



UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ

Escuela Politécnica Superior de Orihuela

TESIS DOCTORAL

NUEVAS TECNOLOGÍAS NO CONTAMINANTES PARA

PRESERVAR LA CALIDAD DE LA UVA DE MESA

DURANTE SU CONSERVACIÓN POST-RECOLECCIÓN

JUAN MIGUEL VALVERDE VERACRUZ

INGENIERO AGRÓNOMO

2005

**SALVADOR CASTILLO GARCÍA, DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE
TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA**

Informa:

Que la Tesis Doctoral titulada "Nuevas tecnologías no contaminantes para preservar la calidad de la uva de mesa durante su conservación post-recolección", ha sido realizada por D. Juan Miguel Valverde Veracruz, bajo la dirección y supervisión del Dr. Daniel Valero Garrido y la Dra. María Serrano Mula, y que el Departamento ha dado su conformidad para que sea presentada ante la Comisión de Doctorado

En Orihuela a 20 de Julio de dos mil cinco.

El Director del Departamento

Fdo: _____

Daniel Valero Garrido, Dr. en Farmacia y Profesor Titular de Universidad del Departamento de Tecnología Agroalimentaria, y María Serrano Mula, Dra. en Biología y Catedrática de Escuela Universitaria del Departamento de Biología Aplicada

Certifican:

Que la Tesis Doctoral titulada **“Nuevas tecnologías no contaminantes para preservar la calidad de la uva de mesa durante su conservación post-recolección”**, ha sido realizada por D. Juan Miguel Valverde Veracruz, bajo su dirección y supervisión, y autorizan que sea presentada para optar a la obtención del Título de Doctor por la Universidad Miguel Hernández.

En Orihuela a 21 de Julio de dos mil cinco.

Daniel Valero Garrido

María Serrano Mula

Esta Tesis Doctoral ha sido financiada íntegramente por el Proyecto "TECNOLOGÍAS NO CONTAMINANTES PARA PRESERVAR LA CALIDAD ORGANOLÉPTICA Y NUTRITIVA DE LA UVA DE MESA" CICYT AGL2003-03527 financiado por la CICYT y co-financiado con Fondos FEDER.

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

Artículos SCI:

Juan Miguel Valverde, Fabián Guillén, Domingo Martínez-Romero, Salvador Castillo, María Serrano, Daniel Valero. (2005). Improvement of Table Grapes Quality and Safety by the Combination of Modified Atmosphere Packaging (MAP) and Eugenol, Menthol or Thymol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (En Prensa).

Juan Miguel Valverde, Daniel Valero, Domingo Martínez-Romero, Fabián Guillén, Salvador Castillo, María Serrano. (2005). A Novel Edible Coating Based on *Aloe vera* gel to Maintain Table Grape Quality and Safety. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (Pendiente de Revisión).

Comunicaciones Congresos Internacionales:

V International Post-Harvest Symposium. Verona. 2004.

The use of Natural Aromatic Essential Oils Helps to Maintain Post-Harvest Quality of 'Crimson' Table Grapes

V Congreso Ibérico de Ciencias Hortícolas. Oporto 2005.

Envasado Activo de Uva de Mesa Mediante la Adición de Eugenol para Mantener la Calidad Organoléptica y Reducir las Podredumbres.

Quiero expresar en estas líneas mi agradecimiento a todas las personas que de una u otra forma, han hecho posible la realización de esta Tesis Doctoral. Resulta muy gratificante alcanzar esta meta.

Me gustaría agradecer al Doctor Daniel Valero Garrido y a la Doctora María Serrano Mula el haber confiado en mí a la hora de realizar esta Tesis Doctoral. También, ahora es el momento de expresar mi respeto y admiración por su profesionalidad y carácter personal. Cada día de trabajo con ellos ha sido una oportunidad para aprender a ser mejor persona. Es un lujo para mí haberles conocido y poder compartir mi tiempo con ellos, siempre recordaré estos años como los más felices de mi vida.

Al Doctor Domingo Martínez Romero le quiero agradecer toda la ayuda que me ha ofrecido en este tiempo. Los conocimientos aportados y el trabajo diario a su lado siempre han sido un privilegio. Espero poder seguir contando con su inestimable compañía para seguir trabajando y aprendiendo.

Al Doctor Salvador Castillo García, quiero agradecerle la confianza que siempre depositó en mí, profesionalmente siempre me ha apoyado y eso no se olvida, espero no defraudarle nunca.

Al Doctorando. Fabián Guillén Arco, eres como un hermano, capaz de aunar siempre la sonrisa y el tesón en el trabajo. Siempre te recordaré como mi compañero en esta travesía.

A la Doctoranda Gloria Bailen Ruiz, simpatía exquisita y capacidad de trabajo fuera de serie. No lo dudes, haría cualquier cosa por salvarte la vida.

También quisiera agradecer al resto de personal docente e investigador del Departamento de Tecnología Agroalimentaria la acogida con la que me recibieron y los continuos apoyos prestados. A Marisol Pina y Javier Vives quiero agradecerles todo lo que me han enseñado como Técnicos de Laboratorio. A Mamen y Antonio (S.T.I.) gracias por hacer tan bien vuestro trabajo.

No puedo olvidar a todos los alumnos, hoy ingenieros, con los que trabajé en algún momento y de forma especial: A Pruden, Carlos y David, Rebeca, Raúl, Carlos y Estefanía, Vanesa, Carmen, Carol y Macri, Oscar y Carmen, Eva, Patricia y María, Diana y Amal,

Ahora es el momento de agradecer a mis amigos y familiares su cariño y presencia:

A mis padres, os lo debo todo, espero que esta alegría salde un poco la cuenta, os quiero con toda mi alma. A mis hermanas Macarena y Carmen la parte de mí que hay en vosotras se complementa con la parte de vosotras que hay en mí.

A Miguel, perdona el poco tiempo que he pasado contigo, espero que ahora pueda recompensarte, tu tío te quiere hasta deshacerse.

A la Asociación Eco-cultural Pico Águila, siempre hay un motivo para luchar por algo y para celebrarlo, que siga así por muchos años. Los mayores logros antes fueron soñados.

Compañeros de la vida os llevo en el corazón, perdonad que no escriba vuestros nombres pero hay que dejar sitio para la Tesis, os besaré y abrazaré eternamente.

Y a ahora... le toca a ella:

*Espíritu de colores infinitos que bailas entre los días de mi vida
me confundo en el sueño del futuro acompañado de tí
y siempre encuentro motivos para seguir amándote*



	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. CONCEPTO DE CALIDAD EN UVA DE MESA	1
1.1.1. Calidad organoléptica o sensorial	1
1.1.2. Calidad nutricional	3
1.1.3. Calidad funcional: propiedades antioxidantes	4
1.1.3.1. Compuestos fenólicos	6
1.2. IMPORTANCIA ECÓNOMICA DE LA UVA DE MESA	10
1.2.1. Antecedentes de la uva de mesa	10
1.2.2. Papel de la uva de mesa en la agricultura española	10
1.2.3. Principales variedades de uva de mesa	11
1.3. CONSERVACIÓN DE LA UVA DE MESA: PROBLEMÁTICA	13
1.3.1. Proceso de maduración de la uva de mesa	13
1.3.2. Aparición de fisiopatías y podredumbres	16
1.3.2.1. Desgrane o "Shatter"	16
1.3.2.2. Grano acuoso o "Waterberry"	17
1.3.2.3. Podredumbre gris	17
1.3.2.4. Podredumbre negra	17
1.4. PRÁCTICAS HABITUALES DE CONSERVACIÓN POST-RECOLECCIÓN	19
1.4.1. Refrigeración	19
1.4.2. Tratamientos post-recolección	21
1.5. USO DE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES	24
1.5.1. Introducción	24
1.5.2. Efecto de la aplicación de recubrimientos	24
1.5.2.1. Efecto sobre la pérdida de agua	25
1.5.2.2. Efecto antimicrobiano	25
1.6. <i>ALOE VERA</i> GEL COMO RECUBRIMIENTO COMESTIBLE	27
1.6.1. Introducción	27
1.6.2. Propiedades terapéuticas de <i>Aloe vera</i> gel	27
1.6.3. Composición química del <i>Aloe vera</i>	28
1.6.4. Uso del <i>Aloe vera</i> en la industria alimentaria	28



1.7.	ATMÓSFERAS MODIFICADAS	29
1.7.1.	Introducción	29
1.7.2.	Concepto	30
1.7.3.	Efectos beneficiosos	32
1.8.	ACEITES ESENCIALES	34
1.8.1.	Introducción	34
1.8.2.	Clasificación y características de los aceites esenciales	35
1.8.2.1.	Fenoles simples	35
1.8.2.2.	Terpenoides	36
1.8.3.	Eugenol	37
1.8.4.	Timol	37
1.8.5.	Mentol	38
1.8.6.	Propiedades antioxidantes	39
1.8.7.	Propiedades antimicrobianas	40
1.8.7.1.	Actividad antibacteriana	41
1.8.7.2.	Actividad antifúngica	41
1.8.8.	Propiedades farmacológicas	43
1.8.9.	Aspectos legales	43
1.9.	ENVASADO ACTIVO	45
2.	OBJETIVOS	47
3.	MATERIAL Y MÉTODOS	51
3.1.	MATERIAL VEGETAL	51
3.2.	MATERIALES	52
3.3.	DISEÑO EXPERIMENTAL	55
3.3.1.	ENSAYO 1. Conservación de uva de mesa (<i>Vitis vinifera</i> L.) 'Crimson' con tratamiento de <i>Aloe vera</i> gel como recubrimiento	55
3.3.2.	ENSAYO 2. Conservación en atmósfera modificada de uva de mesa (<i>Vitis vinifera</i> L.) 'Crimson' con tratamiento de eugenol, timol o mentol a dosis de 0.5 mL por envase	56
3.3.3.	ENSAYO 3. Efecto de los aceites esenciales eugenol, timol o mentol a dosis de 0.1, 0.4 , 1 y 2 mL sobre <i>Botrytis cinerea</i> cultivado <i>in vitro</i> y sobre bayas de uva de mesa 'Autumn	



Royal'	58
3.3.3.1. Experimento I: Efecto de aceites esenciales sobre cultivo <i>in vitro</i> de <i>Botrytis cinerea</i>	58
3.3.3.2. Experimento II: Efecto de aceites esenciales sobre crecimiento de <i>Botrytis cinerea</i> inoculadas en bayas de uva	59
3.3.4. ENSAYO 4. Conservación en atmósfera modificada de uva de mesa (<i>Vitis vinifera</i> L.) 'Autumn Royal' con tratamiento de eugenol, timol o mentol a dosis de 75 y 150 μ L por envase	60
3.4. DETERMINACIONES ANALÍTICAS	61
3.4.1. Tasa de respiración y emisión de etileno	61
3.4.2. Composición de la atmósfera	63
3.4.3. Pérdida de peso	64
3.4.4. Color	64
3.4.5. Propiedades mecánicas	64
3.4.6. Índice de madurez	65
3.4.7. Recuentos microbiológicos	66
3.4.8. Homogeneización de las muestras para determinaciones	66
3.4.9. Extracciones de pulpa y piel para cuantificar ácidos orgánicos, azúcares, polifenoles y actividad antioxidante total	67
3.4.10. Ácidos orgánicos y azúcares en pulpa	67
3.4.11. Polifenoles totales en piel y pulpa	69
3.4.12. Actividad antioxidante total en piel y pulpa	69
3.4.13. Antocianos	70
3.4.13.1. Antocianos totales en piel	70
3.4.13.2. Identificación de las antocianinas	71
3.4.14. Determinación de pectinas en pulpa	72
3.4.14.1. Extracción de pectinas insolubles en alcohol (P.I.A.)	72
3.4.14.2. Extracción de pectinas solubles en agua (P.S.A.) Y solubles en oxalato (P.S.O)	72
3.4.14.3. Extracción de pectinas totales (P.T.)	73
3.4.14.4. Cuantificación de pectinas	73
3.4.15. Valoración visual y análisis sensorial	74
3.4.16. Análisis y diseño estadístico de los datos	74



4.	RESULTADOS	75
4.1.	CONSERVACIÓN DE UVA DE MESA (<i>Vitis vinifera</i> L.) 'Crimson' CON TRATAMIENTO DE RECUBRIMIENTO COMESTIBLE A BASE DE <i>Aloe vera</i>	75
4.1.1.	Evolución de la tasa respiratoria	76
4.1.2.	Evolución de la emisión de etileno	77
4.1.3.	Evolución de la pérdida de peso	78
4.1.4.	Evolución del color	79
4.1.4.1.	Evolución del parámetro L*	79
4.1.4.2.	Evolución del parámetro a*	80
4.1.4.3.	Evolución del parámetro b*	81
4.1.4.4.	Evolución del parámetro Croma*	82
4.1.4.5.	Evolución del contenido de antocianos totales en piel	83
4.1.5.	Evolución de la firmeza	85
4.1.5.1.	Evolución de la firmeza de la baya	85
4.1.5.2.	Evolución de la firmeza de la pulpa	86
4.1.6.	Evolución del contenido de sólidos solubles	87
4.1.7.	Evolución del contenido de azúcares en la pulpa	88
4.1.7.1.	Evolución del contenido de glucosa en la pulpa	88
4.1.7.2.	Evolución del contenido de fructosa en la pulpa	89
4.1.7.3.	Evolución del contenido de sacarosa en la pulpa	90
4.1.8.	Evolución de la acidez titulable	92
4.1.9.	Evolución del contenido de ácidos orgánicos en la pulpa	93
4.1.9.1.	Evolución del contenido de ácido tartárico en la pulpa	93
4.1.9.2.	Evolución del contenido de ácido ascórbico en la pulpa	94
4.1.10.	Evolución del índice de madurez	95
4.1.11.	Evolución de la actividad antioxidante total	96
4.1.11.1.	Evolución de la actividad antioxidante total en piel	96
4.1.11.2.	Evolución de la actividad antioxidante total en pulpa	97
4.1.12.	Evolución del contenido de polifenoles totales	99
4.1.12.1.	Evolución del contenido de polifenoles totales en piel	99
4.1.12.2.	Evolución del contenido de polifenoles totales en pulpa	100
4.1.13.	Correlaciones	101
4.1.13.1.	Correlaciones piel: antocianos-ATT-polifenoles	101
4.1.13.2.	Correlaciones pulpa: ácido ascórbico-ATT-polifenoles	102
4.1.14.	Recuentos de aerobios mesófilos y mohos y levaduras	103



4.1.15.	Valoración visual	105
4.1.15.1.	Aspecto racimo	105
4.1.15.2.	Aspecto del raspón	106
4.1.16.	Análisis sensorial	107
4.2.	CONSERVACIÓN DE UVA DE MESA (<i>Vitis vinifera</i> L.) 'Crimson' EN ATMÓSFERA MODIFICADA CON LA ADICIÓN DE EUGENOL, TIMOL O MENTOL	109
4.2.1.	Tasa respiratoria y emisión de etileno	109
4.2.2.	Evolución de la composición de la atmósfera	109
4.2.3.	Evolución de la pérdida de peso	112
4.2.4.	Evolución del color	113
4.2.4.1.	Evolución del parámetro L*	113
4.2.4.2.	Evolución del parámetro a*	114
4.2.4.3.	Evolución del parámetro b*	115
4.2.4.4.	Evolución del parámetro Croma*	116
4.2.5.	Antocianos en piel	117
4.2.5.1.	Evolución del contenido de antocianos en piel	117
4.2.5.2.	Perfil de antocianinas en piel	118
4.2.5.3.	Evolución del contenido de cianidín-3-glucósido	120
4.2.5.4.	Evolución del contenido de peonidín-3-glucósido	121
4.2.6.	Evolución de la firmeza	123
4.2.6.1.	Evolución de la firmeza de la baya	123
4.2.6.2.	Evolución de la firmeza de la pulpa	124
4.2.7.	Cambios en los componentes de la pared celular	125
4.2.7.1.	Cambios en el contenido de pared celular	125
4.2.7.2.	Cambios en el contenido de pectinas totales, solubles en oxalato y solubles en agua	126
4.2.8.	Evolución del contenido de sólidos solubles	127
4.2.9.	Evolución del contenido de azúcares en la pulpa	128
4.2.9.1.	Evolución del contenido de glucosa en la pulpa	128
4.2.9.2.	Evolución del contenido de fructosa en la pulpa	129
4.2.9.3.	Evolución del contenido de sacarosa en la pulpa	129
4.2.10.	Evolución de la acidez titulable	130
4.2.11.	Evolución del contenido de ácidos orgánicos en la pulpa	131
4.2.11.1.	Evolución del contenido de ácido tartárico en la pulpa	132
4.2.11.2.	Evolución del contenido de ácido ascórbico en la pulpa	133



4.2.12.	Evolución del índice de madurez	134
4.2.13.	Evolución de la actividad antioxidante total	135
4.2.13.1	Evolución de la actividad antioxidante total en piel	135
4.2.13.2.	Evolución de la actividad antioxidante total en pulpa	136
4.2.14.	Evolución del contenido de polifenoles totales	137
4.2.14.1.	Evolución del contenido de polifenoles totales en piel	137
4.2.14.2.	Evolución del contenido de polifenoles totales en pulpa	138
4.2.15.	Correlaciones	139
4.2.15.1.	Correlaciones piel: antocianos -ATT-polifenoles	139
4.2.15.2.	Correlaciones pulpa: ácido ascórbico-ATT-polifenoles	140
4.2.16.	Recuentos de aerobios mesófilos y mohos y levaduras	140
4.2.17.	Podredumbres	142
4.2.18.	Valoración visual	143
4.3.	EFEECTO DE LOS ACEITES ESENCIALES SOBRE <i>BOTRYTIS CINEREA</i>	145
4.3.1.	Efecto de los aceites esenciales sobre cultivo <i>in vitro</i> de <i>Botrytis cinerea</i>	145
4.3.1.1.	Recuento de las colonias	145
4.3.1.2.	Diámetro de las colonias	146
4.3.2.	Efecto de los aceites esenciales sobre el crecimiento de <i>Botrytis cinerea</i> inoculado en uva de mesa 'Autumn Royal'	149
4.3.2.1.	Porcentaje de podredumbres	149
4.3.2.2.	Diámetro de infección	150
4.3.2.3.	Volumen de infección	152
4.3.2.4.	Tasa respiratoria	153
4.3.2.5.	Tasa de emisión de etileno	154
4.4.	CONSERVACIÓN DE UVA DE MESA (<i>Vitis vinifera</i> L.) 'Autumn Royal' EN ATMÓSFERA MODIFICADA CON LA ADICIÓN DE EUGENOL Y TIMOL A DIFERENTES CONCENTRACIONES	157
4.4.1.	Tasa respiratoria y emisión de etileno	158
4.4.2.	Evolución de la composición de la atmósfera	158
4.4.3.	Evolución de la pérdida de peso	160
4.4.4.	Evolución del color	161
4.4.4.1.	Evolución del parámetro L*	161
4.4.4.2.	Evolución del parámetro a*	162



4.4.4.3.	Evolución del parámetro b*	162
4.4.4.4.	Evolución del parámetro Croma*	164
4.4.5.	Evolución del contenido de antocianos en piel	164
4.4.6.	Evolución del perfil de antocianinas en piel	166
4.4.6.1.	Evolución del contenido de malvidín-3-glucósido	167
4.4.6.2.	Evolución del contenido de peonidín-3-glucósido	168
4.4.6.3.	Evolución del contenido de petunidín-3-glucósido	169
4.4.6.4.	Evolución del contenido de delfinidín-3-glucósido	170
4.4.6.5.	Evolución del contenido de cianidín-3-glucósido	171
4.4.7.	Evolución de la firmeza	172
4.4.7.1.	Evolución de la firmeza de la baya	172
4.4.7.2.	Evolución de la firmeza de la pulpa	173
4.4.8.	Cambios en los componentes de la pared celular	174
4.4.8.1.	Cambios en el contenido de pared celular	174
4.4.8.2.	Cambios en el contenido de pectinas totales, solubles en oxalato y solubles en agua	175
4.4.9.	Evolución del contenido de sólidos solubles	177
4.4.10.	Evolución del contenido de azúcares en la pulpa	178
4.4.10.1.	Evolución del contenido de glucosa en la pulpa	178
4.4.10.2.	Evolución del contenido de fructosa en la pulpa	179
4.4.10.3.	Evolución del contenido de sacarosa en la pulpa	180
4.4.11.	Evolución de la acidez titulable	181
4.4.12.	Evolución del contenido de ácidos orgánicos en la pulpa	181
4.4.12.1.	Evolución del contenido de ácido tartárico en la pulpa	182
4.4.12.2.	Evolución del contenido de ácido ascórbico en la pulpa	183
4.4.13.	Evolución del índice de madurez	184
4.4.14.	Evolución de la actividad antioxidante total	185
4.4.14.1.	Evolución de la actividad antioxidante total en piel	185
4.4.14.2.	Evolución de la actividad antioxidante total en pulpa	187
4.4.15.	Evolución del contenido de polifenoles totales	188
4.4.15.1.	Evolución del contenido de polifenoles totales en piel	188
4.4.15.2.	Evolución del contenido de polifenoles totales en pulpa	189
4.4.16.	Correlaciones	191
4.4.16.1.	Correlaciones piel: antocianos -ATT-polifenoles	191
4.4.16.2.	Correlaciones pulpa: ácido ascórbico-ATT-polifenoles	192
4.4.17.	Recuentos de aerobios mesófilos y mohos y levaduras	193
4.4.18.	Podredumbres	195



4.4.19.	Análisis sensorial	196
4.4.19.1	Eugenol	196
4.4.19.2	Timol	197
5.	DISCUSIÓN	199
5.1.	Evolución de la tasa de respiración	200
5.2.	Evolución de la composición de la atmósfera en los envases	201
5.3.	Evolución de la pérdida de peso de los racimos de uva	203
5.4.	Evolución de los parámetros de color de las bayas y del contenido de antocianinas de la piel	205
5.5.	Evolución de la firmeza de baya y pulpa	211
5.6.	Evolución de los sólidos solubles, acidez, ácidos orgánicos y azúcares	215
5.7.	Evolución de las propiedades funcionales	218
5.8.	Estudio de la contaminación microbiana	222
5.9.	Valoración sensorial de racimos y bayas	226
5.10.	Estimación de la vida útil	228
6.	CONCLUSIONES	231
7.	BIBLIOGRAFÍA	235
8.	ANEXO FOTOGRAFÍAS	269



1. INTRODUCCIÓN

1.1. CONCEPTO DE CALIDAD EN UVA DE MESA

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). 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.

1.1.1. Calidad organoléptica o sensorial

Los consumidores usan sus sentidos, vista, olfato, gusto, tacto e incluso oído, para evaluar la calidad y como resultado juzgan la aceptabilidad del 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 las propiedades a un lenguaje común para investigadores, industria y consumidores.

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 y demás productos vegetales 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 es 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.

Otra propiedad sensorial muy importante es el **color**, 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, flavonoides, de color amarillo, naranja y rojo y betalaínas de color morado, más o menos intenso.

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 depende de sus características genéticas y de su estado de maduración, aunque también se ve influenciada por factores ambientales y agronómicos. Así, 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). 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, sobre todo en lo referente al contenido en azúcares, ácidos orgánicos y en ciertos compuestos volátiles serán los determinantes del sabor y del aroma y por tanto, de capital importancia en la calidad gustativa.

1.1.2. Calidad nutricional

Los constituyentes principales de la uva se detallan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Composición nutritiva de la uva de mesa, expresada en g o mg/100 g peso fresco para los componentes orgánicos y en mg/100 g peso seco para los minerales

Contenido en agua (%)	80,54	Tiamina (mg/100g)	0,07
Proteínas (g/100g)	0,72	Riboflavina (mg/100g)	0,07
Lípidos (g/100g)	0,16	Niacina (mg/100g)	0,19
Cenizas (g/100g)	0,48	Folato (mcg/100g)	2
Carbohidratos (g/100g)	18,10	Potasio (mg/100g)	191
Fibra dietética (g/100g)	0,9	Sodio (mg/100g)	2
Sacarosa (g/100g)	0,15	Calcio (mg/100g)	10
Glucosa (g/100g)	7,20	Fósforo (mg/100g)	20
Fructosa (g/100g)	8,13	Magnesio (mg/100g)	7
Energía (kcal)	69	Hierro (mg/100g)	0,36
Energía (kJ)	288	Zinc (mg/100g)	0,07
Vitamina C (mg/100g)	10,8	Cobre (mg/100g)	0,13
Fuente: USDA, Agricultural Research Service, Nutrient Data Laboratory (www.nal.usda.gov).			



En general la uva de mesa, al igual que otros frutos posee un alto contenido en agua, próximo al 80%, aporta una cierta cantidad de carbohidratos, fundamentalmente en forma de azúcares y es pobre en proteínas y lípidos, por lo que aporta pocas calorías a la dieta. Sin embargo, aporta sustancias minerales, destacando su alto contenido en potasio y una gran variedad de vitaminas, tanto hidrosolubles como liposolubles, así como aminoácidos esenciales (Cuadro 1).

1.1.3. Calidad funcional: propiedades antioxidantes

Además de las propiedades nutritivas comentadas anteriormente, la uva de mesa posee 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. En este sentido, al consumo de frutas y vegetales se le ha atribuido un fuerte efecto protector contra la aparición de infarto (Ness y Powles, 1997; Gillman et al., 1995; Kant et al., 2000) así como en la prevención de enfermedades de tipo coronario, del infarto isquémico (Hertog et al., 1993; Joshipura et al., 1999; Key et al., 1996) y de ciertos tipos de cáncer (Block et al., 1992; Steinmetz y Potter, 1996). Además, como beneficio añadido, el consumo de frutas y vegetales disminuye la presión sanguínea (Ascherio et al., 1991). El Instituto Nacional de Cáncer y el Consejo de Investigación Nacional de los Estados Unidos han recomendado que como mínimo se deban de 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 post-cosecha y de Tecnología de Alimentos, siempre se aboga por esta línea.

Las razones por las cuales una dieta rica en frutas y hortalizas previene todas estas enfermedades podría encontrarse en la presencia de vitaminas antioxidantes (C y E) y de provitamina A (β -caroteno) en estos alimentos. Sin embargo, recientes estudios han evaluado los efectos que la administración de estas vitaminas tiene en el organismo humano. Los resultados obtenidos fueron contradictorios, puesto que no se encontró una relación significativa entre la ingesta de estos compuestos y una reducción de las enfermedades (Rapola et al., 1997, Yusuf et al. 2000, Leppala et al., 2000, Ascherio et al., 1999). Se piensa que las frutas además de poseer vitaminas, contienen muchos más componentes, que actúan sinérgicamente con las vitaminas antioxidantes, y el



efecto del conjunto de todos ellos puede ser diferente al que presentaría la ingesta exclusiva de una vitamina concreta.

Las bases establecidas para el efecto protector de frutas y vegetales sobre las enfermedades degenerativas se describen ampliamente en el artículo escrito por Ames et al. (1993). Los autores en este artículo discuten sobre la ubicuidad y naturaleza destructiva de los radicales de oxígeno y describen como los radicales de oxígeno pueden provocar daños a las biomoléculas tales como DNA, lípidos y proteínas. Además, ellos estiman que el DNA de cada célula humana soporta 10000 golpes oxidativos por día. Pese a la existencia de mecanismos de reparación propios del DNA, las lesiones oxidativas se van acumulando con la edad y cada una de estas lesiones provoca una mutación específica que de lugar al cáncer. De forma similar, la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad se ha postulado como la causa del desarrollo de lesiones arterioscleróticas (Fuller y Jiajal, 1997). Respecto al campo de la neurobiología y los problemas de lesiones antes comentados, se está estudiando que el estrés oxidativo pueda inducir daños en el cerebro. Varias líneas de investigación sugieren una asociación entre daño oxidativo y pérdida neurológica (Cantuti-Castelvetri et al., 2000).

La pregunta no tarda en acudir, ¿cómo los componentes de frutas y hortalizas pueden mejorar la protección y disminuir los efectos del estrés oxidativo?. Ciertos fitoquímicos encontrados en frutas y hortalizas 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 (Yen y Duh, 1994).

Aunque las plantas sintetizan antioxidantes únicamente para su propia defensa frente al estrés oxidativo, ciertos tipos de antioxidantes están presentes en suficiente abundancia como para contribuir como complemento en las dietas que contienen frutas y hortalizas. Existen una gran cantidad de antioxidantes fitoquímicos que engloban sustancias como ascorbato, carotenoides, tocoferoles y compuestos fenólicos. Estos 3 últimos pueden tener a su vez distintas estructuras y variaciones. Los compuestos fenólicos comprenden el mayor y más diverso grupo de antioxidantes fitoquímicos, ya que abarca varios miles de compuestos (Machiex et al., 1990; Kalt, 2005).



1.1.3.1. Compuestos fenólicos

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, en contraste con otros antioxidantes encontrados en frutos como los carotenoides y tocoferoles que son liposolubles, son hidrosolubles y por tanto, se encuentran disueltos en el citosol de la célula. Asimismo, la forma de actuar como antioxidante de los fenoles es la que sigue:

- Como atrapadores de radicales libres
- Impidiendo la formación del radical peróxido
- Quelando iones metálicos de transición
- Trabajando junto con el ascorbato en la defensa oxidativa (Kalt et al., 2001).

Los antioxidantes o sus metabolitos, cruzan la mucosa intestinal y acceden al interior de las células del organismo, contribuyendo a los mecanismos de defensa antioxidante. Duthie (1999), exponía que los compuestos fenólicos eran de difícil absorción pero metabolizados muy rápidamente, enfrentando este efecto con el de la vitamina C la cual exhibía una alta biodisponibilidad y por tanto se alzaba con el título de antioxidante hidrosoluble más importante. Se ha comprobado en brócoli que los glucosinolatos se degradan en el estomago, mientras que fenoles y vitamina C lo hacen en el intestino (Vallejo et al., 2004).

Las enzimas que actúan en la oxidación degradativa de los fenoles y que dan como producto polímeros marrones llamados melaninas, compuestos típicos resultantes del llamado pardeamiento enzimático son las siguientes: polifenol oxidasa (PPO) y peroxidasa (POD). La PPO es una enzima que contiene cobre, que puede encontrarse en la planta tanto de forma activa como latente (Espín et al., 1999) y que cataliza dos reacciones distintas en presencia de oxígeno molecular. Por un lado hidroxila los monofenoles a o-difenoles, y por otro esos o-difenoles formados, los pasa a o-quinonas mediante oxidación. Estas o-quinonas dan lugar a polímeros de colores negros, marrones o rojos, comúnmente llamados melaninas.



La POD es una enzima que lleva a cabo la oxidación de un electrón simple para dar lugar a un amplio número de compuestos en presencia de peróxido de hidrógeno. Aunque no está claro su papel en el oscurecimiento de frutos, ya que su actividad está limitada al nivel de peróxido de hidrógeno en la planta, se ha postulado que la propia PPO podría actuar como promotor de la actividad POD debido a la generación de peróxido de hidrógeno durante la oxidación de compuestos fenólicos. Por tanto el principal agente responsable del pardeamiento enzimático en frutas y vegetales va a ser la PPO, aunque un posible efecto sinérgico entre PPO y POD no puede ser descartado.

No obstante, uno de los aspectos a tener en cuenta es la absorción y biodisponibilidad de los polifenoles. Se considera que la absorción de los compuestos fenólicos de la dieta es muy escasa debido a que la mayoría de estos compuestos se encuentran unidos a glucósidos, y por tanto solo los aglicones son capaces de atravesar la mucosa intestinal y entrar en el torrente sanguíneo, ya que no existen enzimas a nivel del intestino que sean capaces de romper los enlaces glucosídicos (Ross y Kasum, 2002). Es por esto por lo que cada vez se están realizando diversos estudios de biodisponibilidad de los compuestos fenólicos en humanos, si bien se obtienen resultados contradictorios, ya que intervienen una gran cantidad de variables como el tipo de azúcar al que está unido, su carácter hidrófilo o hidrófobo, así como las propias variaciones intrínsecas de los humanos (Karakaya, 2004).

Existen dos clases mayoritarias de compuestos fenólicos.

Compuestos fenólicos no - flavonoides: En este grupo se encontrarían los ésteres de ácidos hidroxicinámicos; dentro de este grupo llama la atención especialmente el ácido clorogénico y los taninos, responsables de la astringencia de las frutas. En el grupo de compuestos no - flavonoides también tendríamos los compuestos fenólicos simples. Estos últimos, y sobre todo aquellos que son volátiles pueden contribuir al 'flavor' de los alimentos y a su aroma. Como ejemplos varios tenemos vainillina, isoeugenol, eugenol, siringol.

Compuestos fenólicos flavonoides: Los flavonoides incluyen cuatro grandes familias: Los flavonoles, los flavonóles y flavonas, antocianos, calconas y los flavanoles. Esta última familia incluye a los taninos condensados o procianidinas



Los flavonoles suelen ser responsables del color amarillo en la piel de los frutos siendo los más importantes el canferol y la quercetina. Los flavanóles y las flavonas presentan una estructura muy similar a la de los flavonoles. Básicamente su estructura química difiere tan sólo de los flavonoles en que no poseen el doble enlace del heterociclo.

Los flavanoles representan una compleja familia compuesta por las diferentes formas isoméricas de la catequina y sus polímeros, por tanto pese a existir diferentes monómeros de flavanol los mayoritarios son catequinas y epicatequinas.

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).

Algunos compuestos fenólicos son intensamente amargos, como es el caso de la flavonona neohesperidina, característica de algunos cítricos (pomelo, naranja...). Este mismo compuesto, previa transformación química a su correspondiente dihidrochalcona, tiene un sabor intensamente dulce, por lo que se usa en la industria para incrementar el "flavor" en alimentos. Otros compuestos fenólicos amargos incluyen los que contiene el lúpulo que se le adiciona a la cerveza, y que es responsable del característico sabor de ésta. El pimentón, y guindilla son ricos en capsaicina otro compuesto fenólico que proporciona el sabor picante de estos productos.

Las chalconas más comunes son entre otras, chalconaringenina en el tomate, y arbutina en las peras. Estos compuestos se absorben como dihidrochalconas en el intestino, encontrándose íntegras en el plasma de los animales (Karakaya, 2004).

Los antocianos y antocianinas (del griego *anthos* flor y *kyanos* azul) son compuestos polifenólicos con capacidad antioxidante y son los responsables del color azul, púrpura, rojo, e incluso negro en productos alimentarios derivados de plantas. La tonalidad va a depender del pH en el que se encuentren (García-Viguera et al., 1999).

Generalmente un aumento en el contenido de antocianos se interpreta como algo positivo en la mayor parte de los casos en frutas y hortalizas, exceptuando casos como el espárrago en los que la pigmentación de

antocianinas se considera que confiere baja calidad en el producto (Tomás-Barberán y Espín, 2001).

En cuanto a la repercusión de los flavonoides sobre la salud humana, se ha demostrado que previenen las enfermedades del corazón y los riesgos de infarto (Keli et al., 1996). Asimismo en otro estudio realizado sobre 10000 hombres y mujeres durante 20 años demostró que una ingesta de flavonoides disminuye el riesgo a desarrollar un cancer de pulmón (Knekt et al., 1997).

En el Diagrama 1 se exponen la clasificación de los compuestos fenólicos.

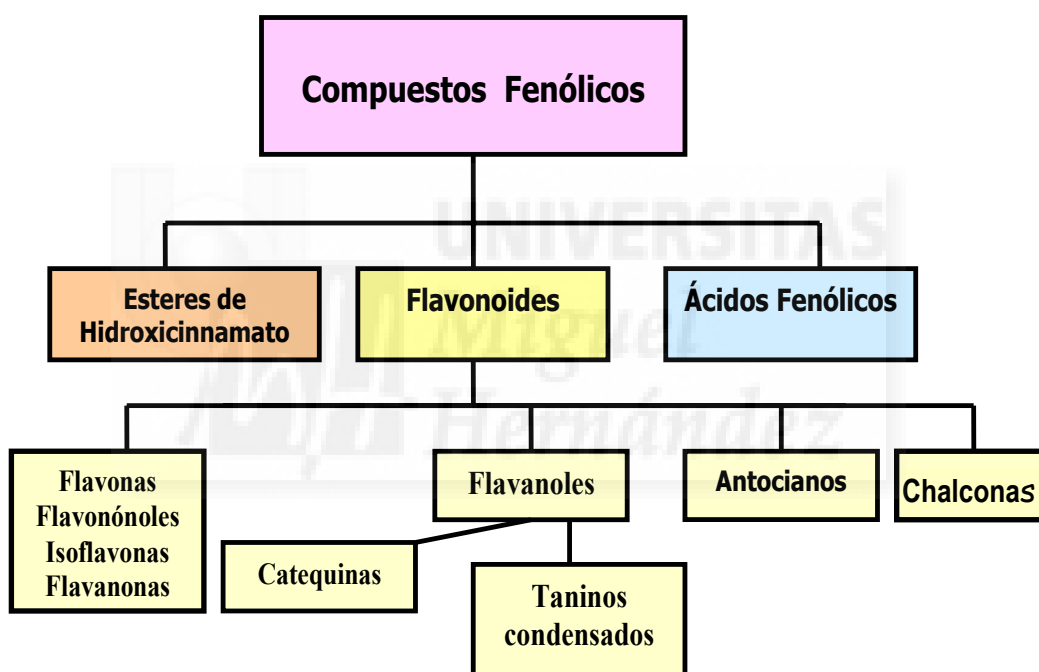


Diagrama 1.- Clasificación de los compuestos fenólicos (adaptado de Kalt et al., 2001; Zamora, 2003 y Karakaya, 2004).



1.2. IMPORTANCIA ECONÓMICA DE LA UVA DE MESA

La vid constituye una de las primeras plantas que cultivó el hombre, motivo por el cual ha jugado un papel trascendental en la economía de las antiguas civilizaciones.

1.2.1. Antecedentes de la uva de mesa

Se empezó a conocer de la existencia del cultivo de la viña en Egipto, hacia los años 1500 y 1000 a. C., en el delta del Nilo, pero fue en Grecia, alrededor del siglo VII a. C., cuando se comenzó a cultivar la viña, cuidando la tierra y emparrando el viñedo. Posteriormente los romanos impulsaron este cultivo en Europa, y fue España en el siglo XVI quien la introdujo en el continente americano para que más tarde se extendiera por todas las zonas del planeta que tienen las condiciones climatológicas que lo permiten (Hidalgo, 2002).

La vid es una planta leñosa y trepadora, que se sostiene por medio de zarcillos opuestos o alternos. Sus hojas, profundamente lobuladas y palminervias de superficie vellosa, ofrecen unas flores pequeñas de color blanco verdoso, que se convierten en racimos. Esta planta pertenece al género *Vitis* y a la especie *Vitis vinifera* L. de la familia de las Ampelidáceas (Díaz, 1987).

1.2.2. Papel de la uva de mesa en la agricultura española

Según los datos de la Organización Internacional de la Viña y el Vino (2002) el destino mayoritario de la uva es para vinificación (65.7%), y aproximadamente el 26.5% se destina a consumo en fresco, denominándose entonces uva de mesa y el resto (7.8%) para la elaboración de uvas pasas. La uva de mesa es un fruto de elevada aceptación por los consumidores debido a su excelente calidad organoléptica y nutricional. Una parte de la producción se dedica al mercado de exportación (Mazza, 1995), por lo que resulta necesario mantener las uvas en las mejores condiciones tras su recolección para facilitar la comercialización a destinos lejanos. El área Mediterránea concentra la

mayor producción mundial de uva de mesa, siendo Italia, Francia y España los mayores productores (Gráfico 1).

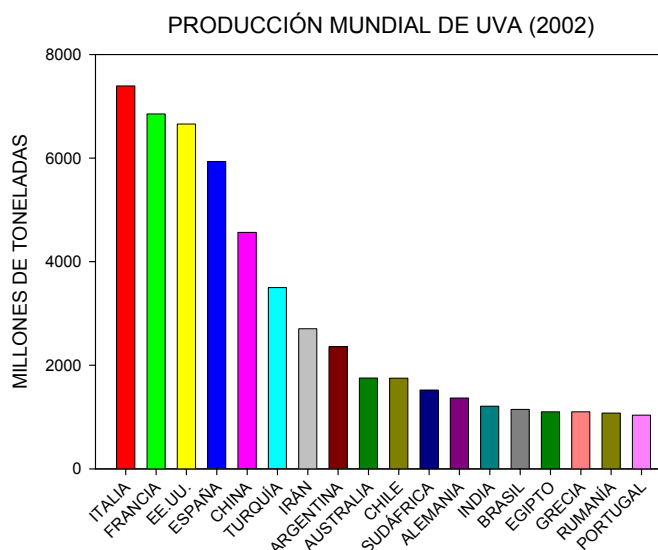


Gráfico 1: Principales países productores de uva de mesa
Fuente: FAOSTAT (2003)

En España, la producción de uva de mesa se concentra en el arco Mediterráneo, siendo la Comunidad Valenciana con un 59% de la producción nacional la región más importante (Gráfico 2), concretamente en Alicante donde se encuentra la zona de producción amparada por la Denominación de Origen Uva de Mesa Embolsada Vinalopó, que representa el 80% del viñedo de la provincia.

1.2.3. Principales variedades de uva de mesa

Existen aproximadamente unas 3000 variedades de uvas en el mundo, aunque no todas son igualmente apreciadas y pueden ser clasificadas de formas diferentes según atendamos a unos u otros criterios. En la zona de D.O. Uva de Mesa Embolsada Vinalopó las variedades más cultivadas son con semilla: 'Ohanes', 'Italia' y 'Aledo' (Pérez, 1992). El porcentaje que representa la superficie de uva de mesa respecto al total de cultivo asciende casi al 20% de las mismas (C.A.P.A., 2001). Es en esta zona donde se concentra la mayor producción de uva de mesa de España.

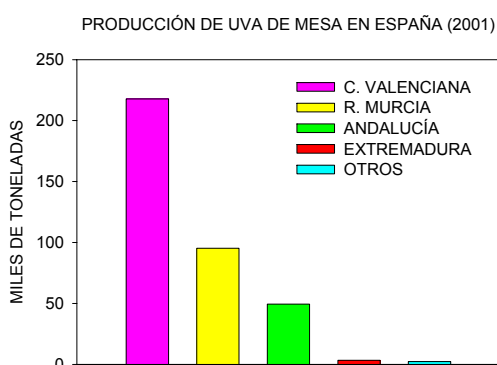


Gráfico 2: Producción española de uva de mesa en 2001.

Fuente: MAPA (2002)

Actualmente, tanto el mercado interior como el exterior, se encuentran muy abastecidos de uvas con semilla, motivado fundamentalmente por el alza en la producción y exportación experimentada por Italia, principal competidor de la uva de mesa española en los mercados europeos. Las variedades sin semillas o apirenas han despertado el interés de productores y consumidores en los últimos años (Alonso et al., 2002). La mayoría de las variedades conocidas como apirenas son aquellas en las que, después de una fecundación normal, el embrión y el albumen abortan, presentando bayas con semillas rudimentarias y herbáceas, no perceptibles al comerlas. Las variedades apirenas más cultivadas son: 'Perlette', 'Sugraone', 'Flame Seedless', 'Centennial Seedless', 'Sublima Seedless', 'Thompson Seedless' (Sultanina), la más producida en el mundo (Crisosto et al., 2002a), 'Crimson Seedless' (Fotografía 1) y 'Autumn Seedless' (Fotografía 2).



Fotografía 1:
Racimos de uvas 'Crimson'



Fotografía 2:
Racimos de uvas 'Autumn Royal'



1.3. CONSERVACIÓN DE LA UVA DE MESA: PROBLEMÁTICA

La uva es un fruto muy perecedero, puesto que su conservación en condiciones naturales es muy limitada, ya que depende de numerosos factores internos tales como la respiración, estructura y consistencia de la piel y pulpa, estado de maduración, condiciones de sanidad e integridad física, composición de su zumo, etc., así como de factores externos, siendo los más importantes la temperatura y la humedad relativa. Esto se traduce en graves problemas en su transporte y comercialización.

Es evidente que la determinación del momento óptimo de recolección y el mantenimiento de las propiedades sensoriales durante las diferentes etapas de la post-recolección (manipulación, comercialización y distribución) es imprescindible para satisfacer las necesidades del consumidor, ofreciendo frutos con los siguientes atributos; tamaño, color, firmeza de la baya y de la pulpa, color verde del pedúnculo y aroma (Pretel, 1996).

En general, durante la post-recolección el proceso de maduración de los frutos continúa, de manera más o menos rápida, dependiendo de sus características genéticas y de las condiciones de conservación. Este proceso conduce a un estado de sobremaduración que determina la pérdida de calidad. Otras causas que determinan la pérdida de calidad durante la post-recolección de los frutos son la aparición de fisiopatías y podredumbres causadas por diferentes microorganismos. Así pues, a continuación se comenta el proceso de maduración de la uva y las alteraciones y podredumbres más frecuentes, para continuar, en el siguiente apartado, comentando cuales serían las estrategias de conservación más apropiadas para mantener la calidad de la uva de mesa el máximo tiempo posible, lo que permitiría, su transporte a mercados más lejanos o su conservación durante un cierto tiempo, para superar una época de saturación del mercado o de precios bajos.

1.3.1. Proceso de maduración de la uva de mesa

La uva exhibe una curva de crecimiento de doble sigmoide que es típica de los frutos en forma de baya (Coombe, 1976). La primera fase de crecimiento se debe inicialmente a una división celular y posteriormente a un alargamiento celular y en la segunda fase de crecimiento se produce un



incremento del volumen de la baya debido principalmente a una expansión celular. El inicio de esta fase se denomina comúnmente como "fase de envero" y es cuando se inician los mayores cambios en el desarrollo, tales como acumulación de azúcares, descenso de ácidos orgánicos, desarrollo del color, expansión de la baya y ablandamiento, que son los principales cambios que tienen lugar durante su proceso de maduración (Coombe, 1992).

La evolución de la actividad respiratoria durante la maduración determina si se trata de frutos climatéricos o no climatéricos. En los frutos climatéricos, la tasa respiratoria aumenta durante la maduración disminuyendo posteriormente, lo que se denomina crisis o respiración climatérica. Además en los frutos climatéricos, asociado al pico de respiración se produce un aumento autocatalítico en la producción de etileno, siendo esta hormona la responsable del control de varios de los cambios bioquímicos que se producen durante la maduración (Yang y Hoffman, 1984; Lelièvre et al., 1997).

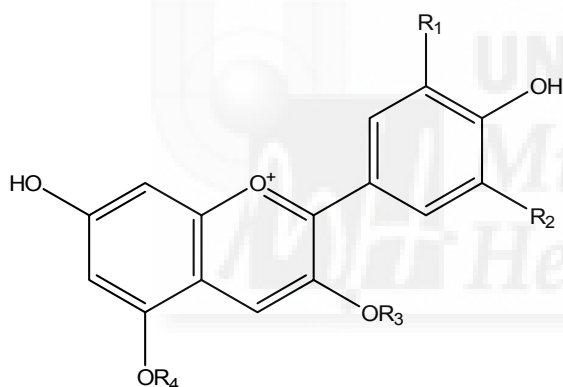
Todos los frutos y hortalizas se caracterizan por estar constituidos por tejidos vivos que mantienen la actividad fisiológica después de la recolección. Por tanto, durante la post-recolección se suceden cambios y esta evolución no se puede detener, sólo reducir dentro de unos límites. Debido a su metabolismo particular unos frutos poseen mayor periodo de vida útil y otros por el contrario son más perecederos.

En el caso de la uva de mesa, los cambios más significativos relacionados con la maduración y senescencia son el proceso de ablandamiento y los cambios de color, juntos con los de excesiva pérdida de peso y pardeamiento y deshidratación de los raspones.

Los cambios en la textura de la uva de mesa conllevan a un proceso de ablandamiento que se produce por cambios en la pared celular. Así, durante la maduración post-recolección de la uva de mesa tiene lugar un aumento en los polisacáridos pécticos solubles en agua y pérdida de moléculas de galacturonanos, debidos en parte a la acción de los enzimas poligalacturonasa (PG) y pectinmetilesterasa (PME), si bien recientemente se ha demostrado que estos enzimas no son los únicos factores que contribuyen a la solubilidad de las pectinas, sino que endo o exo hidroxilasas podrían ser responsables de la despolimerización de las unidades de 1→4-β-galactano de los polisacáridos pécticos (Nunan et al., 1998).

El color rojo o negro de las uvas se debe a la acumulación de antocianinas que se encuentran normalmente localizadas en la piel de la baya. La cantidad y calidad de color en las uvas en el momento de la recolección son factores críticos que van a determinar su vida útil. La biosíntesis de antocianinas comienza con el inicio del envero, y factores como variedad y condiciones de cultivo pueden influir en los niveles de antocianinas y en el perfil de los diferentes pigmentos. Las variedades de *Vitis vinifera* normalmente producen derivados de 3-monoglucósido, 3-acetilglucósido y 3-*p*-cumarilglucósido de los aglicones delfinidina, cianidina, peonidina, petunidina y malvidina (Mazza, 1995). En la imagen 1 se representa la estructura química general de las antocianinas y en el cuadro 2 los diferentes tipos de radicales que pueden encontrarse y que determinan el tipo de antocianina.

Cuadro 2. Radicales asociados a la estructura química general



R ₁	R ₂	Aglicón	Abrevi.
H	H	Pelargonidín	Pg
OH	H	Cianidín	Cy
OMe	H	Peonidín	Pn
OH	OH	Delfinidín	Dp
OMe	OH	Petunidín	Pt
OMe	OMe	Malvidín	Mv

R₃ y R₄: H ó azúcar

Imagen 1: Estructura química general

de las antocianinas

Uno de los factores más importantes que afectan a la calidad de la uva es la relación superficie/volumen de las bayas, ya que la uva sufre una fuerte deshidratación durante su conservación post-recolección, debida a las pérdidas de agua por transpiración. Para minimizar estas pérdidas la humedad relativa debe ser muy alta durante el almacenamiento.



El raspón posee cloroplastos y realiza fotosíntesis, de ahí su color verde. Durante la maduración la clorofila se degrada y aparecen los pigmentos ocres, siendo el pardeamiento del raspón un síntoma inequívoco de sobre-maduración de la uva y de pérdida de calidad. Se ha comprobado que el proceso de pardeamiento de los raspones viene acompañado de un incremento de la actividad PPO (Carvajal-Millán et al., 2001).

Debido al arrugamiento de la piel por la deshidratación, a la hidrolización de las paredes celulares de las células de la pulpa y a la acción de los hongos que colonizan los frutos, se puede producir un trasvase de fluido desde el interior de la pulpa hacia la superficie de la baya y ponerse en contacto con la piel de otras bayas, por lo que este proceso representa la senescencia de todo el racimo.

La aceleración de los procesos de maduración viene acompañada de la aparición de una serie de podredumbres y fisiopatías, que también van a afectar el periodo de vida útil.

1.3.2. Aparición de fisiopatías y podredumbres

Los principales desórdenes fisiológicos y podredumbres que afectan a la uva de mesa son (Crisosto et al., 2004):

1.3.2.1. Desgrane o "Shatter": Consiste en el desprendimiento de las bayas de su pedúnculo. En general, el desgrane incrementa con el aumento de la maduración. Las bayas de variedades sin semillas son normalmente más resistentes que las variedades con semillas. La incidencia de este desorden varía considerablemente de una temporada a otra, y existen grandes diferencias entre variedades. La aplicación de giberelinas a las frutas debilita la unión de las bayas al racimo.

El desgrane ocurre fundamentalmente por una manipulación poco cuidadosa durante la recolección, aunque también se produce a lo largo de todo el proceso de la comercialización. La incidencia del desgrane puede ser reducida controlando la profundidad de los envases y la densidad de fruta, usando racimos embolsados, manipulación suave y manteniendo la temperatura y humedad relativa recomendadas.

1.3.2.2. Grano acuoso o "Waterberry": El grano acuoso está asociado con fruta madura pero también puede aparecer cuando el fruto comienza a desarrollarse justo después del envero. Los primeros síntomas son el desarrollo de pequeñas manchas oscuras (1-2 mm) en los pedúnculos y/o otras partes del racimo. Estas manchas se necrosan, quedando ligeramente hundidas y luego se expanden, afectando a más áreas.

La bayas afectadas tienden al mojado, ablandamiento y a la flacidez cuando maduran. Este desorden se ha asociado con un alto nivel de nitrógeno en la vid, al sombreado con mallas o con climatología fría durante el envero y la maduración de la fruta. Eliminar las bayas afectadas durante la recolección y el envasado es una práctica muy útil, para reducir la incidencia del grano acuoso durante la post-recolección, aunque resulte muy laboriosa.

1.3.2.3. Podredumbre gris causada por *Botrytis cinerea*. La podredumbre gris es la más destructiva de las enfermedades post-recolección de la uva de mesa, principalmente porque se desarrolla a temperaturas tan bajas como (- 0.5 °C) y se propaga de una baya a otra. La podredumbre gris primero torna las bayas de color pardo, entonces se desprende la piel de la baya, se blanquea, aparecen las hifas filamentosas alrededor de la superficie de la baya, y finalmente se desarrollan masivamente las esporas de color gris (Fotografía 3). Las heridas superficiales producidas en las bayas durante la recolección y manipulación son aprovechadas por las esporas para realizar la infección. Se requiere para la infección que haya condiciones de humedad.

1.3.2.4. Podredumbre negra causada por *Aspergillus niger*. La podredumbre negra es una de las mayores enfermedades de la uva. Todas las variedades de uva son susceptibles a la infección de este hongo. Si no se controla, parte o todas las bayas del racimo se pueden podrir. Esta enfermedad se favorece en climas cálidos y húmedos durante el verano. Los primeros síntomas de la podredumbre negra aparecen como manchas amarillas en las hojas. Las lesiones también pueden aparecer en brotes tiernos, tallos del racimo y zarcillos. Las lesiones son moradas o negras de forma oval y hundida (Fotografía 4).



Fotografía 3: Podredumbre gris



Fotografía 4: Podredumbre negra

Otros agentes patógenos importantes a temperatura ambiente, y que comúnmente aparecen durante el transporte y la comercialización después que las uvas sean trasvasadas desde el almacenamiento en frío a temperatura ambiente son la **podredumbre azul** causada por *Penicillium* spp. y la **podredumbre ácida** causada por *Rhizopus stolonifer* o *Rhizopus oryzae*.

1.4. PRÁCTICAS HABITUALES DE CONSERVACIÓN POST-RECOLECCIÓN

Con el fin de evitar la aceleración de la pérdida de calidad de la uva de mesa, de forma clásica se ha usado la conservación post-recolección bajo condiciones de refrigeración y/o con coadyuvantes del almacenamiento.

1.4.1. Refrigeración

Está ampliamente documentado el efecto que las bajas temperaturas producen en la ralentización del metabolismo post-cosecha de frutas y hortalizas (Martínez-Romero et al., 2000). Este retraso es directamente proporcional al descenso de la temperatura y la idónea para la conservación de los vegetales es aquella que se aproxima al punto de congelación de los tejidos o la mínima para que no se produzcan daños por frío. En el caso de la uva de mesa numerosos estudios recomiendan que la temperatura del interior de las bayas del racimo oscile entre -1 y 1°C (Artés-Hernández et al., 2004; Crisosto et al., 2001; Yamashita et al., 2000; Crisosto et al., 2003a, Crisosto et al., 2003b). Este rango depende de la variedad y del estado de maduración. Las uvas maduras contienen mayor concentración de sólidos solubles y ellos le confieren un punto de congelación inferior que oscila entre -3 y -2°C . Se ha comprobado que las nuevas variedades son más sensibles a los daños por frío (Crisosto et al., 2001).

Crisosto et al. (2001) y Nelson (1985) proponen unas recomendaciones para la refrigeración de uvas de mesa para evitar pérdidas post-cosecha. La recolección, el envasado y el transporte debe realizarse lo más rápidamente posible; debe evitarse la insolación de los frutos recolectados. Una vez en la central hortofrutícola se ha de pre-refrigerar antes de las 6-8 horas y cómo límite en las 24 horas posteriores a la recolección. El primer tratamiento antifúngico post-cosecha se debería realizar durante la pre-refrigeración. Otras condiciones a tener en cuenta serían la humedad relativa dentro de la cámara frigorífica que puede oscilar desde 85 hasta 98% (Crisosto et al., 2002a; Yamashita et al., 2000; Crisosto et al., 2001; Crisosto et al., 2003^a; Crisosto et al., 2003b), si bien es recomendable que no descienda de 90%. Así mismo, para evitar acumulación de etileno se recomienda renovar el aire



mediante un flujo de aire forzado que oscile entre 0.1 y 0.2 m/s por tonelada de uva almacenada (Crisosto et al., 2001; 2003a).

La elección de compra de los consumidores va a estar condicionada por la calidad final del producto (Brugarolas et al., 2003). En el caso de la uva de mesa, el almacenamiento frigorífico no es suficiente para garantizar el mantenimiento de los parámetros de calidad para alcanzar un valor comercial aceptable en los mercados (Romanazzi et al., 2002).

Martínez-Romero et al. (2003) conservaron uvas 'Flame Seedless' a 1°C y 90% H.R. La pérdida de peso de los frutos a los 18 días fue de $12.36 \pm 1.24\%$, este hecho se debió a las diferencias de presión de vapor entre la atmósfera de la cámara frigorífica y el interior del fruto. Los sólidos solubles aumentaron significativamente durante el almacenamiento a 1°C, demostrándose así que el uso del frío no es suficiente para detener los procesos de maduración ya que las sustancias de reserva están hidrolizándose para ofrecer sustratos a las reacciones metabólicas. A los 53 días de experimento la firmeza de los frutos había descendido muy significativamente, estos resultados indican una relación entre las pérdidas de peso por deshidratación y el marchitamiento de los frutos.

También durante la conservación post-recolección de la uva se producen descensos importantes en la firmeza y cambios de color, que se manifiestan como incrementos en el ángulo Hue en las variedades coloreadas debidos a una mayor proporción de antocianinas que se relacionan con el aumento en el contenido de azúcares (Vitrac et al., 1999; Hiratsuka et al., 2001). Así mismo, también se producen procesos de pardeamiento en el raspón y disminuye la cohesión de la baya al pedúnculo (Martínez-Romero et al., 2003).

Finalmente, un problema muy importante en la conservación de la uva es la proliferación de hongos, que causan infección en un elevado porcentaje de bayas y de racimos, tanto si la conservación se produce a temperaturas muy bajas como a temperaturas más elevadas y que hace necesario el empleo de tratamientos antifúngicos (Romanazzi et al., 2002)

De los datos expuestos podemos inferir que en el caso de la uva de mesa las bajas temperaturas no son suficientes para retrasar los procesos metabólicos que determinan la maduración y la senescencia e impedir el ataque



de microorganismos, concretamente del hongo *Botrytis cinerea*. Es por ello necesario realizar ciertos tratamientos durante el proceso de la post-recolección para garantizar la calidad y seguridad alimentaria de la uva de mesa, evitando la contaminación fúngica y manteniendo los parámetros de calidad organoléptica y nutricional durante un tiempo suficientemente largo para asegurar que llegue al consumidor en condiciones óptimas.

1.4.2. Tratamientos post-recolección

Desde hace algunos años los tratamientos fungicidas representan el método principal para el control de enfermedades postcosecha de frutas y hortalizas (Eckert y Ogawa, 1985). Sin embargo, no están exentos de problemas. Desde hace más de 90 años en California ya se usaba el SO_2 para controlar la podredumbre gris provocada por *Botrytis cinerea* en uva de mesa frigoconservada (Nelson, 1985). A pesar de utilizar temperaturas cercanas a $0^{\circ}C$ y humedades relativas altas es necesario fumigar semanalmente con SO_2 las cámaras frigoríficas (Crisosto et al., 2002b).

Se han observado resistencias de los agentes patógenos a los tratamientos químicos, como es el caso de la pérdida de eficacia de antiguos fungicidas como las dicarboximidas. La aparición de fungicidas de la familia de las anilino pirimidinas, cuyo modo de acción es inhibir la biosíntesis de metionina y la secreción de enzimas hidrolíticos, parecía abrir una nueva esperanza en el campo de los fungicidas postcosecha, pero análisis genéticos realizados a cepas aisladas de *Botrytis cinerea* han demostrado que también poseen cierta resistencia a los fungicidas anilino pirimidinas (Latorre et al., 2002). Las estrategias anti-resistencias incluyen una limitación en el número de aplicaciones por temporada y realizar tratamientos con mezclas de fungicidas cuyos modos de acción sean diferentes y provoquen una eficacia sinérgica (Forster y Staub, 1996). También existe una parte de la población que presenta alergia a los sulfitos resultantes tras realizar los tratamientos con SO_2 sobre las uvas, son los llamados sulfito-alérgicos (Crisosto et al., 1994) y en 1986 la Agencia de Protección Medioambiental de los Estados Unidos estableció como límite máximo de residuos en uva 10 ppm ($\mu g g^{-1}$) (EPA, 1986). Esta coyuntura ha promovido la búsqueda de medidas alternativas inofensivas para la salud humana y respetuosas con el medio ambiente (Schena



et al., 1999). Además se presenta un inconveniente técnico y es que el SO_2 resulta corrosivo para los metales, por lo que con el uso prolongado de este gas las instalaciones se ven perjudicadas.

Se han realizado estudios encaminados a optimizar la eficacia del SO_2 . En algunos casos se prueban distintas concentraciones y tiempos de permanencia del SO_2 en las cámaras frigoríficas para reducir la cantidad aplicada, cuando se realizan las fumigaciones las cajas de uvas más cercanas al emisor de gas reciben más cantidad que las más alejadas, esta distribución del tratamiento se debe al tipo de contenedor, a la posición de los ventiladores y a los canales de distribución de las corrientes de aire dentro de la cámara. Para conseguir un tratamiento eficaz contra *Botrytis cinerea* se debe alcanzar 100 ppm-h en los espacios de aire alrededor de las bayas de uva. Esto se puede conseguir con múltiples combinaciones de concentración-tiempo, p.ej. 100 ppm durante 1 hora, 200 ppm en 0.5 horas o 25 ppm durante 4 horas. En la práctica los tratamientos se realizan aplicando cierta cantidad de producto durante cierto periodo de tiempo. En un experimento se aplicó en tres contenedores similares 3 cantidades de SO_2 diferentes, 1, 0.5 y 0.25 lb (0.454, 0.227 y 0.113 kg) y se fue comprobando la concentración a lo largo del tiempo. Se determinó que con la cantidad de 0.5 lb se consiguió 360 ppm-h con lo que se obtuvo un balance apropiado entre control de podredumbres y minimización de fitotoxicidad y residuos (Crisosto et al., 2002b). Los residuos de fungicidas en las frutas es una cuestión muy importante para los consumidores y el conocimiento de los factores que participan en la degradación de los fungicidas está muy estudiado: especie cultivada, condiciones climáticas, especialmente lluvia y temperatura, causas físicas como volatilización del compuesto y degradación química (Marín et al., 2003).

También se ha investigado el efecto que algunos compuestos orgánicos con propiedades antifúngicas puedan ejercer para ayudar a reducir las dosis de SO_2 como son el trans-resveratrol un antioxidante sintetizado por frutas como la uva, el quitosán, derivado de la quitina, polisacárido que se encuentra en el exoesqueleto de diversos artrópodos, el hexanal y el hexenal, compuestos volátiles extraídos de los tejidos de las plantas y el timol, aceite esencial mayoritario del tomillo, *Thymus vulgaris*, (Montero et al., 2003; Romanazzi et al., 2002; Artés-Hernández et al., 2003; Uyttendaele et al., 2004). Hay microorganismos antagonistas al desarrollo de los hongos que

atacan la uva como *Acremonium cephalosporium*, *Aureobasidium pullulans*, *Brevibacillus subtilis*, *Candida guilliermondii*, *Candida olephila*, *Candida sake*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Pseudomonas syringae*, etc (Barbe et al., 2001; Schena et al., 1999; Zahavi et al., 2000; Schena et al., 2003; Spadaro y Gullino, 2004).

Otros tratamientos químicos que se han estudiado en uva son el cloro en forma gaseosa (Zoffoli et al., 1999), el ozono (Palou et al., 2002), el etanol (Lichter et al., 2002), el ácido acético (Moyle et al., 1996) y el ácido láctico (Uyttendaele et al., 2004). Así mismo también se están realizando tratamientos físicos como son choques hipobáricos (Romanazzi et al., 2001), inmersión en agua caliente (Karabulut et al., 2004), rociados con vapor de agua caliente (Lydakis y Aked, 2003a) y el uso de radiaciones electromagnéticas: ultravioletas (Nigro et al., 1998; Cantos et al., 2002a) y gammas (Al-Bachir, 1999; Ayed et al., 1999).





1.5. USO DE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES

1.5.1. Introducción

El deterioro de la calidad de los alimentos se debe en la mayoría de los casos a cambios físico-químicos o reacciones químicas, por lo que el envasado convencional no es suficiente para retrasar estos cambios. La estabilidad de un alimento está en función de los cambios que tienen lugar en los componentes de los alimentos, tales como proteínas, lípidos, carbohidratos y agua, debido a factores ambientales y de procesado (luz, humedad, temperatura, etc.) En este sentido, en los últimos años se han desarrollado barreras comestibles aplicadas como recubrimientos, cuyo papel protector durante el procesado, almacenamiento y manipulación, no sólo retrasa el deterioro de los alimentos sino también puede aumentar su calidad (Cha y Chinnan, 2004).

No obstante, el uso de recubrimientos comestibles en frutas no es algo nuevo, ya que durante los siglos XII y XIII la cera ya se usaba en cítricos en la cultura China, si bien no se conocía su papel (Park, 1999).

Los recubrimientos comestibles se definen como aquellas que contienen una materia prima de origen marino o agrícola y pueden clasificarse en 3 categorías (Petersen et al., 1999):

- Extraídos directamente de materias primas naturales, como almidón, celulosas y proteínas
- Producidos por síntesis química a partir de monómeros bioderivados
- Producidos por microorganismos

1.5.2. Efecto de la aplicación de recubrimientos

El efecto de la aplicación de recubrimientos comestibles a frutas y hortalizas va a depender de su naturaleza, composición, concentración o ingredientes, si bien los efectos más importantes están relacionados con reducir la pérdida de agua y con su propiedad antimicrobiana.

