografía 23a: Mapa de la Comunidad Valenciana. **Fuente:** <http://www.comunidadvalenciana.net>.



Fotografía 23b: Mapa ampliado de la Comunidad Valenciana, provincia de Alicante. **Fuente:** <http://www.comunidadvalenciana.net>.



Fotografía 24: Mapa ampliado de una zona de la Región de Murcia. **Fuente:** <http://soymapas.com>



Fotografía 25: Mapa ampliado de una zona de la Región de Murcia. **Fuente:** <http://soymapas.com>

En el capítulo 3 se emplearon dos variedades de uva de mesa. Por una parte, utilizamos la variedad "Autumn Royal" en cultivo convencional en una parcela comercial que la empresa "Frutas Esther" tiene en el término municipal de Abarán, concretamente en La Estación, Murcia, España (**Fotografía 24**). Esta finca está situada a $38^{\circ} 19' 50.48''$ N y $1^{\circ} 19' 03.05''$ S. La variedad "Crimson" se cultivó bajo cultivo ecológico en el término municipal de Alhama de Murcia, Murcia, España, (**Fotografía 25**) en la finca "Las Cabezuelas" (**Fotografía 26**), situada a $37^{\circ} 48' 39.72''$ N y $1^{\circ} 27' 22.93''$ S.



Fotografía 26: Finca "Las Cabezuelas". **Fuente:** <http://www.lascabezuelas.com/>

Finalmente, En el capítulo 4 se empleó una variedad de melocotón ("Redhaven") y una variedad de ciruela ("Santa Rosa"). Los melocotones procedían de la empresa "Frutas Esther", concretamente de la finca que la empresa tiene en Ajunzalejo, Murcia, España (**Fotografía 24**). Por otra parte, las ciruelas nos fueron suministradas por la empresa "Los Frutales" cuya finca se encontraba en el término municipal de Villena, Alicante, España (**Fotografía 23b**).

3.3. MATERIAL MICROBIOLÓGICO Y LIÓFILO

Las cepas usadas en el desarrollo de esta Tesis procedían de la Colección Española de Cultivos Tipo y se encontraban liofilizadas y encapsuladas en ampollas de vidrio (**Fotografía 27**). Primero se procedió a abrir las ampollas realizándoles una ralladura mediante una lima. Con el fin de provocar la entrada de aire lentamente al liófilo, se calentó lentamente la punta de la ampolla y se dejó caer unas gotas de agua estéril sobre la misma para que el vidrio se resquebrajase.



Fotografía 27: Cepa de *Botrytis cinerea* CECT2100 liofilizada y encapsulada. **Fuente:** S. Castillo.

Inmediatamente después de abrir las ampollas, se añadió en condiciones estériles 0,3 mL de medio líquido (agua de peptona) con una pipeta Pasteur y se

resuspendió bien el liófilo, evitando la formación de burbujas de aire. Una vez suspendido el cultivo se procedió a su dilución con agua estéril hasta 10^7 UFC mL^{-1} . De esta dilución, 1 mL se sembró en placas de PDA con cloranfenicol incubándose a la temperatura de 25 °C. Por otra parte, la dilución restante se preparó para guardarla como stock mediante la conservación por congelación. Para ello se le añadió una mezcla de agentes crioprotectores previamente esterilizados, los cuales fueron glicerol al 20% y leche desnatada al 80%. La mezcla de cultivo y agentes crioprotectores fue alicuotada en volúmenes de 1 mL y conservadas a -80 °C.

3.4. TÉCNICAS ANALÍTICAS

3.4.1. PÉRDIDAS DE PESO

La determinación del peso se llevó a cabo mediante una balanza marca Mettler modelo PC-4400, con dos cifras decimales de precisión $\pm 0,01$ g. El peso fue expresado en gramos. En el experimento de conservación las pérdidas de peso se calcularon en % con respecto al peso inicial de los frutos antes de la conservación que se consideró como el 100%.

3.4.2. FIRMEZA

La firmeza de los frutos se determinó en los capítulos 1, 2, 3 y 4. Para ello se utilizó un Texturómetro TX-XT2i[®] (Textura Analyzer, Stable Microsystems, Godalming, UK) (**Fotografía 28**) que es válido para hacer ensayos de tracción, compresión y flexión, con una fuerza máxima de ensayo de 25 KN y una precisión en la medida de 0,5-1%. Esta máquina estaba conectada a un ordenador personal para el procesamiento de datos. En todos los casos la firmeza se determinó mediante un test de compresión, con el que se deformaba el fruto un 3% (nectarinas, cerezas, ciruelas y melocotones) o un 5 % (uva de mesa) respecto a su diámetro ecuatorial. Se empleó como accesorio un disco plano de acero, montado sobre el texturómetro. La velocidad de descenso del disco de acero fue de 18 mm min^{-1} , hasta alcanzar la deformación deseada del fruto. Los

resultados se expresaron como la relación existente entre la fuerza necesaria para conseguir la deformación mencionada y la distancia recorrida por el disco plano para realizar de dicha deformación ($N\ mm^{-1}$).



Fotografía 28: Texturómetro TX-XT2i®. **Fuente:** S. Castillo.

3.4.3. COLOR

Esta medida se realizó en los capítulos 1, 2, 3 y 4. Se determinó el color en tres puntos, situados a 90° de la zona ecuatorial de cada fruto, mediante un colorímetro triestímulo Minolta CR- 300 (**Fotografía 29**) y usando el Sistema CIE Lab (L^* , a^* y b^*). Este sistema de medida es el más ampliamente conocido ya que pretende acercarse más a la percepción humana del color. Aporta una tripleta de coordenadas (L^* , a^* y b^*) que permite situarse colorimétricamente en un lugar del espacio. Estas coordenadas están correlacionadas con tres conceptos (índices) básicos que se pueden distinguir en toda apreciación del color, los denominados: luminosidad y cromaticidad (tono y croma).

El parámetro L^* indica la luminosidad del fruto, varía de 0 (negro) a 100 (blanco). Los parámetros a^* y b^* indican la cromaticidad conjuntamente, a^* representa el eje que va desde colores verdes ($-a^*$) hasta colores rojos ($+a^*$) y b^* representa el eje que evoluciona desde azul ($-b^*$) hasta amarillo ($+b^*$). Cada color viene dado por tres valores de estas coordenadas, que representan un punto en el espacio tridimensional (Minolta, 1994). Además se calculó el índice

croma como $\sqrt{a^2 + b^2}$ y el ángulo Hue, como $\text{arc tg } b/a$. En todos los casos los datos son la media \pm ES.



Fotografía 29: Colorímetro triestímulo modelo CR-300, utilizado para medir los parámetros de color. **Fuente:** S. Castillo.

3.4.4. DIMENSIONES DE LA HOJA Y RENDIMIENTO DEL GEL

Las hojas, se pesaron y los datos obtenidos se expresaron en gramos. También se midió, con una regla y un calibre Vernier, la longitud de la hoja (cm), la anchura en el centro de la misma y en la base del corte y el grosor (cm) a la mitad de la hoja. Antes de cortar las hojas longitudinalmente (**Fotografía 17**) para separar la epidermis del parénquima (**Fotografía 18**), se eliminaron las espinas presentes a lo largo de sus márgenes. El parénquima fue triturado para obtener un gel mucilaginoso que se filtró para eliminar la fracción fibrosa. El rendimiento del gel se expresó como porcentaje del gel obtenido con respecto al peso de la hoja entera. Se analizó el pH del gel fresco (pH-metro Crison, España) y los sólidos solubles totales expresados en °Brix (Atago refractómetro, Japón). A continuación, el gel fue congelado con N₂ líquido y almacenado a -40 °C hasta la realización de las siguientes determinaciones analíticas.

3.4.5. TASA DE RESPIRACIÓN

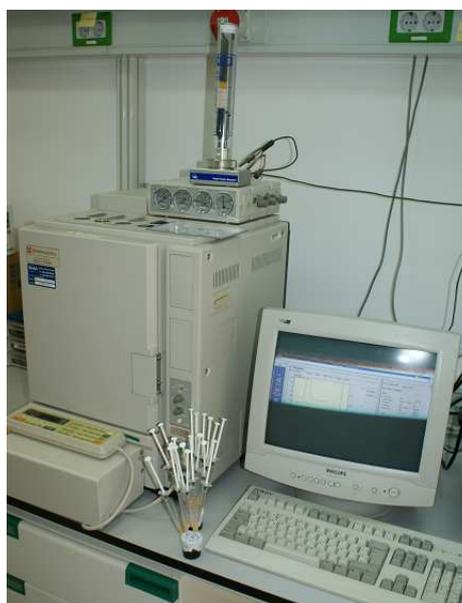
Esta determinación se realizó en el capítulo 1, 2, 3 y 4. En el caso de las nectarinas, melocotones y ciruelas, cada fruto se introdujo durante 1 hora en un tarro de cristal de 0,5 L de volumen, cerrado herméticamente y con una tapadera que disponía de una válvula (septum) de material elastómero que permitió las extracciones de 6 jeringuillas de 1 mL de aire de cabeza de cada uno de los botes (**Fotografía 30**). Sin embargo, para las cerezas y las uvas se introdujeron 10 frutos por tarro. Tres de las jeringuillas se usaron para determinar la tasa de respiración y las otras tres para cuantificar la tasa de producción de etileno.

El CO₂ producido como consecuencia de la respiración se acumula con el tiempo y puede cuantificarse mediante cromatografía de gases. En este experimento se empleó un cromatógrafo de gases ShimadzuTM 14A (Kyoto, Japón) (**Fotografía 31**), con un detector de conductividad térmica y una columna de tamiz molecular 5A, 80/100 mesh (Carbosieve SII. Supelco Inc., Bellefonte, USA), de 2 m de longitud y 3 mm de diámetro. El horno y la temperatura del inyector fue de 50 ° y 110 °C, respectivamente. Se utilizó helio como gas portador a un caudal de 50 mL min⁻¹. El pico de CO₂ se detectó por su tiempo de retención, que en estas condiciones se encuentra entre 1,4 y 1,6 minutos. La concentración de CO₂ en las muestras tomadas de los botes, se calculó comparando el área de integración del pico de la muestra, con la de un patrón de CO₂ de concentración conocida, que en este caso fue el presente en la atmósfera, de 0,036%.

Finalmente la tasa de respiración se calculó conociendo el peso del producto, el volumen del recipiente y la concentración de CO₂, después de un determinado tiempo (60 minutos). Los resultados fueron la media ± ES y se expresan como mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹.



Fotografía 30: Ciruelas dentro de tarros herméticamente cerrados para medir la tasa de respiración y la producción de etileno. **Fuente:** S. Castillo.



Fotografía 31: Cromatógrafo de gases Shimadzu™ 14A (Kyoto, Japón).

Fuente: S. Castillo.

3.4.6. PRODUCCIÓN DE ETILENO

Esta determinación se realizó en el capítulo 1, 2 y 4. Al igual que pasaba en la tasa de respiración, en el caso de las nectarinas, ciruelas y melocotones, cada fruto se introdujo durante 1 hora en un tarro de cristal de 0,5 L de volumen, cerrado herméticamente y con una tapadera que disponía de una válvula (septum) de material elastómero que permitió las extracciones de 6

jeringuillas de 1 mL de aire de cabeza de cada uno de los botes. Sin embargo, para las cerezas y las uvas se introdujeron 10 frutos por tarro.

El etileno se cuantificó utilizando un cromatógrafo de gases Hewlett-PackardTM modelo 5890A (Wilmington, DE) (**Fotografía 32**) provisto de un detector de ionización de llama (FID) y columna de acero inoxidable de 3 m de longitud total y de 3,5 mm de diámetro interno, con relleno de alúmina de 80/100 mesh. La temperatura de la columna fue de 90 °C y la del inyector y el detector de 150 °C.



Fotografía 32: Cromatógrafo de gases Hewlett-PackardTM modelo 5890^a (Wilmington, DE). **Fuente:** S. Castillo.

El cromatógrafo estaba conectado a un ordenador personal con un programa informático que registra los cromatogramas y los integra (cuantifica). El etileno se identificó por su tiempo de retención en la columna, característico en estas condiciones (1,44 minutos) y por comparación con cromatogramas estándar obtenidos con etileno patrón de 10 ppm en nitrógeno. La emisión de etileno se calcula conociendo el peso del producto, el volumen del recipiente, y el tiempo que ha permanecido cerrado el recipiente (60 minutos). Los resultados son la media \pm ES y se expresa como $\text{nL g}^{-1} \text{h}^{-1}$.

3.4.7. CONCENTRACIÓN DE ALOÍNA

Se homogeneizó el gel de aloe en 25 mL de metanol (50% v/v) que contenía 2 mL de HCl 0,1 N y 5 mM de NaF, utilizando para ello un Polytron™ a 9500 rpm durante 2 minutos. Después de la homogeneización, las muestras se sometieron a ultrasonidos a 10 °C durante 60 minutos y luego se centrifugaron a 20000 xg durante 15 minutos en una centrífuga C30P CENTRIFUGE, B.Braun, Biotech. El sobrenadante se filtró a través de un filtro Millipore de 0,45 micras para después inyectar 1 mL en un HPLC-DAD (Hewlett-Packard HPLC-1100 Series) (**Fotografía 33**), equipado con una columna C18-(C-610H Supelcogel, 30 cm x 7,8 mm, Supelco Park, Bellefonte, EE.UU.). La aloína se eluyó isocráticamente con metanol-agua como fase móvil (64:36 v/v que contenía 0,5% de ácido fórmico) a un caudal de 1 mL min⁻¹ y se detectó a la longitud de onda de 254 nm. La recta de calibrado se realizó mediante el uso de aloína A (barbaloína) estándar (Sigma, Madrid, España) en concentraciones que fueron desde 0 hasta 100 mg L⁻¹ ($y = 4,71 x + 4,25$, $R^2 = 0,9979$). Los resultados se expresaron como mg 100 g⁻¹ de peso fresco. Esta determinación se realizó en el capítulo 5.



Fotografía 33: HPLC-DAD. Hewlett-Packard HPLC-1100 Series. **Fuente:** S. Castillo.

3.4.8. EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE POLIAMINAS

De cada gel se tomaron 2 g que se mezclaron con 10 mL de ácido perclórico frío al 5%. Se añadió 1,6 hexanodiamina (100 nmol g⁻¹ de tejido) como estándar interno. Esta mezcla se homogenizó en un Politrón y a 9500 rpm durante 2 minutos y se centrifugó durante 30 minutos a 20000 x g. Del sobrenadante obtenido, se tomaron 2 mL para determinar las poliaminas libres por benzoilación, y los derivados se analizaron por HPLC de acuerdo con Serrano *et al.* (2003). El sistema de elución consistió en usar como disolvente MeOH/H₂O (64:36) con un caudal isocrático de 0,8 mL min⁻¹. Las poliaminas benzoiladas se eluyeron a través de una columna de fase reversa (LiChroCart 250-4,5 µm) y fueron detectadas a una absorbancia de 254 nm. Se utilizó un procedimiento de calibración relativa para determinar las poliaminas de las muestras, utilizando 1,6 hexanodiamina como estándar interno y las curvas de calibración cubrieron el rango de 1 a 320 nm. Éstas fueron $y = x + 10,66$ 170,00, $R^2 = 0,94$ para la putrescina, $y = x 10,19 - 39,96$, $R^2 = 0,96$ para la espermidina, $y = 11,52 x - 4,32$, $R^2 = 0,90$ para la espermina. Los resultados se expresaron como nmol g⁻¹ de peso fresco. Esta técnica se utilizó en el capítulo 5.

3.4.9. CUANTIFICACIÓN DE LAS PROTEÍNAS Y LÍPIDOS TOTALES

La determinación de proteínas totales se llevó a cabo en el capítulo 5. Esta técnica consistió en centrifugar 5 g de los geles de aloe a 15000 x g durante 10 minutos a 4 °C. El sobrenadante se utilizó para la medida de las proteínas solubles, de acuerdo con el método de tinción de Bradford, utilizando albúmina de suero bobino (ASB) como estándar (Bradford, 1976). Las proteínas totales se expresaron como g 100 g⁻¹ de peso fresco.

Los lípidos totales se determinaron en el capítulo 5 y consistió en lo siguiente: se extrajeron según Valero *et al.* (1990). Brevemente, se homogeneizaron en un Polytron™ 10 g de gel de aloe en 10 mL de cloroformo:metanol:HCl 0,1N (200:100:1) y luego se añadieron 10 mL de HCl 0,1N, justo antes de la centrifugación (4000 x g durante 15 min). La fase

orgánica superior que contenía los lípidos totales se recogió y se llevó a sequedad en un baño de agua a 60 °C bajo lavado continuo de N₂ gas. El residuo se pesó y los lípidos totales se expresaron como g 100 g⁻¹ de peso fresco.

3.4.10. CUANTIFICACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL

La actividad antioxidante total se cuantificó en el capítulo 5 y se llevó a cabo según el método de Cano *et al.*, (1998), adecuado posteriormente por Cano *et al.*, 2001, para la determinar la actividad antioxidante total (AAT) en la fase hidrosoluble (FH) y en la fase liposoluble (FL). La extracción para la cuantificación de la AAT se realizó de la siguiente manera: para cada una de los geles de aloe se pesaron 5 gramos en un tubo de centrífuga y se añadieron 5 mL de Tampón Fosfato más 3 mL de etil acetato. Los tubos permanecieron en el interior de una bandeja con hielo picado para evitar que las muestras se degradaran. Las muestras se homogeneizaron en un Polytron® a 9.500 r.p.m durante 60 segundos. Seguidamente se colocaron los tubos en la centrífuga modelo C30P CENTRIFUGE, B.Braun, Biotech a 15.000 r.p.m. durante 20 minutos a 4°C. La centrifugación fue necesaria para separar las dos fases de la muestra para su posterior análisis. En ésta la fase liposoluble (FL) se encontraba en la parte superior y la fase hidrosoluble (FH) en la inferior. Se extrajo 1 mL de cada una de las fases mediante una pipeta y se fueron colocando en tubos Eppendorf bien rotulados y diferenciados. De cada una de las extracciones se tomaron dos Eppendorf: uno de la fase liposoluble y otro de la hidrosoluble.

Para la determinación de la AAT en la FH (AAT-H) se introdujo, en dos cubetas desechables, Tampón Glicina-HCl 50 mM de pH 4,5 y se realizó el cero en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 730 nm. Seguidamente, se extrajo del espectrofotómetro una de las cubetas y se sustituyó por otra a la que se le adicionó 30 µL de ABTS 5 mM, 30 µL de H₂O₂ 0,5 mM y 25 µL de peroxidasa "horse radish sigma" 5 µM y se midió la absorbancia en ese primer instante, lo que se denomina absorbancia inicial. Por último, se añadió 20 µL de extracto hidrosoluble y se midió igualmente la absorbancia cada 30 segundos desde la adición de la muestra hasta los 90 segundos. Con la adición de los

antioxidantes que contiene la muestra, disminuyen los radicales ABTS^o que se habían generado previamente, por lo que se produce un descenso de la absorbancia que es proporcional a la cantidad de antioxidantes presentes en la muestra. Las medidas de absorbancia se llevaron a cabo en un espectrofotómetro modelo U.V-1700 PharmaSpec (**Fotografía 34**).



Fotografía 34: Espectrofotómetro modelo U.V-1700 PharmaSpec, utilizado para medir la absorbancia. **Fuente:** S. Castillo.

La AAT de la FL (AAT-L) se cuantificó de manera similar. Primero se introdujo, en dos cubetas desechables, etanol absoluto y se realizó el cero en el espectrofotómetro a la misma longitud de onda que en el caso anterior. Seguidamente, se extrajo del espectrofotómetro una de las cubetas y se sustituyó por otra en la que se adicionaron los siguientes compuestos: en primer lugar, 50 μL de ABTS 5 Mm; 50 μL H₂O₂ 0,5 mM, 25 μL de peroxidasa "horse radish sigma" 5 μM y 850 μL de etanol para que pudieran solubilizarse los compuestos presentes en la fracción liposoluble de los extractos. Una vez introducido todo esto en la cubeta, se procedió a medir la absorbancia inicial. Por último, se añadió, a la cubeta que ya contenía la peroxidasa, 25 μL de extracto liposoluble y se midió igualmente la absorbancia cada 30 segundos desde la adición de la muestra hasta los 90 segundos.

En ambos casos la AAT se expresó como equivalentes de Trolox por 100 g de peso fresco, ya que este compuesto, un análogo estructural de la vitamina E, es soluble tanto en disolventes orgánicos como inorgánicos. Se realizaron rectas de calibrado con cantidades conocidas de Trolox, tanto en medio de tampón glicina como en medio etanólico y se usaron para cuantificar la AAT en la FH y FL, respectivamente. Para cada una de las extracciones la cuantificación se realizó por duplicado y los datos son la media \pm ES. En la **figura 1** se muestran las rectas de calibrado obtenidas para cuantificar la AAT en ambas fracciones.

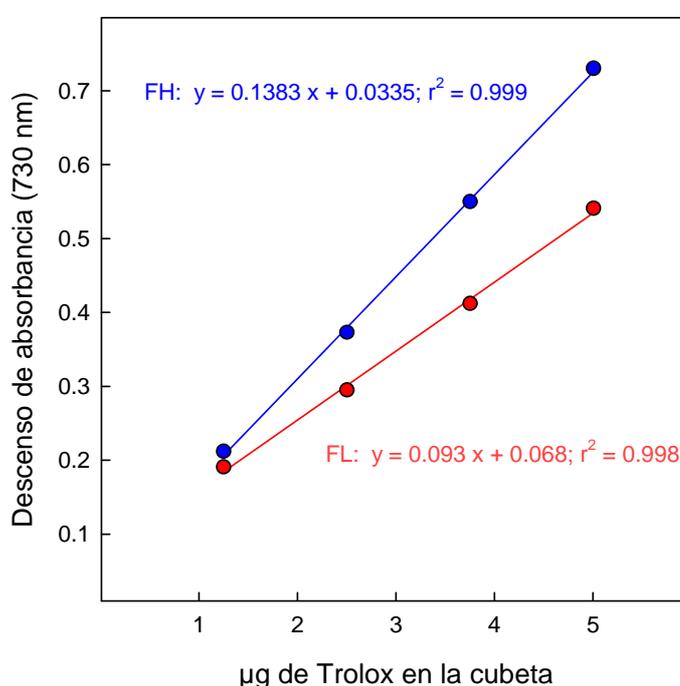


Figura 1: Rectas de calibrado para la cuantificación de la AAT en la FH y la FL.

3.4.11. CUANTIFICACIÓN DE LOS FENOLES TOTALES

La cuantificación de los fenoles se realizó en la fracción hidrosoluble de los extractos realizados para determinar la AAT. El método de cuantificación empleado fue el descrito por Wood *et al.* (2002), con ligeras modificaciones, empleando una recta de calibrado construida con distintas concentraciones de un patrón que fue el ácido gálico. La ecuación de la recta de calibrado que se

empleó es: $y = 0.035x + 0.0087$; $r^2 = 0.995$. Siendo y las unidades de absorbancia, x el ácido gálico ($\mu\text{g}/\text{cubeta}$) y r^2 0,994.

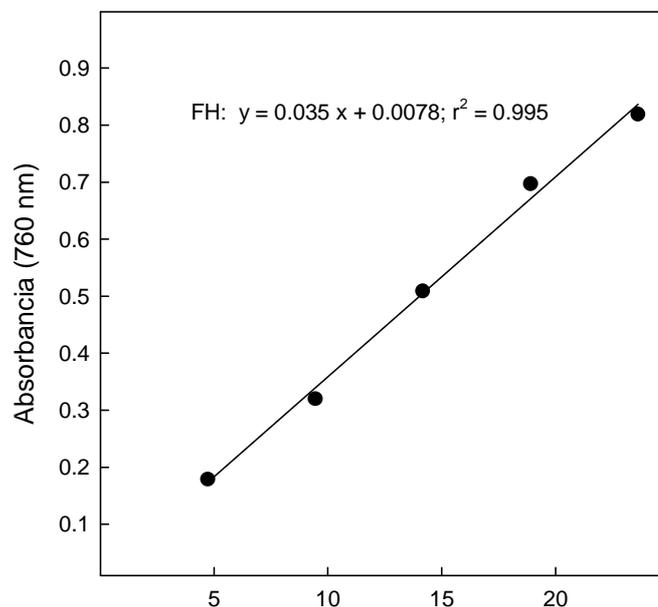


Figura 2: Recta de calibrado para la cuantificación de los fenoles totales.

Se prepararon 2 tubos de ensayo por cada extracción. En cada uno de los tubos, se añadieron 2,5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu 1/10 (100 mL de Folin-fenol + 900 mL H_2O ultrapura). A continuación se añadieron, 200 μL de extracto de la FH. Se añadió tampón fosfato 50 mM, pH 7,5 hasta completar un volumen de 500 μL y se agitó. Al cabo de 2 minutos de reposo, la reacción se paró con la adición de 2 mL de Na_2CO_3 se volvió a agitar y se introdujeron los tubos de ensayo durante 5 minutos en un baño a 50 $^\circ\text{C}$. Finalmente se vertió cada una de las muestras en cubetas y se introdujeron en el espectrofotómetro modelo U.V-1700 PharmaSpec (**Fotografía 34**) donde la absorbancia producida por la coloración azul fue medida a 760 nm. Los resultados se expresan en mg equivalentes de ácido gálico por 100 g de peso fresco y son la media \pm ES de las determinaciones realizadas por duplicado en cada una de las extracciones realizadas en cada muestra. Esta determinación se realizó en el capítulo 5.

3.4.12. SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES, ACIDEZ TITULABLE E ÍNDICE DE MADURACIÓN

Los sólidos solubles totales (SST) están relacionados con el estado de madurez del fruto y por tanto con el contenido en azúcares. La medida del contenido de SST se realizó en los capítulos 2, 3, 4 y 5, en el zumo filtrado de los frutos o en el gel filtrado del aloe. La medida de los SST se trata de una técnica basada en los distintos índices de refracción de dos medios con distinta concentración de sustancias disueltas, zumo y agua destilada. Para ello se empleó un refractómetro digital Atago PR-101 (Atago Co. Ltd., Japón) a 20 °C y los resultados fueron expresados en porcentaje y son la media \pm ES de las determinaciones realizadas en el zumo de cada variedad de fruta o en el gel de aloe.

La acidez titulable se determinó a través de una valoración potenciométrica mediante un pH-metro marca Metrohm 760 Sample Changer (Masso Analítica, S.A., El Prat de Llobregat, Barcelona, España) de sensibilidad \pm 0,01 (**Fotografía 35**). Se valoró con NaOH 0,1 N hasta pH 8,1, utilizando 1 mL de zumo de fruta o de gel diluido en 25 mL de agua destilada, y los resultados fueron la media \pm ES y se expresan como g de equivalentes del ácido mayoritario en cada producto vegetal, es decir, en equivalentes de ácido málico por 100 g⁻¹ peso fresco en melocotones, ciruelas, cerezas, nectarinas y geles de aloe y en equivalentes de ácido tartárico en la uva. Esta técnica analítica se utilizó en los capítulos 2, 3, 4 y 5.

Una vez obtenidos los valores correspondientes a los SST (°Brix) y de la acidez titulable (g 100 g⁻¹), se calculó el índice de madurez, esto es, el cociente sólidos solubles / acidez. Este parámetro se relaciona con el grado de maduración real de los frutos y se determinó en los capítulos 2 y 4.



Fotografía 35: Phmetro Metrohm 760 Sample Changer para determinar la acidez.

Fuente: S. Castillo.

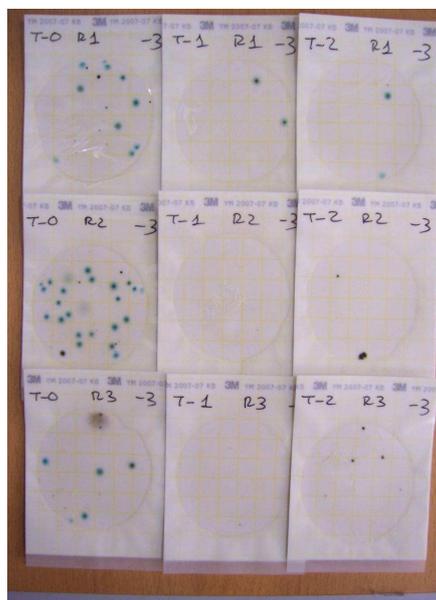
3.4.13. DETERMINACIONES MICROBIOLÓGICAS: VOLUMEN DE INFECCIÓN, CARGA MICROBIANA E INCIDENCIA DE PODREDUMBRES

El volumen de infección se determinó en las nectarinas estudiadas en el capítulo 1. Para ello los frutos se cortaron longitudinalmente por la zona infectada y a continuación se midió el área y profundidad de infección. El volumen se calculó mediante la aproximación a la mitad de un elipsoide. Los datos se expresaron como mm^3 y son la media \pm ES.

La carga microbiana se determinó mediante el recuento microbiano de aerobios y mohos y levaduras, en placas Petrifilm™ (3M) (**Fotografía 36**). El procedimiento a seguir para la preparación de las muestras es equivalente y sólo difiere en el tipo de placa que se emplea, siendo de un tipo para mesófilos totales y de otro para realizar recuentos conjuntos de mohos y levaduras.

En primer lugar se preparó el agua de peptona, medio empleado para realizar las diluciones de las muestras. Para ello se pesaron 25,5 g de medio en polvo y se disolvió en 1 L de agua. A continuación se vertieron 9 mL en tubos de ensayo y 90 mL en tarros de volumen apropiado y se esterilizaron a 121 °C

durante 20 minutos en un autoclave Trade Raypa® R. Espinar, S.L. modelo AES-28. Una vez el medio fue autoclavado, se conservó en refrigeración hasta su uso.



Fotografía 36: Placas Petrifilm™ (3M), utilizadas para el recuento microbiano. **Fuente:** S. Castillo.

El recuento microbiano se realizó en cereza, nectarina, melocotón y uva de mesa (capítulos 2 y 3 respectivamente), así pues, al tratarse éstos de alimentos sólidos, fue necesario un tratamiento previo para liberar en un medio fluido aquellos microorganismos que pudieran estar ocluidos en el fruto. Se pesaron 10 g del fruto correspondiente y se introdujeron en una bolsa de polietileno esterilizada junto a 90 mL de agua de peptona, de modo que se obtuvo la dilución 10^{-1} . Seguidamente, se colocó la bolsa en un Stomacher modelo Bag Mixer Interscience y se hizo funcionar durante 1 minuto. Una vez transcurrido este tiempo, se tomó 1 mL de la bolsa con una punta de pipeta esterilizada y se realizaron diluciones crecientes hasta 10^{-5} . Una vez realizadas todas las diluciones, se procedió a la siembra, realizando un duplicado para cada una de ellas. Las placas fueron introducidas en una estufa a 30 °C para mesófilos aeróbicos totales y en otra a 25 °C para mohos y levaduras, siendo el tiempo de incubación de 48 a 72 horas para cada una de ellas.

La incidencia o grado de podredumbre se cuantificó en la uva mediante determinación visual del número de granos con podredumbres en cada racimo (capítulo 3) y los resultados se expresan como la media \pm ES del % de bayas infectadas por racimo.

3.4.14. VALORACIÓN VISUAL DEL RASPÓN Y DE LA MEDIA LUNA

Uno de los parámetros más importantes de calidad para las uvas es el estado del raspón, en cuanto a desprendimiento del fruto, grado de turgencia o marchitez y el color verde, puesto que éste es un componente significativo cuando consideramos el racimo en su conjunto. Para llevar a cabo esta evaluación se diseñó una escala subjetiva del estado del raspón compuesta por cuatro estadios diferentes que se correspondían con una escala numérica en la que se valoran los atributos de calidad del raspón según se indica en la **Tabla 4**, y fue realizada por 4 jueces..

Tabla 4. Escala empleada para la valoración de la calidad del raspón de los racimos de la uva de mesa

Estado del pedúnculo	Escala numérica
Verde turgente	5
Verde-Amarillo turgente	4
Amarillo-Marrón	3
Marrón oscuro	2
Gris muy seco	1

Cuando se habla de media luna en el grano de la uva, se refiere a la parte donde el fruto se une al raspón, es en esa parte donde aparece el ataque del hongo en forma de media luna, dando el nombre a esta valoración visual. Lo que hicimos para realizar esta valoración fue contar las bayas afectadas por racimo.

3.4.15. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS EXPERIMENTALES

En los experimentos realizados se ha utilizado un diseño completamente aleatorio por separado. El efecto de los tratamientos realizados sobre las diferentes variables determinadas se ha estudiado mediante Análisis de la Varianza. Cuando las diferencias inducidas por los diferentes tratamientos han resultado ser significativas, las medias se han separado mediante el test de Tukey. Todos los análisis se han realizado con el Software SPSS versión 11.0 para Windows. Se ha considerado diferencias significativas para $P \leq 0,05$. Las correlaciones realizadas se efectuaron mediante el uso de SigmaPlot 11 para Windows. El número de frutos empleados y el número de determinaciones analíticas realizadas para medir cada parámetro se indican en el diseño experimental en cada uno de los capítulos.



CAPÍTULOS

4.1. EFECTO *IN-VITRO* E *IN-VIVO* DEL GEL DE *Aloe vera* SOBRE EL CRECIMIENTO DE DIFERENTES ESPECIES DE HONGOS

4.1.1. INTRODUCCIÓN

Durante siglos, la especie *Aloe vera* L. ha sido utilizada por diferentes culturas como planta medicinal debido a sus propiedades terapéuticas. El gel de aloe es el mucílago incoloro obtenido a partir de las células parenquimáticas de las hojas frescas de esta especie. Actualmente, además de su uso en la industria farmacéutica y cosmética, se está prestando interés a su posible uso en la industria alimentaria como fuente de alimentos funcionales, en la preparación de bebidas saludables, en leche, helados y golosinas (Eshun y He, 2004). Sin embargo, las técnicas de tratamiento utilizadas para la obtención de gel de *Aloe vera* son muy importantes para garantizar la calidad de los productos y para mantener la casi totalidad de los componentes bioactivos (He *et al.*, 2005).

El principal problema en post-cosecha de las frutas y hortalizas es su rápido deterioro, siendo las principales causas las pérdidas de peso, cambios de color y ablandamiento, los cuales van acompañados de aparición de podredumbres, debido principalmente a las especies de los géneros *Penicillium*, *Botrytis* y *Monilia* entre otros (Valero y Serrano, 2010). La infección por estos hongos puede causar grandes pérdidas económicas, a pesar de que la frecuencia y el grado de infección dependen del tipo de fruto. Dado que la aplicación de fungicidas es muy restrictiva, existe la necesidad de tener disponibles alternativas naturales a estos fungicidas sintéticos. Esto, sumado a la creciente demanda por parte de los consumidores de disponer de frutas y hortalizas seguras y de alta calidad, ha aumentado los esfuerzos para desarrollar medidas de control alternativas o complementarias. Entre estos métodos alternativos se incluyen la exposición al ozono (Palou *et al.*, 2003), tratamientos térmicos, carbonatos y bicarbonatos (Palou *et al.*, 2002), agentes de control biológico (Obagwu y Korsten, 2003), luz ultravioleta (Stevens *et al.*, 2005) y los tratamientos con compuestos naturales como jasmonatos o quitosanos (Tripathi y Dubey, 2004). Se ha mostrado un especial interés hacia el uso de aceites esenciales como antimicrobianos naturales. Algunos ejemplos de estos aceites que han mostrado una alta eficacia

como agentes antimicrobianos son el carvacrol (Martínez-Romero *et al.*, 2007), timol, mentol y eucaliptol (Valverde *et al.*, 2005a; Serrano *et al.*, 2008), los cuales mostraron una gran eficacia en la reducción de podredumbres de uva de mesa (Valverde *et al.*, 2005a; Martínez-Romero *et al.*, 2007).

Por otra parte, existen informes sobre la actividad antifúngica que presentan los extractos naturales de *A. vera* sobre enfermedades humanas microbianas (Nidiry *et al.*, 2011; Rosca-Casian *et al.*, 2007). Sin embargo, existen pocas evidencias del efecto de estos extractos de aloe sobre los hongos responsables de las enfermedades en post-cosecha, ya sea *in vivo* o *in vitro*. En los últimos años, han aparecido algunos estudios que tratan del efecto del gel de *Aloe vera* aplicado en post-cosecha (Valverde *et al.*, 2005b; Martínez-Romero *et al.*, 2006) para paliar las podredumbres causadas por hongos y levaduras. Sin embargo, no se ha profundizado en el efecto que tienen los extractos de aloe al ser aplicados sobre frutos infectados con hongos responsables de enfermedades en post-cosecha y su relación con la calidad.

Los objetivos de este capítulo son, primero, estudiar el efecto *in-vitro* de diferentes concentraciones de gel de *Aloe vera* sobre la inhibición de micelios de dos de los hongos más comunes responsables de las podredumbres de la fruta, como son *Penicillium digitatum* y *Botrytis cinerea*. Segundo, evaluar el efecto antifúngico en post-cosecha del gel de *A. vera* con la adición o no de timol sobre dos variedades de nectarinas infectadas con *B. cinerea*, *P. digitatum* y *R. stolonifer*. Además, se estudiará el efecto del tratamiento con gel de aloe sobre los atributos de calidad de estos frutos infectados.

4.1.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

4.1.2.1. Experimento *in-vitro*

El gel comercial de *Aloe vera* se adquirió en AVISA (Aloe Vera Internacional Sociedad Anónima, Fuerteventura, Islas Canarias, España) (**Fotografía 37**). El gel se extrajo en condiciones asépticas usando la parte mucilaginoso de las hojas de aloe y fue enviado al laboratorio en condiciones de frío.



Fotografía 37: En AVISA, Fuerteventura, Islas Canarias, España. **Fuente:** D. Martínez-Romero.

Origen liófilo y su preparación

Los hongos utilizados en este experimento fueron *Botrytis cinerea* CECT 2100 y *Penicillium digitatum* CECT 2954 (Colección Española de Cultivos Tipo) cultivados en PDA bajo condiciones normales. Las esporas de *B. cinerea* y *P. digitatum* se diluyeron con agua estéril hasta suspensiones de 10^7 UFC mL⁻¹ y se utilizaron como stock. 1 mL de la población se cultivó en 20 placas de PDA durante 14 días a 25 °C para obtener el micelio homogéneo en la superficie de la placa.

Tratamientos e inoculación de los hongos

Pasados los 14 días a 25 °C se realizó la siembra en disco (**Fotografías 38, 39 y 40**) que consistió en coger de estas placas infectadas por hongos, discos de agar de 8 mm de diámetro y depositarlos en placas de PDA preparadas en condiciones normales, pero a las que se había añadido 6 concentraciones diferentes de gel de *Aloe vera*: 0 (ausencia de aloe, control), 1, 5, 25, 50 y 100 mL L⁻¹. El gel de aloe se incorporó al PDA uniformemente por agitación cuando su temperatura media fue inferior a 60 °C. Para cada concentración y hongo se utilizaron 60 placas, en las que se colocaron en el centro de cada una los discos de 8 mm de diámetro obtenidos a partir de los cultivos de hongos. Las placas se incubaron durante 96 horas a 23 °C y diariamente se midió el diámetro del micelio y finalmente se calculó su superficie. Los resultados se expresaron como

la media \pm ES del aumento de la superficie con respecto al día 0. La recogida de datos comenzó después de 24 horas de incubación para obtener una medición precisa. Para calcular la tasa de crecimiento, el aumento medio de diámetro entre dos días consecutivos se dividió entre 24 horas y se expresó la velocidad de crecimiento como mm h^{-1} .



Fotografía 38: Extracción de un disco del medio de cultivo.
Fuente: Propia.



Fotografía 39: Extracción de un disco de *Botrytis cinerea*. **Fuente:** Propia.



Fotografía 40: Siembra en disco completada. **Fuente:** Propia.

Análisis estadístico

Las correlaciones estadísticas se realizaron mediante regresión logarítmica frente concentración de *Aloe* utilizando SigmaPlot 11.0 de 2008 para Windows. El ajuste de la ecuación fue evaluada por la determinación del coeficiente r^2 .

4.1.2.2. Experimento *in-vivo*

El experimento se realizó en 2010 con 2 variedades de nectarina (*Prunus persica* L. var nectarina): "Flavela" y "Flanoba". Ambas variedades se obtuvieron por Philippe Buffat (PSB Producción Vegetal SL) y fueron cultivadas por "Frutas Esther SA" (Murcia, España). Durante la etapa de maduración comercial (según el tamaño, el color y los sólidos solubles), se recolectaron manualmente unos 300 frutos para cada variedad y se trasladaron inmediatamente al laboratorio. Se seleccionaron 195 frutos homogéneos en color, tamaño y exentos de defectos visuales y heridas, y se dividieron aleatoriamente en 13 lotes de 15 frutos. Un lote se utilizó para analizar las características de la fruta en el momento de la recolección. A los restantes se les aplicaron los siguientes tratamientos: 4 lotes Control (sin tratamiento), 4 lotes se trataron con recubrimientos con gel de *Aloe vera* y los restantes 4 lotes con un recubrimiento con gel de *Aloe vera* + Timol (1 mL L^{-1}).

