

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA
GRADO DE INGENIERÍA AGROALIMENTARIA Y AGROAMBIENTAL



EFFECTO DE LA APLICACIÓN POSCOSECHA DE NITROPRUSIATO DE SODIO SOBRE LA CALIDAD DE LIMÓN ECOLÓGICO

TRABAJO FIN DE GRADO

JULIO-2021

Autor: Álvaro Del Cerro Monteagudo

Tutores: Pedro Javier Zapata Coll,

María José Giménez Torres



EFFECTO DE LA APLICACIÓN POSCOSECHA DE NITROPRUSIATO DE SODIO SOBRE LA CALIDAD DE LIMÓN ECOLÓGICO

RESUMEN

España es el primer exportador mundial de cítricos para el consumo en fresco. Las pérdidas económicas ocasionadas por las enfermedades de poscosecha constituyen uno de los principales problemas del sector español de los cítricos. Las enfermedades poscosecha en cítricos son controladas aplicando fungicidas químicos en los almacenes antes de su conservación. Sin embargo, la creciente preocupación social de los peligros para la salud y el medio ambiente relacionados con el uso de tratamientos químicos de síntesis ha hecho que aumente la demanda de productos ecológicos, haciendo necesario el desarrollo de métodos alternativos no contaminantes. El nitroprusiato de sodio (NPS) es un donante de óxido nítrico (ON) en solución acuosa, compuesto que regula diversos procesos en las plantas, incluyendo crecimiento, desarrollo y defensa de las plantas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de tratamientos poscosecha con NPS en limón sobre la calidad durante la conservación en frío. Los limones ecológicos de la variedad Primofiori fueron sumergidos en una disolución acuosa de NPS 0,1 y 0,5 mM durante 5 minutos. Los resultados mostraron que la aplicación de NPS en poscosecha retrasó las pérdidas de calidad en los frutos e incremento la resistencia reduciendo las podredumbres en frutos. Por tanto, la aplicación poscosecha de NPS podría ser una herramienta eficaz para mantener la calidad y extender la vida útil en limón ecológico.

Palabras clave: pérdida de peso, firmeza, podredumbres, compuestos bioactivos.

ABSTRACT

Spain is the world's leading exporter of citrus fruits for fresh consumption. The economic losses caused by post-harvest diseases constitute one of the main problems of the Spanish citrus sector. Postharvest diseases in citrus fruits are controlled by applying chemical fungicides in warehouses before their conservation. However, the growing social concern about the dangers to health and the environment related to the use of synthetic chemical treatments has increased the demand for organic products, making it necessary to develop alternative non-polluting methods. Sodium nitroprusside (NPS) is a nitric oxide (NO) donor in aqueous solution, a compound that regulates various processes in plants, including plant growth, development and defense. The objective of this work was to evaluate the effect of postharvest treatments with NPS in lemon on quality during cold storage. The organic lemons of the Primofiori variety were immersed in an aqueous solution of 0.1 and 0.5 mM NPS for 5 minutes. The results showed that the application of NPS in postharvest delayed the losses of quality in the fruits and increased the resistance reducing the rottenness in fruits. Therefore, the postharvest application of NPS could be an effective tool to maintain quality and extend shelf life in organic lemon.

Keywords: weight loss, firmness, rot, bioactive compounds.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	7
1.1 ORIGEN.....	7
1.2 HÁBITAT.....	7
1.3 IMPORTANCIA ECONÓMICA.....	8
1.4 EL LIMONERO.....	13
1.5 EL LIMÓN.....	16
1.5.1 COMPOSICIÓN.....	16
1.5.2 VARIEDADES.....	17
1.5.3 PATRONES.....	18
1.5.4. CULTIVO DE LIMÓN ECOLÓGICO.....	19
1.5.5 CALIDAD.....	20
1.5.6 ALTERACIONES Y PÉRDIDAS DE CALIDAD POSCOSECHA.....	21
1.6 TRATAMIENTOS POSCOSECHA.....	23
1.7 HERRAMIENTAS POSCOSECHA INNOVADORAS.....	26
2. OBJETIVOS	28
3. MATERIALES Y MÉTODOS	29
3.1 MATERIAL VEGETAL Y DISEÑO EXPERIMENTAL.....	29
3.2 DETERMINACIONES ANALÍTICAS.....	30
3.2.1 TASA DE RESPIRACIÓN.....	30
3.2.2 PÉRDIDA DE PESO.....	31
3.2.3 FIRMEZA.....	31
3.2.4 COLORIMETRÍA POR CIEL*a*b*.....	32
3.2.5 SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES.....	32
3.2.6 ACIDEZ TITULABLE.....	33
3.2.7 FENOLES TOTALES.....	34
3.2.8 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL.....	34
3.2.9 INCIDENCIA PODREDUMBRES.....	35
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
4.1 TASA DE RESPIRACIÓN.....	35
4.2 PÉRDIDAS DE PESO Y FIRMEZA.....	37
4.3 COLOR.....	39
4.4 SÓLIDOS SOLUBLES.....	41
4.5 ACIDEZ TOTAL.....	42

4.6 FENOLES TOTALES.....	44
4.7 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL.	45
4.8 INDICENCIA PODREDUMBRES	47
5. CONCLUSIONES.....	48
6. BIBLIOGRAFÍA.....	49



1. INTRODUCCIÓN

1.1 ORIGEN.

El limonero (*Citrus limon* L.) es la tercera especie de cítricos más importante del mundo por detrás del naranjo y el mandarino. Es un árbol de hoja perenne y espinoso de la familia de las Rutáceas. Esta especie se desarrolla de manera eficaz en climas templados y tropicales, cultivándose actualmente en todo el mundo.

Es originario de la zona este de la región del Himalaya en la India y áreas adyacentes, compartiendo origen con el cidro (*C. medica* L.). Fue introducido en China con la dinastía Song (960-1297 d.C.) y difundido por el Mediterráneo por los árabes entre los años 1000-1200 d.C. No fue hasta la Edad Media cuando comenzó a ganar popularidad y ser consumido más habitualmente, para más tarde llegar al continente americano por los exploradores españoles.

A comienzo de la Edad Moderna ya se había difundido por el Levante, sureste y Andalucía. En un primer momento eran utilizados como árboles ornamentales, meramente estéticos, pues fue por estas fechas cuando empezaron a aprovecharse los frutos del árbol. Más tarde, en el siglo XIX, debido a su mayor facilidad para el transporte, se incrementó su producción, transformándose los terrenos de secano en regadío.

1.2 HÁBITAT.

El limonero es una especie más resistente al frío y al calor que el cidro, aunque es bastante más sensible que la mayoría de los cítricos, por lo que requiere de climas tropicales o subtropicales para su óptimo desarrollo. Por otro lado, en climas tropicales la especie se desarrolla con normalidad, aunque los frutos que produce no tienen muy buena calidad comercial, ya que son demasiado gruesos y presentan un grado de acidez muy bajo, por lo que en estas latitudes es mejor optar por el cultivo de limas.

El clima que más se adapta a las necesidades del limonero es el Mediterráneo, por ello las principales zonas productoras son las del Levante y sur español, junto con zonas costeras del sur de California, Sicilia, noroeste de Argentina, sur de Grecia, sur de Turquía, etc.

La importancia del limonero es menor que la del naranjo, debido a una menor demanda de consumo y unas mayores exigencias climáticas y edafológicas para poder cumplir con unos niveles determinados de productividad y calidad.

1.3 IMPORTANCIA ECONÓMICA.

España y, principalmente la Región de Murcia, es uno de los principales productores de limón en todo el mundo, siendo España el segundo país que más produce del mundo, solo por detrás de Argentina, superando a países con mucha mayor superficie como Estados Unidos o Sudáfrica. Sin embargo, España asciende al primer puesto, con un 20 % de producción mundial de limón. Por otro lado, España mantiene el segundo lugar dedicando un 12 % a la industria de zumos.

 Argentina	 España	 EE.UU	 Turquía	 Italia	 África Sur	 Otros¹
Fresco 302.000	Fresco 735.000	Fresco 623.000	Fresco 723.000	Fresco 418.000	Fresco 207.000	Fresco 650.000
Industria 1.086.000	Industria 240.000	Industria 230.000	Industria 33.000	Industria 81.000	Industria 78.000	Industria 240.000
Producción 1.388.000	Producción 975.000	Producción 853.000	Producción 756.000	Producción 499.000	Producción 285.000	Producción 890.000
TOTAL	Fresco 3.660.000		Industria 1.986.000		Producción 5.646.000	

Figura 1. Producción anual en el mundo de limón (Tm). Ailimpo. Importancia socioeconómica del sector del limón en España / 2010-2017.

La Región de Murcia tiene un papel muy importante en el panorama económico en cuanto a limón se refiere, siendo la Comunidad Autónoma con mayor producción de limón ascendiendo a 536.000 Tm, un 55 %, mayor que la Comunidad Valenciana o Andalucía.

En cuanto al destino del limón producido en España, más de la mitad se exporta a diferentes países de la Unión Europea como refleja el siguiente gráfico (Figura 2).

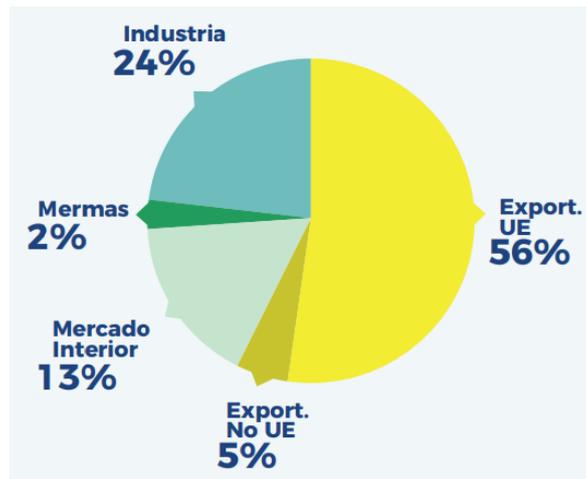


Figura 2. Destino Producción de limón en España. Ailimpo. Importancia socioeconómica del sector del limón en España / 2010-2017.

En lo que se refiere a la evolución de producción de limón (Figura 3), podemos observar una tendencia ascendente en los últimos años, con un pico de producción muy alto, relacionado con unas condiciones climáticas óptimas, acompañado de una alta disponibilidad de agua en la época del cuaje del limón en Murcia y Alicante (principales zonas productoras de limón de España), lo que repercutió positivamente en la formación del fruto. También cabe mencionar que el limonero sufre de vecería (proceso por el cual la producción puede oscilar considerablemente entre un año y otro), por lo que posiblemente debido a este fenómeno se incrementó aún más la cosecha de ese año.

En cuanto a la superficie cosechada (Figura 4), se observó un máximo en 2008, que fue un año predecesor de una bajada drástica de la superficie en 2009, hasta el 2014, donde cambió la tendencia y empezó a aumentar de manera pronunciada hasta 2019.

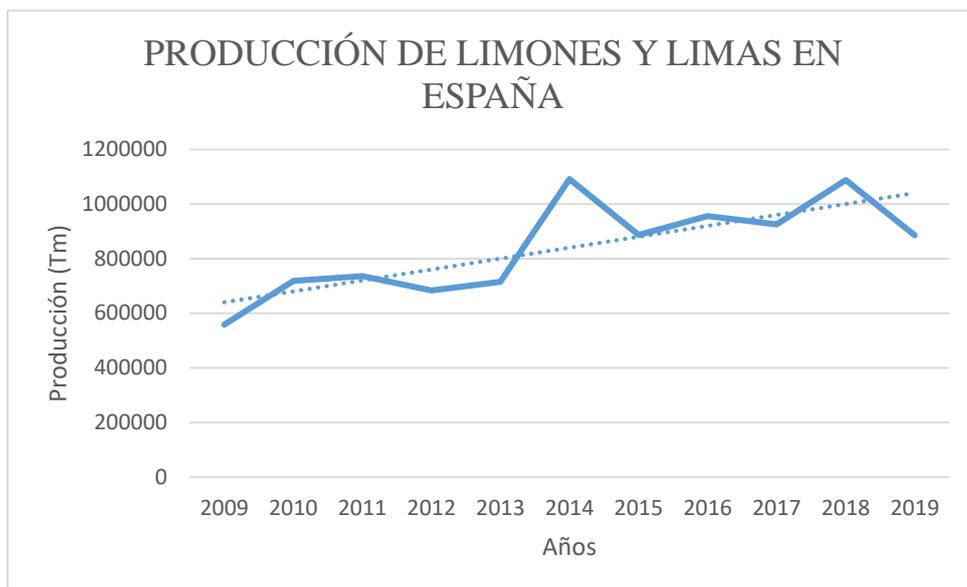


Figura 3. Evolución producción de limones y limas en España (FAOSTAT, 2021).