1.5.2.1. Efecto sobre la pérdida de agua

La principal aplicación de los recubrimientos comestibles es la de actuar de barrera y evitar así la pérdida de humedad del producto vegetal por evapotranspiración. De todos los recubrimientos estudiados, los de carácter hidrofóbico son los más eficaces frente a las pérdidas de agua. Así, derivados lipídicos de la leche poseen baja afinidad por el agua y por tanto tienen una permeabilidad reducida a la salida de vapor de agua (Morillon et al., 2002). Por el contrario, los derivados hidrofílicos tales como los basados en polisacáridos o proteínas poseen una buena permeabilidad selectiva a gases como CO_2 y O_2 , pero se consideran como pobres barreras frente al vapor de agua (Cha y Chinnan, 2004). El hecho de que sean selectivos al O_2 implica que la acción del O_2 exterior puede verse limitada, y por tanto conseguir un aumento de la vida útil de los productos a través de un menor proceso oxidativo. Con el objetivo de tener ambas funciones se están realizando formulaciones en las que se combinan compuestos hidrofílicos con hidrofóbicos (Brody, 2005).

1.5.2.2. Efecto antimicrobiano

La principal causa de deterioro de muchos alimentos se debe al crecimiento microbiano en la superficie. Por tanto, la incorporación de agentes microbianos en el proceso de envasado puede crear un ambiente dentro del envase que puede retrasar e incluso prevenir el crecimiento de microorganismos y por tanto conseguir un mayor periodo de vida útil y mejorar la seguridad del producto.

Así, se ha comprobado que algunos de estos polímeros comestibles poseen una actividad antimicrobiana natural y por tanto no necesitan la incorporación de ningún tipo de agente biocida (Park, 1999). Entre estos compuestos el quitosán (poli- β -1,4-glucosamina) ha sido el más utilizado (Shahidi et al., 1999). El quitosán es un polímero catiónico que aplicado a frutas y hortalizas retrasa o inhibe la degradación debida a la proliferación fúngica (Sebti et al., 2005), aunque también se ha comprobado que es eficaz frente a microorganismos de tipo bacteriano tanto en alimentos como en medio de cultivo (Rhoades y Roller, 2000). Se ha considerado que el quitosán es un compuesto no tóxico, biodegradable, biocompatible y seguro para su utilización en la industria alimentaria (Coma et al., 2002).



En el caso de uva de mesa, existen muy pocas indicaciones del uso de recubrimientos comestibles. Así se ha encontrado que la aplicación de quitosán a nivel de pre-recolección redujo significativamente la incidencia de podredumbres causadas por *Botrytis cinerea*, mientras que su aplicación post-recolección también mostró un efecto positivo en cuanto al menor porcentaje de bayas podridas, tanto de forma natural como inoculadas artificialmente (Romanazzi et al., 2002).



1.6. ALOE VERA GEL COMO RECUBRIMIENTO COMESTIBLE

1.6.1. Introducción

Diversas civilizaciones han conocido las propiedades del *Aloe* a lo largo de la Historia. Así, el dato más antiguo sobre el uso terapéutico del *Aloe* procede de Sumeria (Mesopotamia) donde se encontraron unas tablas de arcilla en la ciudad de Nippur que databan del s. XVIII a.C., y en las que se describen sus cualidades laxantes (Stevens, 2001). En los monumentos funerarios de Egipto existen referencias gráficas del *Aloe*, en el papiro de Ebers o Libro Egipcio de los Remedios (s. XVI a.C.) aparecen fórmulas medicinales que incluyen al *Aloe* como ingrediente de bálsamos para tratar el resfriado (Farelli, 2002). A partir de 1600 existe constancia de que comenzó la difusión del *Aloe* hacia Oriente gracias a los mercaderes árabes, llegando incluso a China (Dehin, 2000). En la Grecia del año 24 d. C., el médico griego Dioscórides en su gran obra *De Materia Médica*, incluía una descripción detallada del *Aloe*, así como los efectos beneficiosos de su uso y cómo reconocer las falsificaciones, que ya se producían en aquella época (García, 1998). El médico y alquimista Paracelso, en su obra *Botánica Oculta* (1529) incluía las propiedades del *Aloe* como método de cura para las quemaduras y envenenamientos de la sangre, aparte de los conocidos como purgante y contra la caída del cabello (Lluesma, 1999). El sueco Carl von Linneo (1707-1778), padre de la taxonomía moderna, describió miles de plantas entre las que se incluyen algunas especies del género *Aloe*, y más concretamente *Aloe vera* (Linneo, 1957).

1.6.2. Propiedades terapéuticas de *Aloe vera* gel

En una reciente revisión (Reynolds y Dweck, 1999) se han descrito las propiedades terapéuticas del gel de *Aloe vera*, tanto por aplicación tópica como tras la ingestión oral. Los efectos más relevantes son: aliviador de quemaduras e incisiones, contra la generación de edemas y contra la artritis, pero sobre todo su acción anti-inflamatoria ha sido una de las más estudiadas. Otras acciones de elevada importancia son como anti-ulceroso, anti-diabético, y recientemente como agente anti-cáncer y anti-VIH.

1.6.3. Composición química del *Aloe vera*

El gel de *Aloe vera* contiene dos fuentes líquidas principales: un látex amarillento (exudado) y un gel claro (mucilago). El látex amarillo está compuesto principalmente por derivados de antraquininas (Aloína y Aloe-emodina) (Imágenes 2 y 3) y compuestos fenólicos, mientras que el gel mucilaginoso contiene fundamentalmente polisacáridos de tipo glucomanano, manano, glucano, arabinogalactano y galactoglucoarabinomanano, así como las formas acetiladas (Reynolds y Dweck, 1999).

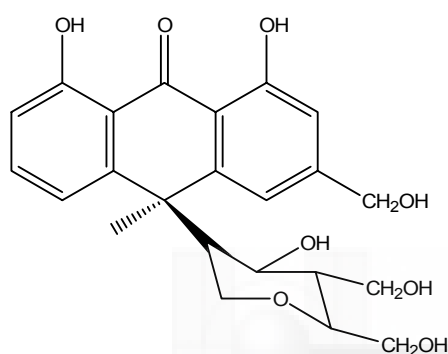


Imagen 2: Estructura química de Aloína

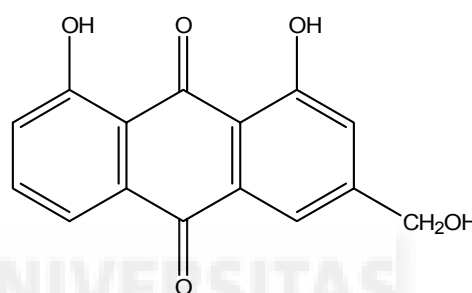


Imagen 3: Estructura química de Aloe-emodina

1.6.4. Uso del *Aloe vera* en la industria alimentaria

En los últimos años se está prestando especial importancia al uso del *Aloe vera* en la industria de alimentos (Eshun y He, 2004), como fuente de alimentos funcionales, especialmente en la preparación de bebidas saludables, en leche, helados y golosinas. Muy recientemente se ha establecido un protocolo de obtención y procesado de *Aloe vera* gel con el fin de garantizar la calidad y seguridad, y evitar así mismo el fraude en este tipo de producto (He et al., 2005).

Nuestro Grupo de Investigación ha registrado la Patente para el uso de *Aloe vera* como recubrimiento de frutas y hortalizas (Martínez-Romero et al., 2003b).

1.7. ATMÓSFERAS MODIFICADAS

1.7.1. Introducción

El envasado en atmósferas modificadas emergió de empresas comerciales con una pequeña colaboración académica. Se desarrolló en los últimos años de la década de los 50 sin ningún diálogo abierto y sin investigaciones científicas, sin embargo hoy día posee igual importancia que la esterilización y el envasado aséptico en los países industrializados. Es a partir del año 1980 cuando aparece un amplio conocimiento del envasado en atmósferas modificadas, controladas y a vacío.

Los primeros trabajos se deben a Kidd y West en el Reino Unido, los cuales observaron que concentraciones elevadas de dióxido de carbono (CO_2) ocasionaban una disminución de la velocidad de crecimiento microbiano, y por tanto este gas podía ser aplicado para ampliar la vida útil de manzanas (Kidd y West, 1930). Este hallazgo científico se aplicó en la práctica en las décadas de 1920-1930 para el transporte de canales de vacuno y ovino en barco, empleando nieve carbónica para elevar la concentración de CO_2 .

En la década de 1930, Smock de la Universidad de Cornell, observó que el aumento de la concentración de CO_2 y la disminución en la concentración de O_2 en cámaras donde se almacenaban manzanas era un método que prolongaba eficazmente la retención de la calidad de estos frutos (Brody, 1996).

Durante la década de 1940-1950, se construyeron almacenes sellados que pudieran mantener la atmósfera modificada de productos vegetales bajo refrigeración. Las cámaras no se abrían hasta que el operador del almacén disponía de un mercado para distribuir el producto a un precio elevado que pudiera rentabilizar la apertura de la cámara.

En 1957, un equipo de Whirlpool Corporation observó que un quemador a gas que utilizaba en la combustión un hidrocarburo generaba CO_2 y vapor de agua. Se utilizó la atmósfera de una cámara donde se almacenaba el alimento para la combustión generándose una nueva "atmósfera" que al introducirse de nuevo en la cámara podría prolongar la "vida útil" del producto almacenado. En 1962 se denominó como TECTROL (Total Environment Control) a la puesta en



práctica del sistema de atmósferas controladas en los almacenes de manzanas y peras. En esta misma década, los tecnólogos de Cryovac desarrollaron plásticos barrera para la comercialización de la carne, concretamente carne roja, la cual mantenía el color durante el almacenamiento prolongado.

En el año 1970, el Dr. Adel Kader constataba más de 3000 publicaciones que trataban científica y tecnológicamente el efecto de la modificación de la atmósfera gaseosa en la conservación de los productos hortofrutícolas, siendo en la actualidad del orden 30000.

1.7.2. Concepto

Para prolongar la supervivencia de las frutas y hortalizas después de la recolección es necesario frenar su metabolismo y retrasar la maduración y senescencia. Las frutas y hortalizas continúan viviendo después de la recolección, lo que se manifiesta en los fenómenos respiratorios y de transpiración, así como en los procesos vegetativos de crecimiento, maduración y senescencia. Esta actividad vital se advierte en una serie de cambios: pérdida de firmeza, variaciones de color, sabor, aroma, etc., que suceden como consecuencia de las reacciones bioquímicas que tienen lugar entre sus componentes. Para toda esta actividad se precisa aporte de energía para que se desarrolle el conjunto de reacciones que determinan la maduración, que se obtiene mediante la respiración.

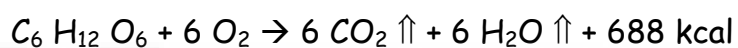
Atendiendo a los factores que controlan la respiración y transpiración de las frutas y hortalizas, como fenómenos fundamentales de la maduración, se deducen las actuaciones más convenientes para frenarla y prolongar su vida comercial: utilización de bajas temperaturas (evitando la congelación y los daños por frío), elevada humedad relativa (evitando la condensación de agua sobre el producto) y una adecuada renovación del aire. La conservación por refrigeración, se puede optimizar, ya que dentro de ciertos límites, es posible regular el metabolismo controlando la proporción en la que intervienen los gases de importancia fisiológica en la atmósfera que rodea el órgano vegetal recolectado.

La **atmósfera modificada** consiste en envolver una cierta cantidad de frutas u hortalizas en un plástico con una determinada permeabilidad a los



gases, de manera que la actividad respiratoria del producto ocasione una variación del entorno gaseoso, fundamentalmente descenso de la concentración de oxígeno y aumento en la de dióxido de carbono y vapor de agua. Para conseguir ésto, es necesario el uso de polímeros plásticos de dimensiones reducidas y selectivamente permeables a los gases del aire, y que el envase se encuentre cerrado herméticamente. El material de envasado y el propio envase permiten la difusión del O_2 , del CO_2 y del vapor de H_2O , de modo que pueden producirse cambios adicionales en la atmósfera.

La respiración, que consiste en el proceso de oxidación biológica de substratos orgánicos con liberación de energía, se caracteriza por el consumo de O_2 y el desprendimiento de CO_2 y, si consideramos como substrato la glucosa, se puede representar esquemáticamente así:



Los envases que contienen alimentos en atmósferas modificadas son sistemas dinámicos en los que se producen de forma simultánea la respiración del producto y el intercambio gaseoso entre el interior del envase y el medio externo a través del film (Prince, 1996).

Se sabe que la masa del producto, su estado de madurez, la temperatura, las presiones parciales de O_2 y CO_2 , los niveles de etileno y la intensidad de la luz afectan a la respiración neta del producto envasado, mientras que el tipo de material, su grosor y área, así como la temperatura, humedad relativa y los gradientes de las presiones parciales de O_2 y CO_2 a través de la película plástica que forma el envase, afectan a la permeabilidad. En efecto, puede conservarse mejor la calidad inicial de gran número de productos vegetales (y de otros productos perecederos como carnes, pescados, quesos, pan, pastelería, pastas, etc.) sometidos a refrigeración, disponiendo en el ambiente de conservación una atmósfera con bajas concentraciones de O_2 y elevadas de CO_2 (Brody, 1996; Pretel et al., 1996).

Todos los factores interactúan generando unas concentraciones de O_2 y CO_2 de equilibrio en el interior del envase herméticamente cerrado. El equilibrio de la atmósfera en el interior del envase se define como el punto en el que las velocidades de generación de CO_2 y consumo de O_2 por el producto



envasado se igualan con las velocidades de difusión de estos gases a través de las paredes del envase a una temperatura dada. Un envase mal diseñado puede llegar a generar una atmósfera anaerobia o que se alcancen niveles de CO_2 demasiado altas (Zagory y Kader, 1988; Beaudry, 1999; 2000; Watkins, 2000), lo que conferiría sabores y olores desagradables e incrementaría el riesgo de proliferación de microorganismos anaerobios, algunos tan perjudiciales como el *Clostridium botulinum*. Por lo tanto, para cada producto vegetal es necesario seleccionar el plástico más apropiado para generar la atmósfera óptima para su conservación, por lo que se están realizando innovaciones en el desarrollo de nuevos plásticos de permeabilidad selectiva (Lange, 2000).

1.7.3. Efectos beneficiosos

El uso adecuado de la atmósfera modificada generalmente coadyuva al empleo de la refrigeración, obteniéndose uno o más de los siguientes beneficios:

- Descenso de la actividad respiratoria y por tanto, de la velocidad de deterioro del órgano vegetal. La reducción de la concentración de O_2 disminuye la posibilidad de reacción entre el sustrato respiratorio y el O_2 , lo que reduce el deterioro. Por su parte, el aumento de la concentración de CO_2 también frena o inhibe la respiración mitocondrial (González-Meler et al., 1996).
- Retraso de la maduración y senescencia, frenando los cambios fisiológicos y bioquímicos y en particular la actividad respiratoria y la emisión de etileno (Pretel et al., 1993; 1999), así como limitando el ablandamiento y la alteración de la composición y valor nutritivo. En particular llega a inhibir tan importantes reacciones como la degradación de clorofilas, el desarrollo de antocianos, la biosíntesis de carotenoides, la actividad PG, la pérdida de acidez y las pérdidas de vitaminas A y C (Zerbini et al., 2002; Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2003).
- Disminución de la incidencia y severidad de los daños por el frío en diversos vegetales. Bajo atmósfera modificada se reduce el picado y escaldadura en diversos frutos (Retamales et al., 2000; Serrano et al., 1997; 1999).

INTRODUCCIÓN

- Reducción de las dosis de ciertos tratamientos químicos en la post-recolección, como fungicidas contra *Botrytis cinerea* (en fresa, fresón, cereza y otros frutos) ya que este hongo se puede controlar mediante CO₂ a concentraciones superiores al 10-15%, al actuar sobre el patógeno por efecto directo o indirecto (Tian et al., 2001; Crisosto et al., 2002a; Spotts et al., 2002).





1.8. ACEITES ESENCIALES

1.8.1. Introducción

Se estima que en la Tierra hay sobre 500000 especies de plantas, si bien un porcentaje relativamente pequeño se usa en el campo de la alimentación (Borris, 1996), y un número aún más reducido se usan por sus propiedades medicinales (Moerman, 1996). A finales del s. V a.C. Hipócrates ya mencionaba unas 400 plantas medicinales, pero fue en el s. I d.C. cuando Dioscórides escribió un catálogo de plantas medicinales, *De Materia Medica*, que se considera el prototipo de las farmacopeas modernas.

Dentro de estas plantas medicinales se incluyen las especias, que han sido utilizadas desde la antigüedad debido a que en su composición presentan compuestos químicos con propiedades conservantes y saborizantes, entre los que se encuentran los aceites esenciales.

El término de aceite esencial se cree que deriva del nombre acuñado en el siglo XVI por el reformador de la medicina Suiza Paracelsus von Hohenheim, el cual denominó así al componente efectivo de una droga llamada *Quinta essentia* (Guenther, 1948). De un modo estimado se conocen unos 3000 diferentes aceites esenciales de los cuales sólo 300 tienen importancia a nivel comercial, destinados principalmente al mercado de aromatizantes y fragancias (Burt, 2004).

Los aceites esenciales, o también llamados aceites volátiles, son líquidos oleosos aromáticos que se obtienen de diferentes órganos vegetales: flores, yemas, semillas, hojas, tallos, frutos y raíces. Los aceites esenciales pueden extraerse por expresión, fermentación o extracción, si bien el método más ampliamente usado para la producción comercial de aceites esenciales es la destilación. De hecho, la destilación como método de producción de aceites esenciales se usaba hace 2000 años en Egipto, aunque el primer manuscrito que describe el proceso de destilación se atribuye al médico catalán Villanova que data del año 1250 (Guenther, 1948).

Se conoce desde hace algunos años que algunos aceites esenciales poseen propiedades antimicrobianas así como las especias de donde proceden



(Shelef, 1983; Kim et al., 1995), si bien el reciente aumento en el interés del consumismo "verde" ha conllevado a un resurgimiento en el estudio científico de estas sustancias, ya que los consumidores desean cada vez menos el uso de aditivos alimentarios sintéticos que tienen un fuerte impacto en el ambiente. No obstante, la Organización Mundial de la Salud en un estudio reciente ha estimulado a reducir las infecciones causadas por los alimentos a través de una reducción o eliminación efectiva de los patógenos presentes en los alimentos mediante la combinación de métodos clásicos de conservación junto con las nuevas tecnologías (WHO, 2002), entre las que se encontrarían los aceites esenciales.

1.8.2. Clasificación y características de los aceites esenciales

Las plantas tienen una capacidad casi sin límites para sintetizar sustancias aromáticas, la mayoría de las cuales son fenoles o derivados fenólicos (polifenoles, flavonas, flavonoides, flavonoles y taninos), y terpenoides, entre otros. Estos compuestos se consideran metabolitos secundarios y en muchos casos sirven como mecanismo de defensa de las plantas frente a depredadores tales como microorganismos e insectos. A continuación se van a comentar solamente dos grupos, los fenoles y los terpenoides.

1.8.2.1. Fenoles simples

Algunos de los compuestos fitoquímicos bioactivos consisten en un anillo fenólico con diferentes sustituciones o radicales, entre los que se encuentran el ácido caféico como representante más importante, el cual se ha descrito que posee actividad antibacteriana, antifúngica y antiviral, así como las plantas que lo contienen (Cowan, 1999). Además, se ha postulado que los sitios y número de grupos hidroxilo sobre el grupo fenol están relacionados con su relativa toxicidad a los microorganismos, de tal forma que a mayor número de grupos -OH se incrementa la toxicidad. Así mismo, se ha relacionado una mayor capacidad inhibitoria para aquellos fenoles altamente oxidados.



Se piensa que el mecanismo responsable de la toxicidad de los fenoles a los microorganismos incluye la inhibición enzimática por parte de los compuestos oxidados a través de la reacción con grupos -SH o bien a interacciones no específicas con las proteínas (Mason y Wasserman, 1987). Así mismo, se ha descrito que los compuestos fenólicos tienen una mayor actividad frente a microorganismos Gram + que a bacterias Gram - (Holley y Patel, 2005).

Por otra parte, compuestos fenólicos que poseen un radical de cadena C_3 con un bajo nivel de oxidación y sin la presencia de oxígeno se consideran aceites esenciales con propiedades antimicrobianas. Dentro de este grupo se incluye como mayor representante el **Eugenol**, aceite esencial de clavo considerado como bacteriostático frente a hongos y bacterias (Duke, 1985).

1.8.2.2. Terpenoides

Este grupo de compuestos comprenden metabolitos secundarios derivados de la estructura del isopreno ($C_{10}H_{16}$) y se denominan de forma general como terpenos, existiendo diterpenos, triterpenos y tetraterpenos (C_{20} , C_{30} y C_{40}), así como hemiterpenos (C_5) y sesquiterpenos (C_{15}). Cuando los compuestos contienen elementos adicionales, generalmente oxígeno, se denominan terpenoides y algunos forman parte de los aceites esenciales. Se encuentra bien documentado que los terpenoides son activos frente a bacterias (Amaral et al., 1998), hongos (Rana et al., 1997) y virus como el del SIDA (Xu et al., 1996). El mecanismo de acción de los terpenos no se conoce totalmente, pero se ha especulado una disrupción de la membrana plasmática por los compuestos lipofílicos, de tal forma que a medida que se aumenta el carácter hidrofílico por la adición de grupos metilo se reduce drásticamente la actividad antimicrobiana (Mendoza et al., 1997). De forma interesante, se ha encontrado que los terpenoides presentes en los aceites esenciales son eficaces en el control de *Listeria monocytogenes* (Aureli et al., 1992).

Dentro del grupo de los monoterpenos se encuentran el **Mentol** y el **Timol**, componentes de los aceites esenciales de menta y tomillo, entre otros y que también se ha descrito que poseen actividad antimicrobiana (Burt, 2004), tanto *in vitro* como en alimentos de diferente naturaleza, tales como carnes,

pescados, productos de panadería y vegetales (Holley y Patel, 2005), y tanto frente a microorganismos de tipo bacteriano como de tipo fúngico.

1.8.3. Eugenol

El eugenol, (2-alil-4-metoxi fenol), es el componente mayoritario del aceite esencial de diferentes plantas como clavo (*Syzygium sp.*, Lee y Shibamoto, 2001) y albahaca (*Ocimum sp.*, Jirovetz et al., 2003) con porcentajes que oscilan entre el 60 y el 85% según la especie y variedad (Imagen 4 y Fotografía 5).

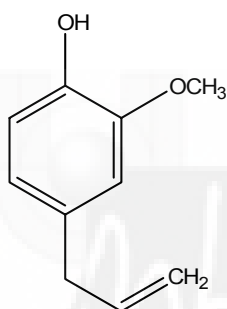


Imagen 4: Estructura química del Eugenol.



Fotografía 5: Flores del clavo.

1.8.4. Timol

El timol es un producto natural extraído de la planta aromática llamada tomillo perteneciente al género *Thymus sp.* (Imagen 5 y Fotografía 6). Otra fuente importante de timol es el orégano (*Origanum sp.*, Kulisic et al., 2004). Estas plantas son tradicionalmente muy utilizadas en la cocina mediterránea, en guisos de carne de aves aromatizados, como estofados y en empanadas, también en salsas y alimentos preparados.

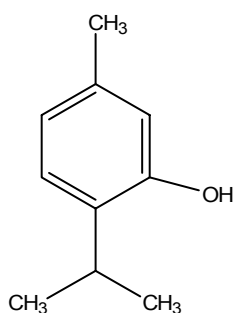


Imagen 5. Estructura química del Timol.



Fotografía 6: Planta de tomillo.

El tomillo contiene del 0.8 al 2% de un aceite volátil cuyos principales componentes son los fenoles timol y carvacrol, que suponen del 7 al 40% del aceite. Otros componentes importantes son: *p*-cimeno y los alcoholes terpénicos linalool, geraniol y borneol. El hecho de que predomine uno u otro componente depende del cultivar así como de las diferentes especies autóctonas (Ložienè et al., 2003). Así mismo, el proceso de extracción influye en la composición y características sensoriales de los extractos aromáticos, siendo los procedimientos más utilizados la destilación y la extracción con fluidos supercríticos (Moldão-Martins et al., 2002).

1.8.5 Mentol

El mentol es un compuesto que se encuentra de forma natural en especies de *Mentha* (Imagen 6 y Fotografía 7), y es el responsable del típico aroma y sabor mentolado de estas plantas (Ruíz del Castillo et al., 2004). El mentol es un terpenol cíclico con 3 átomos de carbono asimétricos, siendo el isómero (–)-mentol el que se encuentra más ampliamente distribuido en la naturaleza y responsable de la acción (Galeotti et al., 2002).

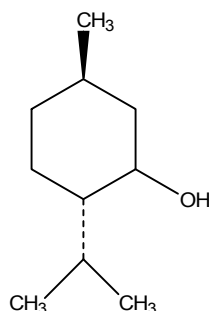


Imagen 6. Estructura química del Mentol.



Fotografía 7: Planta de Menta.

1.8.6. Propiedades antioxidantes

La mayoría de los aceites esenciales comentados anteriormente (timol, carvacrol y mentol) son obtenidos de plantas que pertenecen a la familia *Lamiaceae*, y por tanto exhiben unas propiedades funcionales muy similares. Esta familia se caracteriza por poseer una actividad antioxidante muy significativa (Tsimidou y Boskou, 1994) y por tanto un interés creciente en los últimos años. De forma análoga, el eugenol se obtiene de plantas pertenecientes a la familia *Mirtaceae* que posee también interés como fuente de compuestos antioxidantes (Lee y Shibamoto, 2001). Se ha postulado que esta capacidad antioxidante se debe a la presencia de grupos hidroxilo en los compuestos fenólicos (Shahidi et al., 1992). Estos antioxidantes son bastante eficaces en contrarrestar la peroxidación lipídica, bien reduciendo concentraciones de oxígeno, atrapando los radicales libres o uniéndose a catalizadores (metales iónicos) previniendo la cadena de generación de radicales (Dorman et al., 2003).

En el caso del orégano, tras el análisis de su composición química se ha demostrado que la fracción que contiene timol y carvacrol, en forma libre o unidos a compuestos glucosídicos, exhibe un potente efecto antioxidante retrasando el proceso de peroxidación lipídica en alimentos ricos en grasas (Milos et al., 2000), cuya actividad es inferior a la del α -tocoferol o BHT pero superior a la del ácido ascórbico (Kulisic et al., 2004).

Se ha comprobado que el extracto de clavo, que se obtiene de botones florales desecados, posee actividad antioxidante debido al elevado contenido en eugenol y acetato de eugenilo, si bien su actividad no es tan fuerte como la del α -tocoferol o BHT (Lee y Shibamoto, 2001).



Por lo que respecta al tomillo, se ha visto que el aceite esencial posee propiedades antioxidantes en el proceso de autooxidación de lípidos, así como un cierto efecto en inhibir la oxidación de lipoproteínas de baja densidad LDL (Teissedre y Waterhouse, 2000). Recientemente se ha postulado que los componentes principales del tomillo exhiben una capacidad antioxidante comparable a la del α -tocoferol o BHT (Lee et al., 2005). En un estudio reciente comparativo en el que se ha evaluado las propiedades antioxidantes y antirradicales de 11 aceites esenciales se ha confirmado que el aceite esencial de *Thymus vulgaris* es el más potente (Sacchetti et al., 2005).

Los extractos de menta también se han descrito como potentes inhibidores de la peroxidación del ácido linoléico y atrapadores de radicales libres, especialmente cuando son utilizados en forma fresca pero menores a los de orégano, mientras que el proceso de secado conlleva a una reducción de la actividad antioxidante (Capecka et al., 2005).

1.8.7. Propiedades antimicrobianas

La mayoría de las especias ejercen una actividad antimicrobiana debido a que en su composición presentan una fracción de aceites esenciales. Así, los aceites esenciales de orégano, tomillo, clavo, menta, ajo, cebolla y romero, entre otros, presentan actividad antimicrobiana frente a bacterias y hongos (Nychas, 1995).

Los mecanismos por los que los microorganismos son inhibidos por los aceites esenciales parece ser que implican diferentes modos de acción. Así, los aceites esenciales fenólicos afectan a la bicapa de fosfolípidos de la membrana celular provocando un incremento de la permeabilidad y una salida de electrolitos intracelulares vitales para la supervivencia de las bacterias, o bien afectando a los sistemas enzimáticos (Moreira et al., 2005).

A continuación se exponen algunos ejemplos del papel de los aceites esenciales en los que se ha puesto de manifiesto su actividad antibacteriana y antifúngica.

1.8.7.1. Actividad antibacteriana

La adición de eugenol a medios de cultivo con *Listeria monocytogenes* produjo una rápida inhibición del crecimiento a través de una reducción de la absorción o utilización de la glucosa por parte del microorganismo así como por su efecto sobre la permeabilidad de la membrana (Gill y Holley, 2004).

El carvacrol fue efectivo en reducir de forma exponencial el número de células viables de *Bacillus cereus* interaccionando con la membrana y cambiando la permeabilidad de cationes como H^+ y K^+ , llevando a la muerte celular (Ultee et al., 1999), y además se ha descrito que el grupo hidroxilo del fenol es esencial para llevar a cabo la actividad bactericida contra este microorganismo (Ultee et al., 2002). Para este microorganismo patógeno, la combinación de timol y cimeno fue muy efectiva frente al crecimiento vegetativo (Delgado et al., 2004a, 2005), así como carvacrol y cimeno frente *L. monocytogenes* (Periago et al., 2004), por lo que se sugiere que la combinación de dos aceites esenciales puede ser más efectiva (Delgado et al., 2004b).

De forma análoga, el timol y carvacrol fueron muy efectivos en reducir la contaminación de *Shigella sp.* cuando fueron adicionados en el agua de lavado durante el procesado de lechuga (Bagamboula et al., 2004), por lo que podrían ser una alternativa al uso del cloro como agente desinfectante. Otros microorganismos patógenos como *Escherichia coli* O157:H7 y *Salmonella enterica* también son afectados por los aceites esenciales, comprobándose que de los 17 ensayados las mayores actividades se obtuvieron para carvacrol, aceite de orégano, geraniol y eugenol (Friedman et al., 2004).

1.8.7.2. Actividad antifúngica

Los aceites esenciales de orégano y tomillo fueron altamente eficaces en inhibir completamente el crecimiento de *Botrytis cinerea* y *Fusarium sp.* sobre medio de cultivo artificial, siendo el timol y carvacrol los responsables de esta acción antifúngica, si bien el efecto sinérgico de otros componentes en menor porcentaje también podría contribuir a la acción de estos aceites esenciales (Daferera et al., 2003).



Así mismo, el aceite esencial de tomillo no sólo inhibió el desarrollo del hongo *Aspergillus parasiticus*, sino también la generación de aflatoxina B1, la cual se considera uno de los agentes químicos con una elevada actividad carcinogénica, por lo que el timol es capaz de destruir el micelio y las esporas de este hongo tóxico (Rasooli y Abyaneh, 2004). Se ha postulado que el eugenol posee acción antiaflatoxigénica sin necesidad de inhibir el crecimiento de *A. parasiticus* a través de la inhibición de los pasos ternarios de la biosíntesis de aflatoxinas que afectan a la peroxidación lipídica y la oxigenación (Jayashree y Subramanyam, 1999). En otra especie del género *Aspergillus* (*A. flavus*), la evaluación de la dosis-respuesta de diferentes aceites esenciales y fungicidas sintéticos mostró que los compuestos más activos en inhibir el crecimiento fueron por este orden timol, eugenol, carvacrol y a continuación los compuestos químicos sorbato potásico y benzoato sódico (López-Malo et al., 2002), por lo que pueden considerarse alternativas al uso de fungicidas sintéticos. De forma análoga, el eugenol y timol inhibieron tanto el desarrollo de *Penicillium citrinum* como la toxina citrinina, si bien el efecto fue solamente significativo cuando la concentración en el medio de cultivo era de 100 µg/mL y no afectándose para concentraciones inferiores (Vázquez et al., 2001).

Por lo que respecta a la menta, su aceite esencial ha mostrado tener una elevada actividad inhibiendo el crecimiento de hongos como *Aspergillus* sp. y *Fusarium* sp., que son patógenos típicos de los productos vegetales, siendo el responsable de dicha actividad el mentol (componente mayoritario) junto con la acción sinérgica de otros componentes menores como mentona (İşcan et al., 2002).

Finalmente, por lo que respecta a las levaduras, éstas fueron muy susceptibles al extracto de clavo (Arora y Kaur, 1999), mientras que timol y eugenol indujeron una alteración de la membrana plasmática y de la pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* que llevó a la muerte por una lisis celular (Bennis et al., 2004). Estos mismos autores comprobaron que la eficacia del eugenol y timol era dependiente de la fase de proliferación en la que se encontraban las levaduras, siendo más efectivos en la fase de crecimiento exponencial que en el inicio del cultivo.

1.8.8. Propiedades farmacológicas

La administración de forma oral o tópica de los aceites esenciales comentados, o de sus componentes fundamentales, ha mostrado tener eficacia frente a una serie de enfermedades, y por tanto, poseen acción farmacológica que es bien conocida desde la antigüedad.

Así el uso oral del clavo ha mostrado ser eficaz contra el asma y desórdenes alérgicos, así como anticarcinogénicos (Zheng et al., 1992; Kim et al., 1998). Así mismo, tiene actividad expectorante, anti-emético y anti-flatulento (Raina et al., 2001), mientras que el eugenol ha sido catalogado como un potente antiviral frente a herpesvirus, tanto en cultivo *in vitro* como *in vivo* (Benencia y Courrèges, 2000).

El tomillo ha sido caracterizado por poseer efectos carminativos (Lee et al., 2005).

El orégano tiene propiedades carminativas, antiespasmódicas, diaforéticas y diuréticas, mientras que en forma de infusión se le ha atribuido actividad anti-hemorrágica, frente a úlceras gástricas, aliviador de heridas y estimulante del sistema nervioso central (Vági et al., 2005).

La menta exhibe acciones farmacológicas como anti-inflamatorio, analgésico, anti-prurítico, anti-espástico, broncolítico, colerético, colagogo y estimulante del sistema nervioso central (Galeotti et al., 2002; Ruíz del Castillo et al., 2004).

1.8.9. Aspectos legales

La Comisión Europea ha registrado un número de aceites esenciales y sus componentes para el uso como aromatizantes y saborizantes en productos alimentarios, los cuales son considerados como productos sin riesgos para la salud de los consumidores. Entre estos compuestos se incluyen carvacrol, eugenol, mentol y timol, así como aldehído cinámico (canela), citral y *p*-cimeno (CD 23 Enero 2002, CE).



El listado de la Unión Europea también aparece en la lista EAFUS (Everything Added to Food in the US) tras la inclusión de éstos como compuestos GRAS (generally recognised as safe) por la FDA.

En un estudio reciente, se ha realizado un procedimiento para evaluar la seguridad de estos aromatizantes naturales y sus aceites esenciales (Smith et al., 2005), y se confirma que tanto eugenol como timol y mentol se consideran compuestos totalmente seguros.





1.9. ENVASADO ACTIVO

El envasado de alimentos siempre ha estado enfocado hacia el uso de materiales para envase apropiados y métodos que minimicen las pérdidas de calidad proporcionando un medio seguro. Además, durante la última década el consumidor prefiere productos alimentarios de elevada calidad y casi frescos, por lo que el uso de nuevas tecnologías de envasado ha de cumplir con estos requisitos, junto con evitar los problemas de residuos que afecten al medioambiente.

Tradicionalmente, las funciones básicas del envasado de alimentos han sido cuatro: protección, comunicación, conveniencia y contenedor (Robertson, 1993). El estudio de estas funciones ha permitido en gran medida el desarrollo de los sistemas de distribución de alimentos. No obstante, con la introducción y la demanda cada vez más numerosa de productos frescos refrigerados o mínimamente procesados, el uso restringido de aditivos, el creciente número de requerimientos legales y la globalización de los mercados, ha sido necesario incrementar las funciones del envasado, llevando hoy día a la disponibilidad de un envasado "inteligente" (Yam et al., 2005).

El envasado activo se define como un sistema inteligente o adecuado que conlleva a interacciones entre el envase o componentes de éste y el alimento o la atmósfera interna gaseosa y que cumpla con la demanda del consumidor hacia un producto fresco, seguro y de calidad (Ozdemir y Floros, 2004).

El envasado activo extiende la vida útil de los alimentos y al mismo tiempo mantiene la calidad nutritiva, inhibiendo el crecimiento de microorganismos patógenos y de descomposición garantizando la seguridad alimentaria (Rooney, 1995). Así, todas las tecnologías de envasado activo implican la acción física, química o biológica para facilitar la interacción entre el material de envasado y el alimento.

Una clasificación reciente de los distintos sistemas de envasado activo sería (Ozdemir y Floros, 2004):

- ✓ Atrapadores de oxígeno
- ✓ Atrapadores y emisores de dióxido de carbono



- ✓ Atrapadores de humedad
- ✓ Absorbedores de etileno
- ✓ Emisores de etanol
- ✓ Sistemas absorbedores/liberadores de aromas
- ✓ Indicadores tiempo-temperatura

No obstante, de forma muy reciente, se ha dedicado una gran atención a la función antimicrobiana del envasado, apareciendo así el concepto de envasado activo antimicrobiano. Con este sistema se consigue reducir, inhibir o retrasar el crecimiento de microorganismos que pueden estar presentes en el alimento o en el propio material de envasado (Cutter, 2002).

El envasado activo antimicrobiano puede llevarse a cabo a través de diferentes formas y/o dispositivos (Appendini y Hotchkiss, 2002):

- Incorporación de agentes antimicrobianos volátiles y no-volátiles directamente en los polímeros plásticos
- Recubrimiento o absorción de antimicrobianos en la superficie de los polímeros
- Inmovilización de los antimicrobianos en los polímeros a través de uniones iónicas o covalentes
- Uso de polímeros, que de forma natural poseen propiedades antimicrobianas
- Adición de saquitos o telas que contienen agentes antimicrobianos volátiles en el interior de los envases

En la presente Tesis Doctoral se ha utilizado este último sistema, es decir la incorporación de aceites esenciales naturales impregnados sobre gasas de tela para depositarlos en el interior de los envases.

2. OBJETIVOS

La apertura de los mercados ha permitido la actividad de numerosas empresas y cooperativas hortofrutícolas que rivalizan en la comercialización de estos productos, y que han alcanzado una interesante participación en los mercados europeos. Al incrementarse la competencia de productos similares procedentes del área mediterránea y del hemisferio sur, se hace cada vez más difícil aumentar, e incluso mantener, la cuota de mercado alcanzada, destacándose como requisito imprescindible la oferta de productos con garantías de calidad, y en consecuencia la continua mejora en los sistemas de manipulación, envasado y presentación de los productos vegetales en fresco.

La **calidad** se ha convertido en un instrumento de competitividad y un objetivo de primera línea en cualquier actividad económica. La producción hortofrutícola no es ninguna excepción y precisa organizarse y comprometerse en el **reto de la mejora** continua de sus productos y los procesos de producción y acondicionamiento de frutas y hortalizas.

Hoy en día nos encontramos inmersos en un cambio en el concepto de alimento y en nuestra forma de alimentarnos. De hecho, además de las propiedades nutritivas y sensoriales de los alimentos se está reconociendo el papel que pueden tener los **alimentos** actuando como **agentes protectores de la salud**, debido fundamentalmente a su contenido en compuestos con propiedades antioxidantes, como vitaminas C, E y A, carotenoides, flavonoides y otros compuestos fenólicos, fibra y otros compuestos bioactivos.

El consumo de frutas frescas ha venido sufriendo un descenso en la última década, lo que ha conducido, entre otras actuaciones, a crear la asociación "5 al día", en la que científicos y productores se han unido para difundir y promocionar el consumo de 5 piezas de frutas y hortalizas al día para una dieta saludable. Sin embargo, hay que tener en cuenta que el nivel de los compuestos funcionales disminuye durante la maduración y tras la recolección, dependiendo de numerosos factores, entre los que se incluyen las condiciones de procesado y conservación.

En la sociedad actual las frutas y las hortalizas están expuestas a una larga cadena de procesos que se inician con la separación de la planta y acaban en los platos de los consumidores. La uva de mesa es recolectada manualmente,

transportada hasta la industria y envasada. Todos estos pasos van a afectar a la calidad final del producto. La investigación en post-recolección debe ir encaminada a mantener la calidad y seguridad de los frutos y minimizar las pérdidas entre las fases de producción y consumo.

La uva de mesa es un fruto muy apreciado por los consumidores y su producción en España se concentra en el arco Mediterráneo con un 60% del total. No obstante es un fruto que presenta una elevada tasa de deterioro y es muy sensible a podredumbres, principalmente debidas al desarrollo de *Botrytis cinerea*, lo que determina que tenga una vida útil post-recolección muy reducida, que en muchas ocasiones no es suficiente para su comercialización y venta a países relativamente lejanos de los puntos de producción.

En este sentido, se hace necesario aportar nuevas soluciones a esta problemática, por lo que esta **Tesis Doctoral** presenta como **Objetivo General** "Reducir la pérdida de calidad de uva de mesa durante las etapa de conservación post-recolección".

Este objetivo general se ha desglosado en los siguientes **Objetivos parciales**:

- 1) Analizar el efecto de un nuevo recubrimiento comestible basado en gel de *Aloe vera* durante la conservación en condiciones de refrigeración y posterior estudio de vida útil a 20°C.
- 2) Determinar la efectividad de diferentes aceites esenciales sobre el crecimiento de *Botrytis cinerea in vitro* sobre placas de PDA así como su desarrollo tras la inoculación en uvas.
- 3) Comprobar si la adición de aceites esenciales (mentol, timol y eugenol) mejoran la efectividad de la técnica de conservación en condiciones de atmósferas modificadas (MAP), manteniendo la calidad de las uvas durante la post-recolección.
- 4) Determinar si el tratamiento mediante recubrimiento con *Aloe vera* o el uso combinado de MAP con los aceites esenciales presentan algún efecto sobre el mantenimiento de los parámetros relacionados con las propiedades funcionales beneficiosas para la salud de la uva de mesa.

5) Verificar si estos tratamientos son eficaces en evitar la contaminación microbiana durante la conservación de la uva manteniendo su seguridad, así como discutir el posible uso alternativo de estas nuevas tecnologías, inocuas para la salud de los consumidores y no contaminante para el medio ambiente, frente al uso de fungicidas de tipo químico, como el SO_2 que presenta cada día más restricciones en la mayoría de las países.

6) Establecer el periodo máximo de vida útil de la uva de mesa teniendo en cuenta todos los parámetros analizados. Para ello, en todos los experimentos se realizará una conservación prolongada en refrigeración y también un almacenamiento a $20^{\circ}C$ durante un periodo que oscila entre 2 o 4 días, con el fin de simular las condiciones de comercialización

Las **Determinaciones analíticas** a realizar son:

a) Parámetros fisiológicos: composición de gases (CO_2 , O_2 y C_2H_4), tasa de respiración y producción de etileno.

b) Parámetros físicos: pérdida de peso, color y firmeza.

c) Parámetros químicos: sólidos solubles, acidez, azúcares, ácidos orgánicos y componentes de la pared celular.

d) Parámetros funcionales: antocianinas, polifenoles totales, actividad antioxidante total y ácido ascórbico (vitamina C).

e) Parámetros microbiológicos: recuento de aerobios mesófilos totales y mohos y levaduras, evaluación de podredumbres.

f) Análisis sensorial: racimos, bayas y raspones.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Esta Tesis Doctoral consta de los siguientes ensayos:

ENSAYO 1.- Conservación de uva de mesa (*Vitis vinifera* L.) 'Crimson' con tratamiento de *Aloe vera* gel como recubrimiento.

ENSAYO 2.- Conservación en atmósfera modificada de uva de mesa (*Vitis vinifera* L.) 'Crimson' en atmósfera modificada con tratamiento de eugenol, timol o mentol a dosis de 0.5 mL por envase.

ENSAYO 3.- Efecto de los aceites esenciales eugenol, timol o mentol a dosis de 0.1, 0.4, y 1 mL sobre *Botrytis cinerea* cultivado *in vitro* e inoculado sobre bayas de uva de mesa (*Vitis vinifera* L.) 'Autumn Royal'.

ENSAYO 4.- Conservación en atmósfera modificada de uva de mesa (*Vitis vinifera* L.) 'Autumn Royal' en atmósfera modificada con tratamiento de eugenol o timol a dosis de 75 y 150 μ L por envase.

3.1. MATERIAL VEGETAL

Se utilizaron racimos de uva de mesa (*Vitis vinifera* L.) de las variedades 'Crimson' y 'Autumn Royal', ambas de tipo apirenas, es decir, sin semillas (Fotografías 7 y 8). Las uvas fueron adquiridas a la empresa hortofrutícola FRUTAS ESTHER S.A. en sus instalaciones de Abarán, y procedían de las fincas ubicadas en Jumilla, ambas localidades pertenecientes a la Región de Murcia. Todas las plantas se desarrollaron bajo las mismas condiciones ambientales y prácticas de cultivo estándar.

A Jumilla le corresponde un clima Continental-mediterráneo ya que por su posición geográfica está fijada en la zona de transición entre el clima mediterráneo costero y el clima con marcado carácter continental del interior peninsular. Cuenta con verdadero invierno térmico, pues algún mes, sobre todo

diciembre, enero y febrero, la temperatura media desciende o está próxima a los 6 °C. Tiene rasgos térmicos de transición a los climas continentales de la submeseta-sur. El verano es caluroso, ascendiendo el mes de julio por encima de los 25 °C de media. Debido a la continentalidad, la amplitud térmica es uniformemente alta. Las precipitaciones anuales oscilan entre 300 y 400 mm. La evapotranspiración potencial se sitúa entre los 800 y los 900 mm lo que da como resultado un importante déficit hídrico (Capel Molina, 2000). A estas condiciones climáticas hay que unir unos suelos muy pobres en materia orgánica, con gran retención hídrica y permeabilidad media (SIAM, 2005).

En cualquier caso, en todos los experimentos las uvas sometidas a los diferentes tratamientos y las usadas como control fueran recolectadas en el mismo momento y de las mismas vides, lo que nos aseguró la homogeneidad de la muestra. Se procuró llevar rápidamente las uvas al laboratorio y en él se realizaron determinaciones analíticas para evaluar ciertos parámetros de calidad en el momento de recolección.



Fotografía 7: Racimo de uva 'Crimson'



Fotografía 8: Racimo de uva 'Autumn Royal'

3.2. MATERIALES

Los **aceites esenciales** fueron eugenol (2-methoxy-4-(2-propenyl) phenol), timol (2-isopropyl-5-methylphenol) y mentol (5-methyl-2-(1-methylethyl) ciclohexanol). Fueron utilizados para realizar los tratamientos

antimicrobianos en los 4 ensayos y se adquirieron a la marca de reactivos bioquímicos y orgánicos Sigma-Aldrich (Fotografía 9). Las imágenes 7, 8 y 9 muestran la representación tridimensional de las moléculas de eugenol, mentol y timol, donde de color azul se representan los átomos de carbono, de color gris los átomos de hidrógeno y de color rojo los átomos de oxígeno.



Fotografía 9: Envases comerciales de eugenol, mentol y timol

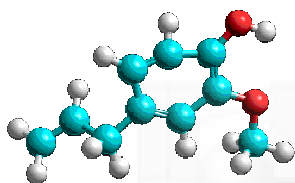


Imagen 7: Eugenol

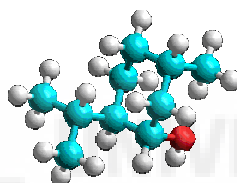


Imagen 8: Mentol

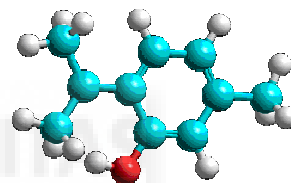


Imagen 9: Timol

El **Plástico** utilizado en los ensayos 1 y 3, con el que se confeccionaron las bolsas provenía de una bobina de film de polipropileno biorientado de 20 μm de espesor y de permeabilidad selectiva a los gases, Amcor Flexibles S.A. (Barcelona), cuyas características son:

Permeabilidad al CO_2 : $3600 \text{ mL m}^2 \text{ día}^{-1} \text{ atm}^{-1}$, medida a 1°C .

Permeabilidad al O_2 : $1600 \text{ mL m}^2 \text{ día}^{-1} \text{ atm}^{-1}$, medida a 1°C .

Los **Envases** de plástico transparente con cierre hermético de 2 L de capacidad que se utilizaron en el ensayo 2 para introducir placas Petri o bayas de uva junto con los distintos aceites esenciales que se muestran en la Fotografía 10.



Fotografía 10: Envases para el Ensayo 2

La **Cepa** de *Botrytis cinerea* usada, procedía de la Colección Española de Cultivos Tipo: CECT 2100: *Botryotinia fuckeliana*, (De Bary) Whetzel. T Anam.: *Botrytis cinerea*. Aislada de *Vicia faba* (1979) adquirida a la Universidad de Valencia. Se utilizó en el ensayo 2 para los cultivos *in vitro* y la inoculación de las bayas de uva. Esta cepa estaba liofilizada, se procedió a la dilución y siembra en PDA incubándose a la temperatura de 24°C (Fotografías 11 y 12).



Fotografía 11: Cepa CECT 2100



Fotografía 12: Cultivo de Cepa CECT 2100

El **Recubrimiento comestible** fue gel de *Aloe vera* L. de calidad farmacológica con un 100% de pureza, comercializado por Roig Farma S.A. (Tarrasa, Barcelona).

3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL

A continuación se detalla el diseño experimental seguido en los diferentes ensayos realizados en esta Tesis.

3.3.1. ENSAYO 1.- Conservación de uva de mesa (*Vitis vinifera* L.) 'Crimson' con tratamiento de *Aloe vera* gel como recubrimiento.

Se seleccionaron 125 racimos con pesos comprendidos entre 150-170 g. De estos racimos se tomaron 5 para determinar el estado inicial (lote día 0). Los racimos restantes se dividieron en 2 grupos de 60 lotes para realizar el tratamiento:

Lote 1: tratamiento con *Aloe vera* L.

Lote 2: sin tratamiento, se utilizó como control.

El tratamiento se realizó en los racimos del lote 1 mediante inmersión durante 5 minutos en una solución de *Aloe vera* L. diluido 1:3 con agua destilada. Los lotes control se sumergieron durante el mismo tiempo en agua destilada. Tras el tratamiento, todos los racimos fueron secados al aire y después se almacenaron en una cámara frigorífica a 1°C y 95% de humedad relativa.

Se realizaron muestreos periódicamente para realizar las determinaciones analíticas con las que evaluar el comportamiento postcosecha de las uvas. Estos muestreos se llevaron a cabo los días 7, 14, 21, 28 y 35. Con la intención de estudiar el comportamiento de los frutos al retornar a temperaturas ambiente tras un prolongado almacenamiento frigorífico, también se realizó un estudio de vida útil a 20°C. Para ello los días de muestreo 0, 7, 14, 21, 28 y 35 se transfirieron otros lotes a una cámara isoterma acondicionada para tal fin. Este estudio de vida útil duró 4 días. En ambos casos se tomaron 5 racimos de cada tratamiento o de los controles.

3.3.2. ENSAYO 2.- Conservación en atmósfera modificada de uva de mesa (*Vitis vinifera* L.) 'Crimson' con tratamiento de eugenol, timol o mentol a dosis de 0.5 mL por envase.

Se seleccionaron 245 racimos con pesos comprendidos entre 150 y 170 g. Las características del día 0 se analizaron en 5 racimos, igual que en el ensayo 1. Los racimos se dividieron en 4 lotes de 60 racimos para realizar los tratamientos:

Lotes 1: tratamiento con 0.5 mL de eugenol.

Lotes 2: tratamiento con 0.5 mL de timol.

Lotes 3: tratamiento con 0.5 mL de mentol.

Lotes 4: sin tratamiento, se utilizó como control.

Tras la confección de los lotes y su clasificación se procedió a la realización de los tratamientos. Éstos se efectuaron impregnando una gasa estéril de algodón con la cantidad de aceite esencial correspondiente para cada tratamiento. Esta gasa se colocó junto al racimo, evitando el contacto con las uvas, y ambos se introdujeron en bolsas de polipropileno que fueron termoselladas inmediatamente. No se introdujo gasa pero sí se envasaron dentro de la bolsa aquellos lotes destinados a utilizarse como controles de los anteriores tratamientos. En todas las bolsas se colocaba una pequeña cantidad de silicona, para poder pinchar sobre ella y sacar una muestra de la atmósfera interior para analizar su composición, evitando así romper el plástico (Fotografías 13 y 14).

Para evaluar la efectividad de los tratamientos todas las bolsas se almacenaron en cámara frigorífica a 1°C y una humedad relativa del 95% (Fotografía 15). Se realizaron muestreos periódicamente para realizar las determinaciones analíticas con las que evaluar el comportamiento postcosecha

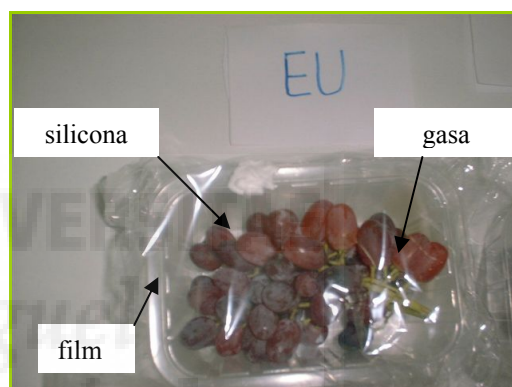
MATERIALES Y MÉTODOS

de las uvas. En el caso de la variedad 'Crimson' se llevaron a cabo los días 7, 14, 21, 28 y 35 tras la frigoconservación.

Con la intención de estudiar el comportamiento de los frutos al retornar a temperaturas ambiente tras un prolongado almacenamiento frigorífico, también se realizó un estudio de vida útil a 20°C. Para ello los días de muestreo 7, 14, 21, 28 y 35 se transfirieron otros lotes a una cámara isoterma acondicionada para tal fin, este estudio de vida útil duró 4 días, transcurrido este tiempo se analizaron. En todos los muestreos se tomaron 5 bolsas al azar.



Fotografía 13: Uva 'Crimson'



Fotografía nº 14: Uva tratada y embolsada



Fotografía nº 15: Lotes en cámara frigorífica

3.3.3. ENSAYO 3.- Efecto de los aceites esenciales eugenol, timol o mentol a dosis de 0.1, 0.4, 1 y 2 mL sobre *Botrytis cinerea* cultivado *in vitro* y sobre bayas de uva de mesa 'Autumn Royal'.

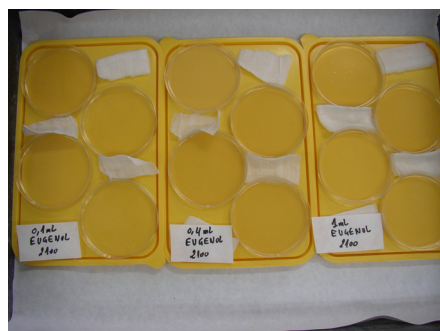
Se realizaron 2 experimentos:

Experimento 1.- Cultivos *in vitro* de *Botrytis cinerea* sobre PDA: Se pretendía evaluar el poder inhibitor de los aceites esenciales frente al crecimiento de *Botrytis* en medio de cultivo PDA sobre placa Petri a una temperatura de incubación de 30 °C.

Experimento 2.- Uvas inoculadas con *Botrytis cinerea*: Se pretendía simular las condiciones de propagación de *Botrytis* en el almacenamiento post-cosecha de la uva. Se inocularon bayas de uva con *Botrytis* y se colocaron a una temperatura de incubación de 25 °C

3.3.3.1. Experimento I: Efecto de aceites esenciales sobre cultivo *in vitro* de *Botrytis cinerea*.

En placas Petri con medio de cultivo PDA se sembró en superficie con 100 µL de solución de *Botrytis cinerea* (750 U.F.C.). Se colocaron 4 placas Petri sembradas dentro de cada envase transparente. El tratamiento se realizó colocando al lado de cada placa Petri una gasa estéril de algodón y se impregnó cada una de ellas con la cuarta parte del volumen correspondiente a la dosis a aplicar. Se utilizaron 3 aceites esenciales eugenol, mentol y timol y 4 dosis 0.1, 0.4, 1 y 2 mL.



Fotografía 16: Placas Petri sembradas con *Botrytis cinerea* y tratadas con diferentes dosis de Eugenol.

Se cerró el envase dejando las placas Petri abiertas, de manera que dentro del envase se creó una atmósfera rica en los aceites esenciales volátiles y en contacto directo con el hongo sembrado sobre PDA. Se introdujeron los envases en incubadora a 30 °C y se determinaron a los 7 días las unidades formadoras de colonias y diámetro de la infección. Los tratamientos se realizaron por triplicado. Puesto que había 4 placas Petri por envase los resultados son media \pm ES de 12 mediciones.

3.3.3.2. Experimento II: Efecto de aceites esenciales sobre crecimiento de *Botrytis cinerea* inoculada en bayas de uva.

Dentro de la cabina de flujo laminar se colocaron 11 bayas en los envases transparentes soportadas mediante bandejas de cartón perforado para que no rodasen. Se realizó sobre la piel de la baya una herida en forma de cruz, de 2x2 mm, con un bisturí (Fotografías 17 y 18). Se inoculó 10 μ L de solución de *Botrytis cinerea* (75 UFC). La incubación se realizó a 25 °C durante 7 días.



Fotografía 17: Baya inoculada de *Botrytis cinerea*



Fotografía 18: Envases con bayas inoculadas y gases impregnadas con aceite esencial, antes de ser cerrados y colocados en incubación.

Tras la incubación se realizaron las siguientes determinaciones: Porcentaje de bayas infectadas, diámetro de infección, volumen de la infección, tasa respiratoria y emisión de etileno.

Los tratamientos se realizaron por triplicado. Puesto que había 11 bayas por envase los resultados son media \pm ES de 33 mediciones. En tasa respiratoria y emisión de etileno se realizaron 4 tomas del espacio de cabeza de los botes en los que se introdujeron las bayas, por tanto sus resultados son media \pm ES de 12 mediciones.

3.3.4. ENSAYO 4.- Conservación en atmósfera modificada de uva de mesa (*Vitis vinifera* L.) 'Autumn Royal' con tratamiento de eugenol o timol a dosis de 75 y 150 μ L por envase.

Se seleccionaron 255 racimos con pesos comprendidos entre 180 y 200 g. De estos racimos se tomaron 5 para determinar el estado inicial (lote día 0). Los 236 lotes restantes se dividieron en 5 lotes de 50 racimos para realizar los tratamientos:

Lotes 1: tratamiento con 75 μ L de eugenol.

Lotes 2: tratamiento con 150 μ L de eugenol.

Lotes 3: tratamiento con 75 μ L de timol.

Lotes 4: tratamiento con 150 μ L de timol.

Lotes 5: sin tratamiento, se utilizó como control.

Se realizaron muestreos periódicamente para realizar las determinaciones analíticas los días 14, 28, 42 y 56 tras el almacenamiento a 1°C, también se realizó un estudio de vida útil a 20°C de 2 días de duración, en todos los casos en cada muestreo se tomaron 5 bolsas.

3.4. DETERMINACIONES ANALÍTICAS

Estas determinaciones analíticas se realizaron en las uvas sometidas a almacenamiento tanto con recubrimiento comestible como en atmósfera modificada y aceites esenciales.

3.4.1. Tasa de respiración y emisión de etileno

Para determinar estos parámetros se utilizó el sistema estático propuesto por Kader (1992) que implica encerrar al producto en un recipiente de cierre hermético por un periodo de tiempo.

Para realizar estas medidas se introdujeron los racimos enteros, de peso conocido en frascos de vidrio de 500 mL de capacidad con tapadera de cierre hermético, dicha tapadera constaba de una válvula de material elastómero, *septum*, que permitió las inyecciones. Transcurridos 30 minutos se procedió a la extracción del aire de cabeza de los botes, se tomaron 6 jeringas de 1 mL cada una, por envase. De manera que 3 jeringas se destinaron a la determinación de CO_2 y las otras 3 jeringas se usaron para determinar el etileno. Como había 3 repeticiones para cada muestra los resultados son la media \pm ES de 15 mediciones.

Para determinar la tasa respiratoria se inyectó el contenido de las jeringas en un Cromatógrafo de Gases Shimadzu GC14-B, con las siguientes condiciones de trabajo: temperatura del horno: 50 °C, temperatura del inyector: 115 °C, temperatura del detector: 150 °C, flujo del gas portador (Helio): 16 mL/min, tipo de calibración: Patrón externo, tiempo de retención CO_2 : 1,24' y O_2 : 2,86', detector de conductividad térmica (TCD), separación y determinación del CO_2 : columna CHROMOSORB 102 80/100 2 m x 1/8", temperatura máxima: 250 °C, separación y determinación del O_2 : columna MOLECULAR SIEVE 5A 80/100 de 2 m x 1/8", temperatura máxima: 400 °C. Como patrón se utilizó aire atmosférico, cuya concentración de CO_2 es 0.036% y de O_2 21%.

Para determinar la emisión de etileno se inyectó el contenido de las jeringas en un cromatógrafo Hewlett Packard modelo 5890 Serie II, con detector de ionización de llama (FID), columna de acero inoxidable de 3m de longitud total y de 1/8" de diámetro interno, con relleno de alúmina activada de 80/100mesh. Las condiciones de trabajo fueron: temperatura del horno: 90 °C, temperatura del inyector y del detector: 150 °C, flujo del gas portador (Helio): 32 mL/min, flujo de hidrógeno: 26ml/min, flujo de aire: 400ml/min. La calibración se realizó con etileno de concentración 10 ppm.

El CO₂ y el etileno producido como consecuencia del metabolismo se acumulan y puede calcularse conociendo el peso del producto, el volumen del recipiente, y el tiempo que permanece cerrado el envase. La tasa de respiración se expresó en mg de CO₂ por kg de fruta y hora y se calculó de la siguiente forma:

$$\frac{\text{mg CO}_2}{\text{kg} \times \text{h}} = \frac{(V - P) \times 0.687 \times \text{Área CO}_2 \times 60}{\text{Área PATRÓN} \times P \times T}$$

V = Volumen del recipiente en mililitros.

P = Peso de la muestra en gramos.

Área CO₂ = Área obtenida en el cromatógrafo.

Área Patrón correspondiente al 0.036%.

T = Tiempo que ha permanecido cerrado el recipiente en minutos.

La emisión de etileno se expresó en nL de C₂H₄ por g de fruta y hora y se calculó de la siguiente forma:

$$\frac{nLC_2H_4}{g \times h} = \frac{(V - P) \times 10 \times \text{Área } C_2H_4 \times 60}{\text{Área PATRÓN} \times P \times T}$$

V = Volumen del recipiente en mililitros.

P = Peso de la muestra en gramos.

A = Área obtenida en el cromatógrafo.

Área Patrón correspondiente a 10 ppm.

T = Tiempo que ha permanecido cerrado el recipiente en minutos.

3.4.2. Composición de la atmósfera

A partir del día 0 tras realizar los tratamientos y almacenar los racimos envasados en atmósferas modificadas, semanalmente en el caso de la variedad 'Crimson' y cada 2 semanas para la variedad 'Autumn Royal', se extrajeron 5 bolsas de uva para cada uno de los tratamientos, es decir, para 'Crimson', 20 bolsas (5 de eugenol, 5 de timol, 5 de mentol y 5 control) y para 'Autumn Royal' 15 bolsas (5 de eugenol 75, 5 de eugenol 150, 5 de timol 75 y 5 de timol 150 y 5 de control).

Para determinar la composición de la atmósfera interna de los envases se extrajeron 6 jeringas a través de los *septum* de silicona que había sobre el film plástico. Para determinar la concentración de CO₂ y O₂ se inyectó el contenido de 3 jeringas en el mismo Cromatógrafo de Gases Shimadzu GC14-B, con el que se midió la actividad respiratoria. Para determinar la concentración de etileno se inyectó el contenido de 3 jeringas en el Cromatógrafo de Gases Hewlett-Packard (HP) 5730-A, con el que se midió la emisión de etileno. Del mismo modo, se usaron los patrones de CO₂ y de etileno citados anteriormente. La concentración de CO₂ y de O₂ dentro del envase durante el

almacenamiento de la uva se expresó en % y la de etileno en ppm. Por tanto los resultados son media \pm ES de 15 mediciones.

3.4.3. Pérdida de peso

El peso se determinó mediante una balanza Mettler PC-4400 con 2 cifras decimales de precisión y se expresó en gramos. Se pesaron los racimos y se compararon con los pesos que poseían el día 0, finalmente la determinación de pérdida de peso se expresó en %. Los resultados son media \pm ES de 5 mediciones correspondientes a las 5 bolsas del mismo tratamiento y dosis.

3.4.4. Color

La medida de color en la uva se determinó mediante un colorímetro Minolta CR-300 y usando el Sistema Hunter Lab. Los resultados se expresan como L^* , a^* , b^* y los índices de color Croma* ($C = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$). Se tomaron de forma aleatoria 10 bayas de cada una de las bolsas. Como se extrajeron 5 bolsas de cada tratamiento y dosis, los resultados son media \pm ES de 50 mediciones.

3.4.5. Propiedades mecánicas

Para determinar la firmeza de los frutos se utilizó un Texturómetro TA-XT2i[®] (Aname Instruments). Se realizó un ensayo de deformación de la baya mediante un disco plano de acero, la velocidad de descenso del disco fue de 0.3 mm s^{-1} , hasta alcanzar una deformación en el fruto del 4% de su diámetro. Los resultados se expresaron N mm^{-1} .

También se realizó el ensayo Magness-Taylor, para el que se usó un vástago cilíndrico de 2 mm de diámetro. El vástago avanzaba a razón de 0.3 mm s^{-1} penetrando 4 mm en la pulpa. El dispositivo determinó la fuerza máxima en la penetración de la piel, expresando los resultados en (N) (Kader, 1982). Se tomaron de forma aleatoria 10 bayas de cada una de las bolsas. Como se

extrajeron 5 bolsas de cada tratamiento y dosis, los resultados son media \pm ES de 50 mediciones.

3.4.6. Índice de madurez

Se tomaron de forma aleatoria 10 bayas de cada una de las bolsas. Se dividieron en 2 grupos de 5 bayas cada uno, estos 2 grupos se homogeneizaron mediante mortero y se filtró mediante un trozo de lienzo de algodón. El zumo obtenido se usó para realizar las determinaciones.

El índice de madurez se expresó como el cociente entre el valor de los sólidos solubles totales y la acidez. Los sólidos solubles totales (SS) se midieron mediante refractometría sobre el zumo filtrado previamente con gasa. Se empleó un refractómetro digital Conecta DR101 y los resultados se expresaron en °BRIX.