Previamente a los tratamientos a cada fruto se le practicó una herida (2x2 mm) con una lanceta estéril para la posterior inoculación de los hongos (**Fotografía 41**).



Fotografía 41: Realización de la herida en las nectarinas para la posterior inoculación de los hongos. **Fuente:** S. Castillo.

Origen liófilo y su preparación

Los hongos utilizados en este experimento fueron *Botrytis cinerea* CECT 2100, *Penicillium digitatum* CECT 2954 y *Rhizopus stolonifer* CECT 2344 procedentes de la Colección Española de Cultivos Tipo y cultivadas en PDA bajo condiciones normales. Las esporas de los hongos se recogieron y se diluyeron con agua estéril hasta suspensiones de 2500 UFC mL⁻¹ y se utilizaron como stock.

Preparación del gel de *Aloe vera*

El gel de aloe utilizado en este experimento se preparó en el laboratorio de Post-Recolección de la UMH. Las hojas de *Aloe vera* que se recolectaron tenían 3 años de edad y procedían del huerto ecológico que la Universidad Miguel Hernández tiene en la Escuela Politécnica Superior de Orihuela. Se utilizaron 20 hojas de las cuales, a partir del tejido parenquimático, se obtuvieron 6 L (75% de rendimiento) de gel de *A. vera*. El gel tenía las siguientes características: pH = 5,3 ± 0,15, ° Brix = 1,15 ± 0,07 y acidez = 0,053 ± 0,02 g 100 g⁻¹ equivalentes de ácido málico. El gel se estabilizó mediante la reducción del pH a 3,75 con ácido fosfórico y luego se calentó a 80 °C durante 10 segundos. De estos 6 L de gel estabilizado, 3 L se utilizaron para el tratamiento de las frutas con *Aloe vera* y a los otros 3 L se les añadió timol a una concentración de 1 ml L⁻¹. El timol (99,5% de pureza) se adquirió de Sigma (Sigma-Aldrich, Madrid).

Tratamientos e inoculación de los hongos

Las nectarinas fueron tratadas por inmersión en la solución del gel correspondiente durante 10 minutos (**Fotografía 42**). Transcurrido este tiempo se sacaron y se dejaron secar a temperatura ambiente. Pasadas 24 horas, a cada fruto se le inoculó (en la herida realizada con anterioridad) 20 µL de los hongos en stock (≈50 esporas) a 2 mm de profundidad. Todas las frutas, ya fueran control o tratadas e inoculadas o no, se mantuvieron en condiciones controladas en una cámara a 25 °C y una humedad relativa de 85% durante 6 días. Pasado este tiempo se procedió a realizar las determinaciones analíticas: evaluación del

grado de infección, tasa de respiración, producción de etileno, firmeza y pérdida de peso.



Fotografía 42: Nectarinas sumergidas en una solución de gel de *A. vera*. **Fuente:** S. Castillo.

Análisis estadístico

Los datos de las determinaciones analíticas se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA). Las fuentes de variación fueron cada uno de los distintos tratamientos, el tipo de hongo y el almacenamiento. Todos los análisis se realizaron con el programa estadístico SPSS, paquete de software versión 11.0 para Windows (SPSS, 2001). Los modelos estadísticos se realizaron usando procedimientos de regresión lineal y no lineal (SigmaPlot 11.0, para Windows 2004). El ajuste de la ecuación se evaluó mediante la determinación de coeficiente r^2 .

4.1.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.3.1. Experimento *in-vitro*

La inhibición del crecimiento de los dos hongos en las placas en función de las distintas concentraciones del gel de aloe añadido al PDA se muestra en la

Figura 3. El crecimiento del micelio en las placas control fue mayor para *B. cinerea* que para *P. digitatum*, llegando a alcanzar, después de 96 horas de incubación, áreas de aproximadamente 6.000 y 1.200 mm², respectivamente. En ambos casos, cuanto mayor fue la concentración de gel de *A. vera* menor fue la superficie de micelio. Sin embargo, este efecto inhibitorio fue mayor para *P. digitatum* que para *B. cinerea* en cualquiera de las concentraciones de aloe. Así, por ejemplo, después de 72 horas de incubación, con la dosis de 1 mL L⁻¹ se produjo una inhibición del 12% para *P. digitatum* (**Figura 3a**), en comparación con el 2,5% obtenido para *B. cinerea* (**Figura 3b**), mientras que utilizando la concentración más alta (100 mL L⁻¹) los porcentajes de inhibición fueron de 99 y 87% (**Fotografía 43**), respectivamente. De estos resultados se deduce que el efecto inhibitorio del gel de aloe sobre el crecimiento de hongos depende de la especie de los mismos. En otros trabajos se ha encontrado que los extractos de aloe son más eficaces contra *Fusarium moniliforme* que contra *Aspergillus niger* o *Cladosporium herbarum* (Ali *et al.*, 1999), mientras que Saks y Barkai-Golán (1995) encontraron un efecto inhibitorio similar para *P. digitatum*, *Alternaria alternata* y *B. cinerea* que fue significativamente más elevado que el obtenido para *P. expansum*. Además, se han descrito diferentes efectos inhibitorios contra especies del mismo hongo. Por ejemplo, Saks y Barkai-Golán (1995) lograron ≈90% de inhibición del diámetro de colonia de *B. cinerea*, con una concentración de gel de *Aloe vera* de 10 mL L⁻¹, mientras que en nuestro experimento se obtuvo una reducción similar con 100 mL de L⁻¹ (10 veces mayor). Estas diferencias sugieren que las condiciones ambientales y agronómicas de crecimiento de la planta de *Aloe vera*, así como los procedimientos para obtener los geles, serían factores importantes para determinar su eficacia antifúngica.

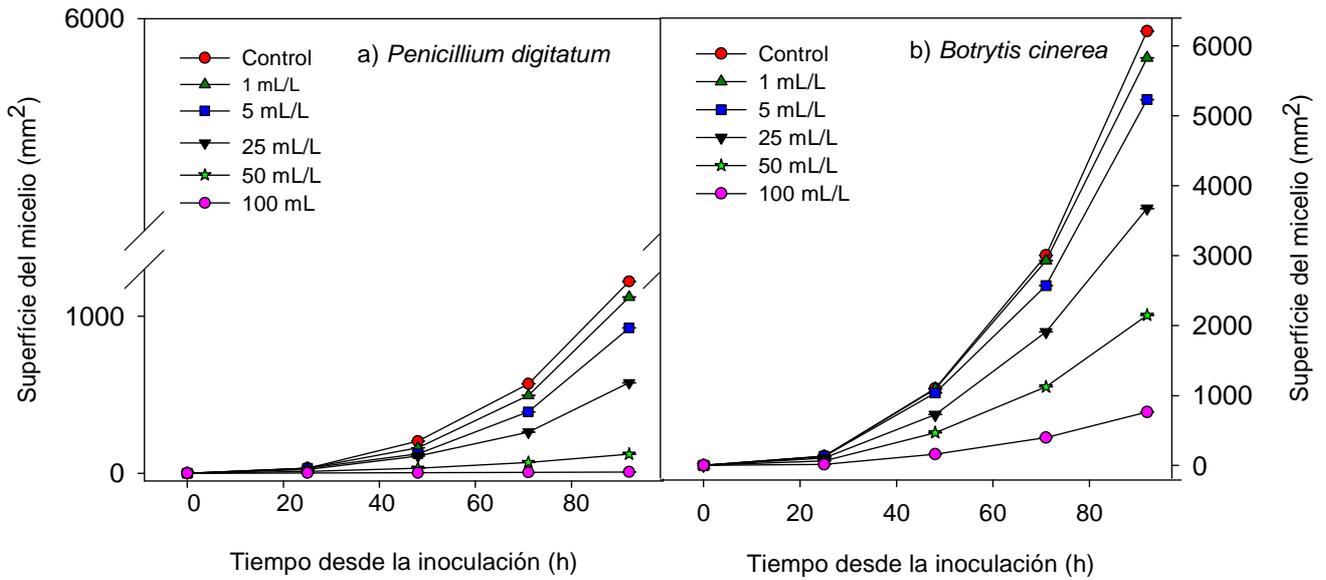
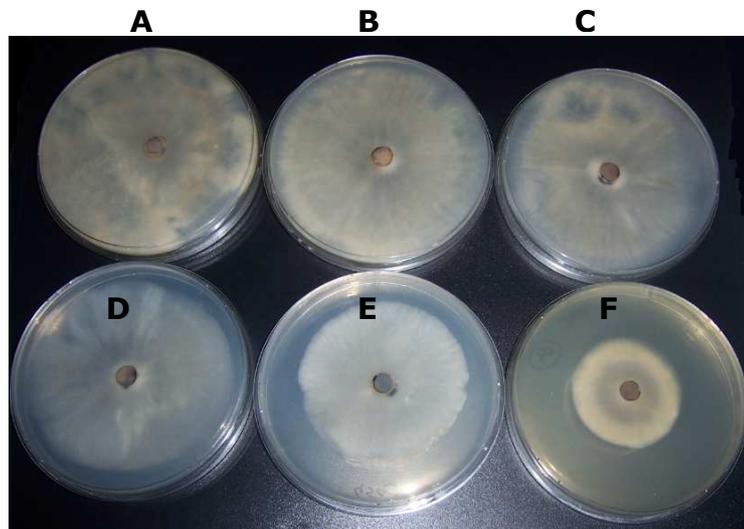


Figura 3. Evolución de la superficie del micelio de discos de *P. digitatum* (a) y *B. cinerea* (b) en PDA incubadas con diferentes concentraciones de gel de *Aloe vera* a lo largo del tiempo de incubación a 23 °C. Los datos son la media \pm ES.



Fotografía 43. Efecto de inhibición del crecimiento de *B. cinerea* con distintas concentraciones de *A. vera* añadidas al PDA (A: control; B: 1 mL L⁻¹; C: 5 mL L⁻¹; D: 25 mL L⁻¹; E: 50 mL L⁻¹; F: 100 mL L⁻¹) después de 72 horas de incubación a 23 °C. **Fuente:** S. Castillo.

La tasa de crecimiento (mm h^{-1}) de ambos hongos se mantuvo constante en el tiempo (de 24 a 96 horas) en todos los casos, aunque fue dependiente de la concentración de aloe, incluido el control, y las especies de hongos (**Figura 4**). Además, para lograr una reducción de 1-log en la tasa de crecimiento de *P. digitatum* fue necesario una concentración de 64 mL L^{-1} , mientras que para obtener el mismo efecto en el caso de *B. cinerea* fue necesario emplear una concentración superior a $180 \mu\text{L/L}$, como puede calcularse a partir de la **figura 4** sobre la tasa de crecimiento de hongos. Por otra parte, para reducir 1-log la superficie del micelio fueron necesarios 29 mL L^{-1} para *P. digitatum* y 2,5 veces más para *B. cinerea* tomando los datos del tamaño de los discos a las 72 horas, ya que después de 96 horas el crecimiento de *B. cinerea* ocupó casi toda la placa (**Figura 5**).

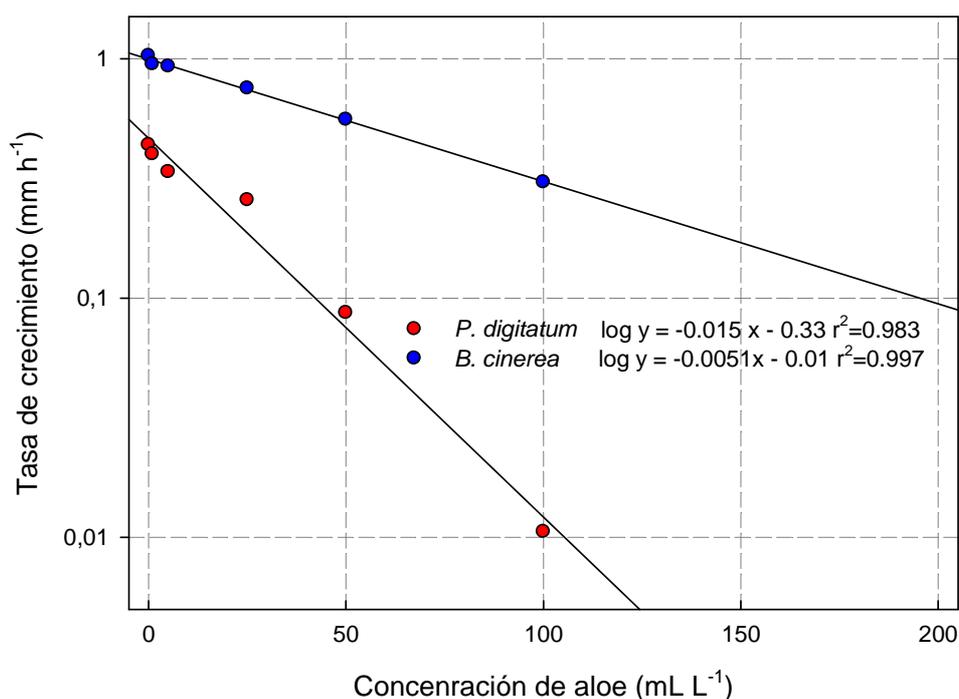


Figura 4. Efecto de diferentes concentraciones de gel de *Aloe vera* en la tasa de crecimiento del diámetro del micelio de *Penicillium digitatum* y *Botrytis cinerea*. Se muestra la media del incremento del diámetro entre dos días consecutivos a lo largo del experimento.

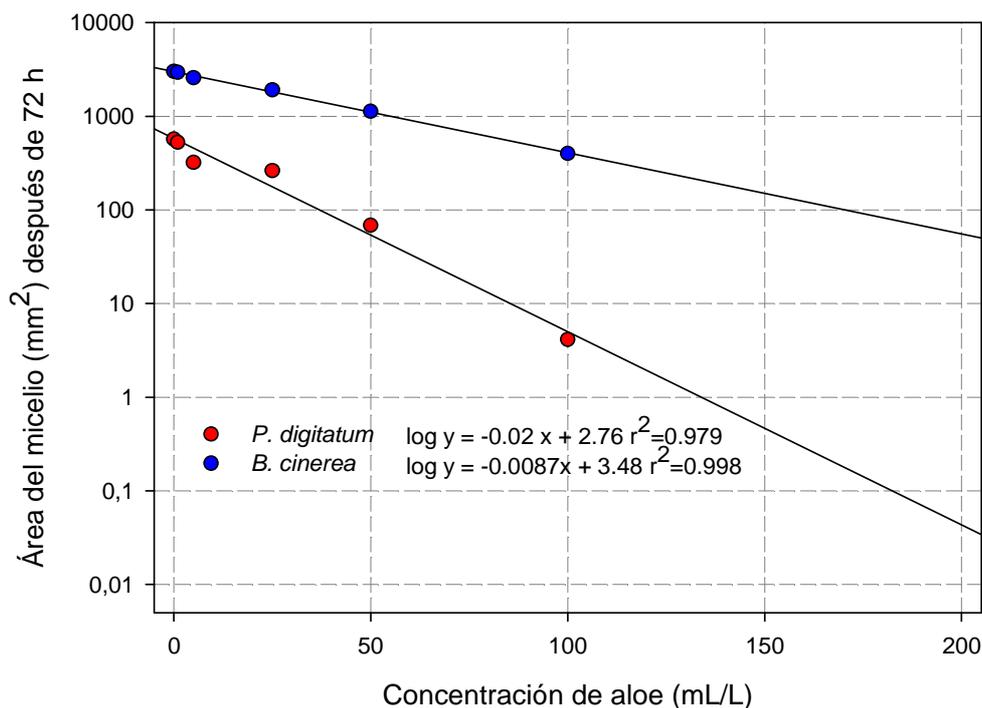


Figura 5. Efecto de diferentes concentraciones de gel de *Aloe vera* en la superficie del micelio de *Penicillium digitatum* y *Botrytis cinerea*. Se muestran los datos después de 72 horas de incubación.

Los resultados de este experimento muestran que el gel de *A. vera* comercializado por AVISA, podría usarse como un tratamiento para inhibir el crecimiento de estos hongos, aunque la concentración necesaria sería 3 veces superior para inhibir *B. cinerea* que para inhibir *P. digitatum*. Los principios activos responsables de la actividad antifúngica del *A. vera* no se conocen con exactitud, aunque se ha puesto de manifiesto que algunas moléculas presentes en varias especies de *Aloe sp*, como aloe-emodina y aloina, tienen actividad antifúngica frente a *Aspergillus sp*, *Fusarium sp* y *Cladosporium sp* (Ali *et al.*, 1999). El compuesto aloe-emodina también se ha aislado de extractos de semillas de *Cassia tora*. y se ha descrito como antifúngico frente a una amplia gama de hongos incluyendo *B. cinerea* (Kim *et al.*, 2004). Por lo tanto, teniendo en cuenta los resultados obtenidos, los anteriores compuestos, junto con otros no identificados, podrían ser antifúngicos para los dos hongos estudiados.

4.1.3.2. Experimento *in-vivo*

Evaluación del grado de infección de las nectarinas

Pasados 6 días desde la inoculación de los hongos y la incubación a 25 °C, el volumen infección en las nectarinas era claramente diferente dependiendo de la especie de hongo y del tratamiento aplicado (**Figura 6**). *R. stolonifer* mostró el mayor volumen de infección en los 3 tipos de tratamiento (control, *A.vera* y *A.vera* + timol), seguido por *B. cinerea* y *P. digitatum*, para los cuales este valor fue de aproximadamente 6 veces menor que para *R. stolonifer*. Sin embargo, las nectarinas a las que se aplicaron los tratamientos con gel de aloe (con o sin la adición de timol) presentaron una infección significativamente menor (aproximadamente 2-3 veces) que las no tratadas. También se observó que la adición de timol no redujo significativamente el volumen de la infección causada por estos hongos, comparado con el efecto del gel de *A. vera* solo.

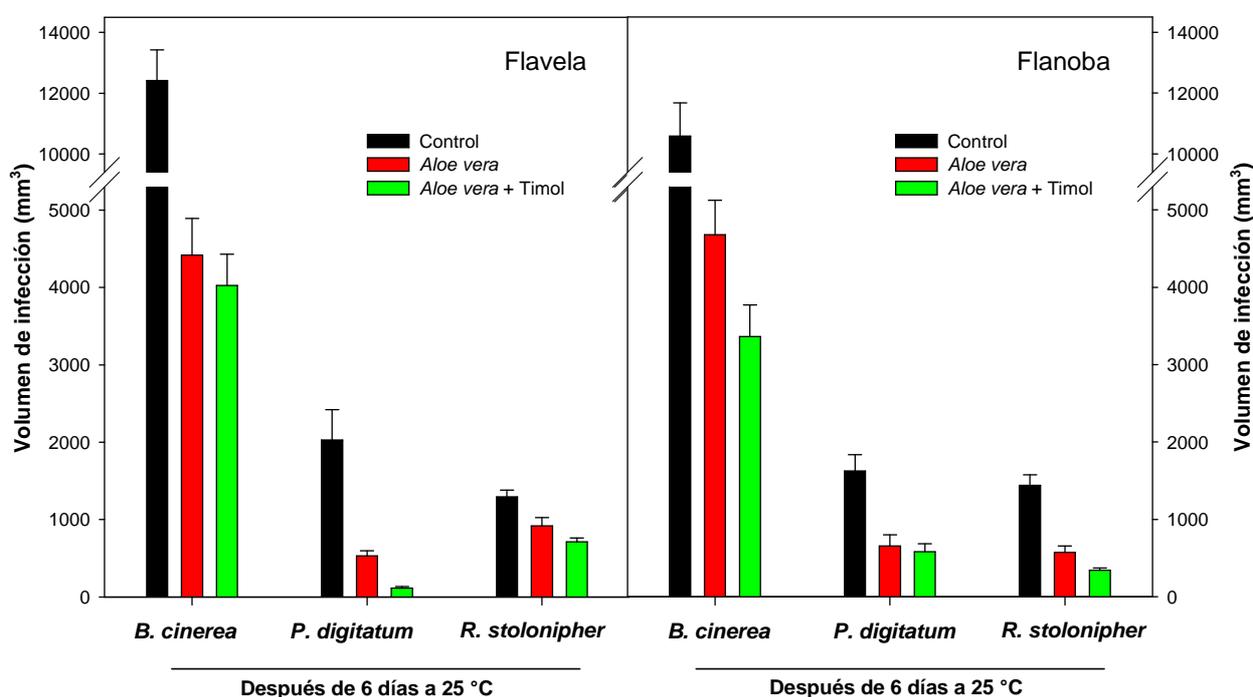


Figura 6. Efecto del gel de *A. vera* y *A. vera* más timol sobre el volumen de infección causado por *R. stolonifer*, *B. cinerea* y *P. digitatum* en las dos variedades de nectarinas. Los datos son la media \pm ES.

En el experimento *in-vitro* se ha visto que el gel de *Aloe vera* comercial redujo el crecimiento del micelio de *Botrytis cinerea* y *Penicillium digitatum* en placas con PDA, obteniendo una mayor eficacia para este último. En este experimento *in-vivo* se ha demostrado que el gel de *Aloe vera* obtenido por nosotros de la plantación de la UMH (solo o con la adición de timol) fue eficaz en la reducción de las podredumbres en las dos variedades de nectarina inoculadas con *Rhizopus stolonipher*, *Botrytis cinerea* y *Penicillium digitatum*. Aunque la velocidad de crecimiento de los hongos fue diferente para cada uno de ellos, los efectos de ambos tratamientos fueron similares en términos de reducción de la incidencia de las podredumbres (entre 50-70%, dependiendo de la variedad de nectarina y el tipo de hongo). En trabajos previos se ha comprobado que el gel de *Aloe vera* fue eficaz en la reducción de la contaminación fúngica (menor recuento de aeróbios mesófilos y mohos y levaduras) y en la reducción de la aparición de podredumbres cuando fue aplicado en post-cosecha sobre uva de mesa (Valverde *et al.*, 2005b) y cerezas (Martínez-Romero *et al.*, 2006). Recientemente, Nidiry *et al.* (2011) han indicado que las antraquinonas predominantes (aloína y aloemodina) podrían ser importantes compuestos antifúngicos.

Tasa de respiración y producción de etileno

El día de la recolección la producción de etileno era de $1,36 \pm 0,33$ y $0,37 \pm 0,11$ nL g⁻¹ h⁻¹ para las variedades "Flavela" y "Flanoba" respectivamente. Después de 6 días de incubación, la producción de etileno aumentó en todas las nectarinas, aunque los frutos tratados con gel de *Aloe vera* sin o con timol tuvieron una producción de etileno significativamente menor que las nectarinas control (**Figura 7**). Además, la tasa de producción de etileno fue diferente según la variedad, alcanzando los frutos control de la variedad "Flavela" valores próximos a los 5 nL g⁻¹ h⁻¹, mientras que en la variedad "Flanoba" fueron de ≈ 10 nL g⁻¹ h⁻¹. La inoculación en los frutos de los 3 tipos de hongos aumentó significativamente la producción de etileno en ambas variedades, presentando las nectarinas no tratadas e inoculadas con *B. cinerea* las tasas más altas de producción de etileno, seguido de las inoculadas con *P. digitatum* y *R. stolonipher*. Por otra parte, la producción de etileno fue significativamente menor en los frutos tratados con aloe, no existiendo diferencias significativas entre los tratamientos

con gel solo o con gel más timol. Las regresiones lineales entre el volumen de la infección y la producción de etileno, revelaron una alta correlación ($r^2= 0.93-0.99$) entre ambos parámetros, en las dos variedades de nectarina y con las 3 especies de hongos inoculadas, aunque la pendiente de la recta de regresión fue significativamente mayor para *R. stolonipher* que para *B. cinerea* y *P. digitatum* (**Figura 8**).

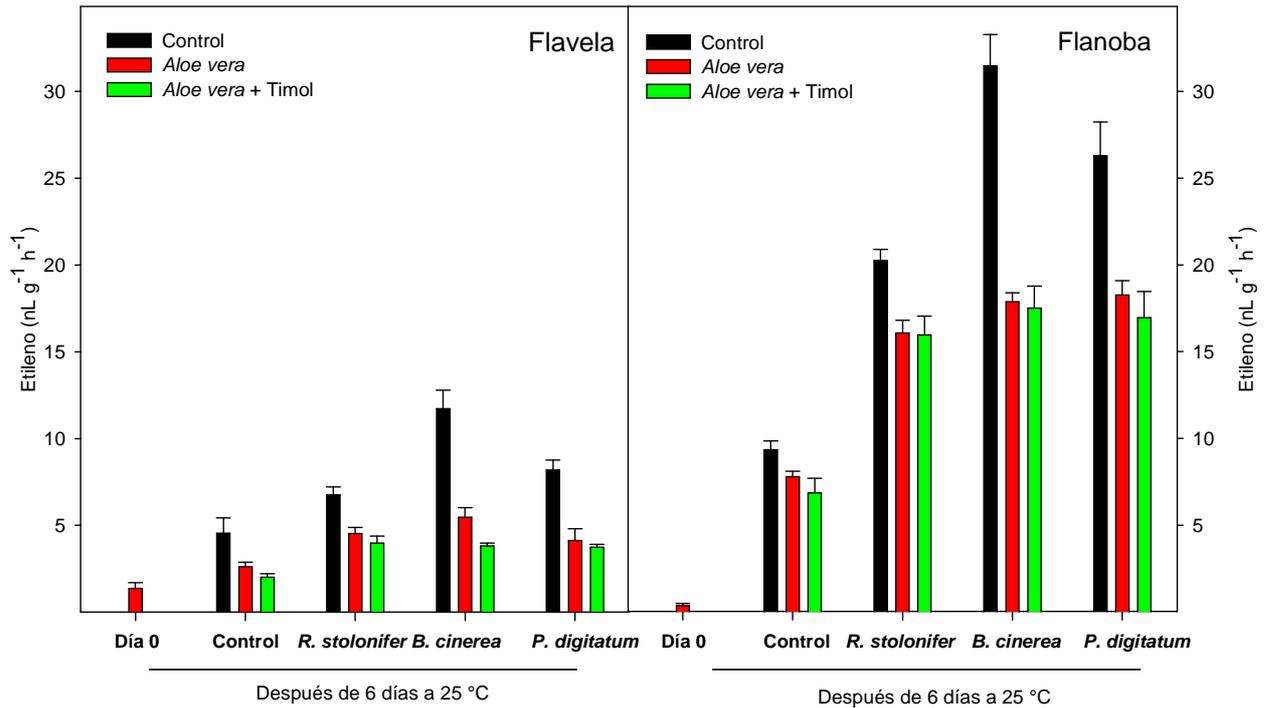


Figura 7. Influencia de los tratamientos con gel de *A. vera* y *A. vera* más timol sobre la producción de etileno en nectarinas inoculadas con *R. stolonipher*, *B. cinerea* y *P. digitatum*. Los datos son la media \pm ES.

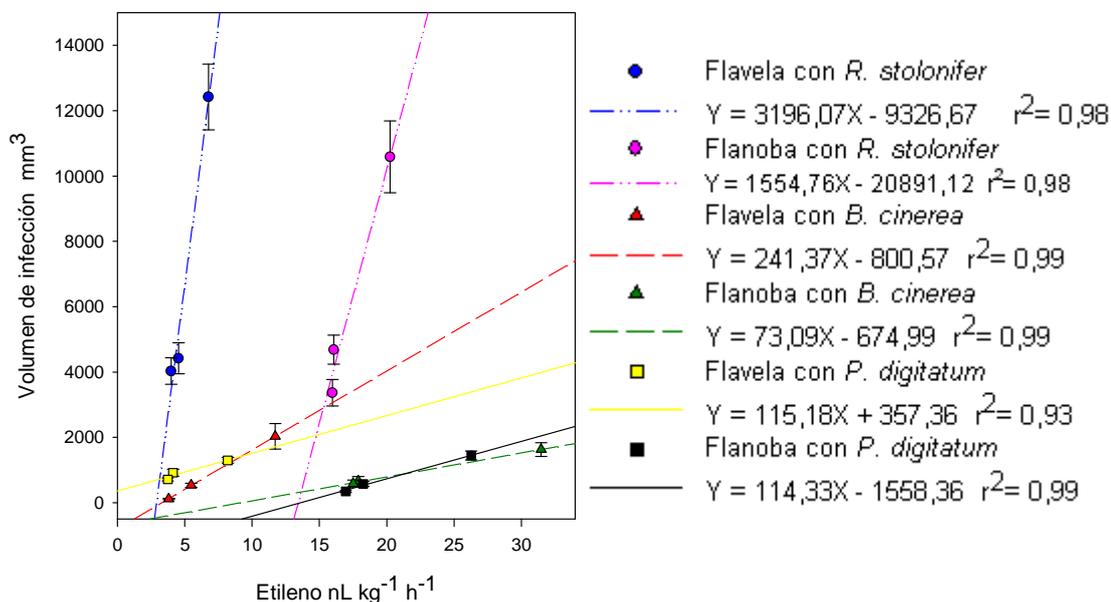


Figura 8. Correlación entre el volumen de infección y la producción de etileno para cada variedad de nectarina, inoculada con los hongos *R. stolonifer* (---), *B. cinerea* (- -) y *P. digitatum* (—).

La tasa de respiración, el día de la recolección fue de aproximadamente 37 $\text{mg kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ para las nectarinas "Flavela" y de 24 $\text{mg kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ para las "Flanoba". Después de 6 días de incubación, la tasa de respiración aumentó en todas las nectarinas. Al igual que sucedió con la producción de etileno, los frutos tratados con *Aloe vera* o *Aloe vera* + timol tuvieron una tasa de respiración significativamente menor que las nectarinas control (**Figura 9**), aunque sin diferencias atribuibles a la incorporación o no de timol. De los 3 tipos de hongos, *R. stolonifer* fue el que indujo un mayor aumento de la tasa de respiración tanto en las nectarinas "Flavela" (112 $\text{mg kg}^{-1} \text{h}^{-1}$) como en las "Flanoba" (127 $\text{mg kg}^{-1} \text{h}^{-1}$), seguido por *B. cinerea* y *P. digitatum* (**Figura 9**). Se encontró una correlación exponencial entre el volumen de la infección y la tasa de respiración para cada variedad (**Figura 10**), a pesar de que las nectarinas "Flanoba" mostraron una mayor tasa de respiración debido a las lesiones fúngicas que las nectarinas "Flavela". Por otra parte, para cada especie de hongo, existió una regresión lineal entre el volumen de la infección y la tasa de respiración (**Figura 11**), con altos coeficientes de correlación ($r^2 = 0,99$) pero las pendientes fueron

significativamente más altas (3-6 veces) para *B. cinerea* y *R. stolonifer* que para *P. digitatum* (**Figura 11**).

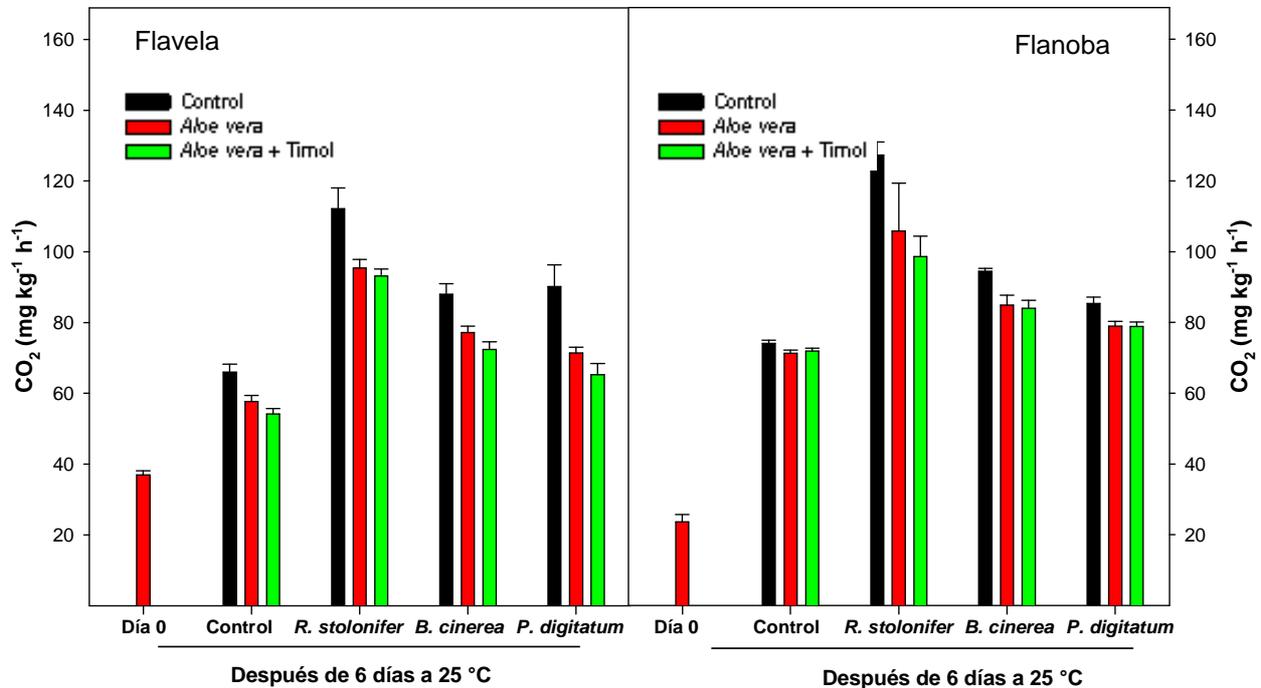


Figura 9. Influencia de los tratamientos con gel de *A. vera* y *A. vera* más timol sobre la tasa de respiración en nectarinas inoculadas con *R. stolonipher*, *B. cinerea* y *P. digitatum*. Los datos son la media \pm ES.

Se sabe que en los frutos climatéricos, como las nectarinas, la producción de etileno y la tasa de respiración son parámetros fisiológicos relacionados con la maduración y atributos de calidad (Serrano *et al.*, 2004). Los frutos no tratados, después de 6 días a 25 °C, su producción de etileno y la tasa de respiración aumentaron y la aplicación de gel de *Aloe vera* (sólo o con el adición de timol) redujo los valores de ambos parámetros. Así pues, ambas variedades se recolectaron en estado preclimatérico y continuaron su maduración después de la recolección, aunque el tratamiento con gel de *A. vera* tuvo un efecto ralentizador de este proceso. Así mismo, en trabajos anteriores se ha encontrado que la tasa de respiración se redujo en frutos no climatéricos como uva de mesa y cerezas al aplicarles gel de *A. vera* (Valverde *et al.*, 2005b; Martínez-Romero *et al.*, 2006). En nectarinas "Arctic Snow", Ahmed *et al.* (2009) también observaron que los tratamientos con gel de *A. vera* disminuyeron la producción de etileno y la tasa de respiración durante su conservación a 20 °C. La reducción en la tasa de

respiración de las variedades "Flavela" y "Flanoba" podría atribuirse al hecho de que el recubrimiento podría aumentar la resistencia de la piel del fruto a la difusión de los gases, lo que conduciría a la creación de una atmósfera interna modificada con elevada concentración de CO₂ y baja concentración de O₂ y efectos similares a los que se producen con el envasado en atmósferas modificadas, reduciéndose la producción de etileno y la tasa de respiración debido a los efectos de alta y baja concentración de CO₂ y O₂, respectivamente (Valero y Serrano, 2010).

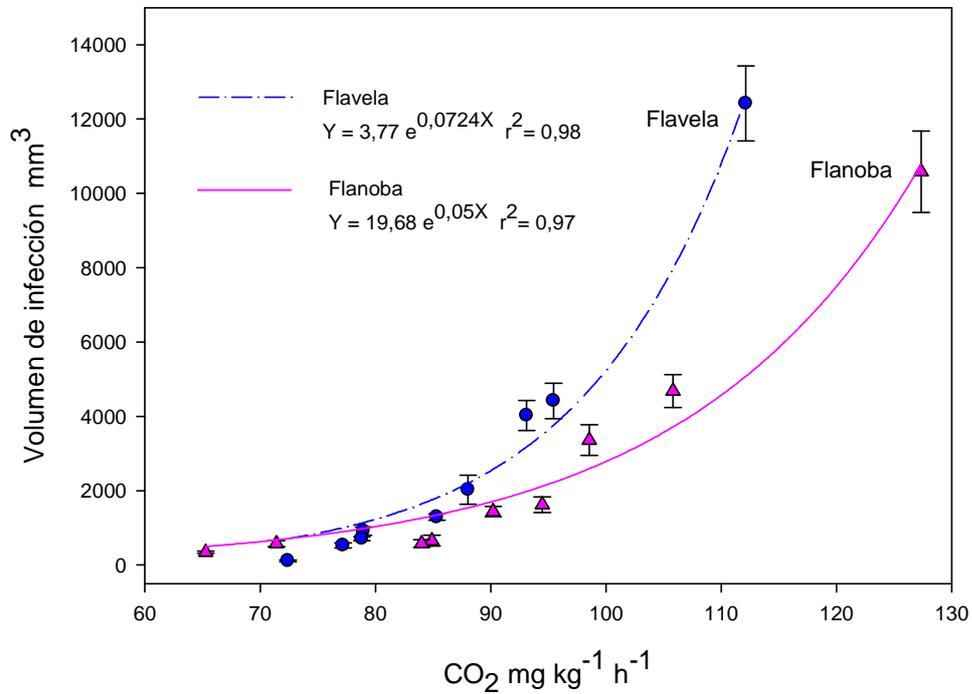


Figura 10. Correlación entre el volumen de daño interno y la tasa de respiración para cada variedad de nectarina, teniendo en cuenta todos los datos de las nectarinas control y de las tratadas infectadas con los diferentes hongos.

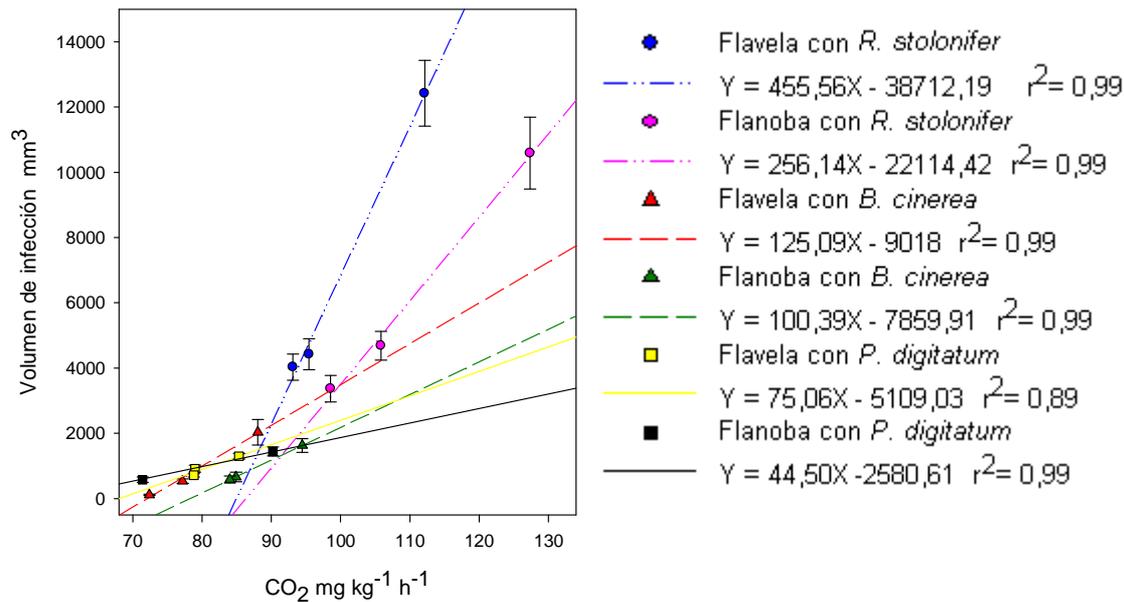


Figura 11. Correlación entre el volumen de daño interno y la tasa de respiración para cada variedad de nectarina y los hongos *R. stolonifer* (---), *B. cinerea* (- -) y *P. digitatum* (—).