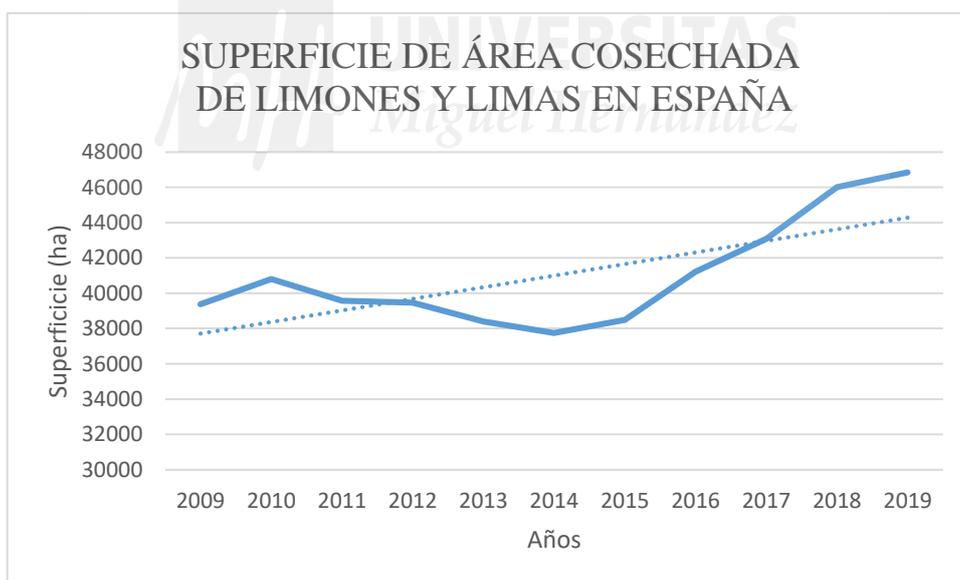


Figura 4. Evolución superficie de limones y limas en España (FAOSTAT, 2021) .

Respecto a la comercialización, los datos de importaciones y exportaciones se muestran en la Figura 5. Se observa una notable diferencia entre toneladas de exportación e importación debido principalmente a la gran calidad del limón español y su fuerte

presencia en el mercado tanto europeo como mundial. También podemos observar una tendencia positiva en 2016 de aumento de exportaciones y disminución de importaciones.

Las importaciones se han mantenido prácticamente constantes desde 2009, siendo las importaciones menores a 100000 t/año; sin embargo, las exportaciones han sufrido ligeras oscilaciones a lo largo de la última década, alcanzando las máximas cifras de exportación en los últimos años, cercanas a las 750000 t/año.

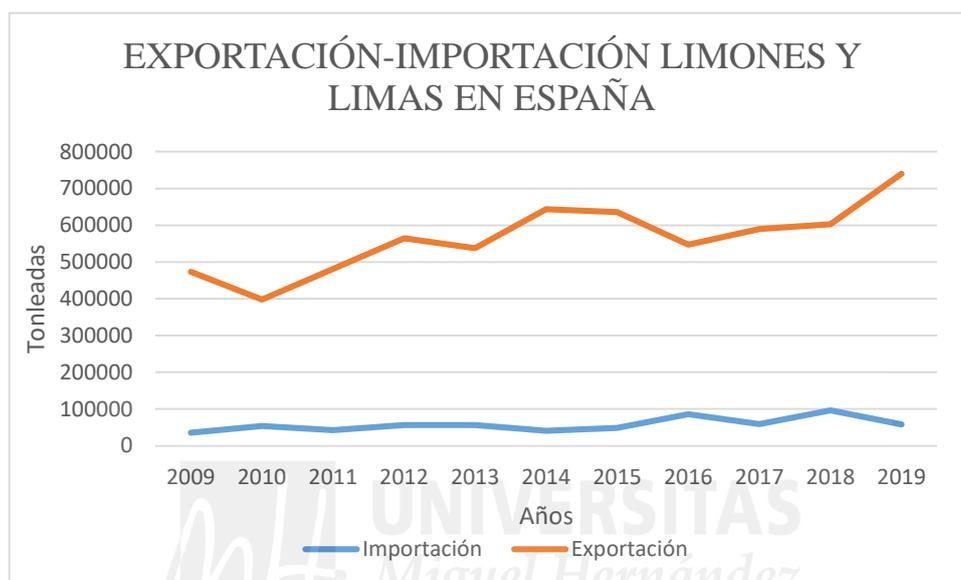


Figura 5. Exportación e importación de limones y limas en España (FAOSTAT, 2021) .

En cuanto al valor, podemos observar como aumenta el valor de exportación y se mantiene constante el de la importación, lo que supone un superávit comercial (Figura 6). Este aumento del valor, resulta muy beneficioso para los productores de limón españoles y puede ser debido al valor añadido del limón español posicionándose como uno de los de mayor calidad del mundo.

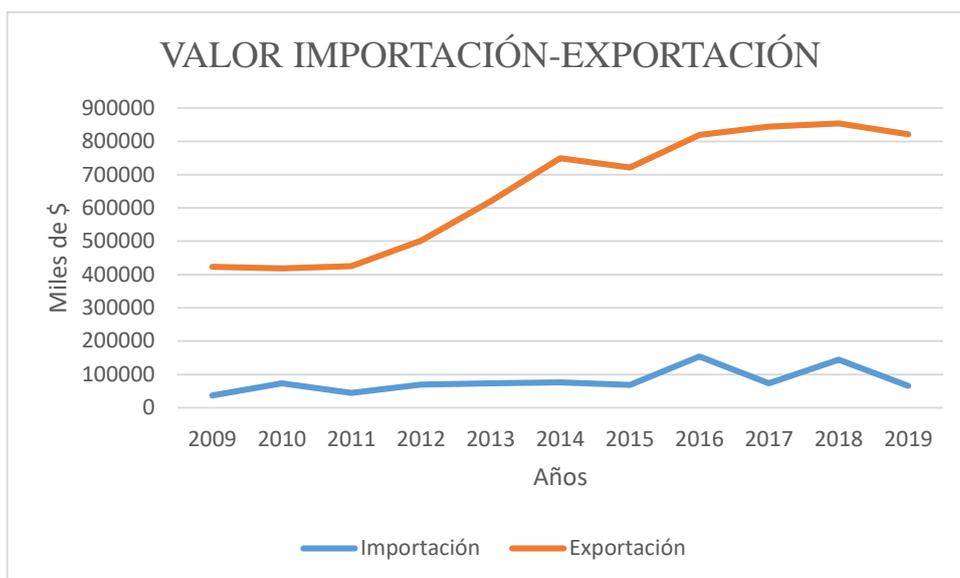


Figura 6. Valor económico exportación e importación de limos y limas en España (FAOSTAT, 2021) .

En cuanto al precio pagado al agricultor, existen oscilaciones en los últimos 10 años (Figura7). Se puede visualizar una evolución a partir del 2009 hasta el 2016 con una posterior caída de precios en 2017. Esta variabilidad de precios puede deberse a la mayor o menor oferta de limón según la producción de cada año.

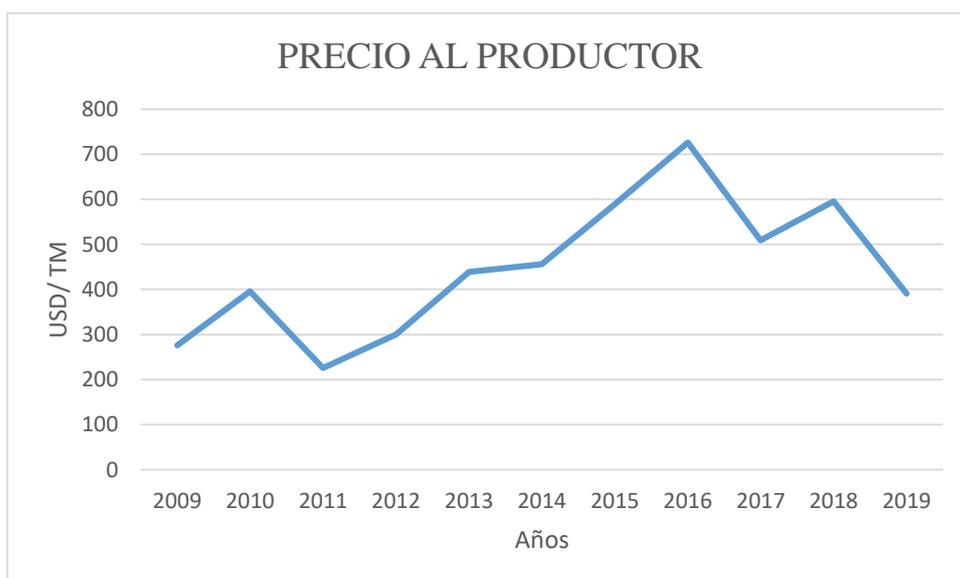


Figura 7. Precio pagado al agricultor de limones y limas en España (FAOSTAT, 2021) .

Años atrás el consumo de limón era muy estable, pero con el paso de los años, el hábito y las costumbres de los consumidores han ido cambiando, ya que no solo se utiliza el zumo, sino que se aprovechan otras partes del limón, como por ejemplo la corteza para la repostería. En los últimos años se han alcanzado unos precios muy altos y rentables para el agricultor y, como consecuencia de ello, ha aumentado la superficie de cultivo.

En cuanto al futuro, el veto ruso ha hecho que se consolide en Rusia el limón turco, el principal competidor de España, dejando el mercado europeo a España.

Se cree que el limón de origen español, dadas sus buenas cualidades, de forma lenta pero estable, irá creciendo en ventas tanto en Europa como en nuevos mercados que se están abriendo, fundamentalmente Asia y Canadá.

1.4 EL LIMONERO.

El limonero (*Citrus limon L.*) tiene la siguiente clasificación taxonómica:

Tabla 1. Clasificación taxonómica.

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliophyta
Subclase	Rosidae
Orden	Sapindales
Familia	Rutaceae
Subfamilia	Citroideae
Tribu	Citreae
Genero	Citrus
Especie	<i>Citrus Limon L.</i>

Es un árbol de hoja perenne, de pequeño tamaño (3-6 metros de altura), con numerosas ramas con espinas duras y de copa amplia y redonda. Posee las hojas simples, alternas, con peciolo de 1 cm, oblongo-lanceolada, con borde aserrado-dentado y color verde que oscurece con el tiempo. Las inflorescencias son axilares, formadas por pequeños grupos

de flores o reducidas a flores solitarias. Sus flores son hermafroditas, actinomorfas; cáliz con 5 lóbulos o dientes; corola con 5 pétalos libres, blancos o teñidos de púrpura. Posee un fruto carnoso, de tipo hesperidio, de hasta 13 cm, oblongo u ovoide, amarillo, de piel gruesa y rugosa.



Figura 8. Limonero.



Figura 9. Hoja de limonero.



Figura 10. Inflorescencia en limonero.



Figura 11. Flor abierta de limonero.



Figura 12. Fruto del limonero.

Las principales variedades que se cultivan en España son las de Primofiori (fino) y Verna, con lo siguientes periodos de recolección:

Octubre			Noviembre			Diciembre			Enero			Febrero			Marzo			Abril			Mayo											
10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30									
FINO																																
EUREKA																																
												VERNA																				

Figura 13. Calendario de recolección de las principales variedades de limón.

1.5 EL LIMÓN.

1.5.1 COMPOSICIÓN.

El limón consta de las siguientes partes:

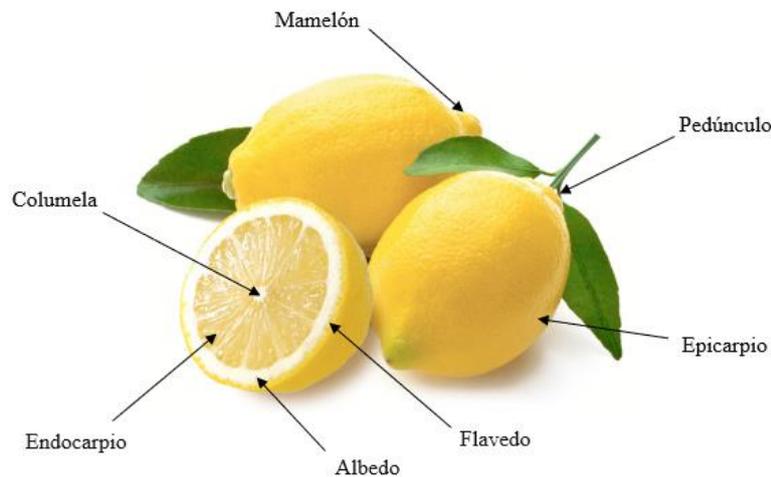


Figura 14. Partes del limón. Fuente propia.

El limón es un alimento muy rico en vitamina C, potasio y otras vitaminas y minerales. La vitamina C está implicada en la producción de colágeno, además de mejorar la cicatrización y el sistema inmunitario. También posee una capacidad antioxidante capaz de eliminar sustancias cancerígenas como las nitrosaminas.

La pulpa contiene ácidos orgánicos como el ácido cítrico y en menor medida ácido málico (responsables del sabor ácido), acético y fórmico. Contiene compuestos fenólicos como el ácido cafeico y ferúlico, potentes antioxidantes e inhibidores de la actividad carcinogénica.

El limón es una buena fuente de fibras solubles como la pectina, que se halla en la capa blanca que hay bajo la corteza. Sus principales propiedades son la disminución del colesterol, la glucosa en sangre y el desarrollo de la flora intestinal.

Por otro lado, los componentes más atractivos del limón son los fitonutrientes, concretamente los limonoides, encontrados en la corteza, que contribuyen a la prevención

de algunos tipos de cáncer. Tanto la capa blanca bajo la corteza como la pulpa contiene flavonoides a los que se le atribuyen propiedades antiinflamatorias.