La acidez titulable se determinó mediante valoración potenciométrica, mediante un pHmetro Crison GLP 21 de sensibilidad \pm 0.01 pH. Se valoró 1 mL de zumo, diluido en 25 mL de agua destilada con NaOH 0.1 N hasta alcanzar pH = 8.1 (AOAC, 1990). Los resultados se expresaron en gramos de ácido tartárico por 100 g de peso fresco de uva.

$$\frac{\text{g \acute{a}c. tart\acute{a}rico}}{100 \text{ g p.f.}} = \frac{7.5 \times V_1 \times f \times N}{V_2}$$

N= Normalidad de NaOH.

V₁= Volumen de NaOH utilizado en la valoración.

V₂= Volumen de la muestra tomada.

f= Factor del hidróxido de sodio.

Como se extrajeron 5 bolsas de cada tratamiento y dosis y de cada una se analizaron dos submuestras, los resultados son media \pm ES de 10 mediciones.

3.4.7. Recuentos microbiológicos

Los recuentos microbianos que se llevaron a cabo fueron los correspondientes a aerobios mesófilos, por una parte, y mohos y levaduras, por otra. Dichos recuentos se realizaron sobre placas Petrifilm (3M). El medio empleado para realizar las diluciones fue agua de peptona esterilizada. Se pesaron 10 g de fruta de cada uno de los racimos y se introdujeron en una bolsa de polietileno esterilizada. A continuación se introdujeron 90 mL de agua de peptona y se obtuvo una dilución 10^{-1} . Seguidamente, se colocó la bolsa en un homogeneizador y se hizo funcionar durante 2 minutos.

Una vez transcurrido este tiempo, se tomó 1 mL de la bolsa y se introdujo en un tubo de ensayo que contenía 9 mL de agua de peptona obteniendo así la dilución 10^{-2} se repitió la operación para conseguir la dilución 10^{-3} . Se procedió a la siembra en una cabina de flujo laminar. Las placas se introdujeron en una estufa de cultivo a 30° C. Transcurridas 48 horas se realizaron los recuentos. Las siembras se realizaron el día 0 con la uva recién recolectada y tras 28 días de conservación en frío. Los resultados se expresaron como logaritmo de U.F.C. (número de unidades formadoras de colonias) por gramo de uva. Como se extrajeron 5 bolsas de cada tratamiento y dosis, los resultados son media de las 5 bolsas y las 3 diluciones.

3.4.8. Homogeneización de las muestras para determinaciones

Una vez finalizadas las determinaciones anteriores se procedió a tomar 10 bayas de cada uno de los racimos. Se pelaron con el fin de separar la pulpa y la piel, se congelaron en nitrógeno líquido (-196 °C) y se trituraron en una picadora, estas muestras se guardaron en un arcón congelador (-30 °C) de forma identificada por tratamiento, fecha de muestreo y tipo de muestra: piel o pulpa.

3.4.9. Extracciones de pulpa y piel para cuantificar ácidos orgánicos, azúcares, polifenoles y actividad antioxidante total

En un tubo de centrífuga rodeado de hielo picado se colocaron 5 g de pulpa o 2 g de piel y 10 mL de tampón fosfato 50 mM de pH 7.8. Se homogeneizó en un Polytron a 13.500 r.p.m. durante 20 segundos y se centrifugó a 12420 *g* en una centrífuga B. Braun Biotech durante 20 minutos y a 5 °C. Se tomó el sobrenadante, se filtró en un filtro Millipore de 0.45 μm y se introdujo el líquido en tubos Eppendorf, que se guardaron a -38°C para su posterior cuantificación.

Estas extracciones se realizaron por duplicado para cada muestra de piel o pulpa, como había 5 bolsas de un mismo tratamiento, se realizaron 10 extracciones para cada tratamiento y día de muestreo.

3.4.10. Ácidos orgánicos y azúcares en pulpa

Los ácidos orgánicos y los azúcares se cuantificaron en un cromatógrafo líquido de alta presión (HPLC) Hewlett Packard Serie 1100. Como fase móvil se utilizó ácido fosfórico al 0.1% con un flujo de 0.5 mL min^{-1} y la separación de los ácidos y los azúcares se realizó en una columna SUPELCOGEL C-610 H, de 30 cm de longitud y 7.8 mm de diámetro interno y una precolumna SUPELGUARD C-610 H.

La cuantificación de los ácidos orgánicos se llevó a cabo con un detector de absorbancia a 210 nm DAD G1315A y comparando las áreas de los picos obtenidos en las muestras con las correspondientes a patrones de cada ácido de concentración conocida. La cuantificación de los azúcares se realizó utilizando un detector de índice de refracción RID G-1362 A y al igual que en el caso anterior, se compararon las áreas de los picos obtenidos en las muestras con las correspondientes a cada azúcar de patrones de concentración conocida. La concentración se expresó en porcentaje y los resultados son media \pm ES de 10 determinaciones. Se puede observar en la Imagen 10 un cromatograma con los picos identificados

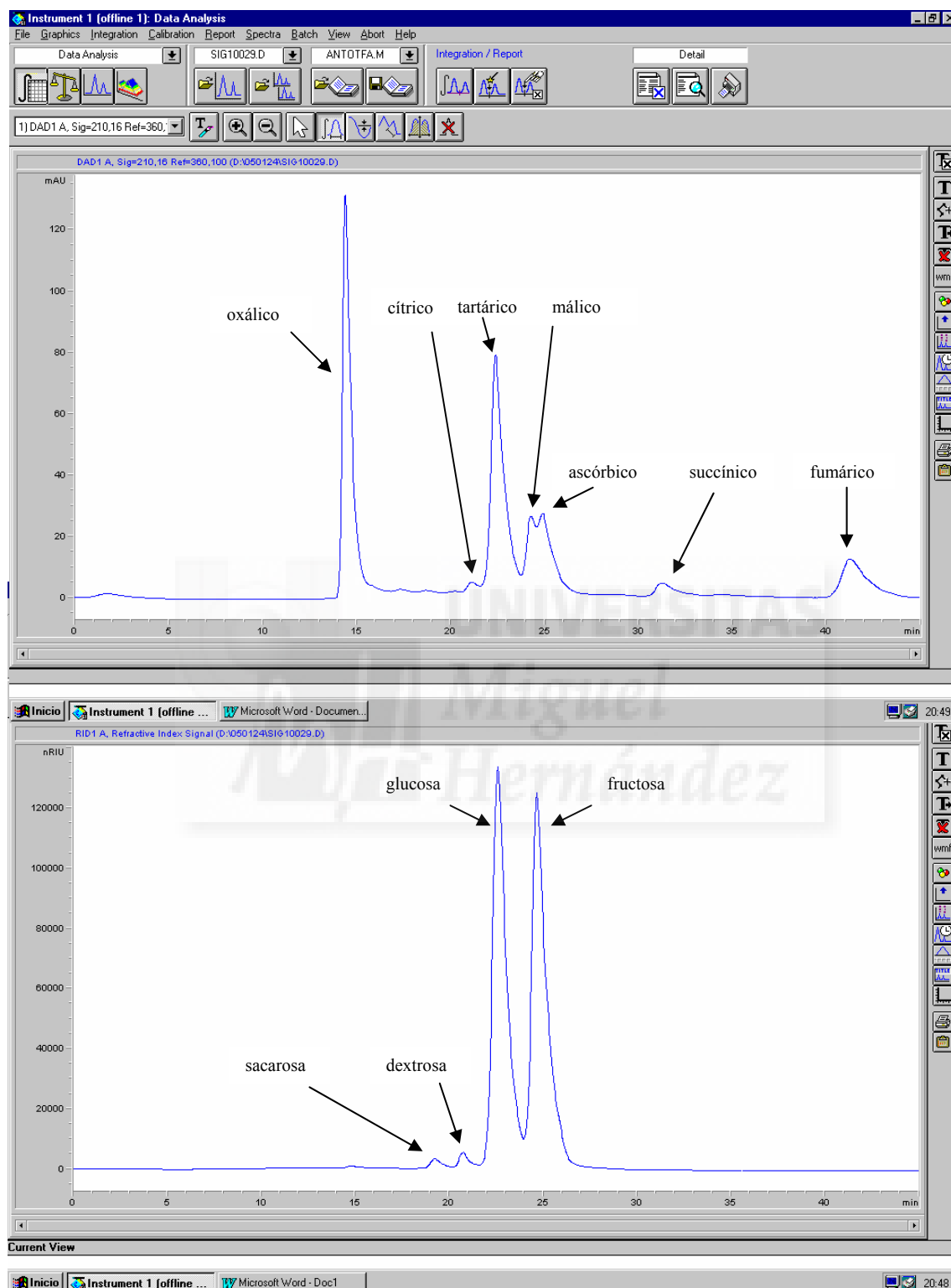


Imagen 10: Cromatogramas obtenidos para muestra de uva 'Crimson', el superior muestra los ácidos orgánicos y el inferior los azúcares.

3.4.11. Polifenoles totales en piel y pulpa

Para la determinación del contenido en fenoles se usaron los extractos en tampón fosfato de pulpa y piel. El método empleado fue el descrito por Wood et al., (2002), con ligeras modificaciones. El patrón empleado fue ácido gálico y la ecuación de la recta de calibrado fue: $y = 0.013x - 0.0686$ donde $y =$ unidades de absorbancia y $x =$ ácido gálico (μg), siendo $r^2=0.997$.

Para la preparación de las muestras sobre las que se llevó a cabo la medida de la absorbancia se introdujeron 500 μL de extracto para la pulpa y en el caso de la piel 50 μL de extracto, 450 μL de tampón fosfato, además 2.5 mL de reactivo de Folin diluido 1/10. Se agitó y se dejó reposar durante 2 minutos. Entonces, se añadieron 2 mL de disolución 75 g/L de Na_2CO_3 y se agitó. A continuación los tubos se introdujeron en un baño a 50 °C durante 5 minutos en reposo.

Se procedió a la lectura mediante espectrofotometría a 760 nm en un espectrofotómetro modelo Uvikon XS, Bio-Teck Instruments. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico por 100 gramos de peso fresco y fueron media \pm ES de 10 mediciones.

3.4.12. Actividad antioxidante total en piel y pulpa

Se utilizaron las mismas extracciones utilizadas para cuantificar ácidos orgánicos, azúcares y fenoles. En el caso de la determinación de la capacidad antioxidante total se llevó a cabo según el método de Cano et al. (1998). Se empleó como patrón ácido ascórbico y la ecuación de la recta de calibrado fue: $y = 0.1548x + 0.0065$ donde $y =$ unidades de absorbancia y $x =$ ácido ascórbico (μg), siendo $r^2= 0.990$.

Para la preparación de las muestras sobre las que se llevó a cabo la medida de la absorbancia se introdujo en dos cubetas desechables, los siguientes compuestos: 955 μL de tampón glicina-HCl 50 mM de pH 4.5, 20 μL de H_2O_2 1 mM y 20 μL de ABTS 10 mM, realizando un autocero en el espectrofotómetro con ambas cubetas. A continuación, se añadió en una de las

cubetas 25 μL de peroxidasa 10 μM y se midió la absorbancia transcurridos 20 segundos desde la adición de la enzima. Por último, se añadió, en la cubeta que ya contenía la peroxidasa, 40 μL de extracto de pulpa ó 10 μL de extracto de piel, se midió la absorbancia a los 20 segundos de la adición.

Las lecturas se realizaron mediante espectrofotometría a 730 nm en un espectrofotómetro modelo Uvikon XS, Bio-TecK Instruments. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido ascórbico por 100 gramos de peso fresco y fueron la media \pm ES de 10 mediciones.

3.4.13. Antocianos

3.4.13.1. Antocianos totales en piel

Las extracciones se llevaron a cabo según García-Viguera et al. (1999) con algunas modificaciones. Se homogeneizaron 2 g de piel con 4 mL de metanol durante 1 minuto a máxima velocidad en un Polytron. Se dejaron a 1°C durante 1 hora. Posteriormente, se centrifugó durante 20 minutos a 21130 *g* en una centrífuga B. Braun Biotech a una temperatura de 4°C. La purificación se realizó mediante un Sep-Pak C-18. La activación del Sep-Pak se consiguió pasando a través de ellos: 5 mL de metanol HPLC, 5 mL de agua ultra pura y 5 mL de HCl 0.01 N. Con esto se creó un ambiente polar, para que los antocianos, que son sustancias apolares se fijen en el Sep-Pak. A continuación se hizo pasar: el sobrenadante de los tubos preparados en la centrífuga, 5 mL de agua ultra pura para lavar las sustancias hidrosolubles y los antocianos se recogieron mediante 3 mL de metanol con un 1% de ácido clorhídrico. Se tomaron 300 μL del extracto purificado de la muestra y se diluyeron con 2700 μL metanol con el 1% de ácido clorhídrico, se introdujeron en una cubeta desechable, y se procedió a la lectura mediante espectrofotometría a 520 nm en un espectrofotómetro modelo Uvikon XS, Bio-TecK Instruments. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de cianidín-3-glucósido por 100 g de peso fresco. Esta antocianina tiene un coeficiente de extinción molar de $E=29600 \text{ cm}^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ L}$, y un peso molecular de 449. Los resultados fueron la media \pm ES de 10 mediciones. En la Imagen 11 se observa el espectro de absorción de la extracción de los antocianos de la uva 'Crimson'.

$$\frac{\text{mg eq. cyn3glu}}{100\text{g p.f.}} = \frac{\text{Absorbancia} \times \text{factor diluci3n} \times 449 \times 1000}{29600}$$

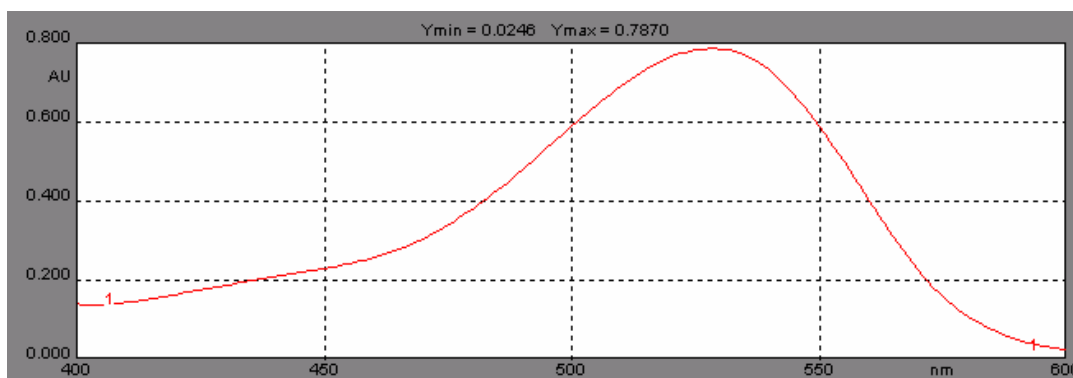


Imagen 11: Espectro de absorci3n de los antocianos en uva 'Crimson'

3.4.13.2. Identificaci3n de las antocianinas

Tras determinar el contenido total de antocianos referidos a una antocianina concreta, se decidi3 identificar las antocianinas presentes. Para ello se utiliz3 un Cromat3grafo HPLC Hewlett-Packard. Se utiliz3 una fase m3vil isocr3tica de agua 81%, 3cido f3rmico 10% y acetonitrilo 9%. El flujo fue de 1 mL/min. La columna utilizada fue LICHROSPHERE 100 RP-8 (5 μm). Se realizaron extracciones de varias frutas (Fotograf3a 19) y purificaciones mediante Sep-Pak (Fotograf3a 20). Se inyect3 20 μL por vial y se midi3 a 525 nm. Los cromatogramas se compararon con los obtenidos por Goiffon et al., (1998) y se determinaron las antocianinas y sus tiempos de retenci3n.



Fotograf3a 19: Extractos de varias frutas y hortalizas con elevado nivel de antocianinas zarzamora, mora, fresa, frambuesa, cereza, col lombarda, remolacha y piel de ciruela



Fotograf3a 20: Sep-Pak captando antocianos

Una vez determinados estos compuestos se procedió a determinar las antocianinas tanto en uvas 'Crimson' como en 'Autumn Royal'. Los resultados puesto que no existen patrones de antocianinas se expresaron como U.A. (unidades de área) obtenidas en el cromatógrafo de cada una de las antocianinas por gramo de piel. Los resultados son media \pm ES de 10 determinaciones

3.4.14. Determinación de pectinas en pulpa

Se realizaron en muestras del día 0 y tras 21 días a 1°C más 4 días a 20°C en uvas 'Crimson' y tras 42 días a 1°C más 2 días a 20°C.

3.4.14.1. Extracción de pectinas insolubles en alcohol (P.I.A.)

Se tomaron 10 g de pulpa y 30 mL de etanol puro a 60 °C, se homogeneizó en un Polytron a 13500 r.p.m. durante 1 min, se dejó en reposo durante 10 min en un baño de agua a 100 °C. Posteriormente se centrifugó a 9391 G en una centrífuga B. Braun Biotech durante 15 min y a 4 °C. Se descartó el sobrenadante, y se recogió el precipitado sobre un vidrio reloj. Se dejó en estufa a 35 °C durante 24 horas. Pasado este tiempo se pesó y se calculó el porcentaje de P.I.A. respecto a 100 g de pulpa también se expresó como porcentaje de pared celular. El polvo resultante se guardó a 4 °C.

3.4.14.2. Extracción de pectinas solubles en agua (P.S.A.) y solubles en oxalato (P.S.O.)

Se tomaron 120 mg de polvo de P.I.A. y 30 mL de agua ultra pura, se agitó durante 2 min en un agitator y posteriormente se centrifugó a 9341 G en una centrífuga B. Braun Biotech durante 10 min y a 4 °C. Tras la centrifugación el sobrenadante se filtró con lana de vidrio y se enrasó a 200 mL con agua ultra pura, obteniendo así las P.S.A.

Al precipitado resultante se le añadió 30 mL de solución de oxalato compuesta por 0.25% de oxalato amónico y 0.25% de ácido oxálico. Se agitó

durante 2 min en un agitator y se dejó en reposo durante una hora en un baño de agua a 100 °C. Posteriormente se centrifugó a 9341 G en una centrífuga B. Braun Biotech durante 20 min y a 4 °C. El sobrenadante se filtró con lana de vidrio y se enrasó a 200 mL con agua ultra pura, obteniendo así las P.S.O. Se conservaron a 4 °C.

3.4.14.3. Extracción de pectinas totales (P.T.)

Se tomaron 10 mg de polvo de P.I.A. y 4 mL de ácido sulfúrico, se añadió 1 mL de agua gota a gota, tras 5 min de espera, se añadió de nuevo 1 mL de agua. Se agitó hasta total dilución y se filtró con lana de vidrio, se enrasó a 50 mL con agua ultra pura, obteniendo así las P.T. Se conservaron a 4 °C.

3.4.14.4. Cuantificación de pectinas

Se utilizó una recta patrón de ácido galacturónico cuya ecuación fue $y=0.0009x+0.0127$ donde y = unidades de absorbancia y x = ácido galacturónico (μg), siendo $r^2=0.992$.

La cuantificación fue similar para todos los tipos de extractos de pectinas. Se prepararon tubos de vidrio con tapón de rosca, dentro de un baño de hielo picado. Se colocó 2 mL de extracto de pectinas (agua en el caso del blanco) y 10 mL de tetraborato sódico 0.0125 M en ácido sulfúrico. Se agitaron y se dejaron 10 min en un baño de agua a 100 °C. Posteriormente se enfrió en un baño de hielo picado.

Se les añadió 0.2 mL de fenilfenol al 0.15% a cada tubo (0.2 mL de NaOH 0.1 N al blanco), se agitó y se midió la absorbancia mediante espectrofotometría a 480 nm en un espectrofotómetro modelo Uvikon XS, Bio-TecK Instruments. Los resultados obtenidos son medias \pm ES de 10 determinaciones y se presentaron en mg equivalentes de ácido galacturónico por 100 gramos de P.I.A. (Pectinas Insoluble en Alcohol).

3.4.15. Valoración visual y análisis sensorial

Durante los experimentos de conservación de uva de mesa 'Crimson' y 'Autumn Royal' se realizaron valoraciones visuales sobre la evolución del aspecto del racimo en general y del raspón en particular, pues es un parámetro determinante en la calidad postcosecha de los racimos de uva. También se realizó un análisis sensorial dónde mediante un panel de catadores semientrenados se evaluaron parámetros de calidad sensorial como firmeza, jugosidad, crujibilidad, dulzor, acidez.

El panel de catadores lo componían 10 adultos entrenados, con edades comprendidas entre 25 y 40 años (5 mujeres y 5 hombres). Se realizó a los jueces una prueba triangular para evaluar su umbral de percepción, también fue entrenado mediante una prueba en la cual había bayas con diferente calidad junto a la puntuación a la cual correspondía ese estado. Para evaluar el aspecto del raspón y del racimo se observaron los síntomas de deshidratación y pardeamiento con una escala del 1 al 5, la puntuación 1 se aplicaba a uvas con ausencia de estos síntomas mientras que el valor 5 era para una muy severa presencia de pardeamientos y deshidratación. Los parámetros de calidad se evaluaron también con una escala de 1 al 5 en la que 1 era 'muy baja', 2 'baja', 3 'media', 4 'alta' y 5 'muy alta'. Se determinó una baya por envase y los resultados son la media \pm ES de 10 determinaciones.

3.4.16. Análisis y diseño estadístico de los datos

En todos los experimentos realizados se ha utilizado un diseño completamente aleatorio. 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 v. 7.5.1. Se ha considerado diferencias significativas para $P \leq 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1. CONSERVACIÓN DE UVA DE MESA (*Vitis vinifera* L.) 'Crimson' CON TRATAMIENTO DE RECUBRIMIENTO COMESTIBLE A BASE DE *Aloe vera*.

A continuación se comentarán los resultados obtenidos durante la conservación de uva de mesa (*Vitis vinifera* L.) 'Crimson' sometida a un tratamiento de recubrimiento comestible a base de *Aloe vera*. En este estudio de conservación se utilizaron dos condiciones de almacenamiento diferentes.

1°. Las uvas fueron conservadas a 1°C de temperatura y humedad relativa de 95% y se muestrearon lotes de forma semanal hasta la quinta semana, día 35. Estos resultados se muestran en la figura unidos por una línea continua, de color rojo para las controles y verde para las tratadas.

2°. Al mismo tiempo que se extraían lotes de la cámara frigorífica cada semana para realizar las determinaciones analíticas, otros lotes fueron transferidos a unas condiciones de 20°C y una humedad relativa entre 60 y 70% durante 4 días. Este almacenamiento se denomina estudio de vida útil, sólo se pudo prolongar hasta la 3ª semana puesto que la calidad de los frutos se vio muy mermada. Estos resultados se muestran en las figuras unidos por líneas discontinuas, de color rojo en las controles y verde para las tratadas.

El aspecto visual de los racimos y de las uvas individuales después de 21 días de almacenaje en frío más 4 días a 20°C ponía de manifiesto que las uvas control ya no eran comerciales, debido a que tenían un alto grado de contaminación microbiana y una escasa calidad. Por lo tanto, los muestreos correspondientes al estudio de vida útil a 20°C después del almacenaje en frío se paralizaron en este momento y no se realizaron en los muestreos posteriores correspondientes a los periodos de vida útil de las uvas que habían estado en frío 28 y 35 días.

4.1.1. Evolución de la tasa respiratoria

La tasa de respiración de la uva de mesa 'Crimson' en el momento de la recolección fue de 11.63 ± 0.67 mg de CO_2 kg^{-1} de fruta y hora. En el almacenamiento a 1°C la actividad respiratoria de las uvas control aumentó a lo largo del tiempo, presentando el día 35 de muestreo una respiración de 19.03 ± 0.66 mg kg^{-1} h^{-1} . Así mismo, cuando las uvas se transfirieron a 20°C presentaron incrementos significativos en su actividad respiratoria. Por ejemplo, el día 21 en frío las uvas control tenían una tasa de respiración de 15.11 ± 0.59 mg kg^{-1} h^{-1} y 4 días más tarde a 20°C estas uvas mostraron una tasa respiratoria de 18.55 ± 0.66 mg kg^{-1} h^{-1} , un valor aproximado al que presentaron las uvas almacenadas en frío el día 32 (Figura 1).

Por el contrario, en las uvas tratadas con el recubrimiento comestible de *Aloe vera*, no se apreció un incremento significativo de la tasa respiratoria durante el almacenamiento a 1°C , de forma que el día 35 sólo mostraron una tasa de respiración de 13.14 ± 0.79 mg de CO_2 kg^{-1} h^{-1} . Del mismo modo, las uvas tratadas apenas variaron su actividad respiratoria durante el estudio de vida útil a 20°C en los tres primeros muestreos, días 0+4, 7+4 y 14+4. Sólo en el último día de muestreo se apreciaron diferencias significativas, presentando las uvas almacenadas a 20°C un valor de 14.25 ± 0.45 mg kg^{-1} h^{-1} respecto a 12.03 ± 0.69 mg kg^{-1} h^{-1} que presentaron 4 días antes, justo en el momento de salir del almacenamiento a 1°C (Figura 1).

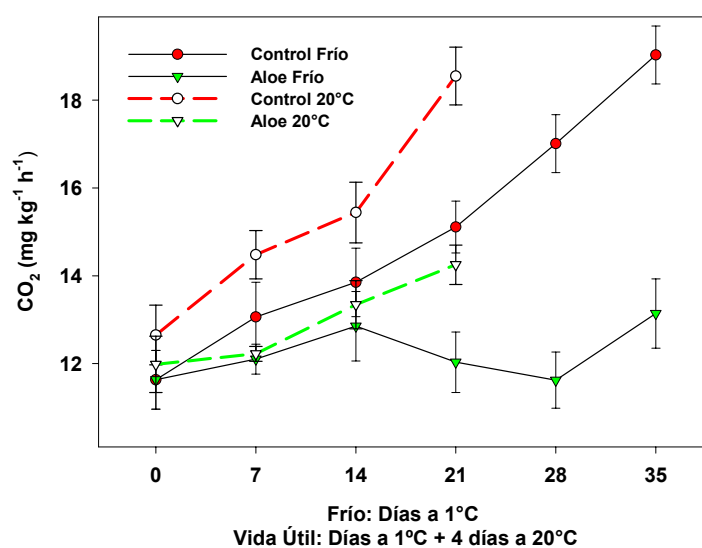


Figura 1. Evolución de la tasa respiratoria durante la conservación a 1°C y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío. Los datos son media \pm ES de las determinaciones realizadas por triplicado en 5 racimos ($n=15$).

4.1.2. Evolución de la emisión de etileno

La tasa de emisión de etileno de la uva el día de recepción fue de 0.04 ± 0.01 nL de C_2H_4 por g de fruta y hora. Este valor resulta muy bajo respecto a los valores que presentan otros frutos y hortalizas. A lo largo de la conservación frigorífica se comprobó que en las uvas control aumentaba la emisión de etileno pero nunca llegó a superar $1 \text{ nL g}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Así, el día 35, último día de muestreo se alcanzó el valor máximo de emisión de etileno $0.92 \pm 0.08 \text{ nL g}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Durante el estudio de vida útil a 20°C se comprobó que existían emisiones de etileno superiores a las presentadas en el almacenamiento frigorífico, no obstante estos aumentos no fueron significativos hasta los últimos muestreos, día 14 y 21. El día 21 las uvas control almacenadas a 1°C presentaron un valor de $0.50 \pm 0.02 \text{ nL g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y tras someterlas al estudio de vida útil a 20°C obtuvieron un valor de emisión de etileno de $0.74 \pm 0.06 \text{ nL g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Figura 2).

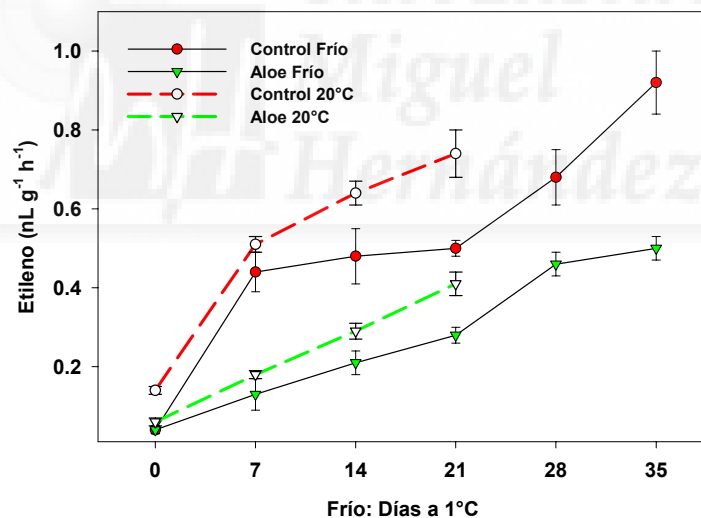


Figura 2 Evolución de la emisión de etileno durante la conservación a 1°C y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío. Los datos son media \pm ES de las determinaciones realizadas por triplicado en 5 racimos ($n=15$).

Las uvas que se trataron con el recubrimiento de *Aloe vera* presentaron valores de emisión de etileno mucho más bajos que las uvas control. Este comportamiento se observó tanto en el caso del almacenamiento a 1°C como durante el estudio de vida útil a 20°C . En ambos casos los valores fueron inferiores a los de las uvas control. Durante el estudio de vida útil las uvas

tratadas aumentaron su emisión de etileno pero en un valor muy inferior al mostrado por las uvas control. Así, cuando en el día 21+4 las uvas control aumentaron $0.24 \text{ nL g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ respecto al día 21, en el caso de las uvas tratadas este valor sólo ascendió a $0.13 \text{ nL g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ desde $0.28 \pm 0.02 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ en frío hasta $0.41 \pm 0.03 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ a 20°C (Figura 2).

4.1.3. Evolución de la pérdida de peso

La pérdida de peso aumentó en las uvas control durante el almacenamiento a 1°C de forma constante y uniforme a lo largo del tiempo. Las uvas tratadas con el recubrimiento también sufrieron pérdidas de peso significativas, pero éstas fueron mucho menores que en las uvas control. Así, el día 35 las uvas control presentaron una pérdida de peso de $15.51 \pm 0.32\%$ mientras que las uvas tratadas sólo perdieron un $8.13 \pm 0.59\%$ (Figura 3).

Al transferir las uvas control a 20°C durante 4 días, las pérdidas de peso aumentaron significativamente. Este aumento fue muy similar sobre todo a partir de la primera semana de almacenamiento frigorífico donde las pérdidas aumentaron aproximadamente un 4% tras cada estudio de vida útil.

El tratamiento con *Aloe vera* resultó muy eficaz en reducir las pérdidas de peso de las uvas almacenadas a 20°C . Durante los 4 días que duró el estudio de vida útil las uvas tratadas aumentaron sus pérdidas de peso entre un 1.2 y un 2%, mientras que en los controles estos aumentos fueron del 4-5%. De este modo, tras 21 días a 1°C y 4 días a 20°C mientras las uvas control tuvieron unas pérdidas del $13.55 \pm 0.36\%$ las uvas tratadas sólo presentaron $6.55 \pm 0.22\%$ (Figura 3).

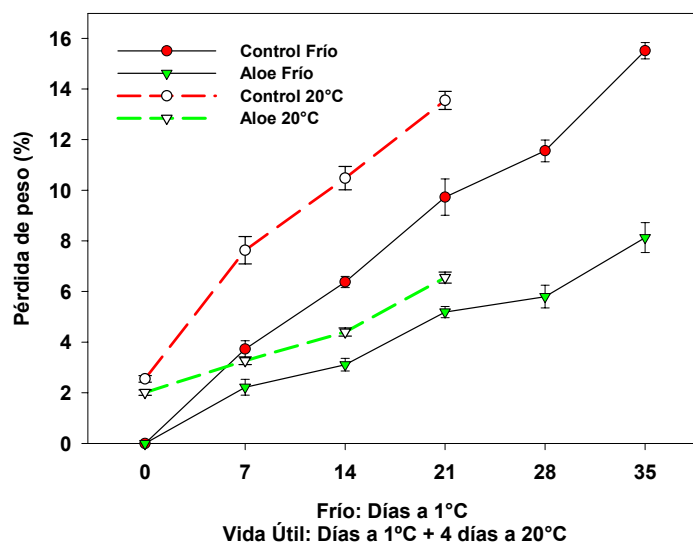


Figura 3. Evolución de la pérdida de peso durante la conservación a 1°C y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío. Los datos son media \pm ES de las determinaciones realizadas en 5 racimos (n=5).

4.1.4. Evolución del color

4.1.4.1. Evolución del parámetro L*

El tratamiento con *Aloe vera* resultó muy efectivo en mantener el brillo de las bayas de uva. Se pudo constatar como en los frutos control durante el almacenamiento frigorífico se produjo una merma en los valores del parámetro de color L*. Esta circunstancia indica que el fruto perdió luminosidad.

En los frutos control, los valores de L* descendieron a lo largo del tiempo de forma muy significativa. El valor inicial fue 34.73 ± 0.74 y descendió hasta 32.02 ± 0.47 tras 35 días de conservación a 1°C, por el contrario, en las uvas tratadas este valor se mantuvo en 34.20 ± 0.47 (Figura 4).

En el estudio de vida útil se comprobó que en las uvas control se producía un descenso de L* mayor que en las frutas tratadas, en las cuales aún siendo estos valores más bajos que durante el almacenamiento en frío no fueron descensos significativos. Las diferencias entre frutas control y tratadas a 20°C fue evidente en todo el experimento, ya que en el día 21 mientras los controles descendieron hasta 31.55 ± 0.16 las tratadas se mantuvieron en 34.02 ± 0.14 (Figura 4).

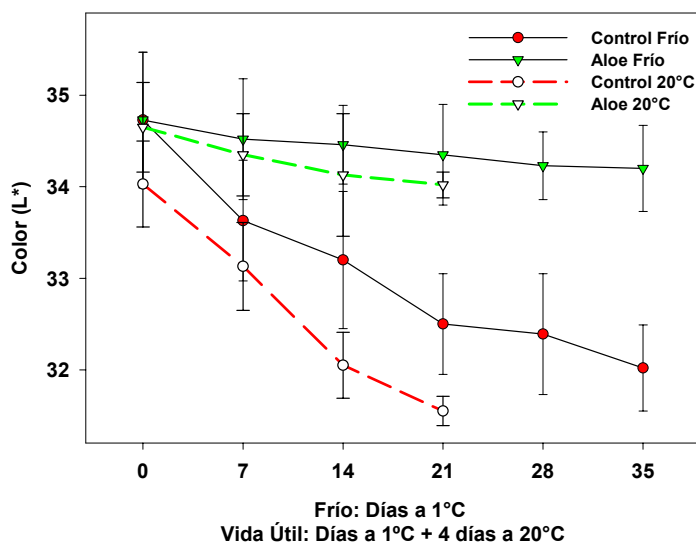


Figura 4. Evolución del parámetro de color L^* durante la conservación a 1°C y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío. Los datos son media \pm ES de las determinaciones realizadas en 10 bayas de 5 racimos ($n=50$).

4.1.4.2. Evolución del parámetro a^*

Los valores positivos del parámetro a^* indican que la fruta presenta una tonalidad rojiza, el aumento en el valor de este parámetro refleja una mayor intensidad en la tonalidad de la piel. Se pudo comprobar que durante el almacenamiento de la uva 'Crimson' se producía un aumento en los valores de a^* , siendo este aumento mucho mayor en las uvas control que en las tratadas.

El valor inicial de a^* fue 9.35 ± 0.54 , tras la primera semana de almacenamiento a 1°C pasó a 15.60 ± 0.71 y posteriormente aumentó ligeramente hasta el final del experimento, día 35, 18.08 ± 0.38 . Se observó una evolución similar en las uvas tratadas, pero en este caso con incrementos del valor de a^* mucho más bajos, puesto que no llegó a superar el valor de 14, por ejemplo el último día de muestreo, 13.71 ± 0.51 (Figura 5).

Tras el estudio de vida útil se comprobó un aumento en el valor de a^* , siendo estos aumentos superiores en las uvas control que en las tratadas. Así tras 21 días a 1°C y 4 días a 20°C las uvas control presentaban un valor de a^* de 18.88 ± 0.32 mientras que en las tratadas con *Aloe vera* este valor sólo llegó a 13.82 ± 0.28 (Figura 5).

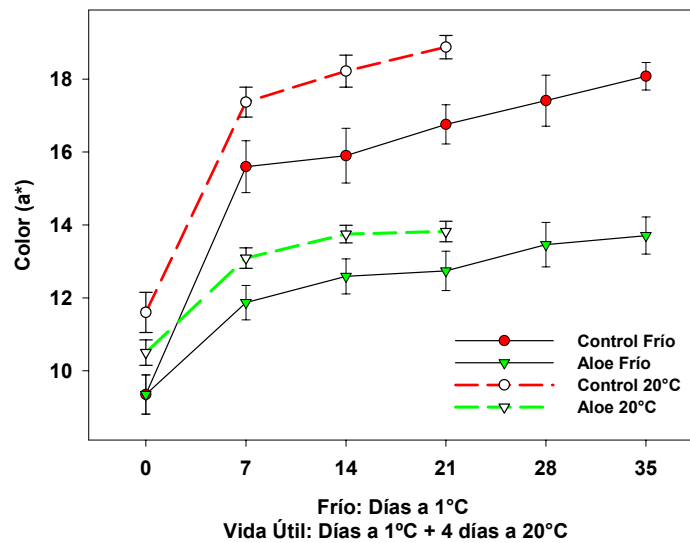


Figura 5. Evolución del parámetro de color a^* durante la conservación a 1°C y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío. Los datos son media \pm ES de las determinaciones realizadas en 10 bayas de 5 racimos ($n=50$).

4.1.4.3. Evolución del parámetro b^*

El parámetro de color b^* evolucionó desde valores negativos (tonos azules) hasta valores positivos (tonos amarillos). En el caso de la uva 'Crimson' el valor de b^* está muy cercano a 0 puesto que la piel de esta uva no tiene pigmentos de estas tonalidades. No obstante, durante la post-recolección de esta uva se observó un aumento del valor de b^* . Así, se observó un fuerte incremento en los primeros 7 días de almacenamiento a 1°C en las uvas control, desde el valor inicial de 0.83 ± 0.36 hasta el final del experimento, día 35, en el que se produjo un leve incremento en el valor de b^* , hasta llegar a valores de 3.44 ± 0.32 (Figura 6).

En cambio, en las uvas tratadas los valores de b^* fueron significativamente menores. Además, la evolución del parámetro b^* no sufrió ningún incremento brusco sino que aumentó paulatinamente y de forma suave hasta el día 35, en el que alcanzó un valor de 2.26 ± 0.51 . Durante el primer muestreo del estudio de vida útil a 20°C , día 0+4, se pudo comprobar importantes diferencias significativas entre las uvas control y las tratadas con

Aloe vera, ya que mientras que las control obtuvieron un valor de b^* de 2.20 ± 0.42 las tratadas sólo consiguieron 0.04 ± 0.31 (Figura 6). Posteriormente los valores de b^* fueron algo superiores a los obtenidos tras el almacenamiento frigorífico pero sin diferencias significativas, aunque siempre

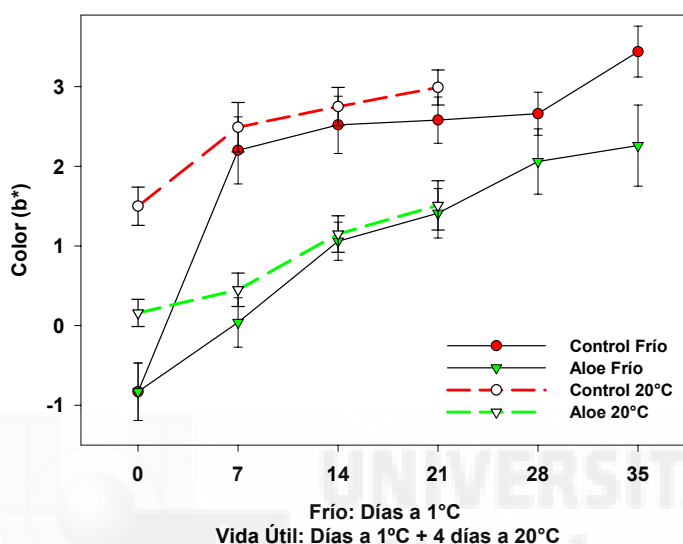


Figura 6. Evolución del parámetro de color b^* durante la conservación a 1°C y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío. Los datos son media \pm ES de las determinaciones realizadas en 10 bayas de 5 racimos ($n=50$).

inferiores a las que presentaban las uvas control.

4.1.4.4. Evolución del índice Croma*

El índice Croma* tuvo una evolución similar a los parámetros a^* y b^* , sin embargo, existieron mayores diferencias significativas entre las uvas tratadas y las control. Los mayores incrementos se produjeron durante la primera semana de almacenamiento a 1°C , y posteriormente, los niveles aumentaron ligeramente. Así, en el día 0 se obtuvo un valor de Croma* de 9.39 ± 0.54 y pasó al día 35 de almacenamiento a 18.40 ± 0.38 en los controles y a 13.90 ± 0.51 en las tratadas (Figura 7).

En el estudio de vida útil se observó que se producía un aumento del índice de croma* aproximadamente de 2 unidades en las uvas control y de 1 punto en las tratadas con *Aloe vera*. Así, tras 21 días a 1°C más 4 días a 20°C

las uvas control obtuvieron 19.11 ± 0.66 y las tratadas 13.92 ± 0.66 (Figura 7). En cualquier caso, los valores del índice Croma* siempre fueron significativamente más bajos en las uvas tratadas que en las control.

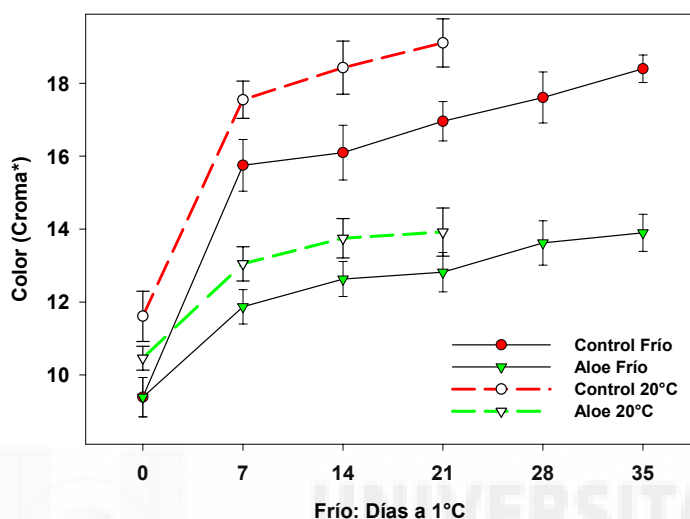


Figura 7. Evolución del índice de color Croma* durante la conservación a 1°C y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío. Los datos son media \pm ES de las determinaciones realizadas en 10 bayas de 5 racimos (n=50).

4.1.4.5. Evolución del contenido de antocianos totales en piel

La evolución del contenido de antocianos expresado en mg equivalentes de cianidín-3-glucósido 100 g^{-1} de peso fresco de piel, aumentó a lo largo del almacenamiento a 1°C. Estos aumentos fueron significativamente menores en las uvas tratadas con *Aloe vera*. Así, el valor inicial del contenido de antocianos totales fue $17.58 \pm 1.62 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$, y en el último día de muestreo, día 35, este valor fue en los controles de $46.04 \pm 2.22 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ y en las uvas tratadas sólo llegó a $30.06 \pm 1.34 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ (Figura 8).

Tras el primer estudio de vida útil, 4 días a 20°C después del momento de recolección, se observó un comportamiento muy diferente entre las uvas control y las tratadas. Mientras que en las uvas control incrementó el contenido en antocianos hasta $22.40 \pm 1.65 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$, en las tratadas se mantuvo prácticamente con un valor similar al momento de recolección, $17.99 \pm 1.21 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$. En los siguientes muestreos los incrementos que se

obtuvieron tras los 4 días a 20°C no fueron significativamente diferentes entre los alcanzados por las uvas tratadas y control. Se observaron aumentos entre 3 y 5 unidades del valor obtenido en el almacenamiento a 1°C, pero siempre el contenido en antocianos fue significativamente superior en las uvas control que en las tratadas.

El tratamiento con *Aloe vera* resultó muy eficaz en este estudio de vida útil, ya que por ejemplo el último día de muestreo de vida útil a 20°C, día 21+4, las uvas control alcanzaron un valor de 39.97 ± 2.11 mg 100 g⁻¹ y las uvas tratadas se mantuvieron en 29.46 ± 1.58 mg 100 g⁻¹ (Figura 8).

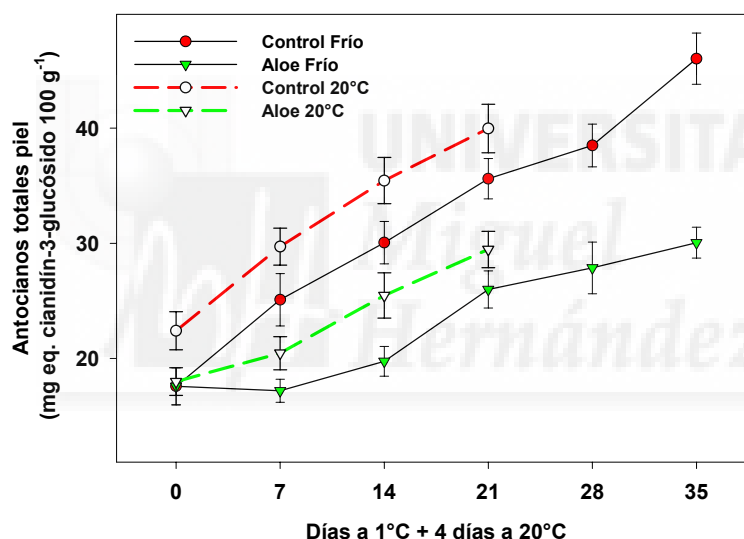


Figura 8. Evolución del contenido de antocianos totales durante la conservación a 1°C y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío. Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.1.5. Evolución de la firmeza

La firmeza de la uva 'Crimson' se determinó en la baya mediante ensayo por compresión (N) y en la pulpa por penetración (N mm^{-1}).

4.1.5.1. Evolución de la firmeza de la baya

El valor inicial de la firmeza de la baya fue $3.13 \pm 0.21 \text{ N mm}^{-1}$, observándose un proceso de ablandamiento a lo largo del almacenamiento frigorífico. Este descenso en la firmeza de la baya de las uvas control se prolongó hasta el día 28 con un valor de $0.76 \pm 0.03 \text{ N mm}^{-1}$ y posteriormente se mantuvo hasta el último muestreo, día 35, ($0.72 \pm 0.02 \text{ N mm}^{-1}$) (Figura 9).

Por el contrario, en las uvas tratadas con *Aloe vera*, durante la primera semana de conservación a 1°C no se produjo una pérdida de firmeza ($3.18 \pm 0.15 \text{ N mm}^{-1}$). Posteriormente, los frutos se fueron ablandando ligeramente hasta el día 21 con un valor de firmeza de $2.54 \pm 0.08 \text{ N mm}^{-1}$ y tras esta fecha el ablandamiento fue mucho más intenso, pero, siempre se obtuvieron valores significativamente superiores a las uvas control.

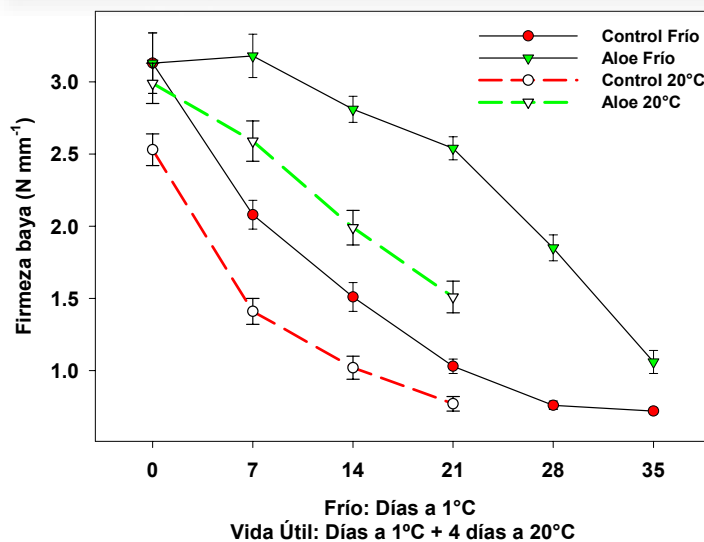


Figura 9. Evolución de la firmeza de la baya durante la conservación a 1°C y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío. Los datos son media \pm ES de las determinaciones realizadas en 10 bayas de 5 racimos ($n=50$).

En el estudio de vida útil, la firmeza de la baya descendió de forma significativa. Sin embargo, las uvas tratadas con el recubrimiento mantuvieron valores de firmeza muy superiores durante el almacenamiento frigorífico, presentándose importantes diferencias entre uvas control y tratadas tras el estudio de vida útil. Por ejemplo, tras 7 días a 1°C y 4 días a 20°C la firmeza en las uvas control descendió hasta $1.41 \pm 0.09 \text{ N mm}^{-1}$ y en las tratadas hasta $2.59 \pm 0.14 \text{ N mm}^{-1}$. Finalmente, el día 21+4 los valores fueron $0.77 \pm 0.05 \text{ N mm}^{-1}$ y $1.51 \pm 0.11 \text{ N mm}^{-1}$, respectivamente (Figura 9).

4.1.5.2. Evolución de la firmeza de la pulpa

Al determinar la firmeza de la pulpa se observaron importantes diferencias significativas entre las uvas control y las tratadas. Este comportamiento se observó tanto durante el almacenamiento a 1°C como en los estudios de vida útil donde resultó todavía más efectivo (Figura 10).

El valor de firmeza inicial expresado como resistencia a la penetración fue de $3.73 \pm 0.14 \text{ N}$. Durante el almacenamiento a 1°C, las uvas sufrieron un paulatino ablandamiento, siendo significativamente más pronunciado en las uvas control. Las mayores diferencias se presentaron al final del experimento, por ejemplo, el día 35, las uvas control tenían un valor de firmeza de $2.08 \pm 0.13 \text{ N}$ (habían sufrido un ablandamiento del 44% respecto al momento de recolección) y las tratadas se mantuvieron en $2.96 \pm 0.15 \text{ N}$ (solamente un 20% de ablandamiento) (Figura 10).

Como ya se ha comentado anteriormente el tratamiento resultó altamente eficaz en mantener la firmeza de las frutas almacenadas a 20°C, por lo que tras cada estudio de vida útil las frutas control se ablandaron drásticamente. Por ejemplo, el día 0 más 4 días a 20°C, las uvas control tuvieron un valor de $2.77 \pm 0.15 \text{ N}$, en sólo 4 días la firmeza bajó 1 N. Finalmente, el último día de muestreo, día 21+4, el valor de la firmeza de las uvas control fue $1.72 \pm 0.16 \text{ N}$. Sin embargo, a pesar de que la temperatura de 20°C consiguió ablandar de forma tan significativa las uvas control, en las uvas tratadas se mantuvo la firmeza de forma considerable. Así, el último día de muestreo, las uvas tratadas con *Aloe vera* mantuvieron la firmeza con un valor de $3.03 \pm 0.14 \text{ N}$. De este modo, para este día de muestreo, mientras las uvas control sufrieron un ablandamiento de aproximadamente un 54% en las uvas tratadas este descenso en la firmeza sólo supuso el 19% (Figura 10).

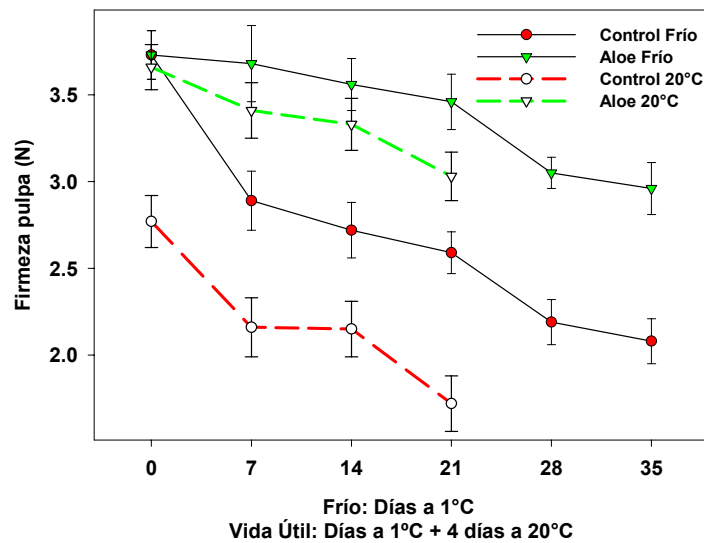


Figura 10. Evolución de la firmeza de la pulpa durante la conservación a 1°C y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío. Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.1.6. Evolución del contenido de sólidos solubles

El contenido de sólidos solubles se expresó en °Brix. Se observó un aumento significativo a lo largo de la conservación postcosecha de la uva de mesa 'Crimson'. El valor inicial fue de 20.59 ± 0.10 °Brix y el último día de muestreo tras el almacenamiento a 1°C las uvas control presentaron un contenido en sólidos solubles de 24.97 ± 0.20 °Brix (Figura 11). Sin embargo, en las uvas tratadas a pesar de que también experimentaron un aumento en el contenido en sólidos solubles, estos valores fueron muy inferiores a los alcanzados por las uvas control en los mismos periodos de almacenamiento. De este modo, el día 35 las uvas tratadas con *Aloe vera* presentaron un contenido de sólidos solubles de 22.55 ± 0.22 °Brix. El estudio de vida útil demostró que las uvas control aumentaron significativamente su contenido en sólidos solubles muy por encima del valor alcanzado por las uvas tratadas. De este modo, las uvas sometidas al tratamiento de recubrimiento pasaron desde 21.87 ± 0.19 °Brix el día 21 en frío a 22.11 ± 0.18 °Brix tras 4 días a 20°C; sin embargo en las uvas control estos valores fueron muy superiores 22.72 ± 0.19 °Brix y 23.94 ± 0.16 °Brix en frío y a 20°C, respectivamente (Figura 11).

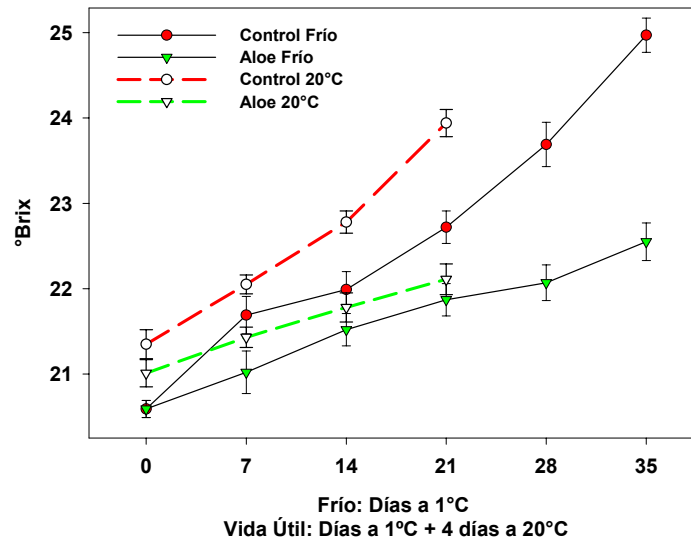


Figura 11. Evolución del contenido en sólidos solubles durante la conservación a 1°C y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío. Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.1.7. Evolución del contenido de azúcares en la pulpa

Tras la determinación del contenido de azúcares en la pulpa se identificaron glucosa y fructosa como mayoritarias, y sacarosa y dextrosa como minoritarios. Este último en un contenido muy bajo.

4.1.7.1. Evolución del contenido de glucosa en la pulpa

El valor inicial de glucosa en la pulpa de la uva 'Crimson' fue de $7.69 \pm 0.49\%$. Durante el almacenamiento a 1°C, las uvas control experimentaron un aumento significativo en el contenido de este azúcar, hasta llegar a un valor próximo a 14% el día 28, y a partir de entonces se mantuvo hasta el final del periodo de conservación. Por el contrario, en las uvas tratadas con *Aloe vera* se observó sólo un ligero aumento durante la conservación a 1°C, presentando un contenido de glucosa del $9.13 \pm 0.46\%$ el día 35 (Figura 12).

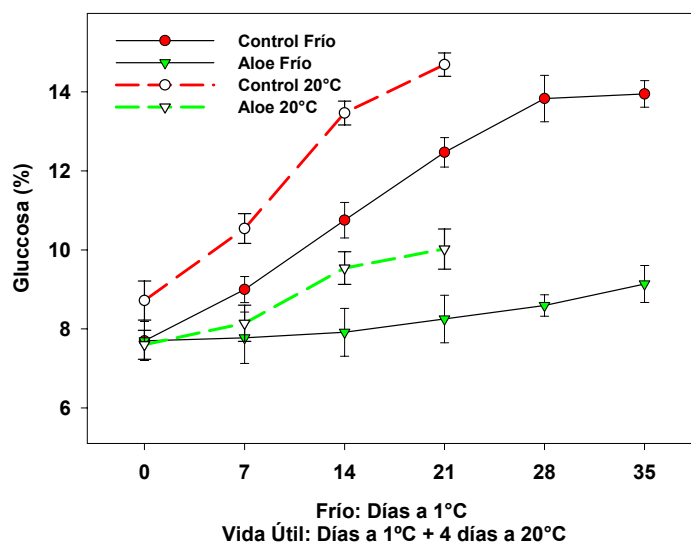


Figura 12. Evolución del contenido de glucosa durante la conservación a 1°C y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío. Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

Tras el estudio de vida útil a 20°C se observó un aumento significativo en el contenido de glucosa sobre todo a partir del día 14, tanto en las controles como en las tratadas. Así, los contenidos máximos se alcanzaron en el último muestreo, día 21+4, momento en el que las controles contenían $14.69 \pm 0.29\%$ y las uvas tratadas tan sólo $10.02 \pm 0.51\%$.

4.1.7.2. Evolución del contenido de fructosa en la pulpa

La evolución del contenido de fructosa fue muy similar al de glucosa comentada anteriormente. El contenido inicial fue muy similar $7.51 \pm 0.30\%$ y también se observó un aumento muy significativo en las uvas control a lo largo del almacenamiento, tanto a 1°C como a 20°C. No se apreciaron diferencias significativas en el contenido de fructosa durante la primera semana de conservación respecto al día 0, ni en uvas control ni en las tratadas. Sin embargo, a partir de este momento las uvas control incrementaron significativamente su contenido en fructosa (día 35, $13.55 \pm 0.33\%$) mientras que, por el contrario, las uvas tratadas sólo aumentaron la concentración de este azúcar a partir del día 28, alcanzando un valor de $9.71 \pm 0.22\%$ el día 35 significativamente menor que el de las uvas control (Figura 13).

Al transferir los frutos a 20°C también se observó un aumento en el contenido de fructosa, cuya evolución resultó similar a la observada en el caso de la glucosa bajo estas condiciones de conservación. Así, las uvas tratadas mostraron incrementos de fructosa muy bajos mientras que en las uvas control estos aumentos resultaron muy significativos. Por ejemplo, tras 21 días a 1°C más 4 días a 20°C, las uvas control presentaron una concentración de $13.99 \pm 0.29\%$ y por el contrario las uvas tratadas se mantuvieron en un contenido de fructosa de $9.58 \pm 0.51\%$ (Figura 13).

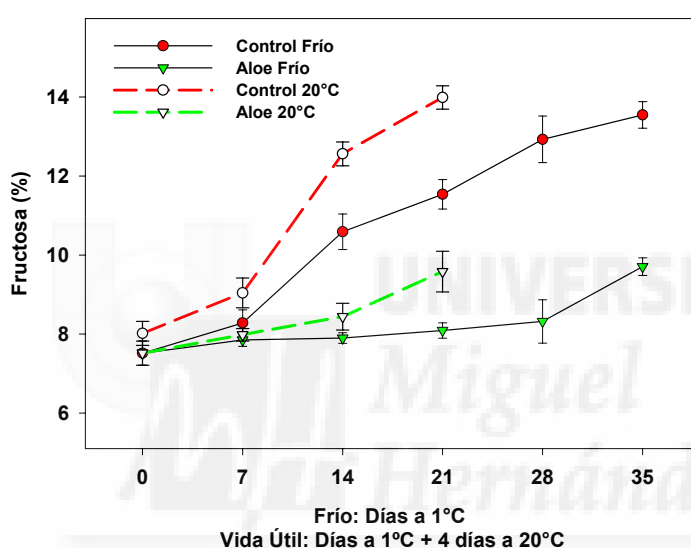


Figura 13. Evolución del contenido de fructosa durante la conservación a 1°C y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío. Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.1.7.3. Evolución del contenido de sacarosa en la pulpa

Como ya se ha comentado anteriormente el contenido en sacarosa fue muy bajo respecto al contenido total de azúcares. No obstante, la evolución del contenido de este azúcar durante la conservación postcosecha de la uva 'Crimson' fue análoga a la observada en glucosa y fructosa. Se produjo un rápido incremento significativo en el contenido de sacarosa durante el almacenamiento a 1°C y este incremento fue todavía mayor al transferir los frutos a 20°C.

El contenido inicial de sacarosa fue $0.15 \pm 0.02\%$ y en las uvas control pasó tras 35 días a 1°C a un valor de $0.52 \pm 0.04\%$, mientras que tras 21 días a 1°C y 4 días más a 20°C este contenido fue de $0.48 \pm 0.04\%$. Por el contrario en las uvas tratadas con el recubrimiento de *Aloe vera*, apenas aumentó la sacarosa hasta la 3ª semana de conservación en frío y sólo hasta el día 35 no se apreció un aumento significativo en el contenido de este azúcar (Figura 14).

A 20°C se observó un aumento en el contenido de sacarosa desde el primer día de muestreo en las uvas control (día 0+4 días a 20°C , $0.19 \pm 0.02\%$), sin embargo este aumento no se apreció hasta el día 14+4 en las tratadas. El último día de muestreo, día 21+4, las control contenían $0.48 \pm 0.04\%$ y las tratadas $0.25 \pm 0.04\%$.

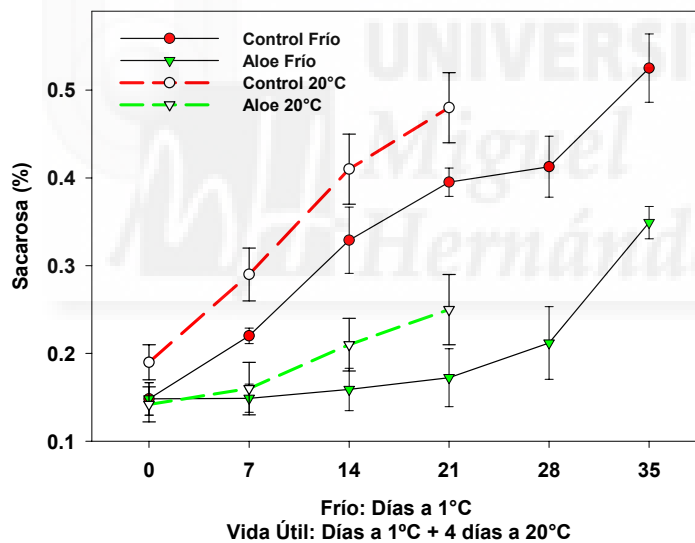


Figura 14. Evolución del contenido de sacarosa durante la conservación a 1°C y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío. Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.1.8. Evolución de la acidez titulable

La acidez de las uvas control descendió de forma significativa durante los primeros 14 días de almacenamiento a 1°C, y posteriormente se mantuvo en estos valores alcanzados hasta el final del experimento. Por el contrario, en las uvas tratadas con el recubrimiento de *Aloe vera* durante las dos primeras semanas de conservación, la acidez no se vió alterada y sólo a partir de entonces se inició un ligero descenso que continuó hasta el último día de muestreo. El valor de la acidez de las uvas en el momento de la recolección fue 0.52 ± 0.02 g equivalentes de ácido tartárico 100 g^{-1} de peso fresco. Tras 35 días de almacenamiento en frío las uvas control presentaron un valor de 0.39 ± 0.02 g 100 g^{-1} y las uvas tratadas 0.45 ± 0.01 g 100 g^{-1} (Figura 15).

En el estudio de vida útil se observaron importantes diferencias significativas debidas al efecto del *Aloe vera*. Así, mientras las uvas control bajaron su acidez en el primer muestreo (día 0+4 días a 20°C) hasta 0.46 ± 0.51 g en las uvas tratadas se mantuvo en 0.51 ± 0.01 g, igualmente los valores finales (día 21+4) fueron 0.33 ± 0.01 y 0.45 ± 0.01 , respectivamente (Figura 15).

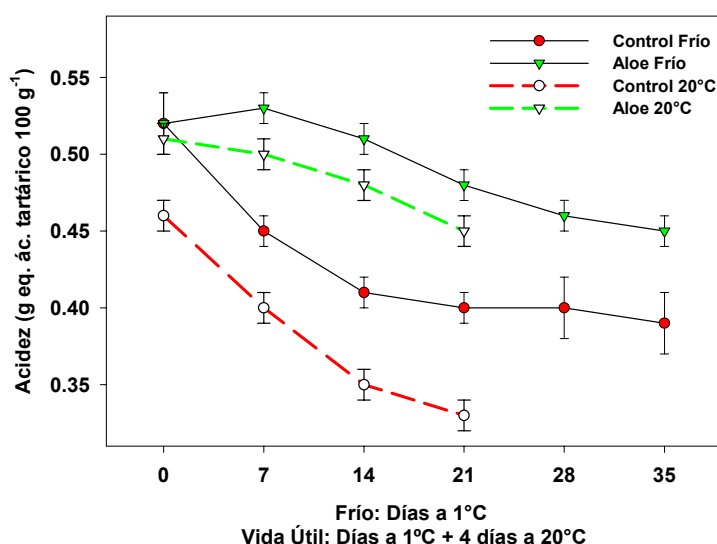


Figura 15. Evolución de la acidez titulable durante la conservación a 1°C y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío. Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.1.9. Evolución del contenido de ácidos orgánicos en la pulpa

El ácido orgánico mayoritario resultó ser el tartárico, mientras que otros ácidos minoritarios que se identificaron fueron, oxálico, cítrico, málico, ascórbico, succínico y fumárico. Sólo se mostrarán los contenidos de tartárico, por ser mayoritario, y del ascórbico debido a su importancia como vitamina C.

4.1.9.1. Evolución del contenido de ácido tartárico en la pulpa

La evolución del ácido tartárico fue similar al de la acidez, ya que éste fue el ácido orgánico mayoritario. El contenido de ácido tartárico en las uvas el día de recolección fue 0.52 ± 0.03 g 100 g⁻¹ de pulpa. Este valor descendió significativamente a lo largo del almacenamiento frigorífico en las uvas control llegando hasta 0.28 ± 0.02 g 100 g⁻¹ tras 56 días de almacenamiento frigorífico. Sin embargo este descenso no fue tan drástico en las uvas tratadas, 0.42 ± 0.03 g 100 g⁻¹ (Figura 16).