Las nectarinas a las que se les inocularon los 3 tipos de hongos presentaron una producción de etileno y una tasa de respiración mayor que las nectarinas control (sin hongos), especialmente la variedad "Flanoba". Esto puede atribuirse al hecho de que los hongos indujeron una estimulación de la biosíntesis de etileno y la tasa de respiración. Del mismo modo, la producción de etileno y la tasa de respiración también aumentó en uva de mesa inoculada con *B. cinerea* (Martínez-Romero *et al.*, 2007), como consecuencia del crecimiento del hongo. Se ha visto que para cada hongo existe una relación lineal positiva entre el volumen de daño interno y la producción de etileno o la tasa de respiración. Por otra parte, teniendo en cuenta todos los datos del volumen de daño, se obtuvo una relación entre el volumen de infección y la tasa de respiración para ambas variedades de nectarina.

Firmeza y pérdida de peso

La pérdida de peso se incrementó durante los 6 días del experimento, a pesar que las nectarinas "Flavela" mostraron una menor pérdida de peso que las

nectarinas "Flanoba", con unas pérdidas finales de $6,84 \pm 0,12$ y $10,70 \pm 0,36\%$, respectivamente (**Figura 12**). Ambos tratamientos (*Aloe* y *Aloe* + timol) fueron eficaces para disminuir las pérdidas de peso de las frutas, no existiendo diferencias significativas debidas a la inoculación o al tipo de hongo inoculado. En general, las frutas tratadas con *Aloe vera* mostraron un 2% menos de pérdidas que las nectarinas control, mientras que la adición de timol al gel de aloe no tuvo efecto significativo en la variedad "Flanoba" pero sí en la "Flavela", en la cual las pérdidas de peso fueron significativamente menores que en las tratadas solo con gel de aloe, independientemente de la inoculación de hongos o no.

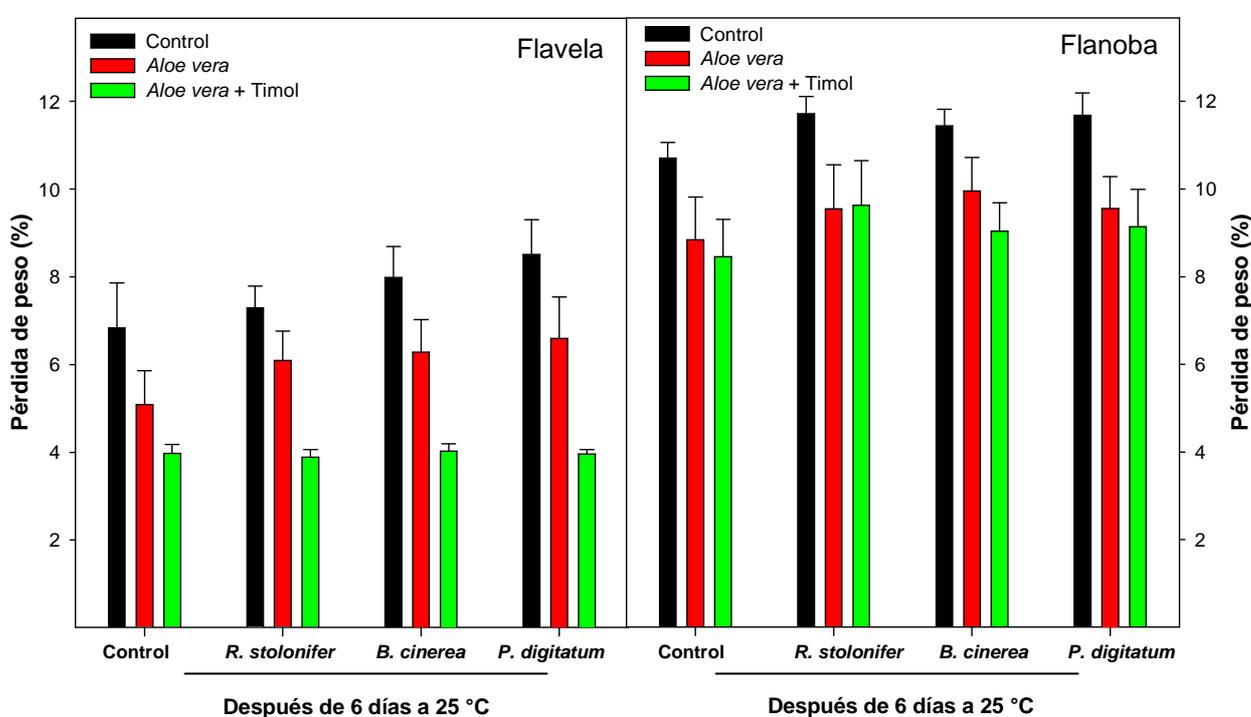


Figura 12. Efecto del gel de *A. vera* y del gel de *A. vera* más timol sobre la pérdida de peso en nectarinas inoculadas con *R. stolonipher*, *B. cinerea* y *P. digitatum*. Los datos son la media \pm ES.

La firmeza del fruto, en el momento de la recolección fue de $14,74 \pm 0,29$ y $15,37 \pm 1,01 \text{ N mm}^{-1}$, para nectarinas "Flavela" y "Flanoba", respectivamente, y en ambas variedades disminuyó drásticamente durante los 6 días de conservación a 25 °C, con unos porcentajes de pérdidas de firmeza alrededor de 80% en los frutos no tratados y no inoculados (**Figura 13**). La aplicación de ambos tratamientos con aloe condujo a efectos positivos sobre la reducción del proceso

de ablandamiento, ya que al final del experimento las nectarinas tratadas con *A. vera* e inoculadas con las tres especies de hongos tenían un 10% más de firmeza que las controles. De nuevo, el proceso de inoculación o la adición de timol no afectaron significativamente a la retención de la firmeza.

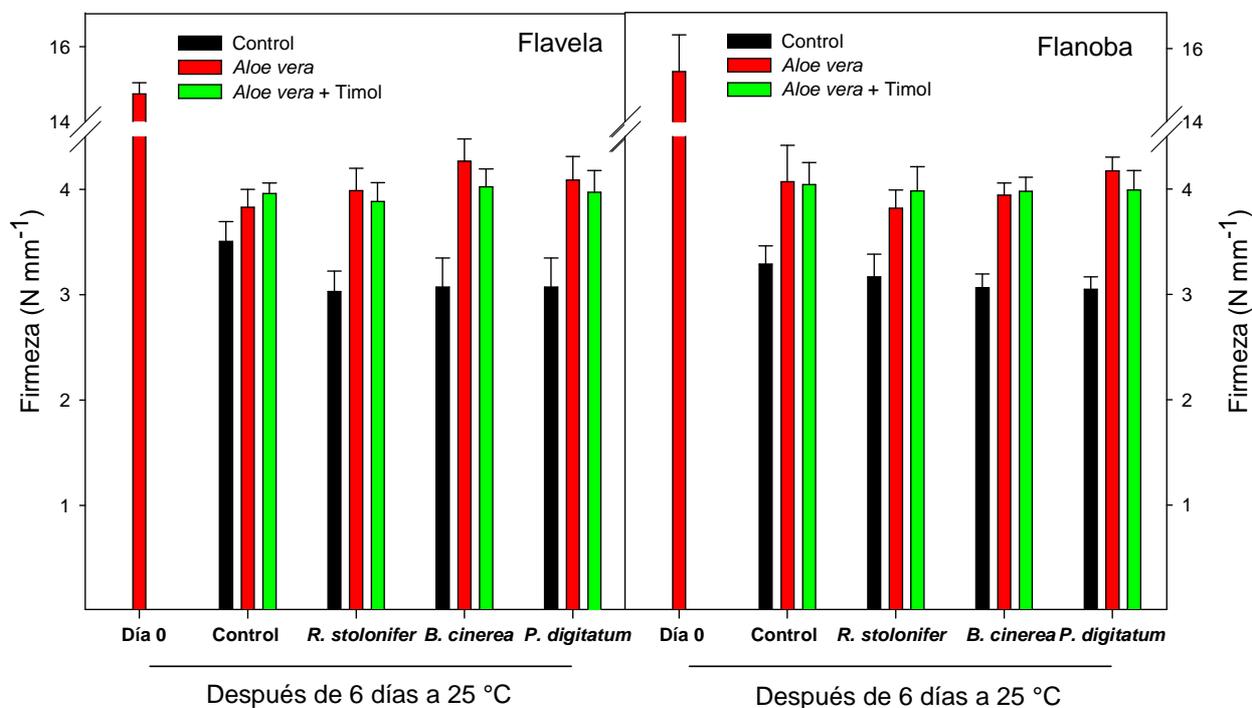


Figura 13. Efecto del gel de *A. vera* y del gel de *A. vera* más timol sobre la firmeza en nectarinas inoculadas con *R. stolonipher*, *B. cinerea* y *P. digitatum*. Los datos son la media \pm ES.

El almacenamiento post-cosecha de la fruta va acompañado de pérdida de calidad, la cual se manifiesta por la pérdida de peso y la reducción de la firmeza, entre otros parámetros. A los 6 días de almacenamiento a 25 °C, las nectarinas control, a las que no se les había inoculado ninguna especie de hongo, mostraron mayores pérdidas de peso que las que habían sido tratadas con el gel de aloe, con o sin la adición de timol. Por tanto, el tratamiento con el gel de *Aloe vera*, redujo significativamente la pérdida de peso, incluso en los frutos inoculados artificialmente. Por otro lado, las nectarinas a las que se les aplicó el tratamiento con gel de aloe mantuvieron mayores valores de firmeza a lo largo del almacenamiento, que las no tratadas, independientemente de que estuvieran inoculadas, o no, con hongos. El tratamiento con *Aloe vera* también fue eficaz en la reducción de los procesos de transpiración y ablandamiento en cerezas

durante el almacenamiento, lo que se manifestó con la disminución de la pérdida de peso y la conservación de la firmeza (Martínez-Romero *et al.*, 2006; Valverde *et al.*, 2005b). Se han propuesto diferentes mecanismos para explicar el efecto de los recubrimientos en la menor pérdida de peso y el mantenimiento de la firmeza de los frutos, incluido la reducción de la difusión del gas a través de la piel del fruto (Banks *et al.*, 1993) y el retraso de su metabolismo mediante la reducción de la tasa de respiración y emisión de etileno (Valero y Serrano, 2010). Los cambios en la textura de los frutos son debidos a cambios en la composición de la lámina media y en los componentes de la pared celular primaria que conducen a la degradación de sus polisacáridos constituyentes por enzimas capaces de alterar la textura de la pared celular, tales como pectinmetilesterasa, endo y exopoligalacturonasa, celulosa y β -galactosidasa. En este sentido, el efecto del recubrimiento con gel de *Aloe vera* en la reducción de la actividad de estas enzimas aún no se ha puesto de manifiesto, por lo que son necesarios nuevos estudios para confirmar esta hipótesis.

4.1.4. CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos en el experimento *in-vitro* se ha demostrado que el gel de *A. vera* comercializado por AVISA, podría usarse como un tratamiento para inhibir el crecimiento de dos de los hongos más importantes en post-cosecha (*B. cinerea* y *P. digitatum*), aunque la concentración necesaria sería 3 veces superior para inhibir *B. cinerea* que para inhibir *P. digitatum*.

Por otra parte, en el experimento *in-vivo* se ha demostrado que el gel de *Aloe vera* podría ser considerado como una buena herramienta para disminuir los problemas de podredumbres causados por *Rhizopus stolonipher*, *Botrytis cinerea* y *Penicillium digitatum* en nectarina. Además, los recubrimientos fueron eficaces en la reducción del proceso de maduración ya que se produjo una disminución significativa en la tasa de respiración, la producción de etileno, pérdida de peso y ablandamiento. En el futuro, la investigación debe centrarse en la determinación de los compuestos específicos responsables de la actividad antifúngica del gel de *Aloe vera* y en su mecanismo de acción sobre los cambios implicados en el proceso de maduración post-recolección de los frutos.

4.2. EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS DE FRUTOS DE HUESO, EN PRE-RECOLECCIÓN, CON GEL DE *Aloe vera* SOBRE LA CARGA MICROBIANA Y LA CALIDAD DE LOS FRUTOS EN EL MOMENTO DE LA RECOLECCIÓN

4.2.1. INTRODUCCIÓN

En el capítulo 1 se ha demostrado que el gel de *Aloe vera* inhibe el crecimiento de los hongos *P. digitatum* y *B. cinerea* en placas PDA. Además, el gel de *Aloe vera* aplicado sobre nectarinas justo después de la recolección, fue eficaz inhibiendo el desarrollo de los hongos más comunes responsables de la pudrición de la fruta en post-recolección. Por otra parte, el recubrimiento de las nectarinas con gel de *A. vera* también dio lugar a un retraso en el proceso de maduración.

En la actualidad, debido a las actuales restricciones comunitarias en el uso de fungicidas de síntesis, es necesario disponer de herramientas eficaces y saludables que nos aseguren el control de hongos de tipo filamentoso. Los productores en los días previos a la recolección, cuando ya se está dentro del cumplimiento de plazos de seguridad de todas las materias activas vigentes y probablemente se estén dando las condiciones climatológicas más favorables, necesitan de alternativas para reducir el número de inóculos e infecciones producidas por estos microorganismos. Disponer de este mecanismo de control directamente en el campo supone, además, tener un mayor éxito en el aseguramiento de la calidad post-recolección de la fruta tratada.

En vista de los resultados obtenidos anteriormente, se decidió estudiar el efecto del gel de *A. vera* sobre otras especies de frutas de hueso, pero esta vez aplicando el gel antes de la recolección, como tratamiento pre-cosecha. Así pues, el objetivo de este capítulo fue estudiar el efecto de los geles de *A. vera* sobre la carga microbiana presente en diferentes frutos de hueso en el momento de la recolección, así como su efecto en diferentes parámetros relacionados con la calidad del fruto. Los frutos estudiados fueron cerezas, nectarinas y melocotones.

4.2.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

En este experimento se trataron con gel de *Aloe vera* árboles de dos variedades de cereza ("Prime Giant" y "Skeena"), de una variedad de nectarina ("Garofa") y de otra de melocotón ("Reach Lady"). Los geles utilizados fueron de dos tipos. Por un lado se usó el mismo gel comercial que se empleó en el capítulo 1, adquirido en AVISA (Aloe Vera Internacional Sociedad Anónima, Fuerteventura, Islas Canarias, España) que denominábamos gel AVISA y por otro, gel de *Aloe vera* obtenido en nuestro laboratorio a partir de plantas de la parcela ecológica de la Universidad Miguel Hernández en la Escuela Politécnica Superior de Orihuela, Alicante, España que denominábamos gel UMH. El proceso de obtención del gel se realizó tal como se explica indica en Materiales y Métodos.

Las cerezas "Skeena" y "Prime Giant" fueron suministradas por la empresa "Los Frutales", y se encontraban en una finca comercial localizada en el término municipal de Villena, Alicante, España (**Fotografía 23 a y b**). Por otro lado, las nectarinas "Garofa" y los melocotones "Reach Lady" nos fueron suministrados por la empresa "Frutas Esther", aunque cada variedad de fruta estaba en una finca diferente. Las nectarinas estaban localizadas en una finca del término municipal de Campotejar, Murcia, España (**Fotografía 22 a y b**), mientras que los melocotones se encontraban en una finca del término municipal de Ajunzalejo, Jumilla, Murcia, España (**Fotografía 23 a y 24**). Para cada especie y variedad se seleccionó una parcela con 50 árboles. Las parcelas se dividieron en 5 secciones diferenciadas para cada variedad de fruta, con 10 árboles cada una. Una de las secciones se utilizó como control (fruta no tratada). A dos secciones se le aplicó un tratamiento con gel AVISA 1 día antes de la recolección (AVISA T1) o dos tratamientos 1 y 7 días antes de la recolección (AVISA T2). Las dos parcelas restantes se trataron 1 día o 1 y 7 días antes de la recolección con gel UMH, tratamientos UMH T1 y UMH T2, respectivamente.

Los frutos se recolectaron en estado de maduración comercial y se transportaron inmediatamente al laboratorio de Post-recolección, tomando las medidas necesarias para evitar posibles daños en el material vegetal. Una vez en el laboratorio, para cada variedad de fruta se seleccionaron 3 lotes homogéneos

en tamaño y color, de 20 frutos en el caso de las cerezas (**Fotografía 44**) y de 10 frutos en el caso de melocotones y nectarinas. La firmeza y el color se determinaron individualmente en cada fruto y la tasa de respiración y la producción de etileno en cada uno de los lotes por duplicado. Seguidamente, la pulpa de los frutos de cada lote se cortó en pequeñas porciones para obtener una muestra homogénea en la cual se determinaron la carga microbiana, los SST, AT y el índice de madurez por duplicado. Los datos son la media \pm ES.



Fotografía 44. Lotes de cerezas antes de realizar las determinaciones analíticas. **Fuente:** S. Castillo.

Análisis estadístico

Los datos de las determinaciones analíticas se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA). Las fuentes de variación fueron las variedades de fruta y los tratamientos. Las comparaciones de medias se realizaron utilizando el test de Tukey para examinar si las diferencias fueron significativas a $P < 0,05$. Todos los análisis se realizaron con el programa estadístico SPSS, paquete de software versión 11.0 para Windows.

4.2.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Carga microbiana

Los tratamientos con gel de *Aloe vera* fueron eficaces en la reducción de la población microbiana con respecto a la encontrada en los frutos control, especialmente para los aerobios mesófilos, aunque la magnitud del efecto fue diferente dependiendo del tipo de fruto.

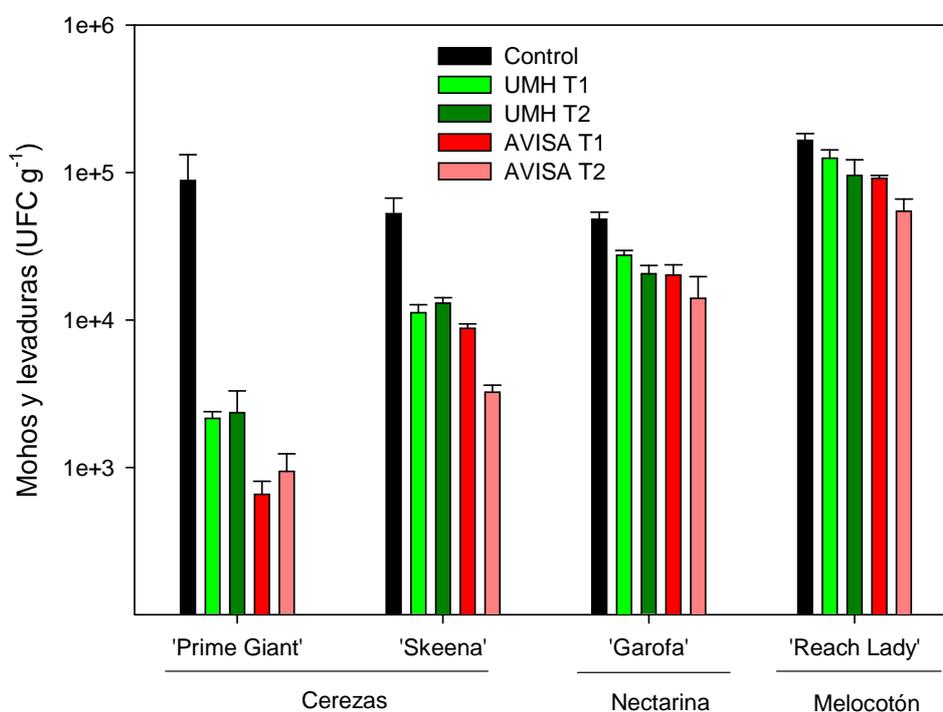


Figura 14. Recuento de mohos y levaduras en dos variedades de cereza (“Prime Giant” y “Skeena”), una variedad de nectarina (“Garofa”) y otra de melocotón (“Reach Lady”) el día de la recolección tras haber sido tratadas con gel de *A. vera* comercial (AVISA) o con gel de *A. vera* obtenido de las plantas de la parcela ecológica de la E.P.S.O. (UMH) 1 día antes de la recolección (T1) y 1 y 7 días antes de la recolección (T2). Los frutos control no fueron tratados. Los datos son la media \pm ES.

El efecto de los tratamientos fue más efectivo en las dos variedades de cereza que en melocotones y nectarinas. Así, en las cerezas control la carga de mohos y levaduras fue $\approx 10^5$ UFC, mientras que se redujo a valores inferiores a 10^4 UFC con todos los tratamientos en la variedad "Skeena" y a valores próximos a las 10^3 UFC en la variedad "Prime Giant" (**Figura 14**). Además, en ambas variedades de cereza el efecto del gel AVISA reduciendo el recuento de mohos y levaduras fue superior al del gel UMH, aunque las diferencias entre aplicarlo una o dos veces no fueron generales, ya que el tratamiento por duplicado sólo fue más eficaz que el sencillo en las cerezas "Skeena". Sin embargo, en los melocotones y nectarinas el efecto fue mucho menor y no se encontraron diferencias entre los dos tipos de gel ni entre el tratamiento por duplicado o sencillo.

Con respecto a los aerobios mesófilos, todos los tratamientos redujeron significativamente su población, tanto en las cerezas como en los melocotones y nectarinas (**Figura 15**). El efecto más acusado se obtuvo en la cereza "Prime Giant", con reducciones de casi 2 unidades logarítmicas, seguido del melocotón "Reach Lady", mientras que el menor efecto se encontró en la nectarina "Garofa", con reducciones inferiores a 1 unidad logarítmica. Sin embargo, en ninguno de los frutos se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos con los diferentes geles, tanto si se aplicaban una o dos veces.

Estos resultados confirman la actividad antifúngica del gel de *A. vera*, tal como se demostró en el primer capítulo, en el que se puso de manifiesto el poder antifúngico del gel de *A. vera*, sólo o con la adición de timol, sobre nectarinas infectadas con *Rhizopus stolonipher*, *Botrytis cinerea* y *Penicillium digitatum*.

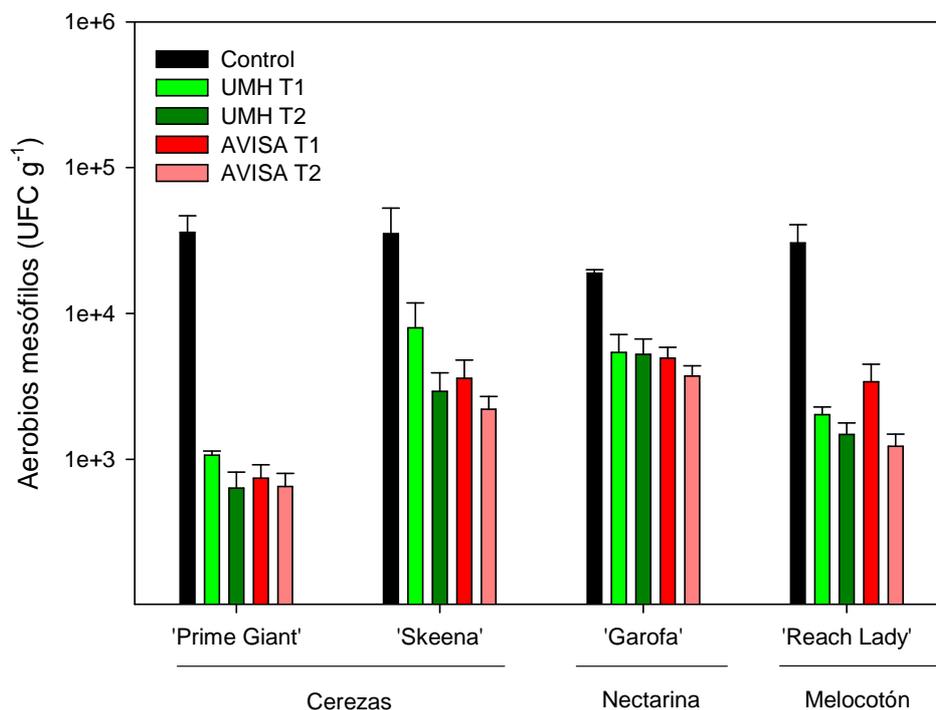


Figura 15. Recuento de aerobios mesófilos en dos variedades de cereza ("Prime Giant" y "Skeena"), una variedad de nectarina ("Garofa") y otra de melocotón ("Reach Lady") el día de la recolección tras haber sido tratadas con gel de *A. vera* comercial (AVISA) o con gel de *A. vera* obtenido de las plantas de la parcela ecológica de la E.P.S.O. (UMH) 1 día antes de la recolección (T1) y 1 y 7 días antes de la recolección (T2). Los frutos control no fueron tratados. Los datos son la media \pm ES.

Sólidos solubles totales, acidez titulable e índice de maduración

En cerezas, melocotones y nectarinas, el contenido de sólidos solubles, la acidez total y el color son los parámetros más importantes para establecer el momento óptimo de recolección comercial y están directamente relacionados con el grado de aceptación de los consumidores (Crisosto *et al.*, 2003a; Romero *et al.*, 2006; Kumar *et al.*, 2010).

Los valores de SST (**Figura 16**) en las cerezas control fueron $15,34 \pm 0,03$ y $17,91 \pm 0,04$ °Brix en "Prime Giant" y "Skeena", respectivamente, los cuales se pueden considerar como valores medios, de acuerdo con las publicaciones para otras variedades de cereza, que oscilan entre 11 y 25 °Brix (Esti *et al.*, 2002;

Usenik *et al.*, 2008; Díaz-Mula *et al.*, 2009). Los valores de SST en nectarinas y melocotones fueron $9,68 \pm 0,10$ y $11,25 \pm 0,26$ °Brix, respectivamente. Estos también se pueden considerar como valores medios comparados con las publicaciones en otras variedades (Serrano *et al.*, 2004; Kumar *et al.*, 2010; Cano-Salazar *et al.*, 2012). Sin embargo, los tratamientos con los geles de *A. vera* no mostraron efecto significativo en la concentración de SST en el momento de la recolección en ninguno de los frutos estudiados. Por tanto, estos tratamientos no afectaron a la acumulación de azúcares, fundamentalmente glucosa, fructosa y sacarosa, que se produce durante los últimos días de la maduración en el árbol de estos frutos y que son los principales contribuyentes a su contenido en SST (Serrano *et al.*, 2005; Díaz-Mula *et al.*, 2009).

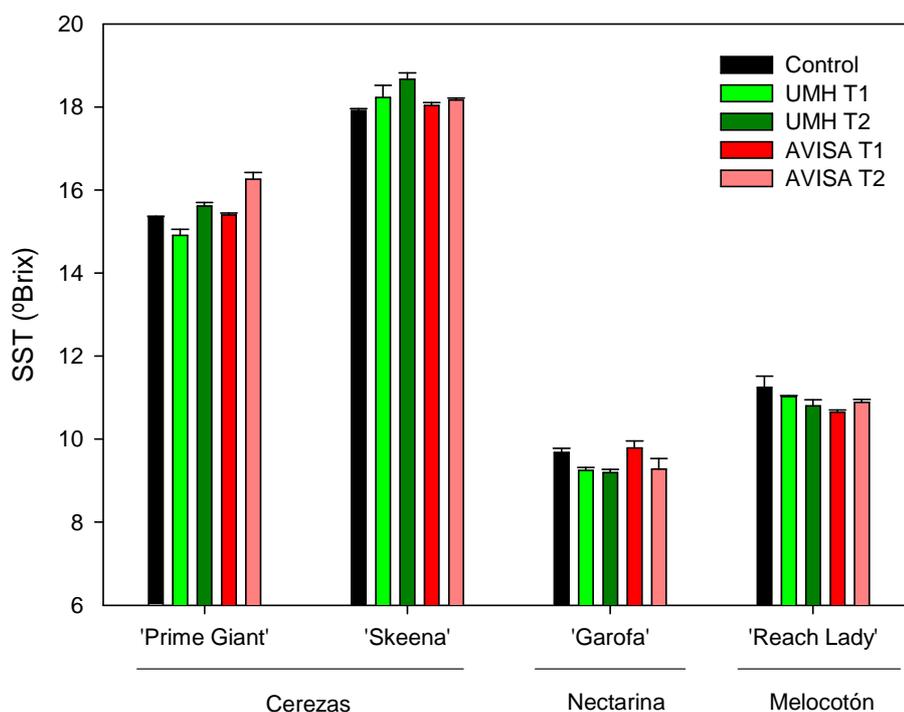


Figura 16. Sólidos solubles totales de dos variedades de cereza (“Prime Giant” y “Skeena”), una variedad de nectarina (“Garofa”) y otra de melocotón (“Reach Lady”) el día de la recolección tras haber sido tratadas con gel de *A. vera* comercial (AVISA) o con gel de *A. vera* obtenido de las plantas de la parcela ecológica de la E.P.S.O. (UMH) 1 día antes de la recolección (T1) y 1 y 7 días antes de la recolección (T2). Los frutos control no fueron tratados. Los datos son la media \pm ES.

Los valores de acidez total (**Figura 17**) en las cerezas control fueron $\approx 0,85$ g 100 g⁻¹, en las dos variedades, por lo que pueden considerarse como variedades poco ácidas, según los valores publicados previamente en otras variedades de cereza (Díaz-Mula *et al.*, 2009). Sin embargo, estas variedades de melocotón y nectarina serían ligeramente ácidas, puesto que los valores de acidez total en estos frutos oscilan entre 0,2 y 0,8% en la mayoría de las variedades estudiadas (Iglesias y Echevarría, 2009; Cano-Salazar *et al.*, 2012).

El efecto de los tratamientos con los geles de *A. vera* no fue general en todos los frutos estudiados. Así, en las cerezas "Prime Giant" sólo el tratamiento con AVISA T2 aumentó el contenido en acidez total, mientras que en la cereza "Skeena" la acidez aumentó con ambos tratamientos con el gel AVISA, T1 y T2. En la nectarina "Garofa" aumentó la acidez con todos los tratamientos, siendo el efecto más acusado con el gel de AVISA que con el UMH y los tratamientos T2 ligeramente más efectivos que los T1. Por el contrario, en el melocotón "Reach Lady" no se encontró un efecto significativo de ninguno de los tratamientos en los niveles de acidez total en el momento de la recolección (**Figura 17**).

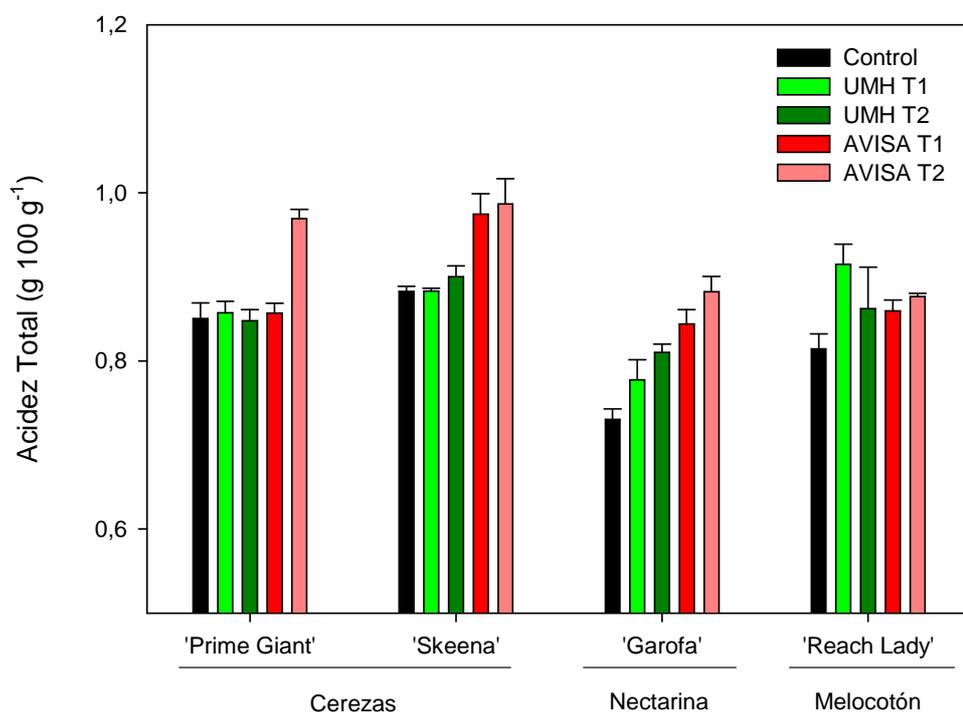


Figura 17. Acidez total en dos variedades de cereza (“Prime Giant” y “Skeena”), una variedad de nectarina (“Garofa”) y otra de melocotón (“Reach Lady”) el día de la recolección tras haber sido tratadas con gel de *A. vera* comercial (AVISA) o con gel de *A. vera* obtenido de las plantas de la parcela ecológica de la E.P.S.O. (UMH) 1 día antes de la recolección (T1) y 1 y 7 días antes de la recolección (T2). Los frutos control no fueron tratados. Los datos son la media \pm ES.

Como ya se ha comentado anteriormente, el efecto de los tratamientos con los geles de *A. vera* sobre la acidez y los SST no fue general en todos los frutos, por lo tanto, el índice de madurez (**Figura 18**), que se expresa como la relación entre °Brix y la acidez, tampoco lo fue. Así, únicamente en las cerezas “Skeena” sólo los tratamientos con AVISA disminuyeron el índice de maduración, pasando de ≈ 20 °Brix/Acidez en las cerezas control y las tratadas con los geles UMH a $\approx 18,5$ °Brix/Acidez en las tratadas con los geles AVISA.

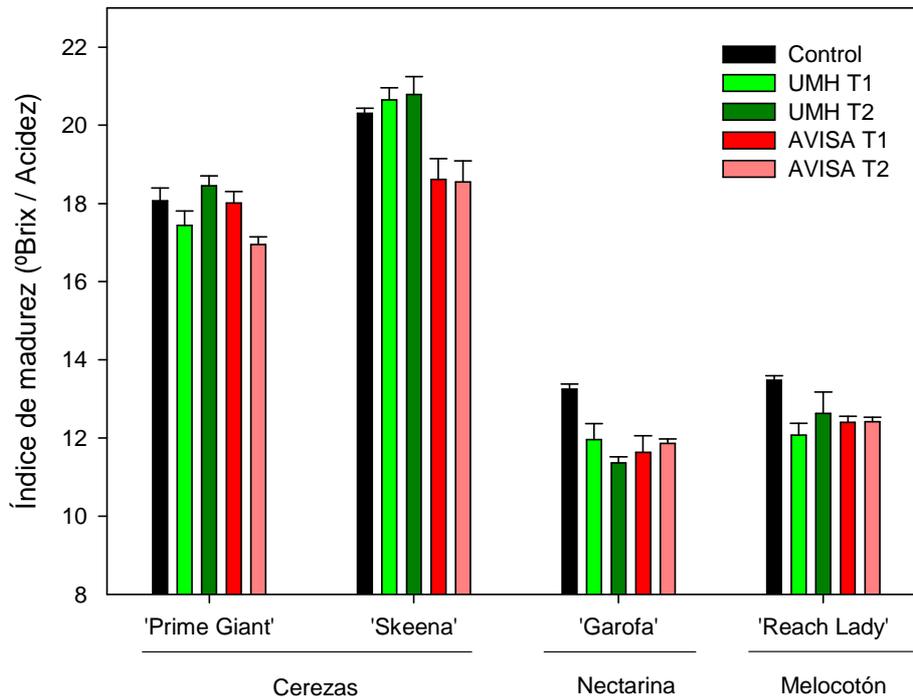


Figura 18. Índice de madurez de dos variedades de cereza ("Prime Giant" y "Skeena"), una variedad de nectarina ("Garofa") y otra de melocotón ("Reach Lady") el día de la recolección tras haber sido tratadas con gel de *A. vera* comercial (AVISA) o con gel de *A. vera* obtenido de las plantas de la parcela ecológica de la E.P.S.O. (UMH) 1 día antes de la recolección (T1) y 1 y 7 días antes de la recolección (T2). Los frutos control no fueron tratados. Los datos son la media \pm ES.

Firmeza

Los valores de firmeza disminuyen durante las últimas fases del crecimiento en el árbol de las frutas de hueso, debido al incremento de tamaño de las células del mesocarpo, mientras que en la fase de maduración el ablandamiento se produce por la degradación parcial de los componentes de la lámina media y de la pared celular primaria, por la acción de hidrolasas como poligalacturonasas, β -galactosidasas, pectin-metilesterasas, endo- β -1-4-glucanasa, pectato liasas y expansinas, las cuales se expresan diferencialmente durante la maduración de estos frutos (Valero y Serrano, 2010; Yoshioka *et al.*, 2011; Bustamante *et al.*,

2012). Así, la firmeza de los frutos en su estado de maduración comercial dependerá de la especie y variedad.

Los tratamientos con los gels de *A. vera* no afectaron significativamente a la firmeza (**Figura 19**) de las dos variedades de cereza, no existiendo diferencias entre los frutos control y los tratados. Sin embargo, la aplicación del gel de aloe sí que redujo el ablandamiento en nectarinas y melocotones, aunque no existieron diferencias significativas entre los tratamientos. En general, las nectarinas control mostraron un valor de $\approx 77 \text{ N mm}^{-1}$ frente a $\approx 81 \text{ N mm}^{-1}$ de las nectarinas tratadas. Los melocotones control presentaron un valor $\approx 37 \text{ N mm}^{-1}$, mientras que para los melocotones tratados con gel de *A. vera* la firmeza fue de $\approx 40 \text{ N mm}^{-1}$.

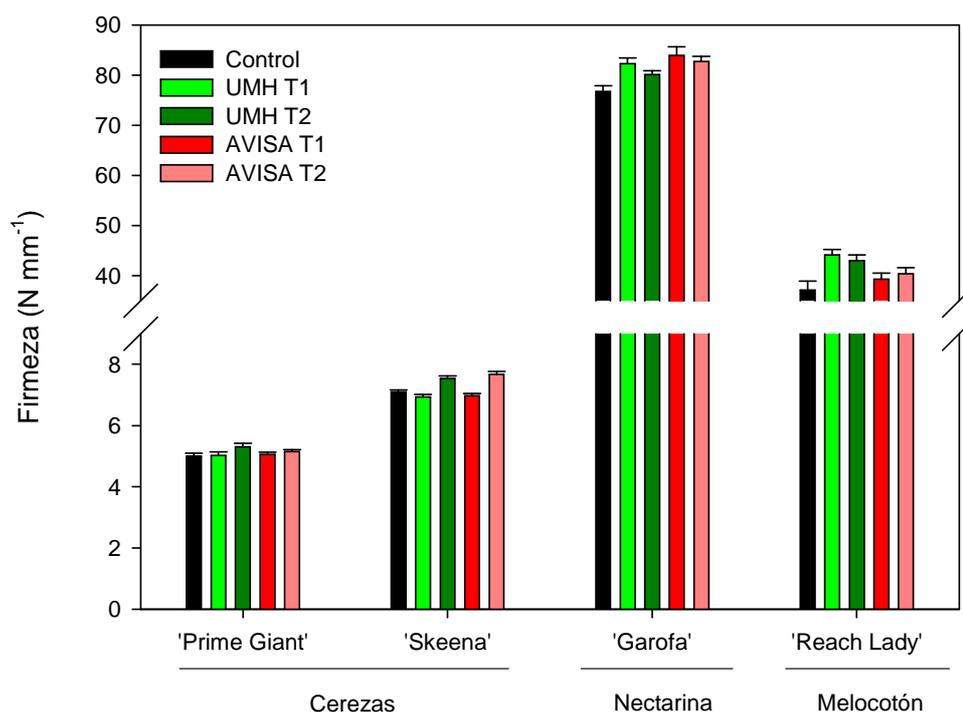


Figura 19. Firmeza de dos variedades de cereza ("Prime Giant" y "Skeena"), una variedad de nectarina ("Garofa") y otra de melocotón ("Reach Lady") el día de la recolección tras haber sido tratadas con gel de *A. vera* comercial (AVISA) o con gel de *A. vera* obtenido de las plantas de la parcela ecológica de la E.P.S.O. (UMH) 1 día antes de la recolección (T1) y 1 y 7 días antes de la recolección (T2). Los frutos control no fueron tratados. Los datos son la media \pm ES.

Color

En las cerezas el color rojo se intensifica durante la maduración debido a la acumulación de antocianinas, siendo las mayoritarias cianidín 3-rutinósido y se manifiesta como descensos en los parámetros de color L^* , a^* y b^* y en los índices de color Croma y Hue (Gonçalves *et al.*, 2007; Mozetič *et al.*, 2006; Díaz-Mula *et al.*, 2009; Serrano *et al.*, 2009). Por el contrario, en melocotones y nectarinas, los pigmentos responsables del color son los carotenoides, destacando β -caroteno, β -criptoxantina, anteroxantina, tuteoxantina y zeaxantina, con concentraciones que varían dependiendo de la variedad y del estado de maduración (Tavarini *et al.*, 2008; Brandi *et al.*, 2011)

El índice Croma (**Figura 20**), calculado como $\sqrt{a^2 + b^2}$, no mostró diferencias significativas entre los frutos tratados con los geles de *A. vera* y los frutos control, excepto en la cereza "Skeena" en la cual los frutos procedentes de árboles tratados con geles de aloe tenían unos valores más bajos que los controles, indicando una tonalidad ligeramente más oscura.