1.5.2 VARIEDADES

- **Limón Primofiori:** el árbol es de tamaño mediano a grande, propenso al desarrollo de brotes fuertes con espinas. El fruto es de tamaño mediano y forma esférico-ovalada y su piel es más fina que la variedad verna. Es un fruto que presenta gran calidad tanto para consumo en fresco como para la industria transformadora.

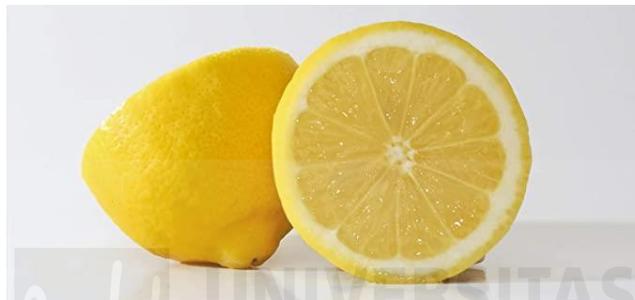


Figura 15. Limón Primofiori. Fuente: Ailimpo.

- **Limón Verna:** el árbol es de gran tamaño, vigoroso y con pocas espinas. El fruto es grande y alargado, de color exterior amarillo intenso, contiene pocas semillas y su corteza es gruesa, lo que favorece el transporte.

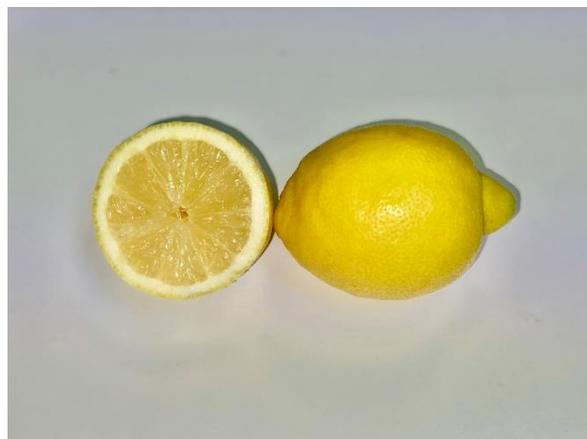


Figura 16. Limón Verna. Fuente propia.

- **Limón Eureka:** el árbol de tamaño mediano, casi sin espinas, temprano, prolífico, no especialmente vigoroso, sensible al frío, y no resistente a los insectos, vida relativamente corta, con un hábito de crecimiento abierto. Fruto de buen tamaño y de forma elíptica, normalmente presentan un cuello pequeño en la base del fruto, jugo con elevada acidez y escaso número de semillas.

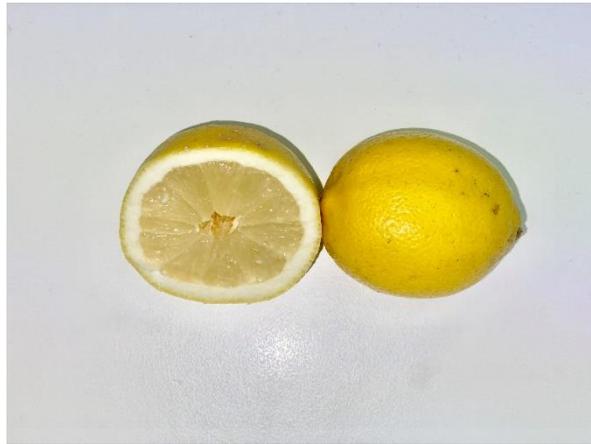


Figura 17. Limón eureka. Fuente propia.

1.5.3 PATRONES



La utilización de patrones para el cultivo de los agrios se remonta en nuestro país, al menos, a la segunda mitad del siglo XVIII. En aquel tiempo, los patrones utilizados eran el cidro y el limonero, y se multiplicaban mediante enraizamiento de estacas.

En España los dos patrones más importantes para el limonero son el naranjo amargo y el *C. macrophylla*, y en muy pequeña cantidad y de usos ornamentales el *C. volkameriana*. (MARM, 2008).

Las principales características de cada uno son:

- **Naranjo amargo (*C. aurantium*):** Posee un buen desarrollo en semillero, tolerante con las combinaciones de limonero, buena afinidad, pero entrada tardía con el fino; se forma el miriñaque en el verna. Resistente a la clorosis férrica e induce excelente calidad en la fruta.
- ***Citrus macrophylla*:** es una especie híbrida, posiblemente de *Citrus celebica* y *Citrus grandis*. Producen árboles grandes, vigorosos, con rendimientos altos. se

desarrollan bien en suelos calcáreos y arenosos que tengan pH elevado. Los árboles de este patrón tienen un sistema radicular denso y profundo que confiere tolerancia frente a la sequía. Los limones que crecen sobre este patrón tienen un gran tamaño.

- *Citrus volkameriana*: es un híbrido de limón, que como patrón produce árboles grandes y vigorosos que producen grandes árboles y vigorosos con grandes cantidades de frutas de calidad media.

1.5.4. CULTIVO DE LIMÓN ECOLÓGICO.

La producción ecológica, también llamada biológica u orgánica, es un sistema de gestión y producción agroalimentaria que combina las mejores prácticas ambientales junto con un elevado nivel de biodiversidad y de preservación de los recursos naturales, así como la aplicación de normas exigentes sobre bienestar animal, con la finalidad de obtener una producción conforme a las preferencias de determinados consumidores por los productos obtenidos a partir de sustancias y procesos naturales.

La producción ecológica está regulada en España desde 1989. En 1993 entró en vigor el primer Reglamento comunitario que se sustituyó por el actual reglamento 834/2007 del Consejo sobre producción y etiquetado de los productos ecológicos, desarrollado por los Reglamentos de la Comisión, 889/2008 y 1235/2008.

España tiene un papel muy importante en la producción ecológica en el mundo, pues ocupa el primer lugar en superficie de agricultura ecológica de la UE y está entre los cinco primeros del mundo (MAPAMA ,2021).

La agricultura ecológica se ha convertido en prácticamente imprescindible para poder dar respuesta a las exigencias de unos consumidores cada vez más interesados por llevar una alimentación lo más sana y natural posible. Surge del rechazo del uso de productos químicos de síntesis y da respuesta a una sociedad que pide soluciones a la emergencia medioambiental mundial en la que nos encontramos, caracterizada por el exceso de contaminación y el calentamiento global.

Respecto al cultivo de limón ecológico, la superficie cultivada ha crecido un 386 % entre 2012 y 2020, hasta alcanzar las 8.300 hectáreas, representando cerca de un 17 % del área cultivada en España para la producción de limón. Sin embargo,

1.5.5 CALIDAD.

Los principales parámetros que influyen en la percepción de calidad y frescura del fruto durante su comercialización son el tamaño, peso, la firmeza, el color, la concentración de sólidos solubles y la acidez titulable (Locaso et al., 2007).

- Color: coloración uniforme, pasando del verde al amarillo conforme avanza su madurez fisiológica.
- Forma: elíptica
- Sabor: ácido
- Textura: semidura
- Contenido Mínimo de Zumo: 20 %. El contenido mínimo de zumo (jugo) se calcula con relación al peso total del fruto. Los limones deben de estar enteros, exentos de heridas o magulladuras de importancia, sanos, quedando excluidos los productos que presenten podredumbres; limpio, exentos de daños causados por plagas y de daños causados por altas temperaturas o heladas.

El limón se puede clasificar según su calidad en extra, categoría I y categoría II, siendo este último el peor y extra la máxima calidad (Reglamento de ejecución nº 543/2011).

Otro parámetro de calidad importante para la comercialización de los limones es su calibre. El calibre del limón viene determinado por el diámetro máximo de su sección ecuatorial, siendo el calibre mínimo para su comercialización de 45 mm. Los principales calibres son los siguientes:

Tabla 2. Principales calibres de limón. Fuente: Reglamento de ejecución n° 543/2011.

Código de calibre	Diámetro (mm)
0	79 – 90
1	72 – 83
2	68 – 78
3	63 – 72
4	58 – 67
5	53 – 62
6	48 – 57
7	45 - 52

1.5.6 ALTERACIONES Y PÉRDIDAS DE CALIDAD POSCOSECHA

Tras la recolección de los frutos, las condiciones y duración del almacenamiento influyen significativamente en los parámetros de calidad poscosecha de los limones como son las pérdidas de peso (Eaks, 1961), cambios de color (Cohen y Schiffmann-Nadel, 1978), SST (Kaur et al., 2014), TA (Tsantili et al., 2002), ácido ascórbico (Eaks, 1961; Burdurlu et al., 2006) y contenido en ácido cítrico (Cohen y Schiffmann-Nadel, 1978).

Los trastornos fisiológicos y patológicos de los limones son las principales causas de pérdida de calidad durante la vida útil que conlleva grandes pérdidas económicas.

Los daños por frío y la mancha roja son trastornos fisiológicos de los limones, que pueden provocar importantes pérdidas económicas, debido a la baja calidad visual de los limones comercializados. El fruto del limón es muy sensible a la temperatura de almacenamiento por debajo de los 12 °C, apareciendo síntomas de daño por frío (Artés, et al., 1981;). Estos síntomas se agravan cuando los frutos se sacan del almacenamiento refrigerado durante el período de venta minorista. La lesión por frío se caracteriza por una decoloración localizada de la corteza seguida del colapso del área afectada, lo que resulta en depresiones en la superficie de la fruta (Artés, et al., 1981; Cohen, et al., 1994). Se cree que las respuestas primarias a la lesión por frío son alteraciones de la estructura y estabilidad de la membrana celular, junto con cambios en la composición y características de lípidos y ácidos grasos (Lado, et al., 2016; Sevillano, et al., 2009; Wismer, et al., 1998).

Las respuestas secundarias al daño por frío se han asociado con el estrés oxidativo en los cítricos (Lafuente, et al., 2004; Sala y Lafuente, 1999; Sala, 1998).

La mancha roja, o adustiosis, es un trastorno fisiológico de postcosecha que se caracteriza por manchas de color marrón rojizo, que pueden cubrir el 70% de la superficie del fruto del limón en etapas avanzadas. En las etapas iniciales de la adustiosis no hay daño a las glándulas o el epitelio. Sin embargo, cuando este trastorno fisiológico se agrava, la célula colapsa y necrotiza, desplazándose luego hacia los tejidos del albedo. Estas manchas aparecen durante el almacenamiento, acentuándose si se han recolectado inmaduros y se han conservado en frío. La causa de la incidencia de la mancha roja en los limones no se conoce bien, aunque se cree que es el resultado de algunos productos de la respiración de la fruta, como los ésteres de alquilo, ya que se han observado síntomas similares in vitro después de la aplicación de varios ésteres, como los ésteres de etilo-acetato (Guillén-Miró, 1978).

Debido a su elevado contenido en agua y a su composición en nutrientes, los cítricos son muy susceptibles a la infección por patógenos microbianos durante el periodo comprendido entre la cosecha y el consumo (Tripathi y Dubey, 2003). La enfermedad poscosecha más importante de los cítricos cultivados en climas mediterráneos está causada por *Penicillium digitatum* (moho verde). Otra patología a tener en cuenta, aunque menos importante, es el moho azul, causado por *Penicillium italicum*. Aunque crece con menor rapidez, bajo algunas condiciones concretas puede convertirse en un gran problema. Estos problemas de *Penicillium sp.* cobran mayor importancia en áreas de producción con abundantes lluvias.

Estas infecciones comienzan en las heridas producidas en la piel del fruto, por ello es muy importante realizar una recolección cuidadosa para que los limones no sufran golpes o cortes con las tijeras. Los síntomas comienzan a visualizarse en el limón después de aproximadamente 3 días de incubación con temperaturas de 20 °C. A medida que la carga se desarrolla, el micelio blanco aéreo se desarrolla en el centro de la herida y se expande radialmente. En el caso del moho verde, tras 7 u 8 días, la zona central se vuelve verde oliva, rodeada por una amplia banda de micelio blanco denso. Por otro lado, con el moho azul, el área de esporulación central es azul o verde azulado con una banda muy estrecha de micelio blanco no esporulante. Por último, toda la superficie de la fruta se cubre de conidios y comienza a encogerse (Palou y Smilanick, 2020).



Figura 18. *Penicillium digitatum*. Fuente: IVIA



Figura 19. *Penicillium italicum*. Fuente: IVIA.

1.6 TRATAMIENTOS POSCOSECHA

Los frutos y vegetales frescos presentan una gran dificultad para mantener su calidad debido a la evolución de los procesos fisiológicos de la maduración y al ataque microbiano. Por ello, son necesarios el uso de técnicas y estrategias de conservación eficaces para reducir contaminaciones microbiológicas indeseables, retrasar el proceso de maduración y mantener la calidad organoléptica, nutricional y funcional del producto.

En la Figura 20 se puede observar un diagrama de flujo general de las etapas y tratamientos que se realizan en limón a escala industrial.



Figura 20. Diagrama de flujo. Fuente propia.

Estos métodos de conservación se pueden clasificar en físicos, químicos y biológicos.

- 1) Métodos Físicos: manejo de la temperatura, humedad relativa, atmósferas controladas y modificadas.
- 2) Métodos Químicos: sales de calcio y aluminio, fungicidas sintéticos, ceras naturales, aceites esenciales, etc.
- 3) Métodos Biológicos: mohos, levaduras y/o bacterias.