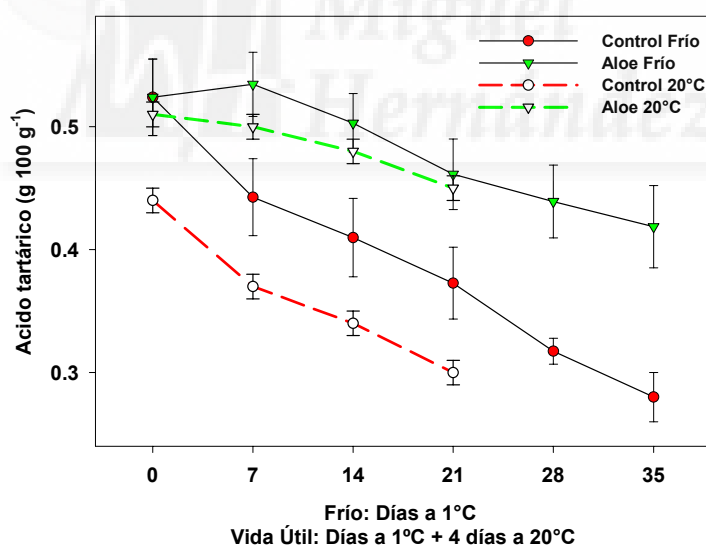


Figura 16. Evolución del contenido de ácido tartárico durante la conservación a 1°C y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío. Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

Durante el estudio de vida útil se constató que las uvas control sufrieron los mayores descensos de ácido tartárico, siendo estas pérdidas

mayores cuanto más tiempo se prolongó el almacenamiento a 1°C. Así, el último día de muestreo, día 21+4, los controles contenían $0.30 \pm 0.01 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ de ácido tartárico y las tratadas con *Aloe vera* $0.45 \pm 0.01 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$, lo que representa un mantenimiento significativo del contenido de ácido tartárico.

4.1.9.2. Evolución del contenido de ácido ascórbico en la pulpa

El contenido inicial de ácido ascórbico fue $23.46 \pm 1.20 \text{ mg}$ por 100 g de peso fresco. El almacenamiento frigorífico no bastó como método de conservación en el mantenimiento del ascórbico. Tal es así, que durante el periodo de tiempo que se prolongó la conservación a 1°C se produjeron importantes mermas en el contenido de este ácido. Así, el último día de experimento, día 35, tan sólo contenían $5.45 \pm 0.54 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$. No obstante, las bajas temperaturas sí retrasaron la disminución de la concentración de ascórbico puesto que cuando las uvas llevaban 14 días de almacenamiento a 1°C contenían $13.52 \pm 0.95 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ y transferidas a 20°C durante 4 días el contenido de ascórbico bajó hasta $6.78 \pm 0.54 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ (Figura 17).

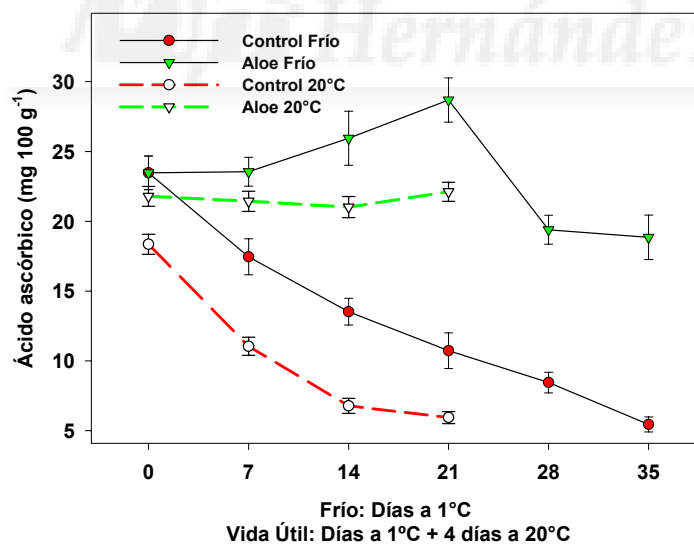


Figura 17. Evolución del contenido de ácido ascórbico durante la conservación a 1°C y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío. Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

Al analizar las uvas tratadas se encontró que durante los 21 primeros días de almacenamiento frigorífico se incrementó ligeramente el contenido de ácido ascórbico, finalmente se produjo un descenso en el contenido de este ácido, alcanzando el día 35 unos valores de $18.84 \pm 1.59 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$. A 20°C el resultado fue muy positivo, puesto que el ácido ascórbico se mantuvo e incluso aumentó el último día de muestreo respecto al valor inicial (día 21, $22.11 \pm 0.68 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$), este contenido fue casi 4 veces superior al de los controles en esas mismas condiciones que era de $5.94 \pm 0.43 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$.

4.1.10. Evolución del índice de madurez

El índice de madurez se calcula como la relación entre el contenido de sólidos solubles y la acidez titulable. Como ya se ha comentado anteriormente en los (puntos 4.1.6. y 4.1.8 y Figuras 11 y 15) los sólidos solubles aumentaron y la acidez disminuyó durante la conservación de la uva 'Crimson', por tanto el índice de madurez aumentó significativamente durante el almacenamiento de esta uva. El valor de índice de madurez en el momento de la recolección fue de 39.59 ± 1.00 . A lo largo de la frigoconservación se constató un aumento significativo en el índice de madurez, de manera que el último día de muestreo, día 35, este índice alcanzó el valor de 64.02 ± 2.00 (Figura 18). Las uvas tratadas con el recubrimiento de *Aloe vera* mostraron también una tendencia a aumentar el índice de madurez durante el almacenamiento a 1°C .

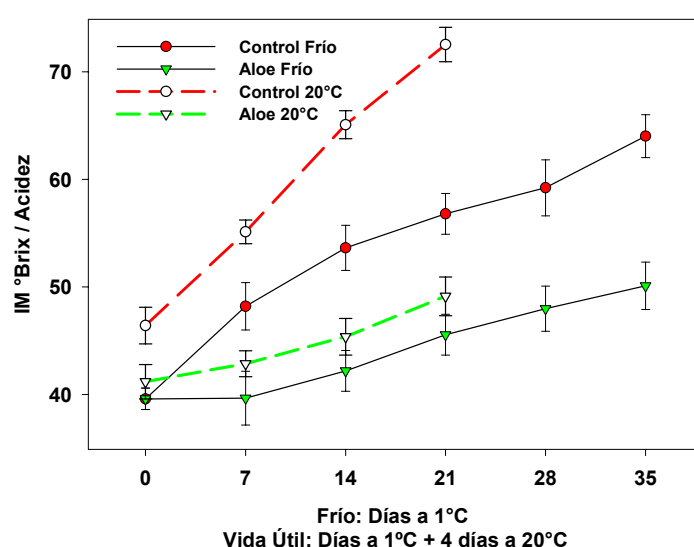


Figura 18. Evolución del índice de madurez durante la conservación a 1°C y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío. Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

No obstante, estos incrementos fueron ligeros y se iniciaron a partir de la 1ª semana de conservación. El índice de madurez de la uva tratada al final del periodo de conservación a 1°C fue 50.11 ± 2.20 . Cuando se transfirieron las uvas a 20°C durante 4 días se observó un aumento significativo en el índice de madurez, siendo estos incrementos fueron mayores cuanto mayor fue el tiempo de almacenamiento; así, tras 21 días de frío el índice de madurez fue de 72.54 ± 1.60 . En las uvas tratadas no se apreciaron incrementos tan elevados sino que apenas aumentaron 4 ó 5 unidades el índice de madurez que presentaban al salir de la conservación a 1°C; por ejemplo, tras 21 días a 1°C el índice de madurez fue 45.56 ± 1.90 y 4 días más tarde a 20°C este índice fue de 49.13 ± 1.80 (Figura 18).

4.1.11. Evolución de la actividad antioxidante total

4.1.11.1. Evolución de la actividad antioxidante total en piel

La actividad antioxidante total (AAT) de la piel de la uva 'Crimson' en el momento de la recolección fue 396.81 ± 21.10 mg equivalentes de ácido ascórbico 100 g^{-1} de peso fresco. A lo largo del almacenamiento frigorífico se observó un descenso paulatino y significativo de esta actividad en las uvas control. De este modo, el último día de muestreo se alcanzó la menor actividad antioxidante (día 35, 179.70 ± 9.65 mg 100 g^{-1}). Por el contrario, cuando las uvas se trataron con el recubrimiento de *Aloe vera*, la actividad antioxidante aumentó respecto al valor del momento de recolección, alcanzando el día 14 de conservación a 1°C un valor de 437.01 ± 22.10 mg 100 g^{-1} , a partir de este momento la actividad antioxidante se mantuvo en los valores cercanos al inicial, excepto al final del experimento que descendió hasta un valor de 316.82 ± 20.20 mg 100 g^{-1} , si bien muy por encima del valor alcanzado por la uva control (Figura 19).

La temperatura de 20°C provocó un descenso de la actividad antioxidante tanto en uvas control como tratadas. Durante el estudio de vida útil se produjeron descensos del valor de la actividad antioxidante de entre 40 y 70 mg 100 g⁻¹ en las uvas control, sin embargo, en las uvas tratadas estos descensos fueron muy bajos durante las dos primeras semanas de conservación y aumentaron significativamente al final del experimento. Se observó que en las uvas tratadas los descensos de actividad antioxidante eran mayores que los producidos en las uvas control, pero los valores absolutos de la actividad antioxidante de las uvas tratadas siempre permanecieron muy superiores a la de los controles. Por ejemplo, tras 21 días a 1°C y 4 días a 20°C las uvas tratadas tenían 315.55±23.40 mg 100 g⁻¹ y las controles 211.80±15.05 mg 100 g⁻¹ (Figura 19).

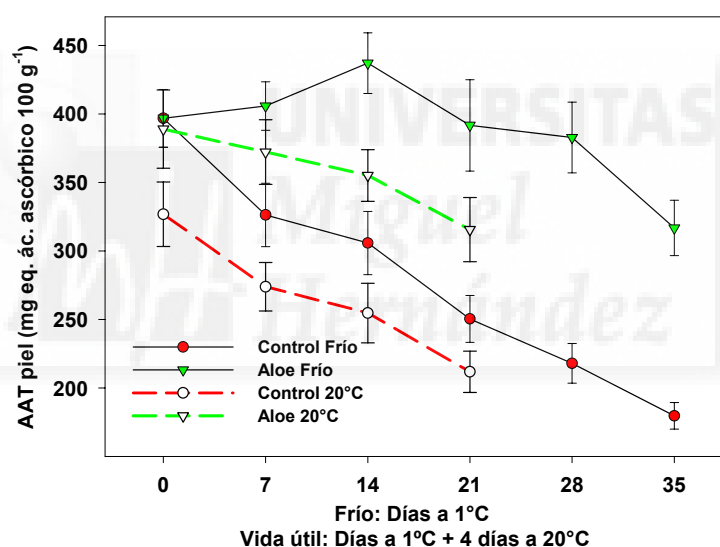


Figura 19. Evolución de la actividad antioxidante total en piel durante la conservación a 1°C y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío. Los datos son media ± ES de 10 determinaciones.

4.1.11.2. Evolución de la actividad antioxidante total en pulpa

La evolución de la actividad antioxidante total en pulpa fue similar a la observada en la de la piel. Los valores de esta actividad sin embargo fueron muy diferentes, pues se constató que la AAT de la pulpa era aproximadamente 4 veces menor que la de la piel. El valor inicial fue 94.41±5.05 mg 100 g⁻¹. En las uvas control sometidas a almacenamiento a 1°C este contenido descendió

drásticamente durante la primera semana de experimento, bajando hasta 69.27 ± 3.57 mg 100 g $^{-1}$ y posteriormente ya no se apreciaron cambios significativos hasta el final del periodo de conservación a 1°C (Figura 20).

En las uvas tratadas con *Aloe vera*, su comportamiento fue muy diferente, ya que en vez de disminuir la AAT con el paso del tiempo se produjo un aumento significativo que se prolongó hasta el día 21 (117.38 ± 6.64 mg 100 g $^{-1}$) para posteriormente descender pero manteniéndose con valores superiores a los iniciales en el día 35 (99.75 ± 3.00 mg, 100 g $^{-1}$) (Figura 20).

En el estudio de la vida útil se observó un descenso de la actividad antioxidante tanto en las uvas control como en las tratadas. Al igual que sucedió en la piel, los mayores descensos se produjeron en las uvas controles, pero como partían de valores muy superiores en la refrigeración, los valores finales de AAT de las uvas tratadas fueron muy superiores a las control. Por ejemplo, el día 21+4 las uvas control poseían 55.95 ± 2.31 mg 100 g $^{-1}$ y las tratadas 84.62 ± 5.87 mg 100 g $^{-1}$ (Figura 20).

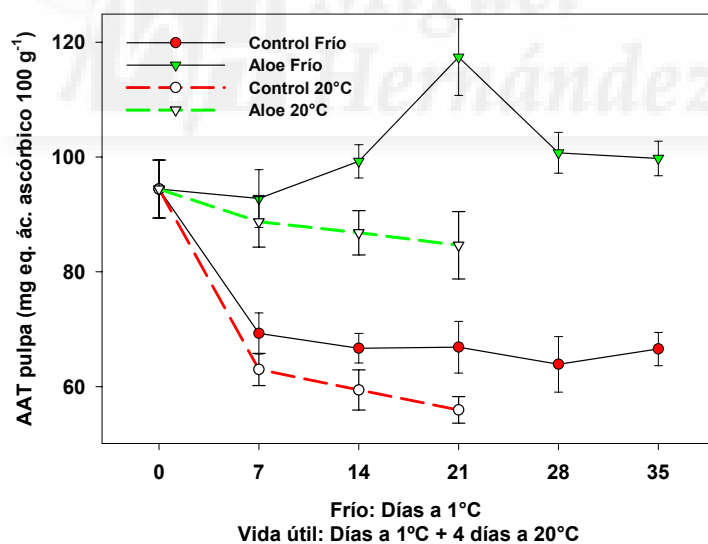


Figura 20. Evolución de la actividad antioxidante total en pulpa durante la conservación a 1°C y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío. Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.1.12. EVOLUCIÓN DEL CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES

4.1.12.1. Evolución del contenido de polifenoles totales en piel

El contenido inicial de polifenoles en la piel fue 53.59 ± 3.07 mg equivalentes de ácido gálico 100 g^{-1} de piel. A lo largo del almacenamiento a 1°C , las uvas control sufrieron un brusco descenso en el contenido de polifenoles, siendo este descenso más pronunciado durante la primera semana, con valores de 35.73 ± 2.88 mg 100 g^{-1} . A partir de este momento, los polifenoles disminuyeron a razón de 5 a $10 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ semanalmente.

Por el contrario, las uvas tratadas con el recubrimiento de *Aloe vera* no sufrieron un descenso tan drástico en su contenido de polifenoles. El tratamiento ayudó a mantener los polifenoles en la piel hasta el día 14, y a partir de entonces se observó un ligero descenso hasta el final del experimento, donde en el último día de muestreo contenían 40.65 ± 1.19 mg 100 g^{-1} , casi 6 veces más que las uvas control en las mismas condiciones de conservación (Figura 21).

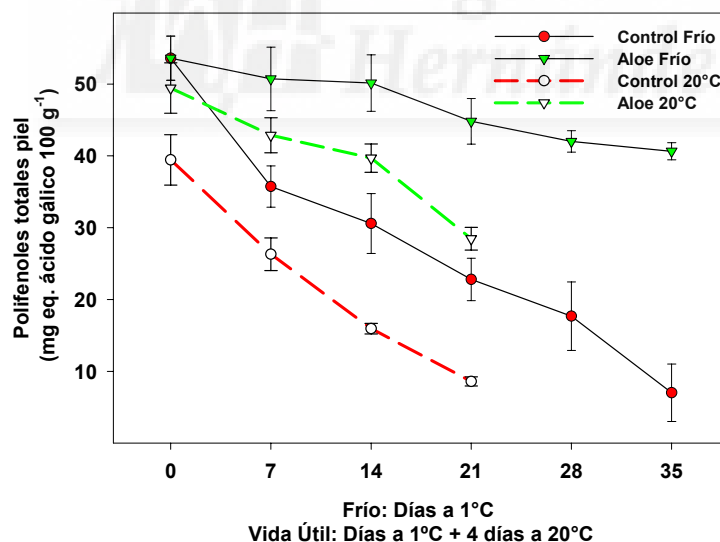


Figura 21. Evolución del contenido en polifenoles totales en piel durante la conservación a 1°C y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío. Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

Al transferir las uvas a 20°C no se observaron diferencias significativas atribuidas al tratamiento, puesto que todas las uvas descendieron su contenido de polifenoles entre 11 y 16 mg 100 g⁻¹ cada vez que se realizó la conservación a 20°C. No obstante los valores finales las uvas tratadas siempre fueron superiores a los de las uvas control, tanto las que se sometieron al estudio de vida útil como las que se mantuvieron en frío. Por ejemplo el día 21, las uvas control refrigeradas contenían 22.79±2.96 mg 100 g⁻¹, tras 4 días a 20°C este valor descendió hasta 8.59±0.63 mg 100 g⁻¹, mientras que las uvas tratadas tras 21 días a 1°C y 4 días a 20°C poseían 28.46 ± 1.58 mg 100 g⁻¹ (Figura 21).

4.1.12.2. Evolución del contenido de polifenoles totales en pulpa

El contenido inicial de polifenoles en la pulpa fue 10.10±0.29 mg equivalentes de ácido gálico 100 g⁻¹ de pulpa. Este contenido descendió de forma muy significativa tras 4 días a 20 °C a valores de 7.43±0.35 mg 100 g⁻¹ y también descendió drásticamente tras 1 semana a 1°C (6.67±0.66 mg 100 g⁻¹). Durante el resto de conservación frigorífica se produjo un ligero descenso en el contenido de los polifenoles hasta llegar al día 35 con un valor de 5.01±0.31 mg 100 g⁻¹ (Figura 22).

Por el contrario en las uvas tratadas con *Aloe vera* no se produjeron descensos significativos en el contenido de polifenoles hasta el día 28 de muestreo (6.94±0.19 mg 100 g⁻¹), si bien siempre se obtuvieron contenidos superiores a las uvas control.

En el estudio de vida útil se comprobó como tanto en las uvas control como en las tratadas se producían pérdidas en el contenido de polifenoles, sin diferencias debidas al tratamiento. No obstante, las uvas tratadas siempre mantuvieron un contenido de polifenoles superior a las uvas control, tanto sometidas al estudio de vida útil como las que permanecieron en refrigeración. Así, tras 21 días a 1°C las uvas control presentaban 5.78±0.14 mg 100 g⁻¹ y estas mismas uvas tras 4 días más a 20 °C descendieron su contenido en polifenoles a 4.50±0.12 mg 100 g⁻¹; sin embargo, las uvas tratadas con *Aloe vera* tras estas mismas condiciones de conservación mantuvieron un contenido de 6.74±0.34 mg 100 g⁻¹ (Figura 22).

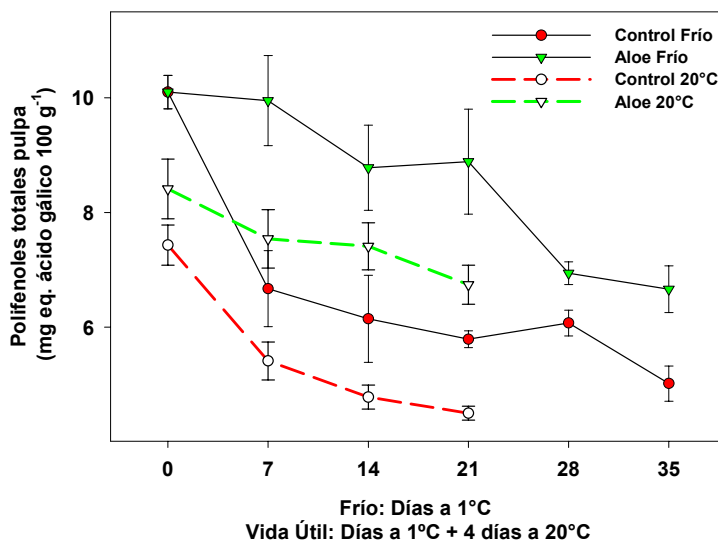


Figura 22. Evolución del contenido en polifenoles totales en pulpa durante la conservación a 1°C y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío. Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.1.13. Correlaciones

4.1.13.1. Correlaciones piel: antocianos-AAT-polifenoles

Se llevó a cabo un estudio de regresión de los resultados obtenidos en la piel de la uva 'Crimson'. Para ello se tomaron los contenidos de antocianos totales (Apartado 4.1.5. y Figura 8), actividad antioxidante total en piel (Apartado 4.1.10.1. y Figura 19) y contenido de polifenoles totales en piel (Apartado 4.1.11.1. y Figura 21).

Así, se ha comprobado que existió una elevada correlación $r^2=0.98$ entre la actividad antioxidante total y el contenido de polifenoles (Figura 23). Como se pudo observar anteriormente, ambos disminuyeron a lo largo de la conservación post-cosecha de la uva 'Crimson'. Sin embargo entre el contenido de antocianos que incrementaron con el paso del tiempo y la actividad antioxidante total que descendió existió una correlación muy alta $r^2=0.99$, pero proveniente de una ecuación de pendiente negativa. Por tanto, se puede inferir que la participación de los antocianos en la actividad antioxidante es prácticamente nula con relación a la que proporcionan el resto de polifenoles que contiene la piel de la uva.

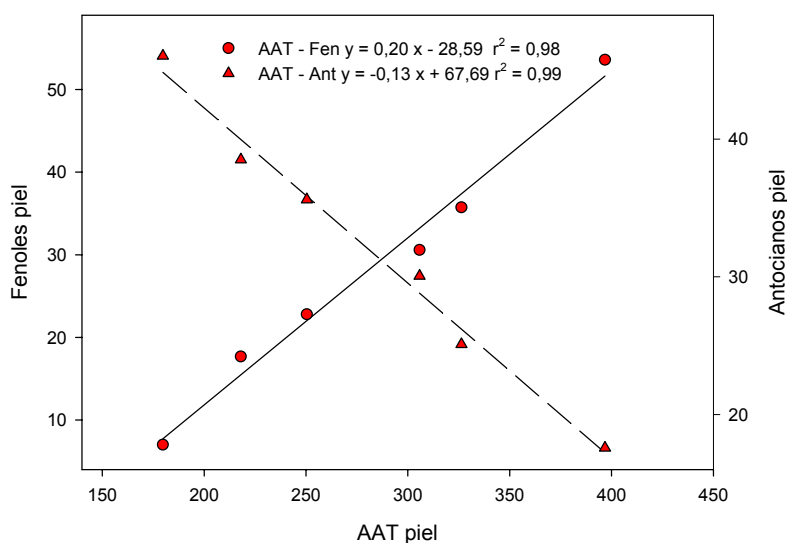


Figura 23. Correlaciones entre el contenido de antocianos, actividad antioxidante y polifenoles totales en piel.

4.1.13.2. Correlaciones pulpa: ác. ascórbico-AAT-polifenoles

Del mismo modo que en la piel también se estudiaron los resultados obtenidos en la pulpa de la uva 'Crimson'. Las regresiones se realizaron entre el contenido de ácido ascórbico (Apartado 4.1.9.2. y Figura 17), la actividad antioxidante total (Apartado 4.1.10.2. y Figura 20) y el contenido de polifenoles totales (Apartado 4.1.11.2. y Figura 22). Los resultados mostraron que existió una elevada correlación entre la actividad antioxidante total y el contenido de fenoles $r^2 = 0.92$ (Figura 24).

Por otra parte, la correlación entre la actividad antioxidante y el contenido de ácido ascórbico fue menos notoria $r^2 = 0.69$, estos resultados muestran que en la actividad antioxidante total de la pulpa participa más el efecto de los polifenoles que el del ácido ascórbico.

En resumen, se demuestra que la actividad antioxidante está directamente y prácticamente producida por el contenido de polifenoles totales y no tanto por los antocianos, en el caso de la piel, ni por el ácido ascórbico en el caso de la pulpa.

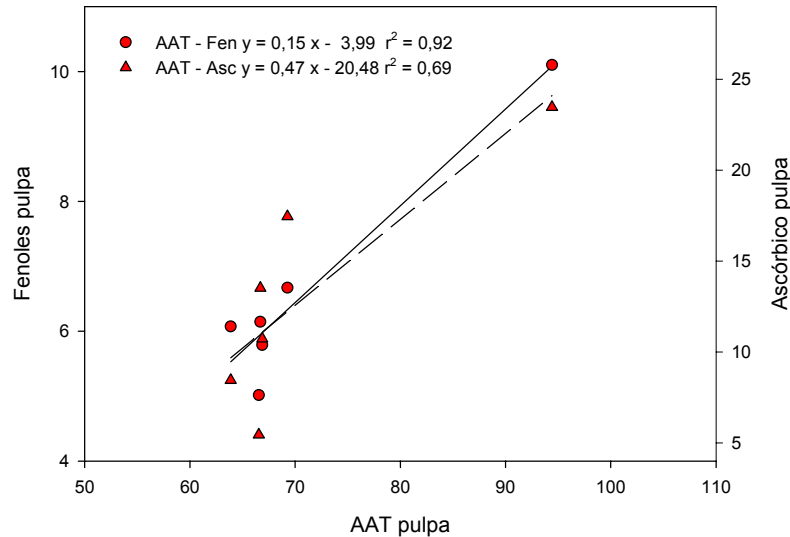


Figura 24. Correlaciones entre el contenido de ácido ascórbico, actividad antioxidante y polifenoles totales en pulpa.

4.1.14. Recuentos de aerobios mesófilos y mohos y levaduras

En 3 momentos del experimento se realizaron recuentos para evaluar la carga microbiana de las uvas. Por una parte, se evaluó el contenido de aerobios mesófilos totales y por otra el contenido de mohos y levaduras. El primer recuento se realizó en el momento de recolección, el segundo se llevó a cabo en el último muestreo del estudio de vida útil, día 21 de frío más 4 días a 20°C (Figura 25a) y por último se realizó un recuento el último día de muestreo de la conservación frigorífica a 1°C, día 35 (Figura 25b).

El día 0 la uva 'Crimson' contenía 4.56 log U.F.C. g^{-1} (36307 U.F.C.) de aerobios mesófilos totales y tras el estudio de vida útil a 20°C (Figura 25a) en la tercera semana de conservación las uvas control pasaron a contener 4.86 log U.F.C. g^{-1} (72443 U.F.C.), y por el contrario las uvas con el recubrimiento comestible de *Aloe vera* sólo contenían 2.62 log U.F.C. g^{-1} (417 U.F.C.). Durante el almacenamiento a 1°C los resultados fueron si cabe más favorables para el tratamiento con *Aloe vera* (Figura 25b), puesto que tras permanecer las uvas

control 35 días a 1°C contenían 4.78 log U.F.C. g⁻¹ (60256 U.F.C.), mientras que las uvas que fueron tratadas sólo contenían 1.9 log U.F.C. g⁻¹ (75 U.F.C.).

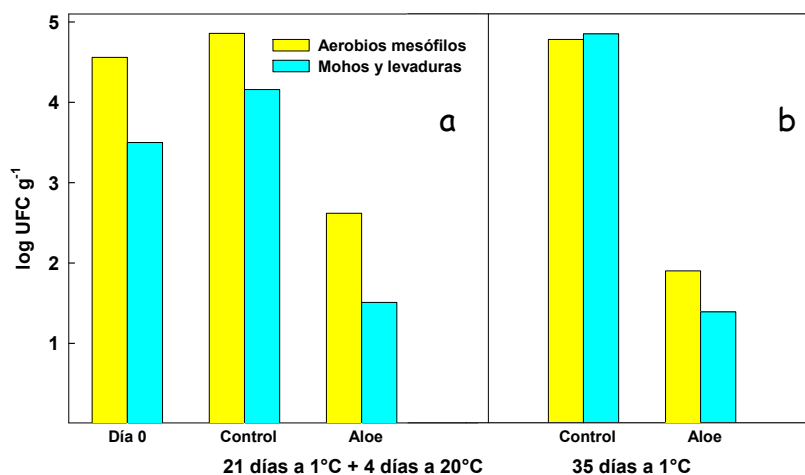


Figura 25. Recuentos microbianos: aerobios mesófilos y mohos y levaduras tras 21 días a 1°C + 4 días a 20°C (a) y tras 35 días a 1°C (b). Los datos son media de 15 determinaciones.

Estos resultados muestran que el *Aloe vera* impide el desarrollo de las colonias de aerobios mesófilos puesto que las uvas control fueron lavadas con agua destilada pero aún así aumentaron el número de colonias, por el contrario en las uvas tratadas estos recuentos descendieron muy significativamente.

El recuento de mohos y levaduras se realizó los mismos días que para aerobios mesófilos. De este modo, el contenido inicial en la uva 'Crimson' fue 3.5 log U.F.C. g⁻¹ (3162 U.F.C.). Tras permanecer 21 días a 1°C y posteriormente ser trasladadas a 20°C durante 4 días, las uvas aumentaron su contenido de colonias de mohos y levaduras hasta 4.16 log U.F.C. g⁻¹ (14454 U.F.C.). Por el contrario, en las uvas tratadas su contenido fue 1.51 log U.F.C. g⁻¹ (32 U.F.C.), por tanto, se produjo un significativo descenso en el número de colonias de mohos y levaduras (Figura 25a).

Un comportamiento similar se observó al final del periodo de almacenamiento frigorífico a 1°C, las uvas control contenían 4.85 log U.F.C. g⁻¹ (70794 U.F.C.) mientras que las uvas tratadas con *Aloe vera* sólo presentaban una carga de mohos y levaduras de 1.39 log U.F.C. g⁻¹ (25 U.F.C.) (Figura 25b).

4.1.15. Valoración visual

4.1.15.1. Aspecto racimo

Se realizó un análisis visual del racimo, en el que se pedía a un panel de catadores que evaluara su aspecto general. Este análisis se realizó cada día de muestreo, y al analista se le pedía que calificase la calidad del racimo. Se debía puntuar de una forma global aspectos de la calidad de la uva como brillo, turgencia, pardeamientos, podredumbres, etc. La escala de puntuación se situó entre 0 y 5. Al valor 0 correspondía un racimo de excelente calidad, con total ausencia de defectos, y al 5 unas uvas que ya no disponían de una calidad suficientemente aceptable a la hora de la decisión de compra y consumo. En el momento de la recolección las uvas consiguieron una puntuación de 1.00 ± 0.01 (Figura 26).

Durante el almacenamiento a 1°C , las uvas fueron evaluadas semanalmente consiguiendo mayores puntuaciones a lo largo del tiempo, lo que indicaba una pérdida progresiva de calidad. No obstante, siempre existieron diferencias entre las uvas tratadas y las controles. El tratamiento con *Aloe vera* provocó que los panelistas valorasen mejor estas uvas. En el primer muestreo se consiguieron las mayores diferencias puesto que las uvas control fueron puntuados con 2.50 ± 0.2 y los tratados con 1.60 ± 0.24 . Durante las últimas 2 semanas se comprobó que las uvas tratadas conseguían la puntuación que las controles habían obtenido 7 días antes. Por ejemplo, el día 21 las uvas control obtuvieron un valor de 3.20 ± 0.37 y el día 28 de 3.90 ± 0.24 , mientras que las uvas tratadas consiguieron el día 28 puntuaciones de 3.20 ± 0.37 y el día 35 de 3.80 ± 0.20 (Figura 26).

En los estudios de vida útil se observó una tendencia similar, las uvas tratadas siempre obtuvieron valores inferiores que las uvas control. Igualmente, a lo largo del tiempo se conseguían mayores puntuaciones. No obstante resulta importante señalar que las diferencias en la merma de calidad visual, entre las uvas control y las tratadas, fueron significativas. Estas diferencias se debieron a la puntuación obtenida en las uvas refrigeradas y no en la puntuación posterior tras el estudio de vida útil. Tal es así, que tras 21 días a 1°C las uvas control obtuvieron 3.2 ± 0.37 y los tratados

2.4±0.40. Al realizarse el estudio de vida útil a 20°C las control obtuvieron 3.7±0.22 y las tratadas 2.8±0.20, pudiéndose observar como el aumento de puntuación fue similar en ambos tipos de uvas (0.4-0.5 puntos) (Figura 26).

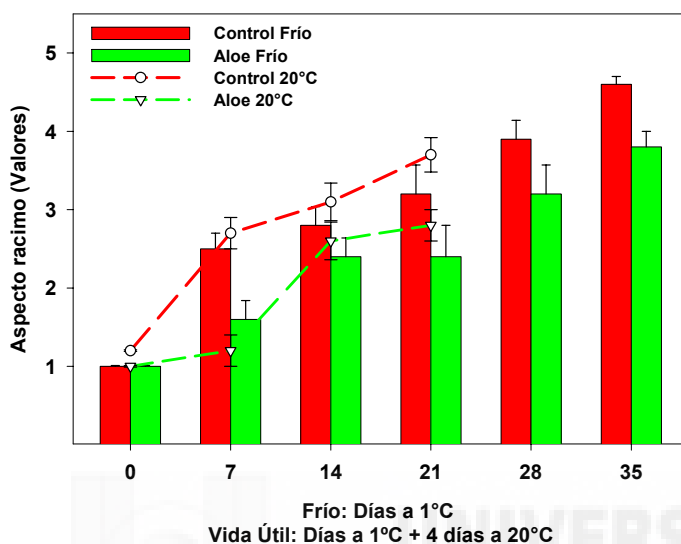


Figura 26. Evolución de la valoración del aspecto del racimo durante la conservación a 1°C y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío. Los datos son media ± ES de 10 determinaciones.

4.1.15.2. Aspecto del raspón

Los resultados obtenidos para el aspecto del raspón fueron diferentes a los obtenidos para el racimo. En este caso el tratamiento con *Aloe Vera* mantuvo valores significativamente más bajos que las uvas control. Los raspones de las uvas en el momento de la recolección obtuvieron una puntuación de 0.5±0.01. Rápidamente, en tan solo 14 días de refrigeración a 1°C las uvas control pasaron a 3.4±0.24 mientras que las uvas tratadas se mantuvieron en 1.80±0.20. Tan solo el último día de muestreo, día 35, las uvas tratadas superaron la puntuación de 3 (3.5±0.2) mientras las controles ya llevaban 21 días con puntuaciones superiores a 4, lo que indicaba que el raspón se había deteriorado considerablemente a partir de los 14 días de conservación en frío o de los 7 días en frío + 4 días a 20°C (Figura 27).

Durante el estudio de vida útil se observaron importantes diferencias significativas en la valoración conseguida por las uvas control y las tratadas. Estas diferencias se debieron a la puntuación conseguida por las uvas durante el almacenamiento a 1°C, pero también, durante la conservación a 20°C la puntuación en las uvas tratadas fue menor. Así tras 21 días a 1°C, y 4 días a 20°C las uvas tratadas sólo alcanzaron 2.60 ± 0.20 mientras que las uvas control fueron puntuadas con 4.60 ± 0.22 (Figura 27).

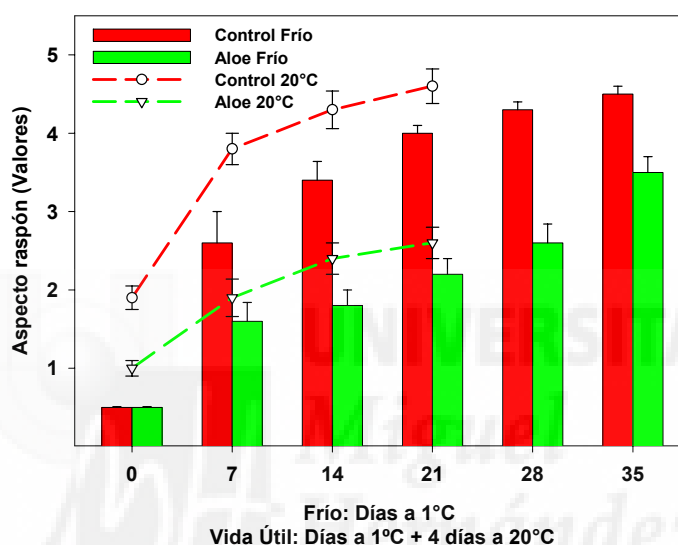


Figura 27. Evolución de la valoración del aspecto del raspón durante la conservación a 1°C y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío. Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.1.16 ANÁLISIS SENSORIAL

Se realizó un análisis sensorial más completo al comentado en el Apartado 4.1.15. En este caso, se evaluaron 6 parámetros de calidad sensorial de la uva 'Crimson'. El primero fue una compilación del aspecto del racimo y del raspón ya evaluado anteriormente, seguidamente se evaluó la firmeza y crujibilidad de las bayas, así como la jugosidad, dulzor y acidez de la pulpa. La escala de valoración fue desde 5 hasta 1, en sentido descendente para todos los parámetros.

El modo de puntuación fue diferente al del aspecto del racimo y raspón, ya que a mayor satisfacción la puntuación era más alta. De este modo se tomó

el valor 3 como umbral de calidad satisfactoria. Este análisis sensorial se realizó el último día de muestreo del estudio de vida útil (día 21+4).

Los resultados fueron muy positivos para el tratamiento con *Aloe vera*, ya que siempre estuvieron comprendidos entre 3 y 4: aspecto 3.3 ± 0.2 , firmeza 3.6 ± 0.2 , crujibilidad 4.1 ± 0.1 , jugosidad 3.7 ± 0.3 , mientras que las uvas control consiguieron puntuaciones comprendida entre 1 y 2. En el caso del dulzor y la acidez, se constató que las uvas control al poseer un índice de madurez superior obtuvieron mayor puntuación en el dulzor y más bajos en acidez; no obstante las uvas tratadas obtuvieron una puntuación próxima a 3 en los dos parámetros lo que representa una buena aceptación en el sabor de estas uvas.

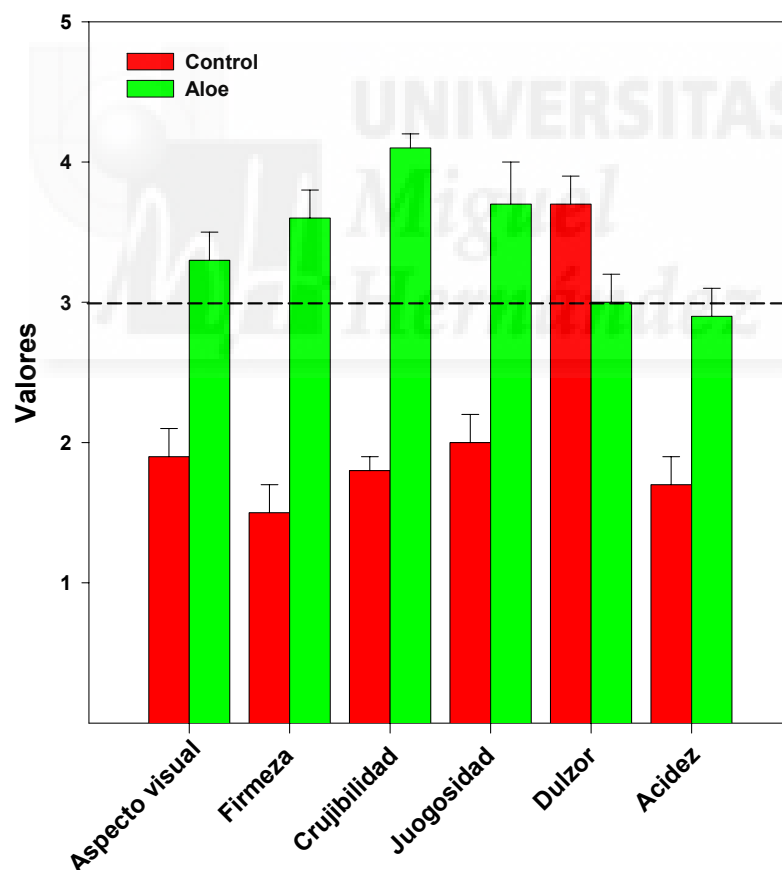


Figura 28. Análisis sensorial tras 21 días de conservación a 1°C + 4 días a 20°C . Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.2. CONSERVACIÓN DE UVA DE MESA (*Vitis vinifera* L.) 'Crimson' EN ATMÓSFERA MODIFICADA CON LA ADICIÓN DE EUGENOL, TIMOL O MENTOL.

A continuación se comentarán los resultados obtenidos durante la conservación de uva de mesa (*Vitis vinifera* L.) 'Crimson' en atmósfera modificada con la adición de eugenol, timol o mentol a razón de 0.5 mL en cada envase. En este estudio de conservación se utilizaron dos condiciones de almacenamiento diferentes.

1°. Las uvas fueron conservadas a 1°C de temperatura y humedad relativa de 95%, y se muestrearon lotes de forma semanal hasta la quinta semana, día 35. Estos resultados se representan en las figuras señaladas con la letra 'a'.

2°. Al mismo tiempo que se extraían lotes de la cámara frigorífica cada semana para realizar las determinaciones analíticas, otros lotes fueron transferidos a unas condiciones de 20°C y una humedad relativa oscilante entre 60 y 70% durante 4 días. Este almacenamiento se denomina estudio de vida útil, y sólo se pudo prolongar hasta la 3ª semana puesto que la calidad de los frutos se vio muy mermada. Estos resultados se representan en las figuras señaladas con la letra 'b'. Ambas figuras parten del día 0 o momento de recolección de las uvas y los tratamientos se indican como E-500, T-500 y M-500.

4.2.1. Tasa respiratoria y emisión de etileno

La tasa respiratoria de la uva de mesa variedad 'Crimson' en el momento de la recolección fue de 11.63 ± 0.67 mg de CO_2 kg^{-1} de fruta hora^{-1} y la tasa de emisión de etileno fue de 0.04 ± 0.01 nL de C_2H_4 g^{-1} de fruta hora^{-1} . Los datos son media \pm ES de 15 determinaciones.

4.2.2. Evolución de la composición de la atmósfera

En el interior de los envases se produjo una acumulación de CO_2 y una disminución de O_2 , tanto en almacenamiento frigorífico como en el estudio de vida útil. La acumulación de CO_2 fue muy significativa durante la primera semana y el aumento fue mucho más lento aunque continuo hasta el final del

periodo de conservación estudiado, por lo que no puede decirse que se alcanzase una atmósfera de equilibrio (Figura 29a).

Cuando las bolsas se colocaron a 20°C la concentración de CO_2 aumentó significativamente, alcanzando, en la mayoría de los casos valores más elevados cuanto mayor había sido el tiempo previo de almacenaje en frío (Figura 29b). En cuanto a la concentración de O_2 los mayores cambios durante la conservación en frío se encontraron durante la segunda semana, siendo a partir de entonces la disminución más lenta (Figura 30a). Además, cuando las bolsas se colocaban a 20°C la disminución de la concentración de O_2 continuaba, alcanzando niveles más bajos en las bolsas que habían tenido un periodo mayor de almacenaje en frío (Figura 30b).

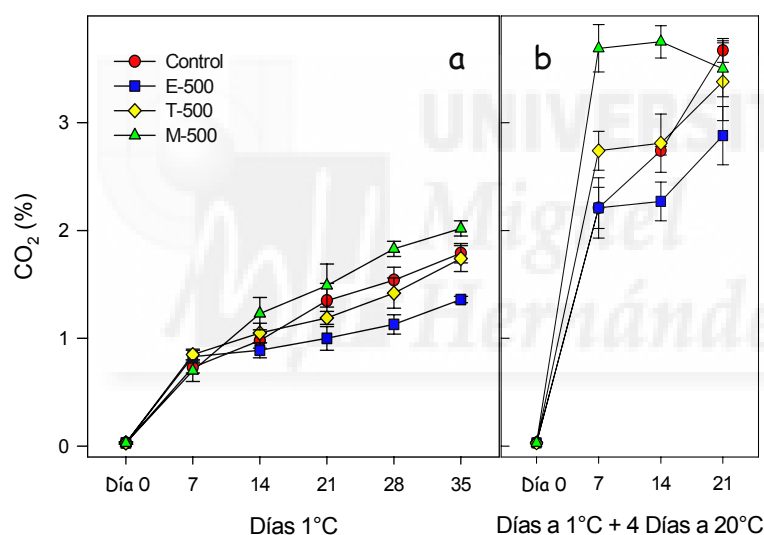


Figura 29. Evolución de la concentración de dióxido de carbono (CO_2) en los envases durante la conservación a 1°C (a) y tras 4 días a 20 °C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 15 determinaciones.

Por otra parte, se observaron pequeñas diferencias en la composición de la atmósfera durante la conservación debidas a los tratamientos. Así, por ejemplo, durante la conservación en frío, los tratados con mentol alcanzaron los valores más altos de CO_2 ($2.02 \pm 0.07\%$) y más bajos de O_2 (10.24 ± 0.49), mientras que el tratamiento con eugenol conllevó a los niveles más bajos de CO_2 ($1.36 \pm 0.03\%$) y más altos de O_2 ($14.45 \pm 0.12\%$). Los mismos efectos se observaron a 20°C con unos valores finales de $3.5 \pm 0.26\%$ y $2.88 \pm 0.27\%$ de CO_2

y de O_2 de $9.78 \pm 0.34\%$ y $11.58 \pm 0.6\%$, para mentol y eugenol, respectivamente. Los tratamientos con timol no presentaron diferencias significativas respecto a los controles y sus valores fueron intermedios de los obtenidos para eugenol y mentol.

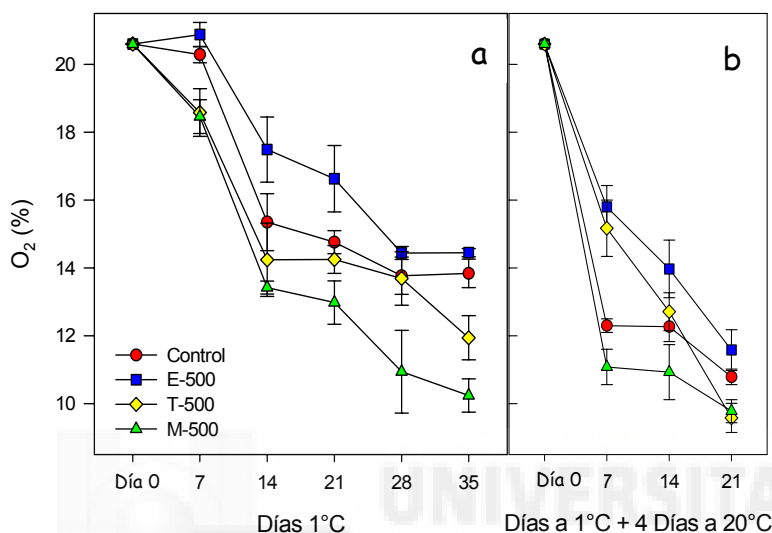


Figura 30. Evolución de la concentración de oxígeno (O_2) en los envases durante la conservación a 1°C (a) y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 15 determinaciones.

La concentración de etileno fue significativamente mayor en los plásticos control que en los sometidos al tratamiento con los diferentes aceites esenciales, tanto durante la conservación en frío (Figura 31a), como en los períodos posteriores a 20°C (Figura 31b), aunque estas diferencias fueron muy superiores en frío.

A partir de la 3ª semana de almacenamiento frigorífico la concentración de etileno incrementó significativamente en las bolsas control hasta alcanzar el día 35 valores de 0.62 ± 0.06 ppm mientras que en las bolsas con los distintos tratamientos la concentración de etileno osciló entorno a las 0.2 ppm. A 20°C las diferencias también fueron significativas entre tratamientos, obteniéndose en los plásticos tratados con timol los valores más bajos (0.28 ± 0.06 ppm) y en los que contenían las uvas control los valores más altos (0.59 ± 0.04 ppm) (Figura 31b).

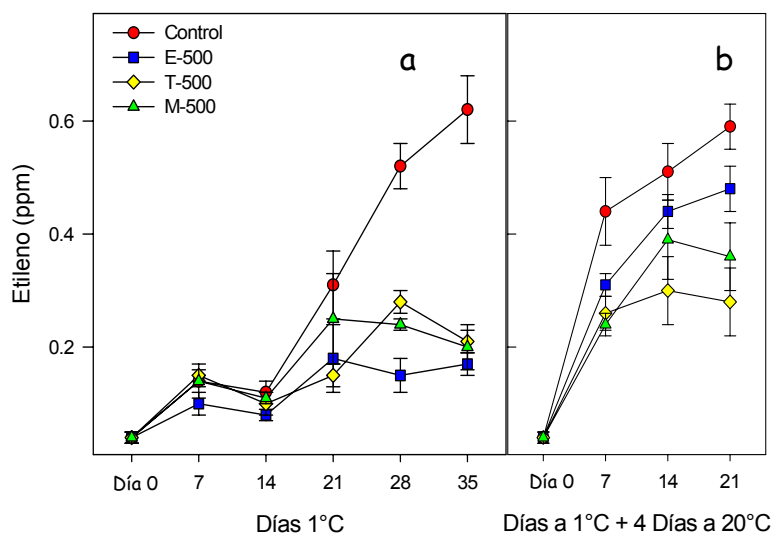


Figura 31. Evolución de la concentración de etileno (C_2H_4) en los envases durante la conservación a $1^\circ C$ (a) y tras 4 días a $20^\circ C$ después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 15 determinaciones.

4.2.3. Evolución de la pérdida de peso

La pérdida de peso aumentó a lo largo del tiempo, con importantes diferencias significativas entre los tratamientos. Así, tanto durante la conservación en frío como posteriormente a $20^\circ C$, el eugenol resultó ser el tratamiento más eficaz en reducir las pérdidas de peso, que fueron de $0.22 \pm 0.02\%$ después de 35 días de almacenaje en frío, mientras que las uvas control, en esta misma fecha, tenían unas pérdidas de peso del $0.81 \pm 0.04\%$ (Figura 32a).

Asimismo, los controles tuvieron las mayores pérdidas de peso en los periodos de vida útil a $20^\circ C$, alcanzando unos valores de $0.84 \pm 0.06\%$ después de 21 días en frío + 4 días a $20^\circ C$, mientras que en los tratados con eugenol las pérdidas de peso en ese momento eran de $0.40 \pm 0.04\%$ (Figura 32b). Los tratamientos con timol y mentol también redujeron las pérdidas de peso con respecto a los controles, aunque en menor medida que el eugenol.

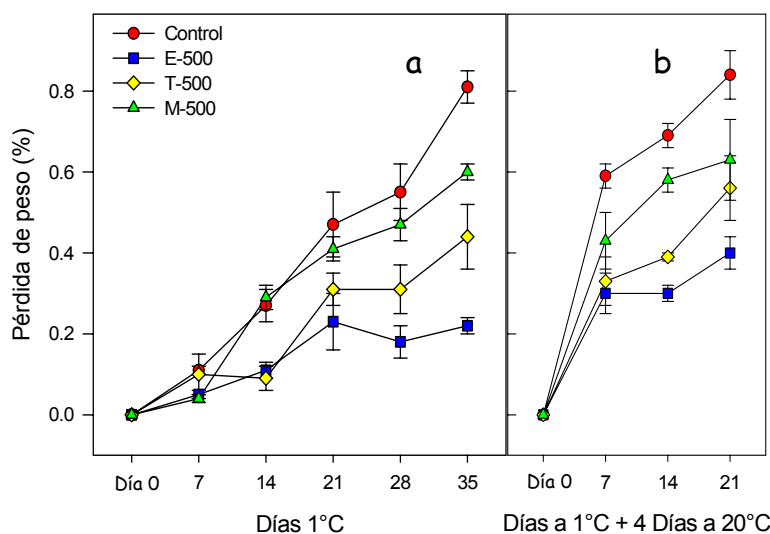


Figura 32. Evolución de la pérdida de peso durante la conservación a 1°C (a) y tras 4 días a 20 °C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 5 determinaciones.

4.2.4. Evolución del color

4.2.4.1. Evolución del parámetro L*

El parámetro L* del color representa la luminosidad o brillo de la piel del fruto. En las bayas control la luminosidad descendió bruscamente a lo largo del experimento, pasando de unos valores iniciales de 39.73 ± 1.12 a valores de 30.91 ± 1.54 después de 14 días de almacenaje en frío, siendo a partir de entonces el descenso más suave hasta valores finales de 28.14 ± 1.14 (Figura 33a).

Sin embargo, los aceites esenciales consiguieron mantener valores más elevados del parámetro L*, sin existir diferencias significativas entre tratamientos, con valores próximos a 35 al final del periodo de conservación en frío (Figura 33a).

Cuando las uvas se colocaron a 20°C (Figura 33b), también se produjo un descenso en el parámetro L^* , pero al igual que ocurría durante la conservación en frío, en los frutos tratados se mantenían valores de L^* significativamente más altos que en los controles, aunque sin diferencias significativas entre tratamientos.

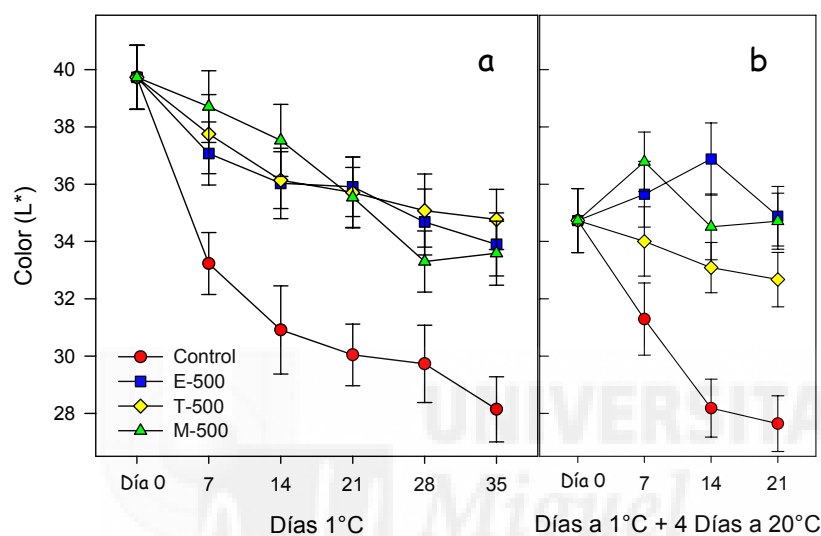


Figura 33. Evolución del parámetro de color L^* , luminosidad, durante la conservación a 1°C (a) y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm de las determinaciones realizadas en 50 bayas.

4.2.4.2. Evolución del parámetro a^*

El parámetro a^* del color aumentó durante la primera semana de almacenamiento y posteriormente descendió hasta llegar a valores próximos a los del día 0 después de 35 días. Sin embargo, los valores fueron muy parecidos en las uvas control y en las tratadas con los diferentes aceites esenciales (Figura 34a). En el estudio de vida útil la evolución del parámetro a^* fue similar, si bien las diferencias entre tratamientos al final del experimento fueron mayores, ya que en los tratados con eugenol y sobre todo timol, los valores del parámetro a^* fueron significativamente más bajos que en los controles (Figura 34b).

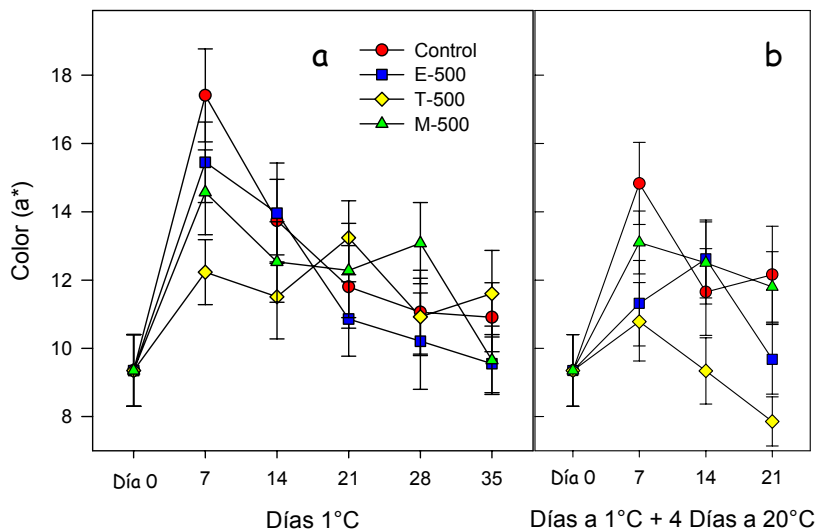


Figura 34. Evolución del parámetro de color a^* durante la conservación a 1°C (a) y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de las determinaciones realizadas en 50 bayas.

4.2.4.3. Evolución del parámetro b^*

El parámetro b^* aumentó a lo largo de la conservación, tanto en frío como a 20°C. Sólo existieron diferencias significativas entre las uvas control y las sometidas a los diferentes tratamientos hacia el final del experimento. Así después de 35 días de conservación en frío, los mayores valores fueron obtenidos por los controles (5.06 ± 0.78) y los menores por los tratados con timol (2.76 ± 0.54) (Figura 35a).

Asimismo tras tres semanas de almacenaje en frío más 4 días a 20°C, las uvas control también alcanzaron valores significativamente más altos que los tratados con timol, 3.74 ± 0.75 y 1.51 ± 0.65 , respectivamente (Figura 35b).

Sin embargo, en las uvas tratadas con eugenol o mentol, las diferencias respecto a los controles no fueron significativas, aunque en general fueron más bajas.

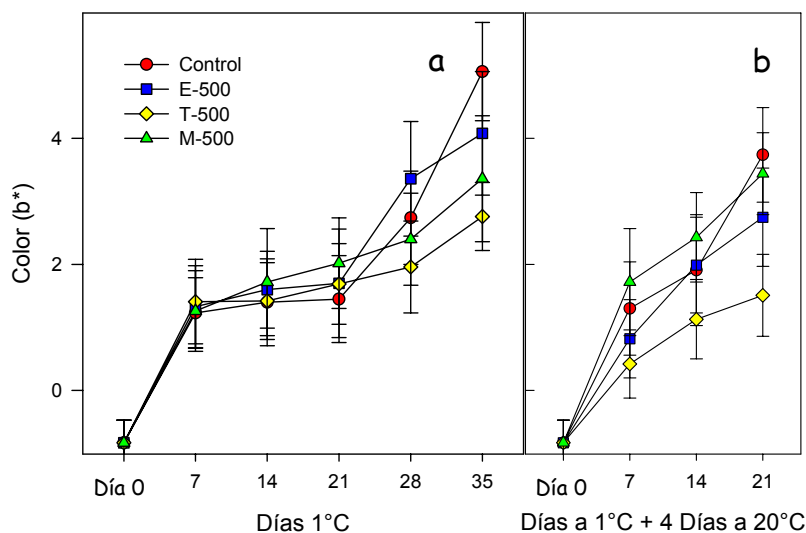


Figura 35. Evolución del parámetro de color b^* durante la conservación a 1°C (a) y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de las determinaciones realizadas en 50 bayas.

4.2.4.4. Evolución del índice Croma*

Los valores de Croma* evolucionaron de forma análoga al parámetro b^* , es decir, aumentaron durante la conservación. Las mayores diferencias se presentaron al final del experimento, entre control y timol, tanto en frío (Figura 36a) como a 20°C (Figura 36b). Así, por ejemplo, en el último muestreo realizado a 20°C el valor del índice Croma fue de 15.29 ± 1.41 en las uvas control y de 10.88 ± 1.32 en las tratadas con timol.

Finalmente, los tratamientos con eugenol y mentol también retrasaron la evolución del índice Croma*, aunque en muchos casos las diferencias con los controles no eran significativas.

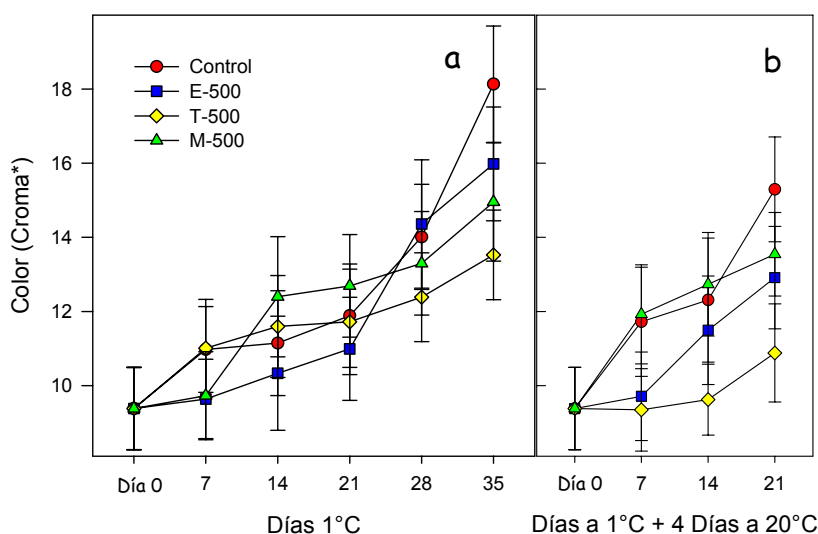


Figura 36. Evolución del índice de color Croma* durante la conservación a 1°C (a) y tras 4 días a 20 °C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de las determinaciones realizadas en 50 bayas.

4.2.5. Antocianos en piel

4.2.5.1. Evolución del contenido de antocianos totales en piel

El contenido de antocianos totales se expresó como mg equivalentes de la antocianina cianidín-3-glucósido. En controles y tratados con mentol aumentó a lo largo de la conservación frigorífica, pasando de unos valores iniciales de 17.58 ± 1.62 a valores de 39.14 ± 1.34 y 28.20 ± 1.46 mg 100 g $^{-1}$ respectivamente, después de cinco semanas a 1°C. En cambio, en las uvas tratadas con eugenol y timol los antocianos totales se mantuvieron sin cambios significativos hasta la 3ª semana, aumentando ligeramente a partir de entonces, pero alcanzando unos niveles finales de 23.26 ± 0.70 mg 100 g $^{-1}$ y 25.87 ± 1.91 mg 100 g $^{-1}$, respectivamente, que fueron significativamente más bajos que los que se alcanzaron en las uvas control (Figura 37a).

A 20°C también se produjo un aumento significativo en los antocianos totales en las uvas control y en las tratadas con mentol, alcanzando unos valores finales próximos a 36 mg 100 g $^{-1}$. Sin embargo, en las uvas tratadas con timol los antocianos totales sólo aumentaron en el último muestreo y la concentración alcanzada fue 29.79 ± 1.50 mg 100 g $^{-1}$ que fue significativamente

menor de la que había en las uvas control o en las tratadas con mentol (Figura 37b).

Finalmente, el tratamiento más efectivo en inhibir la acumulación de antocianos totales fue el eugenol, con el cual se obtuvo una concentración de $20.66 \pm 1.19 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$, muy próxima a la que se encontró el día 0 del experimento.

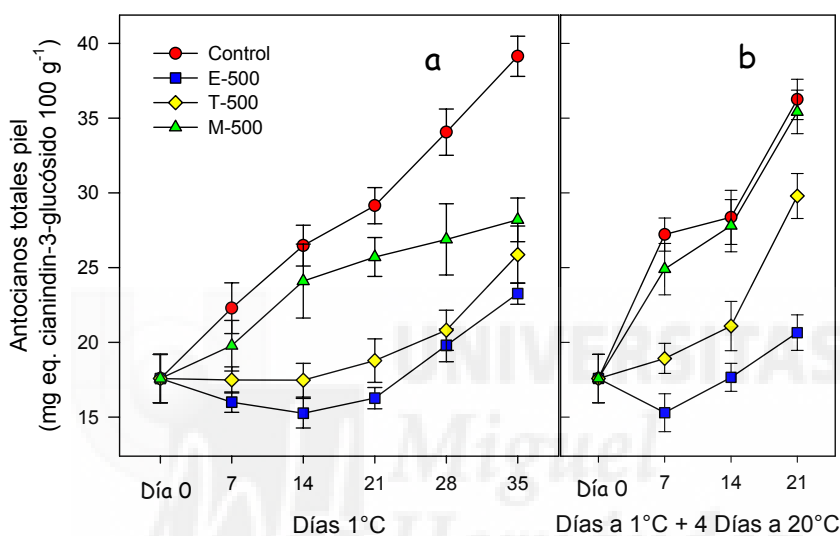


Figura 37. Evolución del contenido de antocianos totales durante la conservación a 1°C (a) y tras 4 días a 20 °C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.2.5.2. Perfil de antocianinas en piel

Para identificar las antocianinas presentes en la piel de la uva de mesa 'Crimson' se obtuvo un cromatograma mediante el método expuesto en el apartado 3.4.13.2. de Materiales y Métodos. Este cromatograma se comparó con el cromatograma obtenido por Goiffon et al. (1999) para piel de uva.

El perfil de antocianinas en la piel de la uva 'Crimson' mostró que los compuestos mayoritarios fueron cianidín-3-glucósido (cy3glu) y peonidín-3-glucósido (pn3glu), este perfil se muestra en la Imagen 12.

A continuación se expondrán los resultados obtenidos al estudiar la evolución en el contenido de estas dos antocianinas mayoritarias de la piel de la uva 'Crimson', durante el almacenamiento frigorífico a 1°C y el posterior estudio de vida útil a 20°C. Los dos compuestos mostraron una evolución y unas concentraciones muy similares, si bien resultó mayoritaria la cianidína.