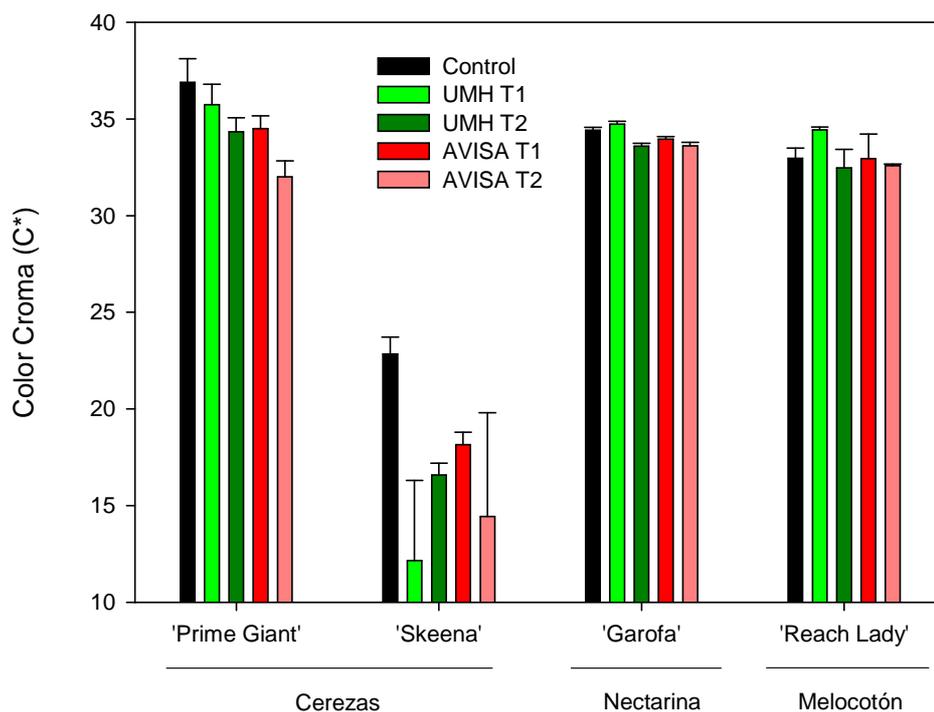


Figura 20. Color Croma en dos variedades de cereza (“Prime Giant” y “Skeena”), una variedad de nectarina (“Garofa”) y otra de melocotón (“Reach Lady”) el día de la recolección tras haber sido tratadas con gel de *A. vera* comercial (AVISA) o con gel de *A. vera* obtenido de las plantas de la parcela ecológica de la E.P.S.O. (UMH) 1 día antes de la recolección (T1) y 1 y 7 días antes de la recolección (T2). Los frutos control no fueron tratados. Los datos son la media \pm ES.

Sin embargo, estas diferencias no se aprecian en el ángulo Hue (**Figura 21**) y tampoco existieron diferencias significativas entre los frutos tratados en pre-cosecha con los geles de *A. vera* y los frutos control en las cerezas “Prime Giant” ni en melocotones y nectarinas, por lo que podemos decir que los tratamientos no modifican la acumulación de los pigmentos responsables del color durante la maduración en el árbol, tal como ocurría con los SST, la acidez y el índice de madurez.

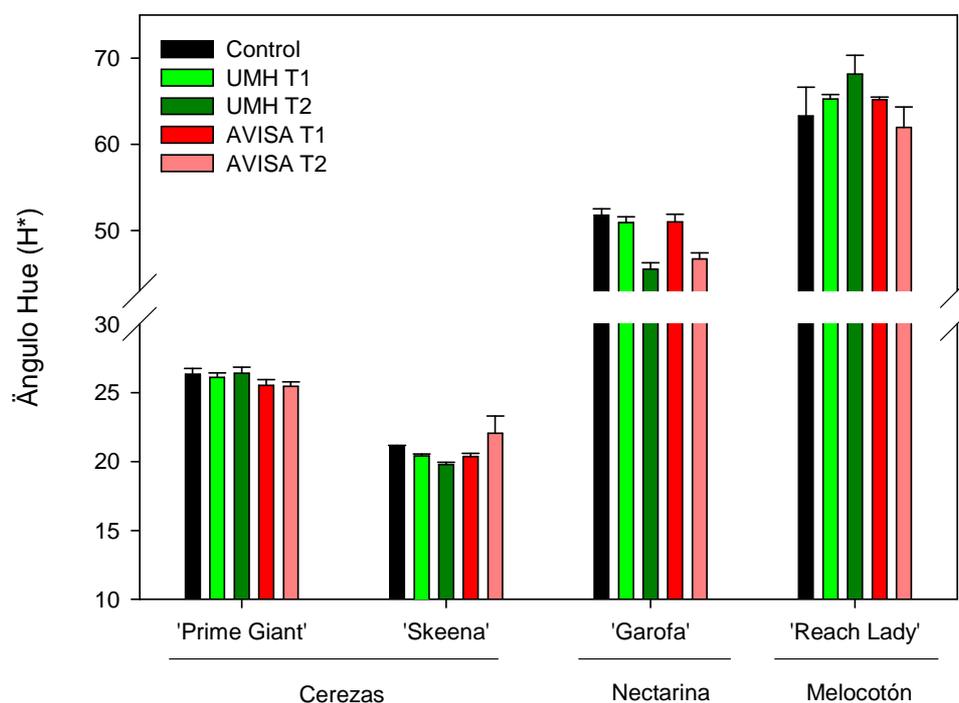


Figura 21. Ángulo Hue en dos variedades de cereza (“Prime Giant” y “Skeena”), una variedad de nectarina (“Garofa”) y otra de melocotón (“Reach Lady”) el día de la recolección tras haber sido tratadas con gel de *A. vera* comercial (AVISA) o con gel de *A. vera* obtenido de las plantas de la parcela ecológica de la E.P.S.O. (UMH) 1 día antes de la recolección (T1) y 1 y 7 días antes de la recolección (T2). Los frutos control no fueron tratados. Los datos son la media \pm ES.

Los SST (**Figura 16**), acidez (**Figura 17**), índice de maduración (**Figura 18**) y los índices de color (**Figuras 20 y 21**) de las frutas tratadas con cualquiera de los geles de *A. vera*, no mostraron diferencias significativas respecto a las frutas control. Luego, en general, los tratamientos con gel de *A. vera* no modifican la evolución de los parámetros de calidad ni el proceso de maduración del fruto en el árbol.

Tasa de respiración y producción de etileno

La tasa de respiración se redujo, de forma general, en todos los frutos tratados con los dos geles de *A. vera* con respecto a los no tratados, aunque en melocotones y nectarinas la aplicación de un solo tratamiento, con cualquiera de los dos geles, no tuvo efectos significativos (**Figura 22**). En todos los casos, el tratamiento que más redujo la tasa de respiración fue AVISA T2. Esta reducción en la tasa de respiración al tratar la fruta con *Aloe vera* antes de la recolección, podría estar asociada con una disminución del metabolismo del fruto. Si esta disminución se mantuviera después de la recolección podría suponer un retraso en los procesos de deterioro que conduciría a un aumento del periodo de conservación del fruto con una calidad óptima para el consumo (Valero y Serrano, 2010).

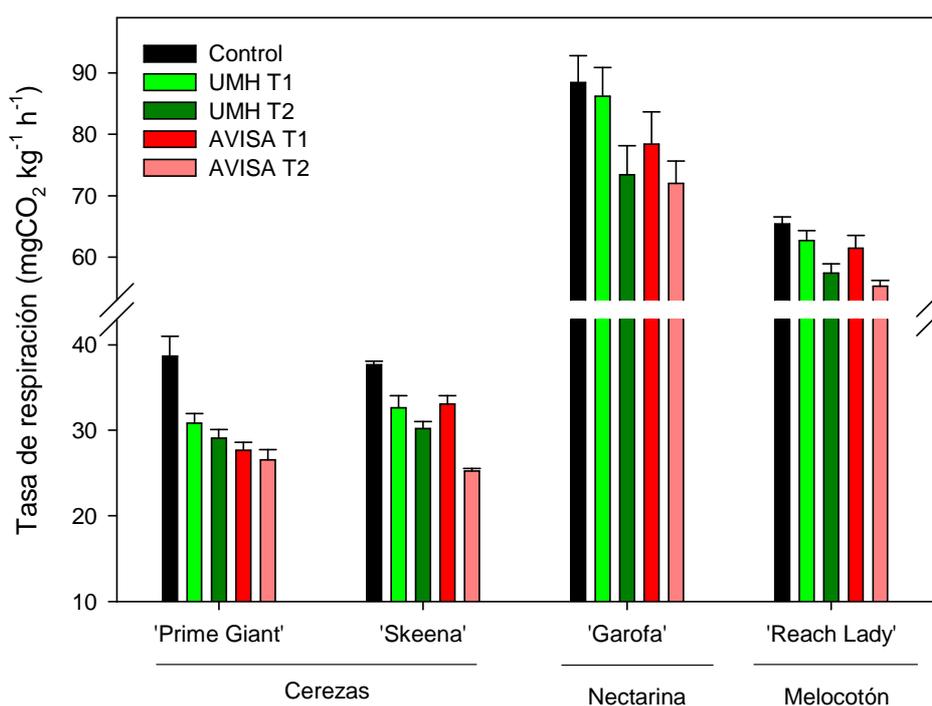


Figura 22. Tasa de respiración en dos variedades de cereza ("Prime Giant" y "Skeena"), una variedad de nectarina ("Garofa") y otra de melocotón ("Reach Lady") el día de la recolección tras haber sido tratadas con gel de *A. vera* comercial (AVISA) o con gel de *A. vera* obtenido de las plantas de la parcela ecológica de la E.P.S.O. (UMH) 1 día antes de la recolección (T1) y 1 y 7 días antes de la recolección (T2). Los frutos control no fueron tratados. Los datos son la media \pm ES.

La producción de etileno no se vio afectada por los tratamientos con los geles de *A. vera* durante la pre-cosecha (**Figura 23**). Además, la concentración de etileno fue muy baja en todos los frutos, con valores entre 0,02 y 0,04 nL g⁻¹ h⁻¹. En las cerezas, estos valores tan bajos de etileno se deben a que son frutos no climatéricos, mientras que la baja producción de etileno en melocotones y nectarinas es debida a que a que fueron recolectados en estado preclimatérico, ya que éstas poseen una maduración de tipo climatérico (Serrano *et al.*, 2004).

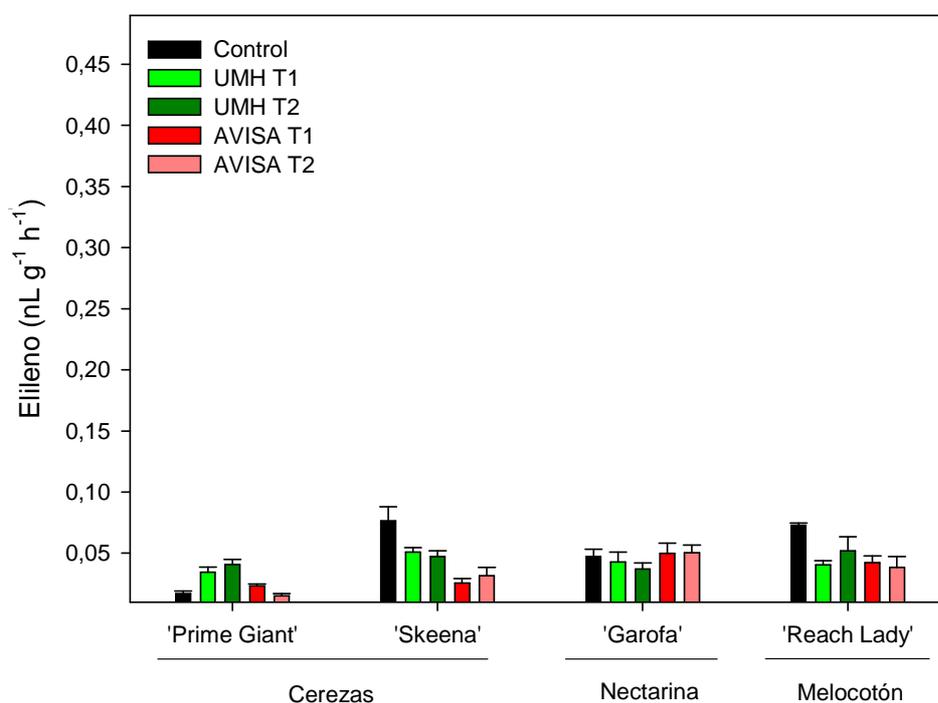


Figura 23. Concentración de etileno en dos variedades de cereza ("Prime Giant" y "Skeena"), una variedad de nectarina ("Garofa") y otra de melocotón ("Reach Lady") el día de la recolección tras haber sido tratadas con gel de *A. vera* comercial (AVISA) o con gel de *A. vera* obtenido de las plantas de la parcela ecológica de la E.P.S.O. (UMH) 1 día antes de la recolección (T1) y 1 y 7 días antes de la recolección (T2). Los frutos control no fueron tratados. Los datos son la media \pm ES.

4.2.4. CONCLUSIONES

A la vista de los resultados obtenidos en este capítulo, los tratamientos con gel de *A. vera* podrían ser aplicados antes de la recolección, como tratamiento para disminuir la carga microbiana en el momento de recolección, lo que conllevaría a reducir la incidencia de podredumbres en frutas de hueso durante la conservación post-recolección. Además, estos tratamientos no tienen ningún efecto perjudicial en la evolución de los parámetros de calidad de estos frutos durante sus últimos días de maduración en el árbol. Además, se confirma que el gel obtenido por nosotros, a partir de hojas de plantas de aloe de la finca experimental de la EPSO (aloe UMH) tiene un efecto similar al gel comercial.

4.3. EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS DE UVA DE MESA, EN PRE-RECOLECCIÓN, CON GEL DE *Aloe vera* SOBRE SU CALIDAD EN EL MOMENTO DE LA RECOLECCIÓN Y DURANTE LA CONSERVACIÓN

4.3.1. INTRODUCCIÓN

La uva de mesa presenta graves problemas de pérdida de calidad durante el almacenamiento en post-cosecha debido fundamentalmente a las pérdidas de peso por deshidratación, ablandamiento de los tejidos, oscurecimiento del raquis y aparición de sabor y aroma anómalos. En la mayoría de los casos, todo esto va acompañado por la podredumbre de las bayas, principalmente debido a *Botrytis cinerea*, lo cual limita su comercialización y consumo (Crisosto *et al.*, 2002a, b; Guillén *et al.*, 2007). Por tanto, es necesario disponer de estrategias de conservación adecuadas para retrasar estos problemas de deterioro. En este sentido, el tratamiento comercial más usado para la uva de mesa en diversos países del mundo, es el uso de dióxido de azufre (SO₂) empleando diferentes métodos (Lydakis and Aked, 2003; Zoffoli *et al.*, 1999; Crisosto *et al.*, 2003b). Muchos países importadores de uva de mesa han fijado límites cada vez más estrictos a la concentración de anhídrido sulfuroso (Batistella *et al.*, 2001), además, excesivas concentraciones de SO₂ durante la conservación pueden ocasionar blanqueamiento del grano, lo que implica considerables pérdidas económicas en uvas oscuras. Actualmente, a nivel mundial, existe presión por parte de los consumidores para encontrar alternativas naturales como tratamientos post-cosecha del producto fresco (Lydakis and Aked, 2003). La demanda mundial para reducir el uso de pesticidas, estimular la protección del medio ambiente y proteger la salud del consumidor, limita la aplicación de productos químicos en frutas y hortalizas (Zahavi *et al.*, 2000).

La técnica de conservación más utilizada para la uva de mesa y, en general, para las demás frutas y hortalizas es el almacenaje a bajas temperaturas, aunque existen ciertos hongos capaces de crecer a bajas temperaturas. Normalmente, para mejorar la conservación de la uva de mesa se utiliza la combinación de las bajas temperaturas con el envasado en plásticos macroperforados. Resultados de investigación han mostrado que el envasado en

atmósfera modificada (MAP), el cual reduce la concentración de O₂ y aumenta la de CO₂ en el interior del envase, disminuye la tasa de respiración, la sensibilidad al etileno y su producción, así como reduce la aparición de podredumbres y oxidaciones de compuestos beneficiosos para la salud (Kader y Watkins, 2000; Valverde *et al.*, 2005a; Serrano *et al.*, 2008). La atmósfera modificada está considerada como un buen método para extender la vida útil post-recolección, pero no es del todo eficaz en evitar la proliferación de microorganismos, como bacterias y hongos. No obstante, la adición de aceites esenciales a los envases de atmósfera modificada disminuye los problemas de podredumbres y aumenta el tiempo de conservación de la uva de mesa con una calidad aceptable para el consumo (Valverde *et al.*, 2005a).

Otros trabajos de investigación han mostrado que la aplicación de gel de *Aloe vera* como recubrimiento comestible mantiene la calidad, tanto de la baya como del raspón, y disminuye la aparición de podredumbres, incrementando sus posibilidades de conservación y vida útil (Valverde *et al.*, 2005b; Martínez-Romero *et al.*, 2006). Así mismo, otras publicaciones señalan que el gel de aloe reduce un 15-20% la supervivencia de esporas de *Penicillium*, *Botrytis* y *Alternaria* en pomelo (Saks y Barkai-Golán, 1995), y que disminuye un 22-38% el crecimiento de los micelios de otros hongos patógenos de plantas, tales como *Rhizoctonia*, *Fusarium* y *Colleotrichum* (Jasso de Rodríguez *et al.*, 2005), mostrando un efecto positivo en el control de las posibles infecciones fúngicas.

En el capítulo anterior se ha comprobado que la aplicación de gel de aloe como tratamiento pre-cosecha en cerezas, melocotones y nectarinas reduce la carga microbiana en los frutos en el momento de la recolección, sin afectar al proceso de maduración en el árbol ni a los parámetros relacionados con la calidad. Por otra parte, en el capítulo 1 se comprobó que el gel de *A. vera* es eficaz en la inhibición de *B. cinerea*, *P. digitatum* y *R. stolonipher* al ser aplicado en pre-cosecha sobre nectarinas y en placas con PDA.

El objetivo de este capítulo fue estudiar los efectos del tratamiento, en pre-cosecha, con gel de *Aloe vera* sobre los atributos de calidad, contaminación microbiana y aparición de podredumbres de la uva de mesa tanto en el momento

de la recolección como durante su conservación. Estos tratamientos se realizaron en uva de mesa "Autumn Royal" y "Crimson" bajo cultivo convencional y ecológico, respectivamente.

4.3.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

Este experimento se realizó con uva de mesa (*Vitis vinifera* L.) variedad "Autumn Royal" en cultivo convencional en una parcela comercial localizada en el término municipal de Abarán, Murcia, España y la variedad "Crimson" en cultivo ecológico localizado en el término municipal de Alhama de Murcia, Murcia, España. Ambos cultivos eran de tipo parral, con cubierta de polietileno. Los tratamientos con gel de *Aloe vera* se realizaron antes de la recolección mediante un pulverizador mecánico (**Fotografía 46**).



Fotografía 46: Pulverizador mecánico utilizado para aplicar el tratamiento pre-cosecha con gel de *A. vera* sobre las dos variedades de uva de mesa. **Fuente:** S. Castillo.

Ambas parcelas se dividieron en 3 secciones diferenciadas, con aproximadamente 20 parras cada una. Una de las secciones se utilizó como control (uva no tratada). A la uva de la siguiente sección se le aplicó un tratamiento con gel de *A. vera* 1 día antes de la recolección (T1) y a la última sección se le aplicó el tratamiento con *A. vera* por duplicado: 1 y 7 días antes de la recolección (T2). El gel de *A. vera* utilizado fue un gel comercial adquirido en

AVISA (Aloe Vera Internacional Sociedad Anónima, Fuerteventura, Islas Canarias, España), el cual se diluyó 1:3 y se aplicó directamente sobre los racimos mediante pulverización como una niebla fina hasta que se humedeció toda la superficie de las bayas. Las uvas no tratadas se pulverizaron únicamente con agua.

Las uvas "Autumn Royal" en cultivo convencional se recolectaron y se transfirieron a la empresa "Frutas Esther", donde los racimos se manipularon de acuerdo a las prácticas normales de envasado y empaquetado (aproximadamente 500 g) en films de plástico (polietileno macroperforado con agujeros de 5 mm). 100 de estas bolsas se llevaron al laboratorio de Post-recolección (**Fotografía 47**). Las uvas "Crimson" en cultivo ecológico una vez recolectadas fueron transportadas inmediatamente al laboratorio de Post-recolección, tomando las medidas necesarias para evitar posibles daños en el material vegetal. Una vez en el laboratorio, se seleccionaron al azar 100 racimos de 400-500 g.

Lo primero que se hizo fue pesar cada bolsa o racimo individualmente, se etiquetaron y se almacenaron a 1-2 °C con una humedad relativa de 85-90%. Para los muestreos se tomaron al azar 10 bolsas o racimos de cada tratamiento, semanalmente durante 35 días de las uvas de cultivo convencional y cada 5 días durante 25 días de las uvas bajo cultivo ecológico, que fue el tiempo en el que aparecieron síntomas muy evidentes de pérdidas de calidad en las uvas tratadas y una elevada incidencia de podredumbres.



Fotografía 47: Uva en cultivo convencional embolsadas por la empresa "Frutas Esther".

Fuente: S. Castillo.

En todos los casos los parámetros analizados fueron: tasa de respiración, color, firmeza, pérdida de peso, sólidos solubles totales (SST), acidez titulable, grado de podredumbre, valoración visual del raspón y carga microbiana. Las determinaciones de tasa de respiración, pérdida de peso, número de bayas con podredumbres y valoración visual del raspón se realizaron sobre 10 racimos de cada tratamiento. Posteriormente se seleccionaron al azar 10 bayas de cada racimo, a las que se les determinó el color y la acidez. Finalmente, 5 muestras de 10 granos procedentes de 5 racimos se usaron para determinar los SST y la acidez titulable y las otras 5 muestras para cuantificar los aeróbios totales y los mohos y levaduras. Los datos son la media \pm ES.

Análisis estadístico

Los datos de las determinaciones analíticas se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA). Las fuentes de variación fueron el tiempo de almacenamiento y los tratamientos. Las comparaciones de medias se realizaron utilizando el test de Tukey para examinar si las diferencias fueron significativas a $P < 0,05$. Todos los análisis se realizaron con el programa estadístico SPSS, paquete de software versión 11.0 para Windows.

4.3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tasa de respiración

Este experimento se realizó para saber si la aplicación de *Aloe vera* en uva de mesa antes de la recolección podría reducir la incidencia de podredumbres y afectar a los parámetros de calidad de la uva durante el almacenamiento post-cosecha. Los resultados muestran que tanto para la variedad "Autumn Royal" en cultivo convencional como para la variedad "Crimson" en ecológico, el tratamiento con gel de *A. vera* condujo a una reducción de la tasa de respiración en el momento de la recolección (Día 0), con valores de $15,44 \pm 0,8$ y $24,34 \pm 0,75$ $\text{mg kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ para las uvas "Autumn Royal" (**Figura 24a**) y "Crimson" (**Figura 24b**), respectivamente. Para T1, los valores que se obtuvieron fueron $12,95 \pm 0,31$ y $24,63 \pm 2,34$ $\text{mg kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ para las uvas convencionales y las ecológicas, respectivamente (**Figura 24a y b**, respectivamente). La tasa de respiración de la uva de mesa convencional T2 fue de $11,63 \pm 0,85$ $\text{mg kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ (**Figura 24a**) y para la uva de mesa ecológica fue de $22,47 \pm 0,72$ $\text{mg kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ (**Figura 24b**). Esta mayor tasa de respiración de las uvas control con respecto a las uvas tratadas también fue evidente a lo largo del almacenamiento en las dos variedades estudiadas, sin diferencias significativas entre los tratamientos T1 y T2. Esta reducción en la tasa de respiración al tratar las uvas con *Aloe vera* antes de la recolección también se puso de manifiesto en el capítulo anterior en cerezas, nectarinas y melocotones, y podría estar asociada con una disminución del metabolismo de los frutos lo que supondría un retraso en los procesos de deterioro que conduciría a un aumento del periodo de conservación con una calidad óptima para el consumo (Valero y Serrano, 2010).

Además, las diferencias en la tasa de respiración de las dos variedades de uva están relacionadas con su tasa de deterioro y pérdida de calidad, la cual fue más rápida en "Crimson" que en "Autumn Royal" como se comentará más adelante, por lo que la tasa de respiración se puede relacionar negativamente con el tiempo de conservación con una calidad óptima.

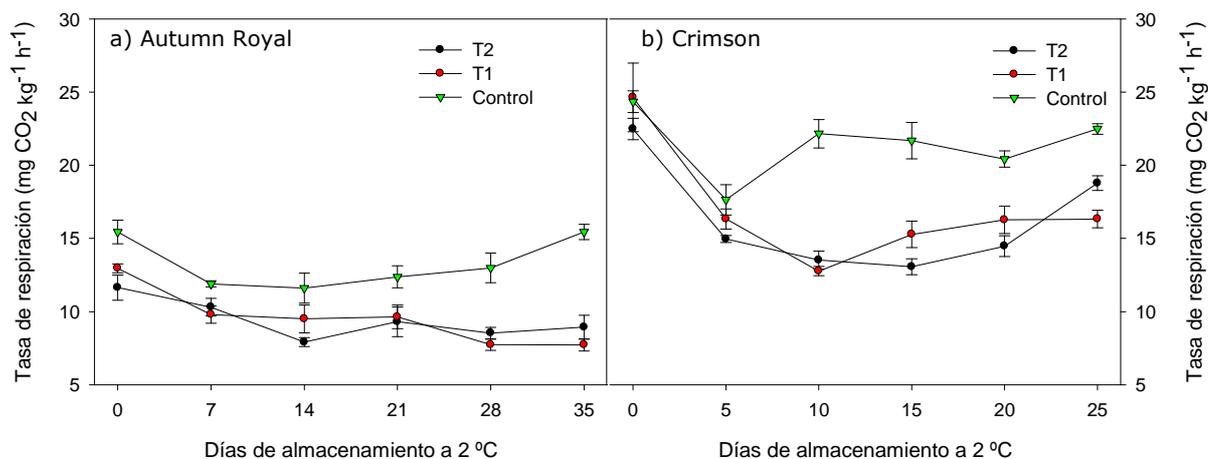


Figura 24. Evolución de la tasa de respiración en uva de mesa “Autumn Royal” en cultivo convencional (a) y “Crimson” en ecológico (b) durante el almacenamiento post-cosecha a 2 °C tras haber sido tratadas con gel *A. vera* 1 día antes de la recolección (T1) y 1 y 7 días antes de la recolección (T2). Las uvas control no fueron tratadas. Los datos son la media \pm ES.

En el capítulo 1 se ha comprobado que en dos variedades de frutos climatéricos como nectarina, la aplicación de un tratamiento similar con gel de *A. vera* justo después de la recolección retrasó los parámetros relacionados con la maduración y la calidad de la fruta (firmeza, color y pérdida de peso) mediante la reducción de la tasa de respiración y la producción de etileno, lo cual se atribuyó a la modificación de la atmósfera interna (Dang *et al.*, 2008). Sin embargo, el gel de *Aloe vera* en mango (preparado al 100 o el 50%) no indujo estas reducciones de la tasa de respiración, pérdida de peso, ablandamiento y retraso de la maduración de la fruta, mientras que sí disminuyó la biosíntesis de aromas volátiles (Ahmed *et al.*, 2009).

Pérdida de peso

Durante el almacenamiento, las pérdidas de peso aumentaron en las uvas control y las uvas tratadas, tanto en la uva “Crimson” ecológica como en la uva “Autumn Royal” convencional (**Figura 25**), aunque en ésta última al final del experimento, la pérdida de peso fue significativamente mayor en los frutos control ($2,82 \pm 0,20$) que en los tratados con gel de *A. vera* ($\approx 1,5$) sin

diferencias entre T1 y T2. Las pérdidas de peso de los frutos durante su almacenaje se deben al proceso de transpiración impulsado por las diferencias de potencial hídrico entre el interior del fruto y el ambiente en el que se encuentran. Este proceso de transpiración se produce a través de la superficie del fruto, por lo que al aumentar la relación superficie / volumen (S / V) también incrementarían las pérdidas de peso. Por lo tanto, al ser las bayas de la variedad "Crimson" más pequeñas que las de "Autumn Royal", su relación superficie / volumen es mayor y explicaría sus mayores pérdidas de peso.

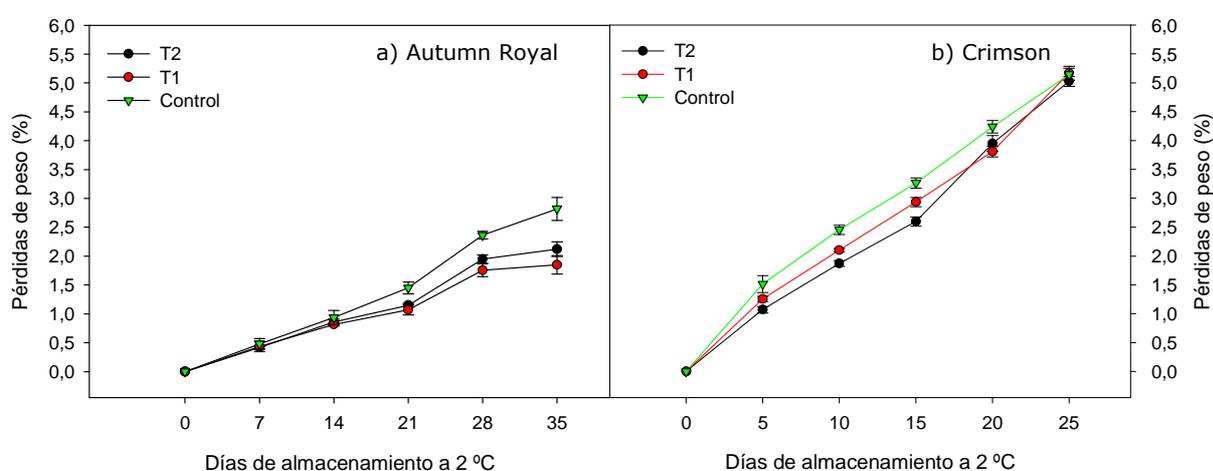


Figura 25. Evolución de la pérdida de peso en uva de mesa "Autumn Royal" en cultivo convencional (a) y "Crimson" en ecológico (b) durante el almacenamiento post-cosecha a 2 °C tras haber sido tratadas con gel de *A. vera* 1 día antes de la recolección (T1) y 1 y 7 días antes de la recolección (T2). Las uvas control no fueron tratadas. Los datos son la media \pm ES.

Por otra parte, para frutos con una misma relación S / V y en las mismas condiciones ambientales sus pérdidas de peso estarían limitadas por la composición y espesor de la cutícula. Finalmente, hay que tener en cuenta que con este experimento los racimos de "Autumn Royal" se conservaron en film macroperforado y los frutos de la variedad "Crimson" al aire, lo que también podría haber influido en la mayor pérdida de peso de esta última variedad. Finalmente, el efecto de los tratamientos pre-cosecha con el gel de aloe disminuyendo las pérdidas de peso durante la conservación en las uvas "Autumn Royal" debe atribuirse a la adherencia del gel a la superficie de las bayas, que

limitaría la difusión del vapor de agua hacia el exterior, reduciendo la transpiración y por tanto, las pérdidas de peso, de forma similar a lo que sucede con la aplicación de recubrimientos comestibles (Maftoonazad *et al.*, 2008; Pérez-Gago *et al.*, 2010; Díaz-Mula *et al.*, 2012; Valero *et al.*, 2013).

Firmeza

Los valores de firmeza en las uvas recién recolectadas fueron muy diferentes dependiendo de la variedad, $\approx 1,3$ y $4,96 \text{ N mm}^{-1}$ en "Autumn Royal" y "Crimson", respectivamente, aunque en ambas la firmeza (**Fotografía 48**) disminuyó durante el almacenaje (**Figura 26**). Los tratamientos con gel de *A. vera* también fueron eficaces en la reducción del ablandamiento de las bayas (**Figura 26**). Así, al final del experimento (a los 35 días para la uva "Autumn Royal" y 25 para la "Crimson") la firmeza de las uvas control fue de $0,94 \pm 0,06 \text{ N mm}^{-1}$ para la uva "Autumn Royal" y de $3,10 \pm 0,08 \text{ N mm}^{-1}$ para la uva "Crimson". Para ambos tratamientos, T1 y T2, los valores obtenidos fueron significativamente mayores, en las dos variedades. En el caso de las uvas "Autumn Royal" en cultivo convencional los valores obtenidos para T1 y T2 fueron $1,09 \pm 0,05$ y $1,23 \pm 0,06 \text{ N mm}^{-1}$, respectivamente. Para las uvas "Crimson" en cultivo ecológico, los resultados que se obtuvieron fueron $3,30 \pm 0,08 \text{ N mm}^{-1}$ para T1 y $3,66 \pm 0,08 \text{ N mm}^{-1}$ para T2. No se encontraron diferencias significativas entre T1 y T2, pero sí entre éstos y las uvas control, en la uva "Autumn Royal", pero sí que existían diferencias entre T1 y T2 en la "Crimson", con valores de firmeza más elevados en T2 durante todo el periodo de conservación. Es de destacar que la firmeza de la uva "Crimson" en cultivo ecológico fue mayor que la de la uva "Autumn Royal" en convencional, tanto en el momento de la recolección como durante la conservación en frío.

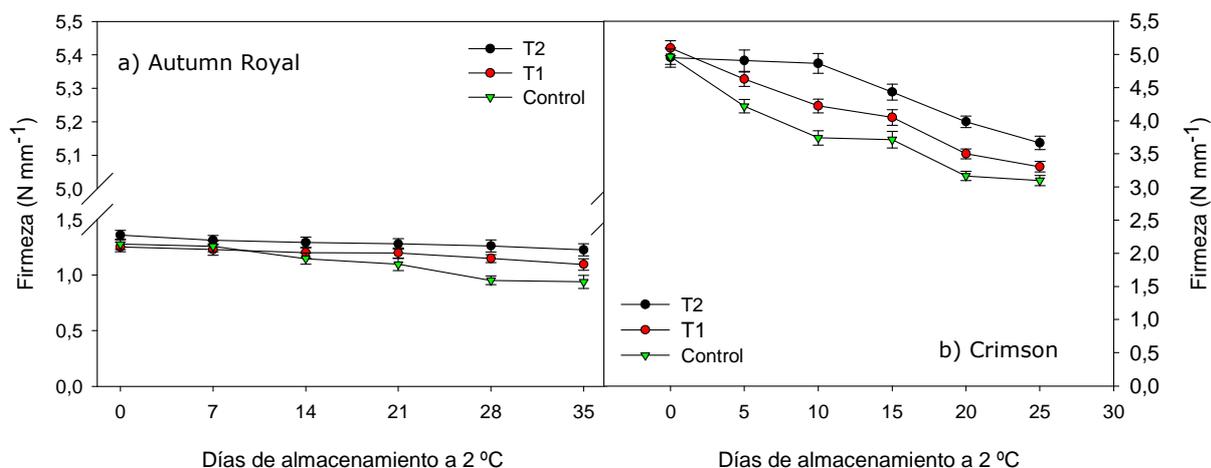
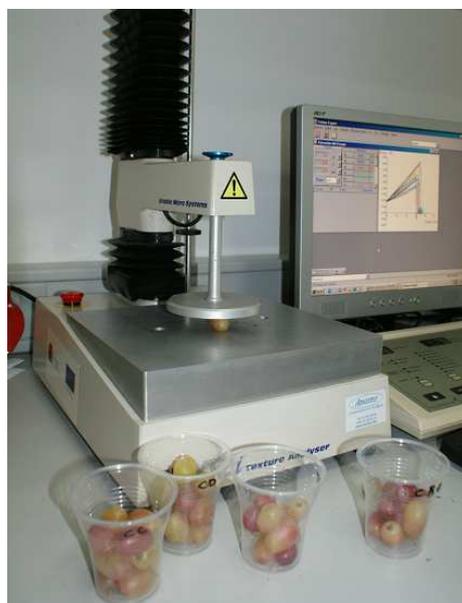


Figura 26. Evolución de la firmeza en uva de mesa “Autumn Royal” en cultivo convencional (a) y “Crimson” en ecológico (b) durante el almacenamiento post-cosecha a 2 °C tras haber sido tratadas con gel de *A. vera* 1 día antes de la recolección (T1) y 1 y 7 días antes de la recolección (T2). Las uvas control no fueron tratadas. Los datos son la media \pm ES.



Fotografía 48: Determinación de la textura el día 0 en la uva “Crimson”. **Fuente:** S. Castillo.

La firmeza es un atributo de calidad muy importante para el consumidor, pues es uno de los parámetros responsables que determinan su grado de aceptación de los frutos (Serrano *et al.*, 2008). La tasa y extensión de la pérdida de firmeza durante el almacenamiento es uno de los principales factores que determinan la calidad del fruto y la vida útil post-cosecha. El gel de *Aloe vera* como tratamiento pre-cosecha redujo significativamente las pérdidas de firmeza durante el almacenamiento, ya que al final del experimento, las mayores pérdidas (superiores al 30%) se detectaron en las uvas control, independientemente de la variedad. En otros trabajos se ha comprobado que al aplicar en post-cosecha un recubrimiento comestible basado en gel de *Aloe vera* se redujeron los cambios relacionados con la maduración durante el almacenamiento, retrasando el ablandamiento y los cambios de color en cereza (Martínez-Romero *et al.*, 2006) y uva de mesa (Valverde *et al.*, 2005b). Además, en el capítulo 1 se ha demostrado que el recubrimiento con gel de *A. vera* en nectarinas durante la post-cosecha también reduce significativamente el ablandamiento. Aunque no se conoce el mecanismo de acción de los compuestos del gel de *A. vera* sobre la firmeza, podrían tener algún papel reduciendo las actividades de las enzimas β -galactosidasa, poligalaturonasa y pectinmetilesterasa, que han sido descritas como responsables del ablandamiento de la uva (Nunan *et al.*, 1998).

Color

El efecto más destacable de los tratamientos con *A. vera* se pudo observar en la evolución del color de la piel de los frutos. Aunque no hubo diferencias de color el día de la recolección entre las bayas control y las tratadas (tanto en la uva "Autumn Royal" convencional como en la "Crimson" ecológica), durante el almacenamiento sí que se observaron diferencias debidas a los tratamientos, ya que el ángulo Hue disminuyó más en las bayas control que en las tratadas. Así, en la uva "Autumn Royal" control el ángulo Hue disminuyó desde los valores iniciales de ≈ 16 a ≈ 6 al final del experimento, mientras que la disminución fue mucho menor en las bayas tratadas, con valores finales de ≈ 12 y ≈ 14 para T1 y T2, respectivamente (**Figura 27a**). En la uva "Crimson", los valores disminuyeron de ≈ 61 a 45 al final del experimento, tanto en las uvas control como en las T1, sin diferencias significativas entre ellas, mientras que en las uvas T2 el color Hue

se mantuvo constante a lo largo del almacenamiento, no existiendo diferencias significativas entre el inicio y el final del experimento (**Figura 27b**).

Esta disminución en el ángulo Hue, el cual se muestra como un oscurecimiento de la piel, está asociada a la evolución del proceso de maduración, como ya se ha observado previamente, tanto en la variedad "Autumn Royal" (Valero *et al.*, 2006) como en la "Crimson" (Valverde *et al.*, 2005a) y se debe a un incremento neto en el contenido de antocianinas totales. Por tanto, los tratamientos con gel de aloe durante los últimos días de la maduración de las uvas en la parra, retrasan considerablemente la evolución del color durante la conservación, en ambas variedades de uva, lo que indica un retraso del proceso de maduración. Las antocianinas mayoritarias que se encuentran en la uva son pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina, y malvidina, que suele ser la antocianidina predominante en las uvas rojas (Mazza, 1995; Holton y Cornish, 1995).