El principal efecto de la aplicación de temperaturas bajas durante el almacenamiento poscosecha es una reducción del metabolismo del fruto y como consecuencia un retraso de la evolución de los parámetros relacionados con la sobre-maduración del fruto y pérdida de calidad. Los limones deben ser almacenados en cámaras con temperaturas entre 8-12 °C, ya que a temperaturas inferiores se pueden producir daños por frío. Además, la humedad relativa debe mantenerse lo más alta posible, entre el 85 y 95 %, para evitar pérdidas de agua cuando el ambiente que rodea al fruto es seco.

Actualmente, los fungicidas sintéticos son el medio principal de controlar las enfermedades poscosecha de los cítricos, especialmente imazalil (IZ), tiabendazol (TBZ), ortofenil sódico fenato (SOPP), fludioxonil (FLU), pirimetanil o diferentes mezclas de estos compuestos (Ismail y Zhang, 2004; Smilanick et al., 2006; Palou et al., 2008). Sin embargo, el uso de estos tratamientos convencionales presenta los siguientes problemas (Palou, 2018):

- Residuos químicos y liberación de residuos al medio ambiente.
- Proliferación de cepas patogénicas resistentes.
- Proceso largo y costoso para las empresas el registro de nuevos productos fungicidas.
- Acceso limitado a determinados mercados cercanos: los clientes de la UE demandan niveles de residuos menores que el Límite Máximo de Residuos (LMR). Mayor importancia de mercados ecológicos.

Por tanto, el uso de fungicidas es cada vez más restringido debido a una estricta regulación, a su elevada carcinogenicidad, toxicidad residual alta y aguda, periodo prolongado para su degradación, contaminación ambiental y aumento de la preocupación de los consumidores por los residuos químicos en la fruta (Tripathi y Dubey, 2003; Palou

et al., 2008). Además, su uso también queda prohibido cuando se trata de cultivos ecológicos. Es por ello, que el limón ecológico presenta más problemas que el limón convencional para llegar al consumidor final en condiciones óptimas de calidad debido al aumento de la susceptibilidad a sufrir patologías post-cosecha como podredumbres.

Por todo ello, surge la necesidad de desarrollar de forma más segura y ecológica, estrategias alternativas de control de enfermedades poscosecha en cítricos, que presentan menos riesgo para la salud humana y ambiente.

1.7 HERRAMIENTAS POSCOSECHA INNOVADORAS

En los últimos años se han investigados diversas herramientas poscosecha como métodos de control alternativos a los convencionales (Palou, 2018).

- Métodos de control físicos: tratamientos térmicos o curados, radiación UV, ozono.
- Métodos de control químicos de bajo riesgo: sustancias naturales, aditivos, sustancias inductoras de resistencia, etc.
- Métodos de control biológicos: microorganismos antagónicos (bacterias, levaduras, hongos...).
- Combinación de métodos de control: efectos aditivos o sinérgicos para aumentar la efectividad y persistencia de los tratamientos individuales, implantación de tratamientos efectivos que aplicados de manera individual resultan menos efectivos.

Actualmente, las empresas del sector que procesan y comercializan limón ecológico utilizan como principal tratamiento poscosecha el empleo de productos ricos en ácido peracético y agua oxigenada que aplican en dréncher una vez que los limones entran en la industria. La función de estos tratamientos es tratar las heridas producidas en el campo y en la recolección para evitar la proliferación de hongos y bacterias. Sin embargo, en muchas ocasiones estos tratamientos no son suficientes por lo que surge la necesidad de buscar nuevos tratamientos.

Las principales alternativas químicas de baja toxicidad para el control de podredumbres en cítricos son aditivos alimentarios (Palou et al., 2002), sales inorgánicas (Palou et al.,

2001; Deliopoulos et al., 2010; Youssef et al., 2012; Cerioni et al., 2013a, b), aceites esenciales (Plaza et al., 2004; du Plooy et al., 2009; Combrinck et al., 2011; Pérez-Alfonso et al., 2012; Castillo et al., 2014) y fitoquímicos (Hao et al., 2010).

Recientemente, se están investigando nuevas técnicas como es la aplicación de óxido nítrico ya que regula diversos procesos en las plantas, incluyendo crecimiento, desarrollo y defensa de las plantas. En este sentido, se han realizado diversas investigaciones sobre la aplicación de nitroprusiato de sodio (NPS) como donante de óxido nítrico (ON) en solución acuosa. La aplicación de NPS en poscosecha en distintos frutos ha mostrado ser efectiva reduciendo las pérdidas de calidad poscosecha y aumentando su vida útil en pera (Adhikary et al., 2021). Resultados similares se obtuvieron cuando se trataron arándanos con NPS (Ge et al., 2019; Dai et al., 2021), donde además de reducir las pérdidas de calidad del fruto, redujo la incidencia de podredumbres respecto a los frutos control.



2. OBJETIVOS.

El objetivo de este trabajo ha sido evaluar el efecto de la aplicación de tratamientos poscosecha con NPS a dos concentraciones (0,1 y 0,5 mM) en limón ecológico, sobre la calidad durante 35 días de conservación a dos temperaturas de refrigeración, 8 °C como temperatura óptima, y 2 °C como temperatura que genera daños por frío.

El efecto de los tratamientos se determinará mediante la evaluación de diferentes parámetros relacionados con la calidad del limón, como la tasa de respiración, pérdida de peso, firmeza, sólidos solubles, acidez, fenoles totales, actividad antioxidante y el control de podredumbres, en ambas temperaturas de conservación (2 ° y 8 °C).



3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1 MATERIAL VEGETAL Y DISEÑO EXPERIMENTAL.

Los ensayos se llevaron a cabo con limón ecológico de la variedad primofiori. Los limones fueron recolectados el 9 de marzo de 2021, almacenados en cajas de 20 kg en cámaras de refrigeración a 9 °C y 90 % de Humedad relativa. El 11 de marzo se transportaron los limones a los laboratorios de Universidad Miguel Hernández.

Se realizaron tratamientos poscosecha con nitroprusiato de sodio a las concentraciones 0.1 y 0.5 mM. Los tratamientos se realizaron mediante baños (dipping) durante 5 minutos. Después se almacenaron a 2 y 8 °C. A parte de los limones tratados, se crearon los lotes de control 2 y 8 °C a los que solo se le dio un baño con agua para poder observar las diferencias. Se realizaron en total 5 muestreos, a los 7, 14, 21, 28 y 35 días.

Tras realizar los tratamientos cada lote fue organizado en una caja con 3 réplicas de 8 limones, fueron etiquetados con el tratamiento, concentración, la temperatura y el número de muestreo.



Figura 21. Baños de tratamiento.



Figura 22. Lote con 3 réplicas de 8 limones tratados.



Figura 23. Información de la etiqueta.

Para cada fecha de muestreo y tratamiento, se tomaron 3 lotes de 8 limones cada uno para realizar las siguientes determinaciones analíticas: peso, color (croma), firmeza, contenido en sólidos solubles totales (SST) y acidez total (AT). Además, se determinó el contenido en compuestos bioactivos (fenoles totales, antocianinas totales y carotenoides totales), actividad antioxidante total (tanto en la fracción hidrosoluble como liposoluble).

3.2 DETERMINACIONES ANALÍTICAS.

3.2.1 TASA DE RESPIRACIÓN.

Para determinar la tasa de respiración se utilizó el sistema estático propuesto por Kader (1992) que implica encerrar el producto en un recipiente de cierre hermético por un periodo de tiempo. Para realizar estas medidas se introdujeron 2 limones por cada R para cada uno de los tratamientos, de peso conocido, en frascos de vidrio de 1.000 mL de capacidad con tapadera de cierre hermético. Esta tapadera constaba de un septum, válvula de material elastómero, que permitió, transcurridos 60 minutos, tomar una muestra del aire de cabeza de los botes con jeringas de 1 mL cada una.

La tasa de producción de CO₂ se cuantificó usando un cromatógrafo de gases Shimadzu™ GC-14B con un detector de conductividad térmica (TCD) y una columna de relleno concéntrica CTR I (ALLTECH), con las siguientes condiciones de trabajo: temperatura del horno de 35 °C, temperatura del inyector de 120 °C, temperatura del detector de 120 °C y flujo del gas portador (Helio) de 65 mL/min. Se realizó una calibración con patrón externo usando aire atmosférico, cuya concentración de CO₂ es 0,036 %. El cromatógrafo estaba conectado a un ordenador personal con un programa informático específico para el registro de los cromatogramas y su integración que permite la cuantificación.

El CO₂ producido como consecuencia del metabolismo se acumula y puede calcularse conociendo el peso del producto, el volumen del recipiente, y el tiempo que permanece cerrado el envase. La concentración de CO₂ en las muestras tomadas de los frascos, se calculó comparando el área de integración del pico de la muestra con la de los patrones utilizados de concentración conocida. Los resultados para la tasa de respiración fueron la media ± ES y se expresaron como mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹.

3.2.2 PÉRDIDA DE PESO.

El peso se determinó mediante una balanza Radwag WLC 2/A2 (Radwag Wagi Elektroniczne) con 2 cifras decimales de precisión y se expresó en gramos. Se pesaron los frutos cada día de muestreo y se compararon con los pesos que poseían el día 0. La determinación de pérdida de peso se expresó en % con respecto al peso inicial y los resultados son la media ± ES de los tres lotes.

3.2.3 FIRMEZA.

La firmeza se determinó independientemente en cada uno de los limones de cada réplica usando un Texturómetro TX-XT2i (Stable Microsystems, Godalming, UK) conectado con un ordenador personal. Se realizó un ensayo de deformación del fruto con un plato plano de acero montado sobre el texturómetro. Este disco de acero se hace descender hasta que contacta con la superficie del fruto y el equipo mide el diámetro del mismo. A continuación, continua el descenso del disco y se aplica una fuerza hasta alcanzar una deformación del 5 % del diámetro del fruto. Los resultados se expresaron como la relación fuerza-deformación (N mm⁻¹) y fueron la media ± ES.



Figura 24. Texturómetro TX-XT2i.

3.2.4 COLORIMETRÍA POR CIEL *a*b*

Los cambios de color se determinarán mediante colorimetría usando un colorímetro Minolta (CRC 200, Minolta Camera Co., Japón) para ver las diferencias de color en cada uno de los días de muestreo respecto al día 0 para cada uno de los tratamientos. El colorímetro se utiliza como una función de la cantidad de luz reflejada o transmitida por las hojas, usando las coordenadas CIELab que pretende acercarse a la percepción humana del color. Aporta una tripleta de coordenadas que permiten situarse colorimétricamente en un lugar del espacio. Los resultados se expresaron en función de los parámetros L^* , a^* y b^* . L^* o Luminosidad representa el rango de color que va desde valores de 0 (color negro) hasta una luminosidad de 100 (color blanco). El parámetro a^* representa las coordenadas rojo/ verde (+a indica rojo, -a indica verde), mientras que el parámetro b^* representa las coordenadas amarillo/azul (+b indica amarillo, -b indica azul). Los datos son el resultado de la media \pm ES de 24 limones

3.2.5 SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES.

Los sólidos solubles totales (SST) se midieron mediante refractometría sobre el zumo obtenido cada R (8 limones) por 3 réplicas, y por duplicado. Para ello se utilizó un refractómetro digital Atago PR-101 (Atago Co. Ltd., Tokyo, Japón) a 20 °C, y se expresaron como $g\ 100\ g^{-1}$ (media \pm ES).



Figura 25. Refractómetro digital.

3.2.6 ACIDEZ TITULABLE.

La acidez total (AT) se determinó por duplicado en el mismo zumo mediante titulación automática con un pH metro 785 DMP Titrino (Metrohm) de sensibilidad $\pm 0,01$ pH. Se valoró con NaOH 0,1 N hasta alcanzar un pH de 8,1, usando 0,5 mL de zumo diluido en 25 mL de agua destilada. Los resultados son el valor medio \pm ES y se expresaron como g ácido málico equivalente 100 g^{-1} de peso fresco.



Figura 26. pH metro 785 DMP Titrino (Metrohm).

3.2.7 FENOLES TOTALES

La extracción de fenoles de la piel del limón fue realizada como se describe en Tomás-Barberán et al. (2001) con pequeñas modificaciones. En un tubo de centrífuga rodeado de hielo picado se colocaron 2 g de corteza de limón, 10 mL de agua:metanol (2:8) conteniendo FNa 2 mM (para inactivar la actividad de la polifenoloxidasas y prevenir la degradación fenólica). Se homogeneizó en un Polytron (IKA T18 basic, Ultraturrax) durante 1 minuto y se centrifugó a 15.000 x g en una centrífuga C30P (B.Braun Biotech International) durante 15 minutos a 4 °C. Se tomó el sobrenadante y se guardó en tubos eppendorf para su posterior cuantificación.

Para la determinación del contenido en fenoles se usaron los extractos en metanol y se cuantificaron usando el reactivo Folin-Ciocalteu que reacciona con los fenoles dando un color azul característico. En un tubo de ensayo se añadieron 200 µL de extracto de muestra, 300 µL de tampón fosfato y 2,5 mL de reactivo Folin diluido 1/10. Se agitó y se dejó reposar durante 2 minutos. Posteriormente, se añadieron 2 mL de disolución 75 g/L de Na₂CO₃ para parar la reacción y se agitó. Se introdujeron los tubos en un baño a 50 °C durante 5 minutos.