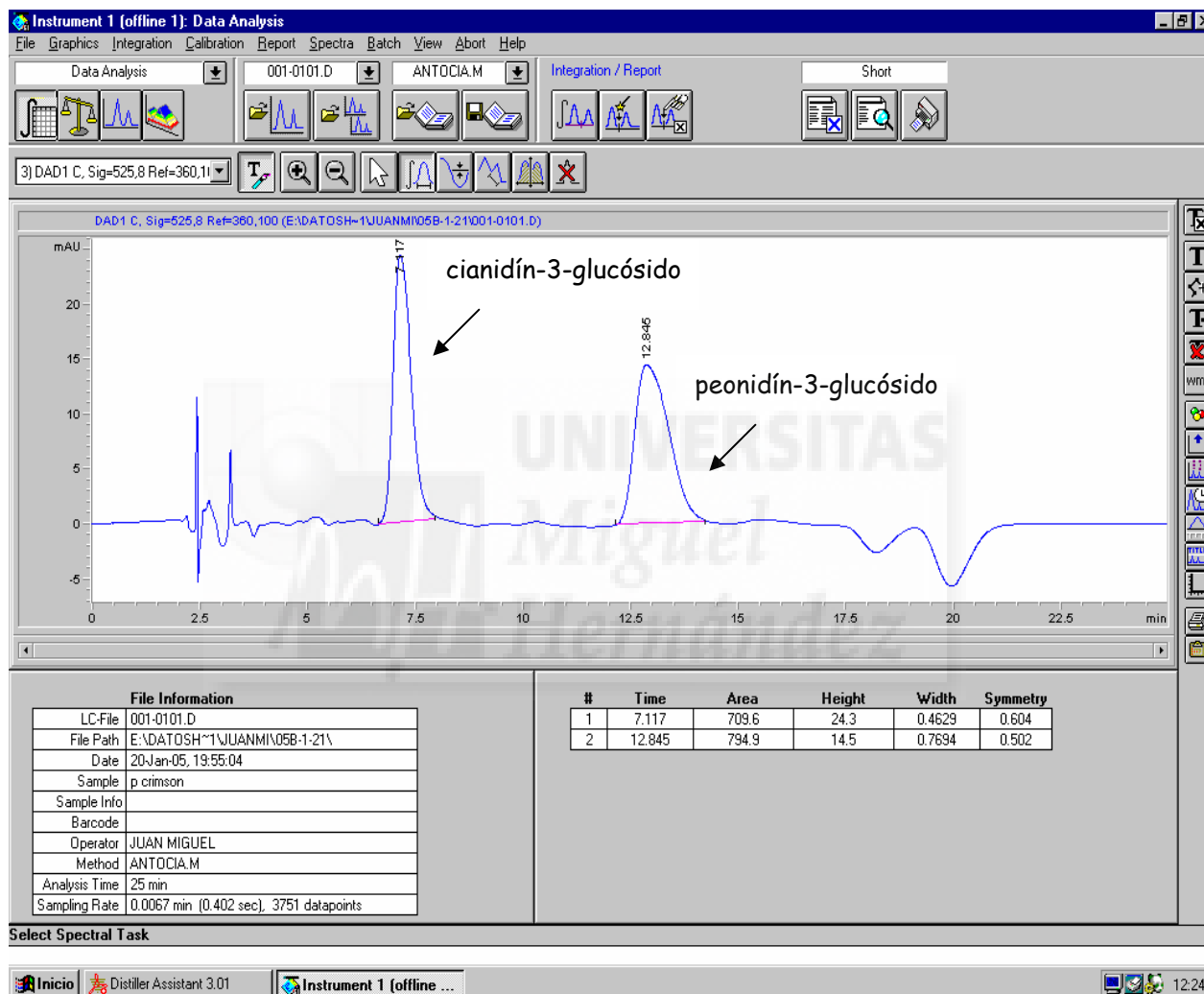


Imagen 12. Perfil del contenido de antocianinas en la piel de la uva de mesa 'Crimson'.

4.2.5.3. Evolución del contenido de cianidín-3-glucósido

El contenido inicial de cianidín-3-glucósido fue de 638 ± 55 Unidades de Área por gramo de piel (U.A. g^{-1}). Durante el almacenamiento frigorífico (Figura 38a) este valor aumentó de forma muy significativa en los frutos control y tratados con timol, alcanzando a los 21 días valores de 19988 ± 2141 U.A. g^{-1} y 14013 ± 2647 U.A. g^{-1} , respectivamente. A partir de este momento se produjo un descenso en el contenido de cy3glu de estas uvas que se prolongó hasta el final del experimento siendo los valores finales de 15776 ± 124 U.A. g^{-1} y 7826 ± 912 U.A. g^{-1} , respectivamente. Por otra parte, los tratamientos con eugenol y mentol produjeron una menor acumulación de cy3glu, si bien, el aumento de la concentración fue progresivo durante todo el almacenamiento frigorífico, excepto para los tratados con mentol durante la última semana.

Al final del almacenamiento el contenido de cy3glu en los controles fue muy elevado (15776 ± 51 U.A. g^{-1}) en comparación a los frutos tratados que presentaron diferencias significativas entre ellos pero con valores comprendidos entre 5000 y 10000 U.A. g^{-1} .

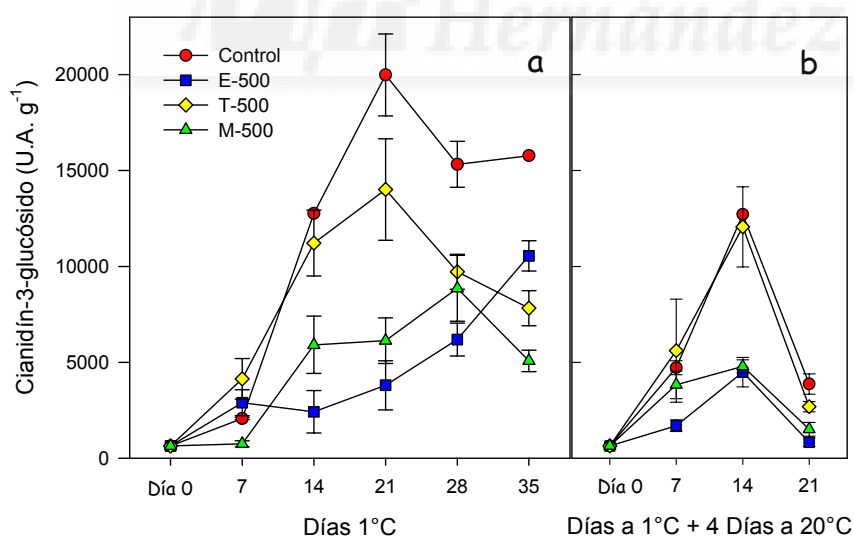


Figura 38. Evolución del contenido de cianidín-3-glucósido en la piel de la uva Crimson durante la conservación a 1°C (a) y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 5 determinaciones.

Al transferir las uvas durante 4 días a 20°C tras el almacenamiento a 1°C (Figura 38b) se observó un comportamiento similar en el contenido de cy3glu que durante el almacenamiento a 1°C en los muestreos correspondientes a la 1ª y 2ª semana. Fueron los controles y las uvas tratadas con timol las que presentaron valores más elevados, sobre todo el día 14, 12715±96 U.A. g⁻¹ y 12064±2091 U.A. g⁻¹, respectivamente. Por el contrario las uvas tratadas con mentol y eugenol presentaron un incremento suave en su contenido hasta el día 14, sin diferencias significativas.

El último día de muestreo, día 21 se produjo un fuerte descenso en el contenido de cy3glu en todas las uvas con valores superiores pero cercanos a los que presentaba en el momento de su recolección. Los controles obtuvieron los mayores valores 3871±530 U.A. g⁻¹ y los tratados con eugenol los más bajos 826±217 U.A. g⁻¹.

4.2.5.4. Evolución del contenido de peonidín-3-glucósido

La evolución del contenido de peonidín-3-glucósido fue muy similar a la de cianidín-3-glucosido. El valor inicial fue de 1064±100 U.A. g⁻¹, esta concentración aumentó tanto durante el almacenamiento en frío como en el estudio de vida útil a 20°C.

En frío (Figura 39a), los controles presentaron los valores más altos respecto a los tratados, alcanzando un máximo el día 21 (20018±1500 U.A. g⁻¹), para posteriormente descender hasta el final del experimento (día 35, 10852±900 U.A. g⁻¹). El mismo comportamiento se observó en los frutos tratados con timol y mentol, si bien en estos casos los valores máximos se produjeron el día 14 (12610±2976 U.A. g⁻¹ y 8441±1410 U.A. g⁻¹, respectivamente) y posteriormente descendieron a un valor prácticamente similar el último día de muestreo (7520±582 U.A. g⁻¹ y 7991±451 U.A. g⁻¹, respectivamente).

Por otra parte, el comportamiento de los frutos tratados con eugenol fue diferente, al igual que se observó con la cianidín-3-glucósido, este compuesto aumentó significativamente a lo largo de todo el almacenamiento frigorífico con una tendencia muy regular y alcanzando un valor superior al resto de frutos el último día de experimento (15025±2030 U.A. g⁻¹).

En el estudio de vida útil (Figura 39b), al pasar los frutos a 20°C durante 4 días, se observó un comportamiento diferente para cada uno de los tratamientos. En el primer muestreo (día 7+4) no se apreciaron diferencias significativas entre los frutos aumentando su contenido respecto al día 0. Por el contrario, en el día 14+4 el contenido de peonidín-3-glucósido en los controles aumentó muy significativamente (20616 ± 1000 U.A. g^{-1}), mientras que los frutos tratados con timol apenas variaron su contenido tras los 4 días a 20°C, presentando un valor muy similar al observado en frío (12089 ± 3876 U.A. g^{-1}).

Los tratamientos con mentol y eugenol no produjeron importantes aumentos de concentración como los observados para los tratados con timol y control. Finalmente, el día 21 el contenido de peonidín-3-glucósido descendió bruscamente hasta valores cercanos a los observados en el día 0, sin existir diferencias significativas debidas a los tratamientos.

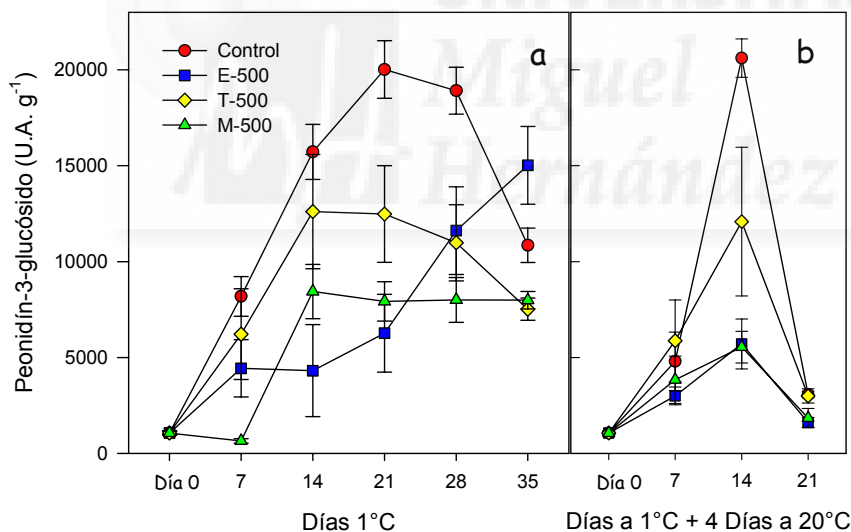


Figura 39. Evolución del contenido de peonidín-3-glucósido en la piel de la uva 'Crimson' durante la conservación a 1°C (a) y tras 4 días a 20 °C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 5 determinaciones.

4.2.6. Evolución de la firmeza

4.2.6.1. Evolución de la firmeza de la baya

La firmeza de la baya descendió durante la conservación postcosecha. El valor de firmeza en el momento de la recolección fue de $4.13 \pm 0.27 \text{ N mm}^{-1}$. El descenso de firmeza de la baya se produjo de forma gradual a lo largo del tiempo de almacenamiento frigorífico (Figura 40a).

Se debe destacar que los tratamientos con aceites esenciales mostraron un efecto significativamente eficaz en retrasar el ablandamiento, especialmente el eugenol, que se mostró como el tratamiento más adecuado para mantener los valores de firmeza. Por otro lado, entre mentol y timol no existieron diferencias significativas, si bien, también resultaron eficaces reduciendo los procesos de ablandamiento si se comparan con los controles. Al final de la frigoconservación las bayas control mostraron una resistencia al compresión de $1.32 \pm 0.07 \text{ N mm}^{-1}$ mientras que las tratadas con eugenol $2.84 \pm 0.10 \text{ N mm}^{-1}$.

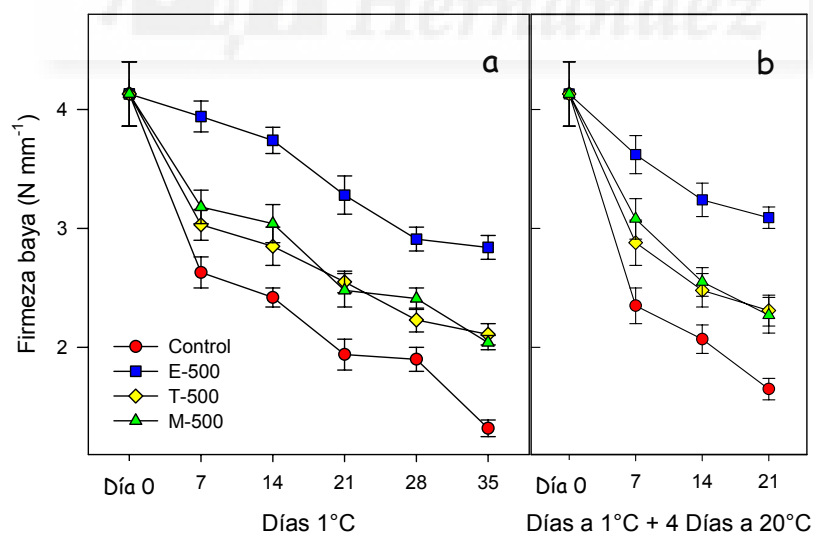


Figura 40. Evolución de la firmeza de la baya durante la conservación a 1°C (a) y tras 4 días a 20 °C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de las determinaciones realizadas en 50 bayas.

En el estudio de vida útil (Figura 40b) se observó que las uvas almacenadas durante 28 días en frío obtuvieron valores de firmeza muy parecidos a los de uvas que estuvieron 21 días a 1°C más 4 días a 20°C. Asimismo, el comportamiento de las uvas frente al tratamiento con aceites esenciales produjo los mismos resultados observados que durante el almacenamiento a 1°C.

El eugenol resultó un tratamiento muy eficaz en mantener la firmeza de las bayas de uva almacenadas a 20°C, puesto que el último día de muestreo las uvas tratadas con eugenol tenían una firmeza de $3.09 \pm 0.09 \text{ N mm}^{-1}$ y las uvas controles sólo alcanzaban un valor de $1.65 \pm 0.09 \text{ N mm}^{-1}$.

4.2.6.2. Evolución de la firmeza de la pulpa

El valor inicial de firmeza de la pulpa en la uva fue de $3.73 \pm 0.14 \text{ N}$. La evolución de la firmeza de la pulpa siguió un comportamiento similar al observado en la baya. A 1°C los frutos control descendieron significativamente su firmeza durante la primera semana de almacenamiento (Figura 41a), mientras que los tratamientos consiguieron reducir este ablandamiento, sobre todo el eugenol que resultó ser el aceite esencial que mejores resultados produjo en el mantenimiento de la firmeza de la pulpa. Los tratamientos de mentol y timol también produjeron un retraso del ablandamiento sin existir diferencias significativas entre ellos.

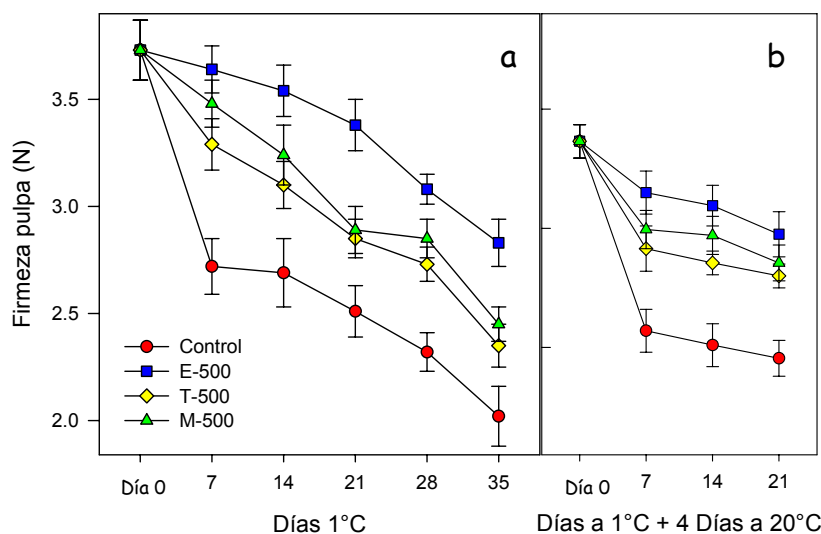


Figura 41. Evolución de la firmeza de la pulpa durante la conservación a 1°C (a) y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de las determinaciones realizadas en 50 bayas.

Al transferir los frutos a 20 °C se observó un importante descenso en los valores de firmeza de la pulpa para todas las uvas, siendo mucho más acusado en los frutos control (Figura 41b). Al igual que se observó en el almacenamiento a 1°C, el eugenol resultó ser el tratamiento más eficaz en retrasar el ablandamiento de la pulpa, así para el día 21+4 mientras que los controles obtuvieron un valor de firmeza de 1.91 ± 0.15 N las uvas tratadas con eugenol obtuvieron un valor de 2.95 ± 0.19 N.

4.2.7. Cambios en los componentes de la pared celular

4.2.7.1. Cambios en el contenido de pared celular

El contenido de pared celular, expresado en pectinas insolubles en alcohol, mostró un descenso en la uva control, desde los valores del día 0 que fueron $3.08 \pm 0.15\%$ hasta valores de $2.29 \pm 0.11\%$ en la 3ª semana de frío + 4 días a 20°C. Por el contrario las uvas tratadas con aceites esenciales mantuvieron valores de pared celular muy cercanos a los iniciales. Estos resultados se pueden observar en la Figura 42.

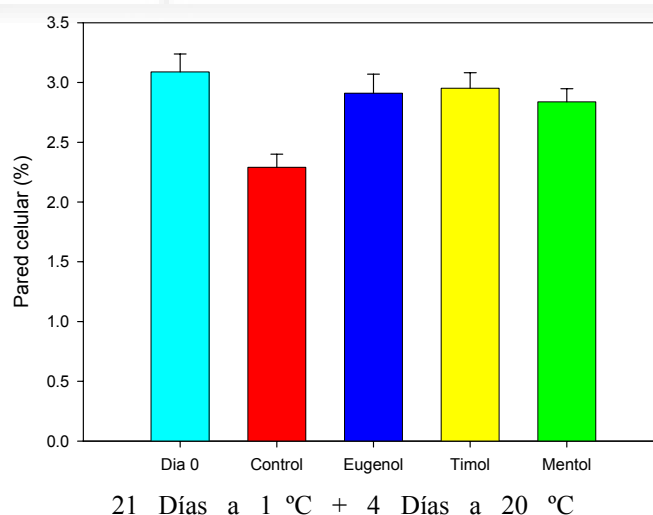


Figura 42. Evolución del contenido de pared celular en la pulpa tras 3 semanas a 1°C más 4 días a 20 °C. Los datos son media \pm ES de 5 repeticiones.

4.2.7.2. Cambios en el contenido de pectinas totales, solubles en oxalato y solubles en agua

Se observó en los frutos control un descenso de las pectinas totales y un mantenimiento de las solubles en oxalato y agua. Por el contrario en los tratados, sobre todo con eugenol y mentol, las pectinas totales y solubles en oxalato aumentaron, mientras que las solubles en agua descendieron.

El contenido en pectinas totales en el día 0 fue de 369.47 mg equivalentes de ácido galacturónico por 100 g de P.I.A. (Pectinas Insolubles en Alcohol) y tras el almacenamiento frigorífico a 1°C durante 3 semanas más 4 días a 20°C fue de 284.85 mg 100 g⁻¹, en las controles; de 446.35 mg 100 g⁻¹ en las tratadas con eugenol, 338.53 mg 100 g⁻¹ en las tratadas con timol y 470.02 mg 100 g⁻¹ en las tratadas con mentol. En las uvas control las pectinas solubles apenas variaron, manteniéndose para las solubles en oxalato próximas a 110 mg 100 g⁻¹ y para las solubles en agua en 180 mg 100 g⁻¹ (Figura 43).

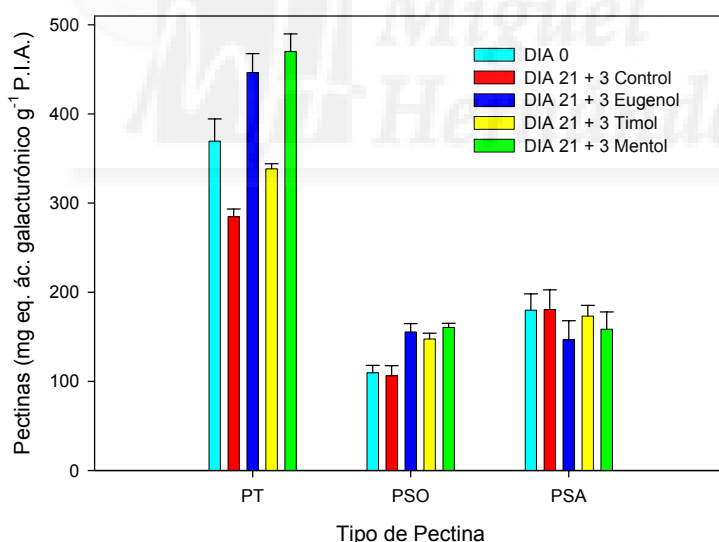


Figura 43. Contenido de pectinas totales, solubles en oxalato y solubles en agua, en la pulpa en las uvas recién recolectadas y tras 3 semanas a 1°C más 4 días a 20 °C. Los datos son media ± ES de 5 repeticiones.

En las uvas tratadas se observaron cambios significativos respecto al contenido de estas pectinas. Por una parte las pectinas solubles en oxalato aumentaron tras el periodo de conservación en las uvas tratadas, sin existir diferencias significativas respecto al aceite esencial aplicado, estos valores oscilaron entre los $147.41 \pm 6.47 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ para timol y los $160.54 \pm 4.57 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ para mentol. Por otro lado, las pectinas solubles en agua disminuyeron en las uvas tratadas tras el almacenamiento, sobre todo en las tratadas con eugenol que alcanzaron un valor de $146.58 \pm 21.48 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ (Figura 43).

4.2.8. Evolución del contenido en sólidos solubles

Se observó un aumento progresivo en el contenido de sólidos solubles expresados en °Brix en los frutos control, tanto en frío como a 20°C. El valor inicial fue de 20.59 ± 0.10 °Brix y aumentó hasta 21.78 ± 0.21 °Brix después de 5 semanas de conservación en frío (Figura 44a) y hasta 21.47 ± 0.17 °Brix en las uvas conservadas 3 semanas en frío más 4 días a 20°C (Figura 44b). En las uvas tratadas este aumento no se produjo, ya que los valores finales fueron muy parecidos a los iniciales y además, no existieron diferencias significativas entre tratamientos, aunque en general, el mentol resultó ser el más eficaz en retrasar el aumento de los sólidos solubles.

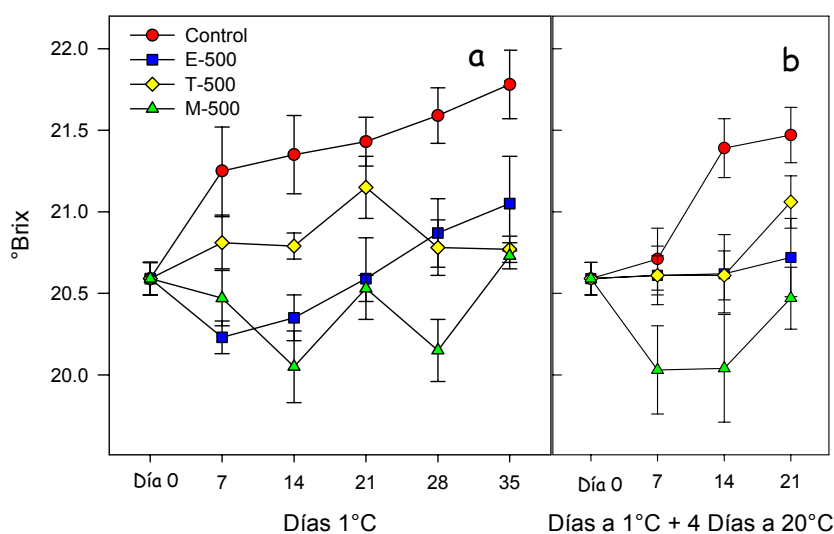


Figura 44. Evolución del contenido en sólidos solubles durante la conservación a 1°C (a) y tras 4 días a 20 °C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.2.9. Evolución del contenido de azúcares en la pulpa

El análisis de los azúcares por HPLC puso de manifiesto, al igual que en el experimento anterior, que los azúcares mayoritarios en la uva eran glucosa y fructosa, que se encontraban a una concentración de $7.62 \pm 0.49\%$ y $7.02 \pm 0.30\%$, respectivamente, en la uva recién recolectada. Además, también se detectó la presencia de sacarosa, aunque en una concentración mucho más baja, $0.15 \pm 0.02\%$. También se encontró dextrosa pero en concentraciones muy bajas.

4.2.9.1. Evolución del contenido de glucosa en la pulpa

La concentración de glucosa aumentó de forma significativa durante la conservación, tanto en frío (Figura 45a) como a 20°C (Figura 45b), alcanzando unos valores finales en las bayas control cercanos al 13%. Por el contrario, en las tratadas con los distintos aceites esenciales este aumento fue mucho menor, alcanzándose en todos los casos unos valores finales que oscilaban entre 9 y 10%, sin diferencias significativas entre los tratamientos.

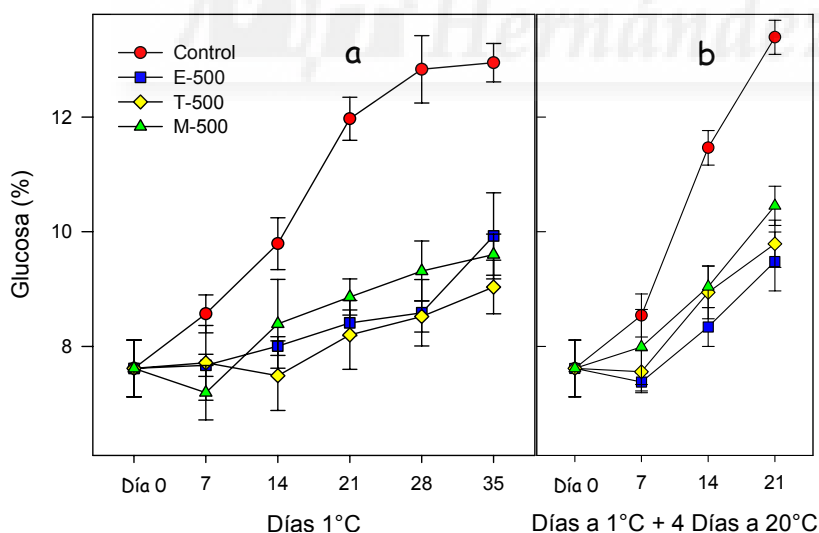


Figura 45. Evolución del contenido de glucosa durante la conservación a 1°C (a) y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.2.9.2. Evolución del contenido de fructosa en la pulpa

El contenido de fructosa evolucionó de una forma muy similar al de glucosa, siendo en los controles en los que más aumentó hasta el final del experimento, tanto en frío (Figura 46a) como a 20°C (Figura 46b), mientras que en los frutos tratados el incremento en la concentración de fructosa fue menos pronunciado. Así, por ejemplo, los valores finales en los controles fueron $12.94 \pm 0.33\%$ para frío y $13.39 \pm 0.29\%$ para 20°C, mientras que en los tratados apenas alcanzó el 9% durante la conservación en frío y entre 9.5% y 10% a 20°C, y tampoco en la fructosa hubo diferencias entre tratamientos.

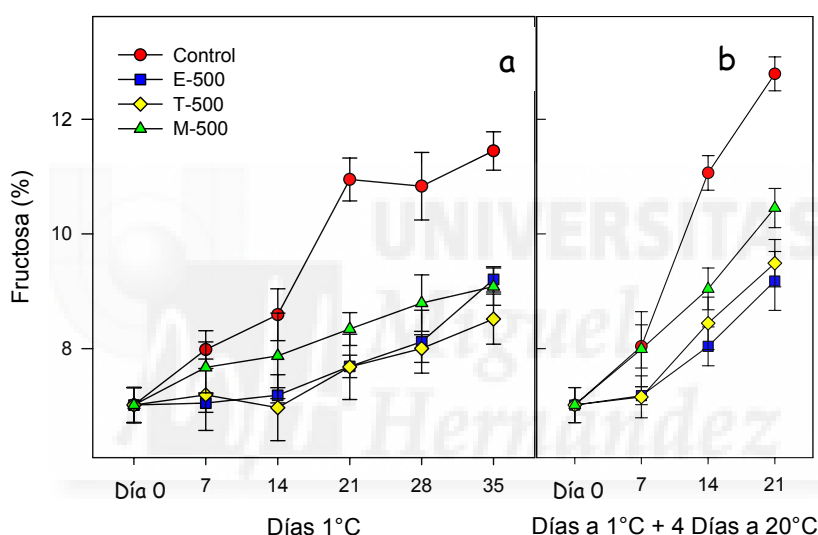


Figura 46. Evolución del contenido de fructosa durante la conservación a 1°C (a) y tras 4 días a 20 °C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.2.9.3. Evolución del contenido de sacarosa en la pulpa

Finalmente, el contenido de sacarosa fue muy inferior al obtenido para glucosa y fructosa, su valor inicial fue $0.15 \pm 0.02\%$ pero su evolución fue muy similar a la observada con los otros azúcares. No obstante, es interesante señalar que el eugenol fue el tratamiento más efectivo inhibiendo la acumulación de sacarosa, ya que la concentración de este azúcar se mantuvo sin cambios significativos durante la conservación, tanto en frío (Figura 47a) como a 20°C, presentando tras 35 días a 1°C unos valores de $0.200 \pm 0.005\%$ y tras 21 días a 1°C + 4 días a 20°C la concentración fue de $0.19 \pm 0.04\%$.

Los tratamientos con timol y mentol también fueron efectivos retrasando el aumento de sacarosa, ya que por ejemplo, después de 5 semanas de conservación en frío, se alcanzaron unos valores cercanos a 0.3% en las uvas tratadas con estos aceites, mientras que en las control se llegó hasta $0.54 \pm 0.02\%$. A 20°C se observó un comportamiento similar siendo la efectividad de timol y mentol inferior que la de eugenol (Figura 47b).

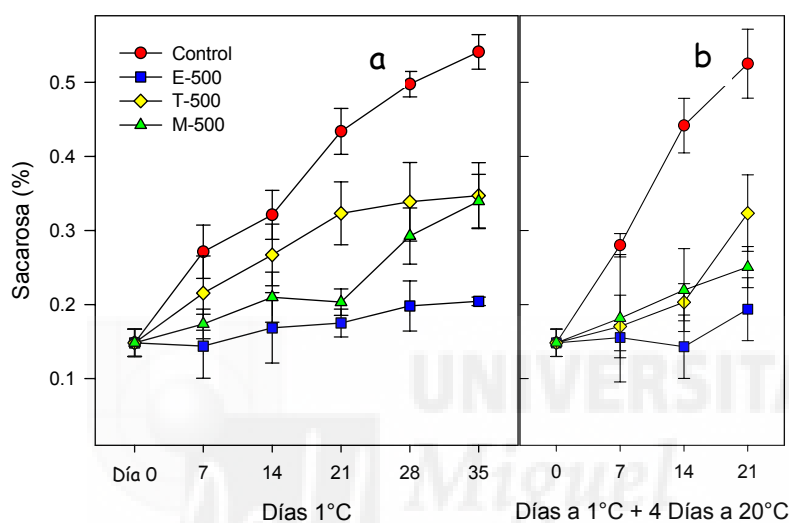


Figura 47. Evolución del contenido de sacarosa durante la conservación a 1°C (a) y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.2.10. Evolución de la acidez titulable

La acidez descendió durante las dos primeras semanas de conservación en frío, tanto en las uvas controles como en las tratadas con los diferentes aceites esenciales, y a partir de entonces se mantuvo sin cambios significativos hasta las cinco semanas. No obstante, este descenso de acidez fue mayor en las uvas control, que pasó de los 0.52 ± 0.02 g equivalentes de ácido tartárico por 100 g de pulpa, en el día 0 a valores de 0.38 ± 0.01 g 100 g^{-1} al final de la conservación en frío, mientras que en todas las uvas tratadas los valores finales fueron próximos a los 0.43 g 100 g^{-1} (Figura 48a).

En la conservación a 20°C también se produjo un descenso significativo en la acidez, sobre todo en las uvas que habían estado una semana en frío, siendo en las muestras posteriores el descenso menos acusado. Sin embargo, también en este caso el descenso en la acidez estuvo retrasado por los tratamientos, aunque no hubo diferencias significativas entre ellos, ya que la acidez en todas las uvas tratadas fue próxima a los 0.40 g 100 g⁻¹ después de 21 días en frío más 4 días a 20°C, mientras que en las uvas control fue de 0.34±0.01 g 100 g⁻¹ (Figura 48b).

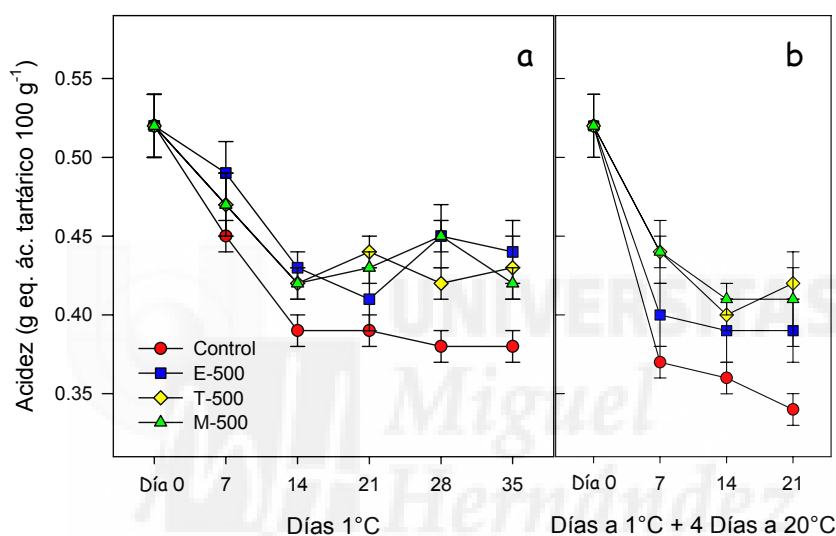


Figura 48. Evolución de la acidez titulable durante la conservación a 1°C (a) y tras 4 días a 20 °C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media ± ES de 10 determinaciones.

4.2.11. Evolución del contenido de ácidos orgánicos en la pulpa

La cuantificación de los ácidos orgánicos por HPLC reflejó que el ácido mayoritario en esta variedad de uva fue el tartárico, que se encontraba a una concentración de 0.57±0.04% en las uvas recién recolectadas. El resto de ácidos orgánicos detectados se encontraban en una concentración menor, oxálico 7.3±0.6 mg 100 g⁻¹ peso fresco, cítrico 93.8±4.4 mg 100 g⁻¹, málico 133.2±5.0 mg 100 g⁻¹, ascórbico 23.5±3.2 mg 100 g⁻¹, succínico 184.8±5.0 mg 100 g⁻¹ y fumárico 38.2±2.3 mg 100 g⁻¹. Por tanto, el principal responsable de la acidez de la uva fue el ácido tartárico.

4.2.11.1 Evolución del contenido de ácido tartárico

La concentración de ácido tartárico evolucionó durante la conservación de forma similar a la descrita anteriormente para la acidez total; es decir, un descenso durante la conservación en frío (Figura 49a) que continuaba cuando las uvas se colocaban posteriormente a 20°C. Además, los tratamientos con los aceites esenciales retrasaron las pérdidas de ácido tartárico, especialmente el tratamiento con eugenol. Así, después de 21 días de conservación en frío más 4 días a 20°C la concentración de ácido tartárico fue de $0.25 \pm 0.02 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ en las uvas control y significativamente mayor $0.37 \pm 0.03 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ en las tratadas con eugenol, situándose entre ambos los valores obtenidos en las uvas tratadas con timol y mentol (Figura 49b).

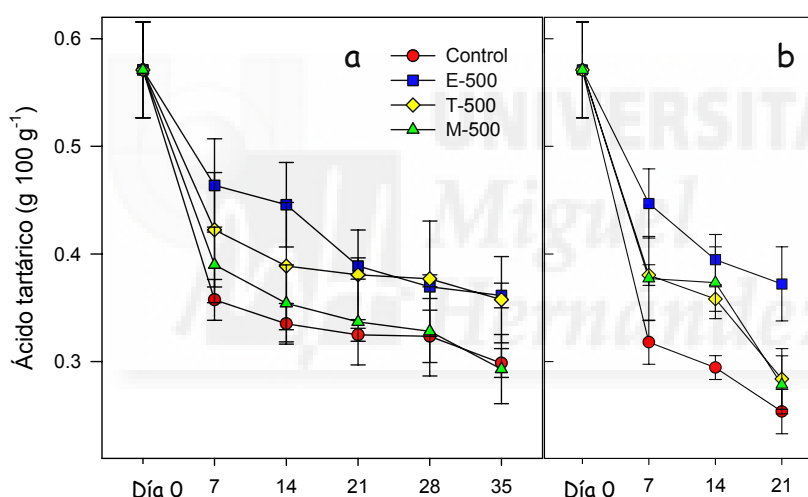


Figura 49. Evolución del contenido de ácido tartárico durante la conservación a 1°C (a) y tras 4 días a 20 °C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

El resto de los ácidos orgánicos, oxálico, cítrico, málico, ascórbico, succínico y fumárico, no sufrieron variaciones significativas durante el periodo de conservación estudiado ni en frío ni cuando se colocaban posteriormente a 20°C y tampoco se observaron diferencias entre las uvas control y las sometidas a los diferentes tratamientos. Sin embargo, el contenido de ácido ascórbico sí cambió durante el experimento.

4.2.11.2. Evolución del contenido de ácido ascórbico

El contenido inicial de ácido ascórbico en la uva de mesa 'Crimson' fue de 23.46 ± 1.60 mg 100 g $^{-1}$. Esta concentración disminuyó significativamente durante la conservación, pasando a 6.89 ± 0.49 mg 100 g $^{-1}$ en las uvas control después de 5 semanas de conservación en frío (Figura 50a) y a 7.28 ± 0.20 mg 100 g $^{-1}$ después de 21 días en frío más 4 días a 20°C (Figura 50b). En las uvas tratadas con los diferentes aceites esenciales el descenso en la concentración de ácido ascórbico fue mucho menor, encontrándose las concentraciones más altas en las uvas tratadas con eugenol, durante todo el periodo de conservación estudiado, tanto en frío como a 20°C .

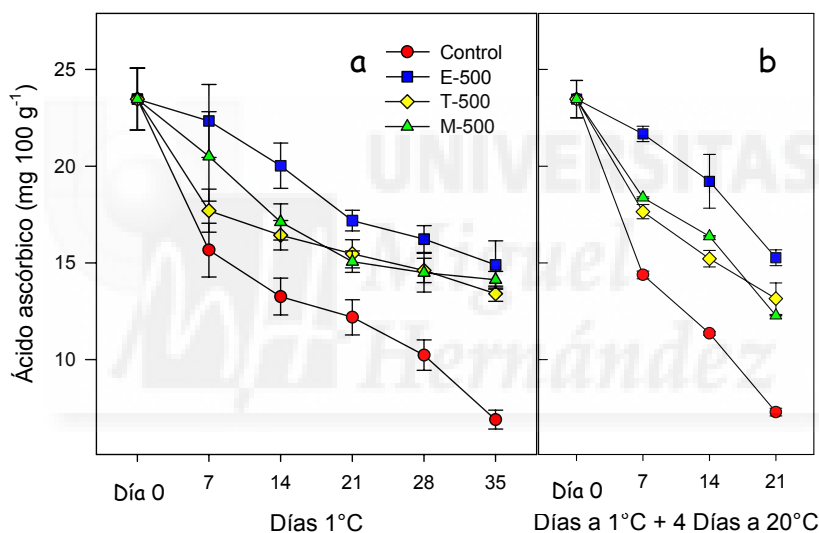


Figura 50. Evolución del contenido de ácido ascórbico durante la conservación a 1°C (a) y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

A los 21 días de frío las controles mostraron un contenido de 12.18 ± 0.91 mg 100 g $^{-1}$ y las tratadas con eugenol, timol y mentol 17.18 ± 0.53 mg 100 g $^{-1}$, 15.46 ± 0.73 mg 100 g $^{-1}$ y 15.06 ± 0.55 mg 100 g $^{-1}$ respectivamente. Al transferir estas uvas a 20°C durante sólo 4 días la concentración de ácido ascórbico en las controles bajó a 7.28 ± 0.20 mg 100 g $^{-1}$ mientras que se mantuvo en 15.26 ± 0.41 mg 100 g $^{-1}$ para eugenol, 13.15 ± 0.82 mg 100 g $^{-1}$ para timol y 12.28 ± 0.03 mg 100 g $^{-1}$ para mentol. Estos resultados nos muestran que el tratamiento con aceites esenciales resultó altamente eficaz en reducir las pérdidas de ácido ascórbico durante la conservación postcosecha.

4.2.12. Evolución del índice de madurez

El índice de madurez expresado como la relación entre el contenido de sólidos solubles y la acidez fue de 40.35 ± 1.53 en las uvas recién recolectadas y aumentó significativamente durante las dos primeras semanas de conservación en frío, tanto en las uvas control como en las tratadas, manteniéndose a partir de entonces sin cambios. No obstante, se encontraron diferencias significativas entre las uvas control y las tratadas ya que los valores del índice de madurez al final de la conservación en frío fueron de 58.10 ± 2.15 en las uvas control y menores de 50 en todas las tratadas (Figura 51a).

Por otra parte, cuando las uvas se colocaban a 20°C tras el almacenaje previo en frío también se producía un incremento en el índice de madurez, que era mayor en las uvas control que en las tratadas con los diferentes aceites esenciales (Figura 51b). Tras 21 días en frío más 4 días a 20°C las uvas control alcanzaron un índice de madurez de 62.92 ± 1.65 mientras que las tratadas con timol y mentol el índice de madurez estuvo próximo a 50 y en las tratadas con eugenol próximo a 53.

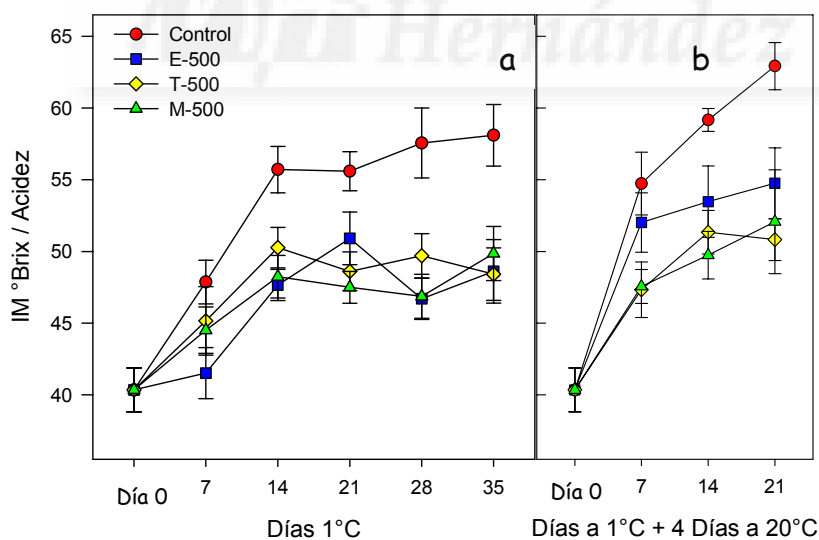


Figura 51. Evolución del Índice de Madurez ($^{\circ}\text{Brix}/\text{Acidez}$) durante la conservación a 1°C (a) y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.2.13. Evolución de la actividad antioxidante total

La actividad antioxidante total se midió de forma independiente en la piel y en la pulpa de la uva, se expresó como mg equivalentes de ácido ascórbico por 100 g de peso fresco. Se observó que dicha actividad era aproximadamente 5 veces superior en la piel que en la pulpa.

4.2.13.1. Evolución de la actividad antioxidante total en piel

Por lo que respecta a la capacidad antioxidante de la piel se pudo apreciar como disminuía a lo largo del almacenamiento, tanto en frío como a 20°C. En el día 0 se obtuvo una AAT de 396.81 ± 36.10 mg 100 g⁻¹, al final del almacenamiento frigorífico los controles contenían 186.75 ± 17.25 mg 100 g⁻¹ (Figura 52a) y tras 21 días a 1°C más 4 días a 20°C este valor era de 227.66 ± 20.54 mg 100 g⁻¹.

Los tratamientos con aceites esenciales resultaron eficaces en mantener esta actividad antioxidante. Existieron importantes diferencias significativas entre todos los tratamientos, siendo el más efectivo eugenol, seguido de timol y mentol. En el caso del eugenol, los resultados mostraron incluso un ligero incremento en la capacidad antioxidante respecto a la del día 0, teniendo a los 35 días de frío unos valores de 412.35 ± 17.25 mg 100 g⁻¹ y a los 21 más 4 a 20°C unos valores de 402.05 ± 17.35 mg 100 g⁻¹ (Figura 52b).

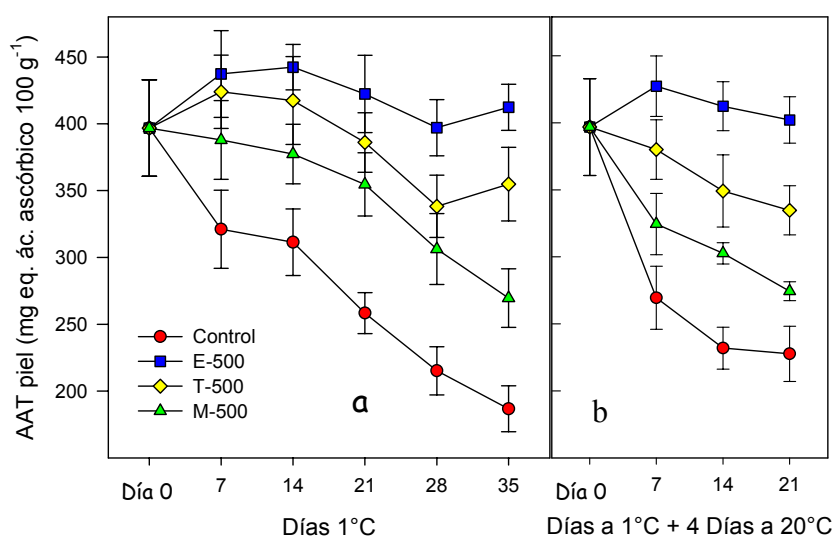


Figura 52. Evolución de la actividad antioxidante total en piel durante la conservación a 1°C (a) y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.2.13.2. Evolución de la actividad antioxidante total en pulpa

La actividad antioxidante total de la pulpa fue muy inferior que la de la piel. Los tratamientos resultaron más eficaces en mantener y aumentar esta actividad en la pulpa. El efecto de los diferentes aceites esenciales fue diferente dependiendo del tipo de almacenamiento. Por ejemplo, el timol resultó ser el tratamiento menos eficaz en frío ya que presentó los valores más bajos de los tres aceites esenciales, sin embargo, al transferir los frutos a 20°C el timol produjo los mayores valores de AAT.

El valor inicial de AAT en la pulpa fue $80.30 \pm 4.30 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$, este valor descendió a lo largo del almacenamiento a 1°C en las uvas control, hasta alcanzar $57.10 \pm 4.10 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ el día 35 (Figura 53a). Las uvas tratadas con aceites esenciales mantuvieron los valores de AAT, sobre todo el eugenol que resultó ser el tratamiento más eficaz (día 35, $105.80 \pm 3.70 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$). Durante el estudio de vida útil a 20°C, las uvas control no presentaron cambios significativos respecto de la conservación frigorífica, sin embargo en las uvas tratadas el timol resultó ser el tratamiento más eficaz, seguido de eugenol y mentol, todos con diferencias significativas entre ellos y los controles (Figura 53b).

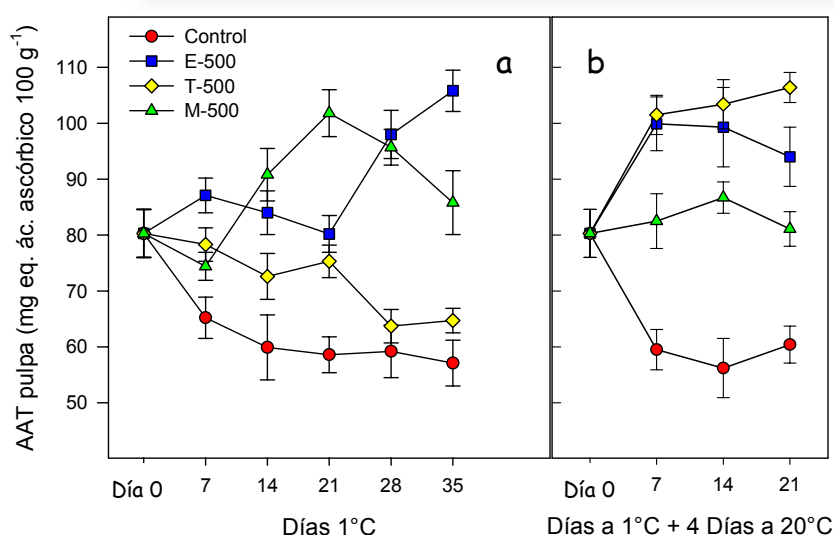


Figura 53. Evolución de la actividad antioxidante total en pulpa durante la conservación a 1°C (a) y tras 4 días a 20 °C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.2.14. Evolución del contenido de polifenoles totales

La evolución del contenido de polifenoles totales tanto en piel como en pulpa siguió una pauta similar a la observada para la actividad antioxidante total. Los polifenoles disminuyeron a lo largo del almacenamiento tanto en frío como a 20°C. Al igual que ocurrió en la Actividad Antioxidante Total, la piel obtuvo un contenido de polifenoles totales mucho mayor que la pulpa, en el momento de la recolección aproximadamente 5 veces más (53.59 ± 3.07 mg equivalentes ácido gálico 100 g^{-1} peso fresco para la piel y 10.10 ± 0.29 mg para la pulpa).

4.2.14.1. Evolución del contenido de polifenoles totales en piel

El contenido de polifenoles totales en la piel disminuyó a lo largo del almacenamiento, tanto en frío a 1°C (Figura 54a) como en el estudio de vida útil a 20°C (Figura 54b). Así, partiendo de un valor inicial de 53.59 ± 3.07 mg 100 g^{-1} se pasó a 14.92 ± 2.71 mg 100 g^{-1} tras 35 días a 1°C y a 20.91 ± 2.12 mg 100 g^{-1} tras 21 días a 1°C más 4 días a 20°C. Los tratamientos con aceites esenciales proporcionaron a la piel un mayor contenido en polifenoles, destacando el eugenol, puesto que tras 35 días a 1°C las uvas alcanzaron un valor de 39.91 ± 2.37 mg 100 g^{-1} y tras 21 días a 1°C más 4 días a 20°C el contenido fue de 50.54 ± 1.36 mg 100 g^{-1} .

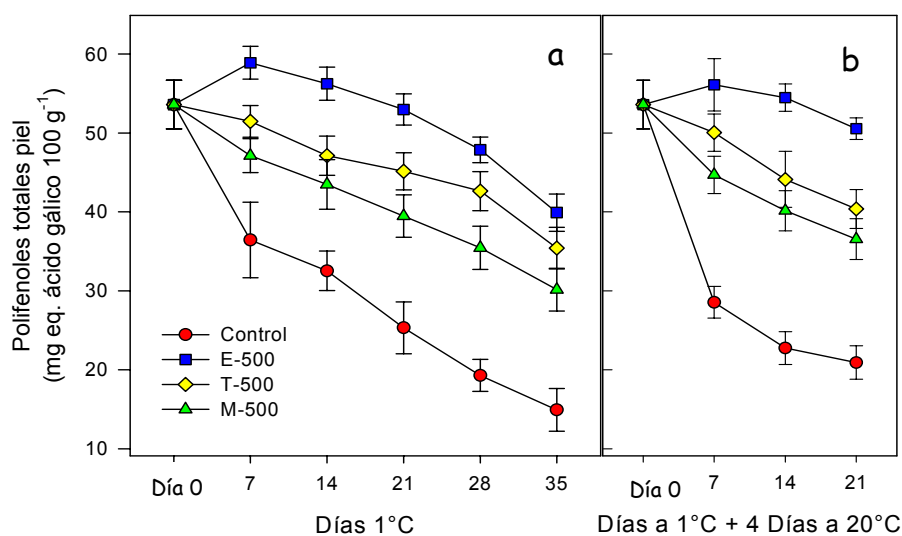


Figura 54. Evolución del contenido de polifenoles totales en piel durante la conservación a 1°C (a) y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.2.14.2. Evolución del contenido de polifenoles totales en pulpa

La evolución del contenido de polifenoles totales en pulpa resultó similar a la de la piel, se produjo un fuerte descenso en las uvas control a lo largo del almacenamiento, tanto a 1°C (Figura 55a) como a 20°C (Figura 55b). Así mientras el valor inicial fue de 10.10 ± 0.30 mg 100 g⁻¹ tras 35 días a 1°C pasó a 4.20 ± 0.46 mg 100 g⁻¹ y tras 21 días a 1°C más 4 días a 20°C pasó a 5.20 ± 0.54 mg 100 g⁻¹. De igual modo que ocurría en la piel, los tratamientos con aceites esenciales resultaron eficaces en mantener el contenido de polifenoles, y también en este caso el eugenol fue el tratamiento que proporcionó mayores valores, ya que en estas uvas tras 35 días a 1°C el contenido de fenoles era de 8.20 ± 0.24 mg 100 g⁻¹ y tras 21 días a 1°C más 4 días a 20°C era de 8.80 ± 0.26 mg 100 g⁻¹. Los tratamientos con mentol y timol también fueron efectivos en mantener los polifenoles, sin embargo con valores inferiores a los obtenidos por el eugenol y sin diferencias significativas entre ellos.

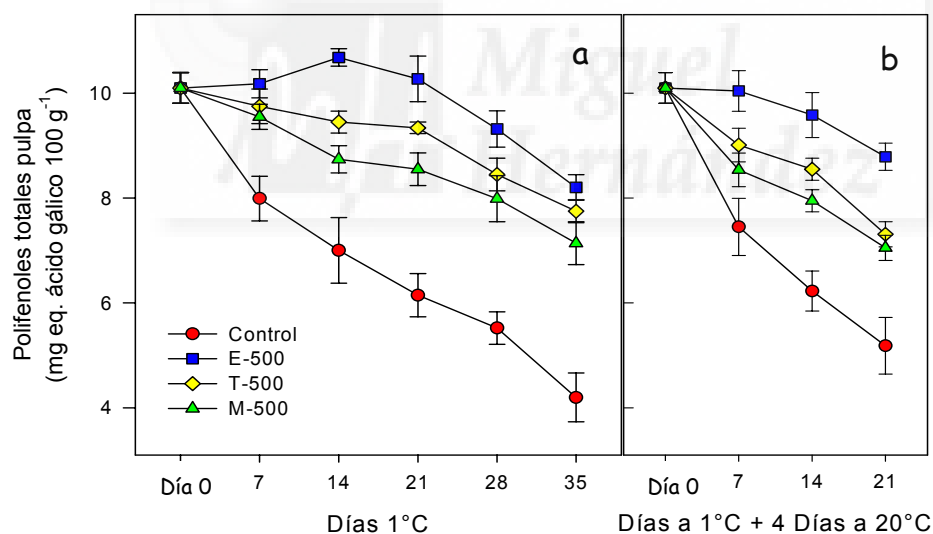


Figura 55. Evolución del contenido de polifenoles totales en pulpa durante la conservación a 1°C (a) y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.2.15. Correlaciones

4.2.15.1. Correlaciones piel: antocianos-AAT-polifenoles

El estudio de regresión entre los contenidos de antocianos totales, polifenoles totales y actividad antioxidante total de la piel se realizó en la uva control sometida a conservación en atmósfera modificada.

Los resultados mostraron una elevada correlación entre el contenido de fenoles de la piel y la actividad antioxidante que poseía esta piel, $r^2=0.98$. Por el contrario, al estudiar la evolución de los antocianos y la actividad antioxidante se obtuvo una recta de pendiente negativa, con un coeficiente de regresión muy alto $r^2=0.96$.

Se deduce que la actividad antioxidante de la piel se debe mayoritariamente a todo el conjunto de fenoles que se encuentran en esta piel, asimismo, se observa que la participación de los fenoles antocianos en la actividad antioxidante total no es representativa. Estos resultados se pueden observar en la Figura 56.

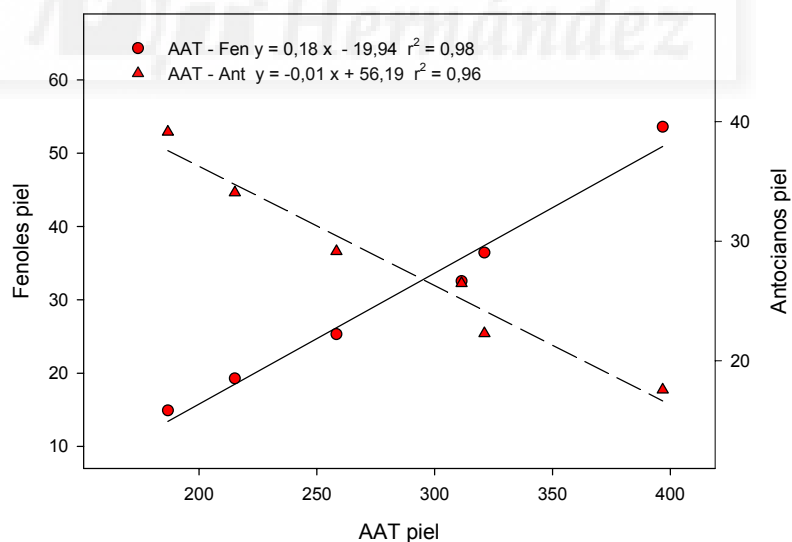


Figura 56. Correlaciones entre el contenido de polifenoles totales, antocianos totales y actividad antioxidante total en piel.

4.2.15.2. Correlaciones pulpa: ác. ascórbico-AAT-polifenoles

Tras realizar el estudio de regresión en los compuestos de la pulpa ácido ascórbico y polifenoles frente a la actividad antioxidante total de la pulpa, se encontró que el ácido ascórbico ($r^2=0.90$) estaba más correlacionado que el contenido en polifenoles ($r^2=0.84$). Estos resultados se muestran en la Figura 57.

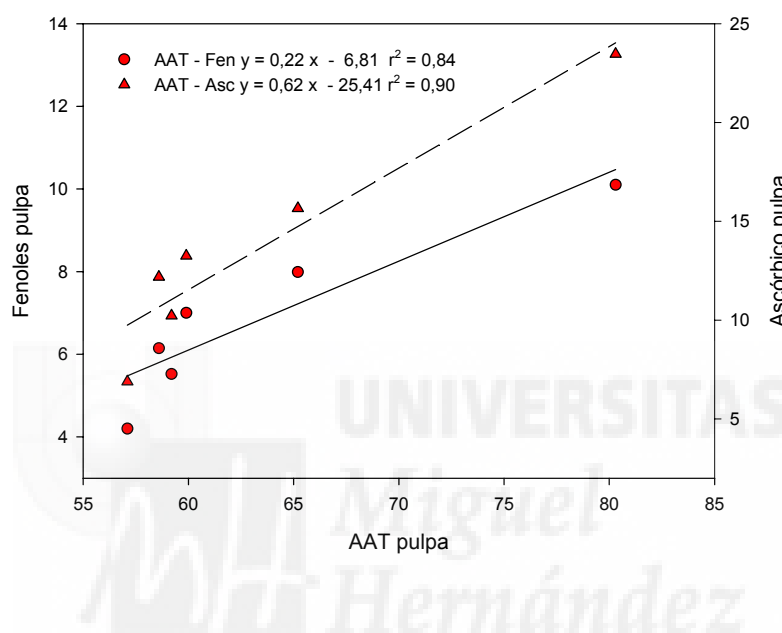


Figura 57. Correlaciones entre el contenido de polifenoles totales, ácido ascórbico y actividad antioxidante total en pulpa.

4.2.16. Recuentos de aerobios mesófilos y mohos y levaduras

Los recuentos de aerobios mesófilos aumentaron a lo largo del almacenamiento en las uvas control, pasando de unos valores iniciales de 4.30 log U.F.C. g^{-1} (20000) a unos recuentos de 4.77 log U.F.C. g^{-1} (58900) después de 28 días en frío más 4 días a 20 °C. Por el contrario, cuando las uvas estuvieron tratadas con los diferentes aceites esenciales estos recuentos disminuyeron, siendo el descenso más acusado al final del experimento, momento en el que los recuentos fueron de 3.33 log U.F.C. g^{-1} (2140), 3.41 log U.F.C. g^{-1} (2570) y 3.60 log U.F.C. g^{-1} (3981) en las uvas tratadas con eugenol, timol y mentol, respectivamente (Figura 58).

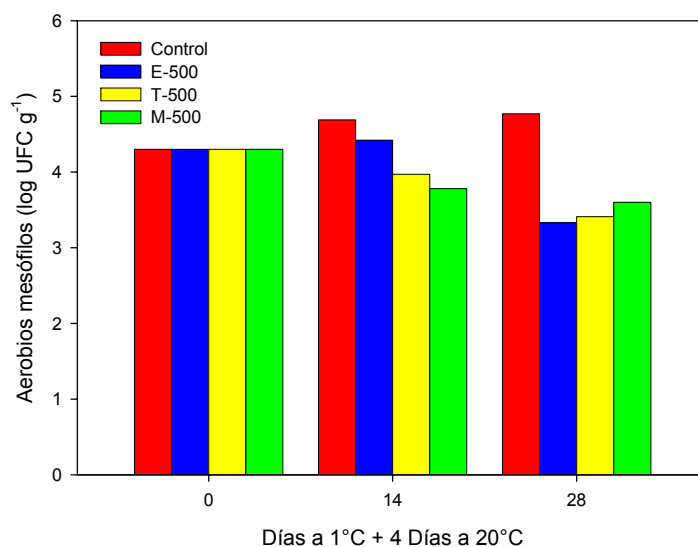


Figura 58. Evolución de los recuentos de aeróbios mesófilos durante la conservación a 1°C más 4 días a 20 °C. Los datos son media de 15 determinaciones.

El número de unidades formadoras de colonias de mohos y levaduras también fue en aumento durante la conservación, un aumento que fue mucho mayor que el comentado anteriormente para los aeróbios mesófilos. Así, el día 0 la uva presentaba 3.5 log U.F.C. g⁻¹ (3162), mientras que a los 28 días de conservación en frío más 4 días a 20°C alcanzaron 5 log U.F.C. g⁻¹ (100000) (Figura 59).

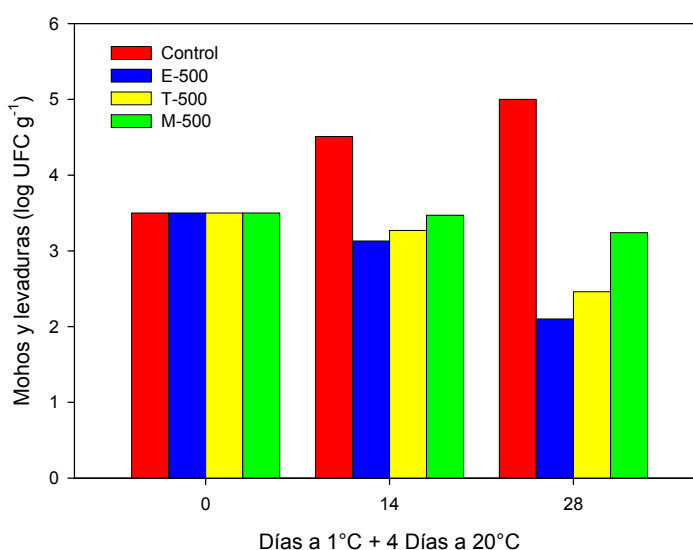


Figura 59. Evolución de los recuentos de aeróbios mesófilos durante la conservación a 1°C más 4 días a 20 °C. Los datos son media de 15 determinaciones.

Por el contrario, los aceites esenciales redujeron de forma notable el desarrollo de las U.F.C., observándose que cuánto más tiempo se prolongó la conservación mayor fue el descenso en los recuentos de U.F.C. Hay que destacar al eugenol como el tratamiento que mejores resultados proporcionó ya que tras 4 semanas a 1°C y 4 días a 20°C, sólo se obtuvieron 2.1 log U.F.C. g⁻¹ (126), es decir, casi 800 veces menos carga microbiana de mohos y levaduras que en la uva control. Asimismo, las unidades formadoras de colonias en las uvas tratadas con timol y mentol también fueron significativamente más bajas que en las uvas control, con unos valores finales de 2.46 log U.F.C. g⁻¹ (288) y 3.24 log U.F.C. g⁻¹ (1734) (Figura 59).

4.2.17. PODREDUMBRES

Las podredumbres que se producen en la uva se deben en su amplia mayoría por hongos. Se puede comprobar como la evolución del número de U.F.C. de mohos y levaduras coincide perfectamente con los porcentajes de bayas podridas (Figura 58). El eugenol fue el aceite esencial más efectivo durante el almacenamiento frigorífico, si bien al transferir los frutos a 20°C durante 4 días, el mentol se convirtió en el tratamiento más eficaz. No obstante, en todos los casos se consiguió disminuir muy significativamente el número de bayas podridas (Figura 60).

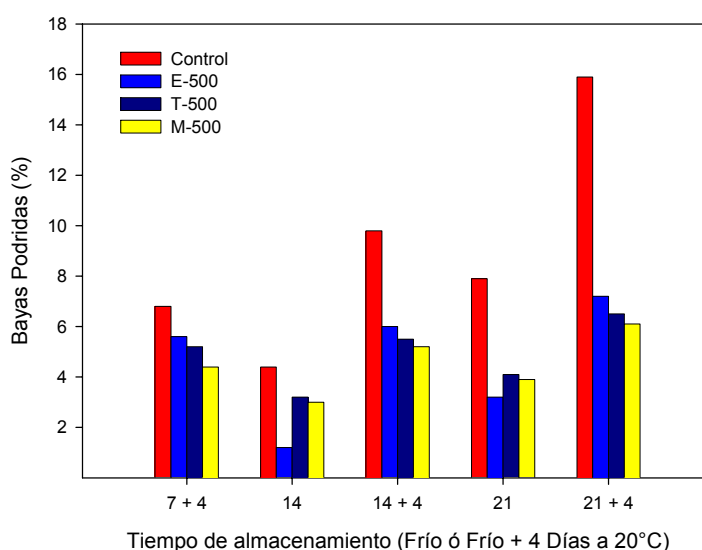


Figura 60. Evolución del porcentaje de bayas podridas durante la conservación a 1°C más 4 días a 20 °C. Los datos son la media de 5 racimos.