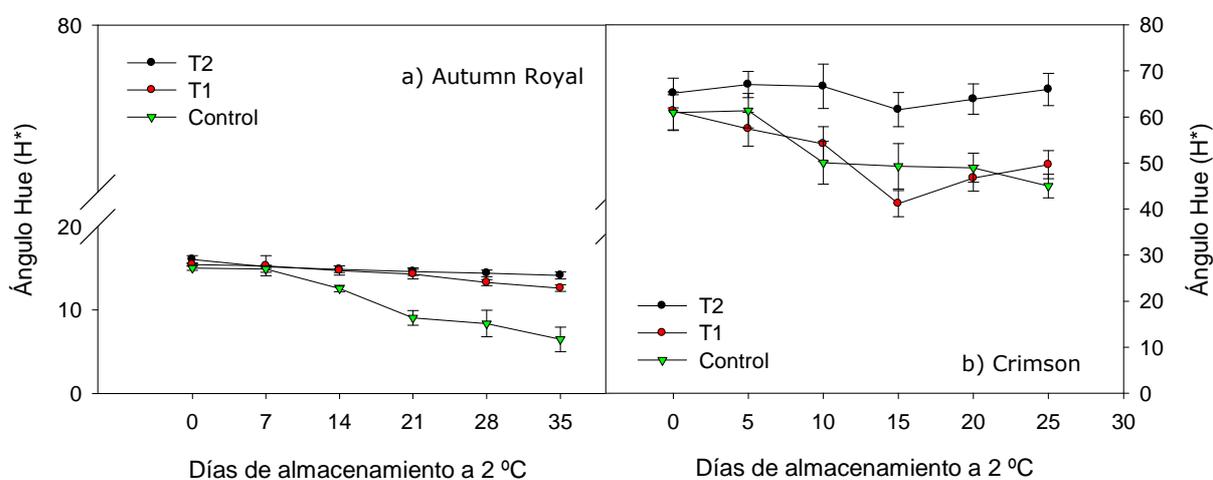


Figura 27. Evolución del ángulo Hue en uva de mesa convencional "Autumn Royal" en cultivo convencional (a) y "Crimson" en ecológico (b) durante el almacenamiento post-cosecha a 2 °C tras haber sido tratadas con gel de *A. vera* 1 día antes de la recolección (T1) y 1 y 7 días antes de la recolección (T2). Las uvas control no fueron tratadas. Los datos son la media \pm ES.

Sólidos solubles totales y acidez titulable

Tal como muestra la **Tabla 5**, los SST y la acidez mostraron valores similares en las uvas control y las tratadas con gel de *A. vera* en el momento de la recolección, aunque sí que fueron diferentes en las dos variedades. Así en la variedad "Crimson" los valores de SST fueron ≈ 19 °Brix y los de la acidez $\approx 0,6$ %, mientras que en la variedad "Autumn Royal" fueron de ≈ 16 °Brix y $\approx 0,33$ % (**Tabla 5**). Estos valores de SST y acidez no cambiaron a lo largo del experimento en ninguna de las 2 variedades de uva, no viéndose afectados por la aplicación de los tratamientos con *A. vera*. Así pues, los tratamientos pre-cosecha con el gel de aloe no modifican el sabor de las uvas, ni en el momento de la recolección ni durante la conservación post-recolección, ya que los sólidos solubles y la acidez son unos de los principales parámetros que contribuyen al sabor de las uvas.

Durante el crecimiento de las bayas, el azúcar predominante es la glucosa, mientras que en la maduración las proporciones de glucosa y fructosa son aproximadamente iguales y en uvas sobremaduras la fructosa es el azúcar principal (Winkler, 1965). El aumento del contenido de azúcares de la uva a lo largo de la maduración obedece a tres procesos: la migración de azúcares producidos por fotosíntesis; la movilización eventual de reservas y la transformación de ácido málico en azúcares (Reynier, 1989). Así mismo, al analizar la concentración de ácidos y azúcares en un estudio realizado en 4 variedades de uva ("Moscatel", "Thompson sedles", "Imperial sedles" y "Festival sedles"), se comprobó que los azúcares mayoritarios eran fructosa y glucosa, mientras que el ácido predominante fue el tartárico (Carranza, 2009).

Tabla 5. Acidez total ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$) y sólidos solubles totales ($^{\circ}\text{Brix}$) en las uvas de las variedades 'Crimson' y 'Autum Royal', en el momento de la recolección y después de 20 y 21 días de conservación a 2°C , respectivamente, tanto en las uvas control y tratadas una o dos veces con el gel de *A. vera* (T1 y T2).

Variedad	Días de conservación 2°C	Tratamientos		
		Control	T1	T2
		Acidez Total ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	Acidez Total ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	Acidez Total ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$)
Crimson	0	$0,58 \pm 0,03$	$0,56 \pm 0,01$	$0,56 \pm 0,02$
	20	$0,55 \pm 0,01$	$0,52 \pm 0,02$	$0,56 \pm 0,01$
Autumn Royal	0	$0,33 \pm 0,01$	$0,34 \pm 0,01$	$0,34 \pm 0,01$
	21	$0,34 \pm 0,01$	$0,33 \pm 0,01$	$0,33 \pm 0,01$
		$^{\circ}\text{Brix}$	$^{\circ}\text{Brix}$	$^{\circ}\text{Brix}$
Crimson	0	$18,9 \pm 0,3$	$19,0 \pm 0,1$	$18,6 \pm 0,1$
	20	$18,9 \pm 0,2$	$19,1 \pm 0,3$	$18,4 \pm 0,3$
Autumn Royal	0	$16,1 \pm 0,5$	$15,4 \pm 0,3$	$15,8 \pm 0,3$
	21	$15,9 \pm 0,3$	$15,8 \pm 0,3$	$15,8 \pm 0,3$

Valoración visual del raspón

En cuanto al aspecto del raspón (**Tabla 6**), el día de la recolección todos los racimos mostraban unas excelentes condiciones (verde turgente), con lo que la valoración fue de 5. Durante todo el proceso de almacenamiento todos los raspones fueron adquiriendo desde tonalidades amarillentas hasta un aspecto gris-deshidratado. Éstas aparecieron en función de la variedad y el tipo de envasado. En trabajos previos se ha observado que el uso de envases de atmósfera modificada (films de polipropileno) permitió mantener el aspecto del raspón de la uva de la variedad "Flame-Seedless" respecto a la uva sin atmósfera modificada (Martínez-Romero *et al.*, 2003a). En este caso la uva que estaba embolsada ("Autumn Royal) mostró una mejor coloración que la uva sin embolsar ("Crimson"). Después de 20 días de conservación a 2°C , el aspecto de los

raspones empeoró debido a la deshidratación y pardeamientos. En la **tabla 6** se observa que la evolución del estado del raspón guarda una relación con el número de tratamientos, siendo los que mejor guardan su color original los provenientes de racimos tratados por duplicado con gel de *Aloe vera*. Así, a los 20 días de almacenamiento las uvas control presentaban un aspecto marrón oscuro, mientras que las tratadas con gel de A. vera tenían un raspón de color amarillo-marrón (**Fotografía 49**). El uso del gel de A. vera ha permitido mantener el color verde del pedúnculo de cerezas (Martínez-Romero *et al.*, 2006) y el raspón de la uva de mesa (Valverde *et al.*, 2005b). Este efecto podría estar estrechamente ligado a la reducción de la deshidratación y a la pérdida de clorofilas de los tallos verdes.

Tabla 6. Valoración de la calidad visual del raspón¹ de los racimos control y tratados de las variedades 'Crimson' y 'Autum Royal' después de 20 y 21 días de conservación a 2 °C, respectivamente.

Variedad	Días de consevación a 2 °C	Tratamientos		
		Control	T1	T2
Crimson	20	2,20 ± 0,20 aA	2,90 ± 0,18 bA	3,00 ± 0,17 bA
Autumn Royal	21	2,50 ± 0,18 aA	3,30 ± 0,11 bB	3,50 ± 0,15 bB

¹Escala subjetiva del aspecto visual del raspón a partir de la valoración visual de 4 jueces: **5** Verde turgente, **4** Verde-Amarillo turgente, **3** Amarillo-Marrón, **2** Marrón oscuro, **1** Gris raspón muy seco

²Diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos y diferentes letras mayúsculas diferencias significativas entre variedades.

Según la escala establecida, el límite de valoración de la calidad del raspón estaría en 3, por lo que las uvas control de la variedad "Autumn Royal" estarían en su límite de calidad comercial después de 21 días de conservación en frío, mientras que las uvas control de la variedad "Crimson" habrían perdido ya su calidad comercial después de 20 días de conservación en frío. Sin embargo, en las dos variedades, los tratamientos T1 y T2 con el gel de aloe, conllevaron a que la calidad del raspón estuviera por encima de este valor límite después de este tiempo de conservación, y por tanto, con una calidad aún adecuada para su comercialización.



Fotografía 49: Estado de los racimos de la uva de mesa "Autumn Royal" con diferentes tratamientos de gel de *A. vera* a los 20 días de conservación a 2 °C. **Fuente:** S. Castillo.

Carga microbiana

Para las dos variedades de uva, los tratamientos con gel de *Aloe vera* fueron eficaces en la reducción de la población microbiana con respecto a las uvas control, tanto para mohos y levaduras como para aeróbios totales. Estas diferencias se mantuvieron también a lo largo del almacenamiento con recuentos

que siempre fueron significativamente menores en las uvas tratadas con gel de *Aloe vera* que en los frutos control.

Con respecto al recuento de mohos y levaduras, el último día de muestreo, las uvas control "Autumn Royal" en cultivo convencional mostraron un valor de $4,09 \times 10^4$ UFC, mientras que las T1 y T2 obtuvieron valores de $1,62 \times 10^4$ y $8,92 \times 10^3$ UFC, respectivamente (**Figura 28a**). Para las uvas "Crimson" en cultivo ecológico, se obtuvieron valores de $1,28 \times 10^4$ UFC para los controles, mientras que para T1 y T2 los valores obtenidos fueron, respectivamente, $9,8 \times 10^3$ y $1,2 \times 10^4$ UFC (**Figura 28b**).

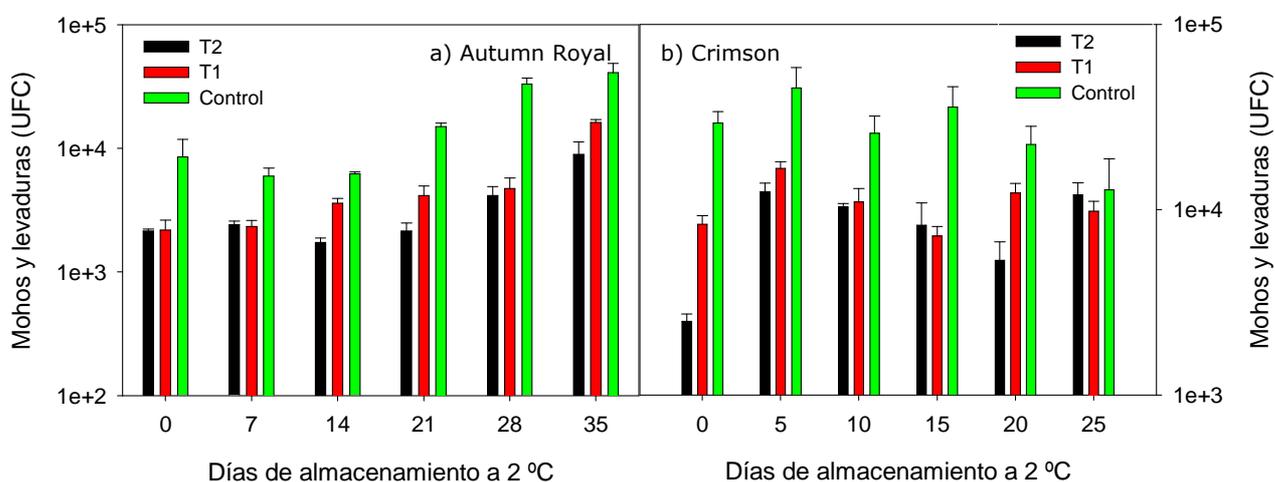


Figura 28. Recuento de mohos y levaduras en uva de mesa "Autumn Royal" en cultivo convencional (a) y "Crimson" en ecológico (b) durante el almacenamiento post-cosecha a 2 °C tras haber sido tratadas con gel de *A. vera* 1 día antes de la recolección (T1) y 1 y 7 días antes de la recolección (T2). Las uvas control no fueron tratadas. Los datos son la media \pm ES.

En cuanto a los aeróbios mesófilos el último día de muestreo, las uvas control "Autumn Royal" mostraron un valor de $4,66 \times 10^4$ UFC, mientras que las T1 y T2 obtuvieron valores de $1,22 \times 10^4$ y $7,72 \times 10^3$ UFC, respectivamente (**Figura 29a**). Para las uvas "Crimson" ecológicas, se obtuvieron valores de $4,52 \times 10^4$ UFC para los controles, mientras que para T1 y T2 los valores obtenidos fueron, respectivamente, $1,41 \times 10^4$ y 1×10^4 UFC (**Figura 29b**).

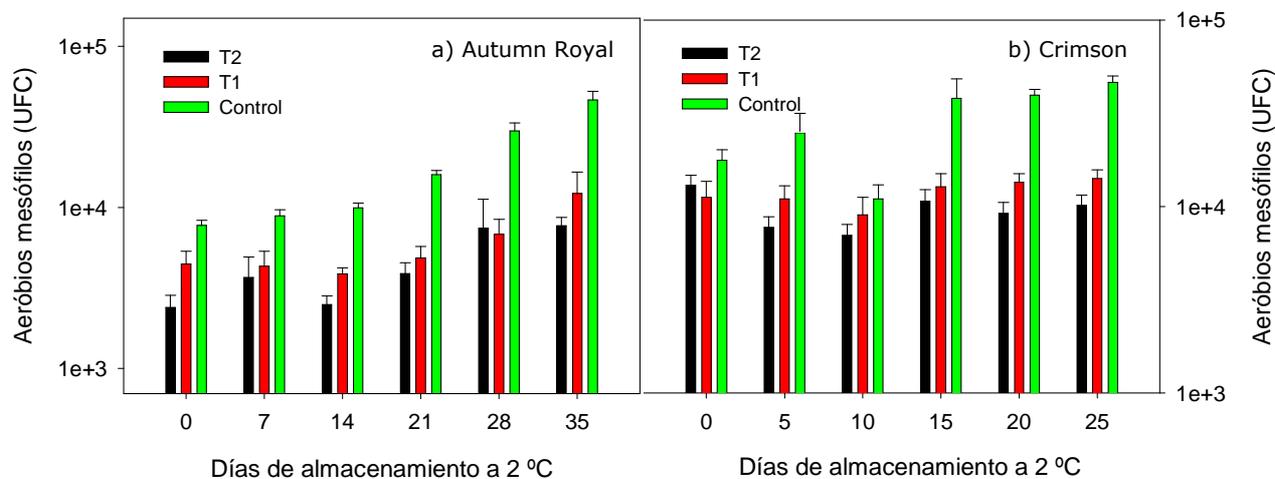


Figura 29. Recuento de aeróbios mesófilos en uva de mesa convencional “Autumn Royal” en cultivo convencional (a) y “Crimson” en ecológico (b) durante el almacenamiento post-cosecha a 2 °C tras haber sido tratadas con gel de *A. vera* 1 día antes de la recolección (T1) y 1 y 7 días antes de la recolección (T2). Las uvas control no fueron tratadas. Los datos son la media \pm ES.

El número de bayas con síntomas de podredumbres fue aumentando durante el período de conservación, no obstante, las uvas control presentaron un mayor porcentaje de bayas podridas que las uvas tratadas con gel de *A. vera*, siendo este efecto evidente en las dos variedades estudiadas (**Figura 30**). Sin embargo, esta diferencia fue más acusada en la uva “Autumn Royal” en cultivo convencional, mostrando el último día del experimento un porcentaje de podredumbre de $21 \pm 2,8\%$ en la uva control. Sin embargo, este porcentaje fue mucho menor en las uvas tratadas con gel de *A. vera*. En concreto, para las uvas T1 el porcentaje de podredumbre fue de $11 \pm 1,7\%$ y en las uvas T2 este porcentaje disminuyó hasta $5 \pm 1,1\%$ (**Figura 30a**). Por otro lado, el último día del experimento la uva de mesa “Crimson” en cultivo ecológico presentó un porcentaje de bayas podridas de $31,2 \pm 3,7\%$ en la uva control y de $18,8 \pm 2,9$ y $10,4 \pm 0,97\%$ para la uva T1 y T2, respectivamente (**Figura 30b**).

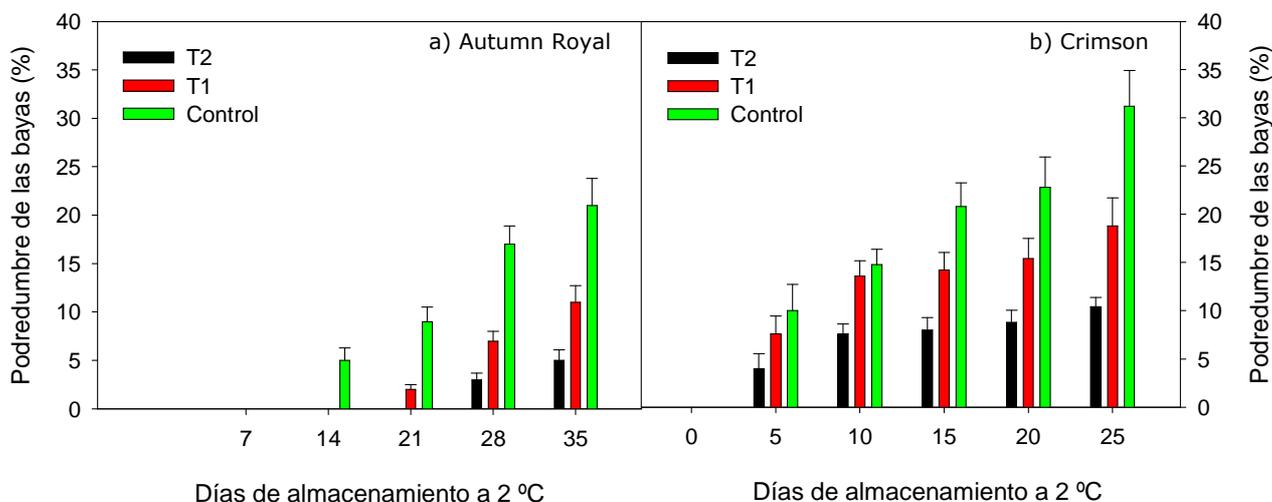


Figura 30. Porcentaje de bayas podridas en uva de mesa “Autumn Royal” en cultivo convencional (a) y “Crimson” en ecológico (b) durante el almacenamiento post-cosecha a 2 °C tras haber sido tratadas con gel de *A. vera* 1 día antes de la recolección (T1) y 1 y 7 días antes de la recolección (T2). Las uvas control no fueron tratadas. Los datos son la media ± ES.

Estos resultados confirman la actividad antifúngica del gel de *A. vera*, tal como se demostró en el capítulo 1 (en el que se puso de manifiesto el poder antifúngico del gel de *A. vera*, sólo o con la adición de timol, sobre nectarinas infectadas con *Rhizopus stolonipher*, *Botrytis cinerea* y *Penicillium digitatum*) y en el capítulo 2, en el que se trataron con diferentes geles de *A. vera* antes de la recolección distintas frutas de hueso, las cuales tenían menos carga microbiana cuando se analizaron el mismo día de la recolección. Por otra parte, la reducción de los recuentos viables observada en este experimento fue ligeramente menor que la obtenida cuando el *Aloe vera* se aplicó como recubrimiento comestible después de la recolección (Valverde *et al.*, 2005b), cuya reducción fue de 2- y 3-log UFC g⁻¹ para mohos y levaduras y aeróbicos mesófilos, respectivamente. Se ha demostrado que la actividad antifúngica del *Aloe vera* se basa en la supresión de la germinación y la inhibición del crecimiento del micelio, y se podría atribuir a la presencia de más de un compuesto activo con actividad antifúngica (Ali *et al.*, 1999), aunque el mecanismo de acción específico todavía se desconoce.

Con todos estos resultados se demuestra que el tratamiento de los racimos con gel de *Aloe vera* antes de la recolección retrasa el proceso de maduración de la uva de mesa durante su conservación en ambas variedades. Este retardo se caracterizó por la reducción de la tasa de respiración y de las pérdidas de peso, así como por el mantenimiento de la firmeza y el color. Es bien conocido que la vida útil de la uva de mesa viene determinada por la tasa de respiración y las pérdidas de peso, y además, que al aumentar la deshidratación las uvas son más susceptibles a la pudrición por hongos (Crisosto *et al.*, 2002a; Martínez-Romero *et al.*, 2003a). Durante el periodo de almacenamiento, las uvas control mostraron una tasa de respiración y una pérdida de agua significativamente mayor que las uvas tratadas con gel de *Aloe vera*, en ambas variedades. Además en el capítulo 1 se ha visto que al aplicar sobre nectarinas gel de *Aloe vera* antes del almacenamiento en post-recolección, se reducen las pérdidas de peso y la tasa de respiración.

4.3.4. CONCLUSIONES

Los resultados de este capítulo muestran que el gel de *A. vera* podría ser aplicado antes de la recolección, como tratamiento para inhibir el deterioro microbiano y reducir la incidencia de podredumbres en uva de mesa durante el almacenamiento en post-cosecha, con un efecto adicional retrasando la maduración del fruto. Además, los tratamientos con gel de aloe dieron al raquis un mejor aspecto, retrasando los síntomas de pardeamiento, y la deshidratación después de unos 30 días de almacenamiento en frío. Estos efectos se han mejorado después de 2 aplicaciones con gel de *Aloe vera* T2 en comparación con T1.

4.4. EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS DE CIRUELA Y MELOCOTÓN, EN POST-RECOLECCIÓN, CON GELES DE *Aloe vera* Y *Aloe arborescens* SOBRE SU CALIDAD DURANTE LA CONSERVACIÓN

4.4.1. INTRODUCCIÓN

En el capítulo 1 se ha demostrado que el gel de *Aloe vera* aplicado sobre nectarinas justo después de la recolección, fue eficaz inhibiendo el desarrollo de los hongos más comunes responsables de las podredumbres de los frutos en post-recolección. Por otra parte, el recubrimiento de las nectarinas con gel de *A. vera* también dio lugar a un retraso en el proceso de maduración. Además, en el capítulo 2 se ha demostrado que el gel de aloe aplicado en las últimas fases del desarrollo en el árbol reduce el crecimiento microbiano y la incidencia de podredumbres en frutas de hueso (cerezas, nectarinas y melocotones) sin modificar la calidad ni el patrón de maduración del fruto en el árbol.

En vista de los resultados obtenidos, se decidió estudiar el efecto del gel de *A. vera* sobre otras variedades de frutas de hueso, pero esta vez aplicando el gel en post-cosecha sobre frutos a los que no se les había inoculado ningún hongo. Además del gel de *A. vera*, también se estudió el efecto del gel de *A. arborescens*.

Así pues, el objetivo de este capítulo fue estudiar el efecto de los geles de *A. vera* y *A. arborescens* en diferentes parámetros relacionados con la calidad del fruto. Los frutos estudiados fueron ciruela "Santa Rosa" y melocotón "Redhaven".

4.4.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

En este experimento se trataron con gel de *Aloe vera* y gel de *Aloe arborescens* ciruelas de la variedad "Santa Rosa" y melocotones de la variedad "Redhaven". Los geles de aloe se obtuvieron en nuestro laboratorio a partir de plantas de la parcela ecológica de la Universidad Miguel Hernández en la Escuela Politécnica Superior de Orihuela, Alicante, España. El proceso de obtención del gel ecológico se realizó tal como se explica indica en Materiales y Métodos.

Las ciruelas “Santa Rosa” fueron suministradas por la empresa “Los Frutales”, y se encontraban en una finca comercial localizada en el término municipal de Villena, Alicante, España (**Fotografía 23 a y b**). Por otro lado, los melocotones se encontraban en una finca del término municipal de Ajunzalejo, Murcia, España (**Fotografía 23 a y 24**).

Los frutos se recolectaron en estado de maduración comercial y se transportaron inmediatamente al laboratorio de Post-recolección, tomando las medidas necesarias para evitar posibles daños en el material vegetal. Una vez en el laboratorio, para cada variedad de fruta se seleccionaron 4 lotes de 20 frutos homogéneos en tamaño y color. Un lote se utilizó para analizar las propiedades de los frutos en el momento de la recolección, día 0. Dos lotes fueron tratados por inmersión en la solución del gel correspondiente durante 10 minutos y un cuarto lote fue el control no tratado, que se sumergió en agua destilada también durante 10 minutos. Transcurrido este tiempo se sacaron y se dejaron a temperatura ambiente durante 6 días. Las tasas de respiración y de producción de etileno se midieron diariamente en cada fruto individual y después de 6 días se determinaron las pérdidas de peso, el color, la firmeza y el índice de madurez, también individualmente en cada fruto. Los datos son la media \pm ES.

Análisis estadístico

Los datos de las determinaciones analíticas se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA). Las fuentes de variación fueron el tiempo de almacenamiento y los tratamientos. Las comparaciones de medias se realizaron utilizando el test de Tukey para examinar si las diferencias fueron significativas a $P < 0,05$. Todos los análisis se realizaron con el programa estadístico SPSS, paquete de software versión 11.0 para Windows.

4.4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tasa de respiración y producción de etileno

Como se muestra en la **figura 31**, la tasa de respiración de las ciruelas y los melocotones sufrió un considerable descenso durante el primer día a 20 °C. Los melocotones pasaron de $\approx 95 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ el día 0 a $\approx 50 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ el día 1 (**Figura 31a**), no existiendo diferencias significativas entre los tratamientos. Por otra parte, las ciruelas pasaron de tener unos valores de $\approx 112 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ el día 0 a $\approx 48-66 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ el día 1, siendo este descenso más acusado en los frutos tratados con gel de *A. arborescens* (**Figura 31b**). A partir del día 1 en los melocotones y del día 2 en las ciruelas la tasa de respiración aumentó de forma lineal, no existiendo diferencias significativas debidas a los tratamientos en los melocotones, alcanzándose el último día de almacenaje valores de $\approx 83 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Sin embargo, en las ciruelas la tasa de respiración fue significativamente más baja en las tratadas con geles de aloe, sobre todo en las tratadas con *A. vera*.

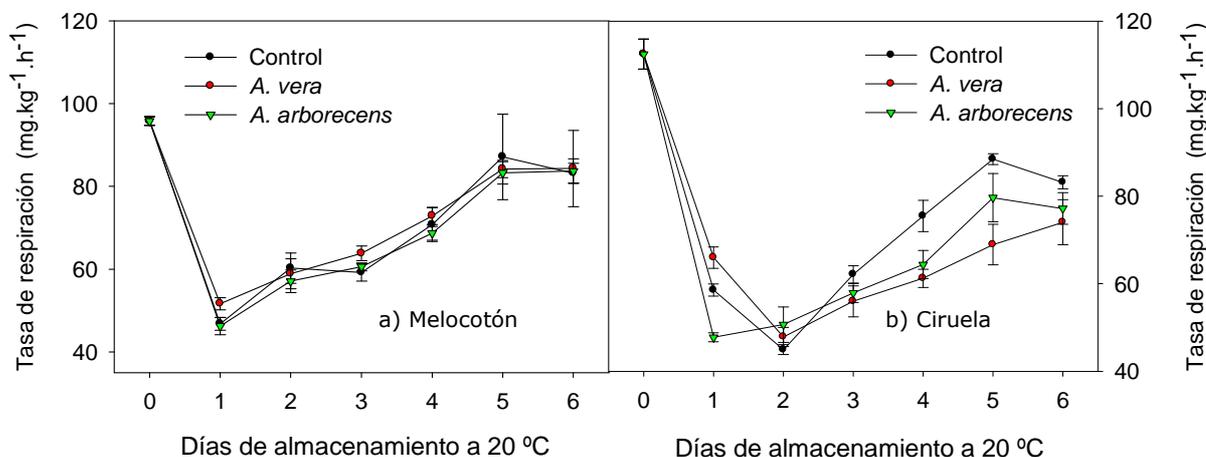


Figura 31. Evolución de la tasa de respiración en melocotón “Redhaven” (a) y ciruela “Santa Rosa” (b) durante el almacenamiento post-cosecha a 20 °C tras haber sido tratadas con gel *A. vera* y *A. arborescens*. Los frutos control no fueron tratados. Los datos son la media \pm ES.

Durante los 6 días de almacenamiento a 20 °C la producción de etileno aumentó tanto en las ciruelas como en los melocotones (**Figura 32**), aunque existieron diferencias significativas debidas a los tratamientos con los geles de aloe. Así pues, el último día de almacenaje los melocotones mostraron los valores más bajos de etileno en los frutos tratados con gel de *A. arborescens* ($4,34 \pm 0,41 \text{ nL g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) (**Figura 32a**). Sin embargo, en las ciruelas (**Figura 32b**) los valores más bajos de etileno se observaron en los frutos tratados con gel de *A. vera* ($11,5 \pm 2,8 \text{ nL g}^{-1} \text{ h}^{-1}$).

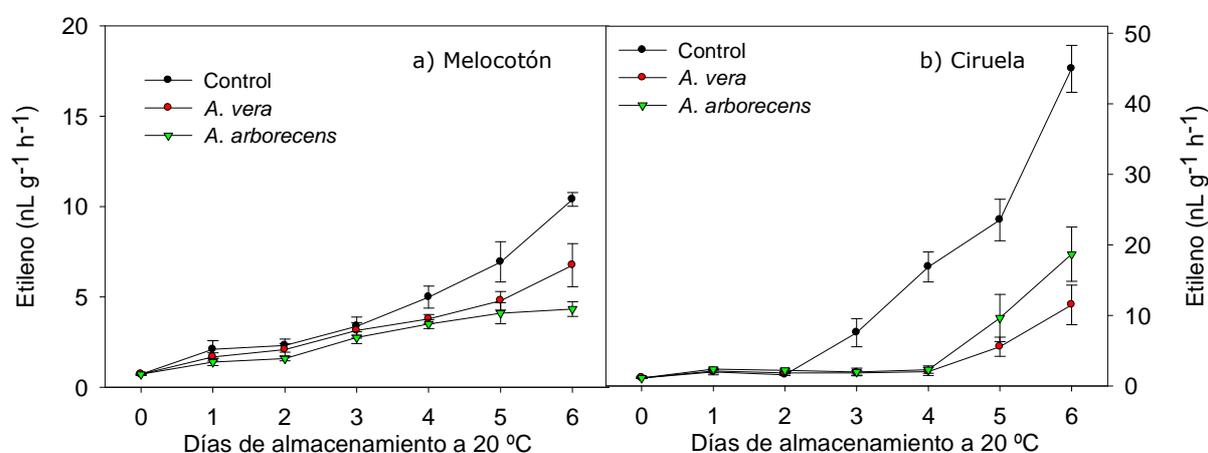


Figura 32. Evolución de la producción de etileno en melocotón “Redhaven” (a) y ciruela “Santa Rosa” (b) durante el almacenamiento post-cosecha a 20 °C tras haber sido tratadas con gel *A. vera* y *A. arborescens*. Los frutos control no fueron tratados. Los datos son la media \pm ES.

Se confirma así el comportamiento climatérico de estos frutos, ya que la producción de etileno continuaba aumentando después de la recolección. En el caso de la ciruela “Santa Rosa”, hemos obtenido resultados muy similares a los descritos por Martínez-Romero *et al.* (2003b). Por otro lado, en el caso de los melocotones, si consideramos los datos obtenidos tras el almacenaje a 20 °C durante 6 días y los comparamos con los resultados obtenidos en el capítulo 2, vemos que ambas variedades se recolectaron en estado pre-climatérico, con una producción de etileno muy baja, pero en un estado fisiológico en el que el fruto ya ha adquirido su capacidad para madurar y el climaterio se produce después de la recolección, incrementando la producción de etileno durante la post-cosecha

(Giovannoni, 2001). Esto también ocurre en otras variedades climatéricas de ciruelas como "Black Diamond", "Black Star", "Santa Rosa" y "President" (Serrano *et al.*, 2003; Martínez-Romero *et al.*, 2003b; Serrano *et al.*, 2004). Además, la producción de etileno de los frutos tratados con geles de aloe, independientemente del tipo de fruto, fue significativamente menor que en los frutos control, por lo que al ser el etileno la hormona responsable de la maduración en estos frutos climatéricos, se puede afirmar que la aplicación de los tratamientos con geles de aloe retarda el proceso de maduración, de acuerdo con trabajos recientes de nectarinas tratadas con recubrimientos de gel de *A. vera* (Ahmed *et al.*, 2009). Sin embargo, esta es la primera vez que se aplica el gel de *A. arborescens* como recubrimiento de frutos y que se obtiene un efecto inhibiendo y/o retrasando la producción de etileno.

Firmeza

Tras 6 días de almacenamiento a 20 °C la firmeza de los melocotones y las ciruelas disminuyó drásticamente. Así, los melocotones pasaron de presentar una firmeza de $10,33 \pm 0,56 \text{ N mm}^{-1}$ el día 0 a $\approx 4 \text{ N mm}^{-1}$ el último día de almacenaje (**Figura 33**). Por su parte, las ciruelas pasaron de $6,87 \pm 0,38 \text{ N mm}^{-1}$ el día de la recolección a $\approx 3,5 \text{ N mm}^{-1}$ el último día de almacenamiento (**Figura 33**). Asimismo, la firmeza disminuyó en los melocotones y ciruelas tratados con gel de aloe y no existieron diferencias significativas entre los frutos control y los tratados a los 6 días de conservación a 20 °C. El proceso de ablandamiento en los frutos climatéricos está controlado por el etileno (Bennett y Labavitch, 2008), por lo que era de esperar que en los frutos tratados con los geles de aloe la firmeza fuera mayor que en los controles. Sin embargo, la firmeza solo se determinó en los 6 días de conservación, momento en el que ya se había iniciado el pico climatérico de etileno tanto en los frutos control como en los tratados, y aunque su tasa de producción de etileno era menor que en los controles, pudo ser suficiente para estimular la actividad de las hidrolasas de la pared celular implicadas en los procesos de ablandamiento (Thumdee *et al.*, 2010). A la vista de los resultados de etileno, podríamos suponer que las diferencias en firmeza entre los controles y tratados, podrían ser evidentes los días 3 y 4 de conservación, cuando aún no se

había iniciado el pico climatérico en los frutos tratados y sí en los controles, sobretodo en el caso de las ciruelas.

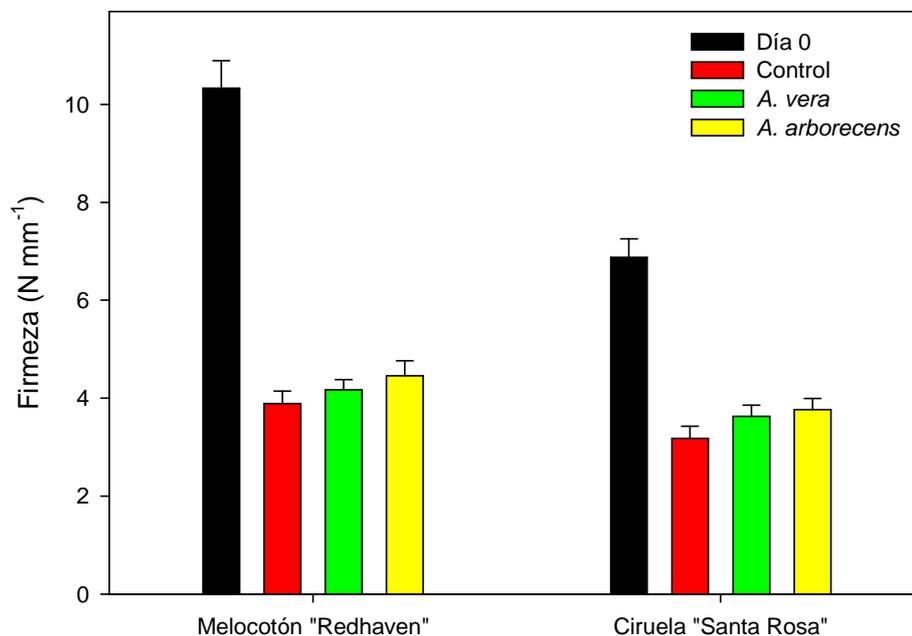


Figura 33. Efecto del gel de *A. vera* y del gel de *A. arborescens* sobre la firmeza en melocotones y ciruelas tras 6 días de almacenamiento a 20 °C. Los datos son la media \pm ES.

Pérdida de peso

Las pérdidas de peso son una de las principales causas de la pérdida de calidad durante la conservación post-recolección de frutas y hortalizas, ya que además de su acción por sí misma en el aspecto deshidratado que confiere al producto, incrementa su susceptibilidad a sufrir ataques microbianos, con importantes repercusiones económicas.

Tal como se observa en la **figura 34**, los tratamientos con geles de *A. vera* y *A. arborescens* fueron eficaces para reducir las pérdidas de peso de los frutos, aunque las ciruelas mostraron unas menores pérdidas de peso que los melocotones. Por otra parte, fue el gel de *A. arborescens* el que presentó los

valores más bajos de pérdidas de peso, tanto en las ciruelas como en los melocotones. Así, tras 6 días de almacenamiento a 20 °C los melocotones tratados con gel de *A. arborescens* mostraron un 2,6% menos de pérdidas que los melocotones control y un 1,4% menos que los tratados con gel de *A.vera* (**Figura 34**). Por su parte, las ciruelas tratadas con gel de *A. arborescens* mostraron un 3,7% menos de pérdidas que las ciruelas control y un 1,1% menos que las tratadas con gel de *A.vera* (**Figura 34**). Además, los porcentajes de pérdidas de peso de las ciruelas "Santa Rosa" control son muy similares a los descritos por Serrano *et al* (2003), siendo éstos de $\approx 5\%$.

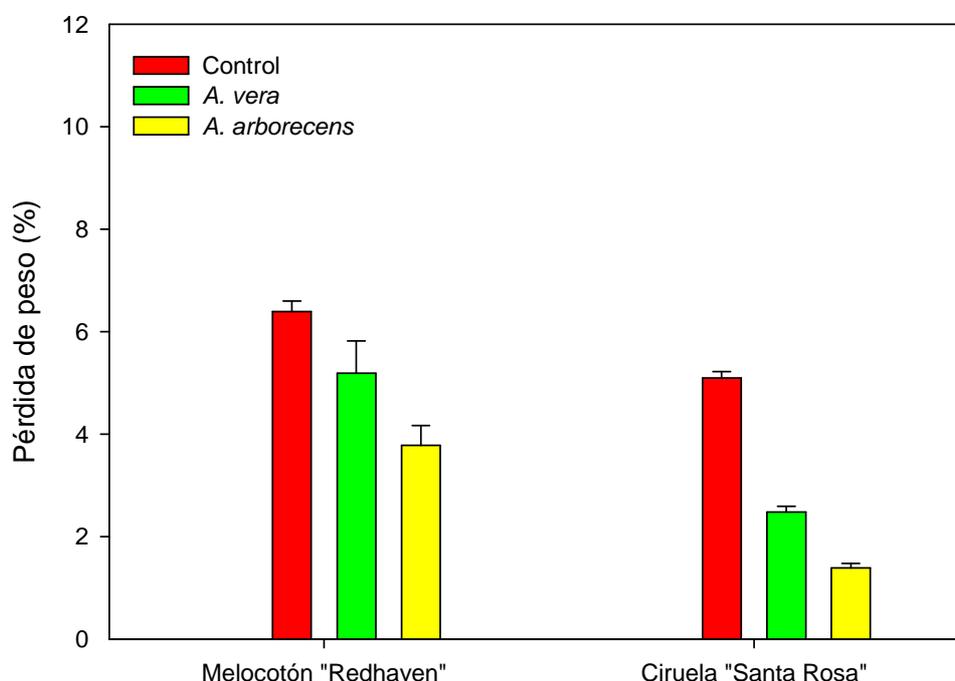


Figura 34. Efecto del gel de *A. vera* y del gel de *A. arborescens* sobre las pérdidas de peso en melocotones y ciruelas tras 6 días de almacenamiento a 20 °C. Los datos son la media \pm ES.

Como se ha comentado en capítulos anteriores, las pérdidas de peso después de la recolección son una consecuencia de la deshidratación del fruto, debido a los procesos de transpiración que suponen la transferencia de vapor de agua al interior del fruto a la atmósfera. La intensidad de la transpiración incrementa con la temperatura y con el descenso de la HR y en igualdad de condiciones ambientales dependerá de las características del fruto. Así, el espesor

de la epidermis y el recubrimiento de ceras de la cutícula son barreras fisiológicas para evitar la transpiración, y determinantes de las diferentes pérdidas de agua de los distintos frutos (Woods, 1990).