3.2.8 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL.

La actividad antioxidante total (AAT) fue cuantificada de acuerdo con Serrano et al. (2009), que permite determinar en la misma extracción, la AAT debida tanto a los componentes hidrofílicos (AAT-H) como lipofílicos (AAT-L). Brevemente, para cada muestra, en un tubo de centrífuga rodeado de hielo picado se añadieron 2 g de corteza de limón y se homogeneizaron en 10 mL de tampón fosfato 50 mM pH= 7,8 y 5 mL de acetato de etilo. Se homogeneizó en un Polytron durante 1 minuto y se centrifugó a 15.000 rpm en una centrífuga C30P (B.Braun Biotech International) durante 15 minutos a 4 °C. La fase superior se usó para determinar la AAT debida a los compuestos lipofílicos (AAT-L) y la fase inferior para la actividad antioxidante total debida a los compuestos hidrofílicos (AAT-H). En ambos casos, la AAT se determinó usando el sistema enzimático compuesto por el cromóforo 2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS), la enzima peroxidasa de rábano y su substrato (peróxido de hidrógeno) que genera radicales ABTS⁺ de color verde-azulado que pueden medirse

espectrofotométricamente a 730 nm. La disminución de absorbancia después de añadir el extracto de muestra fue proporcional a la AAT de la muestra. Se realizó una curva de calibrado con Trolox (ácido (R)-(+)-6-hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametil-croman-2-carboxílico) (0-20 nmol) de Sigma (Madrid, España). Los resultados se expresaron como la suma de AAT-H y AAT-L, y los resultados se expresaron como mg de Trolox equivalentes (TE) 100 g⁻¹ de peso fresco.

3.2.9 INCIDENCIA PODREDUMBRES.

Semanalmente, coincidiendo con los días de muestreo, se realizó el recuento de limones podridos para cada uno de los tratamientos realizados y almacenados a 2 y 8 °C. Los resultados se expresan como % de podrido acumulado con respecto a 120 limones utilizados durante los 35 días de conservación (8 limones x 3 réplicas x 5 muestreos).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1 TASA DE RESPIRACIÓN

La tasa de respiración al inicio del ensayo fue de $6,078 \pm 0,313$ mg CO₂ kg⁻¹h⁻¹. Tras la realización de los tratamientos se almacenaron en cámara y se muestrearon semanalmente. Durante la primera semana de conservación no se observaron diferencias entre los tratamientos ni entre la temperatura de almacenamiento; sin embargo, a partir de los 14 días se observaron diferencias entre los limones tratados y control para ambas temperaturas de conservación (2 y 8 °C) (Figura 27). La tasa de respiración fue menor cuando se almacenaron los limones a menor temperatura (2 °C), ya que el frío ralentiza la respiración, así como otras reacciones bioquímicas y enzimáticas, ralentizando el deterioro de los frutos (Cohen y Schiffmann-Nadel, 1978).

Los limones tratados con NPS 0,1 mM presentaron menor tasa de respiración que los tratados con la concentración 0,5 mM y los controles, y fueron los controles los que presentaron la mayor tasa de respiración al final del periodo de almacenamiento refrigerado. Por otro lado, los limones conservados a 8 °C mostraron una mayor tasa de

respiración, y se observó una evolución similar en los limones conservados a 2 °C, siendo los limones tratados con la concentración NPS 0,1 mM la que menor tasa de respiración mostró. Sin embargo, no se observaron diferencias entre los limones tratados con NPS 0,5 mM y control durante los 35 días de almacenamiento a 8 °C.

La disminución de la tasa de respiración de los limones tratados con NPS 0,1 mM indica que el ON podría ralentizar la senescencia de los limones al retardar la frecuencia respiratoria para prolongar la vida útil de los frutos. Estos resultados son coincidentes con los encontrados en peras (Adhikary et al., 2021).

La tasa de respiración en frutos recién recolectados es alta, y disminuye drásticamente durante el periodo de almacenamiento refrigerado; sin embargo, la tasa de respiración inicial de los limones utilizados en este trabajo de investigación fue baja, e incrementó durante el periodo de conservación, ya que se utilizaron limones que estaban previamente conservados en cámara en la industria.

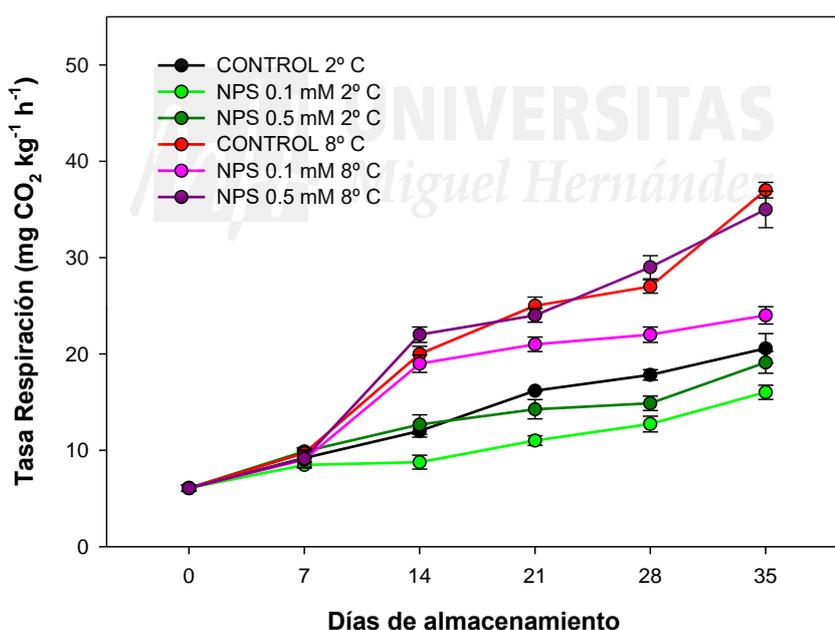


Figura 27. Evolución de la tasa de respiración en limones tratados con NPS (0,1 y 0,5 mM) y limones control, almacenados a 2 ° y 8° C durante 35 días.

La temperatura influye directamente sobre la respiración, siendo mayor cuanto mayor es la temperatura. Por tanto, la aplicación de temperaturas bajas durante la conservación reduce la respiración y ayuda a mantener su vida útil poscosecha. Por otro lado, la

temperatura también afecta a la transpiración del fruto. Temperaturas elevadas provocan una mayor transpiración del producto que se traduce en pérdidas de agua del fruto y, por tanto, en pérdidas de peso y firmeza, disminuyendo así su valor comercial.

4.2 PÉRDIDAS DE PESO Y FIRMEZA.

La evolución de las pérdidas de peso durante 35 días de almacenamiento refrigerado se muestra en la Figura 28. Durante las dos primeras semanas de conservación, no se observaron diferencias en las pérdidas de peso entre los limones tratados y limones control en ninguna de las temperaturas ensayadas. Sin embargo, a partir de los 21 días de ensayo se observaron diferencias. Las pérdidas de peso de los limones tratados con NPS fueron menores que en los limones control tanto en los limones conservados a 2 ° como a 8 °C. Las menores pérdidas de peso se produjeron en los limones tratados con NPS 0,1 mM para ambas temperaturas de conservación.

Los limones almacenados a 2 °C, los que sufrieron menor pérdida de peso durante los 35 días de almacenamiento, ya que a temperaturas bajas de refrigeración se reducen considerablemente las pérdidas de peso debido a una reducción en la respiración y transpiración de los cítricos (Undurraga y Olaeta, 2007).

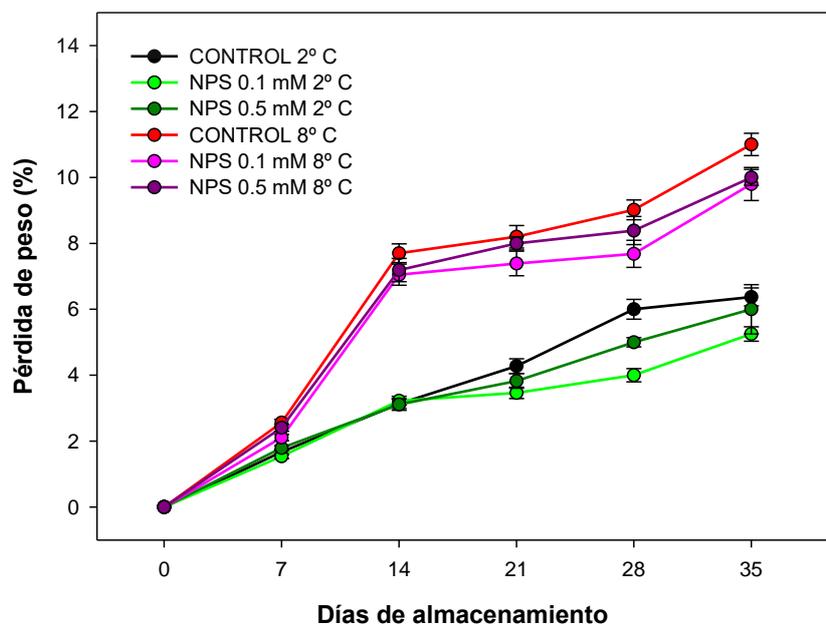


Figura 28. Pérdida de peso (%) en limones tratados con NPS (0,1 y 0,5 mM) y limones control, almacenados a 2 ° y 8° C durante 35 días.

La firmeza de los limones al inicio del ensayo fue de $9,23 \pm 0,29 \text{ N mm}^{-1}$. Durante el periodo de conservación se produjo una disminución de la firmeza en todos limones y para ambas temperaturas de conservación, pero esta disminución fue menor en los frutos tratados con NPS 0,1 mM (Figura 29). Estos resultados son coincidentes con la reducción de las pérdidas de firmeza observada por otros autores en pera y arándanos cuando se aplicó NPS en poscosecha (Adhikary et al., 2021; Dai et al., 2021). Las menores pérdidas de peso se produjeron en los limones conservados a 2 °C debido a la reducción en la tasa de respiración y transpiración comentada anteriormente. Las tasas de respiración más altas dan lugar a una mayor actividad de enzimas relacionadas con el ablandamiento y pérdidas de calidad en manzana (Chen et al., 2019; Ge et al., 2019).

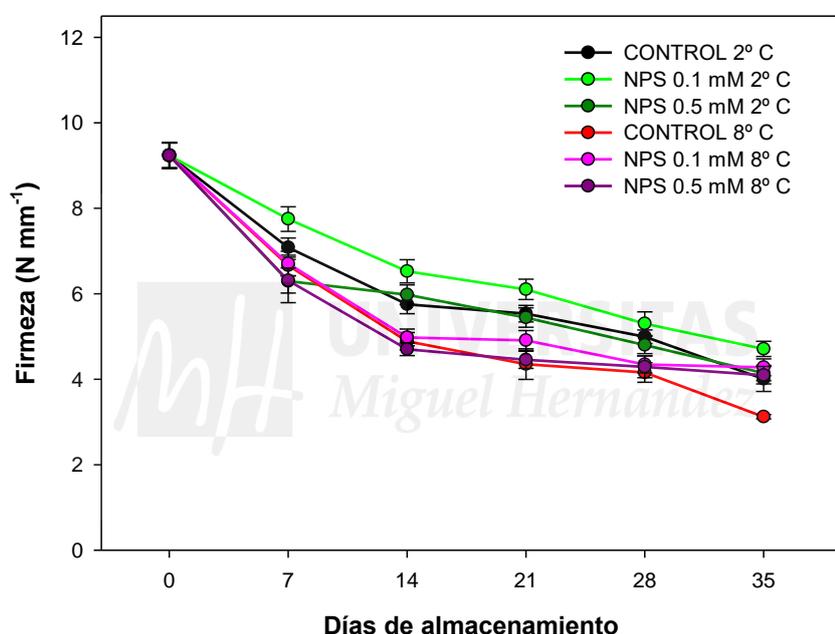


Figura 29. Evolución de la firmeza en limones tratados con NPS (0,1 y 0,5 mM) y limones control, almacenados a 2 ° y 8° C durante 35 días.

La firmeza del limón está relacionada con la turgencia celular y el grosor de la piel, y es uno de los factores fundamentales que determinan la aceptación comercial de los cítricos (Grierson, 2006). Los principales componentes de la pared celular del flavedo y albedo son las pectinas, hemicelulosa y celulosa, y su despolimerización por la acción de enzimas hidrolíticas de la pared celular, principalmente poligalacturonasas, pectin metil esterasas y celulasas está directamente relacionada con el ablandamiento de los frutos. La disminución irreversible de la firmeza es una manifestación del ablandamiento producido durante proceso de maduración. Los resultados obtenidos son coincidentes con los

obtenidos en investigaciones previas donde el tratamiento con ON, siendo el NPS un donante de ON conocido, ha mostrado ser una tecnología efectiva reduciendo las pérdidas de firmeza en pera (Adhikary et al., 2021), arándanos (Dai et al., 2021) y melocotón (Jiao y Duan, 2019), retrasando así la senescencia.