4.2.18. VALORACIÓN VISUAL

La valoración se realizó siguiendo una escala de puntuación de 0 a 5, la puntuación mayor estaba destinada a una uva de excelente calidad y las puntuaciones más bajas se refieren a uvas de baja calidad. La valoración de la uva en su momento de recolección fue de 4 puntos y esta puntuación disminuyó a lo largo del almacenamiento post-cosecha.

La valoración tanto del racimo como del raspón mostró una evolución similar. Con el paso del tiempo se produjo un detrimento del aspecto de ambos, tanto en frío como a 20°C. Sin embargo, resulta interesante señalar algunas diferencias significativas. La valoración del aspecto del racimo y del raspón disminuyó drásticamente tras 4 días a 20°C respecto de la conservación frigorífica. Por otro lado, los tratamientos con aceites esenciales siempre favorecieron un aspecto más positivo de los racimos o raspones. En el raspón hubo importantes diferencias entre uvas tratadas y control. No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, pero sí se mostró una mayor eficacia del eugenol en frío mientras que a 20°C timol y mentol obtuvieron mejores resultados (Figura 61 y Figura 62).

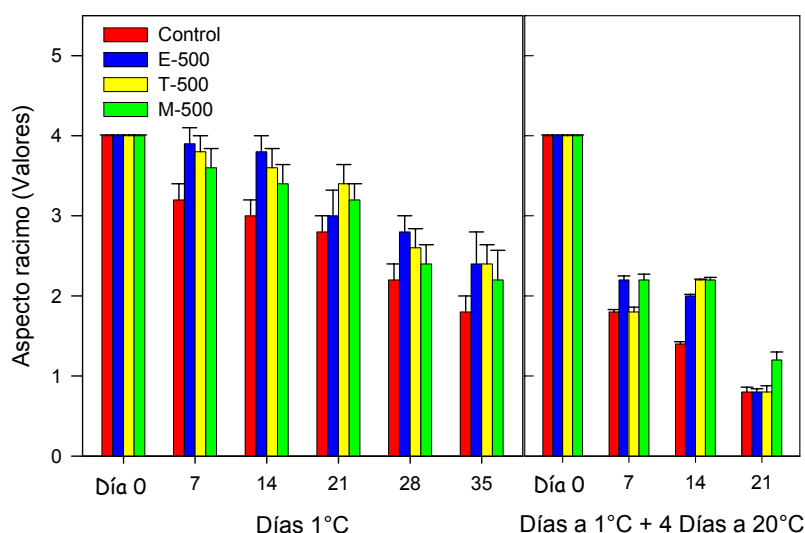


Figura 61. Evolución de la valoración del aspecto del racimo durante la conservación a 1°C (a) y tras 4 días a 20°C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 50 determinaciones.

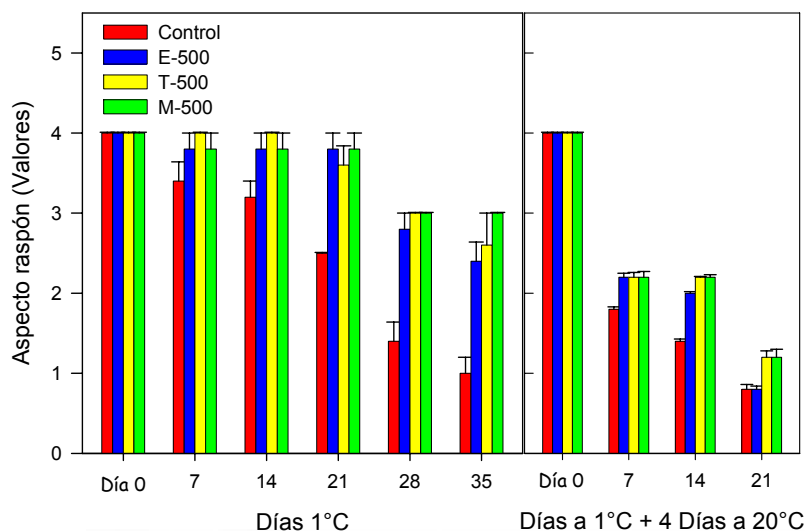


Figura 62. Evolución de la valoración del aspecto del raspón durante la conservación a 1°C (a) y tras 4 días a 20 °C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 50 determinaciones.

Esta valoración del aspecto de los racimos y el raspón no vino acompañada de un análisis sensorial de dichas uvas. Sin embargo, durante los días de muestreo sí se hizo especial hincapié en oler la atmósfera interna en el momento de la apertura de los envases. Así se pudo comprobar como el aire del interior de los envases poseía un olor característico a los aceites esenciales empleados en cada caso. No obstante, al mantener las uvas unos minutos al aire atmosférico y a temperatura ambiente las uvas apenas transmitían ningún aroma extraño.

4.3. EFECTO DE LOS ACEITES ESENCIALES SOBRE *BOTRYTIS CINEREA*

En este ensayo se planteó realizar un estudio del efecto de los aceites esenciales timol, eugenol y mentol sobre el crecimiento de *Botrytis cinerea*, bien sobre cultivo en PDA en placas Petri o bien inoculado en uvas. Se emplearon para ello diferentes dosis, 0.1, 0.4, 1 y 2 mL de estos aceites esenciales.

4.3.1. Efecto de los aceites esenciales sobre cultivo *in vitro* de *Botrytis cinerea*.

4.3.1.1. Recuentos de las colonias

Tras realizar la siembra en superficie de *Botrytis cinerea* sobre el medio de cultivo PDA e incubar durante 7 días a 30°C se observó en las placas Petri control un elevado desarrollo de colonias de *Botrytis cinerea*. En estos casos el número medio de unidades formadoras de colonias fue muy abundante (175.91 ± 80.10 U.F.C Placa⁻¹) y estas colonias contaban con unas dimensiones considerables (diámetro de 66.66 ± 14.21 mm). En las fotografías 21, 22, 23 y 24 se muestran las placas tratadas con los aceites esenciales. Los resultados de U.F.C. placa⁻¹ y diámetro de las colonias se pueden apreciar en las Figuras 63 y 64.

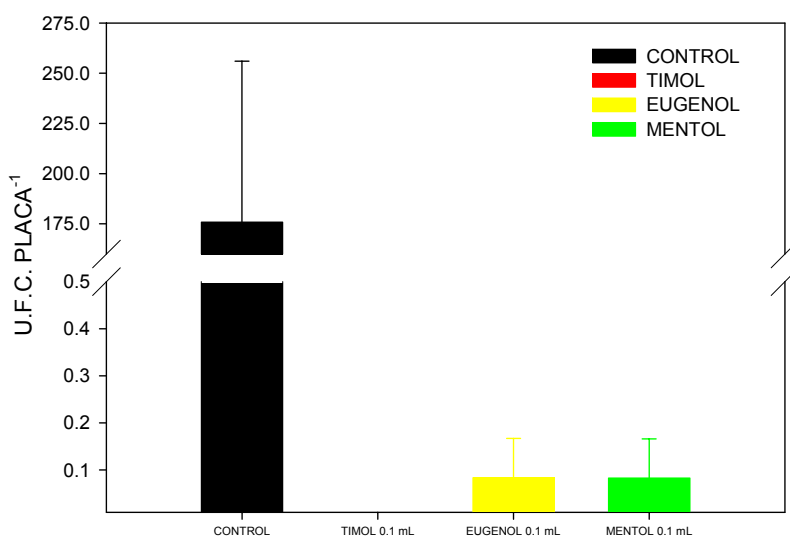


Figura 63: Efecto de los aceites esenciales timol, eugenol y mentol a 0.1 mL sobre el crecimiento de las colonias de *Botrytis cinerea* cultivado *in vitro* tras 7 días a 30°C. Los resultados son media ± Es de 33 determinaciones.

4.3.1.2. Diámetro de las colonias

Los tratamientos con los diferentes aceites esenciales timol, eugenol y mentol a una concentración de 0.1 mL resultaron muy efectivos en limitar el desarrollo de este hongo. La aplicación de timol en la atmósfera de incubación inhibió de forma total el desarrollo del hongo. Por otro lado, se observó un pequeño número de colonias en las placas tratadas con eugenol y mentol (0.08 ± 0.08 U.F.C Placa⁻¹) con unos diámetros de 0.5 ± 0.5 mm y 0.83 ± 0.83 mm. Por lo que mentol y eugenol tuvieron una eficacia parecida (Figuras 63 y 64).

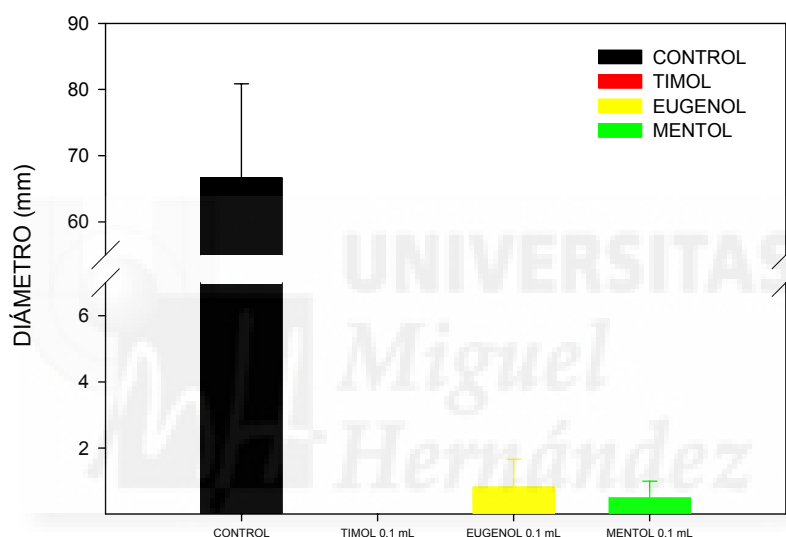


Figura 64. Efecto de los aceites esenciales timol, eugenol y mentol a 0.1 mL sobre el diámetro de las colonias de *Botrytis cinerea* cultivado *in vitro* tras 7 días a 30°C. Los resultados son media \pm ES de 33 determinaciones.

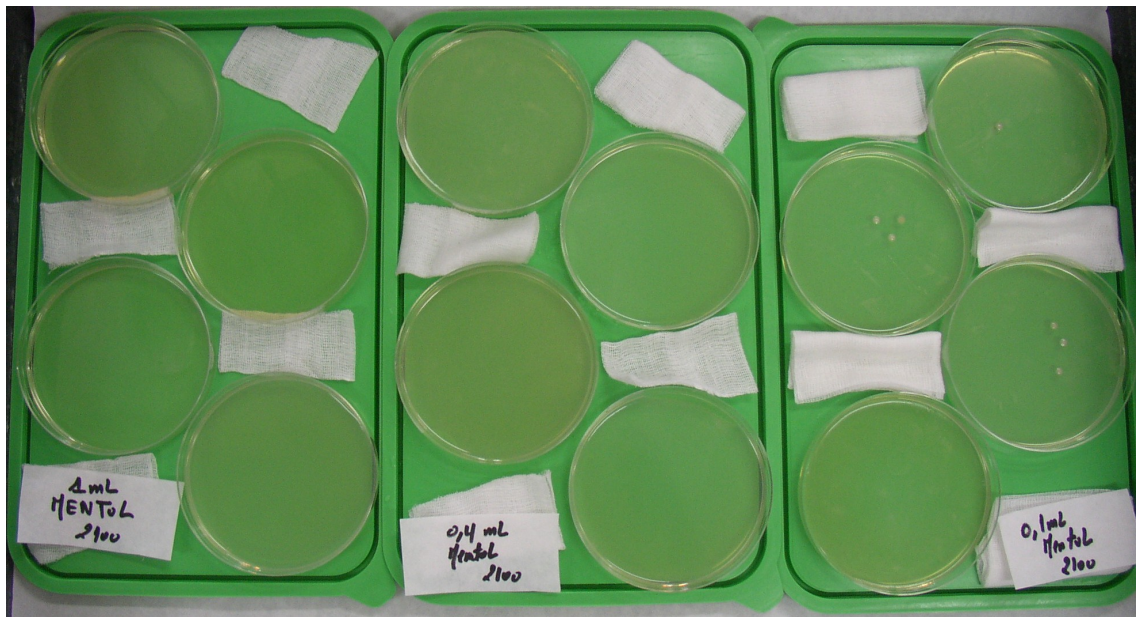
Finalmente los tratamientos con 0.4, 1 o 2 mL de los 3 aceites esenciales inhibieron totalmente el desarrollo de este hongo, y después de 7 días de incubación a 30°C en ninguna de las placas pudo observarse ninguna colonia. En las Fotografías 21, 22, 23 y 24 se aprecian las placas tras el periodo de incubación.



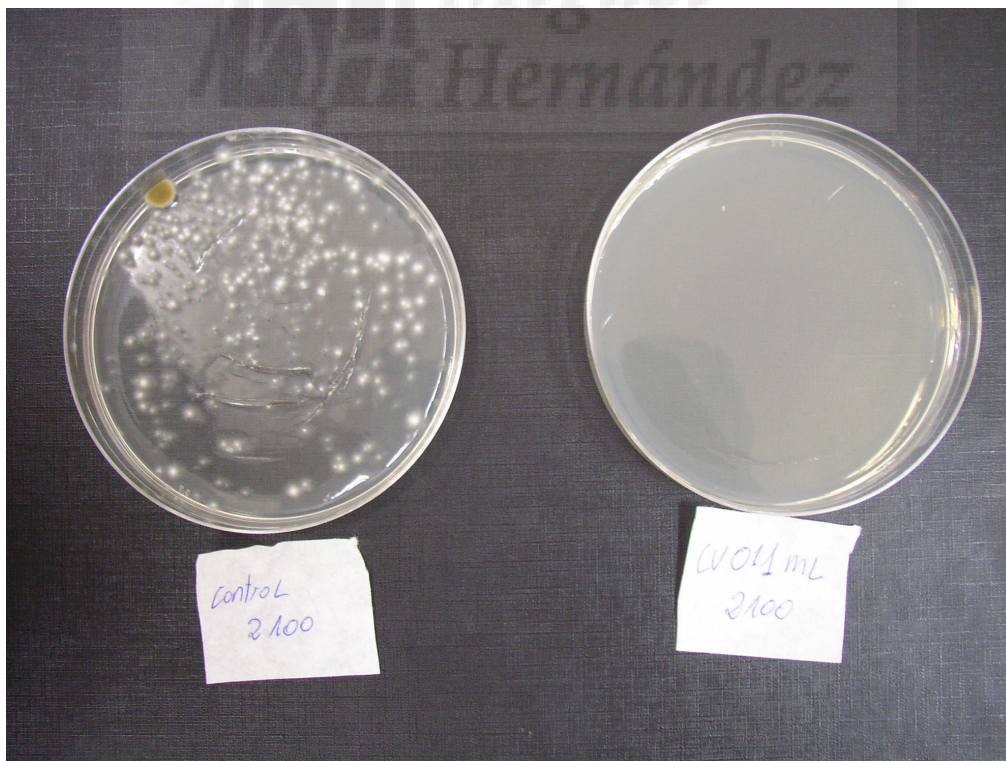
Fotografía 21. Placas Petri sembradas con *Botrytis cinerea* y tratadas con timol (0.1, 0.4 y 1 mL) tras 7 días a 30°C.



Fotografía 22. Placas Petri sembradas con *Botrytis cinerea* y tratadas con eugenol (0.1, 0.4 y 1 mL) tras 7 días a 30°C.



Fotografía 23. Placas Petri sembradas con *Botrytis cinerea* y tratadas con mentol (0.1, 0.4 y 1 mL) tras 7 días a 30°C.



Fotografía 24. Placas Petri sembradas con *Botrytis cinerea* tras 7 días a 30°C, control (derecha) y tratada con 0.1 mL de timol.

4.3.2. Efecto de los aceites esenciales sobre el crecimiento de *Botrytis cinerea* inoculado en uva de mesa 'Autumn Royal'

4.3.2.1. Porcentaje de podredumbres

La Figura 65 muestra el efecto de los 3 aceites esenciales (timol, eugenol y mentol) con diferentes dosis (0.1, 0.4, 1 y 2 mL) sobre *Botrytis cinerea* inoculado en bayas de uva 'Autumn Royal', tras 7 días de incubación a 25°C. Tras este periodo de tiempo, las bayas de uva sin tratamiento (controles), mostraron un crecimiento muy significativo del hongo, puesto que el 100% de las bayas mostraron infección (Fotografía 25).

Por el contrario, en las bayas de uva tratadas con los aceites esenciales a la dosis de 2 mL se inhibió totalmente el crecimiento del hongo. Así mismo, se encontró un efecto similar con la dosis de 1 mL, puesto que el tratamiento con timol y mentol inhibieron totalmente el desarrollo de *Botrytis*. Solamente en el caso del aceite esencial eugenol se apreciaron algunas bayas infectadas, sin embargo en un rango muy bajo (3%).

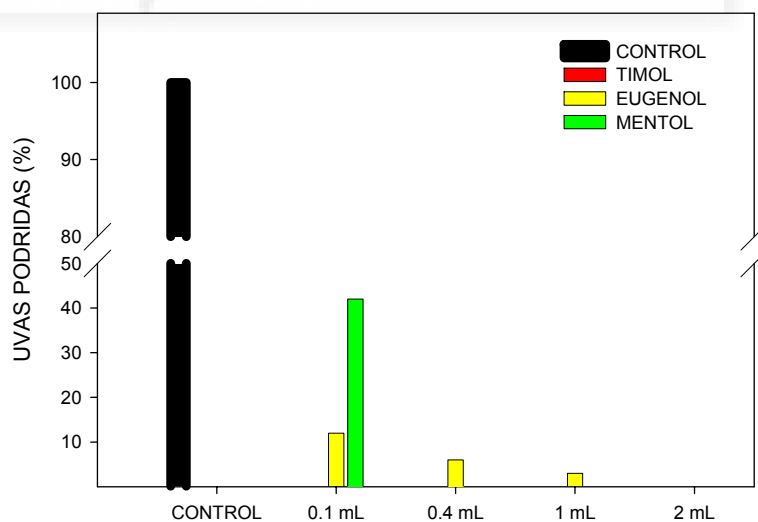


Figura 65. Efecto de los aceites esenciales sobre la podredumbre en bayas de uva de mesa 'Autum Royal' inoculadas con *Botrytis cinerea* tras 7 días a 25°C. Los datos son media de 33 determinaciones.

Cuando se utilizaron dosis más bajas de 1 mL sí aparecieron bayas podridas a pesar de los tratamientos con aceites esenciales. Así, se observaron infecciones en las bayas tratadas con 0.4 mL de eugenol (6%), mientras que mentol y timol a esta dosis inhibieron totalmente el crecimiento de *Botrytis cinerea*. Cuando se usó la menor dosis (0.1 mL) apareció un número más elevado de bayas podridas que fue más elevado con mentol (42%), mientras que fue bastante bajo en eugenol (12%) y no fue capaz de prosperar el hongo en una atmosfera con timol (0%). Por lo tanto, los aceites esenciales más eficaces para inhibir el desarrollo de *Botrytis cinerea* fueron timol y eugenol. Mientras que el mentol provocó una disminución del porcentaje de uvas afectadas por *Botrytis cinerea* de forma dosis-dependiente, en el rango de concentraciones utilizado (Figura 65).

4.3.2.2. Diámetro de la infección

En la Figura 66 muestra el efecto de los 3 aceites esenciales (timol, eugenol y mentol) a diferentes dosis (0.1, 0.4, 1, y 2 mL), sobre la dimensión del diámetro de las colonias de *Botrytis cinerea* que aparecían en bayas de uva tras 7 días de incubación a 25°C. Las bayas de uva control mostraron unas dimensiones de infección de 15.75±1.04 mm de diámetro.

Sin embargo, las bayas tratadas con timol, eugenol y mentol mostraron unas dimensiones en los daños significativamente menores. Con la concentración mayor (2 mL), el porcentaje de bayas infectadas fue nulo para los 3 aceites esenciales utilizados. En cambio, para el tratamiento con 1 mL, se observó un daño de unas dimensiones de 0.06±0.04 mm de diámetro para eugenol, mientras que en mentol y timol no se mostraron daños. Para la dosis de 0.4 mL, el aceite esencial que mostró daño fue: eugenol con un diámetro de 0.13±0.06 mm. Los aceites esenciales mentol y timol a esta dosis inhibieron totalmente el crecimiento del hongo.

Por último, las bayas tratadas con 0.1 mL de concentración mostraron unas dimensiones de daños de 2.06±0.36 mm y 8.03±0.32 mm de diámetro para los tratamientos de mentol y eugenol. Las bayas tratadas con timol no presentaron colonias.

Por tanto, a las concentraciones mayores (1 y 2 mL) los 3 aceites esenciales fueron eficaces dado que inhibieron o redujeron considerablemente el crecimiento del hongo. Cuando se redujo la dosis a 0.4 mL resultó que los tratamientos más eficaces fueron timol y mentol, este último perdió su eficacia totalmente al pasar a una concentración menor (0.1 mL), mientras que timol mostró una inhibición total de crecimiento del hongo.

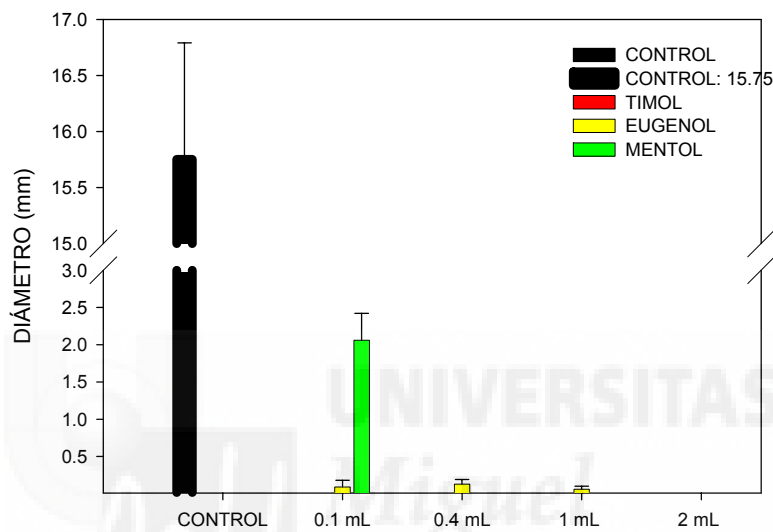


Figura 66. Efecto de los aceites esenciales sobre el diámetro de la podredumbre en bayas de uva de mesa 'Autum Royal' inoculadas con *Botrytis cinerea* tras 7 días a 25°C. Los datos son media \pm ES de 12 determinaciones.

4.3.2.3. Volumen de la infección

El volumen de la podredumbre producida por *Botrytis cinerea* fue mayor cuanto menor fue la concentración de aceites esenciales tal como muestra la Figura 67. Para las bayas de uva control el volumen del daño fue de 3122 ± 367 mm³. Las concentraciones mayores (1 y 2 mL) de aceites esenciales (timol, eugenol y mentol), resultaron muy eficaces, dado que solamente se observó un pequeño daño de 0.13 ± 0.09 mm³ de volumen en la dosis 1 mL de eugenol, mientras que con los demás aceites se inhibió el crecimiento del hongo. Sin embargo, para la dosis 0.4 mL el volumen de daño aumentó hasta un valor de 0.49 ± 0.24 mm³ para el eugenol. Por el contrario, timol y mentol presentaron una inhibición total, y a esta dosis fueron los más eficaces. Mientras que las uvas tratadas con eugenol y mentol a 0.1 mL el volumen de la podredumbre fue de 1.71 ± 1.71 mm³, 14.52 ± 6.14 mm³, respectivamente, con el timol, se inhibió totalmente el crecimiento de *Botrytis cinerea*. En las Fotografías 26, 27 y 28 se puede apreciar la infección interna provocada por *Botrytis cinerea* en las uvas.

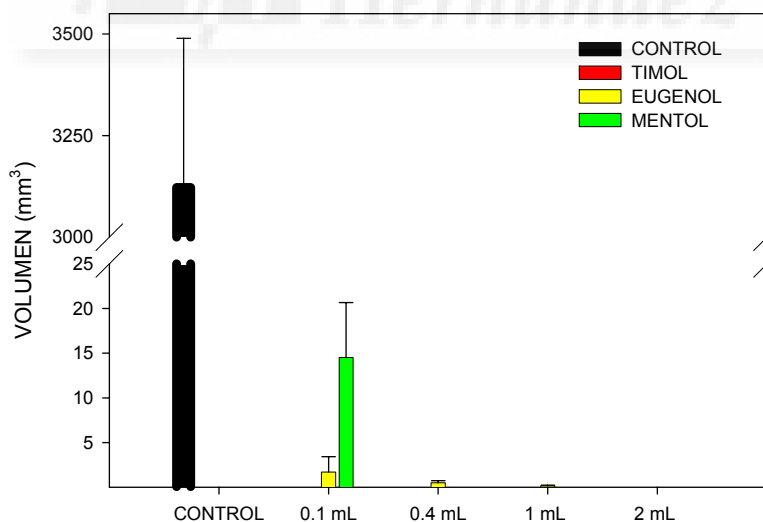


Figura 67. Efecto de los aceites esenciales sobre el volumen de la podredumbre en bayas de uva de mesa 'Autum Royal' inoculadas con *Botrytis cinerea* tras 7 días a 25°C. Los datos son media ± ES de 12 determinaciones.

4.3.2.4. Tasa respiratoria

La emisión de CO_2 en las uvas sin tratamiento (controles) fue de $167.86 \pm 22.35 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Esta emisión disminuyó en las bayas tratadas en mayor medida cuanto mayor fue la concentración de los aceites esenciales aplicados, tal como se observa en la Figura 68.

La tasa respiratoria disminuyó significativamente cuando las uvas se almacenaron en una atmósfera con aceites esenciales. El timol a 0.1, 0.4 y 1 mL redujo la tasa de respiración a $37.1 \pm 4.45 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, $7.4 \pm 0.28 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y $7.81 \pm 0.25 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ respectivamente. Para las uvas tratadas con eugenol los valores fueron $106.59 \pm 7.54 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, $81.87 \pm 4.89 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y $66.45 \pm 3.75 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ respectivamente con las mismas concentraciones. Por otro lado, se observó en las bayas tratadas con el mentol unos valores de tasa de respiración de $114.01 \pm 7.08 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, $53.88 \pm 7.08 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y $34.8 \pm 4.44 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ para 0.1, 0.4 y 1 mL, respectivamente. Por tanto, con todos los aceites esenciales se comprobó que el efecto inhibitor sobre la tasa de respiración era dosis dependiente en el rango de concentraciones ensayado, siendo el timol el más efectivo, seguido de mentol y eugenol (Figura 68).

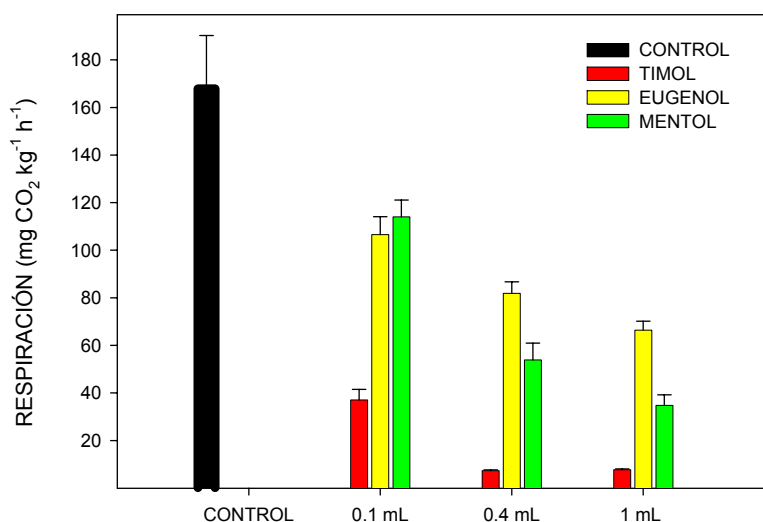


Figura 68. Efecto de los aceites esenciales sobre la respiración de las bayas de uva de mesa 'Autum Royal' inoculadas con *Botrytis cinerea* tras 7 días a 25°C . Los datos son media \pm ES de 12 determinaciones.

4.3.2.5. Tasa de emisión de etileno

Con respecto a la emisión de etileno de las uvas infectadas por *Botrytis cinerea*, se observó que a mayor dosis de aceites esenciales, menor fue la emisión de etileno (Figura 69). Así, para las uvas sin tratamiento, la emisión de etileno alcanzó un valor de $5.45 \pm 0.24 \text{ nL C}_2\text{H}_4 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Sin embargo, las uvas tratadas con timol, eugenol y mentol a unas concentraciones de 0.1, 0.4 y 1 mL por envase, sufrieron un descenso muy significativo de la emisión de etileno, con unos valores de $0.43 \pm 0.22 \text{ nL C}_2\text{H}_4 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$, $0.24 \pm 0.04 \text{ nL C}_2\text{H}_4 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y $0.23 \pm 0.03 \text{ nL C}_2\text{H}_4 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ para el timol. En el caso del tratamiento con eugenol la emisión de etileno fue $0.15 \pm 0.01 \text{ nL C}_2\text{H}_4 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$, $0.26 \pm 0.08 \text{ nL C}_2\text{H}_4 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y $0.13 \pm 0.02 \text{ nL C}_2\text{H}_4 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ para 0.1, 0.4 y 1 mL. Así mismo, se obtuvo una tasa de emisión de etileno de $0.51 \pm 0.1 \text{ nL C}_2\text{H}_4 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$, $0.33 \pm 0.1 \text{ nL C}_2\text{H}_4 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y $0.23 \pm 0.04 \text{ nL C}_2\text{H}_4 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ para el mentol. Se puede resumir que a la dosis de 1 mL no existen diferencias significativas en la emisión de etileno de las bayas independientemente del aceite esencial aplicado. Sin embargo, a 0.4 mL se observa que timol, eugenol, y mentol en este orden son más efectivos en reducir la emisión de etileno, parámetro por otra parte relacionado con la actividad fisiológica de los microorganismos. A 0.1 mL esta tendencia no se puede apreciar de forma tan clara, debido a los errores que se presentan, sin embargo, se observa que timol y eugenol son los aceites que provocan una menor tasa de emisión de etileno en las bayas (Figura 69).

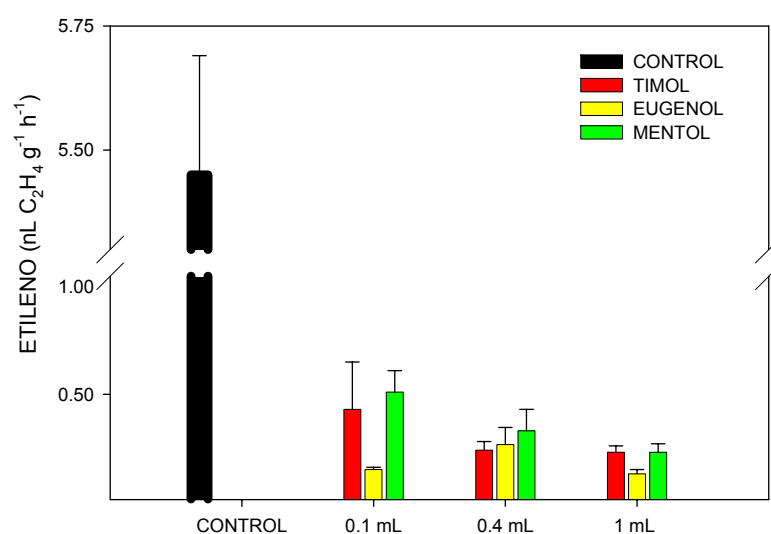


Figura 69. Efecto de los aceites esenciales sobre la emisión de etileno de las bayas de uva de mesa 'Autum Royal' inoculadas con *Botrytis cinerea* tras 7 días a 25°C. Los datos son media \pm ES de 12 determinaciones.



Fotografía 25. Aspecto externo de las bayas de uva 'Autumn Royal' inoculadas con *Botrytis cinerea* tras 7 días de incubación a 25 °C sin tratamiento de aceites esenciales.



Fotografía 26. Daño interno producido por *Botrytis cinerea* sobre bayas de uva 'Autumn Royal' sin tratamiento de aceites esenciales.



Fotografía 27 y 28. Daño interno producido por *Botrytis cinerea* sobre bayas de uva 'Autumn Royal' tratadas con mentol 0.1 mL (derecha) y eugenol 0.1 mL (izquierda).

4.4- CONSERVACIÓN DE UVA DE MESA (*Vitis vinifera* L.) 'Autumn Royal' EN ATMÓSFERA MODIFICADA CON LA ADICIÓN DE EUGENOL Y TIMOL A DIFERENTES CONCENTRACIONES.

En este experimento de conservación de la uva 'Autumn Royal' se usaron dos aceites esenciales: eugenol y timol que fueron los que mejores resultados arrojaron en el experimento realizado con la uva de la variedad 'Crimson', en cuanto al mantenimiento de los parámetros relacionados con la calidad durante la conservación en atmósfera modificada. Por otra parte, estos aceites esenciales también fueron los más eficaces inhibiendo el desarrollo de microorganismos, tanto en las uvas conservadas en atmósfera modificada (Ensayo 2) como en los estudios comentados en el apartado anterior sobre el desarrollo de *Botrytis* en placas de cultivo o sobre las bayas inoculadas con este hongo (Ensayo 3).

Además, en este último experimento se comprobó que con cantidades muy pequeñas de estos aceites esenciales se conseguía una inhibición casi total del desarrollo del hongo, en ambos medios agar PDA y bayas de uva. Por ello, en este experimento se planteó usar cantidades más bajas que las usadas en el ensayo 2, con el fin de conseguir los efectos beneficiosos de estos aceites esenciales sobre la conservación de la uva, pero evitando que pudieran afectar al sabor o aroma de la uva después de la conservación.

Así pues, en este ensayo con uva 'Autumn Royal' se usaron 150 y 75 μL de eugenol y timol. A partir de ahora nos referiremos a estos tratamientos como E75, E150, T75 y T150. Por otra parte, el periodo de vida útil a 20°C se redujo de 4 días a 2 días, ya que del ensayo realizado con uva 'Crimson' se podía deducir que 4 días a 20°C era un periodo excesivamente largo, en el que los parámetros físico-químicos relacionados con la pérdida de calidad de la uva evolucionaban demasiado.

4.4.1. Tasa respiratoria y emisión de etileno

La tasa respiratoria de la uva de mesa 'Autumn Royal' en el momento de la recolección fue de 40.81 ± 2.51 mg de CO_2 kg^{-1} de fruta y hora^{-1} , bastante más elevada (4-5 veces) que la que presentaba la uva 'Crimson', según se ha expuesto anteriormente. La tasa de emisión de la uva 'Autum Royal' fue de 0.24 ± 0.02 nL de C_2H_4 g^{-1} de fruta y hora^{-1} , también más alta que la encontrada en la variedad 'Crimson'.

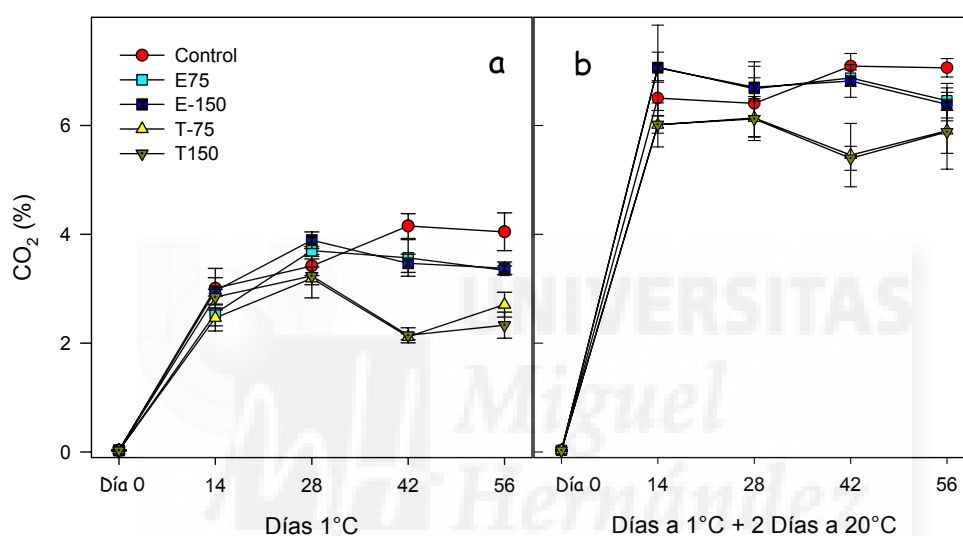


Figura 70. Evolución de la concentración de dióxido de carbono (CO_2) en los envases durante la conservación a 1°C (a) y tras 2 días a 20°C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 15 determinaciones.

4.4.2. Evolución de la composición de la atmósfera

Las concentraciones de CO_2 aumentaron y las de O_2 disminuyeron drásticamente durante los 14 primeros días de almacenamiento en frío, siendo a partir de entonces las modificaciones más lentas. De hecho, la atmósfera de equilibrio se consiguió en frío el día 28, con una concentración aproximada de 3-4% de CO_2 y de 7-8% de O_2 (Figuras 70a y 71a). El aumento de la temperatura de conservación de 1°C a 20°C indujo un aumento adicional de la concentración de CO_2 y una disminución de la de O_2 , alcanzándose la atmósfera de equilibrio a los 14 días de conservación en frío más 2 días a 20°C , con unos

niveles de CO_2 sensiblemente superiores, entre 6-7%, a los alcanzados durante la conservación en frío (Figuras 70b y 71 b).

Los aceites esenciales no tuvieron un efecto muy marcado en las concentraciones finales de la atmósfera, ya que sólo el tratamiento con timol disminuyó la concentración final de CO_2 alcanzada, tanto durante el almacenaje en frío como en la conservación posterior a $20^\circ C$ (Figuras 70a y 70b), y aumentó la concentración de O_2 , siendo en este último caso el efecto dosis dependiente (Figura 71a y b). Sin embargo, en las bolsas tratadas con eugenol la composición de la atmósfera fue más parecida a la de las uvas controles.

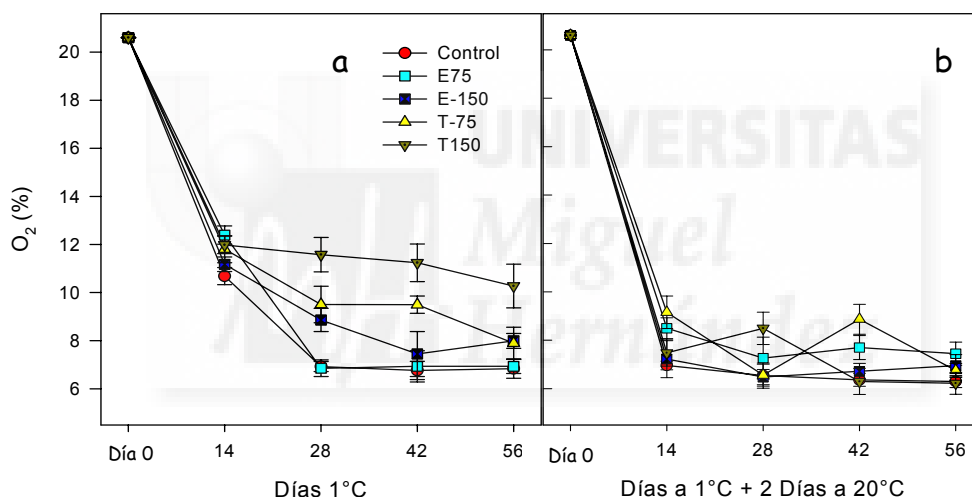


Figura 71. Evolución de la concentración de oxígeno (O_2) en los envases durante la conservación a $1^\circ C$ (a) y tras 2 días a $20^\circ C$ después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 15 determinaciones.

La concentración de etileno en el interior de las bolsas que contenían las uvas control aumentó a lo largo del periodo de conservación, alcanzando unas concentraciones de 1.10 ± 0.05 ppm y 1.36 ± 0.08 ppm después de 56 días de conservación en frío y de 56 días en frío más 2 días a $20^\circ C$, respectivamente (Figura 72a y 72b). Por el contrario, en las bolsas que contenían las uvas tratadas se mantuvo en niveles muy bajos, existiendo a $1^\circ C$ diferencias significativas entre las dosis de eugenol en los últimos muestreos. Al final del experimento de conservación en frío la concentración de etileno en el interior

de las bolsas osciló entre 0.09 ± 0.02 ppm en las tratadas con timol 150 y 0.35 ± 0.01 ppm en las tratadas con eugenol 75, mientras que a 20°C se encontró entre 0.18 ± 0.03 y 0.24 ± 0.06 ppm, en los tratamientos con T75 y T150, respectivamente.

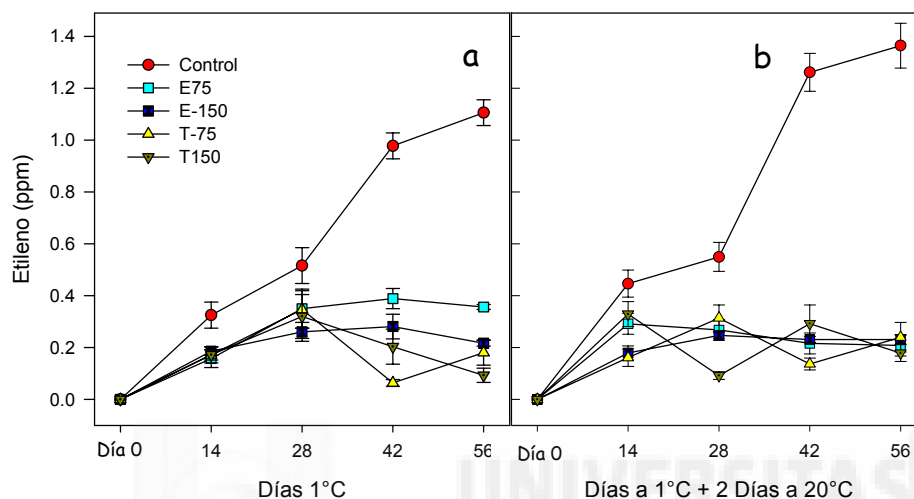


Figura 72. Evolución de la concentración de etileno (C_2H_4) en los envases durante la conservación a 1°C (a) y tras 2 días a 20°C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 15 determinaciones.

4.4.3. Evolución de la pérdida de peso

Las pérdidas de peso incrementaron a lo largo de todo el periodo de almacenamiento, tanto en frío como cuando se colocaban posteriormente a 20°C , alcanzando las uvas control unas pérdidas de peso del $1.59 \pm 0.19\%$ después de 56 días de conservación a 1°C , que aumentaron hasta un $2.10 \pm 0.18\%$ cuando se colocaron 2 días más a 20°C . Además, el incremento en las pérdidas de peso no fue lineal durante todo el periodo de conservación estudiado, sino que se aceleró a partir de los 28 días, tanto durante la conservación en frío como cuando se colocaban posteriormente a 20°C (Figura 73a y 73b).

Los tratamientos con eugenol y timol a las dos dosis ensayadas, disminuyeron significativamente las pérdidas de peso, aunque entre ellos no se encontraron diferencias, siendo las pérdidas de peso inferiores al 0.5% después de 56 días de conservación en frío y entre el 0.5 y el 0.9% tras dos días más de conservación a 20°C (Figura 73a y 73b).

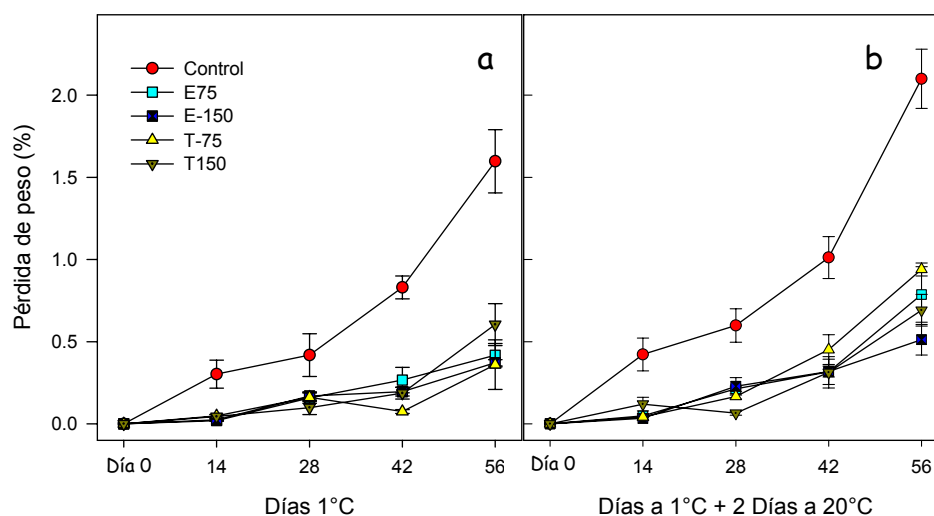


Figura 73. Evolución de la pérdida de peso durante la conservación a 1°C (a) y tras 2 días a 20 °C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 5 determinaciones.

4.4.4. Evolución del color

4.4.4.1. Evolución del parámetro L*

Se observó un descenso continuado en la luminosidad de los frutos, ya que el parámetro L* del color disminuyó significativamente durante la conservación en frío y también cuando se colocaban posteriormente a 20°C. Los tratamientos resultaron eficaces en mantener este parámetro sobre todo, con la dosis superior. Así, por ejemplo, el valor inicial del parámetro L* fue de 30.09 ± 0.53 y disminuyó hasta 25.96 ± 0.61 en las uvas control al final del periodo de conservación en frío, mientras que en los tratados con E150 y T150 quedó próximo a 28.5 (Figura 74a). Hubo un comportamiento similar a 20°C (Figura 74b), siendo los valores finales en uvas control, E75 y T75 inferiores a los observados en frío, sin embargo no disminuyó la luminosidad en las bayas tratadas con E150 y T150.

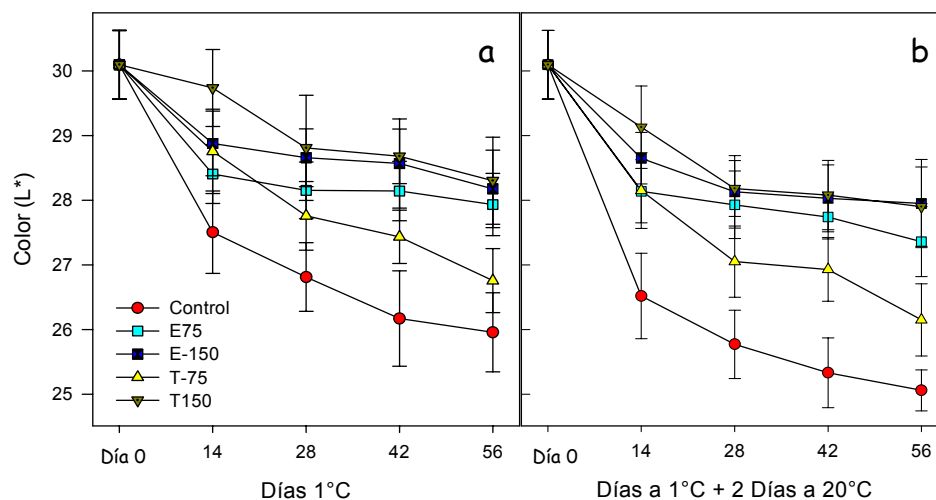


Figura 74. Evolución del parámetro de color L^* , luminosidad, durante la conservación a 1°C (a) y tras 2 días a 20°C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de las determinaciones realizadas en 50 bayas.

4.4.4.2. Evolución del parámetro a^*

El parámetro a^* también descendió durante todo el experimento de conservación, si bien estos descensos fueron de muy poca magnitud, desde un valor inicial de 3.43 ± 0.36 hasta 1.11 ± 0.15 después de 56 días de conservación en frío más 2 días a 20°C . No obstante, el timol resultó eficaz en reducir la bajada de los valores de a^* , siendo el efecto más evidente durante las 6 primeras semanas de conservación, mientras que con el eugenol, aunque también se retrasó la bajada del parámetro a^* , las diferencias con los controles no fueron significativas (Figuras 75a y 75b).

4.4.4.3. Evolución del parámetro b^*

Los valores del parámetro b^* aumentaron ligeramente durante el almacenamiento, tanto en frío como a 20°C , aunque existieron pequeñas diferencias debidas al efecto de los tratamientos o la temperatura. Únicamente el timol a la concentración de $150 \mu\text{L}$ redujo significativamente la evolución del parámetro b^* con respecto a los controles durante toda la

conservación en frío y a 20°C y el tratamiento con E150 sólo en los últimos muestreos de 20°C (Figura 76a y 76b).

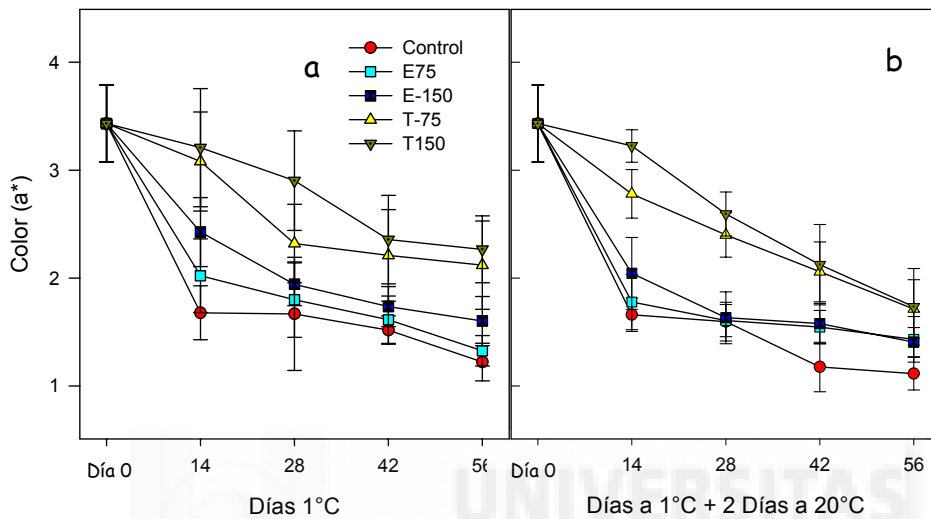


Figura 75. Evolución del parámetro de color a* durante la conservación a 1°C (a) y tras 2 días a 20 °C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media ± ES de las determinaciones realizadas en 50 bayas.

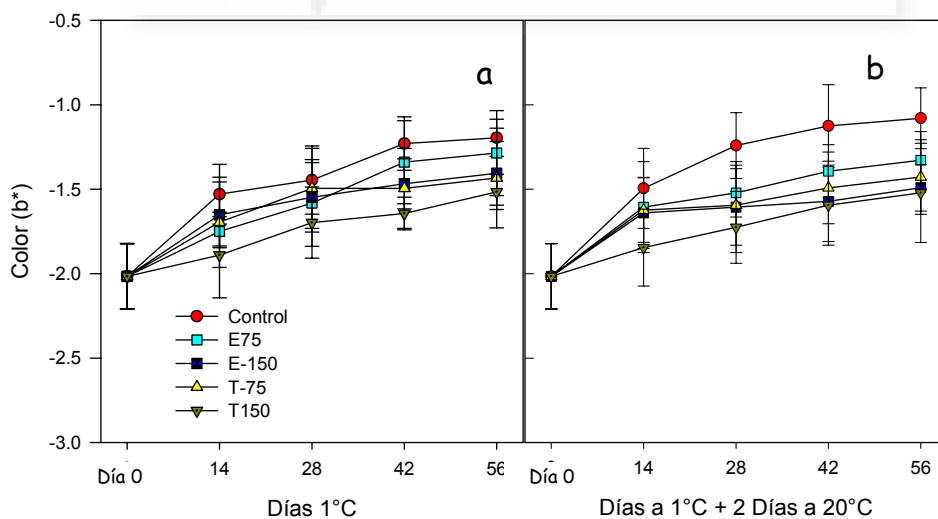


Figura 76. Evolución del parámetro de color b* durante la conservación a 1°C (a) y tras 2 días a 20 °C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media ± ES de las determinaciones realizadas en 50 bayas.

4.4.4.4. Evolución del parámetro Croma*

Al estudiar la evolución del índice Croma*, se observó una disminución a lo largo de la conservación, pasando en los frutos control de unos valores iniciales de 3.98 ± 0.41 a valores de 1.55 ± 0.23 después de 8 semanas de conservación en frío más 2 días a 20°C . En las uvas tratadas con timol o eugenol se observó el mismo comportamiento del índice Croma, aunque, este descenso estuvo sensiblemente retrasado en el tiempo, especialmente con el tratamiento T150 (Figuras 77a y 77b).

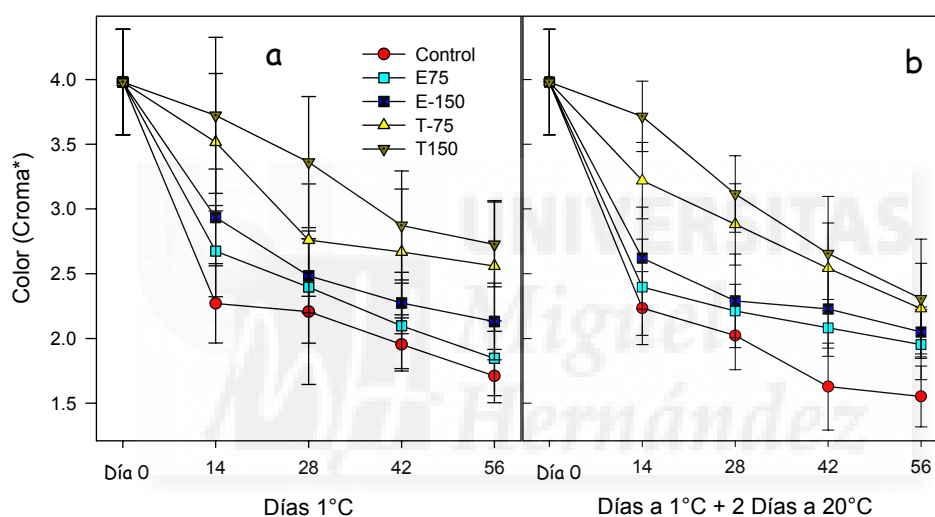


Figura 77. Evolución del índice de color Croma* durante la conservación a 1°C (a) y tras 2 días a 20°C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de las determinaciones realizadas en 50 bayas.

4.4.5. Evolución del contenido de antocianos en piel

Se comprobó que la evolución del contenido en antocianos totales fue similar a la observada para el índice de color Croma*. Es decir, descenso de su contenido durante el almacenamiento, sin apenas diferencias entre la conservación a 1°C y su posterior periodo de vida útil a 20°C . Así, por ejemplo, en las uvas control los valores alcanzados al final de estos periodos de conservación fueron 182.23 ± 9.36 y 170.45 ± 15.46 mg equivalentes cianidín-3-

glucósido 100 g^{-1} piel y respectivamente, desde un valor inicial de $390.02 \pm 25.66 \text{ mg eq. cianidín-3-glucósido } 100 \text{ g}^{-1}$ (Figura 78a y 78b).

Sin embargo, sí existieron importantes diferencias significativas debidas a los tratamientos con estos dos aceites esenciales y a su concentración, ya que con ambos se retrasó la pérdida de antocianinas totales, siendo en general el efecto mayor con timol que con eugenol y en ambos mayor a la mayor concentración aplicada. Incluso, con el tratamiento T150 no se produjeron cambios significativos durante todo el periodo de almacenaje en frío, mientras que en los tratados con T75 había bajado hasta $318.79 \pm 12.83 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ y en los tratados con E150 y E75 hasta $297.43 \pm 14.10 \text{ mg}$ y $257.30 \pm 22.35 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$, respectivamente (Figura 78a).

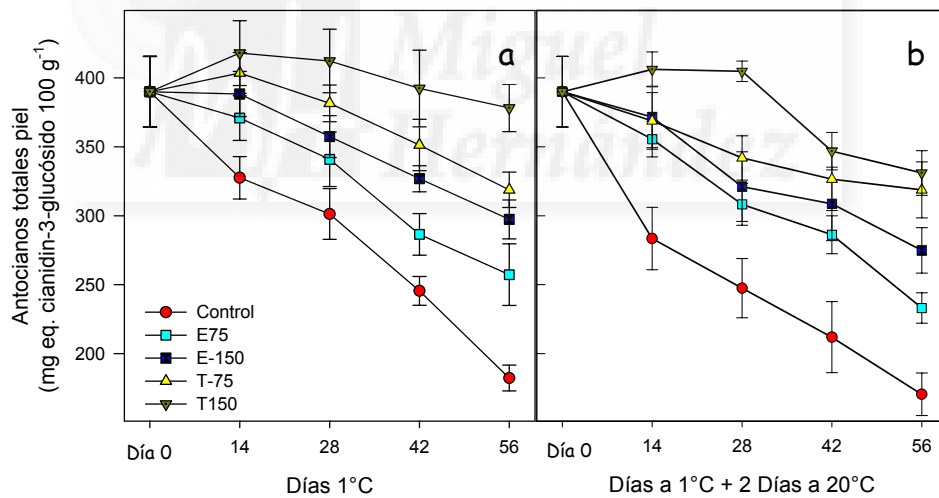


Figura 78. Evolución del contenido de antocianos totales durante la conservación a 1°C (a) y tras 2 días a 20°C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones

4.4.6. Evolución del perfil de antocianinas en piel

Las antocianinas presentes en la uva 'Autumn Royal' se identificaron del mismo modo que se realizó para la uva Crimson, mediante comparación con el cromatograma expuesto por Goiffon et al. (1999). En la uva 'Autumn Royal' la antocianina mayoritaria fue malvidín-3-glucósido con un contenido muy superior a las demás. También resultó ser importante el peonidín-3-glucósido. Finalmente, como minoritarias se encontraron petunidín-, delfinidín- y cianidín-3-glucósido. Se puede observar en la imagen 13 el perfil de antocianinas para la piel de la uva 'Autumn Royal'.

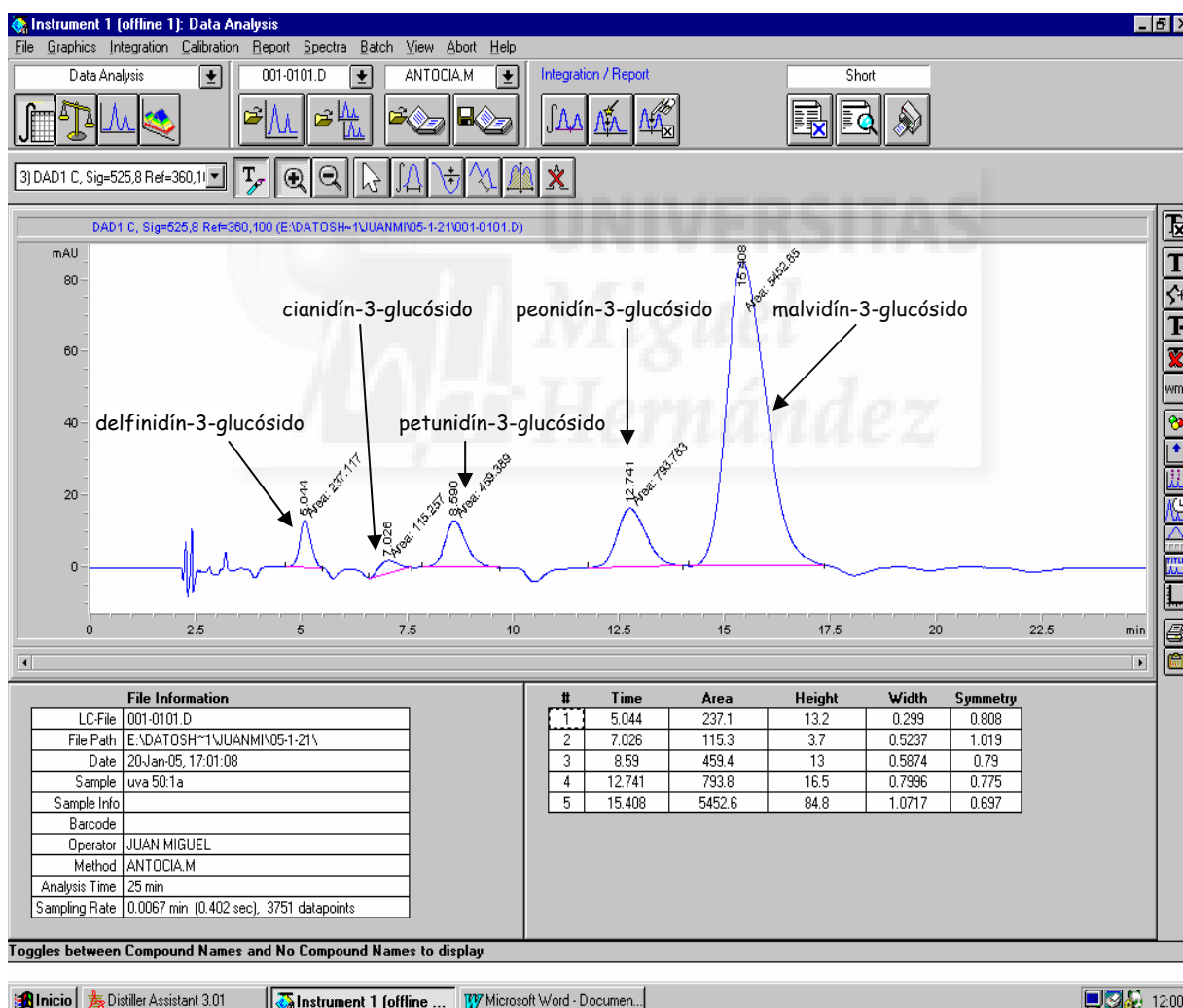


Imagen 13. Perfil del contenido de antocianinas en la piel de la uva de mesa 'Autumn Royal'.

En las uvas control todas las antocianinas disminuyeron de forma significativa en comparación a las tratadas con aceites esenciales. Al igual que ocurrió con el contenido de antocianos totales, no existieron grandes diferencias entre el almacenamiento a 1 °C y el posterior traspaso a 20 °C.

También se observó un comportamiento muy similar en los frutos tratados. En general, el T150 resultó ser el tratamiento más eficaz en mantener el contenido de antocianinas. Al final de la conservación los controles habían perdido aproximadamente el 66% de su contenido inicial en antocianinas, mientras que los tratados sólo perdieron un 33%. Estos resultados se pueden observar en las Figuras 79, 80, 81, 82 y 83.

4.4.6.1. Evolución del contenido de malvidín-3-glucósido

Malvidín-3-glucósido (mv3glu) resultó ser la antocianina mayoritaria, con una concentración muy superior al resto de antocianinas presentes, aproximadamente el 68% del total. El contenido inicial de mv3glu fue de 62305 ± 2657 U.A. g^{-1} . Tras 56 días de almacenamiento a 1°C (Figura 79a) pasó a un valor de 27563 ± 1426 U.A. g^{-1} y 4 días después a 20°C bajó hasta 20436 ± 856 U.A. g^{-1} . Por el contrario los tratamientos con eugenol y timol consiguieron mantener la concentración de mv3glu, con valores superiores o cercanos a 40000 U.A. g^{-1} , tanto en frío como en el estudio de vida útil a 20°C.

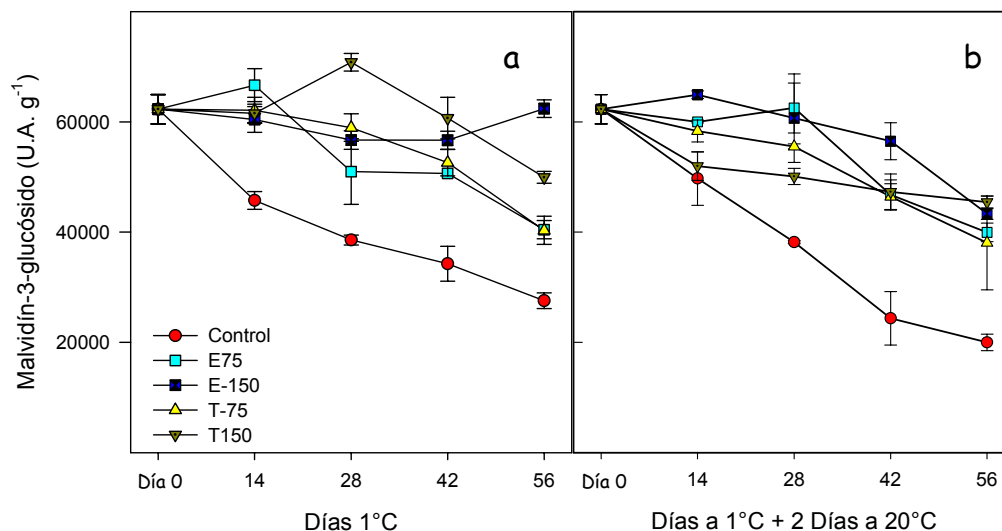


Figura 79. Evolución del contenido de malvidín-3-glucósido en la piel de la uva Autumn Royal durante la conservación a 1°C (a) y tras 2 días a 20 °C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.4.6.2 Evolución del contenido de peonidín-3-glucósido

La antocianina peonidín-3-glucósido (pn3glu) también se encontró en la piel de la uva 'Autumn Royal' en una concentración importante, aproximadamente representa el 20% de la cantidad total de antocianinas. El valor inicial de pn3glu fue 17900 ± 792 U.A. g⁻¹ y tras 56 días de almacenamiento a 1°C este contenido descendió hasta 6534 ± 1201 U.A. g⁻¹ (Figura 80a) y después de 4 días a 20°C bajó hasta 3876 ± 199 U.A. g⁻¹ (Figura 80b).

Sin embargo, los tratamientos con los aceites esenciales resultaron muy eficaces en mantener la concentración de pn3glu durante la conservación post-cosecha. Salvo el último día de muestreo en frío, no se observaron diferencias significativas debidas al tipo de aceite esencial, pero sí se observó una clara eficacia dosis dependiente de estos aceites para mantener esta antocianina. El último día de muestreo el tratamiento T150 resultó ser el más efectivo, siendo los valores en frío 14168 ± 150 U.A. g⁻¹ y tras 4 días a 20°C 13806 ± 684 U.A. g⁻¹.