Color

En cualquiera de los frutos estudiados, el índice Croma (C^*) (**Figura 35**), calculado como $\sqrt{a^2 + b^2}$, disminuyó tras 6 días de almacenaje a 20 °C, siendo esta disminución mayor en los frutos control, los cuales pasaron de $52,71 \pm 1,91$ a $30,67 \pm 1,62$ en los melocotones y de $32,21 \pm 2,89$ a $18,35 \pm 1,13$ en las ciruelas (**Figura 35**). Sin embargo, aunque los frutos tratados con gel de *A. vera* y de *A. arborescens* redujeron sus valores del color C^* , esta disminución fue significativamente menor que en los frutos control, presentando valores finales de ≈ 45 y $\approx 22-24$ (**Figura 35**) para melocotones y ciruelas, respectivamente. No obstante, no existieron diferencias significativas entre los distintos tratamientos con gel de aloe.

La disminución del croma indica un cambio a colores menos vivos o intensos, asociados a los procesos de maduración de las frutas. En el capítulo 2 se ha visto que la evolución del color de cerezas, nectarinas y melocotones no se ve afectada por los tratamientos con gel de *A. vera* al ser aplicados antes de la recolección de los frutos. Sin embargo, los tratamientos con los geles de aloe aplicados tras la recolección retrasan el oscurecimiento de la piel de las ciruelas y los melocotones durante la conservación.

Para las variedades de ciruelas rojas la concentración total de antocianinas es mayor en la piel que en la pulpa, siendo la antocianina mayoritaria en ambos tejidos la cianidina 3-glucósido (Tomás-Barberá *et al.*, 2001; Vizzotto *et al.*, 2007; Díaz-Mula *et al.*, 2008). Las antocianinas también están presentes en los melocotones en una concentración total entre 1,5 y 260 mg^{-1} en los genotipos con la piel que va de blanco a rojo (Vizzotto *et al.*, 2007). Sin embargo, estos niveles de antocianinas podrían ser considerados como ilustrativos, ya que las condiciones ambientales y las prácticas culturales tienen un gran efecto en el contenido de antocianinas de una fruta en particular (Valero y Serrano, 2010).

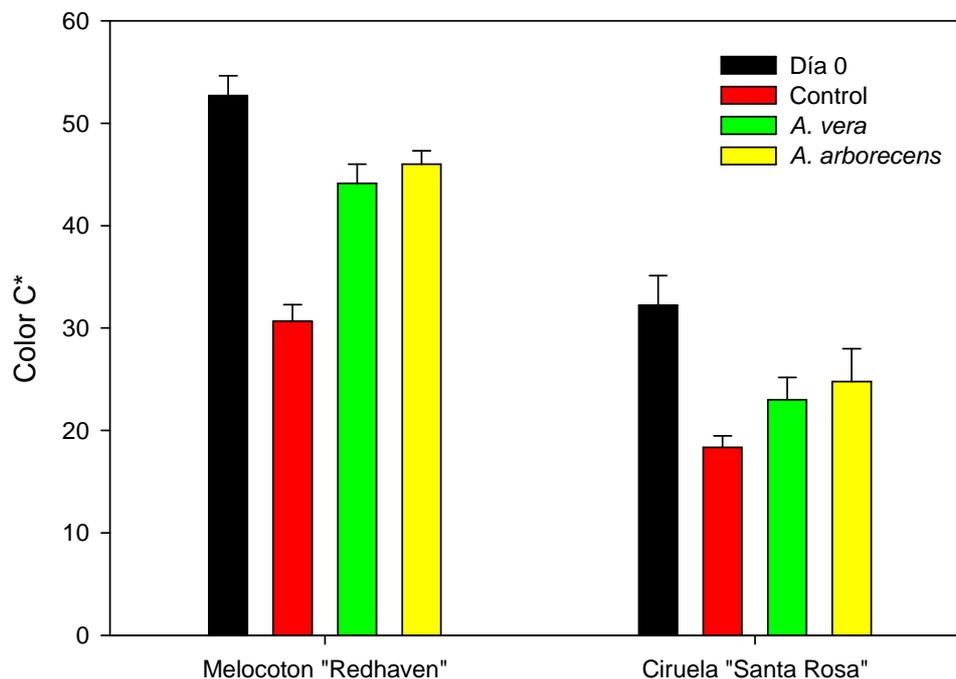


Figura 35. Efecto del gel de *A. vera* y del gel de *A. arborecens* sobre el color croma en melocotones y ciruelas tras 6 días de almacenamiento a 20 °C. Los datos son la media \pm ES.

Índice de madurez

Como ya hemos comentado en capítulos anteriores, el índice de madurez se expresa como la relación entre °Brix y la acidez. Tal como se observa en la **figura 36**, el índice de madurez aumentó en todos los frutos tras 6 días de almacenamiento a 20 °C, aunque el aumento fue mucho mayor en las ciruelas que en los melocotones. Así, en los melocotones control los valores pasaron de $10,95 \pm 0,18$ °Brix/Acidez el día 0 a $15,21 \pm 0,61$ °Brix/Acidez el último día de almacenaje (**Figura 36**). Sin embargo, las ciruelas control pasaron de $6,77 \pm 0,29$ °Brix/Acidez el día de la recolección a $33,79 \pm 2,11$ °Brix/Acidez al sexto día de almacenamiento a 20 °C (**Figura 36**). Por otra parte, tanto en los melocotones como en las ciruelas tratadas con los dos geles de aloe, el aumento en el índice de madurez fue mucho menor, presentando valores de ≈ 12 y ≈ 24

°Brix/Acidez para melocotones y ciruelas, respectivamente, no existiendo diferencias entre los tratamientos (**Figura 36**).

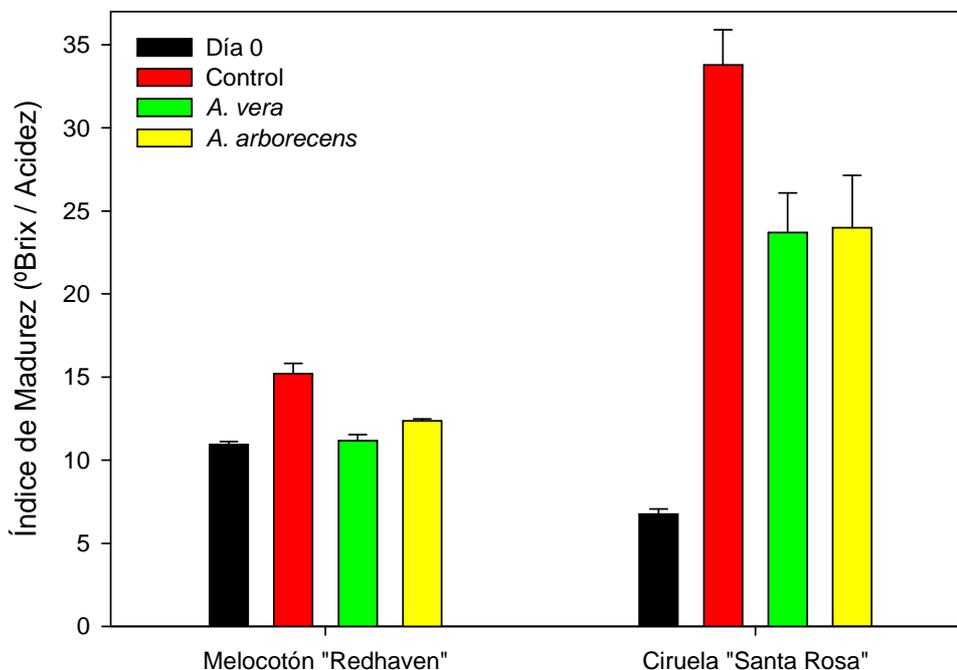


Figura 36. Efecto del gel de *A. vera* y del gel de *A. arborecens* sobre el color croma en melocotones y ciruelas tras 6 días de almacenamiento a 20 °C. Los datos son la media \pm ES.

El aumento del índice de madurez fue consecuencia de un aumento en el nivel de SST y un descenso de la AT, aunque la magnitud de estos cambios fue diferente en los dos frutos estudiados y también dependiente del tratamiento (**Tabla 7**). Así, en los melocotones los SST aumentaron de $8,05 \pm 0,03$ °Brix el día cero hasta $8,93 \pm 0,04$ °Brix el día 6, mientras que la acidez disminuyó desde $0,73 \pm 0,02$ hasta $0,59 \pm 0,02$ %. Sin embargo, en las ciruelas control estos cambios fueron mucho más acusados, pasando los SST de $12,82 \pm 0,02$ a $15,17 \pm 0,26$ °Brix y los de acidez de $1,91 \pm 0,08$ a $0,45 \pm 0,03$ %. No obstante, en ambos frutos los tratamientos con estos geles de aloe disminuyeron significativamente los cambios de ambos parámetros.

Tabla 7. Acidez total (%) y sólidos solubles totales (°Brix) en melocotones “Redheaven” y ciruelas “Santa Rosa” en el momento de la recolección y después de 6 días de conservación a 20 °C. Los frutos fueron tratados con gel de *A. vera* y gel de *A. arborescens*.

Fruto	Días de conservación 20 °C	Tratamientos		
		Control	<i>A. vera</i>	<i>A. arborescens</i>
		Acidez Total (%)	Acidez Total (%)	Acidez Total (%)
Melocotón	0	0,73 ± 0,02	–	–
	6	0,59 ± 0,02	0,79 ± 0,03	0,73 ± 0,02
Ciruela	0	1,91 ± 0,08	–	–
	6	0,45 ± 0,03	0,45 ± 0,03	0,61 ± 0,07
		°Brix	°Brix	°Brix
Melocotón	0	8,05 ± 0,03	–	–
	6	8,93 ± 0,04	8,88 ± 0,08	9,07 ± 0,04
Ciruela	0	12,82 ± 0,02	–	–
	6	15,17 ± 0,26	14,62 ± 0,07	13,4 ± 0,19

Tal como hemos comentado en diferentes ocasiones, al estar implicado el etileno en los procesos de maduración de los frutos, la disminución de su producción podría explicar el retraso en la evolución de los parámetros relacionados con la maduración, como la evolución del color y del índice de madurez, aunque no existiera efecto en la firmeza.

En el capítulo 2 se ha visto que el índice de madurez de las frutas estudiadas (cerezas, melocotones y nectarinas) no se ve afectado por los tratamientos con geles de *A. vera* al ser aplicados éstos durante la pre-cosecha. Sin embargo, en vista de los resultados obtenidos en este capítulo, podemos afirmar que los tratamientos con los geles de *A. vera* y *A. arborescens* retrasan la maduración de ciruelas y melocotones al ser aplicados después de la recolección. Estas diferencias pueden explicarse por el hecho de que en los tratamientos

precosecha el gel de aloe se aplica mediante pulverización y diluido al 33%, mientras que en los tratamientos post-cosecha se aplica en baño y sin diluir por lo que el recubrimiento de la superficie del fruto es mucho mayor en este último caso y en consecuencia, su efecto disminuyendo la tasa de respiración y el metabolismo general del fruto es más acusado. Por otra parte, los cambios en acidez, azúcares y síntesis de pigmentos responsables del color durante los últimos días de la maduración en el árbol dependen del aporte de compuestos orgánicos que los frutos reciben por el floema, aporte que no se ve afectado por los tratamientos de pulverización con gel de aloe. Sin embargo, una vez que el fruto se recolecta su metabolismo depende únicamente de las reservas que contenga y uno de los efectos más inmediatos del tratamiento con el gel de aloe, al igual que con otros recubrimientos comestibles, es disminuir la tasa de respiración, debido al aumento de la concentración de CO₂ y disminución de la de O₂ en los tejidos del fruto, por la disminución de la difusión de estos gases, a través de la superficie del fruto, que imponen los recubrimientos (Li y Yu, 2001; Maftoonazad *et al.*, 2008; Díaz-Mula, *et al.*, 2012). Al disminuir la tasa de respiración hay menos ATP disponible para el mantenimiento energético del metabolismo del fruto, por lo que también se frenan las reacciones metabólicas responsables de los cambios asociados a la maduración. Finalmente, los cambios en la atmósfera interna inducidos por los recubrimientos también disminuyen la síntesis de etileno, ya que un incremento de CO₂ inhibe la actividad ACC-sintetasa (Zapata *et al.*, 2008; de Wild *et al.*, 2005).

4.4.4. CONCLUSIONES

A la vista de los resultados obtenidos en este capítulo, los tratamientos con gel de *A. vera* y con gel de *A. arborescens* podrían ser aplicados en post-recolección para la reducción del proceso de maduración ya que se produjo una disminución significativa en la producción de etileno, pérdida de peso, evolución del índice de color croma y del índice de madurez.

4.5. CARACTERIZACIÓN DEL GEL DE OCHO ESPECIES DE *Aloe* OBTENIDO EN DIFERENTES ESTACIONES DEL AÑO

4.5.1. INTRODUCCIÓN

En la literatura aparecen numerosas referencias sobre los usos tradicionales de *Aloe* spp., pero no existe un análisis exhaustivo sobre la importancia etnobotánica y la composición química de diferentes especies de *Aloe*, a pesar de que este conocimiento tiene una importancia potencial en la conservación de la biodiversidad y el ecoturismo (Grace *et al.*, 2011). Sin duda, *Aloe vera* L. es una de las plantas medicinales más importantes del mundo, la cual proporciona las materias primas para diferentes usos (medicinal, bebidas tónicas, cosméticos y muchos otros usos en la industria alimentaria). El Comité Científico Internacional de Aloe (2012) proporcionó unas estadísticas que indican que a nivel mundial se cultivan aproximadamente 24.000 hectáreas de *A. vera*, con una gran importancia económica, cuyo valor asciende a 300 mil millones de dólares. Sin embargo, teniendo en cuenta el gran número de especies de *Aloe* existentes, es sorprendente que se haya investigado tan poco sobre el potencial uso comercial de otras especies que no sea *Aloe vera*. De hecho, actualmente, *Aloe arborescens* se encuentra en fase de desarrollo comercial en Japón e Italia, como una posible fuente alternativa de productos de gel, a pesar de que ya se utilizaba para el tratamiento de quemaduras provocadas por la radiación nuclear generada por la explosión de la bomba atómica sobre Hiroshima durante la Segunda Guerra Mundial (van Wyk y Gericked, 2000; van Wyk *et al.*, 2009). Del mismo modo, para *Aloe ferox* prácticamente no existen datos comercialmente relevantes, con la excepción de Sudáfrica, en donde el *Aloe ferox* es la especie de *Aloe* más comercializada, aunque el rendimiento del gel es aproximadamente del 50%, estando fuertemente influenciado por el contenido de agua de las hojas en el momento de la cosecha (Chen *et al.*, 2012; O'Brien *et al.*, 2011).

La mayor parte de los estudios sobre el gel de *Aloe* spp. se han realizado en *Aloe vera*, y como se ha visto en capítulos anteriores, el uso del gel de esta especie como tratamiento, tanto en pre-cosecha como en post-cosecha, ha dado resultados positivos en la conservación de los atributos de calidad y en la

reducción de la podredumbre causada por hongos en cereza, melocotón, nectarina y uva de mesa

En vista del gran número de especies de *Aloe* (se han descrito más de 400), es sorprendente que, hasta ahora, solo se hayan comercializado 3 especies, y se hayan publicado pocos trabajos que describan las propiedades de otras especies de *Aloe*. En este capítulo, se exponen los resultados de las características de las hojas y la composición química del gel de 8 especies de *Aloe* (*Aloe arborescens* Mill., *Aloe aristata* Haw, *Aloe claviflora* Strydenburg, *Aloe ferox* Mill., *Aloe mitriformis* Mill., *Aloe saponaria* Ait., *Aloe striata* Haw., y *Aloe vera* L.) recolectadas en 3 estaciones del año diferentes. Además, también se evaluó la actividad antifúngica de las hojas de las 8 especies contra los hongos patógenos más comunes de la fruta (*Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium expansum* y *Penicillium italicum*). Con esta información, se podrá determinar la posibilidad de utilizar otras especies de *Aloe*, además de *A. vera*, para obtener un gel que pueda usarse en tratamientos tanto de pre-cosecha como post-cosecha.

4.5.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

En este capítulo se han estudiado 8 especies de *Aloe*: *Aloe arborescens* Mill. (**Fotografía 3a**), *Aloe aristata* Haw (**Fotografía 3b**), *Aloe claviflora* Strydenburg (**Fotografía 3c**), *Aloe ferox* Mill. (**Fotografía 3d**), *Aloe mitriformis* Mill. (**Fotografía 3e**), *Aloe saponaria* Ait. (**Fotografía 3f**), *Aloe striata* Haw. (**Fotografía 3g**), y *Aloe vera* L. (**Fotografía 3h**). Las plantas de aloe se cultivaron en el huerto ecológico que la Universidad Miguel Hernández tiene en la Escuela Politécnica Superior de Orihuela, Alicante, España. Las hojas que se utilizaron para el estudio fueron las de las plantas que tenían 3 años de edad.

En el primer experimento (Año 2010) para cada una de las especies de *Aloe* spp, de 6 plantas diferentes se tomaron 6 hojas adultas próximas al suelo y de 3 años de edad en los siguientes momentos del año: a finales de febrero (invierno), a finales de mayo (primavera) y a finales de agosto (verano). Las hojas (recogidas 3 horas después del amanecer) fueron llevadas al laboratorio del grupo de Postrecolección, donde se pesaron y se midió la longitud, la anchura y el

espesor. Seguidamente, se cortaron los bordes y se eliminó manualmente el tejido del parénquima para obtener el gel de cada una de las hojas. Las determinaciones analíticas en el gel fueron: sólidos solubles totales (SST), pH, acidez total, proteínas totales, lípidos totales, contenido de poliaminas libres (putrescina, espermidina y espermina) y concentración de aloína A (barbaloina) determinada por HPLC, realizadas según se recoge en el apartado de técnicas analíticas.

En el segundo experimento (Año 2011) las hojas se cogieron de las mismas especies de *Aloe* a finales de agosto (verano), y se le inocularon varios hongos patógenos comunes en las plantas (*Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium expansum* y *Penicillium italicum*). Estos hongos se compraron a la Colección Española de Cultivos Tipo. Para las especies de *Aloe* con hojas pequeñas (*A. mitriformis*, *A. clavoiflora* y *A. aristata*) se utilizaron 8 hojas para cada especie de hongo, y en cada hoja se hicieron heridas (2x2 mm de longitud y ancho y 2 mm de profundidad) con una lanceta estéril a lo largo de su superficie. Para el resto de las especies de *Aloe*, se utilizaron 4 hojas por especie de hongo y a cada hoja se le practicaron las heridas. En cada herida se inocularon 20 μ L que contenían 100 esporas del stock de la especie de hongo correspondiente. Al cabo de 7 días se comprobó si los hongos habían crecido en la herida infectada o si ésta había cicatrizado y los resultados se expresaron como porcentaje de heridas infectadas de un total de 16 heridas para cada especie de hongo y de aloe.

Análisis estadístico

Los datos de las determinaciones analíticas se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA). Las fuentes de variación fueron las especies de *Aloe* y la época de recolección. Las comparaciones de medias se realizaron utilizando el test de Tukey para examinar si las diferencias fueron significativas a $P < 0,05$. Todos los análisis se realizaron con el programa estadístico SPSS, paquete de software versión 11.0 para Windows. La regresión lineal entre la concentración de aloína y el crecimiento de hongos en las heridas inoculadas se efectuó mediante el uso de SigmaPlot 11 para Windows.

4.5.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características de la hoja y del gel obtenido

Las dimensiones y peso de las hojas entre las 3 recolecciones efectuadas en primavera, verano e invierno no presentaron diferencias significativas, ya que en todos los casos sólo se cogieron las hojas externas de las plantas, por lo que los datos se expresan como el promedio de las tres medidas (**Tabla 8**). De acuerdo con estos resultados, Saks y Ish-Shalom-Gordon (1995) tampoco encontraron diferencias en el tamaño de la hoja de las plantas de *Aloe vera* cultivadas en diferentes condiciones climáticas y de suelo. Sin embargo, las diferentes especies de *Aloe* sí presentaron diferencias significativas en las dimensiones y peso de las hojas (**Tabla 8**). *A. mitriformis* y *A. aristata* mostraron las hojas más pequeñas (≈ 14 - 21 cm de longitud y ≈ 32 - 34 g de peso) y las hojas más largas se encontraron en *A. ferox* (≈ 66 cm de longitud y ≈ 725 g de peso). Además, las hojas de *A. ferox* también tenían el mayor espesor y la mayor anchura, tanto en los puntos basales como en el centro. Esta variabilidad en las dimensiones de la hoja de las diferentes especies de *Aloe*, probablemente se debe a una combinación de efectos genéticos y climáticos. En un artículo reciente sobre 24 plantas de *A. ferox* de ocho poblaciones, O'Brien *et al.* (2011) informaron que el peso medio de las hojas es de 650 g, la longitud media de 48,5 cm y la anchura de 10,8 cm, los cuales son unos resultados muy parecidos a los encontrados por nosotros en esta especie.

Tabla 8. Dimensiones y peso de la hoja de las diferentes especies de *Aloe*¹

<i>Aloe</i> spp	Dimensiones (cm)				Peso (g)
	Longitud	Anchura de la base	Anchura central	Espesor	
<i>A. arborescens</i>	42,4 ± 1,08 A	4,3 ± 0,14 A	3,0 ± 0,11 A	0,5 ± 0,02 A	50,6 ± 4,2 A
<i>A. aristata</i>	21,4 ± 0,52 B	4,9 ± 0,23 B	3,9 ± 0,15 B	0,9 ± 0,02 B	32,2 ± 1,6 B
<i>A. claviflora</i>	26,2 ± 1,60 C	6,8 ± 0,63 C	6,2 ± 0,52 C	2,6 ± 0,21 C	77,7 ± 3,5 C
<i>A. ferox</i>	66,0 ± 3,42 D	11,2 ± 0,83 D	12,8 ± 0,83 D	2,9 ± 0,17 C	725,3 ± 90,7 D
<i>A. mitriformis</i>	14,4 ± 0,28 E	5,2 ± 0,27 B	4,6 ± 0,28 E	0,7 ± 0,03 D	33,8 ± 1,0 B
<i>A. saponaria</i>	26,9 ± 1,03 C	9,9 ± 0,67 E	8,0 ± 0,56 C	1,1 ± 0,10 E	170,2 ± 10,3 E
<i>A. striata</i>	36,9 ± 0,90 F	10,5 ± 0,6 DE	12,3 ± 0,96 D	2,0 ± 0,14 F	343,3 ± 24,6 F
<i>A. vera</i>	68,3 ± 5,14 D	11,8 ± 0,48 D	9,6 ± 0,36 F	2,1 ± 0,17 F	559,9 ± 38,9 G

¹Los datos son la media ± ES de las determinaciones realizadas en las 3 estaciones del año. Para cada columna, las distintas letras mayúsculas muestran diferencias significativas ($P < 0,05$) entre *Aloe* sp.

En general, el rendimiento del gel de aloe disminuyó de invierno a verano (**Tabla 9**) en todas las especies, aunque el porcentaje de disminución difirió entre ellas. La mayor disminución, 22%, se observó en *A. saponaria*, sin embargo, en *A. claviflora*, *A. striata* y *A. vera* esta reducción no fue significativa. Además, el porcentaje de gel obtenido dependió también de la especie, siendo en las hojas de *A. vera* donde se obtuvo el mayor rendimiento (63-66%), seguida de *A. claviflora* (61-65%) y el menor rendimiento del gel se dio en *A. arborescens* (32-48%, dependiendo de la época del año). El pH también disminuyó de invierno a verano y los valores difieren entre *Aloe* spp., especialmente durante la temporada de

invierno. Estas especies de *Aloe* son plantas con fotosíntesis CAM, por lo que estos resultados indican que durante el invierno la capacidad fotosintética de acumulación de ácidos en la vacuola durante la noche es menor que en verano. Puesto que las hojas se cosecharon 3 horas después del amanecer, un valor de pH más bajo indicaría que se habría producido una mayor acumulación de ácidos en la vacuola durante el período nocturno (Walter y Leegood, 1996). Los valores de pH del gel de las diferentes especies de las muestras tomadas en la primavera y el verano se encuentran dentro del intervalo descrito previamente para el gel de *A. vera* (Eshun y He, 2004; Vega-Gálvez *et al.*, 2011).

Con respecto al contenido de sólidos solubles totales, también se encontraron diferencias entre las distintas especies de *Aloe* (**Tabla 9**), siendo los geles de *A. arborescens* los que mostraron mayor contenido de sólidos solubles totales, en torno a 2 °Brix y los de *A. ferox* los que presentaron los valores más bajos $\approx 0,6$ y ≈ 1 ° Brix, en invierno y verano respectivamente. Por otra parte, por lo general, no hubieron diferencias en los sólidos solubles de los geles entre los 3 momentos del año, con excepción de *A. claviflora*, *A. ferox* y *A. striata*, en los que se obtuvieron incrementos significativos de invierno a verano. El análisis de los lípidos totales y proteínas totales reveló que los geles obtenidos durante la temporada de verano mostraron la mayor concentración (**Tabla 10**), aunque existían diferencias entre las diferentes especies de *Aloe*. Así, *A. arborescens* tenía la mayor concentración de lípidos y proteínas, seguido por *A. mitriformis* y *A. striata*. Beppu *et al.* (2004) estudiaron los componentes químicos de *A. arborescens*, pero utilizando toda la hoja (epidermis y parénquima), y encontraron que los niveles de proteínas totales también fueron más altos en estaciones templadas que en la temporada de frío, mientras que no se encontraron diferencias significativas para los polisacáridos totales. En el caso de *Aloe vera*, los sólidos solubles en el gel se encontraron en un 0,56%, con algunas fluctuaciones estacionales, mientras que los niveles de proteínas y lípidos fueron del 7 y el 4% (Ahlawat y Khatkar, 2011), o el 3,7 y el 4,5% (Vega-Gálvez *et al.*, 2011), respectivamente, en base a materia seca.

Tabla 9. Valores del rendimiento del gel (%) y pH y sólidos solubles totales en los geles de las diferentes especies de *Aloe* obtenidos en las tres estaciones del año¹

<i>Aloe</i> spp.	Rendimiento del Gel de Aloe (%)			pH			Sólidos Solubles Totales (g 100 g ⁻¹)		
	Invierno	Primavera	Verano	Invierno	Primavera	Verano	Invierno	Primavera	Verano
<i>A. arborescens</i>	43,78±1,03 Aa	38,10±1,75 Ab	32,27±1,34 Ac	7,09±0,07 Aa	4,78±0,05 Ab	4,66±0,06 Ab	2,15±0,02 Aa	2,10±0,07 Aa	1,91±0,04 Aa
<i>A. aristata</i>	50,28±2,12 Ba	40,57±2,50 Bb	43,89±0,78 Bb	7,48±0,25 Ba	4,90±0,02 Ab	4,71±0,03 Ac	1,10±0,10 Ba	1,15±0,02 Ba	1,15±0,02 Ba
<i>A. claviflora</i>	65,80±1,36 Ca	62,57±4,45 Ca	61,72±3,80 Ca	7,52±0,13 Ba	4,84±0,06 Ab	5,01±0,07 Bb	1,25±0,02 Ba	1,45±0,05 Cb	1,50±0,06 Cb
<i>A. ferox</i>	58,98±1,88 Da	51,72±3,54 Db	51,34±3,59 Db	6,82±0,02 Ca	4,63±0,05 Ab	4,67±0,02 Ab	0,63±0,08 Ca	0,86±0,07 Db	1,06±0,06 Bc
<i>A. mitriformis</i>	58,89±1,56 Da	54,79±2,95 Da	50,67±2,25 Db	7,79±0,09 Da	4,64±0,02 Ab	4,69±0,03 Ab	1,75±0,03 Da	1,71±0,06 Ea	1,62±0,06 Da
<i>A. saponaria</i>	62,10±0,83 Da	52,38±1,05 Db	48,86±2,35 Db	5,52±0,03 Ea	4,86±0,02 Ab	4,76±0,05 Ab	1,41±0,03 Ea	1,45±0,05 Ca	1,51±0,06 Ca
<i>A. striata</i>	57,24±2,13 Da	56,28±1,05 Da	56,90±3,05 Ca	5,73±0,07 Fa	4,96±0,04 Ab	4,98±0,03 Bb	1,30±0,09 Ba	1,60±0,04 Eb	1,69±0,05 Db
<i>A. vera</i>	66,47±1,59 Ca	65,76±1,13 Ca	63,38±1,04 Ca	5,30±0,28 Ea	4,61±0,03 Ab	4,58±0,01 Ab	1,12±0,02 Ba	1,11±0,03 Ba	1,15±0,03 Ba

¹Los datos son la media ± ES. Para cada columna, las letras mayúsculas muestran diferencias significativas ($P < 0.05$) entre *Aloe* spp. Para cada fila, las letras minúsculas muestran las diferencias significativas ($P < 0,05$) entre las 3 estaciones.

Tabla 10. Lípidos totales y proteínas en los geles de las distintas especies de *Aloe*¹ obtenidos en las tres estaciones del año

<i>Aloe</i> spp	Lípidos Totales (g 100g ⁻¹)			Proteínas Totales (g 100 g ⁻¹)		
	Invierno	Primavera	Verano	Invierno	Primavera	Verano
<i>A. arborescens</i>	0,13±0,03 Aa	0,15±0,01 Aa	0,42±0,02 Ab	0,26±0,01 Aa	0,31±0,02 Aa	0,54±0,05 Ab
<i>A. aristata</i>	0,10±0,01 Aa	0,06±0,01 Bb	0,18±0,03 Bc	0,14±0,01 Ba	0,06±0,02 Bb	0,12±0,01 Ba
<i>A. claviflora</i>	0,14 ±0,02 Aa	0,07±0,01 Bb	0,29±0,03 Cc	0,26±0,05 Aa	0,24±0,05 Aa	0,24±0,01 Ca
<i>A. ferox</i>	0,07±0,03 Aa	0,07±0,01 Ba	0,17±0,03 Bc	0,05±0,01 Ca	0,02±0,01 Ba	0,15±0,03 Bb
<i>A. mitriformis</i>	0,11±0,01 Aa	0,09±0,01 Ba	0,36±0,02 Ab	0,28±0,01 Aa	0,11±0,02 Cb	0,39±0,01 Dc
<i>A. saponaria</i>	0,13±0,03 Aa	0,09±0,01 Ba	0,19±0,03 Bb	0,11±0,02 Ba	0,09±0,01 Ca	0,17±0,01 Bb
<i>A. striata</i>	0,12±0,02 Aa	0,09±0,01 Ba	0,36±0,04 Ab	0,14±0,01 Ba	0,06±0,02 Bb	0,25±0,01 Cc
<i>A. vera</i>	0,11±0,02 Aa	0,08±0,01 Ba	0,19±0,02 Bb	0,20±0,03 Aa	0,16±0,05 Ca	0,22±0,01Ca

¹Los datos son la media ± ES. Para cada columna, las letras mayúsculas muestran diferencias significativas ($P<0,05$) entre *Aloe* spp. Para cada fila, las letras minúsculas muestran las diferencias significativas ($P<0,05$) entre las 3 estaciones.

Concentración de aloína

Uno de los principales constituyentes biológicamente activos de los extractos de aloe es la aloína o barbaloina (10-glucopiranosil-1,8-dihidroxi-3-(hidroximetil)-9 (10H)-antracena), que se encuentra en la naturaleza como una mezcla de dos diastereoisómeros, aloína A (10R) y aloína B (10 S). Estos dos compuestos se usan generalmente como componentes clave para el control de calidad de esta planta y sus derivados. La aloína generalmente se encuentra a elevada concentración en el exudado que se segrega de las hojas recién cortadas, mientras que cantidades muy bajas de aloína se encuentran en gel de aloe obtenido de la masa interna de la hoja de aloe (Fanalli *et al.*, 2010). Estos autores encontraron que, la concentración aloína osciló entre 1-9 mg 100 g⁻¹ de peso fresco dependiendo de la especie de *Aloe* y la época del año.

La mayor parte de la literatura que existe sobre el contenido de aloína trata sobre la especie más estudiada, que es el *A. vera*, para la cual se han encontrado concentraciones entre 0,3 y 15 mg 100 g⁻¹ de peso fresco (Bozzi *et al.*, 2007; Miranda *et al.*, 2009; Vega-Gálvez *et al.*, 2012). Sin embargo, en otras partes de la hoja como en la capa epidérmica interior, se han encontrado concentraciones más altas de aloína. Así, en estos tejidos la concentración de aloína para *A. arborescens*, *A. Vera* y *A. striata* fue de 0,7, 0,5 y 0,07 mg de 100 g⁻¹ respectivamente (Okamura *et al.*, 1996). Aparte de aloína, una oxantrona (10-hidroxi-B 6'-O-acetato) se identificó como componente de las antronas en *A. claviflora* (Dagne *et al.*, 1998), mientras que en el caso de *A. ferox*, aloeresina A y aloesina también son abundantes, y 8-O-metil-7-hydroxyaloin A y B son características de *A. vera* (Fanalli *et al.*, 2010). Estos compuestos pueden servir como huellas digitales fitoquímicas para estas especies de *Aloe*. En un artículo reciente, se han descrito el 5-hydroxyaloin A, y los aloinosidos A y B como antrona-C-glucósidos típicos de *A. ferox*, los cuales pueden ser metabolizados a aloína A, aloína B y a un metabolito hidroxilo después de la ingestión (Chen *et al.*, 2012).

Es interesante señalar que la estacionalidad de la recolección tiene una fuerte influencia sobre el contenido de aloína, ya que ésta aumentó

significativamente de invierno a verano para todas las especies de *Aloe*. El mayor incremento (≈ 10 veces) se encontró en *A. mitriformis* y *A. striata* (**Figura 37**). Sin embargo, *A. ferox* y *A. saponaria* mostraron menos cambios de invierno a verano. En un estudio con *A. arborescens* también se encontraron variaciones estacionales en los niveles de aloína, siendo mayor durante la estación cálida que en las frías (Beppu *et al.*, 2004). Para la planta de *A. hereroensis*, un tipo de compuesto fenólico llamado homonataloína se encontró a concentración más elevada durante la temporada de verano y más bajo al inicio del invierno (Chauser-Volfson y Gutterman, 1997). El aumento de la concentración de aloína en los geles obtenidos durante la temporada de verano podría ser consecuencia del elevado nivel de radiación, que fue $\approx 300 \text{ W m}^{-2} \text{ día}^{-1}$ de acuerdo con el Instituto Meteorológico Regional para el año 2010.

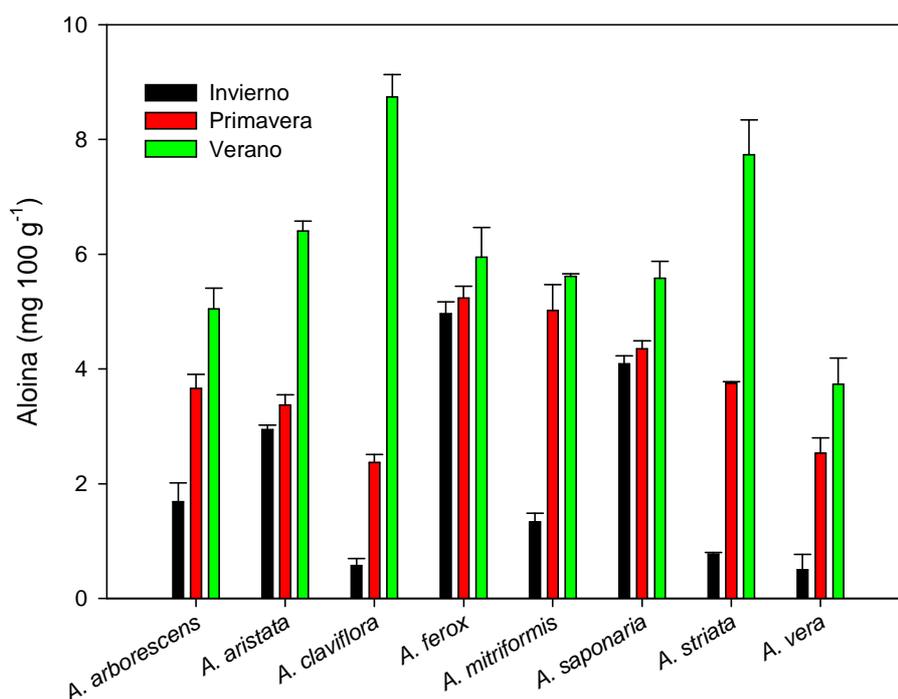


Figura 37. Concentración de aloína en geles de diferentes especies de *Aloe* cuyas hojas fueron recolectadas en 3 estaciones del año distintas. Los datos son la media \pm ES.

Compuestos fenólicos y actividad antioxidante

La concentración de fenoles totales dependió de la especie de *Aloe*, ya que *A. arborescens* es la especie que mostró la concentración más alta, mientras que las concentraciones más bajas se dieron en *A. aristata*, *A. saponaria* y *A. vera* (**Figura 38**). Además, la temporada de recolección también influyó en el contenido de fenoles totales, ya que las muestras recogidas en invierno o en verano tenían mayor concentración fenólica que aquellas recogidas durante la primavera. Estos resultados indican que las bajas y altas temperaturas podrían provocar una acumulación de compuestos fenólicos totales como respuesta al estrés. De hecho, en el año 2010 las muestras de invierno fueron recogidas después de 3 meses con temperaturas inferiores a 5 °C (temperatura mínima media), mientras que las muestras de verano se recogieron después de 3 meses con temperaturas superiores a 30 °C (temperatura máxima media), según el Instituto Meteorológico Regional.

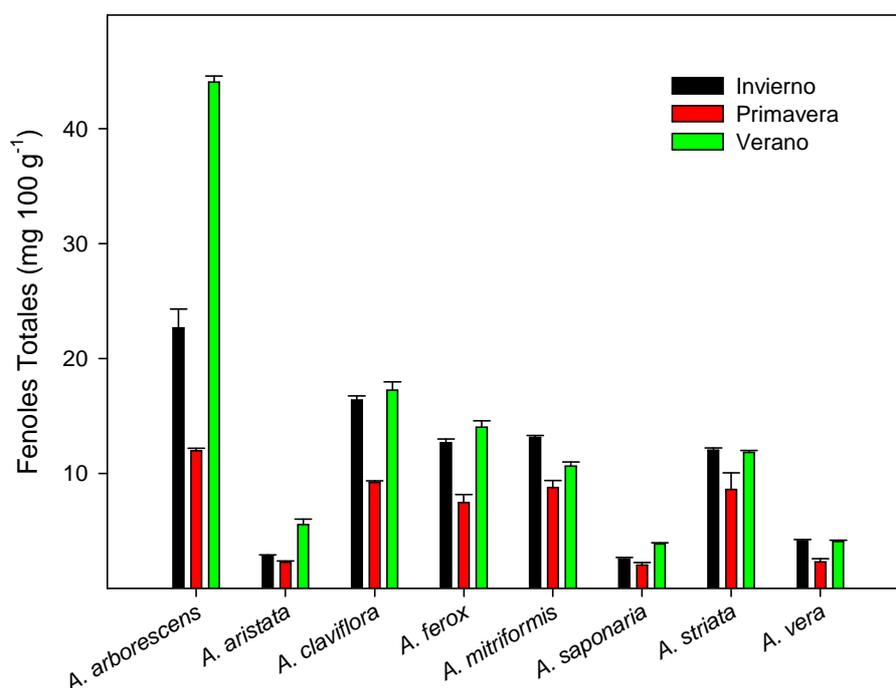


Figura 38. Concentración de fenoles totales en gels de diferentes especies de *Aloe* cuyas hojas fueron recolectadas en 3 estaciones del año distintas. Los datos son la media \pm ES.

La actividad antioxidante total (AAT) de los geles de aloe se midió por separado en dos fracciones: hidrófila (AAT-H) y lipófila (AAT-L). Para todas las especies de *Aloe* la AAT-H (**Figura 39**) fue mayor que la AAT-L (**Figura 40**). La AAT-H mostró un comportamiento similar al de las concentraciones de fenoles totales; es decir, se encontró mayor actividad en los geles obtenidos durante el invierno y el verano que en los geles de las hojas recogidas en primavera. *A. arborescens* presentó los niveles de AAT-H más altos. De hecho se pudo observar una alta correlación entre la AAT-H y los fenoles totales ($y = 0,69x + 3,62$; $r^2 = 0.808$) (**Figura 41**), demostrando que los fenoles son los principales compuestos hidrófilos que contribuyen a la AAT-H, de acuerdo con los informes anteriores en una amplia gama de frutas y hortalizas (Valero y Serrano, 2010). Entre los compuestos fenólicos identificados en el látex de *Aloe harlana*, la mayor actividad antioxidante correspondió a 7-O-methylaloeresin A seguido por aloína (Asamenew *et al.*, 2011). En otros trabajos también se ha determinado, en *Aloe ferox*, la AAT expresada como ORAC, en fracciones tanto hidrófilas como lipófilas, poniendo de manifiesto que la concentración de polifenoles antioxidantes individuales no es el único factor que influye en la capacidad antioxidante, ya que otros compuestos como indoles y alcaloides también contribuyen a la actividad antioxidante (Loots *et al.*, 2007). En este trabajo no se determinó el contenido en ácido ascórbico de los geles, pero su contribución a la AAT-H no debe ser descartada, ya que está presente en el gel de *A. vera* en una concentración elevada ($160 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$, ps) (Vega-Gálvez *et al.*, 2011) y su capacidad antioxidante es bien conocida.