4.3 COLOR

El color de la fruta de los cítricos depende de tres principales grupos de pigmentos naturales: clorofilas, carotenoides y antocianinas (Artés et al., 2002). Los carotenoides imparten el color amarillo característico en el limón, pero coexisten con la clorofila que son pigmentos de color verde. Los cambios de color en los cítricos son atribuidos a la degradación de los pigmentos de clorofila y acumulación de carotenoides en el flavedo que ocurren en el proceso de maduración y que dan lugar cambios de color del fruto de verde a amarillo (Richardson y Cowan, 1995; Alós et al., 2006).

Los principales parámetros de color L^* , a^* , b^* , C^* en el limón aumentan y h° disminuye del estado verde a amarillo durante los periodos de almacenamiento en frío (Sun et al., 2019). Los limones utilizados en este ensayo de investigación fueron limones que presentaban una coloración amarilla puesto que se encontraban en condiciones óptimas de comercialización.

El parámetro de color a^* representa la variación de color verde (-a) al rojo (+a). Al inicio del ensayo los limones presentaron un valor de a^* de $0,056 \pm 0,32$. Se observó un incremento del parámetro a^* en todos los tratamientos durante el periodo de almacenamiento debido a los cambios de color característicos ocurridos durante el proceso de maduración. La coordenada colorimétrica a^* se ha definido como el parámetro que más se correlaciona con el cambio de color del limón (Conesa et al., 2015). Los limones conservados a 2°C y tratados con NPS 0,1 mM presentaron una menor evolución de color con respecto a los limones control, alcanzando un valor de a^* de $1,61 \pm 0,41$ a los 35 días de almacenamiento; sin embargo, los limones tratados con NPS 0,5 mM mostraron un gran incremento de a^* con valores finales de $5,07 \pm 0,69$, siendo estos valores similares a los de los limones almacenados a 8°C (Figura 30). La menor evolución del parámetro de color a^* en los limones tratados con NPS a 0,1 mM y almacenados a 2°C están relacionados con una ralentización del proceso de maduración.

Cuando los limones se conservaron a 8 °C, no se observaron diferencias para el parámetro a* en los limones controles y los tratados con NPS 0,1 mM, alcanzando valores cercanos a 2,7 en ambos casos, mientras que los limones tratados con NPS 0,5 mM evolucionaron de forma más rápida con valores finales de $4,64 \pm 0,50$.

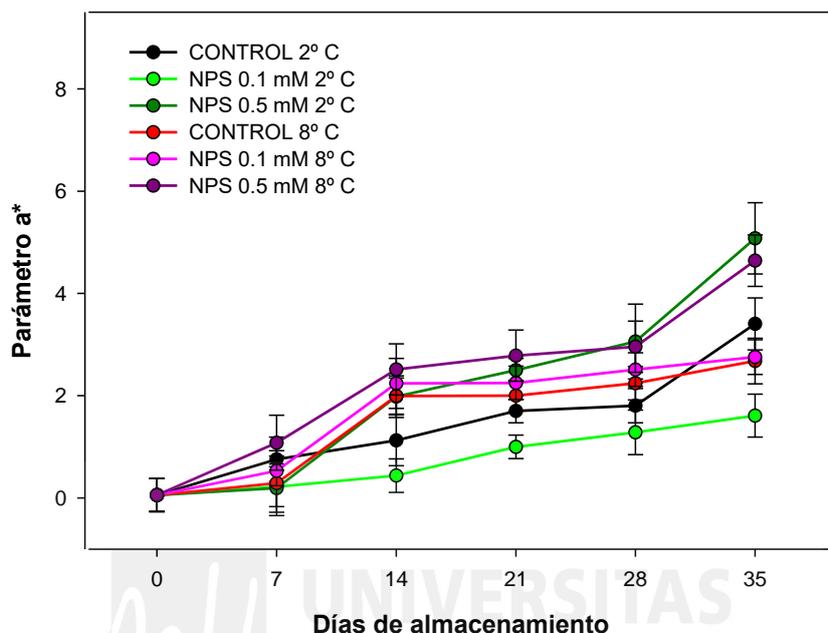


Figura 30. Evolución del color (parámetro a*) en limones tratados con NPS (0,1 y 0,5 mM) y limones control, almacenados a 2 y 8 °C durante 35 días.

Por otro lado, el parámetro b* representa la variación de color de azul (-b) a amarillo (+b). Al inicio del ensayo los limones presentaron un valor de b* de $56,43 \pm 0,60$. Se produjo un aumento del parámetro b* en todos los limones tratados y controles durante los 35 días de almacenamiento refrigerado, tanto a 2 como a 8 °C (Figura 31).

En los limones almacenados a 2 °C se produjo una ralentización del incremento de b* en los limones tratados con NPS a 0,1 y 0,5 mM desde los 14 a los 28 días de conservación con respecto a los limones control; sin embargo, no se observaron diferencias entre control y tratados a los 35 días de conservación.

Del mismo modo, entre los limones conservados a 8 °C se observaron diferencias en el parámetro b* entre limones tratados y control en distintas fechas de muestreo, pero no se observaron diferencias al final del ensayo de conservación (35 días).

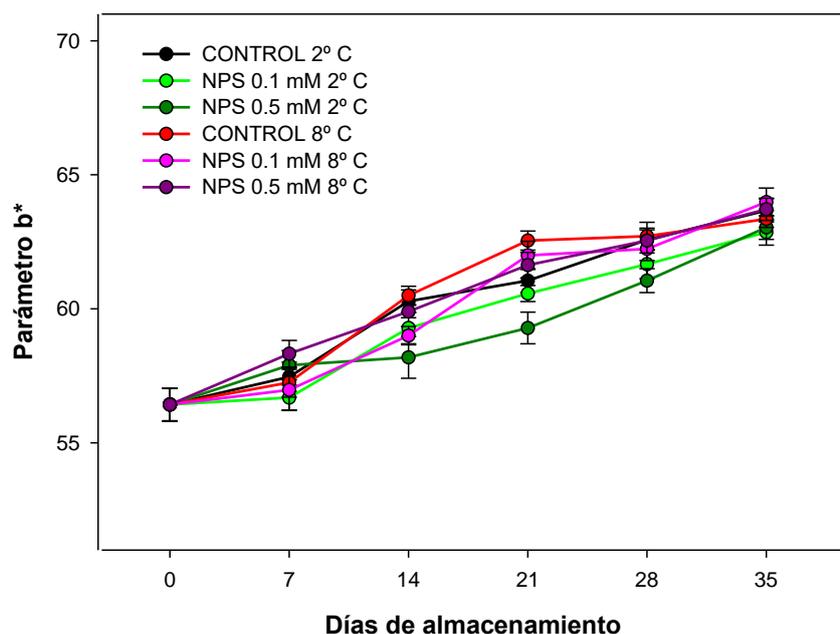


Figura 31. Evolución del color (parámetro b*) en limones tratados con NPS (0,1 y 0,5 mM) y limones control, almacenados a 2 y 8 °C durante 35 días.

4.4 SÓLIDOS SOLUBLES.



La cantidad de SST y AT son parámetro clave para evaluar la calidad de un limón. El contenido en SST se asocia con la calidad de consumo de la fruta madura, ya que afecta al sabor y a la palatabilidad, se utiliza como índice de madurez en las mediciones de calidad (González-Molina et al., 2010). Los limones presentaron una concentración de SST de $7,13 \pm 0,06$ al inicio del experimento (día 0). Se observó una ligera disminución durante el periodo de conservación de la concentración de SST en todos frutos tratados y control, y en ambas temperaturas de conservación. Sin embargo, no se observaron diferencias entre los tratamientos con respecto a los frutos control, para ninguna de las dos temperaturas de conservación (Figura 32).

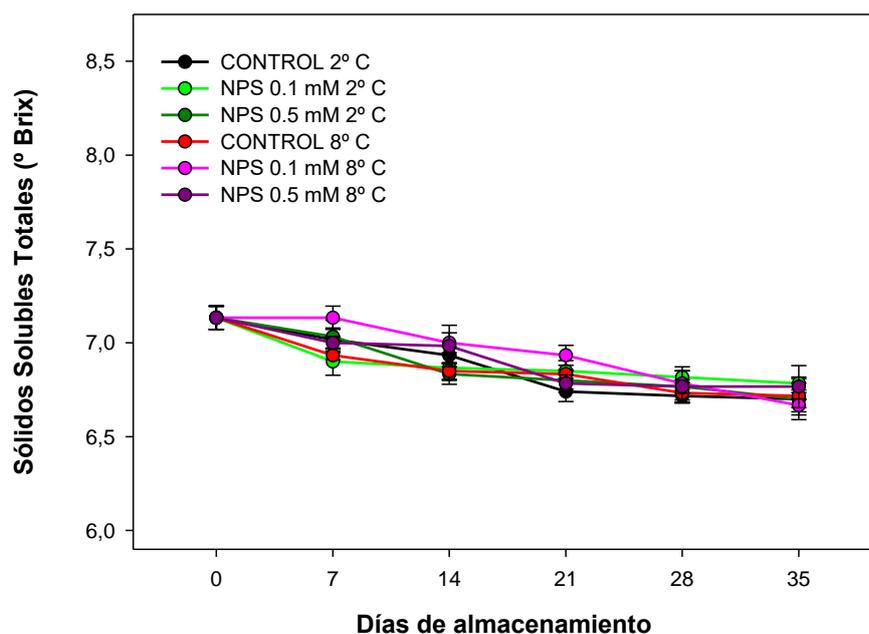


Figura 32. Evolución de sólidos solubles en limones tratados con NPS (0,1 y 0,5 mM) y limones control, almacenados a 2 y 8 °C durante 35 días.

4.5 ACIDEZ TOTAL.

Como se ha comentado anteriormente, la AT juega un papel importante a la hora de determinar la calidad de un fruto. La acidez total al inicio del ensayo fue de $5,53 \pm 0,05$ %. La AT siguió un patrón similar a los SST observándose un leve descenso durante el periodo de almacenamiento refrigerado. No se observaron diferencias entre tratamientos ni entre la temperatura de conservación, excepto en el tratamiento NPS 0,1 mM cuando se conservó a 2 °C, ya que sufrió un menor descenso de acidez al final de los 35 días de conservación ($5,32 \pm 0,07$ %) (Figura 33). Este resultado es coincidente con estudios previos en los que la aplicación de NPS mantuvo los niveles de acidez total (Sun et al., 2019).

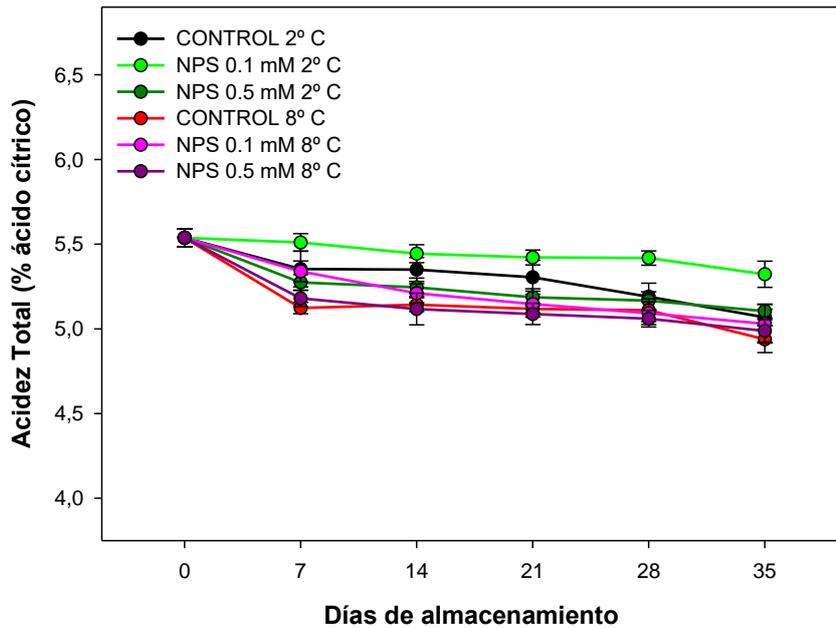


Figura 33. Evolución de la acidez total en limones tratados con NPS (0,1 y 0,5 mM) y limones control, almacenados a 2 y 8 °C durante 35 días.

Los ácidos orgánicos individuales son un parámetro de madurez que juega un papel muy importante en el desarrollo del sabor del fruto. Los principales ácidos orgánicos del limón son el ácido cítrico, málico, succínico y fumárico. La AT de los limones presentan una tendencia a la baja cuando cambian de color verde a amarillo debido a una disminución de los ácidos orgánicos individuales ya que son utilizados como sustrato por la enzima piruvato descarboxilasa en el proceso de maduración (Rhodos et al., 1968). Por el contrario, durante el almacenamiento refrigerado existe una tendencia general del aumento de la AT que puede atribuirse a numerosos procesos. Sin embargo, los resultados obtenidos en este ensayo de investigación fueron contrarios a otros estudios donde determinaron que durante el periodo de almacenamiento en frío de limones amarillos aumentaba la AT debido a la pérdida de peso provocada por la pérdida de agua del fruto durante la conservación (Kaur et al., 2014; Sun et al., 2019).