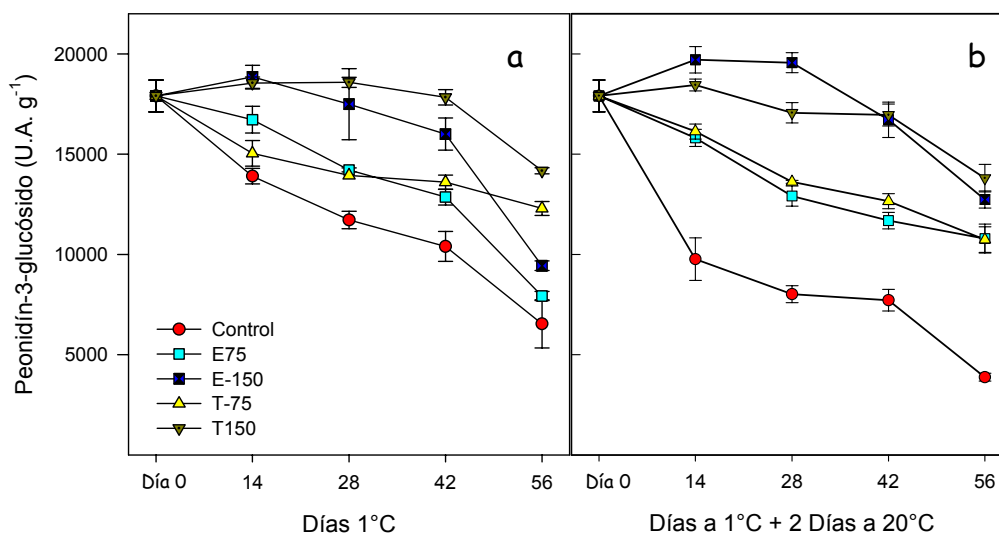


Figura 80. Evolución del contenido de peonidín-3-glucósido en la piel de la uva Autumn Royal durante la conservación a 1°C (a) y tras 2 días a 20 °C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.4.6.3. Evolución del contenido de petunidín-3-glucósido

La antocianina petunidín-3-glucósido (pt3glu) estuvo presente en la piel de la uva Autumn Royal en una baja concentración, aproximadamente representa el 7% del contenido total de antocianinas, y su valor inicial fue de 6486 ± 349 U.A. g⁻¹. Al igual que el resto de antocianinas este valor disminuyó durante el almacenamiento, y en las uvas control no existieron cambios significativos al pasarlas al estudio de vida útil a 20°C.

Los tratamientos con aceites esenciales resultaron muy efectivos en mantener la concentración de pt3glu, sobre todo durante el almacenamiento a 1°C (Figura 81a), por ejemplo tras 56 días las uvas control tenían unos valores de 1830 ± 279 UA g⁻¹ y las tratadas con T150 de 5300 ± 220.00 U.A. g⁻¹.

Sin embargo, el último muestreo del estudio de vida útil mostró como los contenidos de pt3glu en las uvas tratadas se acercaron a los que presentaban los controles (Figura 81b).

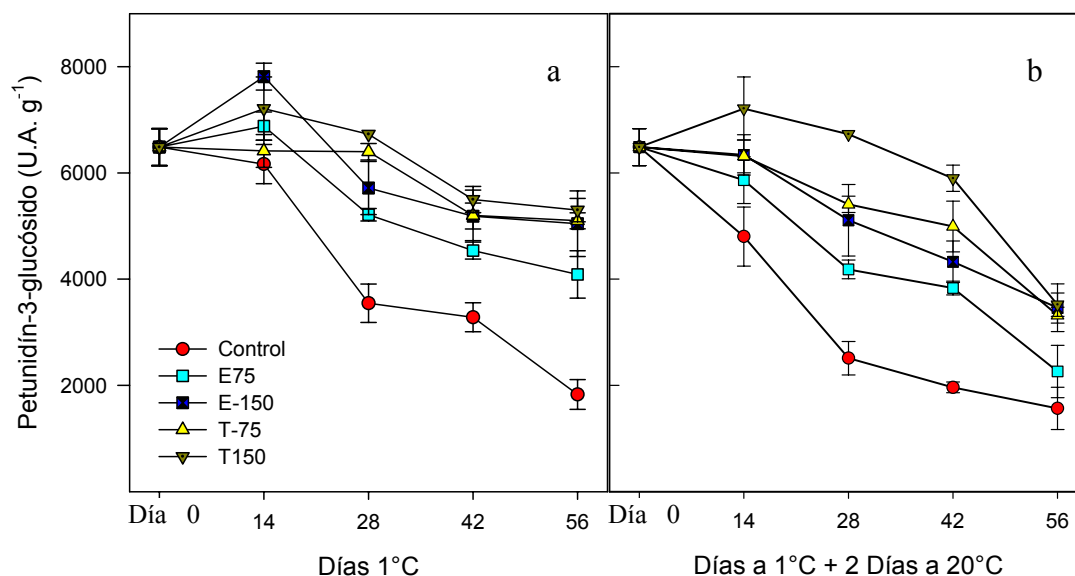


Figura 82. Evolución del contenido de delfinidín-3-glucósido en la piel de la uva Autumn Royal durante la conservación a 1°C (a) y tras 2 días a 20°C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.4.6.4. Evolución del contenido de delfinidín-3-glucósido

La antocianina delfinidín-3-glucósido (dp3glu) está presente en baja cantidad en la piel de la uva 'Autumn Royal', representa aproximadamente el 4.5% del total de las antocianinas de la piel. Su valor inicial fue de 3731 ± 289 U.A. g⁻¹, y descendió muy significativamente durante el almacenamiento a 1°C, pero los valores alcanzados no variaron después de 4 días a 20°C. Por ejemplo, el día 56 el valor de dp3glu en las uvas control a 1°C fue 1156 ± 77 U.A. g⁻¹ y tras 4 días a 20°C fue 1052 ± 145 U.A. g⁻¹. Los aceites esenciales resultaron muy eficaces en retrasar la reducción del contenido de dp3glu. Durante el almacenamiento en frío no hubo diferencias significativas entre eugenol, timol y sus dosis. El día 56 las uvas tratadas alcanzaron valores que oscilaron entre 1800 y 2500 U.A. g⁻¹ (Figura 82a). Por el contrario, al transferir los frutos a 20°C se produjeron diferencias significativas entre los tratamientos. Las uvas tratadas con 150 μ L de timol o de eugenol obtuvieron valores superiores a las de 75 μ L y a igual concentración el timol resultó más efectivo que el eugenol. Estas diferencias fueron más significativas cuanto mayor fue el periodo de almacenamiento (Figura 82b).

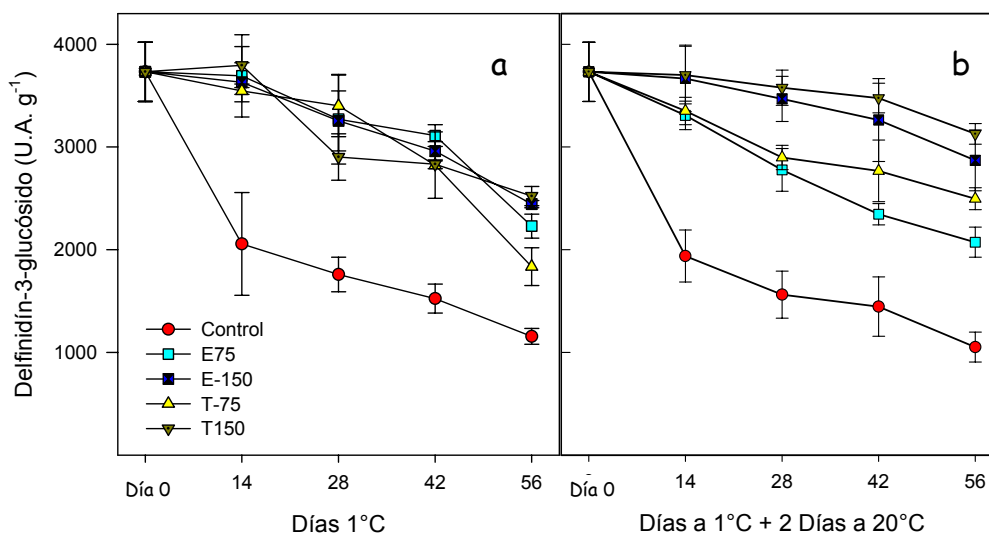


Figura 82. Evolución del contenido de delfinidín-3-glucósido en la piel de la uva Autumn Royal durante la conservación a 1°C (a) y tras 2 días a 20°C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.4.6.5. Evolución del contenido de cianidín-3-glucósido

La antocianina cianidín-3-glucósido (cy3glu) fue la que se encontró en menor proporción, sólo representó un 1.5% del contenido total de antocianinas. Tuvo un comportamiento similar a delfinidín-3-glucósido. Su valor inicial fue 1415.00 ± 13.60 U.A. g⁻¹ y descendió de forma significativa a lo largo del almacenamiento a 1°C (Figura 83a), continuando estos descensos durante el estudio de vida útil a 20°C. Tras 56 días en frío el contenido de cy3glu en las uvas control fue de 263.00 ± 55.00 U.A. g⁻¹ y más 4 días a 20°C el valor descendió hasta 162.00 ± 67.00 U.A. g⁻¹.

Los tratamientos con aceites esenciales tuvieron un efecto muy significativo en el retraso de la degradación de esta antocianina. Este mantenimiento en el contenido de cy3glu fue más efectivo durante el estudio de vida útil (Figura 83b). En el último muestreo el tratamiento con T150 fue el que mayores valores de cy3glu obtuvo, en frío 902.50 ± 34.77 U.A. g⁻¹ y en el estudio de vida útil 871.00 ± 115.00 U.A. g⁻¹, valores muy superiores a los alcanzados en las mismas fechas por los controles.

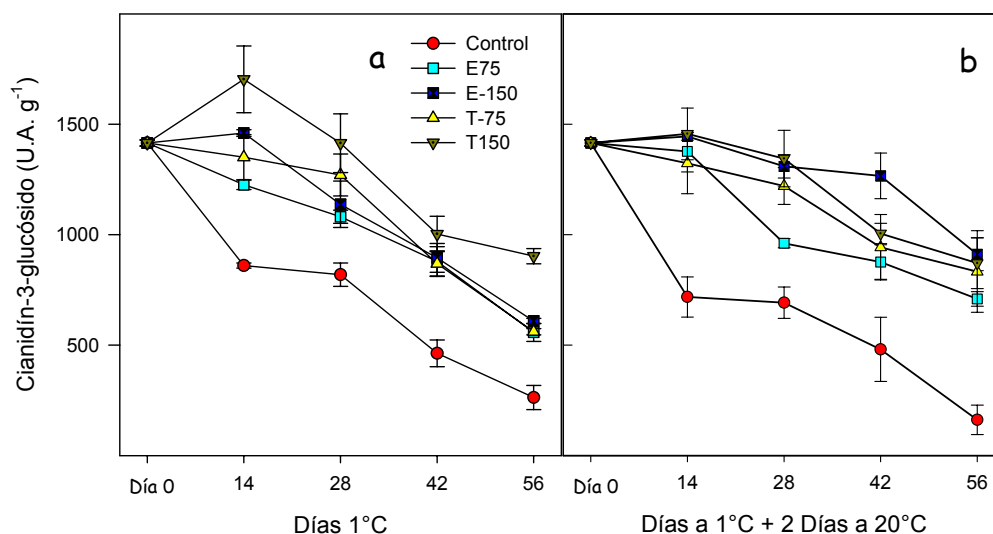


Figura 83. Evolución del contenido de cianidín-3-glucósido en la piel de la uva Autumn Royal durante la conservación a 1°C (a) y tras 2 días a 20 °C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.4.7. Evolución de la firmeza

4.4.7.1. Evolución de la firmeza de la baya

La firmeza de la baya, determinada como fuerza de compresión, disminuyó durante la conservación en frío, acentuándose este descenso cuando las uvas se colocaban posteriormente a 20°C. Así, de una firmeza inicial de 3.99 ± 0.09 N mm⁻¹ se alcanzaron en los frutos control unos valores finales de 3.17 ± 0.08 N mm⁻¹ después de 56 días a 1°C y de 2.77 ± 0.09 N mm⁻¹ tras 2 días más a 20°C. Sin embargo, los tratamientos con los dos aceites esenciales fueron efectivos retrasando las pérdidas de firmeza, un efecto que para ambos era ligeramente superior con la mayor dosis aplicada (Figura 84a y 84b).

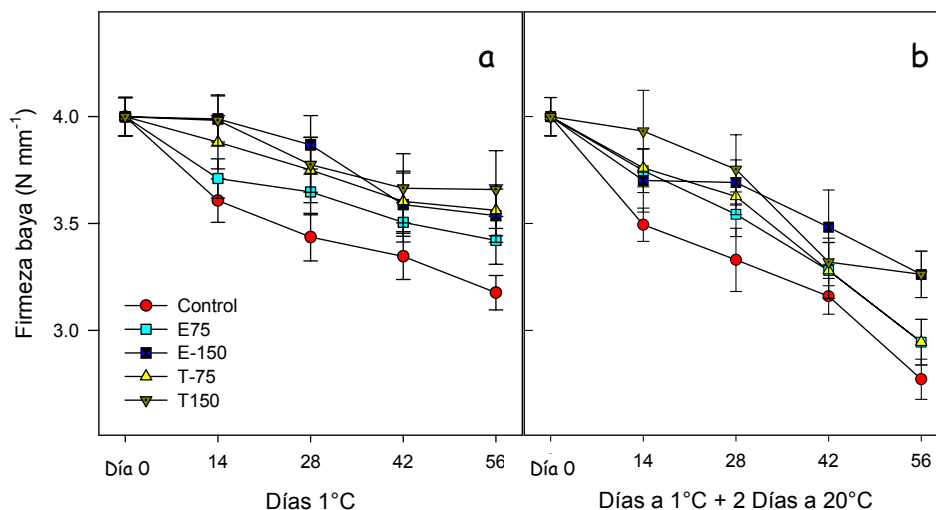


Figura 84. Evolución de la firmeza de la baya durante la conservación a 1°C (a) y tras 2 días a 20 °C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de las determinaciones realizadas en 50 bayas.

4.4.7.2. Evolución de la firmeza de la pulpa

Una evolución similar a la firmeza de la pulpa se observó en la firmeza de la baya, que se determinó mediante un ensayo Magness-Taylor, aunque en este caso la pérdida de firmeza fue más acusada en los frutos control y menos en los tratados. De hecho, durante las primeras 6 semanas de conservación en frío no se observaron cambios significativos en la firmeza de la pulpa de las uvas tratadas con E150 ni con T150, en las cuales los valores finales fueron de 3.58 ± 0.20 N y 3.80 ± 0.30 N respectivamente, mientras que en las uvas control la firmeza inicial de la pulpa, 4.03 ± 0.15 N, había descendido hasta 2.48 ± 0.22 N (Figura 85a).

Asimismo, la firmeza de la pulpa continuaba su descenso en las uvas control cuando se colocaban a 20°C tras el almacenaje en frío, mientras que se mantenía en las tratadas, siendo también en este caso el efecto más acusado con la mayor dosis aplicada. En este sentido, es interesante destacar que los valores de firmeza en las uvas tratadas con E150 y T150, 3.66 ± 0.17 N y 3.94 ± 0.18 N respectivamente, no fueron significativamente diferentes de los

que presentaban el día 0, mientras que los de las tratados con E75 y T75 eran ligeramente más bajos, aproximadamente 0.33 N, y de las uvas control habían caído hasta 2.47 ± 0.19 N (Figura 85b).

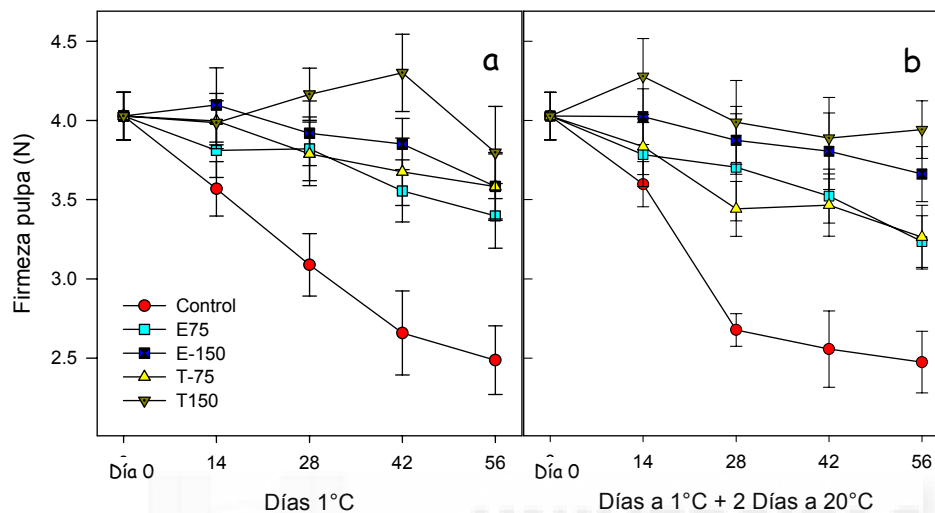


Figura 85. Evolución de la firmeza de la pulpa durante la conservación a 1°C (a) y tras 2 días a 20 °C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de las determinaciones realizadas en 50 bayas.

4.4.8. Cambios en los componentes de la pared celular

4.4.8.1. Cambios en el contenido de pared celular

El contenido de pared celular, expresado en pectinas insolubles en alcohol, disminuyó a lo largo del tiempo en los controles y por el contrario aumentó en las uvas tratadas, sobre todo las de eugenol 150 μ L. En el día 0 el contenido de pared celular era $2.17 \pm 0.14\%$, tras 42 días a 1 °C y 2 días a 20 °C, los controles disminuyeron a $2.06 \pm 0.11\%$ (Figura 86). Por el contrario las uvas tratadas contenían valores superiores, $2.26 \pm 0.13\%$ para eugenol 150 y $2.22 \pm 0.17\%$ para timol 150.

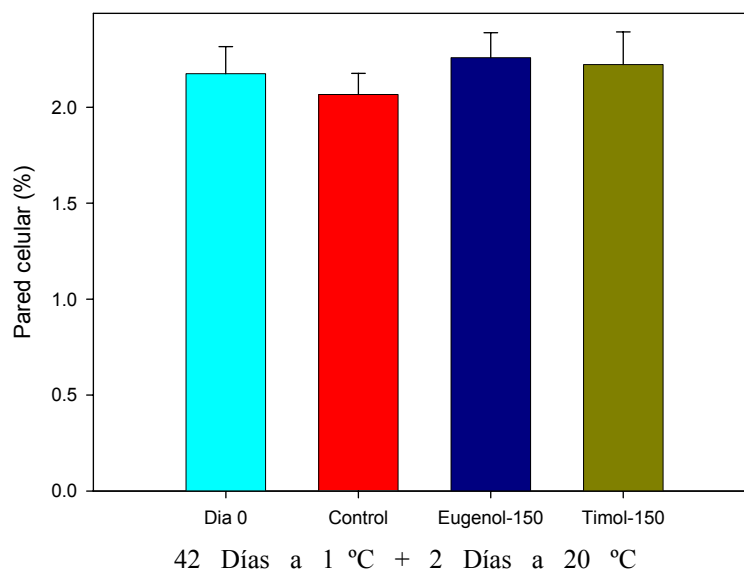


Figura 86. Contenido de pared celular en la pulpa en el día 0 y tras 6 semanas a 1°C más 2 días a 20 °C. Los datos son media \pm ES de 5 repeticiones.

4.4.8.2. Cambios en el contenido de pectinas: totales, solubles en oxalato y solubles en agua

El contenido inicial en pectinas totales en las uvas fue de 289.69 ± 2.54 mg equivalentes de ácido galacturónico por 100 g de P.I.A. Disminuyó durante la conservación hasta valores de 224.27 ± 1.50 mg 100 g^{-1} en las uvas control después de 42 días en frío más 2 días a 20°C. Sin embargo, en las uvas tratadas con E150 y T150 estos valores fueron significativamente mayores, 253.04 ± 9.14 y 241.61 ± 2.79 mg 100 g^{-1} , respectivamente (Figura 87).

Por otra parte, el contenido en pectinas solubles en oxalato no sufrió variaciones significativas en las uvas control durante este periodo de conservación, mientras que aumentó ligeramente en las tratadas, desde 68.52 ± 6.26 mg 100 g^{-1} en el día 0 hasta 98.11 ± 5.38 y 94.06 ± 25.09 mg 100 g^{-1} para los tratamientos E150 y T150 respectivamente, después de 42 días a 1°C y 2 días a 20°C (Figura 87).

Finalmente, la fracción de pectinas solubles en agua tampoco sufrió cambios en las uvas control pero disminuyeron significativamente en las tratadas, con unos valores en esa fecha de 43.78 ± 3.90 y 68.82 ± 0.79 $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ para E150 y T150, respectivamente, frente a los valores de 126.88 ± 5.17 $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ que presentaban el día de la recolección (Figura 87).

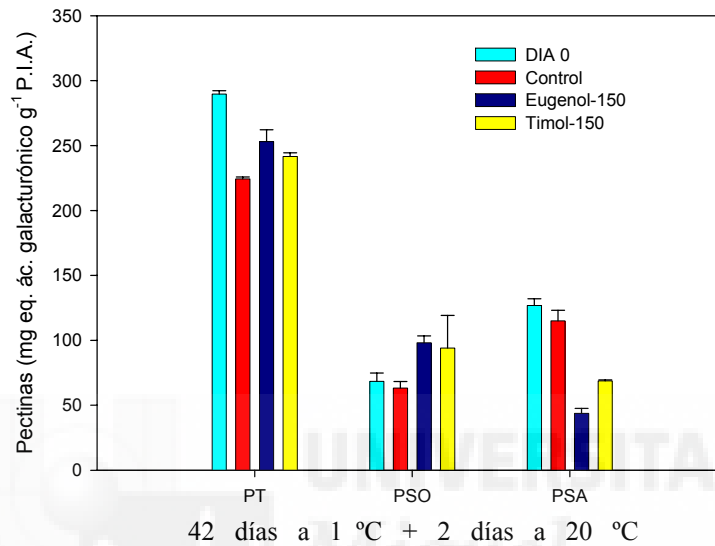


Figura 87. Contenido en pectinas totales, solubles en oxalato y solubles en agua, en el día de recolección y tras 6 semanas a 1°C más 2 días a 20 °C. Los datos son media \pm ES de las 5 repeticiones.

4.4.9. Evolución del contenido de sólidos solubles

Los sólidos solubles aumentaron a lo largo del periodo de almacenamiento, de forma muy significativa en los controles, desde unos valores iniciales de 18.34 ± 0.16 °Brix hasta 21.10 ± 0.23 °Brix después de 8 semanas de conservación en frío y hasta 21.42 ± 0.21 °Brix tras 2 días más a 20°C . Por el contrario, en las uvas tratadas este aumento fue mucho menos acusado y no existieron diferencias significativas entre los aceites esenciales ni entre las dosis. Además, no existieron cambios importantes por el efecto de la temperatura de conservación, cuando se pasaron de la conservación en frío a 20°C , ya que en ambos casos y en todas las uvas tratadas el nivel final de °Brix estuvo entre 19.0 y 19.5 °Brix (Figura 88a y 88b).

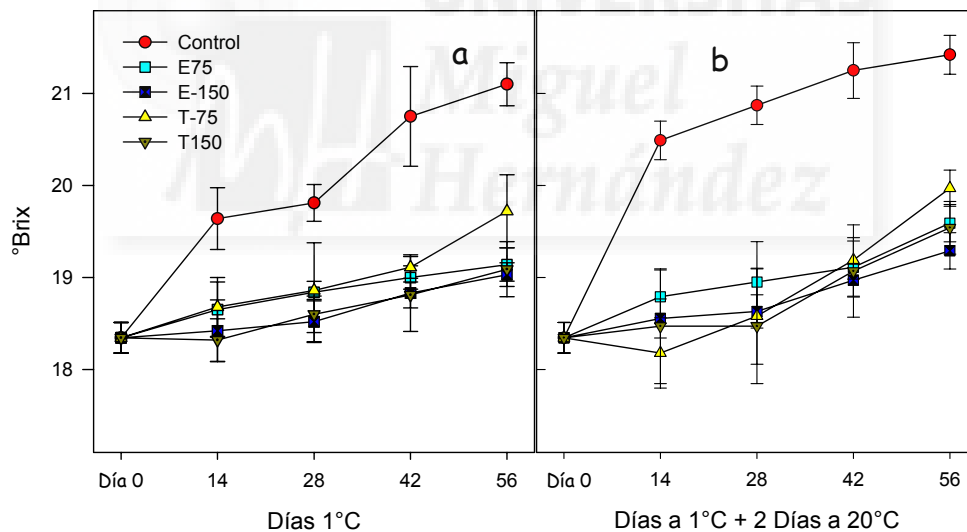


Figura 88. Evolución del contenido en sólidos solubles durante la conservación a 1°C (a) y tras 2 días a 20°C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.4.10. Evolución del contenido de azúcares en la pulpa

Los azúcares mayoritarios en la uva 'Autumn Royal' fueron glucosa y fructosa, que se encontraban en una concentración muy parecida en las uvas recién recolectadas, $8.23 \pm 0.43\%$ y $8.30 \pm 0.46\%$, respectivamente, mientras que la concentración de sacarosa fue mucho más baja, al igual que en el experimento de conservación de la uva 'Crimson', también se encontró dextrosa en una pequeña concentración.

4.4.10.1. Evolución del contenido de glucosa en la pulpa

La concentración de glucosa aumentó durante la conservación tanto en frío como en los períodos posteriores de vida útil. Sin embargo, los aceites esenciales, sobre todo eugenol, resultaron eficaces en reducir el aumento en la concentración de la glucosa. En frío existieron diferencias significativas debidas al tipo de tratamiento, ya que al final de la conservación frigorífica los controles obtuvieron un contenido del $10.32 \pm 0.29\%$ de glucosa, mientras que los tratados con eugenol fue próximo al 8.5% y en los tratados con timol próximo al 9.0% (Figura 89a). Un comportamiento similar se observó en los

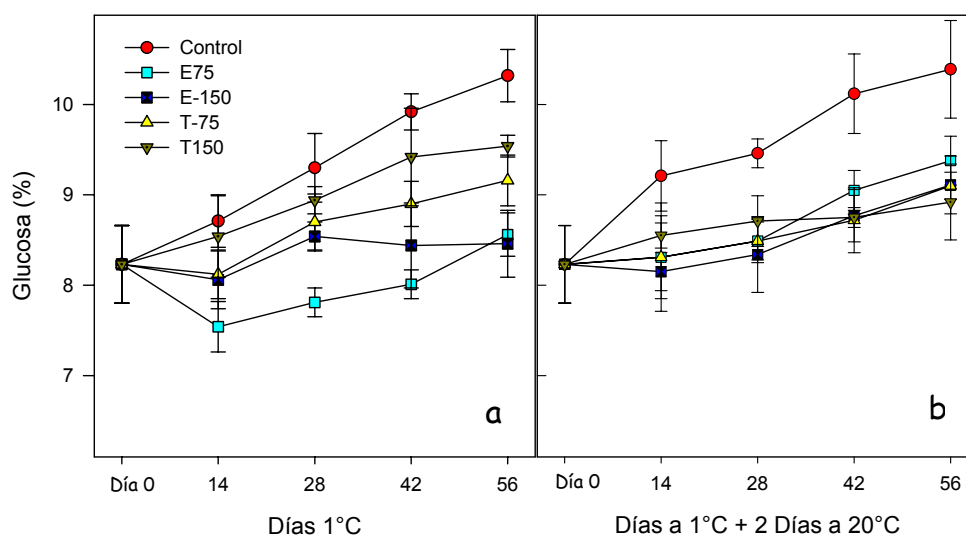


Figura 89. Evolución del contenido de glucosa durante la conservación a 1°C (a) y tras 2 días a 20°C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

periodos de vida útil a 20°C, alcanzando las uvas control una concentración final de glucosa del $10.39 \pm 0.54\%$, mientras que en todas las tratadas fue próxima al 9%, sin apreciarse diferencias significativas entre ellas (Figura 89b).

4.4.10.2. Evolución del contenido de fructosa en la pulpa

El contenido de fructosa, al igual que el de glucosa, aumentó durante el experimento de conservación. Los controles presentaban a los 56 días de conservación en frío una concentración del $9.60 \pm 0.21\%$ y 2 días después a 20°C alcanzaron $10.22 \pm 0.30\%$. Los frutos tratados tenían en general contenidos más bajos de fructosa, sin diferencias significativas debidas al tipo de aceite esencial o la dosis empleada (Figuras 90a y 90b).

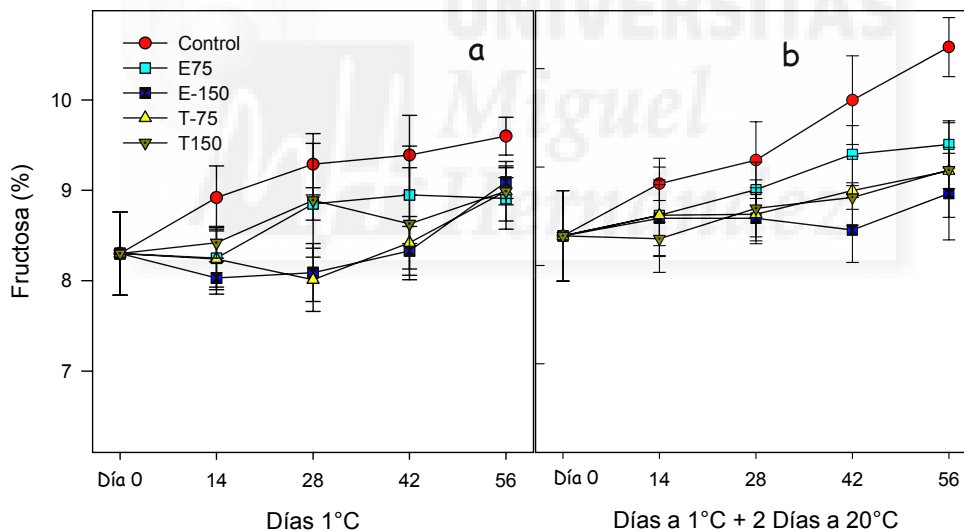


Figura 90. Evolución del contenido de fructosa durante la conservación a 1°C (a) y tras 2 días a 20 °C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.4.10.3. Evolución del contenido de sacarosa en la pulpa

Los contenidos de sacarosa fueron mucho menores que los de glucosa y fructosa y además mientras los dos azúcares mayoritarios incrementaron durante el experimento de conservación, en el caso de la sacarosa se observó un ligero descenso en su concentración, que llegó a valores entorno al 0.2% al final del periodo de conservación estudiado. Sin embargo, no existieron diferencias significativas entre frutos control y tratados con los aceites esenciales a ninguna de las dosis (Figura 91).

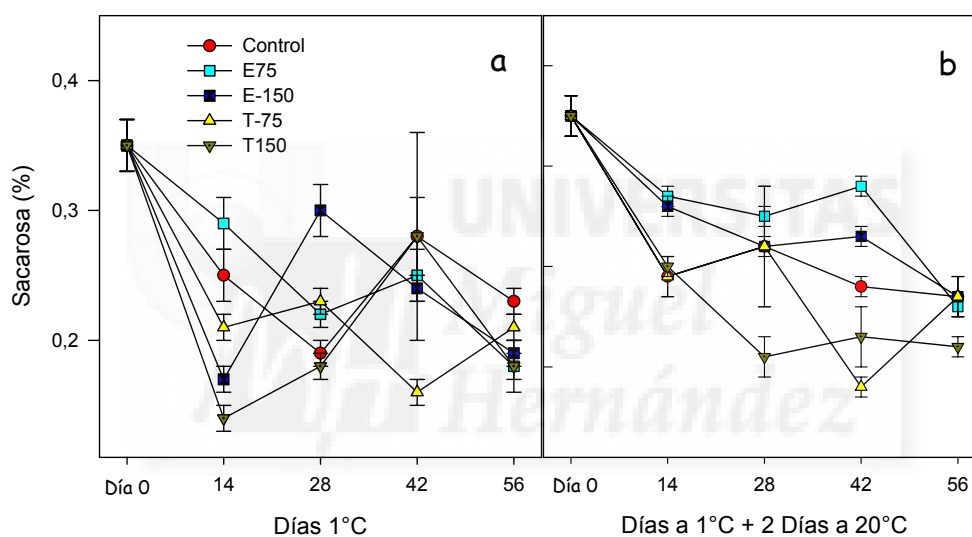


Figura 91. Evolución del contenido de sacarosa durante la conservación a 1°C (a) y tras 2 días a 20 °C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.4.11. Evolución de la acidez titulable

La acidez disminuyó durante el almacenamiento pasando de unos valores iniciales de 0.48 ± 0.01 a una concentración de 0.28 ± 0.01 después de 56 días de conservación en frío y de 0.26 ± 0.01 tras 2 días más a 20°C . Sin embargo, este descenso fue significativamente mayor en las controles que en las tratadas, siendo el timol más eficaz que el eugenol en mantener la acidez. No obstante, no se apreciaron diferencias significativas debidas a la dosis de aceite esencial, aunque en general, para los dos aceites, la acidez era ligeramente superior en las uvas tratadas con la dosis mayor (Figura 92a y 92b).

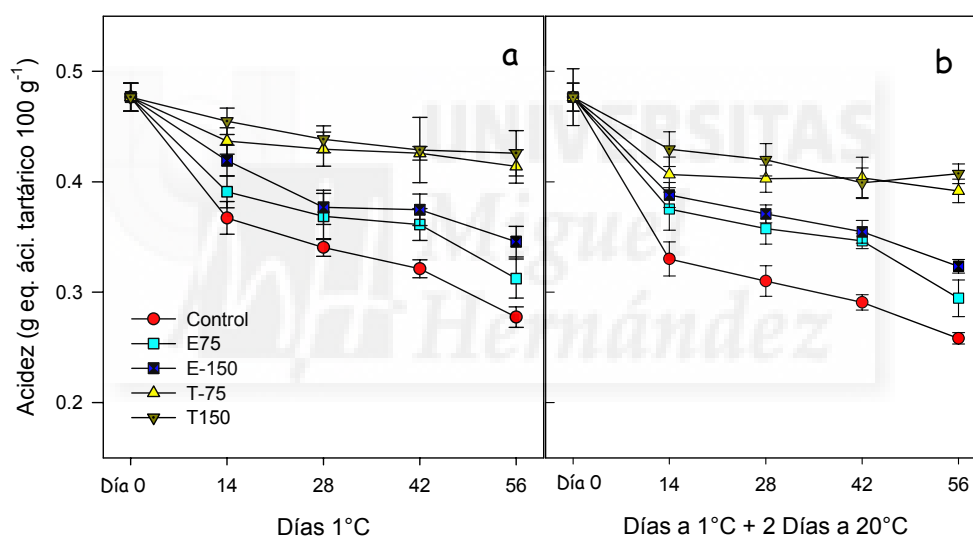


Figura 92. Evolución de la acidez durante la conservación a 1°C (a) y tras 2 días a 20°C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.4.12. Evolución del contenido de ácidos orgánicos en la pulpa

Tras identificar y cuantificar los ácidos orgánicos presentes en la uva 'Autumn Royal' se comprobó que el ácido mayoritario fue el tartárico, que se encontraba a una concentración de $0.40 \pm 0.02\%$ en las uvas recién recolectadas. El resto de ácidos orgánicos detectados se encontraban en una concentración menor, oxálico 59.19 ± 3.21 mg 100 g⁻¹, cítrico 10.83 ± 0.47 mg 100 g⁻¹, ascórbico 68.23 ± 3.35 mg 100 g⁻¹, succínico 144.54 ± 8.51 mg 100 g⁻¹ y fumárico 2.43 ± 0.11 mg 100 g⁻¹.

4.4.12.1. Evolución del contenido de ácido tartárico en la pulpa

El ácido orgánico mayoritario fue el tartárico, cuya evolución se comprobó que coincidía con la comentada anteriormente para la acidez titulable, aunque en este caso las diferencias entre los distintos tratamientos fueron más acusadas. Los resultados mostraron que los aceites esenciales, produjeron un mantenimiento del ácido tartárico, efecto que fue mucho más acusado en las uvas tratadas con timol que con eugenol y además se constató que este efecto fue dosis dependiente. La concentración inicial de ácido tartárico, $0.40 \pm 0.02 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ peso fresco, se mantuvo sin cambios significativos en las uvas tratadas con timol durante todo el periodo de conservación estudiado, tanto durante el almacenamiento a 1°C como en el posterior a 20°C . Por el contrario, en las tratadas con E150 o E75 el contenido de ácido tartárico descendió a lo largo del tiempo, por ejemplo, en el último muestreo, día 56, de conservación a 1°C los valores fueron 0.29 ± 0.03 y $0.25 \pm 0.03 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$, respectivamente y en las control llegó hasta $0.21 \pm 0.02 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ (Figura 93a y 93b). Los valores durante el estudio de vida útil no variaron significativamente respecto a los detectados durante el almacenamiento a 1° .

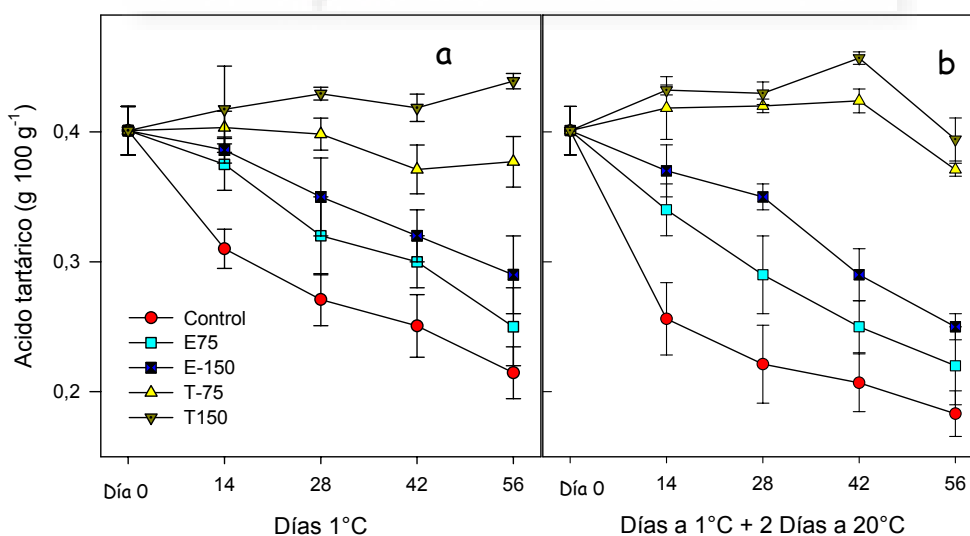


Figura 93. Evolución del contenido en ácido tartárico durante la conservación a 1°C (a) y tras 2 días a 20°C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.4.12.2. Evolución del contenido de ácido ascórbico en la pulpa

El ácido ascórbico disminuyó drásticamente en las uvas control durante su conservación en frío y este descenso fue aún mayor cuando se trasvasaron a 20°C, pasando de unos valores iniciales de 68.23 ± 3.35 mg 100 g⁻¹ peso fresco a valores de 6.48 ± 1.02 mg 100 g⁻¹ después de 8 semanas de conservación en frío. Sin embargo, los tratamientos con los dos aceites esenciales retrasaron significativamente las pérdidas de ácido ascórbico que ocurrían durante la conservación en frío siendo el timol ligeramente más efectivo con un retraso de 3-4 semanas en las pérdidas de ascórbico con respecto a las uvas control (Figura 94a). Sin embargo, en los diferentes periodos de vida útil a 20°C sólo el tratamiento con timol tuvo un efecto significativo retrasando las pérdidas de ácido ascórbico (Figura 94b). Al final del experimento se obtuvieron valores muy bajos, sin diferencias significativas debidas a los tratamientos o las condiciones de conservación.

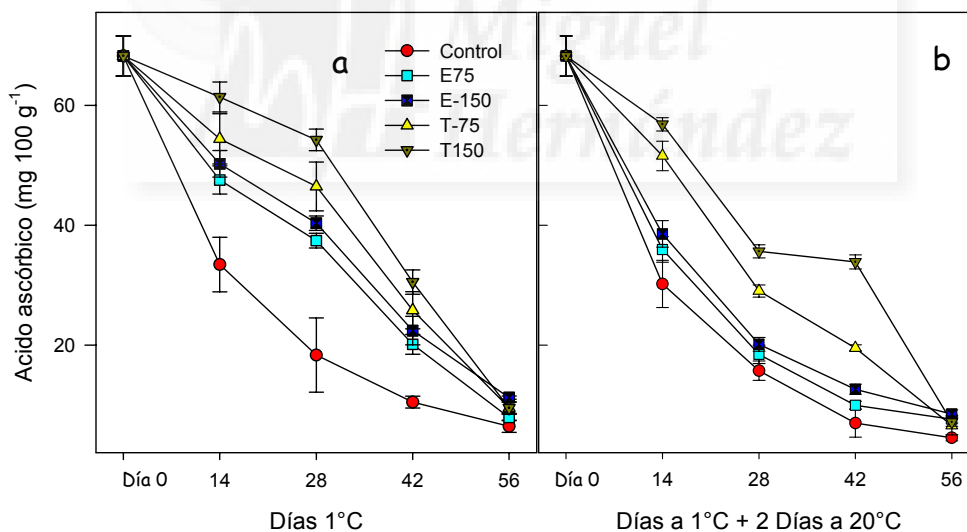


Figura 94. Evolución del contenido en ácido ascórbico durante la conservación a 1°C (a) y tras 2 días a 20 °C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.4.13. Evolución del índice de madurez

Los resultados del índice de madurez nos muestran claramente el comportamiento de los frutos en relación al contenido de sólidos solubles y la evolución de la acidez. Como ya se ha observado anteriormente en las figuras de estos dos parámetros, el contenido en sólidos solubles aumentaba durante la conservación. Mientras que la acidez disminuía, dando como resultado un incremento del índice de madurez a lo largo del almacenamiento, que pasó en los frutos control de unos valores iniciales de 38.48 ± 1.66 a valores de 76.05 ± 2.33 y 82.97 ± 2.11 después de 8 semanas de conservación en frío y su correspondiente periodo de 2 días a 20°C , respectivamente. Sin embargo, en los frutos tratados se observó un retraso significativo en el aumento de este parámetro de maduración, especialmente en los tratados con timol, en los que fue menor de 50 al final del periodo de conservación estudiado (Figura 95a y 95b).

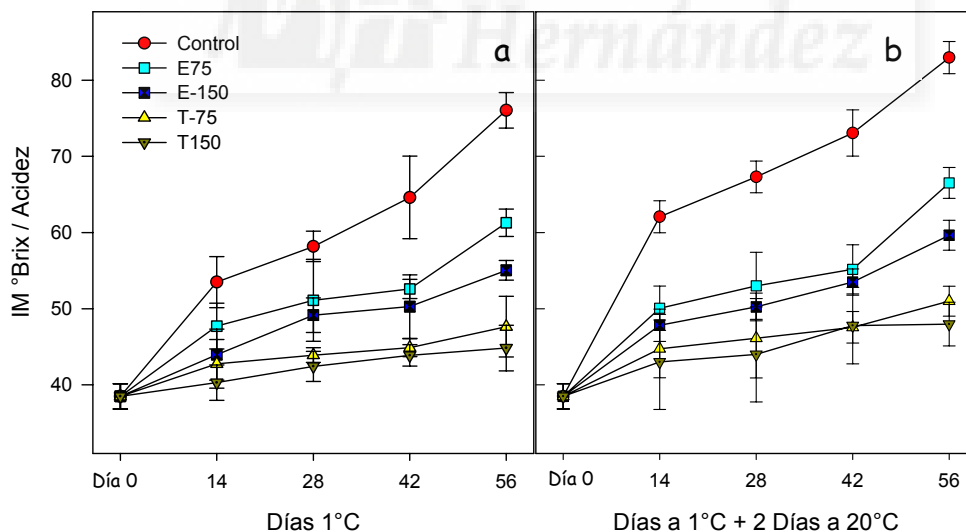


Figura 95. Evolución del Índice de Madurez durante la conservación a 1°C (a) y tras 2 días a 20°C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.4.14. Evolución de la actividad antioxidante total

Se comprobó que la actividad antioxidante total de la piel fue muy superior a la de la pulpa, unas 5 veces más. En las uvas control se produjo un descenso muy significativo en la actividad antioxidante total tanto en la piel como en la pulpa. Por el contrario, los tratamientos resultaron muy efectivos en mantener e incluso aumentar los valores de actividad antioxidante.

4.4.14.1. Evolución de la actividad antioxidante total en piel

Tal como se ha comentado anteriormente, la AAT de la piel en las uvas control descendió muy significativamente durante el almacenamiento, tanto a 1°C como a 20°C. Así, de un valor inicial de 690.16 ± 66.80 mg equivalentes de ácido ascórbico 100 g^{-1} peso fresco, pasó a 339.36 ± 36.44 mg 100 g^{-1} a los 56 días a 1°C y 257.16 ± 26.12 mg 100 g^{-1} tras 4 días más a 20°C (Figuras 96a y 96b). Sin embargo, las uvas tratadas con timol mantuvieron los valores iniciales hasta la 4ª semana de frío, posteriormente se observó un ligero descenso de la AAT hasta el final del experimento.

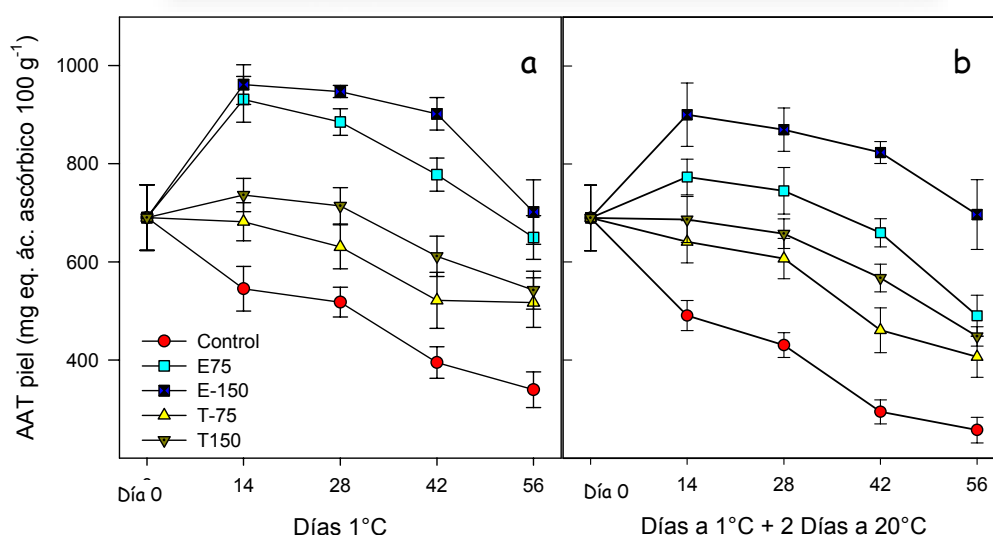


Figura 96. Evolución de la actividad antioxidante total en piel durante la conservación a 1°C (a) y tras 2 días a 20 °C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

De igual modo se observó un descenso paulatino en el estudio de vida útil. No se observaron diferencias significativas debidas a la concentración de este aceite esencial, aunque siempre la dosis de 150 μL obtuvo valores superiores a la de 75 μL . El eugenol aportó una actividad antioxidante significativamente superior a la inicial durante todo el experimento, siendo este aumento dosis-dependiente. El mayor aumento de AAT se produjo durante la primera semana de almacenamiento frigorífico (931.16 ± 46.64 y 961.32 ± 40.60 mg 100g^{-1} , para E75 y E150, respectivamente), y a partir de este momento se apreció un ligero descenso hasta el final del periodo de almacenamiento alcanzando al final del experimento valores muy similares a los iniciales (Figura 96a).

El timol no aumentó la actividad antioxidante total, ésta fue disminuyendo a lo largo del almacenamiento a 1°C , sin embargo este descenso estuvo ralentizado en comparación a las uvas control, de este modo el timol retrasó la pérdida de actividad antioxidante, de modo que al final del experimento mientras las uvas control presentaban 339.36 ± 36.44 mg las uvas tratadas con timol poseían 516.96 ± 50.48 mg y 542.24 ± 38.64 mg, para T75 y T150 respectivamente (Figura 96a).

La evolución durante el estudio de vida útil fue muy similar a la comprobada en la frigoconservación, si bien los resultados fueron significativamente menores tras 2 días a 20°C en las uvas control, mientras que en las uvas tratadas estos descensos no fueron tan importantes. Así, mientras las uvas control tras 56 días a 1°C y 2 días a 20°C obtuvieron un valor de 257.16 ± 26.12 mg 100g^{-1} , las uvas tratadas obtuvieron valores significativamente superiores, con eugenol 75 y 150, 490.28 ± 42.00 y 696.88 ± 71.16 mg 100g^{-1} respectivamente y las tratadas con timol 75 y 150, 406.80 ± 42.12 y 448.32 ± 19.84 mg 100g^{-1} (Figura 96b).

4.4.14.2. Evolución de la actividad antioxidante total en pulpa

La evolución de la actividad antioxidante total de la pulpa de la uva control sufrió un significativo descenso durante el almacenamiento, tanto en frío como en el estudio de vida útil. El valor inicial en el día 0 fue 139.60 ± 7.00 mg 100 g $^{-1}$, tras 56 días a 1°C este valor descendió hasta 102.60 ± 9.60 mg 100 g $^{-1}$ y 2 días a 20°C mas tarde el contenido fue de 103.90 ± 9.00 mg 100 g $^{-1}$ (Figuras 97a y 97b).

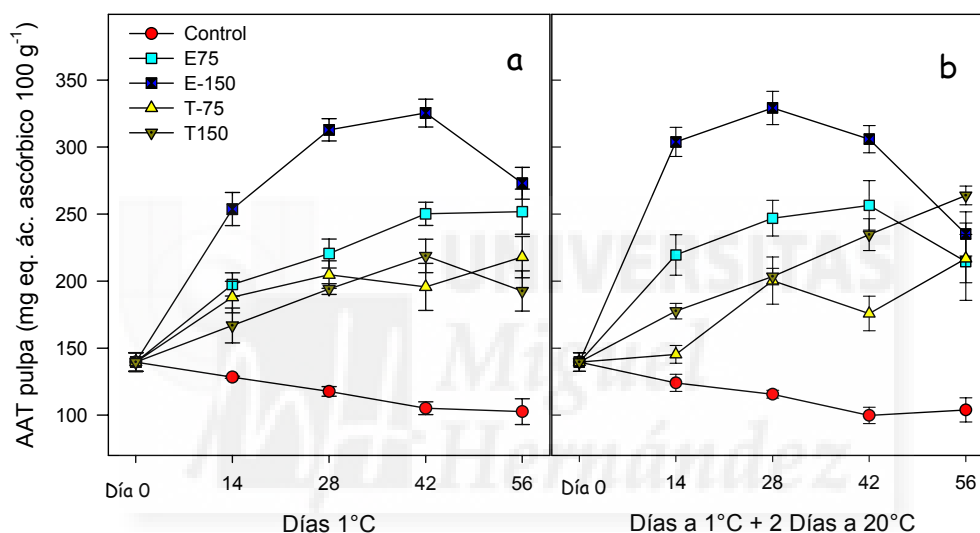


Figura 97. Evolución de la actividad antioxidante total en pulpa durante la conservación a 1°C (a) y tras 2 días a 20°C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

Los tratamientos aumentaron la capacidad antioxidante de la pulpa durante el experimento con valores muy superiores a los del día 0. El eugenol a mayor dosis se mostró como el tratamiento más eficaz para aumentar la actividad antioxidante de la pulpa de la uva, este aumento obtuvo un máximo el día 42 a 1°C y el día 28 a 1°C más 2 días a 20°C (325.40 ± 10.40 mg y 329.20 ± 12.40 mg 100 g $^{-1}$ respectivamente). Durante el almacenamiento frigorífico el resto de tratamientos proporcionó un aumento progresivo en la AAT, con valores menores a los obtenidos para E150 pero siempre superiores a los iniciales. El tratamiento con timol también aumentó significativamente la AAT con respecto a los controles, aunque no existieron diferencias significativas en los valores de AAT en las uvas tratadas con las diferentes

dosis de timol (Figura 93a). En el estudio de vida útil se mostró un comportamiento similar al observado durante el almacenamiento frigorífico. El eugenol aumentó más que el timol la AAT y estos aumentos fueron dosis dependientes (Figura 97b).

4.4.15. Evolución del contenido de polifenoles totales

El contenido inicial de polifenoles fue de 362.84 ± 21.92 y 17.39 ± 1.23 mg eq. de ácido gálico 100 g^{-1} , para piel y pulpa, respectivamente. Durante la conservación hubo un descenso de estos valores en uvas control, que fue mucho más pronunciado en la piel que en la pulpa. Los tratamientos mantuvieron los polifenoles en la piel y los aumentaron en la pulpa. Este comportamiento se mostró dosis-dependiente y en él apenas influyó la temperatura de conservación. Cuanto más se prolongó el tiempo de almacenamiento, más evidente fueron las diferencias. El último día de muestreo los controles presentaron unas pérdidas aproximadas del 66% en la piel y 55% en la pulpa, mientras que los tratados con $150 \mu\text{L}$ de eugenol sólo perdieron un 13% en la piel y en la pulpa se observó un incremento del 200%.

4.4.15.1. Evolución del contenido de polifenoles totales en piel

Se puede apreciar en la Figura 98 la evolución comentada anteriormente, durante el almacenamiento frigorífico las uvas control sufrieron un significativo descenso en el contenido de polifenoles (día 56 $152.95 \pm 8.11 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) (Figura 98a). Sin embargo, las uvas tratadas no experimentaron estos descensos, e incluso, en el caso del tratamiento con eugenol, durante las primeras semanas se observó un aumento en el contenido de polifenoles respecto del día 0, que posteriormente siguió un paulatino descenso. Los valores finales fueron muy superiores a los presentados por las uvas control. Asimismo, el eugenol resultó ser más eficaz que el timol en mantener los polifenoles y esta respuesta resultó ser dosis dependiente.

Durante el estudio de vida útil, los resultados en las uvas tratadas fueron muy similares a los observados durante la frigoconservación. Sin embargo, las uvas control tras 2 días a 20°C disminuyeron más todavía el contenido en polifenoles respecto al almacenamiento en frío (Figura 98b).

4.4.15.2. Evolución del contenido de polifenoles totales en pulpa

El contenido de polifenoles en la pulpa de la uva fue muy inferior al observado en la piel. Este contenido de polifenoles descendió en las uvas control durante el almacenamiento postcosecha. Su contenido inicial fue de $17.39 \pm 1.23 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ y tras 8 semanas a 1°C pasó a $10.81 \pm 0.57 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ (Figura 99a), y cuando estas uvas pasaron 2 días a 20°C el valor de los polifenoles bajó hasta $8.06 \pm 1.21 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ (Figura 99b).

Los tratamientos con los aceites esenciales, timol y mentol, proporcionaron un contenido en polifenoles totales mayor al que presentaba la uva el día de su recolección, estos contenidos fueron aumentando significativamente a lo largo del almacenamiento y el estudio de vida útil ayudó a aumentar más todavía los polifenoles. Solamente el timol 75 durante el almacenamiento frigorífico no proporcionó un aumento sino un mantenimiento en el contenido de polifenoles. En los otros casos, se comprobó que el eugenol fue más efectivo en aumentar los polifenoles que el timol y además estos aumentos se debían a una respuesta dosis dependiente. De este modo, la dosis más alta de eugenol, 150 μL , proporcionó los mayores valores de polifenoles a las uvas tratadas, y estos valores fueron mayores en el estudio de vida útil a 20°C que a 1°C (día 56, en frío $47.19 \pm 1.11 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ y a 20°C $52.43 \pm 3.52 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) (Figuras 99a y 99b).

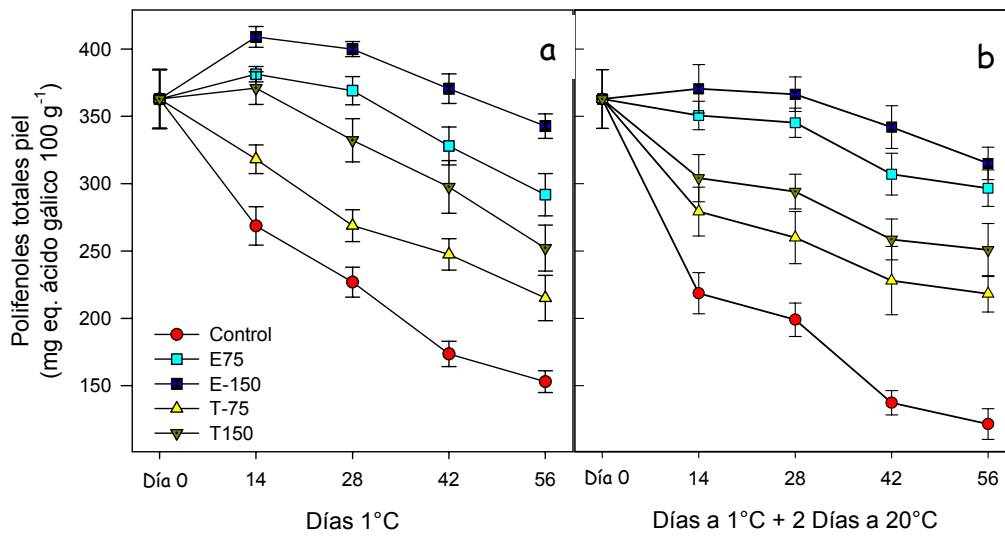


Figura 98. Evolución del contenido de polifenoles totales en piel durante la conservación a 1°C (a) y tras 2 días a 20 °C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

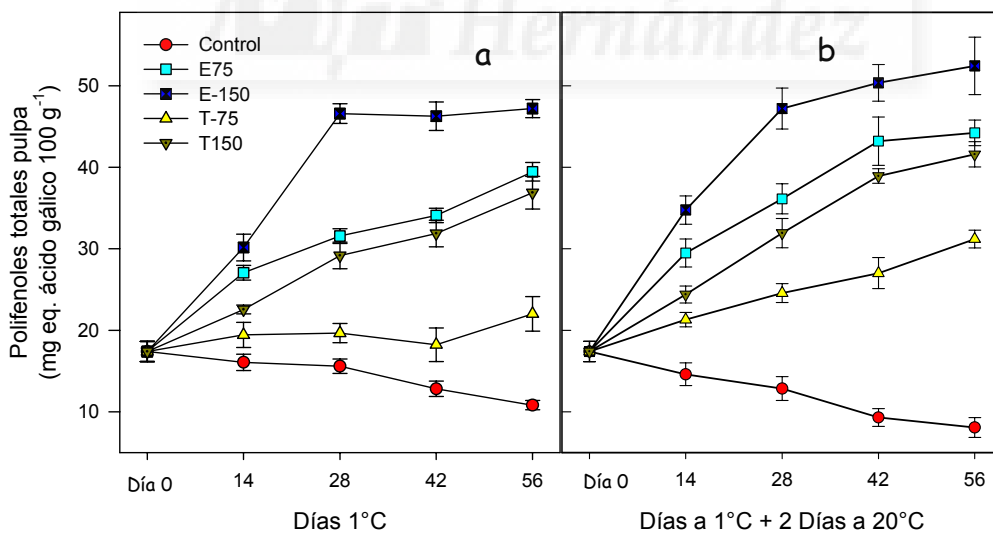


Figura 99. Evolución del contenido de polifenoles totales en pulpa durante la conservación a 1°C (a) y tras 2 días a 20 °C después del almacenamiento en frío (b). Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.4.16. Correlaciones

4.4.16.1. Correlaciones piel: antocianos-AAT-polifenoles

Tras el estudio de regresión de la evolución de los contenidos de fenoles, antocianos, la actividad antioxidante fue muy alta en ambos casos $r^2=0.97$. Puesto que los antocianos son fenoles, y existe la misma correlación entre fenoles y AAT y antocianos y AAT, esto quiere decir que la AAT se debe en este caso a los antocianos y al resto de fenoles (Figura 100).

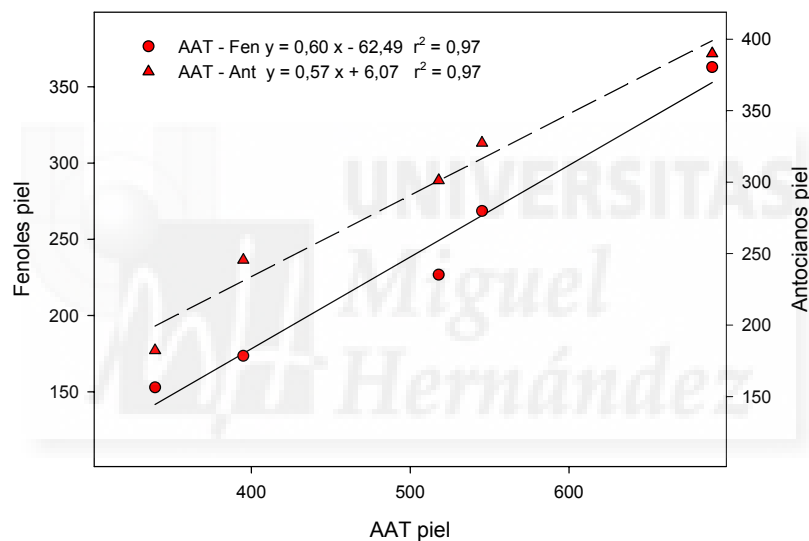


Figura 100. Correlaciones entre el contenido de polifenoles totales, antocianos totales y actividad antioxidante total en piel.

4.4.16.2. Correlaciones pulpa: ác. ascórbico-AAT-polifenoles

La correlación entre AAT y fenoles y vitamina C fue muy similar $r^2=0.89$ y $r^2=0.90$. Si bien en el caso del ácido ascórbico fue mayor. Por tanto, la AAT se debe de forma muy similar a fenoles y ácido ascórbico, pero el último tiene más participación (Figura 101).

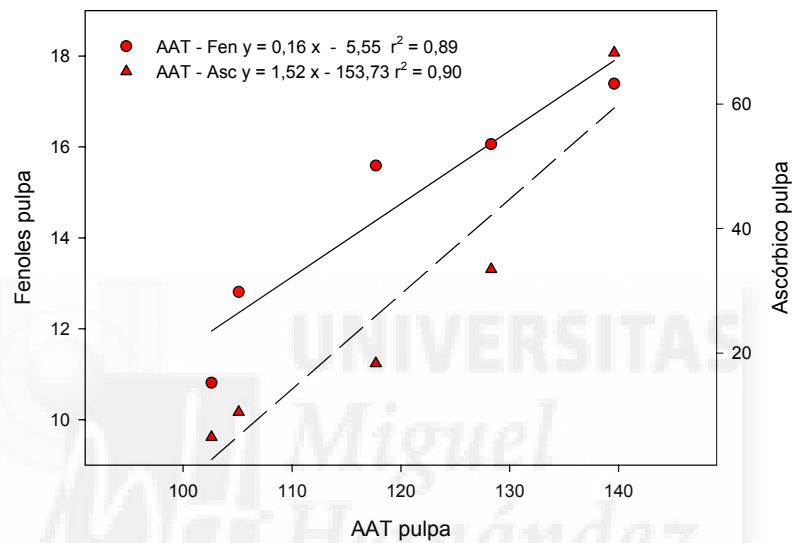


Figura 101. Correlaciones entre el contenido de polifenoles totales, antocianos totales y actividad antioxidante total en piel.

4.4.17. Recuentos de aerobios mesófilos y mohos y levaduras

Los recuentos de aerobios mesófilos aumentaron a lo largo del almacenamiento en la uva control. El día 0 se determinaron 2.3 log U.F.C. (Unidades Formadoras de Colonias), o lo que es lo mismo 200 U.F.C. Tras 4 semanas de conservación frigorífica y un posterior traspaso a 20°C durante 2 días se constató un aumento muy significativo del número de colonias (3.2 log U.F.C, 1585 U.F.C.). Cuando se volvieron a realizar conteos a los 56 días estos valores habían aumentado significativamente, ya que entonces el recuento fue de 4.2 log U.F.C. (15848 U.F.C.). La aplicación dentro del envase de atmósfera modificada de los aceites esenciales eugenol y timol representó un óbice al desarrollo de los microorganismos aeróbios mesófilos, puesto que se redujeron muy significativamente el número de U.F.C. Se observó que el tratamiento más eficaz fue el eugenol 150, después los mejores resultados los obtuvo el timol 150, sin embargo en las dosis menores tuvo un mejor comportamiento el timol 75 que el eugenol 75 (Figura 102).

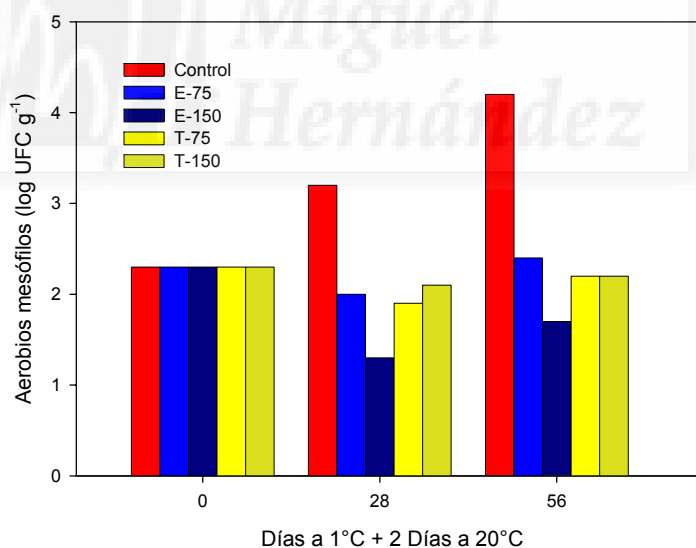


Figura 102. Evolución de los recuentos de aeróbios mesófilos durante la conservación a 1°C más 2 días a 20 °C. Los datos son media de 5 determinaciones.

Así, por ejemplo, en el último recuento realizado el día 56+2, se obtuvo 1.7 log U.F.C. (50 U.F.C.) y 2.2 log U.F.C. (158 U.F.C.) para las uvas tratadas con E150 y T150 respectivamente, mientras que las tratadas con T75 y E75 obtuvieron 2.2 log U.F.C. (160 U.F.C.) y 2.4 log U.F.C. (251 U.F.C.), respectivamente (Figura 102).

El uso de aceites esenciales junto al envasado en atmósfera modificada también inhibió el desarrollo de mohos y levaduras de forma muy eficaz. Los recuentos iniciales, día 0, fueron de 2.9 log U.F.C. (800 U.F.C.) y a los 56 días las uvas control pasaron a tener 4.2 log U.F.C. (15850 U.F.C) (Figura 103). Resulta interesante señalar la gran eficacia mostrada por el eugenol y el timol en el control de las poblaciones de mohos y levaduras a 20 °C, puesto que esta temperatura resulta óptima para el desarrollo de estos microorganismos. Cuando el último día de muestreo los controles presentaban U.F.C. del orden de decenas de miles, las uvas tratadas con timol apenas alcanzaron un centenar (día 56: 2.0 log U.F.C. (100) y 1.8 log U.F.C. (63) para E75 y E150, respectivamente). El timol también inhibió de forma muy eficaz las colonias existentes en la uva, puesto que los conteos indicaron una inhibición muy fuerte en la formación del número de U.F.C.