Con respecto a la AAT-L, se apreció un aumento general del invierno al verano, aunque la actividad fue diferente entre las especies de *Aloe*. La mayor AAT-L la presentó *A. mitriformis*, mientras que *A. saponaria* y *A. vera* presentaron los valores más bajos. Vega-Gálvez *et al.* (2011) determinaron la presencia de vitamina E en el gel de *A. vera*, lo que podría contribuir a la AAT-L, debido a su naturaleza lipofílica y su papel en la protección de los ácidos grasos de las membranas contra el daño causado por los radicales libres. No obstante, y de acuerdo con nuestros resultados, otros autores han encontrado que los extractos metanólicos y de acetona del gel de *Aloe vera* muestran mayor actividad antioxidante en comparación con los extractos de hexano y de

cloroformo (Saritha *et al.*, 2010), lo que indicaría que los compuestos hidrófilos contribuyen más que los lipófilos a la actividad antioxidante del gel de aloe.

A pesar de que los geles de aloe muestran una capacidad antioxidante más baja que el extracto de té o el ácido ascórbico, tienen más actividad que el butil hidroxitolueno (BHT) sintético o α -tocoferol (Khaing, 2011). Por otra parte, se ha sugerido que la composición y la actividad antioxidante del gel de aloe cambia a lo largo del desarrollo de la planta (Hu *et al.*, 2003). Sin embargo, en nuestro experimento las hojas fueron recogidas de las plantas con 3 años de edad y las diferencias observadas entre especies y época del año se deben atribuir a las diferencias genotípicas entre las distintas especies de *Aloe* y al efecto de las diferentes condiciones climáticas a lo largo de las estaciones del año, respectivamente.

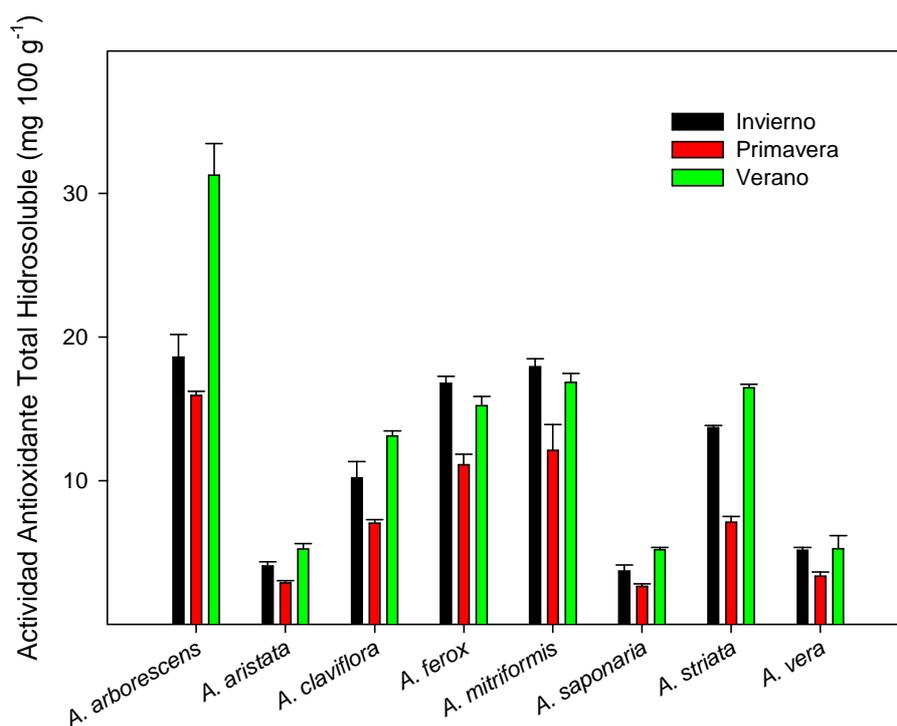


Figura 39. Actividad antioxidante total hidrosoluble (AAT-H) en geles de diferentes especies de *Aloe* cuyas hojas fueron recolectadas en 3 estaciones del año distintas. Los datos son la media \pm ES.

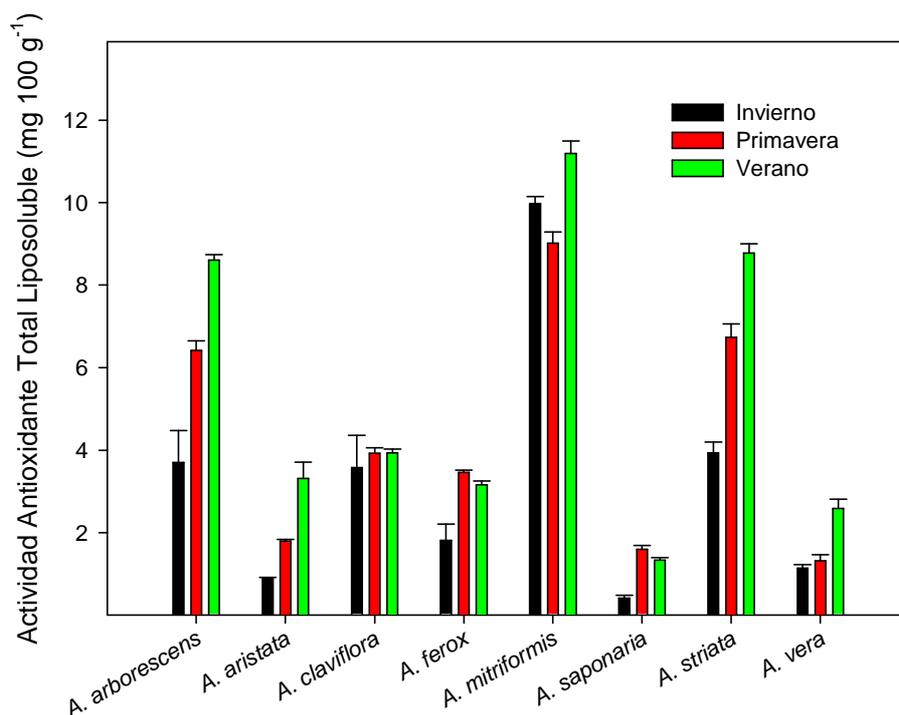


Figura 40. Actividad antioxidante total liposoluble (AAT-L) en gels de diferentes especies de *Aloe* cuyas hojas fueron recolectadas en 3 estaciones del año distintas. Los datos son la media \pm ES.

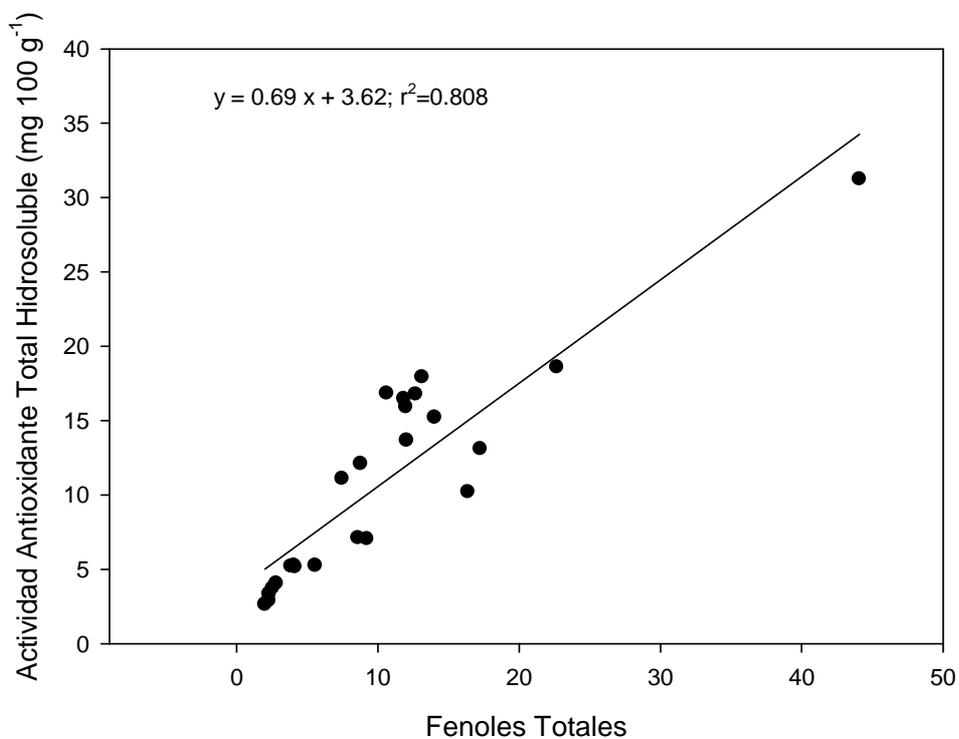


Figura 41. Correlación entre la actividad antioxidante total hidrosoluble y los fenoles totales en gels de diferentes especies de *Aloe*. Los datos son la media \pm ES.

Poliaminas

Los niveles de poliaminas libres (putrescina, espermidina y espermina) se determinaron por HPLC-DAD en los gels de las distintas especies de *Aloe*, y los resultados revelaron que la concentración de putrescina fue superior a la de espermidina y espermina. En general, los niveles de putrescina y espermidina aumentaron a lo largo de las estaciones del año, y especialmente desde la primavera hasta el verano, aunque los aumentos fueron diferentes dependiendo de la especie de *Aloe*. Así, por ejemplo, la putrescina aumentó ≈ 10 - 20 -veces desde el invierno al verano en *A. vera*, *A. saponaria* y el *A. ferox* (**Figura 42**), mientras que en espermidina los mayores aumentos se obtuvieron en *A. vera* y *A. saponaria* (**Figura 43**). Sin embargo, este comportamiento no se ha encontrado para la espermina, que aumentó desde el invierno hasta el verano sólo en *A. vera*, mientras que en la mayoría de las especies la concentración de espermina en los gels disminuyó de invierno a primavera (**Figura 44**).

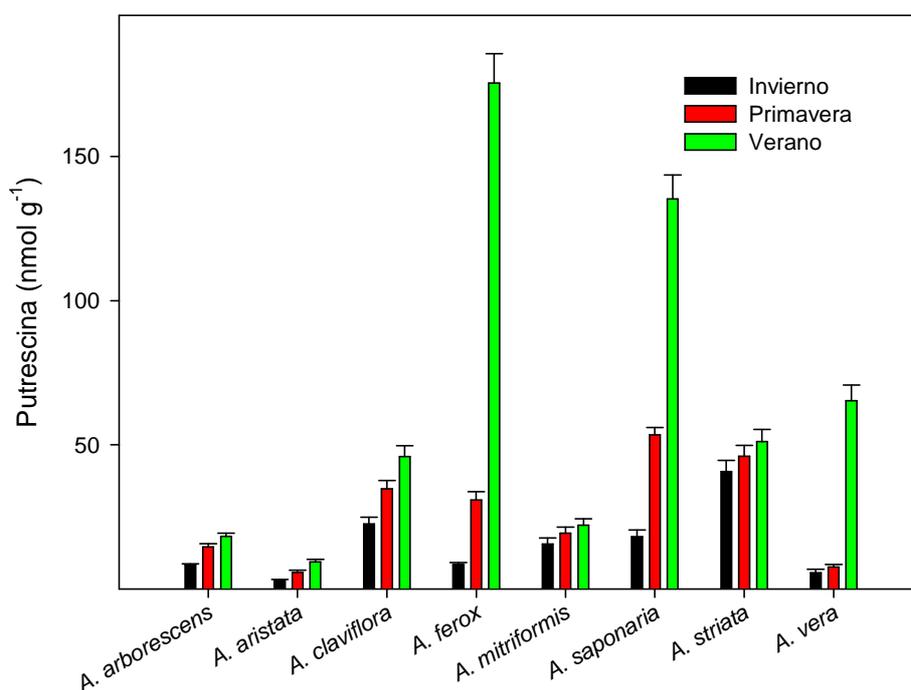


Figura 42. Concentración de putrescina libre en gels de diferentes especies de *Aloe* cuyas hojas fueron recolectadas en 3 estaciones del año distintas. Los datos son la media \pm ES.

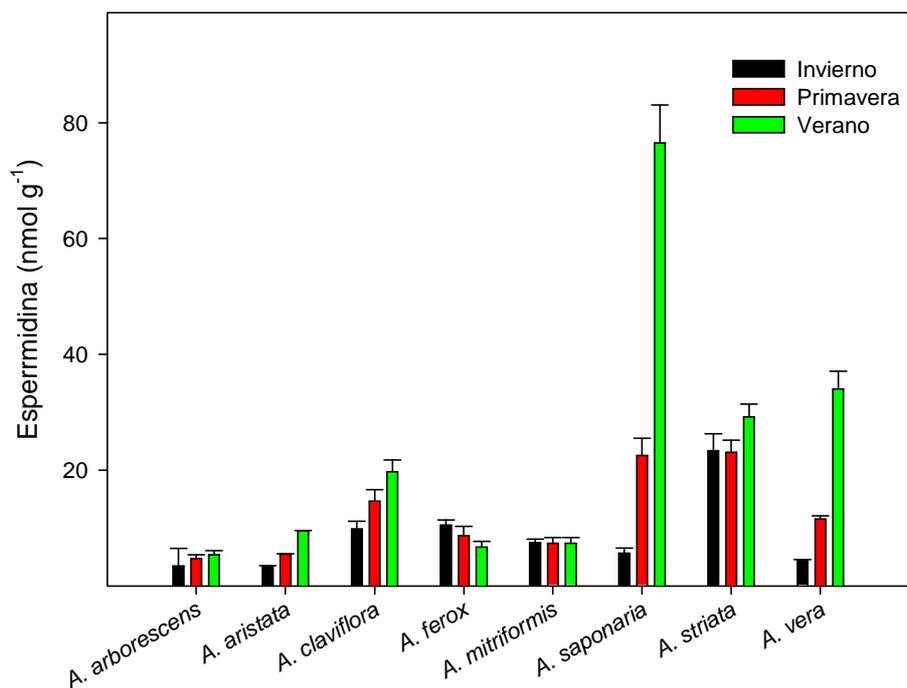


Figura 43. Concentración de espermidina libre en geles de diferentes especies de *Aloe* cuyas hojas fueron recolectadas en 3 estaciones del año distintas. Los datos son la media \pm ES.

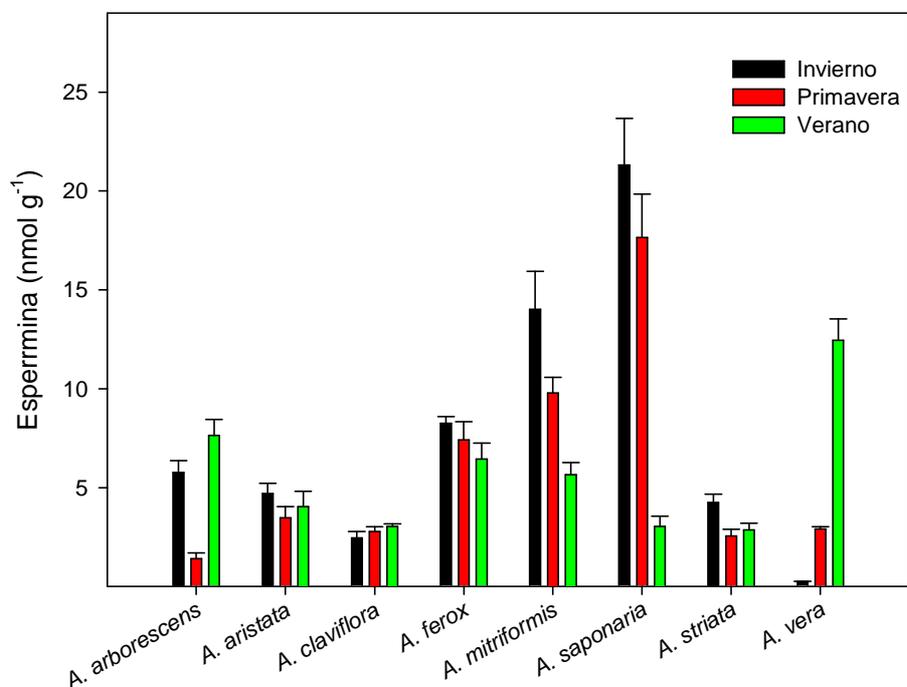


Figura 44. Concentración de espermina libre en geles de diferentes especies de *Aloe* cuyas hojas fueron recolectadas en 3 estaciones del año distintas. Los datos son la media \pm ES.

En un estudio con toda la hoja de *A. arborescens* (Beppu *et al.*, 2004), los niveles de putrescina y espermidina fueron altos en verano y bajos en primavera o en invierno, lo que concuerda con nuestros resultados. Esta es la primera vez en la que el contenido de poliaminas libres se ha estudiado en los geles de una amplia gama de especies de *Aloe*. Dado que las poliaminas se encuentran a concentraciones elevadas en tejidos jóvenes y tienen un papel antisenescente en varios tejidos y órganos vegetales (Valero *et al.*, 2002), la presencia de poliaminas libres en los geles de aloe podría ser considerada como una fuente de agentes anti-senescentes para las posibles aplicaciones de los geles de aloe como tratamientos de frutas en pre- y post-cosecha. De hecho, el tratamiento post-cosecha con putrescina o espermidina condujo a un retraso del proceso de maduración de ciruelas (Serrano *et al.*, 2003), alivió el daño mecánico en el limón (Martínez-Romero *et al.*, 1999) y redujo las lesiones por frío de la granada (Mirdehghan *et al.*, 2007), como consecuencia de una mayor concentración de poliaminas endógenas. Además, antes de la cosecha la aplicación de putrescina aumentó los óvulos funcionales de las flores de albaricoque (Alburquerque *et al.*, 2006). Sin embargo, son necesarios más estudios para correlacionar el contenido de poliaminas de los geles de aloe con sus efectos beneficiosos sobre el mantenimiento de la calidad y retraso de los procesos de maduración y senescencia durante la conservación post-recolección, cuando se usan como tratamientos pre- o post-cosecha.

Crecimiento fúngico en las hojas de diferentes especies de *Aloe*

Teniendo en cuenta que las mayores concentraciones de aloína, fenoles totales, actividad antioxidante total, lípidos totales y proteínas se encuentran en los geles obtenidos de las hojas recolectadas en verano, al año siguiente las hojas de aloe fueron recogidas en esta estación para comprobar su sensibilidad a la infección por diferentes hongos patógenos de la fruta. Estos hongos se inocularon artificialmente en las hojas. Los hongos estudiados fueron *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium expansum* y *Penicillium italicum*. Los resultados revelaron que después de 7 días de la inoculación se encontraron 3 tipos distintos de lesiones: a) lesiones con el mismo tamaño inicial y necrosis (curado); b) lesiones con un aumento del tamaño de la herida debido a un

aumento en el desarrollo inicial de los hongos, pero con posterior necrosis, y c) lesiones con crecimiento activo del hongo, que son las que se consideran heridas infectadas, y se representan en la **Figura 45**. Es evidente que *B. cinerea* fue el hongo más invasivo, ya que fue capaz de crecer en todas las especies de *Aloe*, aunque de forma diferente en cada una de ellas. La especie de *Aloe* más eficaz en la inhibición del crecimiento de este hongo fue *A. ferox* (**Fotografía 50**), mientras que *B. cinerea* creció en un 70-80% de las heridas en las otras especies de *Aloe*. En general, las especies de *Aloe* más eficaces para inhibir el crecimiento de hongos fueron *A. mitriformis* (**Fotografía 51a**) y *A. saponaria* (**Fotografía 51b**), en las que no crecieron ninguna de las especies de *Penicillium*, seguido por *A. arborescens* y *A. ferox*, en las que crecieron *P. italicum* y *P. digitatum* respectivamente, pero sólo en un 10% de las lesiones. La pulpa de *Aloe vera* mostró un efecto inhibitorio sobre el desarrollo del micelio de *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, y *Colletotrichum coccodes* (Jasso de Rodríguez *et al.*, 2005). Se encontró una correlación negativa entre el contenido de aloína de los geles de las diferentes especies de *Aloe* y el porcentaje de heridas infectadas, teniendo en cuenta todos los datos de las inoculaciones con las diferentes especies de hongos ($y = -0,11 + 9,17 x$; $R^2 = 0,743$), lo que indica que la aloína puede ser la principal responsable para los efectos antifúngicos de estas especies de *Aloe*.

El mecanismo de acción por el cual los extractos de aloe inhiben el desarrollo de los hongos no se conoce con exactitud, aunque se ha propuesto que aloína o barbaloína afectan en gran medida a los fosfolípidos de las membranas, lo que conduce a cambios notables en las propiedades físicas de la membrana. Estas alteraciones consisten en cambios de la interfase de lípido/agua en los fosfolípidos cargados negativamente y perturbaciones del núcleo de la bicapa, que están relacionadas con la actividad antimicrobiana de la aloína (Alves *et al.*, 2004). En este sentido, en una amplia gama de bacterias Gram-negativas y Gram-positivas y de cepas de hongos, la aloína y la 7-O methylaloesina A han mostrado una fuerte actividad antimicrobiana (Asamenew *et al.*, 2011).

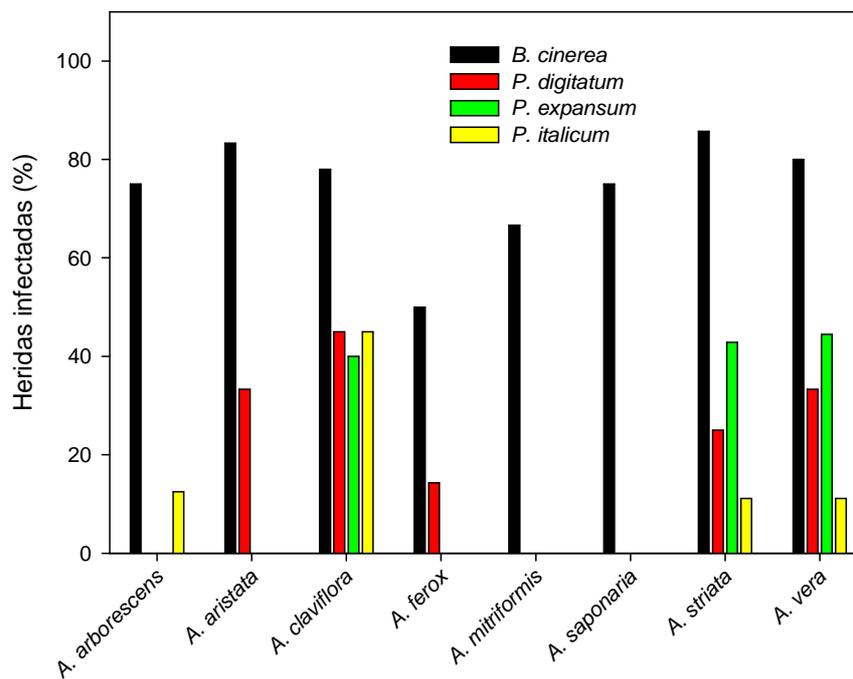


Figura 45. Porcentaje de heridas infectadas en las hojas de diferentes especies de *Aloe* que fueron recolectadas en 3 estaciones del año distintas. Los datos son la media \pm ES.



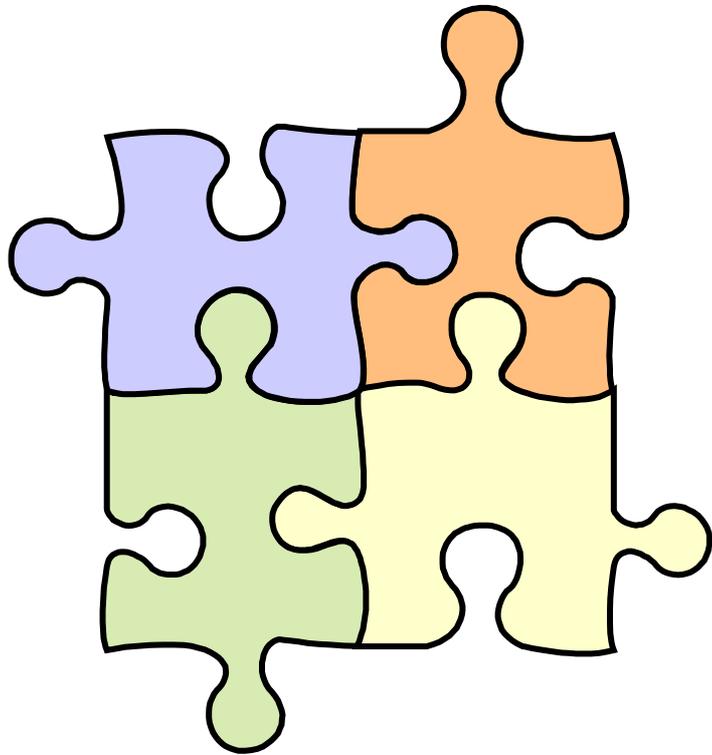
Fotografía 50: Hoja de *Aloe ferox* infectada con *B. cinerea*, *P. digitatum*, *P. expansum* y *P. italicum*. **Fuente:** S. Castillo.



Fotografía 51: Hoja de *Aloe mitriformis* (a) y *Aloe saponaria* (b) infectadas con *B. cinerea*, *P. digitatum*, *P. expansum* y *P. italicum*. **Fuente:** S. Castillo.

4.5.4. CONCLUSIONES

Esta es la primera vez que se ha realizado un estudio exhaustivo y comparativo en 8 especies de *Aloe*, y los resultados muestran que existen diferencias significativas en las propiedades y la composición química del gel obtenido de las hojas según la especie de *Aloe*. La época del año de la recolección de las hojas también influye en la composición del gel obtenido, ya que los lípidos, proteínas, aloína, fenoles totales, actividad antioxidante total (fracciones hidrofílica y lipofílica) y poliaminas (putrescina y espermidina) fueron más elevados en verano. El crecimiento de los hongos fue diferente en las hojas de las distintas especies de *Aloe*, siendo las hojas de *A. ferox*, *A. mitriformis* y *A. saponaria* en las que menos crecieron los hongos inoculados artificialmente. El porcentaje de heridas infectadas por los diferentes hongos en las hojas de las diferentes especies de *Aloe* se correlacionó negativamente con la concentración de aloína de sus geles, lo que indica que la aloína puede ser uno de los componentes del gel de aloe más importantes relacionados con la actividad antifúngica. Es evidente que los compuestos activos responsables de las funciones biológicas del gel de aloe han atraído el interés de los investigadores, aunque la mayor parte del trabajo realizado se ha llevado a cabo en *Aloe vera*, la especie más común del género *Aloe*. Con este trabajo, en el que se han utilizado 8 especies de *Aloe* se puede afirmar que *A. ferox*, *A. mitriformis* y *A. saponaria* podrían ser una buena alternativa a los geles comerciales de *A. vera*, con supuesta aplicación práctica ya que el porcentaje de rendimiento del gel es similar (50-65%) y contiene alta concentración de aloína.



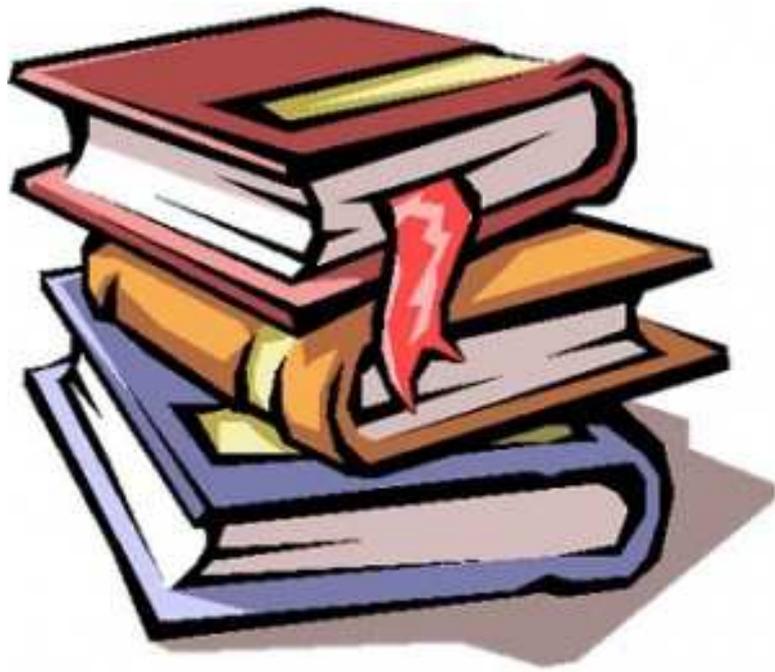
CONCLUSIONES GENERALES

5. CONCLUSIONES GENERALES

1. En experimentos *in vitro* se ha demostrado que el gel *A. vera* comercializado por AVISA es efectivo inhibiendo el crecimiento de los hongos más devastadores en la post-cosecha de frutos, *Botrytis cinerea* y *Penicillium digitatum*, por lo que podría ser un posible tratamiento para inhibir la aparición de podredumbres durante la conservación de los frutos.
2. Los geles de *Aloe vera* obtenidos de nuestros cultivos han mostrado un efecto positivo sobre el control del crecimiento de hongos de tipo filamentoso, como *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* y *Rhizopus stolonifer*, inoculados artificialmente en nectarinas. Sin embargo, no ha habido un control pleno y prolongado de estos hongos y de sus efectos, como ocurre con la mayoría de las materias activas que actualmente se emplean para este fin en horticultura.
3. El uso de los geles de aloe, aplicados antes de la recolección, podría ser una buena herramienta para ayudar al control, de una forma natural, de enfermedades de tipo fúngico. Estos geles se podrían aplicar tanto en cultivos tradicionales, cuando se están cumpliendo los plazos de seguridad de la mayoría de las materias activas, como en cultivos ecológicos. El efecto de estos tratamientos disminuyendo la carga microbiana de los frutos en el momento de la recolección, ha sido variable entre las diferentes especies de frutos analizados, siendo más efectivos en uva de mesa y cereza que en nectarina y melocotón. No obstante, en ningún caso los tratamientos tuvieron efectos negativos sobre los parámetros de calidad de los frutos.
4. Los geles de aloe aplicados en pre-cosecha (uva de mesa) o en post-cosecha (melocotón y ciruela) retrasaron los procesos de maduración durante la conservación. Estos frutos mostraron una menor tasa de respiración y emisión de etileno que los frutos no tratados. Este efecto provocó una menor pérdida de calidad en los parámetros de color, firmeza, índice de madurez o aparición de pardeamientos en el raquis de los racimos de las uvas.

5. Existe una gran variación en la composición de los geles de las distintas especies de aloes analizadas. Esta variabilidad fue dependiente de la especie estudiada y del momento de recolección de las hojas. En este sentido, aunque existen especies de aloe que no son las más productivas, por su número de hojas y rendimiento de gel, como es el caso de *A. arborecens*, algunas de ellas, deben de ser tenidas en cuenta para la elaboración de geles, ya que son más ricas en compuestos de interés como aloína, que se ha correlacionado con la actividad antifúngica de las especies de aloe estudiadas. Además, fue en el verano cuando los geles de aloe alcanzan una mayor concentración de aloína, y por tanto, sería la estación más adecuada para recolectar las hojas y obtener los geles para aplicaciones comerciales.

6. Hasta la fecha las principales aplicaciones de los geles de aloe han sido principalmente en cosmética, medicina y en alimentos. Para estos fines los geles de aloe son depurados para la eliminación de antraquinonas. En esta Tesis se ha comprobado que se pueden elaborar geles de aloe para ser aplicados en productos hortícolas antes o después de su recolección y además sin la necesidad de recurrir a la eliminación de estas antraquinonas, ya que en éstas reside gran parte de su poder antifúngico.



BIBLIOGRAFÍA

6. BIBLIOGRAFÍA

- Abbott, J.A. 1999. Quality measurement of fruits and vegetables. *Postharvest Biol. Tec.* 15, 207-225.
- Adams-Phillips, L., Barry, C., Giovannoni, J. 2004. Signal transduction systems regulating fruit ripening. *Trends Plant Sci.* 9, 331-338.
- Adaskaveg, J.E., Förster, H. 2010. New developments in postharvest fungicide registrations for edible horticultural crops and use strategies in the United States. 107-117. En: D. Prusky and M.L. Gullino. eds. *Post-harvest Plant Pathology*, Springer, New York.
- Agar, I.T., Biasi, W.V., Mitcham, E.J. 2000. Temperature and exposure time during ethylene conditioning affect ripening of Bartlett pears. *J. Agric. Food Chem.* 48, 165-170.
- Ahlawat, K.S., Khatkar, B.S. 2011. Processing, food applications and safety of *Aloe vera* products: a review. *J. Food Sci. Technol.* 48, 525-533.
- Ahmed, M.J., Singh, Z., Khan, A.S. 2009. Postharvest *Aloe vera* gel-coating modulates fruit ripening and quality of 'Artic Snow' nectarine kept in ambient and cold storage. *Int. J. Food Sci. Technol.* 44, 1024-1033.
- Alburquerque, N., Egea, J., Burgos, L., Martínez-Romero, D., Valero, D., Serrano, M. 2006. The influence of polyamines on apricot ovary development and fruit set. *Ann. Appl. Biol.* 149, 27-33.
- Ali, M.I.A., Shalaby, N.M.M., Elgamal, M.H.A., Mousa, A.S.M. 1999. Antifungal effects of different plant extracts and their major components of selected *Aloe* species. *Phytotherapy Res.* 13, 401-407.

- Alves, D.S., Pérez-Fons, L., Estepa, A., Micol, V. 2004. Membrane-related effects underlying the biological activity of the anthraquinones emodin and barbaloin. *Biochem. Pharmacol.* 66, 549-561.
- Anuario de agricultura (FAOSTAT). <http://faostat.fao.org/>. Visitada en octubre de 2012.
- Anuario de estadística Agraria (2010). Capítulo 13. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio ambiente. <http://www.magrama.gob.es/es/>. Visitada en octubre de 2012.
- Artés-Hernández, F., Tomás-Barberán F.A., Artés, F. 2006. Modified atmosphere packaging preserves quality of SO₂-free 'Superior seedless' table grapes. *Postharvest Biol. Tec.* 39, 146-154.
- Asamenew, G., Bisrat, D., Mazumder, A., Asres, K. 2011. In vitro antimicrobial and antioxidant activities of anthrone and chromone from the latex of *Aloe harlana* Reynolds. *Phytother. Res.* 25, 1756-1760.
- Avello, M., Suwalsky, M. 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea.* 494, 161-172.
- Badenes, M.L. 2001. Melocotonero. En: La horticultura española. Edit. Sociedad española de ciencias hortícolas SECH. Córdoba, España. 334-337.
- Banks, N.H., Dadzie, B.K., Cleland, D.J., 1993. Reducing gas exchange of fruits with surface coatings. *Postharvest Biol. Tec.* 57, 183-188 3, 269-283.
- Barkai-Goland, R. 2001. Postharvest diseases of fruit and vegetables. Development and control. Ed. Elsevier. Amsterdam, The Netherlands.
- Barry, C.S., Giovannoni, J.J. 2007. Ethylene and fruit ripening. *J. Plant Growth Regul.* 26, 143-159.

- Batistella, M., Cáceres, E., Miranda, O., Parera, C., Pugliese, F. 2001. Uva de mesa: una alternativa para la diversificación. INTA (ed) *IDIA XXI*. 1, 61-65.
- Bazzano, L.A., He, J., Ogden, L.G., Loria, C.M., Vupputuri, S., Myers, L., Whelton, P.K. 2002. Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease in US adults: the first National Health and Nutrition Examination Survey Epidemiologic Follow-up Study. *Am. J. Clin. Nutr.* 76, 93-99.
- Bennett, A.B., Labavitch, J.M. 2008. Ethylene and ripening-regulated expression and function of fruit cell wall modifying proteins. *Plant Sci.* 175, 130-136.
- Beppu, H., Kawai, K., Shimpo, K., Chihara, T., Tamai, I., Ida, C., Ueda, M., Kuzuya, H. 2004. Studies on the components of *Aloe arborescens* from Japan-monthly variation and differences due to part and position of the leaf. *Biochem. System. Ecol.* 32, 783-795.
- Boeing, H., Bechthold, A., Bub, A., Ellinger, S., Haller, D., Kroke, A., Leschik-Bonnet, E., Müller, M.J., Oberritter, H., Schulze, M., Stehle, P., Watzl, B. 2012. Critical review: Vegetables and fruit in the prevention of chronic diseases. *Eur. J. Nutr.* 51, 637-663.
- Botella, M.A., del Amor, F., Amorós, A., Serrano, M., Martínez, V., Cerdá, A. 2000. Polyamine, ethylene and other physical-chemical parameters in tomato *Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Daniela fruits as affected by salinity. *Physiol. Plant.* 109, 428-434.
- Bozzi, A., Perrin, C., Austin, S., Arce Vera, F. 2007. Quality and authenticity of commercial *Aloe vera* gel powders. *Food Chem.* 103, 22-30.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248-254.

- Brandi, F., Bar, E., Mourgues, F., Horváth, G., Turcsi, E., Giuliano, G., Liverani, A., Tartarini, S., Lewinsohn, E., Rosati, C. 2011. Study of "Redhaven" peach and its white-fleshed mutant suggests a key role of CCD4 carotenoid dioxygenase in carotenoid and norisoprenoid volatile metabolism. *BMC Plant Biol.* 11, 24.
- Braveman, P.A., Tarimo, E. 1996 El reconocimiento sistemático en atención primaria de salud, determinación de prioridades con recursos limitados. *Publicación de la Organización Mundial de la Salud.* 1, 47-51.
- Brent, K.J., Hollomon, D.W. 2007. Fungicide resistance in crop pathogens: How can it be managed? Ed. Fungicide Resistance Action Committee. Bruselas, Bélgica.
- Bustamante, C.A., Budde, C.O., Borsani, J., Lombardo, V.A., Lauxmann, M.A., Andreo, C.S., Lara, M.V., Drincovich, M.F. 2012. Heat treatment of peach fruit: Modifications in the extracellular compartment and identification of novel extracellular proteins. *Plant Physiol. Bioch.* 60, 35-45.
- Cano, A., Hernández-Ruiz, J., García-Canovas, F., Acosta, M., Arnao, M.B., 1998. An end-point method for estimation of the total antioxidant activity in plant material. *Phytochem. Anal.* 9, 196-202.
- Cano-Salazar, J., Echeverría, G., Crisosto, C.H., Lopez, L. 2012. Cold-storage potential of four yellow-fleshed peach cultivars defined by their volatile compounds emissions, standard quality parameters, and consumer acceptance. *J. Agr. Food Chem.* 60, 1266-1282.
- Carranza, J. 2009. Influencia del procesado en el valor nutritivo y funcional de la uva blanca. Tesis Doctoral UPV.
- Castillo, S., Navarro, D., Zapata, P.J., Guillén, F., Valero, D., Serrano, M., Martínez-Romero, D. 2010. Antifungal efficacy of *Aloe vera in vitro* and its use as a preharvest treatment to maintain postharvest table grape quality. *Postharvest Biol. Technol.* 57, 183-188.