4.6 FENOLES TOTALES

La frutas y vegetales contienen una amplia gama de compuestos con actividad antioxidante, siendo algunos de los más comunes los compuestos fenólicos como las antocianinas, carotenoides, vitaminas (C y E) y glucosinolatos (Valero y Serrano, 2013). Los principales flavonoides identificados en limón han sido las flavanonas herperidina y eriocitrina (Serna-Escolano et al., 2021), que representan el 90 % del total de los fenoles (Del Río et al., 2004; Dong et al., 2019).

En la Figura 34 se representan los fenoles al inicio del ensayo poscosecha ($240,97 \pm 5,06$ mg GAE 100 g^{-1}) y su evolución durante los 35 días de almacenamiento refrigerado para todos los limones tratados con NPS a 0,1 y 0,5 mM con respecto a los controles, y conservados a dos temperaturas (2 y 8 °C). En general, se observó un ligero incremento en el contenido en fenoles durante todo el periodo de almacenamiento para los limones tratados y control. Cuando los limones se conservaron a 2 °C no se observaron diferencias en el contenido fenólico entre los limones tratados con NPS 0,1 mM y los limones control, y fueron los limones tratados con NPS 0,5 mM los que mayor aumento en fenoles presentaron. Por el contrario, cuando los limones se almacenaron a 8 °C fueron los limones tratados con NPS 0,1 mM los que mostraron mayor contenido fenólico durante los 35 días de almacenamiento, mientras que, no se observaron diferencias entre los limones control y los tratados con NPS 0,5 mM. Investigaciones previas han mostrado que la aplicación de NPS fue efectiva incrementando el contenido en fenoles totales y ácido ascórbico en pera (Adhikary et al., 2021).

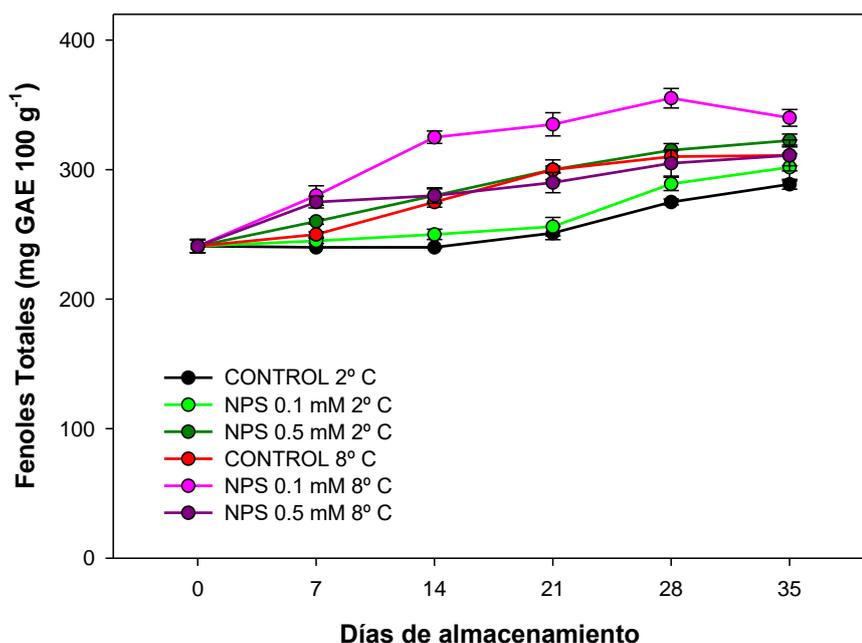


Figura 34. Evolución de la concentración de fenoles totales en limones tratados con NPS (0,1 y 0,5 mM) y limones control, almacenados a 2 y 8 °C durante 35 días.

4.7 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL.

En cuanto a la AAT, se observó una tendencia similar a la observada para los fenoles totales ya que existe una estrecha correlación entre el contenido fenólico y la AAT (Xu et al., 2008). La actividad antioxidante total inicial fue de unos 230 mg 100 g⁻¹ peso fresco. En general, se observó un incremento en la AAT durante todo el periodo de almacenamiento para los limones tratados y control. Cuando los limones se conservaron a 2 °C se observaron diferencias en el contenido fenólico entre los limones tratados con NPS y los limones control, y no se observaron diferencias entre la concentración aplicada. Por el contrario, cuando los limones se almacenaron a 8 °C fueron los limones tratados con NPS 0,1 mM los que mostraron mayor contenido fenólico durante los 35 días de almacenamiento, mientras que, no se observaron diferencias entre los limones control y los tratados con NPS 0,5 mM (Figura 35). Estos resultados son coincidentes con los encontrados en otros trabajos donde la aplicación de NPS incrementó la actividad antioxidante relacionada con un aumento del contenido de antocianinas en arándanos (Ge et al., 2019).

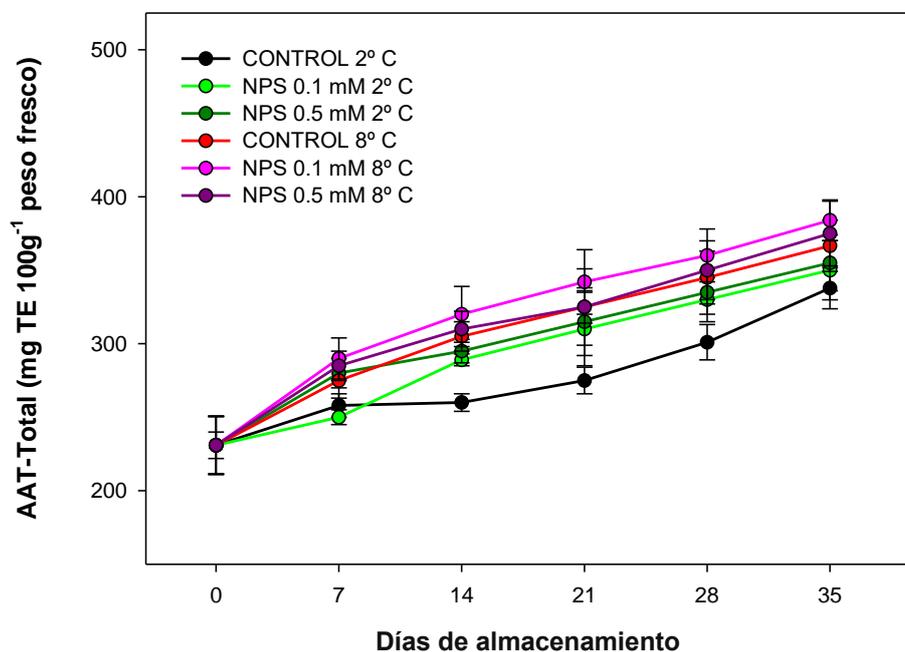


Figura 35. Evolución de la Actividad Antioxidante Total en limones tratados con NPS (0,1 y 0,5 mM) y limones control, almacenados a 2 y 8 °C durante 35 días.

Los compuestos fenólicos, junto con el ácido ascórbico, son los principales compuestos responsables de las propiedades antioxidantes atribuidas al consumo de limón (Asencio et al., 2018; Oboh et al., 2015). Algunos autores han encontrado una estrecha correlación entre la AAT y los fenoles totales, confirmando las relaciones entre los compuestos fenólicos de tejidos vegetales y su capacidad de eliminar los radicales libres (Xu et al., 2008; Dong et al., 2029). En el caso de los cítricos, la actividad antioxidante no solo depende de la concentración de cada compuesto individual, sino también de la interacción entre ellos (Xi et al., 2017).

4.8 INDICENCIA PODREDUMBRES

Se calculó el porcentaje de podrido acumulado durante los 35 días de duración del ensayo. No se observaron limones podridos en los frutos tratados con NPS 0,1 y 0,5 mM, y el porcentaje de limones control fue menor del 1 % cuando se almacenaron a 2 °C. Sin embargo, cuando se almacenaron a 8 °C, se pudrieron un 5 % de limones control, y se redujo en un 50 % cuando se trataron con NPS 0,5 mM, siendo esta reducción mayor cuando se trató con NPS 0,1 mM (Tabla 3). Diversos estudios han demostrado que la aplicación de NPS disminuyó la incidencia de podredumbres en arándanos (Dai et al., 2021), melocotón (Jiao y Duan, 2019) y litchi (Barman et al., 2014). Por tanto, el tratamiento con NPS juega un papel importante en el mantenimiento de la calidad, en la reducción de podredumbres y en alargar la vida útil, reduciendo así las pérdidas económicas.

Tabla 3. Recuento frutos podridos (% acumulado) de limones tratados con NPS (0,1 y 0,5 mM) y limones control, durante 35 días de almacenamiento a 2 y 8 °C.

Temperatura conservación	% Podrido		
	Control	NPS 01, mM	NPS 0,5 mM
2 °C	0,83	0	0
8 °C	5,0	1,67	2,5

Por otro lado, no se observaron daños por frío en los limones tratados o control almacenados a 2 °C ya que los limones se analizaron tras sacar los frutos de la cámara. Se ha observado que los síntomas de esta alteración fisiológica se hacen más evidentes cuando los frutos se transfieren a temperatura ambiente tras su exposición al frío, llegando incluso a no detectarse hasta que no tiene lugar este reacondicionamiento (Parkin et al., 1989). Diversos autores han observado que la aplicación de NPS ha sido efectiva reduciendo los daños por frío en ciruela, mango, melón y melocotón (Singha et al., 2009; Zaharah and Singh, 2011; Zhang et al., 2017; Ma et al., 2019; Gao et al., 2018).

5. CONCLUSIONES.

La aplicación de nitroprusiato de sodio a la concentración de 0.1 mM ha mostrado un efecto positivo en el mantenimiento de la calidad del limón durante su conservación poscosecha a dos temperaturas diferentes, 2 y 8 °C, durante 35 días desde su recolección. Sin embargo, este compuesto, aplicado a 0.5 mM no ha resultado efectivo, por lo que la dosis recomendada para su aplicación en poscosecha es la de 0.1 mM, ya que presenta las siguientes mejoras en los componentes de calidad:

- Menores pérdidas de peso y tasa de respiración
- Mantenimiento de la firmeza y color
- Mayor acidez titulable
- Incremento en contenido en fenoles y AAT
- Menor incidencia de podredumbres



6. BIBLIOGRAFÍA.

- Adhikary, T., Gill, P., Jawandha, S., Bhardwaj, R., Anurag, R. (2021). Efficacy of postharvest sodium nitroprusside application to extend storability by regulating physico-chemical quality of pear fruit. *Food Chemistry*, 346, 128934.
- Alós, E., Cercós, M., Rodrigo, M.J., Zacarías, L., Talón, M. (2006). Regulation of colour break in citrus fruits. Changes in pigment profiling and gene expression induced by gibberellins and nitrate, two ripening retardants. *J. Agric. Food Chem.* 54 (13), 4888–4895.
- Artés, F., Minguez, M.I., Hornero, D. (2002). *Analysing Changes in Fruit Pigments. Color in Food.* Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, pp. 248–282.
- Artés, F., Guillén, M. C., y Escriche, A. (1981). Physiological disorders in the storage of lemon fruits. In K. Matsumoto (Ed.), Tokyo, Japan: International Citrus Congress [November 9–12 1981].
- Asencio, A. D., Serrano, M., García-Martínez, S., Pretel, M. T. (2018). Organic acids, sugars, antioxidant activity, sensorial and other fruit characteristics of nine traditional Spanish Citrus fruits. *European Food Research and Technology*, 244, 1497–1508.
- Asociación Interprofesional de Limón y Pomelo. (2010–2017). *Importancia socioeconómica del sector del limón en España.*
- Barman, K., Siddiqui, M. W., Patel, V. B., Prasad, M. (2014). Nitric oxide reduces pericarp browning and preserves bioactive antioxidants in litchi. *Scientia Horticulturae*, 171, 71–77.
- Burdurlu, H.S., Koca, N., Karadeniz, F. (2006). Degradation of vitamin C in citrus juice concentrates during storage. *J. Food Eng.* 74 (2), 211–216.
- Castillo, S., Pérez-Alfonso, C. O., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Serrano, M., Valero, D. (2014). The essential oils thymol and carvacrol applied in the packing lines avoid lemon spoilage and maintain quality during storage. *Food Control*, 35, 132-136.