- Castro, V.L., Tambasco, A.J., Paraiba, L.C., Tambasco, D.D. 1999. Cytogenetic and teratological effects of mancozeb pre natal exposure on rats. *Braz. Arch. Biol. Techn.* 42, 127–134.
- Chandan, B.K., Saxena, A.K., Shukla, S., Sharma, N., Gupta, D.K., Suri, K.A., Suri, J., Bhadauria, M., Singh, B. 2007. Hepatoprotective potential of *Aloe barbadensis* Mill. Against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity. *J. Ethnopharmacol.* 111, 560-566.
- Chauser-Volfson, E., Gutterman, Y. 1997. Content and distribution of secondary phenolic compound homonataloin in *Aloe hereroensis* leaves according to leaf part, position and monthly changes. *J. Arid. Environ.* 37, 115-122.
- Chen, W., van Wyk, B.E., Vermaak, I, Viljoen, A.M. 2012. Cape aloes – A review of the phytochemistry, pharmacology and commercialization of *Aloe ferox*. *Phytochem. Let.* 5, 1-12.
- Choi, S.W., Son, B.W., Son, Y.S., Park, Y.I., Lee, S.K., Chung, M.H. 2001. The wound-healing effect of a glycoprotein fraction isolated from *Aloe vera*. *Br. J. Dermatol.* 145, 535–545.
- Coates, L., Johnson, G. 1980. Postharvest diseases of fruit and vegetables. En: Plants Pathogens and plants diseases. Ed. Brown J.F. ay Ogle H.J. Rockwale Publications (State of New South Wales-Australia). 533-546.
- Coats, B.C. 1979. Hypoallergenic stabilized *Aloe vera* gel. US patent 4, 178-372.
- Contreras-Oliva, A., Pérez-Gago, M.B., Rojas-Argudo, C. 2012. Effects of chitosan coatings on physicochemical and nutritional quality of clementine mandarins cv. 'Oronules'. *Food Sci. Technol. Int.* 18, 303-315.
- Cooposamy, R.M., Naidoo, K.K. 2011. Anatomical features of the medicinal importance of *Aloe excelsa* (Berger). *Afr. J. Biothechnol.* 10, 7622-7632.

- Crisosto, C.H. 1994. Stone fruit maturity indices: a descriptive review. *Postharvest News and Inf.* 6, 65-68.
- Crisosto, C.H., Crisosto, G.M., Metheney, P. 2003a. Consumer acceptance of "Brooks" and "Bing" cherries is mainly dependent on fruit SSC and visual skin color. *Postharvest Biol. Technol.* 28, 159-167.
- Crisosto, C.H., Garner, D., Crisosto, G. 2002a. Carbon dioxide-enriched atmospheres during cold storage limit losses from Botrytis but accelerate rachis browning of 'Redglobe' table grapes. *Postharvest Biol. Technol.* 26, 181-189.
- Crisosto, C.H., Garner, D., Crisosto, G. 2003b. Developing Optimum Controlled Atmosphere Conditions for "Redglobe" Table Grapes. *Acta Horticulturae.* 600, 803-808.
- Crisosto, C.H., Garner, D., Doyle, J., Day, K.R. 1993. Relationship between fruit respiration, bruising susceptibility and temperature in sweet cherries. *HortSci.* 28, 132-135.
- Crisosto, C.H., Mitchell, F.G., Ju, Z.G., 1999. Susceptibility to chilling injury of peach, nectarine, and plum cultivars grown in California. *HortScience.* 34, 1116-1118.
- Crisosto, C.H., Palou, L., Garner, D., Armson, D.A. 2002b. Concentration by time product and gas penetration after marine container fumigation of table grapes with reduced doses of sulphur dioxide. *Hort. Technol.* 12, 241-245.
- Cruz-Hernández, A., Paredes-López, O. 2012. Fruit quality: New insights for biotechnology. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 52, 272-289.
- Cruz-Rus, E., Amaya, I., Valpuesta, V. 2012. The challenge of increasing vitamin C content in plant foods. *Biotechnol. J.* 7, 1110-1121.

- Dagne, E., Bisrat, D., Wyk, B.E., Viljoen, A. 1998. 10-Hydroxyaloin B 6'-O-Acetate, an oxanthrone from *Aloe claviflora*. *J. Nat. Prod.* 61, 256-257.
- Dal'Beló, S.E., Gaspar, L.R., Berardo Goncalves Maia Campos, P.M. 2006. Moisturising effect of cosmetic formulations containing *Aloe vera* extract in different concentrations assessed by skin bioengineering techniques. *Skin Res. Technol.* 12, 241-246.
- Dang, K.T.H., Singh, Z., Swinny, E.E. 2008. Edible coatings influence fruit ripening, quality, and aroma biosynthesis in mango fruit. *J. Agric. Food Chem.* 56, 1361-1370.
- de Reuck, K., Zeeman, K., Korsten, L. 2008. Postharvest hygiene management in the litchi export chain. *Stewart Postharvest Rev.* 4, 1-5.
- de Wild, H.P.J., Balk, P.A., Fernandes, E.C.A., Peppelenbos, H.W. 2005. The action site of carbon dioxide in relation to inhibition of ethylene production in tomato fruit. *Postharv. Biol. Technol.* 36, 273-280.
- Dehin, R. 2000. El poder curativo del *Aloe vera*. Ed. Robin Book, Barcelona.
- Díaz-Mula, H.M., Castillo, S., Martínez-Romero, D., Valero, D., Zapata, P.J., Guillén, F., Serrano, M. 2009. Sensory, nutritive and functional properties of sweet cherry as affected by cultivar and ripening stage. *Food Sci. Technol. Int.* 15, 535-543.
- Díaz-Mula, H.M., Serrano, M., Valero, D. 2012. Alginate coatings preserve fruit quality and bioactive compounds during storage of sweet cherry fruit. *Food Bioprocess. Tec.* 5, 2990-2997.
- Díaz-Mula, H.M., Zapata, P.J., Guillén, F., Castillo, S., Martínez-Romero, D., Valero, D., Serrano, M. 2008. Changes in physicochemical and nutritive parameters and bioactive compounds during development and on-tree

- ripening of eight plum cultivars: A comparative study. *J. Sci. Food Agric.* 88, 2499-2507.
- Dixon, R.A., Paiva, N.L. 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell.* 7, 1085–1097.
- Droby, S., Chalutz, E., Wilson, C.L., Wisniewski, M.E. 1992. Biological control of postharvest diseases: a promising alternative to the use of synthetic fungicides. *Phytoparasitica.* 20, 149–153.
- Duthie, G.G., 1999. Parsley, polyphenols and nutritional antioxidants. *British J. Nutr.* 81, 425-426.
- Eckert, J.W. 1991. Role of chemical fungicides and biological agents. in postharvest disease control. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables. En: Workshop Proceedings, vol. 92, Shepherdstown, VA, September 1990. US Department of Agriculture, Agricultural Research Service Publications. 14–30.
- Engelfriet, P., Hoekstra, J., Hoogenveen, R., van Rossum, C., Büchner, F., Verschuren, M. 2010. Food and vessels: the importance of a healthy diet to prevent cardiovascular disease. *Eur. J. Prev. Cardiol.* 17, 50-55.
- Eshun, K., He, Q. 2004. *Aloe vera*: A valuable ingredient for the food pharmaceutical and cosmetic industries – A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 44, 91-96.
- Esti, M., Cinquanta, L., Sinesio, F., Moneta, E., Di Matteo, M. 2002. Physicochemical and sensory fruit characteristics of two suit cherry cultivars alter cool storage. *Food Chem.* 76, 399-405.
- Fanalli, S., Aturki, Z., D’Orazio, G., Rocco, A., Ferranti, A., Mercolini, L., Raggi, M.A. 2010. Analysis of Aloe-based phytotherapeutic products by using nano-LC-MS. *J. Sep. Sci.* 33, 2663-2670.

- Farelli, P. 2002. *Aloe vera*: el más poderoso remedio natural. Ed. Edad, Madrid.
- Femenia, A., Sanchez, E.S., Simal, S., Rosello, C. 1999. Compositional features of polysaccharides from *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) plant tissues. *Carbohydr. Polym.* 39, 109-117.
- Fernández-García, E., Carvajal-Lérida, I., Jarén-Galán, M., Garrido-Fernández, J., Pérez-Gálvez, A., Hornero-Méndez, D. 2012. Carotenoids bioavailability from foods: From plant pigments to efficient biological activities. *Food Res. Int.* 46, 438-450.
- Fruk, G., Nišević, L., Sever, Z., Miličević, T., Jemrić, T. 2012. Effects of different postharvest heat treatments on decreasing decay, reducing chilling injury and maintaining quality of nectarine fruit. *Agr. Conspectus Scientificus.* 77, 27-30.
- García, E., Gago, L., Fernández, J.L. 2006. Informe de vigilancia tecnológica. Tecnologías de envasado en atmósfera protectora. Ed. CEIM y Dirección General de Universidades e Investigación. Madrid, España.
- Génard, M., Gouble, B., 2005. ETHY. A theory of fruit climacteric ethylene emission. *Plant Physiol.* 139, 531-545.
- Giovannoni, J. 2001. Molecular biology of fruit maturation and ripening. *Annu. Rev. Plant Phys.* 52, 725-749.
- Gobantes, I., Gómez, R., Choubert, G. 2001. Envasado de alimentos. Aspectos técnicos del envasado a vacío y bajo atmósfera protectora. *A.E.T.* 1, 75-80.
- Gonçalves, B., Silva, A.P., Moutinho-Pereira, J., Bacelar, E., Rosa, E., Meyer, A.S. 2007. Effect of ripeness and postharvest storage on the evolution of color and anthocyanins in cherries (*Prunus avium* L.). *Food Chem.* 103, 976-984.

- Grindlay, D., Reynolds, T. 1986. The *Aloe vera* Phenomenon: A Review of the properties and modern uses of the leaf parenchyma gel. *J. Ethnopharmacol.* 16, 117-151.
- Guillén, F., Zapata, P.J., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Serrano, M., Valero, D. 2007. Improvement of the overall quality of table grapes stored under modified atmosphere packaging in combination with natural antimicrobial compounds. *J. Food Sci.* 72, 185-190.
- Gustavsson, J., Cederberg, C., van Otterdijk., R., Meybeck, A. 2011. Global food losses and food waste. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome.
- Grace, O.M. 2011. Current perspectives on the economic botany of the genus *Aloe* L. (Xanthorrhoeaceae). *South Afr. J. Bot.* 77, 980-987.
- Habeeb, F., Shakir, E., Bradbury, F., Cameron, P., Taravati, M.R., Drummond, A.J., Gray, A.I., Ferro, V.A. 2007. Screening methods used to determine the anti-microbial properties of *Aloe vera* inner gel. *Methods.* 42, 315-320.
- Haminiuk, C.W.I., Maciel, G.M., Plata-Oviedo, M.S.V., Peralta, R.M. 2012. Phenolic compounds in fruits - an overview. *Int. J. Food Sci. Technol.* 47, 2023-2044.
- Hamman, J. H. 2008. Composition and applications of *Aloe vera* leaf gel. *Molecules.* 13, 1599-1616.
- Hamman, J.H., Viljoen, A.M. 2008. Use of *Aloe vera* for increasing the bioavailability of poorly absorbable drugs. *S.A. patent application 2008/01542.*
- He, Q., Changhong, L., Kojo, E., Tian, Z. 2005. Quality and safety assurance in the processing of *Aloe vera* gel juice. *Food Control.* 16, 95-104.

- Hofacher, W., Alleweldt, G., Khader, S. 1976. Einfluss von umweltafaktoren aut Beenrenwachstum und must qualitat bei der rebe. *Vitis* 15, 96-112.
- Holton, T.A., Cornish, E.C. 1995. Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis. *Plant Cell*. 7, 1071-1083.
- Hu, Y., Xu, J., Hu, Q. 2003. Evaluation of antioxidant potential of *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) extracts. *J. Agric. Food Chem.* 51, 7788-7791.
- Iglesias, I., Echeverria, G., 2009. Differential effect of cultivar and harvest date on nectarine colour, quality and consumer acceptance. *Sci. Hortic.* 120, 41-50.
- Im, S.A., Oh, S.T., Song, S., Kim, M.R., Kim, D.S., Woo, S.S., Jo, T.H., Park, Y.I., Lee, C.K. 2005. Identification of optimal molecular size of modified Aloe polysaccharides with maximum immunomodulatory activity. *Int. Immunopharmacol.* 5, 271-279.
- International Aloe Science Council. www.iasc.org. 2011. Visitada en junio 2012.
- Izco, J., Barreno, E., Brugués, M., Costa, M., Devesa, J., Fernández, F., Gallardo, T., Llimona, X., Salvo, E., Talavera, S., Valdés, B. 1997. Botánica. Ed. McGraw-Hill/Interamericana. Madrid, España.
- Janisiewicz, W.J., Korsten, L. 2002. Biological control of postharvest diseases of fruits. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40, 411-441.
- Jarimopas, B., Pushpariksha, P., Singh, S.P. 2009. Postharvest damage of mangosteen and quality grading using mechanical and optical properties as indicators. *Int. J. Food Properties* 12, 414-426.
- Jasso de Rodríguez, D., Hernández-Castillo, D., Rodríguez-García, R., Angulo-Sánchez, J.L. 2005. Antifungal activity in vitro of *Aloe vera* pulp and liquid fraction against plant pathogenic fungi. *Ind. Crops Prod.* 21, 81-87.

- John, J.H., Ziebland, S., Yudkin, P., Roe, L.S., Neil, H.A. 2002. Effects of fruit and vegetable consumption on plasma antioxidant concentrations and bloodpressure: a randomised controlled trial. *The Lancet*. 359, 1969-1974.
- Joshiyura, K.J., Ascherio, A., Manson, J.E, Stampfer, M.J., Rimm, E.B., Speizer, F.E., Hennekens, C.H., Spiegelman, D., Willet, W.C. 1999. Fruit and vegetables intake in relation to risk of ischemic stroke. *J. Am. Med. Assoc.* 282, 1233-1239.
- Kader, A.A. 1980. Prevention of ripening in fruits by use of controlled atmospheres. *Food Technol.* 34, 51-54.
- Kader, A.A., Mitchell, F.G. 1989. Maturity and quality. En: Peaches, Plums and Nectarines: Growing and Handling for Fresh Market. LaRue J.H., Johnson R.S. Ed. Univ. Calif. Dept. of Agric. and Nat. Res. 3331, 191-196.
- Kader, A.A., Watkins, C.B. 2000. Modified atmosphere packaging-Towards 2000 and beyond. *HortTechnol.* 10, 483-486.
- Kalt, W., Howell, A., Duy, J.C., Forney, C.F., Mcdonald, J.E. 2001. Horticultural factors affecting capacity of blueberries and other small fruit. *HortTechnol.* 114, 523-528.
- Kang, T.H., Hur, J.Y., Kim, H.B., Ryu, J.H., Kim, S.Y. 2006. Neuroprotective effects of the cyanidin-3-O- β -D-glucopyranoside isolated from mulberry fruit against cerebral ischemia. *Neurosci. Lett.* 391, 122-126.
- Kant, A.K., Schatzkin, A., Graubard, B.I., Schairer, C. 2000. A prospective study of diet quality and mortality in women. *J. Am. Med. Assoc.* 283, 2109-2115.
- Kays, S.J. 1999. Preharvest factors affecting appearance. *Postharvest Biol. Technol.* 15, 233-247.

- Khaing, T.A. 2011. Evaluation of the antifungal and antioxidant activities of the leaf extract of *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller). *World Academ. Sci. Engineer. Technol.* 75, 610-612.
- Kim, Y.M., Lee, C.H., Kim, H.G., Lee, S.S. 2004. Anthraquinones isolated from *Cassia tora* (Leguminosae) seed show an antifungal property against phytopathogenic fungi. *J. Agric. Food. Chem.* 52, 6096-6100.
- Kumar, M., Rawat, V., Rawat, J.M.S., Tomar, Y.K. 2010. Effect of pruning intensity on peach yield and fruit quality. *Sci. Hortic.* 125, 218-221.
- Lange, D.L. 2000. New film technologies for horticultural products. *Hort. Technol.* 10, 487-90.
- LeBoeuf, J., Cuppels, D., Dick, J., Pitblado, R., Loewen, S., Celetti, M. 2005. Bacterial diseases of tomato: Bacterial Spot, Bacterial Speck, Bacterial Canker. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs Factsheet, Agdex 257/625, Order 05-069, Queen's Printer for Ontario, DACO: M2.4, M2.7.1, M2.7.2, M2.8, M2.10.2, M2.10.3
- Li, H., Yu, T. 2001. Effect of chitosan coatings on incidence of brown rot, quality and physiological attributes for post harvest peach fruits. *J. Sci. Food Agric.* 81, 269-274.
- Lightbourn, G.J., Griesbach, R.J., Novotny, J.A., Clevidence, B.A., Rao, D.D., Stommel, J.R. 2008. Effects of anthocyanin and carotenoid combinations on foliage and immature fruit color of *Capsicum annuum* L. *J. Hered.* 99, 105-111.
- Lim, C.S., Kang, S.M., Cho, J.L., Gross, K.C., Woolf, A.B. 2007. Bell pepper (*Capsicum annuum* L.) fruit are susceptible to chilling injury at the breaker stage of ripening. *Hortscience.* 42, 1659-1664.

- Lingk, W. 1991. Health risk evaluation of pesticide contaminations in drinkingwater. *Gesunde Pflanz.* 43, 21–25.
- Loots, D.T., van der Westhuizen, F.H., Botes, L. 2007. *Aloe ferox* leaf gel phytochemical content, antioxidant capacity, and possible health benefits. *J. Agric. Food Chem.* 55, 6891-6896.
- Lurie, S. 2001. Physical treatments as replacements for postharvest chemical treatments. *Acta Horticulturae.* 553, 533–536.
- Lurie, S., Crisosto, C. 2005. Chilling injury in peach and nectarine. *Postharvest Biol. Tec.* 37, 195–208.
- Lydakís, D., Aked, J. 2003. Vapour heat treatment of Sultanina table grapes. I: control of *Botrytis cinerea*. *Postharvest Biol. Tec.* 27, 109-116.
- Maftoonazad, N., Ramaswamy, H.S., Marcotte, M. 2008. Shelf-life extension of peaches through Sodium alginate and methyl cellulose edible coatings. *Int. J. Food Sci. Tech.* 43, 951-957.
- Martín, J. 2002. Un negocio muy verde. *Canarias económica, de 5 de junio*, página 40.
- Martínez, A. 2001. Uva de mesa. En: La horticultura española. Edit. Sociedad española de ciencias hortícolas SECH. Córdoba, España. 379-381.
- Martínez-Romero, D., Alburquerque, N., Valverde, J.M., Guillén, F., Castillo, S., Valero, D., Serrano, M. 2006. Postharvest sweet cherry quality and safety maintenance by *Aloe vera* treatment: A new edible coating. *Postharvest Biol. Technol.* 39, 93-100.
- Martínez-Romero, D., Dupille, E., Guillén, F., Valverde, J.M., Serrano, M., Valero, D. 2003b. 1-Methylcyclopropene increases storability and shelf life in climacteric and nonclimacteric plums. *J. Agr. Food Chem.* 51, 4680-4686.

- Martínez-Romero, D., Guillén, F., Castillo, S., Valero, D., Serrano, M. 2003a. Modified atmosphere packaging maintains quality of table grapes. *J. Food Sci.* 68, 1838-1843.
- Martínez-Romero, D., Guillén, F., Valverde, J.M., Bailén, G., Zapata, P.J., Serrano, M., Castillo, S., Valero, D. 2007. Influence of carvacrol on survival of *Botrytis cinerea* inoculated in table grapes. *Int. J. Food Microbiol.* 115, 144-148.
- Martínez-Romero, D., Serrano, M., Valero, D., Castillo, S. 2003c. Aplicación de *Aloe vera* como recubrimiento sobre frutas y hortalizas. 2003, Patente Española Reg. Nº 200302937.
- Martínez-Romero, D., Valero, D., Serrano, M., Martínez-Sánchez, F., Riquelme, F. 1999. Effects of postharvest putrescine and calcium treatments on reducing mechanical damage and polyamines and abscisic acid levels during lemon storage. *J. Sci. Food Agric.* 79, 1589-1595.
- Mazza, G. 1995. Anthocyanins in grapes and grape products. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 35, 341-371.
- Michailides, T.J., Manganaris, G.A. 2009. Harvesting and handling effects on postharvest decay. *Stewart Postharvest Rev.* 5, 1-7.
- Minolta. 1994 Precise color communication; minolta Co. Ltd. Japan.
- Miranda, M., Maureira, H., Rodríguez, K., Vega-Gálvez, A. 2009. Influence of temperature on the drying kinetics, physicochemical properties, and antioxidant capacity of *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) gel. *J. Food Engineer.* 91, 297-304.
- Mirdehghan, S.H., Rahemi, M., Castillo, S., Martínez-Romero, D., Serrano, M., Valero, D. 2007. Pre-storage application of polyamines by pressure or immersion improves shelf life of pomegranate stored at chilling temperature

- by increasing endogenous polyamine levels. *Postharvest Biol. Technol.* 44, 26-33.
- Mitchell, F.G., Kader, A.A. 1989a. Factors affecting deterioration rate. En: Peaches, Plums and Nectarines: Growing and Handling for Fresh Market. LaRue J.H., Johnson R.S. (Eds.). Univ. Calif. Dept. of Agric. and Nat. Res. 3331, 165-179.
- Mitchell, F.G., Kader, A.A. 1989b. Storage. En: Peaches, Plums and Nectarines: Growing and Handling for Fresh Market. LaRue J.H., Johnson R.S. Ed. Univ. Calif. Dept. of Agric. and Nat. Res., 3331, 216-222.
- Mitchell, F.G. 1987. Influence of cooling and temperature maintenance on the quality of California grown stone fruit. *Rev. Int. Froid.* 10, 77-81.
- Mitchell, F.G., Mayer, G., Biasi, W., Gulli, D., Faubian, D. 1990. Selecting and handling high quality stone fruit. Research reports for California peaches and nectarines. California Tree Fruit Agreement, Sacramento, CA, 15.
- Mitchell, F.G., Mayer, G., Saenz, M., Slaughter, D., Johnson, R.S., Biasi, B., Delwiche, M. 1991. Selecting and handling quality stone fruit for fresh market. En: Final Report, California Tree Fruit Agreement. Sacramento, California, USA. 11.
- Moreno, M.A. 2001. Cerezo. En: La horticultura española. Edit. Sociedad española de ciencias hortícolas SECH. Córdoba, España. 287-290.
- Moreno, M.A., Negueroles, J. 2001. Ciruelo. En: La horticultura española. Edit. Sociedad española de ciencias hortícolas SECH. Córdoba, España. 296-300.
- Mozetič, B., Simčič, M., Trebše, P. 2006. Anthocyanins and hydroxycinnamicacids of Lambert Compact cherries (*Prunus avium* L.) after cold storage and 1-methylcyclopropene treatment. *Food Chem.* 97, 302-309.

- Nandal, U., Bhardwaj, R.L., Sarolia, D.K., Kaswan, V. 2012. *Aloe vera*: A novel source of nutrition and medicine-A review. *Annals Agri. Bio. Research*. 17, 128-138.
- Nanos, G.D., Agtsidou, E., Sfakiotakis, E.M. 2002. Temperature and propylene effects on ripening of green and black 'Conservolea' olives. *HortSci*. 37, 1079-1081.
- Nelson, K.E. 1979. Harvesting and handling California table grapes for market. University of California, Publication 4095.
- Newton, L.E. 2001. Aloe. En *Illustrated Handbook of Succulent Plants Monocotyledons*, Ed. U. Egli, Springer Verlag, Heidelberg.
- Ni, Y., Tizard, I.R. 2004. Analytical methodology: the gel-analysis of aloe pulp and its derivatives. In Reynolds, T. Ed. *Aloes - the genus Aloe*. CRC Press; Boca Raton, London, New York, Washington, D.C. 111-126.
- Ni, Y., Turner, D., Yates, K.M., Tizard, I.R. 2004. Isolation and characterization of structural components of *Aloe vera* L. leaf pulp. *Int. Immunopharmacol*. 4, 1745-1755.
- Nidir, E.S.J., Ganeshan, G., Loksha, A.N., 2011. Antifungal activity of some extractives and constituents of *Aloe vera*. *Res. J. Med. Plant*. 5, 196-200.
- Nunan, L.M., Poulos, B.T., Lightner, D.V. 1998. The detection of white spot syndrome virus (WSSV) and yellow head virus (YHV) in imported commodity shrimp. *Aquaculture*. 160, 19 - 30.
- Nunes, C.A. 2012. Biological control of postharvest diseases of fruit. *Eur. J. Plant Pathol*. 133, 181-196.

- Obagwu, J., Korsten, L., 2003. Integrated control of citrus green and blue molds using *Bacillus subtilis* in combination with sodium bicarbonate or hot water. *Postharvest Biol. Tec.* 28, 187–194.
- O'Beirne, D. 1989. Chilling combined with modified atmosphere packaging. En: Processing and quality of foods (Vol. 3. Chilled Foods: The revolutions in freshness). Ed. Zeuthen, P., Cheftel, J.C., Erikson, C., Gortlley, T.R., Linko, P. and Patalus, K., elseiver, London, UK. 190-203.
- O'Brien, C., van Wyk, V., van Heerden, F.R. 2011. Physical and chemical characteristics of *Aloe ferox* leaf gel. *South Afric. J. Bot.* 77, 988-995.
- Ogawa, J.M., Zehr, E.I., Bird, G.W., Ritchie, D.F., Uriu, K., Uyemoto, J.K. 2000. Plagas y enfermedades de los frutales de hueso. Ed. Mundi-Prensa y APS. Madrid, España.
- Okamura, N., Asai, M., Hine, N., Yagi, A. 1996. High-performance liquid chromatographic determination of phenolic compounds in *Aloe* species. *J. Chromatogr. A.* 746, 225-231.
- Palou, L., Crisosto, C.H., Garner, D., Basinal, L.M. 2003. Effect of continuous exposure to exogenous ethylene during cold storage on postharvest decay development and quality attributes of stone fruits and table grapes. *Postharvest Biol. Technol.* 27, 243–254.
- Palou, L., Crisosto, C.H., Smilanick, J.L., Adaskaveg, J.E., Zoffoli, J.P. 2002. Effects of continuous 0.3 ppm Ozone exposure on decay development and physiological responses of peaches and table grapes in cold storage. *Postharvest Biol. Technol.* 24, 39-48.
- Palou, L., Smilanick, J.L., Droby, S. 2008. Alternatives to conventional fungicides for the control of citrus postharvest green and blue moulds. *Stewart Postharvest Rev.* 2, 1–16.

- Parker, D., Ziberman, D., Moulton, K. 1991. How quality relates to price in California fresh peaches. *Calif. Agr.* 45, 14-16.
- Paull, R.E. 1990. Postharvest treatments and fruit ripening. *Postharvest News and Inf.* 1, 355-363.
- Pérez-Gago, M.B., González-Aguilar, G.A., Olivas, G.I. 2010. Edible coatings for fruits and vegetables. *Stewart Postharvest Rev.* 6, 1-14.
- Rai, D.R., Paul, S. 2007. Packaging requirements of highly respiring produce under modified atmosphere: A review. *J. Food Sci. Technol.* 44, 10-15.
- Ramachandra, C.T., Srinivasa-Rao, P. 2008. Processing of *Aloe vera* leaf gel: A Review. *Amer. J. Agric. Biol. Sci.* 3, 502-510.
- Reimann, S., Deising, H.B. 2000. Fungicides: risk of resistance development and search for new targets. *Arch. Phytopathol. Plant Pfl.* 33, 329-349.
- Reynier, A. 1989. Manual de viticultura. Editorial Mundi-prensa. Madrid, España.
- Reynolds, T. 2004. Aloe chemistry. In Reynolds, T. (ed), *Aloes - the genus Aloe*. CRC Press; Boca Raton, London, New York, Washington, D.C. 39-74.
- Reynolds, T., Dweck, A.C. 1999. *Aloe vera* leaf gel: a review update. *J. Ethnopharmacology.* 68, 3-37.
- Richardson, D.G., Meheriuk, M. 1992. Eds. Controlled atmospheres for storage and transport of perishable agricultural commodities. Proc. 3rd Natl. Controlled Atmosphere Research Conference, Timber Press, Beaverton, Oregon, USA.
- Rosca-Casian, O., Parvu, M., Vlase, L., Tamas, M., 2007. Antifungal activity of *Aloe vera* leaves. *Fitoterapia.* 78, 219-222.

- Saks, Y., Barkai-Golan, R. 1995. *Aloe vera* gel activity against plant pathogenic fungi. *Postharvest Biol. Technol.* 6, 159-165.
- Saks, Y., Ish-shalom-Gordon, N. 1995. *Aloe vera* L., a potential crop for cultivation under conditions of low-temperature winter and basalt soils. *Ind. Crop. Prod.* 4, 85-90.
- Sams, C.E. 1999. Preharvest factors affecting postharvest texture. *Postharvest Biol. Technol.* 15, 249-254.
- Saritha, V., Anilakumar, K.R., Farhath, K. 2010. Antioxidant and antibacterial activity of *Aloe vera* gel extracts. *Int. J. Pharma. Biol. Arch.* 1, 376-384.
- Schweizer, M. 1994. *Aloe vera* la planta que cura. APB & Marck Schweizer Press. Paris, Francia.
- Sharma, R.R., Pongener, A. 2010. Natural products for postharvest decay control in horticultural produce: A review. *Stewart Postharvest Rev.* 6, 1-9.
- Sharrif-Moghaddasi, M., Verma, S.K. 2011. *Aloe vera* their chemicals composition and applications: A review. *Int. J. Biol. Med. Res.* 2, 466-471.
- Shiratake, K., Martinola, E. 2007. Transporters in fruit vacuoles. *Plant Biotechnol.* 24, 127-133.
- Shewfelt, R.L. 1999. What is quality? *Postharvest Biol. Technol.* 15, 197-200.
- Serrano, M., Díaz-Mula, H.M., Zapata, P.J., Castillo, S., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Valverde J.M., Valero, D. 2009. Maturity Stage at Harvest Determines the Fruit Quality and Antioxidant Potential after Storage of Sweet Cherry Cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 57, 3240-3246.
- Serrano, M., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Valero, D. 2005. Chemical Constituents and Antioxidant Activity of Sweet Cherry at Different Ripening Stages. *J. Agric. Food Chem.* 53, 2741-2745.

- Serrano, M., Martínez-Madrid, M.C., Martínez, G., Riquelme, F., Pretil, M.T., Romojaro, F. 1996. Review: Role of polyamines in chilling injury of fruit and vegetables. *Food Sci. Tec. Int.* 2, 195-199.
- Serrano, M., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Guillén F. Valero, D., 2004. Effect of preharvest sprays containing calcium, magnesium and titanium on the quality of peaches and nectarines at harvest and during postharvest storage. *J. Food Sci.* 84, 1270-1276.
- Serrano, M, Martínez-Romero, D., Guillén, F. Valero, D. 2003. Effects of exogenous putrescine on improving shelf life of four plum cultivars. *Postharvest Biol. Technol.* 30, 259-271.
- Serrano, M., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Valverde, J.M., Zapata, P.J., Castillo, S., Valero, D. 2008. The addition of essential oils to MAP as a tool to maintain the overall quality of fruits. *Trends Food Sci. Technol.* 19, 464-471.
- Serrano, M., Valverde, J.M., Guillén, F., Castillo, S., Martínez-Romero, D., Valero, D. 2006. Use of *Aloe vera* gel coating preserves the functional properties of table grapes. *J. Agric. Food Chem.* 54, 3882-3886.
- Smith, G.F. 1993. Familial Orthography: Aloeaceae vs Aloaceae. *Taxon.* 42, 87-90.
- SPSS. 2001. SPSS Inc. Version 11.0.1 for Windows.
- Steenkamp, V., Stewart, M.J. 2007. Medicinal applications and toxicological activities of Aloe products. *Pharm. Biol.* 45, 411-420.
- Stevens, C., Khan, V.A., Wilson, C.L., Lu, J.Y., Chalutz, E., Droby, S. 2005. The effect of fruit orientation of postharvest commodities following low dose ultraviolet light-C treatment on host induced resistance to decay. *Crop Prot.* 24, 756-759.

Stevens, N. 2001. *Aloe vera*. Ed. Sirio, Málaga, España.

Sugar, D. 2009. Influence of temperature and humidity in management of postharvest decay. *Stewart Postharvest Rev.* 5, 1-5.

Tanaka, M., Misawa, E., Ito, Y., Habara, N., Nomaguchi, K., Yamada, M., Toida, T., Hayasawa, H., Takase, M., Inagaki, M., Higuchi, R. 2006. Identification of five phytosterols from *Aloe vera* gel as anti-diabetic compounds. *Biol. Pharm. Bull.* 29, 1418-22.

Tanaka, Y., Sasaki, N., Ohmiya, A. 2008. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. *Plant J.* 54, 733-49.

Tavarini, S., Degl'Innocenti, E., Remorini, D., Massai R., Guidi, L. 2008. Antioxidant capacity, ascorbic acid, total phenols and carotenoids. *Food Chem.* 107, 282-288.

Thompson, B., Demark-Whanefried, W., Taylor, G., McClelland, J.W., Stables, G., Havas, S., Feng, Z., Topor, M., Heimendinger, J., Reynolds, K.D., Cohen, N. 1999. Baseline fruit and vegetables intake among adults in seven 5 a day study centers located in diverse geographic areas. *J. Am. Diet. Assoc.* 99, 1241-1248.

Thumdee S., Manenoi A., Chen N.J., Paull R.E. 2010. Papaya fruit softening: Role of hydrolases. *Tropical Plant Biol.* 3, 98-109.

Tomás-Barberán, F.A., Espín, J.C. 2001. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *J. Sci. Food Agric.* 81, 853-876.

Tomás-Barberán, F.A., Gil, M.I., Cremin, P., Waterhouse, A.L., Hess-Pierce, B., Kader, A.A. 2001. HPLC-DAD-ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches and plums. *J. Agric. Food. Chem.* 49, 4748-60.

- Tripathi, P., Dubey, N.K. 2004. Exploitation of natural products as alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. *Postharvest Biol. Technol.* 32, 235-245.
- Unnikrishnan, V., Nath, B.S. 2002. Hazardous chemicals in foods. *Indian J. Dairy Biosci.* 11, 155-158.
- Usenik, V., Fabčič, J., Štampar, F. 2008. Sugars, organic acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Food Chem.* 107, 185-192.
- Vainio, H., Weiderpass, E. 2006. Fruit and vegetables in cancer prevention. *Nutr.Cancer.* 54, 111-142.
- Valero, D., Díaz-Mula, H.M., Zapata, P.J., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Serrano, M. 2013. Effects of alginate edible coating on preserving fruit quality in four plum cultivars during postharvest storage. *Postharvest Biol. Technol.* 77, 1-6.
- Valero, D., López-Frías, M., Llopis, J., López-Jurado, M. 1990. Influence of dietary fat on the lipid composition of perirenal adipose tissue in rats. *Ann. Nutr. Metab.* 34, 327-332.
- Valero, D., Martínez-Romero, D., Serrano, M. 2002. The role of polyamines in the improvement of the shelf life of fruit. *Trends Food Sci. Technol.* 13, 228-234.
- Valero, D., Serrano, M. 2010. Postharvest biology and technology for preserving fruit quality. CRC Press-Taylor & Francis, Boca Raton, Florida, USA.
- Valero, D., Valverde, J.M., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Castillo, S., Serrano, M. 2006. The combination of modified atmosphere packaging with eugenol or thymol to maintain quality, safety and functional properties of table grapes. *Postharvest Biol. Technol.* 41, 317-327.

- Valverde, J.M., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Serrano, M., Valero, D. 2005a. Improvement of table grapes quality and safety by the combination of modified atmosphere packaging (MAP) and eugenol, menthol or thymol. *J. Agric. Food Chem.* 53, 7458-7464.
- Valverde, J.M., Valero, D., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Castillo, S., Serrano, M. 2005b. Novel edible coating based on of *Aloe vera* gel to maintain table grape quality and safety. *J. Agric. Food Chem.* 53, 7807-7813.
- van Wyk, B. 2000. Photoguide - Wild flowers of South Africa. Struik Publishers, South Africa.
- van Wyk, B.E, Gericke, N. 2000. People plants: A guide to useful plants of southern Africa. BRIZA Publications, Pretoria.
- van Wyk, B.E., Smith, G. 1996. Guide to the Aloes of South Africa. Briza Publications, Pretoria.
- van Wyk, B.E., van Oudtshoorn, B., Gericke, N. 2009. Medicinal plants of South Africa, Second edition. Briza Publications, Pretoria.
- van Wyk, B.E., van Rheed, van Oudtshoorn, M.C., Smith, G.F. 1995. Geographical variation in the major compounds of *Aloe ferox* leaf exudate. *Planta Med.* 61, 250-3.
- Vázquez, B., Avila, G., Segura, D., Escalante, B. 1996. Antiinflammatory activity of extracts from *Aloe vera* gel. *J. Ethnopharmacol.* 55, 69-75.
- Vega-Gálvez, A., Giovagnoli, A., Pérez-Won, M., Reyes, J.E., Vergara, J., Miranda, M., Uribe, E., Di Scala, K. 2012. Application of high hydrostatic pressure to *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) gel: Microbial inactivation and evaluation of quality parameters. *Inno. Food Sci. Emerg. Technol.* In Press. 13, 57-63.

- Vega-Gálvez, A., Miranda, M., Aranda, M., Henriquez, K., Vergara, J., Tabilo-Munizaga, G., Pérez-Won, M. 2011. Effect of high hydrostatic pressure on functional properties and quality characteristics of *Aloe vera* gel (*Aloe barbadensis* Miller). *Food Chem.* 129, 1060-1065.
- Vinson, J.A., Al Kharrat, H., Andreoli, L. 2005. Effect of *Aloe vera* preparations on the human bioavailability of vitamins C and E. *Phytomedicine.* 12, 760-5.
- Viñas, I., Teixidó, N., Abadias, M., Torres, R., Usall, J. 2006. Alternativas a los fungicidas de síntesis en el control de las enfermedades de postcosecha de frutas. En: Innovaciones fisiológicas y tecnológicas de la maduración post-recolección de frutas y hortalizas. Ed. D. Valero y M. Serrano. Orihuela, Alicante, España. 263-373.
- Vizzotto, M., Cisneros-Zevallos, L., Byrne, D., Okie, W.R., Ramming, D.W. 2007. Large variation found in the phytochemical and antioxidant activity of peach and plum germplasm. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 132, 334-340.
- Walker, R.P., Leegood, R.C., 1996. Phosphorylation of phosphoenolpyruvate carboxykinase in plants: Studies in plants with C4 photosynthesis and Crasulacean acid metabolism and in germinating seeds. *Biochem. J.* 317, 653-658.
- Wills, R.B.H., Warton, M.A., Mussa, D.M.D.N., Chew, L.P. 2001. Ripening of climacteric fruits initiated at low ethylene levels. *Aust. J. Exp. Agr.* 41, 89-92.
- Wilson, C.L., El-Ghaouth, A., Wisniewski, M.E. 1999. Prospecting in nature's storehouse for biopesticides. Conferencia Magistral. *Rev. Mex. Fitopatol.* 17, 49-53.
- Winkler, A.J. 1965. Viticultura. Editorial Continental. México. 439-468.

- Winkler A., Cook J., Lider J.A., Kliewer W.M. 1974. Development and composition of grapes. General Viticulture. University of California Press, Berkeley, Los Angeles, London. 151-157.
- Wood, J.E., Senthilmohan, S.T., Peskin, A.V. 2002. Antioxidant activity of procyanidin-containing plant extracts at different pHs. *Food Chem.* 77, 155-161.
- Woods, J.L. 1990. Moisture loss from fruits and vegetables. *Postharvest News Inform.* 1, 195-199.
- Yagi, A., Tsunoda, M., Egusa, T., Akasaki, K., Tsuji, H. 1998. Immunochemical distinction of *Aloe vera*, *A. Arborescens* and *A. Chinensis* gel [letter]. *Planta Med.* 64, 277-8.
- Yoshioka, H., Hayama, H., Tatsuki, M., Nakamura, Y. 2011. Cell wall modifications during softening in melting type peach "Akatsuki" and non-melting type peach "Mochizuki". *Postharvest Biol. Technol.*, 60, 100-110.
- Zahavi, T., Cohen, L., Weiss, B., Schena, L., Daus, A., Kaplunov, T., Zutkhi, J., Ben-Arie, R., Droby, S. 2000. Biological control of *Botrytis*, *Aspergillus* and *Rhizopus* rots on table and wine grapes in Israel. *Postharvest. Biol. Tec.* 20, 115-124.
- Zahida, P., Masud, S.Z. 2002. Fungicide residues in apple and citrus fruits after postharvest treatment. *Pakistan J. Sci. Ind. Res.* 45, 246-249.
- Zamora, F. 2003. Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos. Ed. AMV-Mundiprensa. Madrid, España. 14-27.
- Zapata, P.J., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Valero, D., Serrano, M. 2008. Use of alginate or zein as edible coatings to delay postharvest ripening process and to maintain tomato (*Solanum lycopersicon* Mill) quality. *J. Sci. Food Agr.* 88, 1287-1293.

Zoffoli, J.P, Latorre, B.A., Rodríguez, E.J., Aldunce, P. 1999. Modified atmosphere packaging using chlorine gas generators to prevent *Botrytis cinerea* on table grapes. *Postharvest Biol. Tec.* 15, 135-142.