- Cerioni, L., Rapisarda, V.A., Doctor, J., Fikkert, S., Ruiz, T., Fassel, R., Smilanick, J.L. (2013a). Use of phosphite salts in laboratory and semicommercial tests to control citrus postharvest decay. *Plant Dis.* 97, 201–212.
- Cerioni, L., Sepulveda, M., Rubio-Ames, Z., Volentini, S.I., Rodriguez-Montelongo, L., Smilanick, J.L., Ramallo, J., Rapisarda, V.A. (2013b). Control of lemon postharvest diseases by low-toxicity salts combined with hydrogen peroxide and heat. *Postharvest Biol. Technol.* 83, 17–21.
- Chen, Y., Ge, Y., Zhao, J., Wei, M., Li, C., Hou, J., Cheng, Y., Chen, J. (2019). Postharvest sodium nitroprusside treatment maintains storage quality of apple fruit by regulating sucrose metabolism. *Postharvest Biology and Technology*, 154, 115- 120.
- Cohen, E., Shapiro, B., Shalom, Y., y Klein, J. D. (1994). Water loss: A nondestructive indicator of enhanced cell membrane permeability of chilling-injured citrus fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119(5), 983–986.
- Combrinck, S., Regnier, T., Kamatou, G.P.P. (2011). In vitro activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. *Ind. Crop. Prod.* 33, 344–349.
- Conesa, A., Brotons, J.M., Manera, F.C., Castañer, R., Parras, I. (2015). El cambio de color de la corteza del limonero ‘Verna’ y ‘Fino’. XIV Congreso de la SECH, Orihuela, 290-293.
- Dai, H., Ji, S., Zhou, X., Wei, B., Cheng, S., Zhang, F., Wang, S., Zhou, Q. (2021). Postharvest effects of sodium nitroprusside treatment on membrane fatty acids of blueberry (*Vaccinium corymbosum*, cv. Bluecrop) fruit. *Scientia Horticulturae*, 288, 110307.
- Deliopoulos, T., Kettlewell, P.S., Hare, M.C. (2010). Fungal disease suppression by inorganic salts: a review. *Crop Prot.* 29, 1059–1075.
- Del Río, J. A., Fuster, M. D., Gómez, P., Porrás, I., García-Lidón, A., Ortuño, A. (2004). Citrus limon: A source of flavonoids of pharmaceutical interest. *Food Chemistry*, 84, 457–461.
- Dong, X., Hu, Y., Li, Y., Zhou, Z. (2019). The maturity degree, phenolic compounds and antioxidant activity of Eureka lemon [*Citrus limon* (L.) Burm. f.]:

- A negative correlation between total phenolic content, antioxidant capacity and soluble solid content. *Scientia Horticulturae*, 243, 281–289.
- Du Plooy, W., Regnier, T., Combrinck, S. (2009). Essential oil amended coatings as alternatives to synthetic fungicides in citrus postharvest management. *Postharvest Biology and Technology*, 53, 117-122.
 - Eaks, I.L. (1961). Effect of temperature and holding period on some physical and chemical characteristics of lemon fruits. *J. Food Sci.* 26 (6), 593–599.
 - FAOSTAT. (2021). Recuperado 19 de junio de 2021, de <http://www.fao.org/faostat/es/>
 - Gao, H., Lu, Z.M., Yang, Y., Wang, D.N., Yang, T., Cao, M.M., Cao, W. (2018). Melatonin treatment reduces chilling injury in peach fruit through its regulation of membrane fatty acid contents and phenolic metabolism. *Food Chem.* 245, 659–666.
 - Ge, Y., Li, X., Li, C., Tang, Q., Duan, B., Cheng, Y., Hou, J., Li, J. (2019). Effect of sodium nitroprusside on antioxidative enzymes and the phenylpropanoid pathway in blueberry fruit. *Food Chemistry*, 295, 607–612.
 - González-Molina, E., Domínguez-Perles, R., Moreno, D.A., García-Viguera, C. (2010). Natural bioactive compounds of *Citrus limon* for food and health. *J. Pharm. Biomed.* 51 (2), 327–345.
 - Grierson, W. (2006). Maturity and grade standards. In W. F. Wardowski, W. M. Miller, D.J. Hall, W. Grierson (Eds.). *Fresh citrus fruits* (pp. 23–48). (Second Ed.). Longboat Key, FL: Florida Science Source Inc.
 - Guillén-Miró, M. C. (1978). Aspectos biológicos y tecnológicos de la conservación de limón bajo atmósferas normales y modificadas. Murcia, Spain: Universidad de Murcia.
 - Hao, W., Zhong, G., Hu, M., Luo, J., Weng, Q., Rizwan-ul-Haq, M. (2010). Control of citrus postharvest green and blue mold and sour rot by tea saponin combined with imazalil and prochloraz. *Postharvest Biol. Technol.* 56, 39–43.
 - Ismail, M. y Zhang, J. (2004) Post-harvest citrus diseases and their control. *Outlooks Pest Manage* 15, 29–35.
 - Jiao, C.F., Duan, Y.Q. (2019). The mediation of NO-enhanced chilling tolerance by GSK-3 in postharvest peach fruit. *Food Bioprocess. Tech.* 12, 2028–2035.
 - Kaur, S., Jawandha, S.K., Singh, H. (2014). Response of Baramasi lemon to various postharvest treatments. *Int. J. Agric. Environ. Biotechnol.* 7 (4), 895–902.

- Lado, J., Rodrigo, M. J., López-Climent, M., Gómez Cadenas, A., y Zacarías, L. (2016). Implication of the antioxidant system in chilling injury tolerance in the red peel of grapefruit. *Postharvest Biology and Technology*, 111, 214–223.
- Lafuente, M. T., Sala, J. M., y Zacarias, L. (2004). Active oxygen detoxifying enzymes and phenylalanine ammonia-lyase in the ethylene-induced chilling tolerance in citrus fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(11), 3606–3611.
- Locaso, D., Cruaños, M., Velazque, M., Pisonero, M., Gerard O., Terezano, I. (2007). Conservación de naranjas con un recubrimiento formulado con terpenos obtenidos a partir de *Pinus elliotis*. *Ciencia, Docencia y Tecnología*, 18, 153-173.
- Ma, Y.Y., Huang, D.D., Chen, C.B., Zhu, S.H., Gao, J.G. (2019). Regulation of ascorbateglutathione cycle in peaches via nitric oxide treatment during cold storage. *Sci. Hortic.* 247, 400–406.
- MAPAMA (2021). La Producción Ecológica. (s. f.). Ministerio de agricultura, pesca y alimentación. Recuperado 25 de junio de 2021. Disponible en: <https://www.mapa.gob.es/es/alimentacion/temas/produccion-eco/>
- MARM (2008). Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Patrones en el limonero. Consulta junio 2021. Disponible en: <https://www.mapa.gob.es/app/MaterialVegetal/docs/patrones%20en%20el%20limonero.pdf>
- Oboh, G., Bello, F., Ademosun, A., Akinyemi, A., Adewuni, T. (2015). Antioxidant, hypolipidemic, and anti-angiotensin-1-converting enzyme properties of lemon (*Citrus limon*) and lime (*Citrus aurantifolia*) juice. *Comparative Clinical Pathology*, 24, 1395–1406.
- Palou, L. Smilanich, J.L., Usall, J., Viñas, I. (2001). Control of postharvest blue and green molds of oranges by hot water, sodium carbonate, and sodium bicarbonate. *Plant Dis.* 85, 371-376.
- Palou, L., Usall, J., Muñoz, J.S., Smilanick, J.L., Viñas, I. (2002). Hot water, sodium carbonate, and sodium bicarbonate for the control of postharvest green and blue molds of clementine mandarins. *Postharvest Biol. Technol.* 24, 93-96.
- Palou, L., Smilanick, J.L., Droby, S. (2008). Alternatives to conventional fungicides for the control of citrus postharvest green and blue moulds. *Stewart Postharvest Review* 2, 1–16.

- Palou, L. (2018). Postharvet treatments with GRAS salts to control fresh fruit decay. *Horticulturae*, 4, 46.
- Palou, L., Smilanick, J. (2020). Postharvest Pathology of Fresh Horticultural Produce. *Postharvest Pathology of Fresh Horticultural Produce*. Published.
- Parkin, K.L., Kuo, S.J. (1989). Chilling induced lipid degradation in cucumber fruit. *Plant Physiol.* 90:1049-1059.
- Pérez-Alfonso, C.O., Martínez-Romero, D., Zapata, P.J., Serrano, M., Valero, D., Castillo, S. (2012). The effects of essential oils carvacrol and thymol on growth of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* involved in lemon decay. *Int. J. FoodMicrobiol.* 158, 101–106.
- Plaza, P., Usall, J., Torres, R., Abadías, M., Smilanick, J.L., Viñas, I. (2004). The use of sodium carbonate to improve curing treatments against green and blue moulds on citrus fruits. *Pest Manage. Sci.* 60. 815-821.
- Reglamento (CE) nº 834/2007 del Consejo, de 28 de junio de 2007, sobre producción y etiquetado de los productos ecológicos y por el que se deroga el Reglamento (CEE) nº 2092/91.
- Reglamento (CE) nº 889/2008 de la Comisión, de 5 de septiembre de 2008, por el que se establecen disposiciones de aplicación del Reglamento (CE) nº 834/2007 del Consejo sobre producción y etiquetado de los productos ecológicos, con respecto a la producción ecológica, su etiquetado y su control.
- Reglamento (CE) nº 1235/2008 de la comisión de 8 de diciembre de 2008 por el que se establecen las disposiciones de aplicación del Reglamento (CE) nº 834/2007 del Consejo en lo que se refiere a las importaciones de productos ecológicos procedentes de terceros países
- Reglamento de ejecución (UE) nº 543/2011 de la comisión de 7 de junio de 2011, por el que se establecen las disposiciones de aplicación del Reglamento (CE) nº 1234/2007 del Consejo en los sectores de las frutas y hortalizas y de las frutas y hortalizas transformadas.
- Richardson, G.R., Cowan, A.K. (1995). Abscisic acid content of Citrus flavedo in relation to colour development. *J. Hortic. Sci.* 70 (5), 769–773.
- Sala, J. M. (1998). Involvement of oxidative stress in chilling injury in cold-stored mandarin fruits. *Postharvest Biology and Technology*, 13(3), 255–261.

- Sala, J. M., y Lafuente, M. T. (1999). Catalase in the heat induced chilling tolerance of cold-stored hybrid Fortune mandarin fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(6), 2410–2414.
- Serna-Escolano, V., Martínez-Romero, D., Giménez, M.J., Serrano, M., García-Martínez, S., Valero, D., Valverde, J.M., Zapata, P.J. (2021). Enhancing antioxidant systems by preharvest treatments with methyl jasmonate and salicylic acid leads to maintain lemon quality during cold storage. *Food Chemistry*, 339, 128044.
- 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. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 2741-2745.
- Sevillano, L., Sánchez-Ballesta, M. T., Romojaro, F., Flores, F. B. (2009). Physiological, hormonal and molecular mechanisms regulating chilling injury in horticultural species. Postharvest technologies applied to reduce its impact. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(4), 555–573.
- Singha, S.P., Singh, Z., Swinny, E.E. (2009). Postharvest nitric oxide fumigation delays fruit ripening and alleviates chilling injury during cold storage of Japanese plums (*Prunus salicina* Lindell). *Postharv. Biol. Technol.* 53, 101–108.
- Smilanick, J.L., Brown, G.E., Eckert, J.W. (2006). The biology and control of postharvest diseases. In: Wardowski, W.F., Miller, W.M., Hall, D.J., Grierson, W. (Eds.), *Fresh Citrus Fruits.*, 2nd edition. Florida Science Source Inc., Longboat Key, FL, USA, pp. 339–396.
- Sun, Y., Singh, Z., Tokala, V. Y., Heather, B. (2019). Harvest maturity stage and cold storage period influence lemon fruit quality. *Scientia Horticulturae*, 249, 322–328.
- Tomás-Barberán, F.A., Espín, J.C. (2001). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 853-876.
- Tripathi, P. y Dubey, N. (2003). Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. *Postharvest Biol Technol* 32, 235–245.

- Tsantili, E., Konstantinidis, K., Athanasopoulos, P., Pontikis, C. (2002). Effects of postharvest calcium treatments on respiration and quality attributes in lemon fruit during storage. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 77, 479–484.
- Undurraga, P. L., Olaeta, J. A., Retamales, J. B., Toso, A. M. (2007). Manifestación de Peteca y pérdida de calidad en limones eureka bajo diferentes condiciones de almacenamiento refrigerado. *Agrociencia*, 41(2).
- Valero, D., Serrano, M. (2010). Fruit ripening, *Postharvest Biology and Technology For Preserving Fruit Quality*, 1 ed CRC Press-Taylor & Francis, Boca Raton, pp. 7-47.
- Wismer, W. V., Worthing, W. M., Yada, R. Y., y Marangoni, A. G. (1998). Membrane lipid dynamics and lipid peroxidation in the early stages of low-temperature sweetening in tubers of *Solanum tuberosum*. *Physiologia Plantarum*, 102(3), 396–410.
- Youssef, K., Ligorio, A., Sanzani, S. M., Nigro, F., Ippolito, A. (2012). Control of storage diseases of citrus by pre- and postharvest application of salts. *Postharvest Biology and Technology*, 72, 57–63.
- Xi, W., Lu, J., Qun, J., Jiao, B. (2017). Characterization of phenolic profile and antioxidant capacity of different fruit part from lemon (*Citrus limon* Burm.) cultivars. *Journal of Food Science and Technology*, 54, 1108–1118.
- Xu, G., Liu, D., Chen, J., Ye, X., Ma, Y., Shi, J. (2008). Juice components and antioxidant capacity of citrus varieties cultivated in China. *Food Chemistry*, 106, 545-551.
- Zaharah, S.S., Singh, Z. (2011). Postharvest nitric oxide fumigation alleviates chilling injury, delays fruit ripening and maintains quality in cold-stored ‘Kensington Pride’ mango. *Postharv. Biol. Technol.* 60, 202–210.
- Zhang, T., Che, F.B., Zhang, H., Pan, Y., Xu, M.Q., Ban, Q.Y., Han, Y., Rao, J.P. (2017). Effect of nitric oxide treatment on chilling injury, antioxidant enzymes and expression of the CmCBF1 and CmCBF3 genes in cold-stored Hami melon (*Cucumis melo* L.) fruit. *Postharv. Biol. Technol.* 127, 88–98.