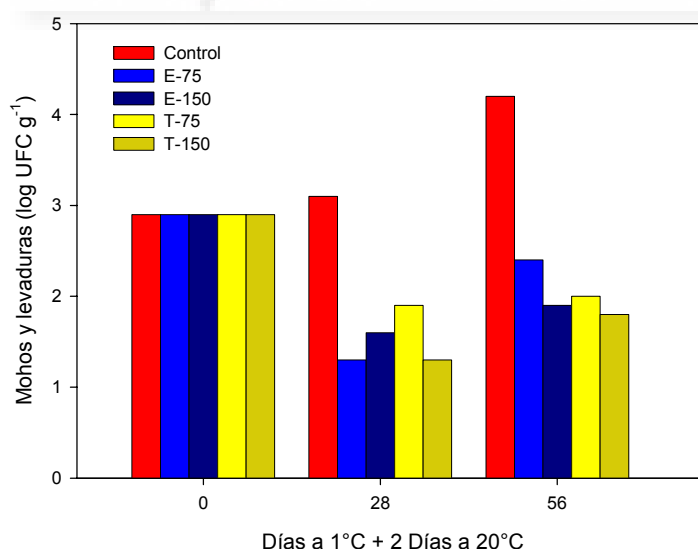


Figura 103. Evolución de los recuentos de mohos y levaduras durante la conservación a 1°C más 2 días a 20 °C. Los datos son media \pm ES de 5 determinaciones.

4.4.18. Podredumbres

Para el análisis microbiológico fueron utilizadas muestras de uva que no mostraban pudrición. No obstante, se observó una relación directa entre los recuentos de U.F.C. de aerobios mesófilos, mohos y levaduras y el porcentaje de bayas podridas.

Por tanto, los tratamientos realizados el día 0, consiguieron reducir las poblaciones de microorganismos y por tanto reducir las podredumbres futuras. En los frutos control el índice de bayas podridas fue muy alto, a partir del mes de conservación se superó el 30%, por lo que resultaba un producto sin viabilidad comercial (Figura 104).

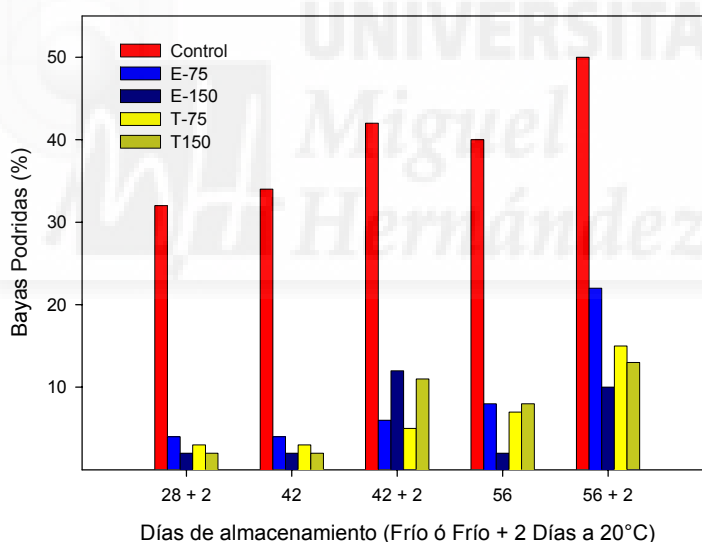


Figura 104. Evolución del porcentaje de bayas podridas durante la conservación a 1°C más 2 días a 20 °C. Los datos son media \pm ES de 5 determinaciones.

Por el contrario, el eugenol y el timol aplicados dentro del envase, crearon una atmósfera propicia para la inhibición del desarrollo microbiano. Esta inhibición se constató visualmente con un menor número de frutas podridas. Hasta la 6ª semana en frío el porcentaje de bayas podridas fue muy bajo (iguales o menores al 4%). A partir de este momento incrementó el número de podredumbres, pero con valores muy por debajo de los controles.

4.4.19. Análisis sensorial

Se realizó un análisis sensorial para evaluar el efecto que los tratamientos tuvieron en la calidad organoléptica de la uva. Así mismo, también se pudo relacionar los resultados obtenidos con los parámetros expuestos anteriormente como son pérdida de peso, color, firmeza, sólidos solubles y acidez titulable. Con el estudio de los resultados de las determinaciones físico-químicas y el análisis sensorial se podrá determinar cuales son los umbrales de textura, dulzor y acidez que los consumidores alcanzan a discernir y puntuar de un modo positivo o negativo.

4.4.19.1. Eugenol

El aspecto del fruto y del pedúnculo, así como la crujibilidad fueron los parámetros mejor valorados en las uvas tratadas con eugenol, obteniendo una mejor puntuación con la dosis más alta. Por otro lado, las uvas control obtuvieron mayores puntuaciones en los parámetros de jugosidad y dulzor. Otro parámetro que también mejoró el eugenol fue la fuerza de tracción del pedúnculo a la baya y la firmeza de la baya (Figura 105).

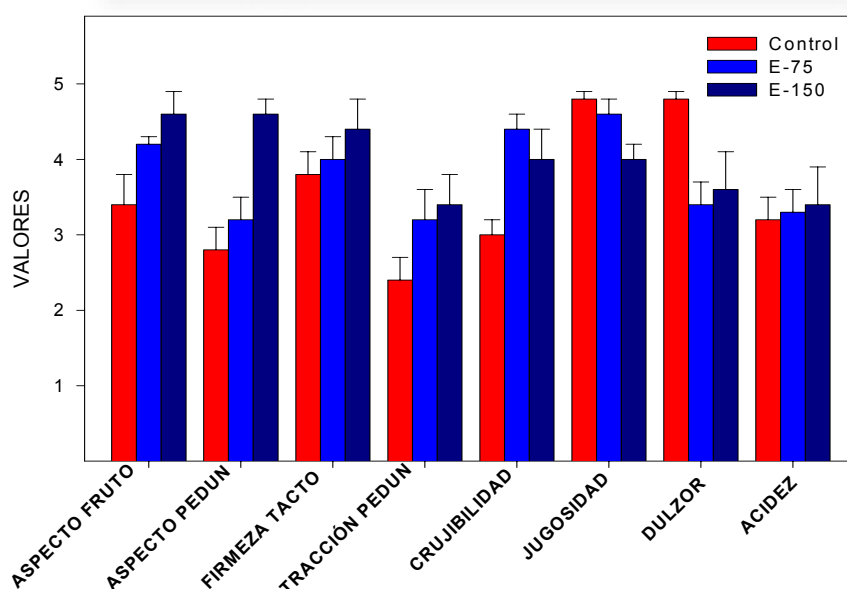


Figura 105. Análisis sensorial de las uvas tratadas con eugenol tras 56 días de conservación a 1°C + 2 días a 20°C. Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

4.4.19.2. Timol

Los resultados obtenidos en el análisis sensorial de las uvas tratadas con timol fueron muy similares al obtenido para eugenol. El aspecto del fruto y del pedúnculo estuvo mejor valorado, pero en este caso con una puntuación mucho más baja que en el caso del eugenol. Por el contrario, las uvas tratadas con timol obtuvieron mejor puntuación que las tratadas con eugenol en el parámetro de firmeza al tacto. Así mismo, las propiedades de jugosidad y dulzor fueron mejor valoradas en las uvas control (Figura 106).

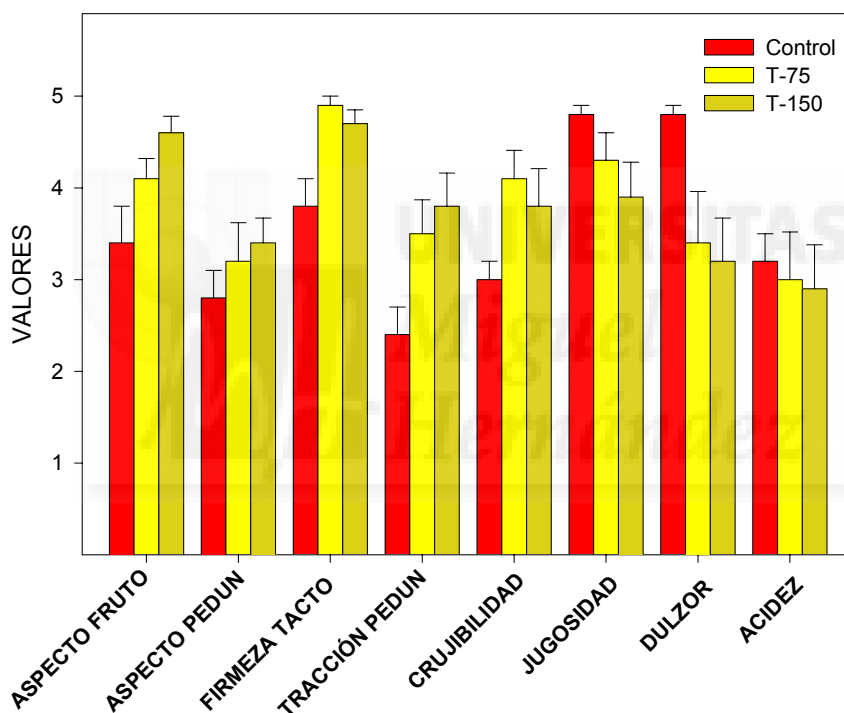


Figura 106. Análisis sensorial de las uvas tratadas con timol tras 56 días de conservación a 1°C + 2 días a 20°C. Los datos son media \pm ES de 10 determinaciones.

El tipo de aceite esencial usado para el tratamiento no alteró significativamente el resultado del análisis, pero sí la dosis empleada, pues en general a mayor dosis se obtuvo una mejor puntuación. Los parámetros mejor valorados en los frutos tratados con respecto a los controles fueron aspecto del fruto, firmeza de la baya, unión entre baya y pedúnculo y crujibilidad.

5. DISCUSIÓN

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 importancia de la uva de mesa queda reflejada de forma clara en los últimos datos del FAOSTAT del año 2003, según los cuales España ocupa el cuarto puesto a nivel mundial.

Las actuales demandas de los consumidores de frutos y hortalizas frescas han conducido al desarrollo de tecnologías de envasado, tanto en sus presentaciones tradicionales, como en las de nueva introducción con una mayor preparación, mantenimiento de la humedad relativa y de la calidad sensorial, y para facilitar el consumo y por lo tanto con mayor valor añadido. Para prolongar la vida útil de las frutas y hortalizas después de la recolección es necesario frenar su metabolismo y retrasar la maduración y senescencia. Las frutas y hortalizas continúan viviendo después de la recolección, lo que se manifiesta en los fenómenos respiratorios y de transpiración, así como en los procesos fisiológicos de crecimiento, maduración y senescencia. Esta actividad vital se advierte en una serie de cambios: pérdida de firmeza, variaciones de color, sabor, aroma, etc., que suceden como consecuencia de las reacciones bioquímicas que tienen lugar entre sus componentes.

La oferta varietal de uva de mesa se ha incrementado de forma considerable en los últimos años, sobre todo por la introducción de variedades sin pepita, lo que supone un estímulo a su consumo. El consumidor necesita nuevas formas de presentación de estos productos (productos en cuarta gama, para ser consumidos directamente sin tener que realizar su limpieza o pelado), uvas de calidad (tamaño, coloración, ausentes de daños mecánicos, podredumbres y fisiopatías) y sin contenidos de residuos (procedentes de pesticidas y de los tratamientos químicos post-recolección con SO_2). Por otra parte, el productor necesita vender productos de calidad satisfaciendo las necesidades del consumidor, diversificar su producción, alargar la vida útil del producto alcanzando los destinos más lejanos y trabajar con las técnicas más rentables y menos contaminantes.

La uva de mesa presenta problemas de transporte y comercialización por parte de los productores, ya que a pesar de ser un fruto no climatérico presenta una elevada tasa de deterioro, por lo que posee una reducida vida útil y una elevada incidencia de podredumbres.

Con el fin de intentar solventar estos problemas se están realizando investigaciones para poder mantener la calidad post-recolección de este fruto, teniendo en cuenta que estos tratamientos deben ser inocuos garantizando la seguridad de los productos desde el punto de vista del consumidor y del medio ambiente.

En este sentido, en la presente Tesis Doctoral se han planteado dos estrategias de conservación post-recolección: una basada en la aplicación de *Aloe vera* gel como recubrimiento comestible (de acuerdo con la Patente registrada por nuestro Grupo de Investigación) y otra como alternativa al uso de antifúngicos de tipo químico mediante la creación de un envase activo con el uso de atmósfera modificada o técnica MAP junto con antimicrobianos naturales como son eugenol, mentol y timol. En estos ensayos de conservación se han evaluado los cambios relacionados con la calidad sensorial, nutritiva y funcional así como la seguridad, en relación con la evolución de la contaminación microbiana durante la conservación. A continuación se discuten los resultados obtenidos en los diferentes ensayos, comentando conjuntamente los resultados obtenidos para un mismo parámetro con el fin de facilitar su comprensión y evitar repeticiones innecesarias.

5.1. Evolución de la tasa de respiración

La tasa de respiración en el momento de la recolección de la uva 'Crimson' fue de $11.63 \pm 0.67 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, lo que se considera un fruto con una actividad respiratoria intermedia, llegando a tasas de $\approx 19 \text{ mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ durante su almacenamiento en refrigeración. No obstante, el recubrimiento con *Aloe vera* redujo de forma significativa dicha tasa de respiración. Parece ser que la disminución en la producción de CO_2 es un efecto global observado en frutas tratadas con otros recubrimientos comestibles, tal como se ha comprobado en aguacate (Maftoonazad y Ramaswamy, 2005), cereza (Alonso y Alique, 2004) e

incluso en productos de cuarta gama como manzanas cortadas (Lee et al., 2003).

La menor tasa de respiración exhibida durante el almacenamiento se traduce en un aumento de la vida útil, ya que a medida que la tasa es más elevada se espera un deterioro más avanzado de la calidad del fruto. Además se ha comprobado que el CO_2 regula muchos procesos bioquímicos y fisiológicos de frutos y hortalizas, entre ellos la propia respiración (Mathooko, 1996).

5.2. Evolución de la composición de la atmósfera en los envases

La Atmósfera Modificada o técnica MAP consiste en confinar los productos vegetales en envolturas plásticas, permitiendo que las actividades respiratorias del producto y de los microorganismos ocasionen una variación del entorno gaseoso, fundamentalmente consumo de oxígeno y producción de dióxido de carbono y vapor de agua. Para conseguir esto, es necesario el uso de polímeros plásticos de dimensiones reducidas y selectivamente permeables a los gases del aire, y que el envase se encuentre cerrado herméticamente. El material de envasado y el propio envase permiten la difusión del oxígeno, del dióxido de carbono y del vapor de agua, de modo que pueden producirse cambios adicionales en la atmósfera.

Los envases que contienen alimentos en atmósferas modificadas son sistemas dinámicos en los que se producen de forma simultánea la respiración del producto y el intercambio gaseoso entre el interior del envase y el medio externo a través del film (Prince, 1995). Por tanto, la modificación de la atmósfera interna dependerá de la tasa de respiración de los frutos que contiene, de la temperatura de almacenamiento y de la permeabilidad del film. Este tipo de atmósfera se denomina pasiva, y puede tardar en alcanzar el equilibrio días o semanas dependiendo de los factores antes comentados. La atmósfera de equilibrio se debe mantener hasta su exposición en la cadena de supermercados, siempre y cuando se mantenga todo el tiempo bajo condiciones de refrigeración (Pretel et al., 1996).

En este trabajo se ha ensayado la efectividad de eugenol, timol o mentol en uva 'Crimson Seedless' a dosis de $500 \mu l$ y de timol o eugenol aplicados en

dosis de 75 ó 150 μl en uva 'Autumn Royal' introducidos en el interior de bolsas de polipropileno bio-orientado con el fin de obtener un envase activo.

En uva 'Crimson' la composición final de la atmósfera fue de 1.3-2.0 % y 10-14 % para CO_2 y O_2 , respectivamente, mientras que el envasado de uva de mesa 'Autumn Royal' conllevó a un incremento de CO_2 y a un descenso de O_2 hasta la generación de la atmósfera de equilibrio correspondiente al 3-3.5 % y 6.5-7.5 %, respectivamente, sin diferencias significativas entre control y los envases adicionados con los aceites esenciales timol, mentol o eugenol. Es interesante señalar que la modificación de la atmósfera fue mayor en la variedad 'Autum Royal' que en la 'Crimson' y dado que en ambos casos las condiciones de conservación y el tamaño de los racimos fueron similares, estas diferencias se pueden atribuir a la elevada tasa de respiración que presentaban las uvas de la variedad 'Autum Royal' en el momento de la recolección, que era 4 veces superior a la de las uvas de la variedad 'Crimson'. En cualquier caso la atmósfera de equilibrio obtenida puede ser considerada como óptima para el almacenamiento en MAP de estas variedades uva de mesa, ya que los límites publicados para O_2 y CO_2 que conllevan a producir efectos indeseables son menores del 1 % de O_2 y mayores del 10 % de CO_2 (Beaudry, 2000; Watkins, 2000). Estas condiciones no se obtuvieron tampoco cuando los envases fueron almacenados a 20°C con el fin de simular las condiciones de mercado, ya que la atmósfera generada fue de ≈ 3.5 % CO_2 y ≈ 10 % O_2 para 'Crimson' y 6 % CO_2 y 6 % O_2 para 'Autumn Royal'.

En otras variedades de uva de mesa se han publicado un rango amplio de composiciones atmosféricas (3-15 % CO_2 y 5-15 % O_2) dependiendo del estado de maduración en la recolección y del film usado. Así, en films similares al utilizado en estos experimentos, la composición atmosférica de uva 'Flame Seedlees' fue de 5 % CO_2 y 4.5 % O_2 (Martínez-Romero et al., 2003a), mientras que en 'Autumn Seedless' fue de 10 % CO_2 y 10 % O_2 (Artés-Hernández et al., 2004).

5.3. Evolución de la pérdida de peso de los racimos de uva

Uno de los factores que afectan a la calidad de los frutos durante su almacenamiento es la pérdida de peso como consecuencia de la pérdida de agua. En el momento de la recolección, el nivel de agua de los productos vegetales es muy elevado, pero con la recolección tiene lugar la interrupción del ciclo de vida natural de la planta, y ésta no puede tomar agua del suelo, produciéndose una pérdida de agua por transpiración que no puede ser compensada. El incremento del déficit de agua puede inducir una cadena de reacciones fisiológicas enfocadas a ajustar el metabolismo debido a estas condiciones desfavorables. La pérdida continuada de agua finalmente resulta en una marchitez, por lo que la calidad del producto se considera pobre y en la mayoría de las ocasiones el consumidor no está dispuesto a aceptar un producto deshidratado, blando y marchitado. En este sentido, el control del mantenimiento de la proporción de agua en los productos vegetales es esencial para mantener la calidad (Gómez-Galindo et al., 2004). El déficit de agua durante el almacenamiento afecta fundamentalmente a la turgencia de los tejidos vegetales, por lo que la pérdida de esta turgencia va a afectar a diversas funciones metabólicas, pero sobre todo a cambios en la textura lo que conlleva a una pérdida del "estado fresco" del producto vegetal (Fan et al., 1994).

Por lo que respecta a la pérdida de peso, el efecto del MAP es claro cuando se compara con la conservación en refrigeración, ya que se producen pérdidas significativamente inferiores. Esto puede ser comprobado en la uva 'Crimson', en la que tras el almacenamiento en refrigeración los racimos controles perdieron $\approx 16\%$ de peso tras 35 días, mientras que dichas pérdidas de peso en los racimos control envasados en MAP fueron del 0.8% . En otras variedades de uva como 'Granny Val', 'Fry' y 'Flame Seedless' se han constatado valores de pérdida de peso que oscilan entre $8-20\%$ durante el almacenamiento en refrigeración, mientras que estas pérdidas son inferiores al 2% cuando se utiliza la técnica MAP (James et al., 1999; Martínez-Romero et al., 2003a).

Por otra parte, los racimos tratados con *Aloe vera* mostraron una reducción muy significativa de la pérdida de peso, obteniéndose valores del 8% tras 35 días de almacenamiento en frío, los cuales pueden ser aceptables desde el punto de vista comercial. Al igual que otros recubrimientos

comestibles, el gel de *Aloe vera* mostró un efecto positivo en cuanto a la reducción de la pérdida de humedad, cuyo efecto está basado en sus propiedades higroscópicas que permiten la formación de una barrera al agua entre el fruto y el ambiente que lo rodea, evitando así la transferencia externa (Morillon et al., 2002). Para aumentar la eficacia del efecto barrera al agua se han diseñado algunas formulaciones a base de recubrimientos con diferentes compuestos, siendo los más usados el complejo lípido-polisacárido. Así, incrementando el contenido lipídico en la formulación de estos recubrimientos se redujo significativamente la pérdida de agua en mandarinas (Pérez-Gago et al., 2002). De forma interesante el gel de *Aloe vera*, cuya composición es básicamente a base de polisacáridos (Ni et al., 2004), fue altamente efectivo como barrera frente a la pérdida de humedad sin la incorporación lipídica.

En cuanto a la uva envasada bajo condiciones de MAP, los efectos de los aceites esenciales adicionados a los envases fue claro en reducir las pérdidas de peso. Así, en uva 'Crimson' se obtuvieron pérdidas de peso inferiores al 0.6% tras la adición de eugenol, timol o mentol, mientras que en uva 'Autumn Royal' las reducciones de pérdidas de peso fueron también claras, ya que se obtuvieron pérdidas de peso inferiores también al 0.6%. Estas pérdidas de peso no se incrementaron cuando los envases fueron transferidos a 20°C, mientras que para los racimos control sí que se observó un ligero incremento (valores superiores al 2%).

La efectividad en la reducción de la pérdida de peso parece estar influenciada por el tipo de aceite esencial utilizado, ya que en uva 'Crimson' los envases que contenían eugenol fueron los que mostraron las menores pérdidas peso, seguido de timol y mentol, todos ellos aplicados a la misma dosis (500 μL). Sin embargo, la adición de menores dosis de eugenol y timol a uva 'Autumn Royal' (75 ó 150 μL) no mostró diferencias significativas entre ellas.

Según Fockens y Meffert (1972), las pérdidas de peso se deben a las diferencias de presiones de vapor que existen entre la atmósfera interna saturada del fruto y la atmósfera que rodea al mismo. Puesto que tanto las uvas tratadas como las controles permanecieron en la misma cámara con idénticas condiciones de temperatura y humedad relativa, las diferencias observadas en cuanto a la pérdida de peso son debidas al efecto de los tratamientos. En este sentido, está claro que los aceites esenciales fueron

eficaces en reducir el proceso de deshidratación, si bien el mecanismo intrínseco de este efecto aún se desconoce hoy en día. Un proceso que va ligado a la senescencia del fruto es un incremento de permeabilidad y reducción de la estructura del tejido, por que esta degradación de los tejidos provoca mayores pérdidas de peso como ha sido descrito por Thompson et al. (1998). Según esto, y dado que los aceites esenciales han sido descritos como antioxidantes (Ruberto y Baratta, 2000; Ponce et al., 2004), los racimos que contenían estos aceites esenciales presentarían un menor proceso oxidativo, y como consecuencia, se puede proponer un efecto antisenescente de eugenol, timol y mentol.

5.4. Evolución de los parámetros de color de las bayas y del contenido de antocianinas de la piel

El color es un factor de calidad de importancia fundamental de los alimentos, ya que la apreciación visual es el primer sentido que se utiliza y por tanto una característica decisiva en la elección de la fruta. La medida del color externo es la base para clasificar muchas frutas en grados de calidad, si bien la concentración de pigmentos u otros constituyentes específicos puede proporcionar un índice de calidad mucho mejor (Lancaster et al., 1977). Las variedades de uva pueden ser clasificadas de acuerdo con el color de su piel dentro de los siguientes grupos: verde-amarillo, rosa, rojo, rojo oscuro, rojo-violeta o azul-negro. Las variedades de color rojo son ricas en antocianinas cuyo perfil ha sido relacionado con el color externo y ha servido para realizar clasificaciones taxonómicas (Carreño et al., 1997). En estas variedades coloreadas se ha comprobado que las antocianinas son los flavonoides predominantes (Ross y Kasum, 2002). Las medidas de color de un producto se describen mediante la determinación de las coordenadas de color L^* , a^* y b^* , así como diferentes índices de color (Clydesdale, 1993).

Las variedades de uva utilizadas en los ensayos fueron 'Crimson' y 'Autumn Royal' cuyos colores en el momento de la recolección fueron rojo pálido y morado-negro, respectivamente, y por tanto diferían en los parámetros de color L^* , a^* y b^* .

En el experimento de conservación mediante recubrimiento, se pudo comprobar como las uvas tratadas con *Aloe vera* gel mostraron valores de L^* invariables a lo largo de la refrigeración o posterior vida útil a 20°C, mientras que en las bayas control se observó una pérdida de luminosidad muy significativa. Una de las ventajas de la aplicación de recubrimientos comestibles es la de mejorar la apariencia de los frutos mediante el mantenimiento del brillo natural, y así se ha comprobado en manzanas tratadas con alginatos o gelatinas (Moldão-Martins et al., 2003). En champiñón, uno de los productos más sensibles a pardeamientos y por tanto con elevados descensos en el parámetro L^* , el recubrimiento con un complejo a base de metilcelulosa, polietilenglicol y ácido esteárico mostró una pérdida de L^* del 5% comparada con el 35 % de los champiñones no tratados en tan sólo 4 días de almacenamiento (Ayranci y Tunc, 2003). De forma análoga, cerezas tratadas con Semperfresh™ (mezcla de sacarosa esterificada con ácidos grasos, carboximetilcelulosa y mono-diglicéridos de ácidos grasos) mostraron un retraso en la pérdida de L^* (Yaman y Bayindirli, 2002).

Durante el periodo de conservación bajo condiciones MAP, la luminosidad L^* mostró un comportamiento similar en ambas variedades, es decir un descenso prolongado en las bayas procedentes de los racimos control en refrigeración, el cual se hacía más evidente tras la transferencia de los envases a 20°C. De forma análoga, los envases de uva 'Crimson' que contenían eugenol, timol o mentol presentaron un retraso significativo en el descenso del parámetro L^* , si bien no existían diferencias significativas debidas al tratamiento. Los racimos de 'Autumn Royal' con 75 ó 150 μL de eugenol o timol mostraron también un comportamiento similar, si bien en este caso se producía un mayor retraso en la pérdida de luminosidad para la dosis más elevada (150 μL).

La pérdida de luminosidad se ha observado en numerosos frutos cuando se someten a procesos de almacenamiento prolongados, y se ha relacionado con las pérdidas de agua (Martínez-Romero, 2000). En uva se ha comprobado que el descenso en el parámetro L^* significa un oscurecimiento y una reducción de la intensidad de color que se agravan a medida que las uvas pierden más peso (Nelson, 1991).

Por lo que respecta a los parámetros a^* , b^* y el índice de color croma*, en la uva 'Crimson' se obtuvo un comportamiento similar, es decir un aumento

en la evolución de dichos parámetros tanto en frío como cuando se trasladaban a 20°C. No obstante, la estrategia de conservación post-recolección influyó en la evolución de estos parámetros, ya que la aplicación de *Aloe vera* como recubrimiento comestible mostró de forma significativa una menor evolución con respecto a las bayas no tratadas, mientras que en el experimento de conservación bajo condiciones de MAP no se obtuvieron diferencias significativas entre tratamientos con los aceites esenciales y control. En este sentido, el efecto del MAP en retrasar los cambios de color es evidente, tal como se ha observado en otras variedades de uva envasadas con films de características similares (Martínez-Romero et al., 2003a). Existen pocos trabajos en frutos de color rojo que estudien el efecto del recubrimiento comestible sobre los parámetros relacionados con el color y además existen resultados contradictorios. Así, fresas y frambuesas recubiertas con quitosan mostraron un retraso en los cambios de color, mientras que el tratamiento con mucílago de cactus en fresa no afectó ni al parámetro a^* ni al b^* (Del-Valle et al., 2005). De esto se puede deducir que el tipo y composición del recubrimiento comestible tiene un papel esencial en los parámetros relacionados con el color.

Por el contrario, en uva 'Autumn Royal' los cambios de color vinieron reflejados por descensos en los parámetros a^* y Croma^* , así como por un ligero aumento en el parámetro b^* . No obstante estos cambios de color fueron ralentizados en los envases que contenían eugenol y especialmente timol, donde las diferencias eran muy significativas con respecto a los controles.

Ya que la uva 'Crimson' presentaba un color rojo pálido, el incremento en estos parámetros se puede relacionar con un avance en el proceso de maduración y una acumulación de antocianinas, por lo que las uvas tendían hacia tonalidades más rojizas, que vienen sobre todo caracterizadas por el aumento en el parámetro a^* y el descenso de L^* . De hecho, cuando se analizó la evolución del contenido de antocianos totales sí que se observaron diferencias significativas, siendo las bayas de los racimos control las que presentaron una mayor acumulación con respecto a los frutos tratados con *Aloe vera* o bien los procedentes de los envases a los que se les había adicionado eugenol, timol o mentol. De estos aceites esenciales, el eugenol fue el que produjo un menor incremento de antocianinas totales.

Tras el análisis por HPLC sólo se pudieron identificar cianidín-3-glucósido y peonidín-3-glucósido en uva 'Crimson', por lo que la acumulación de antocianinas se debía al aumento de estas dos formas de antocianinas. Además, se comprobó que en las bayas procedentes de racimos a los que se les incorporaron los aceites esenciales las cantidades de estas dos antocianinas fueron significativamente menores. Se ha postulado que el proceso de maduración de la uva de mesa está correlacionado con el contenido de antocianinas (Fernández-López et al., 1998) así como con el perfil de dichas antocianinas. Así, variedades con coloraciones poco intensas son ricas en cianidín- y peonidín-glucósidos (Carreño et al., 1997), como es el caso de 'Crimson', donde se ha comprobado que la antocianina predominante es la peonidín-3-glucósido (Cantos et al., 2002b). Esta antocianina también se encontró que es la predominante en uva 'Napoleón' (Artés-Hernández et al., 2003), mientras que en 'Flame Seedless' la antocianina predominante es cianidín-3-glucósido (Fernández-López et al., 1998).

En la variedad 'Autumn Royal', que presentaba un color morado-negro uniforme el día de la recolección, los cambios en los parámetros de color podrían estar relacionados con una pérdida de pigmentos de tipo antociano. De hecho los resultados de las antocianinas totales demostraron un claro descenso tanto en el almacenamiento en refrigeración como en los periodos de vida útil a 20°C. Dicho descenso fue significativamente menor en las bayas procedentes de los envases tratados con los aceites esenciales, siendo el efecto mucho mayor para el timol que para el eugenol y además el mantenimiento de estos pigmentos antocianos fue superior cuando se aplicaban mayores concentraciones (150 μ L). El análisis de los compuestos de tipo antociano por HPLC reveló que en la piel de la variedad 'Autumn Royal' se encontraban las siguientes antocianinas: malvidín-3-glucósido, peonidín-3-glucósido, petunidín-3-glucósido, delfinidín-3-glucósido y cianidín-3-glucósido. De todas estas antocianinas, la malvidín-3-glucósido fue la mayoritaria en abundancia, suponiendo un 60% del total, seguida de peonidín-3-glucósido que contribuía en un 20%. En otras variedades de uva como 'Monastrell' y 'Exotic', cuyos colores en el momento de la recolección son negro-azulados, también se han encontrado los mismos tipos de antocianinas y así mismo malvidín-3-glucósido fue la mayoritaria con 40-45% seguida de peonidín-3-glucósido con 15-20% (Fernández-López et al., 1998).

Se ha postulado que cada especie y variedad de uva posee su propio perfil de antocianinas (García-Beneytez et al., 2002), si bien en todas las variedades estudiadas se han encontrado los derivados 3-monoglucósidos, 3-acetilglucósidos y 3-*p*-cumarilglucósidos de las agliconas delphinidín, cianidín, peonidín, petunidín y malvidín, no encontrándose pelargonidín en ninguna variedad de uva (Mazza, 1995). Por tanto, en la variedad 'Autumn Royal' su color negro característico puede atribuirse a la presencia de grandes cantidades de malvidín-3-glucósido, y una estimulación hacia los pigmentos antocianos del final de la ruta (Diagrama 2). De hecho, en otras variedades de pigmentación negra como 'Black Rose' y 'Black Seedless' el porcentaje de malvidín-3-glucósido fue de 66 y 49% respectivamente, mientras que el resto de antocianos eran significativamente inferiores (Carreño et al., 1997). Por otra parte, la aparición de antocianinas en la piel de las bayas de uva en el inicio de la maduración coincide con el incremento de la expresión de los genes que codifican los enzimas biosintéticos en la ruta de biosíntesis, y por tanto la inducción de la síntesis de una u otra antocianina está controlada a nivel genético (Boss et al., 1996). Estos autores demuestran que la actividad de los enzimas fenilalanina amonio liasa (PAL), chalcona sintasa (CHS), chalcona isomerasa (CHI), flavanona-3-hidrolasa (F3H), dihidroflavonol 4-reductasa (DFR) y leucoantocianidin dioxigenasa (LDOX) se incrementa durante la maduración.

No obstante, en la uva 'Autumn Royal' la evolución de todas las antocianinas durante la conservación fue similar, es decir una disminución a medida que transcurrían los periodos de almacenamiento a 1 y 20°C en las bayas control y una retención de la pérdida de todas las antocianinas como consecuencia de los tratamientos. Existen muy pocas evidencias del comportamiento de las antocianinas en uvas durante el almacenamiento en post-recolección, si bien se ha comprobado que el almacenamiento de uva 'Red Globe' a 24°C durante 14 días conllevó a una pérdida del 72 % de peonidín-3-glucósido y del 65 % de malvidín-3-glucósido, siendo la pérdida mucho mayor cuando se incrementaba la temperatura de conservación (Morais et al., 2002). Por otra parte, el almacenamiento de fresa a diferentes concentraciones de CO₂ mostró un mantenimiento en los niveles de antocianinas totales, si bien en concentraciones superiores al 20% producía una degradación de antocianos (Gil et al., 1997).

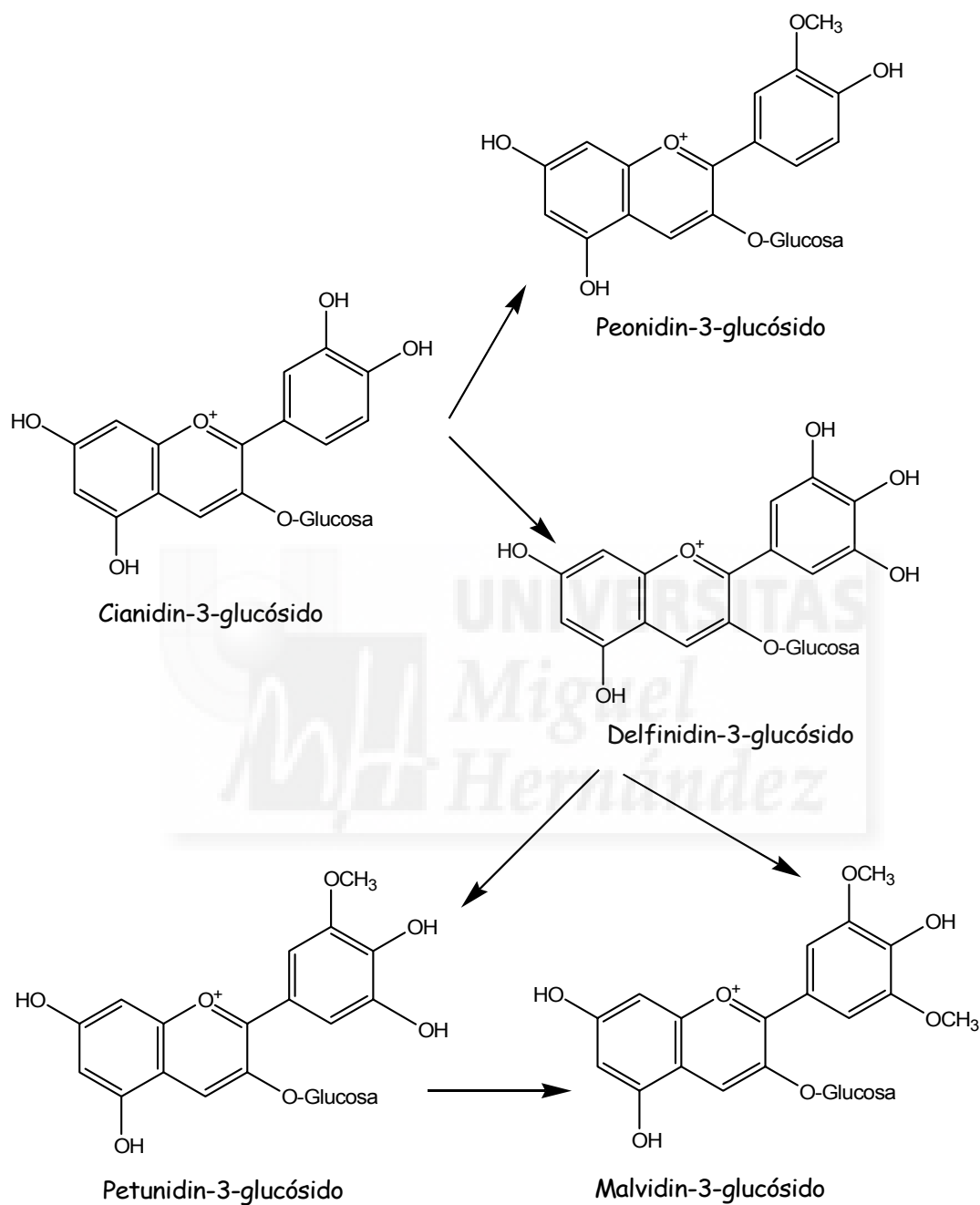


Diagrama 2. Últimos pasos de la biosíntesis de antocianinas en variedades de *Vitis*.

5.5. Evolución de la firmeza de baya y pulpa

La textura de los frutos es una cualidad sensorial con un papel muy relevante en la determinación de la aceptabilidad por parte de los consumidores. La textura de los frutos está influenciada por una serie de factores tanto estructurales como químicos, entre los que se encuentran los constituyentes bioquímicos de los orgánulos celulares, el contenido de agua, y finalmente la composición de la pared celular. Por tanto, cualquier agente externo que afecte a uno o varios de estos factores puede modificar la textura, y en consecuencia, inducir cambios que modifiquen la calidad final del producto (Sams, 1999).

Los cambios en la textura de los frutos ocurren normalmente durante el crecimiento y maduración, a través de una programación genética que induce cambios en la estructura de la pared celular o por el efecto de agentes externos, tales como crecimiento de microorganismos de tipo fúngico (Harker et al., 1997). En este sentido, cambios diferenciados en el perfil de ARN mensajeros durante la maduración de las bayas de uva se han relacionado con cambios en la composición de la pared celular o con la respuesta a agentes medio-ambientales externos, como son las infecciones patogénicas (Davies y Robinson, 2000). Desde un punto de vista económico, el ablandamiento de los frutos es un proceso post-recolección de extrema importancia, ya que los daños físicos que se pueden producir durante la manipulación y la susceptibilidad a podredumbres incrementan de forma proporcional con la pérdida de firmeza.

En el caso de la uva de mesa, el proceso de ablandamiento de las bayas difiere al de otros frutos como manzanas, albaricoques o ciruelas en el sentido de que la pérdida de firmeza tiene lugar al inicio de la segunda fase del crecimiento en doble sigmoide y bastante tiempo antes de alcanzar la madurez comercial (Yakushiji et al., 2001). El ablandamiento de los frutos está asociado con una pérdida del ensamblaje entre las estructuras de la pared celular primaria y la laminilla media (Jackman y Stanley, 1995). Los cambios en la estructura de la pared celular así como en su composición son debidos a la acción conjunta de enzimas hidrolasas, principalmente poligalacturonasa (PG), pectinesterasa (PE), β -galactosidasa (β -Gal), pectato liasa (PL) y celulasa (Cel) (Brummell y Harpster, 2001). En uva, al igual que la mayoría de frutos, la pared celular consiste en dos fases: una de microfibrillas de celulosa y otra de

una matriz de sustancias pécticas, hemicelulosas, proteínas y compuestos fenólicos. Las microfibrillas de celulosa parecen ser las que soportan la integridad de la pared celular y de los tejidos, y se conoce que están unidos a xiloglucanos (Ishimaru y Kobayashi, 2002). El ablandamiento del fruto está frecuentemente acompañado por la solubilización de los polisacáridos pécticos de la pared celular y por la pérdida de residuos de galactosa de las cadenas laterales de las pectinas, siendo dichos efectos observados inmediatamente después del envero (Silacci y Morrison, 1990). En las bayas maduras de uva, la pared celular está compuesta por un 90% de polisacáridos y un 10% de proteínas, siendo la celulosa y los poligalacturanos los principales polisacáridos con un 30-40%, mientras que los monosacáridos predominantes son glucosa y ácido D-galacturónico (Nunan et al., 1997)

En todos los experimentos realizados, tanto la aplicación de *Aloe vera* como recubrimiento como el uso combinado de MAP con los aceites esenciales, conllevó a un mantenimiento de la firmeza y por tanto una menor tasa de ablandamiento con respecto a los frutos control. Este proceso de ablandamiento se observó tanto en la determinación de la firmeza de la baya entera como en la pulpa. La pérdida de firmeza fue muy acusada cuando los racimos eran transferidos a 20°C para su estudio de vida útil. De estos resultados se deduce que la uva de mesa, a pesar de ser un fruto no climatérico y por tanto su maduración no regulada por etileno, experimenta cambios en la textura que conllevan a un deterioro rápido de la calidad.

Al comparar los racimos controles de uva 'Crimson' del experimento de recubrimiento con los envasados en MAP, se puede observar como la pérdida de firmeza es mucho más significativa en los primeros. El mantenimiento de la firmeza de frutos envasados mediante MAP está ampliamente descrito en la bibliografía. Así, usando films muy similares al utilizado en el presente trabajo en cuanto a las propiedades de permeabilidad, se han obtenido mayores niveles de firmeza en nectarina (Retamales et al. 2000), melocotón (Fernández-Trujillo y Artés, 1997), fresa (García et al. 1998; Sanz et al., 1999), albaricoque (Pretel et al. 1993), plátano (Chamara et al. 2000) y melón (Bai et al. 2001), que en esos mismos frutos no envasados en atmósfera modificada. En otras variedades de uva de mesa envasadas bajo condiciones de MAP como 'Flame Seedless' y 'Autumn Seedless', también se comprobó la eficacia del MAP en el mantenimiento de la firmeza tanto de la baya (Artés-Hernández et

al., 2004) como de la piel (Martínez-Romero et al., 2003a). Recientemente se ha podido constatar que el almacenamiento prolongado de uva de mesa bajo condiciones de atmósferas controladas con altos niveles de O_2 (40 ó 80%) también es un método eficaz en cuanto a la retención de firmeza en la variedad 'Kyoho' (Deng et al., 2005).

El tratamiento con *Aloe vera* redujo significativamente las pérdidas de firmeza durante la conservación en frío y su posterior vida útil a 20°C, mientras que los frutos control perdieron un 66% de su firmeza después de 21 días en frío + 4 días a 20°C. Una posible explicación del mantenimiento de la firmeza en las uvas recubiertas con *Aloe* podría estar relacionada con las menores pérdidas de peso tal como se ha observado en fresa (Mali y Grossmann, 2003; Del Valle et al., 2005), manzana (Moldão-Martins et al., 2003) y cereza (Yaman y Bayindirli, 2002; Alonso y Alique, 2004) utilizando diferentes recubrimientos comestibles a base de almidón, mucílago de cactus, mezcla de polisacáridos-proteína, de polisacáridos-lípidos o Semperfresh™. No obstante, también se han detectado fallos en el mantenimiento de la firmeza de fresas y frambuesas tratadas con recubrimientos que han sido atribuidos a residuos extra de líquido sobre la superficie de los frutos tras un proceso de secado incompleto (Han et al., 2004). Por tanto, el *Aloe vera* gel podría tener algún papel sobre la reducción de la actividad de los enzimas PG, PE y β -Gal responsables del ablandamiento, así como en el mantenimiento de las pectinas como se ha observado en peras y otros frutos (Amarante et al., 2001; Schreiner et al., 2003).

El uso combinado de los aceites esenciales junto con MAP conllevó a un efecto adicional en cuanto a mantenimiento de la firmeza, tanto del fruto entero como de la pulpa en las dos variedades estudiadas 'Crimson' y 'Autumn Royal', confirmando los resultados previos obtenidos en cereza (Serrano et al., 2005). No obstante, no se ha encontrado en la bibliografía un papel del timol, mentol o eugenol en el mantenimiento de la firmeza de frutos.

La composición péctica de la pulpa está íntimamente relacionada con los cambios de firmeza durante la maduración de manzanas (Lo Scalzo et al., 2005). Así mismo, debido a la degradación péctica que tiene lugar durante el ablandamiento de los frutos, se puede afirmar que en la estructura de la pared celular tiene lugar tanto fenómenos de hidrólisis como de síntesis (Deng et al., 2005).

En uva 'Autumn Royal' y 'Crimson' hemos podido constatar que al final del experimento la abundancia de pared celular fue similar a la obtenida en el día 0 para las uvas tratadas, mientras que se detectó una pérdida de pared celular en las bayas control. La cantidad de pared celular obtenida en esta variedad es similar a la publicada para otros cultivares de uva como 'Muscat Gordo Blanco' y 'Ohanez' (Nunan et al., 1997). Estos mismos autores demuestran que la cantidad de pared celular disminuye durante la maduración de estas mismas variedades de uva (Nunan et al., 1998). En las uvas sin tratar, la pérdida de firmeza tanto de la baya como de la pulpa, estuvo acompañada por descensos en el contenido de pectinas totales (PT) y en pectinas solubles en oxalato (PSO), mientras que en las uvas tratadas los descensos de PT fueron mucho menores y además se obtuvieron aumentos de las PSO en las uvas tratadas con eugenol o timol, por lo que de alguna forma estos aceites esenciales conllevaron a una menor despolimerización y degradación de los polisacáridos de la pared celular, efectos que han sido contrastados durante los procesos de ablandamiento de la uva (Brummell y Harpster, 2001). Así mismo, la disminución de las PT y el fraccionamiento de las pectinas se han correlacionado con diferentes estados de madurez de fresas y cerezas, e incluso se ha postulado como un método de autenticación (Fügel et al., 2004).

Un hecho importante es el incremento significativo en las pectinas solubles en agua (PSA) en las uvas control con respecto a las tratadas, lo que indica una acción clara de la PG junto con la PE, tal como se ha observado en otros frutos como mangos (Ketsa et al., 1999), manzanas (Siddiqui et al., 1996) y papayas (Manrique y Lajolo, 2004). Así mismo, en la variedad de uva 'Ugni Blanc', el proceso de ablandamiento se ha asociado con la pérdida de unidades de galactosa debido a la acción del enzima β -Gal (Barnavon et al., 2000), mientras que la pérdida de firmeza de la piel de uva "Golden Muscat" se ha asociado a la pérdida de polisacáridos estructurales junto con restos de pectinas unidas a calcio (Huang et al., 2005).

No existen referencias en la bibliografía acerca del papel que puedan tener los aceites esenciales sobre el mantenimiento de la firmeza de los frutos, pero quizás el menor proceso de ablandamiento de la uva tras la aplicación de timol o eugenol podría deberse a su conocido papel como antioxidantes (Ruberto y Baratta, 2000), lo que conferirían a los frutos un menor metabolismo degradativo. No obstante, se necesitan mayores

investigaciones para establecer un papel definitivo de estos aceites esenciales en el mantenimiento de la firmeza de los frutos.

5.6. Evolución de los sólidos solubles, acidez, ácidos orgánicos y azúcares

La uva de mesa como fruto climatérico debe ser recolectada en un estado de madurez óptimo para su consumo. Además, se conoce que los diferentes racimos de uva en las cepas no maduran a la misma vez, por lo que cada baya puede diferir en su grado de madurez, siendo los factores más importantes, la posición del racimo, las características del suelo, humedad ambiental, temperatura e incluso diferencias varietales (Laszlo y Saayman, 1985). Se han postulado diferentes criterios para establecer el grado de madurez óptimo para la recolección, si bien en el caso de la uva de mesa uno de los más aceptados es el cociente entre el contenido de sólidos solubles y la acidez titulable ($^{\circ}$ Brix/acidez), comprobándose que influye en gran medida en su aceptación por parte de los consumidores (Crisosto y Crisosto, 2002), aunque también se ha postulado que el contenido de $^{\circ}$ Brix estaba mejor correlacionado con el grado de aceptación (Sonego et al., 2002).

En los cultivares de uva utilizados en esta Tesis se ha comprobado que diferían en el contenido de $^{\circ}$ Brix y acidez en el momento de la recolección, mostrando valores de $18,34 \pm 0.17$ $^{\circ}$ Brix y $0,48 \pm 0.01$ % acidez para 'Autumn Royal', y de $20,59 \pm 0.10$ $^{\circ}$ Brix y $0,52 \pm 0.02$ % acidez para 'Crimson'. No obstante, el índice de madurez fue muy similar en ambos y no diferían significativamente (≈ 40). Estos valores de índice de madurez están en concordancia con los obtenidos para otras variedades de uva en el momento de la recolección, tales como 'Alphonse Lavallee' (Arin y Akdemir, 2004), 'Black Beauty' y 'Sunbelt' (Threlfall et al., 2005) y 'Autumn Seedless' (Artés-Hernández et al., 2004), entre otros. Los cambios en los sólidos solubles y la acidez son los responsables del aumento del dulzor y la pérdida de acidez que se detecta a medida que la uva de mesa aumenta su proceso de maduración.

En los experimentos de conservación post-recolección realizados, tanto mediante el uso de recubrimiento comestible a base de *Aloe vera* gel o de atmósfera modificada, al evaluar el contenido de sólidos solubles y acidez titulable, se observó una menor acumulación de $^{\circ}$ Brix y un mantenimiento de la

acidez titulable. Por tanto, la evolución de la relación °Brix / acidez titulable o índice de madurez de las uvas tratadas fue significativamente inferior durante los diferentes periodos de almacenamiento en frío y posterior vida útil a 20°C, mientras que los mayores cambios tuvieron lugar en las uvas control, con incrementos y descensos significativos para °Brix y acidez, respectivamente.

Al comparar el comportamiento de los racimos controles de la uva 'Crimson' bajo conservación en refrigeración y MAP, se puede observar que los cambios en °Brix y acidez están atenuados en las uvas envasadas en MAP. Una de las ventajas del uso de MAP es la inhibición de los procesos de transpiración y respiración, que van acompañados de retrasos en los procesos metabólicos de degradación de las sustancias de reserva, en este caso azúcares y ácidos orgánicos, mientras que en las uvas bajo almacenamiento en refrigeración la tasa de producción de CO₂ incrementó de forma significativa. Este efecto del envasado MAP se ha visto en un amplio rango de frutos (Kader et al., 1989), así como en variedades de uva de mesa como 'Flame Seedless' (Martínez-Romero et al., 2003) y 'Autumn Seedless' (Artés-Hernández et al., 2004), cuando se comparan con las uvas almacenadas al aire. No obstante el papel de los aceites esenciales mejorando los efectos del MAP está aún por dilucidar.

El menor índice de madurez, a través de una menor evolución de los sólidos solubles y un mantenimiento de la acidez total se ha observado en diferentes frutos tras ser tratados con distintos recubrimientos comestibles, tales como Semperfresh™ en pimiento (Özden y Bayindirli, 2002), almidón en fresas (Mali and Grossmann, 2003), celulosa en mango (Baldwin et al., 1999) y quitosán en litchi (Jiang et al., 2005). No obstante, también se ha observado que algunos recubrimientos no modifican de forma significativa estos cambios, como es el caso de cerezas recubiertas con una mezcla de polisacáridos-lípidos (Alonso y Alique, 2004) o Semperfresh™ en membrillo (Yurdugül, 2005) y cerezas (Yaman y Bayindirli, 2002). En ninguno de estos trabajos se da una explicación al papel de los recubrimientos sobre la inducción de un menor índice de madurez, pero es muy probable que sea debido a la menor tasa de respiración exhibida por las uvas tratadas con *Aloe vera* comparadas con las bayas control, ya que el aumento del CO₂ se debe a la utilización de sustratos de reserva en el ciclo de Krebs, que en el caso de los frutos son los azúcares y

los ácidos orgánicos (Mathooko, 1996). Ahora bien, tampoco se debe descartar el efecto protector del recubrimiento con *Aloe vera* actuando de barrera al O₂ de la atmósfera circundante, y por tanto un menor proceso de deterioro oxidativo.

Con el fin de profundizar más sobre el comportamiento de las sustancias de reserva en uva de mesa, se determinaron por HPLC los contenidos individuales de azúcares y ácidos orgánicos. Así, se ha comprobado que para las dos variedades los azúcares predominantes en el momento de la recolección (día 0) fueron glucosa y fructosa (que se encontraban en concentraciones similares del 8%) siendo el contenido de sacarosa en valores muy bajos (0.1-0.3 %). Un perfil similar de azúcares se ha recogido en uvas de las variedades 'Kyoho' (Yakushiji et al., 2001) y 'Black Beauty' y 'Sunbelt' (Threlfall et al., 2005). Durante la post-recolección, las concentraciones de glucosa y fructosa incrementaron de forma significativa en las uvas control, siendo el aumento mucho menor en las bayas tratadas, tanto las recubiertas con *Aloe vera* como las envasadas en MAP y adicionadas con aceites esenciales. Por tanto la evolución de °Brix en la uva de mesa se debe a la acumulación de estos azúcares simples y no a la acumulación de sacarosa. Además, debido a que la uva de mesa contiene muy pocas cantidades de almidón (Kanellis y Roubelakis-Angelakis, 1993), se podría concluir que el sustrato de la respiración sería la sacarosa, cuya degradación produce moléculas de glucosa y fructosa, que son las que incrementan durante la post-recolección. Así mismo, esta mayor concentración de azúcares podría deberse a un efecto de concentración debido a la pérdida de agua, tal como se ha observado en otras variedades de uva (Lydakis y Aked, 2003b).

Por lo que respecta al contenido de ácidos orgánicos, el mayoritario en las uvas 'Crimson' y 'Autumn Royal' fue el ácido tartárico, cuyas concentraciones iniciales fueron de 0.4-0.5 %, y que aporta el 90% a la acidez total, tal como se ha observado en diferentes cultivares de uva (Romero y Muñoz, 1993; Gherardi et al., 1995; Soyer et al., 2003). Durante el almacenamiento post-recolección, el ácido tartárico descendió progresivamente, siendo el descenso significativamente mayor en las bayas control que en las tratadas, ya fuese con *Aloe vera* o con MAP y la adición de los aceites esenciales. Ya que el ácido tartárico es el mayoritario, el mantenimiento de la acidez titulable observada en las uvas tratadas se debe

fundamentalmente a la menor pérdida de este ácido. El resto de ácidos orgánicos cuantificados (ascórbico, málico, cítrico, oxálico, fumárico, succínico) se consideran minoritarios (valores de mg 100 g⁻¹), cuyos resultados están de acuerdo con los obtenidos en otras variedades de uva (Fuleki et al., 1993). Todos estos ácidos presentaron un comportamiento similar, es decir una disminución prolongada a lo largo de la conservación post-recolección.

5.7. Evolución de las propiedades funcionales

El consumo de frutas y hortalizas se ha relacionado con una disminución en el riesgo de padecer ciertas enfermedades degenerativas, como cáncer, deficiencia del sistema inmune, disfunciones coronarias y del cerebro y cataratas (Halliwell, 1996; Feskanich et al., 2000; Liu et al., 2000; Szeto et al., 2002). Los compuestos responsables de estas propiedades beneficiosas para la salud son aquellos que poseen propiedades antioxidantes, entre los que se incluyen los carotenoides, los flavonoides y otros compuestos fenólicos, así como las vitaminas C y E (Kalt, 2005).

La cuantificación de la actividad antioxidante de un alimento no es fácil, ya que hay muchos factores que pueden interferir en el resultado (Frankel y Meyer, 2000). Además, la cuantificación de los diferentes compuestos con capacidad antioxidante que hay en un alimento no necesariamente indica su actividad antioxidante total (AAT), ya que puede haber efectos sinérgicos entre ellos y la AAT del alimento será mayor que la suma de las capacidades de sus distintos componentes (Jia et al., 1998). Además, cuantificar cada uno de los componentes antioxidantes individualmente puede ser difícil y laborioso, por lo que se han diseñado varios métodos analíticos para determinar la AAT, entre los que se incluye el utilizado en este trabajo (Cano et al., 1998; Sánchez-Moreno, 2002; Roginsky y Lissi, 2005).

Los fenoles son compuestos aromáticos del metabolismo secundario de las plantas, que se encuentran en cantidades relativamente importantes en frutos y hortalizas, y contribuyen a sus propiedades sensoriales como color, aroma y gusto. Además, muchos de los compuestos fenólicos poseen propiedades antioxidantes, anticarcinogénicas, antimicrobianas, antimutagénicas y antiinflamatorias, por lo que su consumo resulta beneficioso

para la salud (Cao y Cao, 1999; Eberhardt et al., 2000; Tomás-Barberán y Espín, 2001).

La AAT se determinó en la piel y pulpa de las variedades 'Crimson' y 'Autumn Royal', encontrándose que en ambas variedades la AAT de la piel era entre 5 y 10 veces superior a la de la pulpa. En otras variedades de uva se ha observado que la mayor AAT se encuentra en la piel (Bartolomé et al., 2004). Además, se ha comprobado que existían diferencias importantes en la AAT de las dos variedades, siendo mayor en la piel de la variedad 'Autumn Royal' que en la 'Crimson', mientras que la pulpa mostró una AAT muy similar. En otras variedades de uva, como 'Bangalore Blue' se han publicado valores muy elevados de AAT (Kotamballi et al., 2002), comparados con otras variedades de color rojo menos intenso (Cho et al., 2004), tal como ocurre en nuestras variedades. En este sentido, en otros estudios también se ha comprobado que la AAT de los frutos varía mucho de una especie a otra, pero que además también existen variaciones importantes entre variedades de una misma especie en frutos como manzanas, fresas, moras, frambuesas, naranjas, melocotones, nectarinas y ciruelas (Connor et al., 2002; Gil et al., 2002; Pretel et al., 2004; Van der Sluis et al., 2001; Wang y Lin, 2000). No obstante, la AAT de ambas variedades de uva de mesa podría considerarse como media o elevada y del mismo orden que la que se encuentra en otros frutos, como fresa, mango, aguacate, naranja, limón y ciruela (Wang et al., 1996; Kim et al., 2003; Leong y Shui, 2002; Pretel et al., 2004). Así mismo, es necesario destacar que nuestras variedades de uva son sin semillas (seedless) y en buen número de trabajos se ha estimado que la mayor capacidad antioxidante en la uva de mesa se encuentra en las semillas por su alto contenido en polifenoles y pro-cianidinas (Jayaprakash et al., 2001; Wood et al., 2002; Guendez et al., 2005) y atribuyéndoles como los principales compuestos beneficiosos de la dieta Mediterránea (Auger et al., 2004; Yilmaz y Toledo, 2004).

La evolución de la AAT durante la conservación fue similar en ambas variedades de uva sin tratar (controles), produciéndose una disminución en la piel y la pulpa, tanto durante la conservación en frío como cuando se colocaban posteriormente a 20 °C, lo que indicaría una pérdida importante de las propiedades funcionales de estos frutos. Sin embargo, en las uvas tratadas bien con recubrimiento de *Aloe vera* o con la adición de aceites esenciales se pudo constatar que en todos los casos los niveles de AAT eran superiores a los

encontrados en las bayas control, y en algunos casos incrementaba la AAT, como es el caso del tratamiento con eugenol tanto en la uva 'Crimson' como en la 'Autumn Royal'. Así mismo se ha podido comprobar que las uvas 'Crimson' control almacenadas en MAP presentaban menores descensos que los correspondientes controles almacenados sólo en refrigeración, por lo que el uso del MAP resulta beneficioso a través de un menor proceso de deterioro.

El uso oral de *Aloe vera* gel se ha probado que es altamente eficaz como anti-inflamatorio debido a sus propiedades antioxidantes (Langmead et al., 2004). En la composición del *Aloe vera* intervienen una gran cantidad de compuestos (Reynolds y Dweck, 1999; Ni et al., 2004), pero se piensa que *Aloe-emodina*, un derivado de antraquinonas, es uno de los principales componentes que contribuyen a la actividad antioxidante con una capacidad antioxidante del 78% (Yen et al., 2000) comparada con el 96% de HAB (hidroxi-anisol butilado). Recientemente se ha establecido que los extractos de *Aloe vera* poseen incluso una actividad antioxidante superior al BHT (hidroxi-tolueno butilado) o α -tocoferol (Hu et al., 2005), y por tanto muy eficaces en proteger el daño del ADN (Tian y Hua, 2005) pudiendo ser usados como anti-carcinogénicos (Chen et al., 2004) debido a su concentración de Aloina y *Aloe-emodina*. Así mismo, se ha postulado que la actividad antioxidante del *Aloe vera* incrementa a medida que avanza el estado de desarrollo de la planta, sugiriéndose la utilización plantas con más de 3 años de edad para conseguir la máxima actividad antioxidante (Hu et al., 2003). En este sentido, la mayor AAT exhibida así como su mantenimiento a lo largo del almacenamiento en las uvas tratadas puede ser atribuida a la presencia de estos compuestos del *Aloe vera*.

Los aceites esenciales usados en la presente Tesis Doctoral, eugenol y timol, se han descrito que poseen una actividad antioxidante natural (Milos et al., 2000; Lee y Shibamoto, 2001; Dorman et al., 2003; Gülçin et al., 2004; Kulisic et al., 2004; Miguel et al., 2004; Lee et al., 2005; Sacchetti et al., 2005) debido fundamentalmente a la presencia de grupos hidroxilo en el anillo de benceno (Shahidi et al., 1992), incluso caracterizando a la Familia *Labiaceae* como una familia que posee especies con una actividad antioxidante muy significativa en el Reino Vegetal (Tsimidou y Boskou, 1994; Dorman et al., 2003; Capecka et al., 2005; Figuéredo et al., 2005). Así el uso de estos compuestos naturales junto con el MAP conllevaría a una menor pérdida de la

AAT en el caso de los envases tratados con mentol, a un mantenimiento en los tratados con timol, pero a un ligero incremento en los tratados con eugenol.

En cuanto a la evolución del contenido en fenoles durante la conservación se encontró que en la piel de ambas variedades de uva se produjo un descenso significativo, mientras que en la pulpa se produjo un aumento en la variedad 'Autumn Royal' y un descenso en la 'Crimson'. En este sentido, se ha encontrado que la evolución del contenido en fenoles durante la conservación post-recolección de los frutos puede ser diferente dependiendo del tipo de fruto, variedad, temperatura y condiciones de almacenaje (Kalt, 2005). Así por ejemplo, el contenido en fenoles no cambió durante la conservación de fresas a 20 °C, mientras que aumentó en frambuesas (Kalt et al., 1999). Por lo que respecta al contenido de ácido ascórbico de la pulpa, en ambas variedades de uva se produjo un descenso acusado de vitamina C en la pulpa de las bayas control, siendo esta disminución mucho menor en las uvas de los envases a los que se les había adicionado los aceites esenciales. Sin embargo, el recubrimiento con *Aloe vera* mantuvo una concentración constante de vitamina C a lo largo del periodo de conservación en frío así como tras los periodos a 20°C. El mantenimiento de la vitamina C se ha observado en albaricoques y pimientos recubiertos con metil celulosa o polietilenglicol, pero incorporándoles ácido ascórbico en la formulación (Ayranci y Tunc, 2004), mientras que en el recubrimiento de *Aloe vera* no fue necesaria al incorporación de vitamina C de forma exógena.

La AAT está correlacionada con el contenido en fenoles en varios cultivares de ciruela (Gil et al., 2002; Kim et al., 2003), así como en otros frutos, entre los que se incluyen manzana, piña, fresas, frambuesas, grosellas, uvas, nectarinas y melocotones, entre otros (Gardner et al., 2000; Gil et al., 2002; Gorinstein et al., 2004; Kalt et al., 1999; Moyer et al., 2002; Proteggente et al., 2002; Velioglu et al., 1998; Wang y Stretch, 2001). En otras variedades de uva la AAT se ha correlacionado con los polifenoles (Dávalos et al., 2005), postulándose incluso su uso como antioxidantes naturales en alimentos (Bonilla et al., 1999; Pazos et al., 2005). Sin embargo, en diferentes cultivares de cítricos y de tomates, la AAT se ha encontrado más correlacionada con el contenido en ácido ascórbico (Cano et al., 1998; De Pascale et al., 2001; Gardner et al., 2000; Pretel et al., 2004), debido a la capacidad del ácido ascórbico de atrapar eficientemente los radicales

reactivos de oxígeno, como O_2^- , OH^- , radicales peroxilo y el oxígeno singlete (Haliwell, 1996).

Los resultados de nuestro trabajo muestran que la AAT de la piel se encuentra correlacionada de forma diferente según el cultivar. Así, en uva 'Crimson' la actividad antioxidante estuvo altamente correlacionada con el contenido de polifenoles, pero mostró una correlación negativa con el contenido de antocianos, independientemente que la uva estuviese conservada en refrigeración o MAP. Por el contrario, en uva 'Autumn Royal' la ATT estuvo correlacionada tanto con el contenido de polifenoles como de antocianos de la piel, tal como se ha observado en ciertas variedades de uva griegas (Kallithraka et al., 2005). Por lo que respecta a la pulpa, ambas variedades mostraron un comportamiento similar, ya que la ATT estaba muy correlacionada con los polifenoles totales así como con el contenido de ácido ascórbico.

5.8. Estudio de la contaminación microbiana

La actividad microbiana es la principal causa de deterioro de muchos alimentos y en la mayoría de los casos es la responsable de la pérdida de la calidad y seguridad. La uva de mesa no es ninguna excepción y en su superficie, que está compuesta por una capa de cutícula cerosa, se pueden adherir microorganismos (Hardie et al., 1996; Combina et al., 2005). Generalmente, se acepta que a medida que la uva madura se incrementa la contaminación, por lo que la superficie de uvas maduras tiene poblaciones microbianas del orden de $3-5 \log \text{ UFC g}^{-1}$, siendo la mayoría hongos, levaduras y especies bacterianas ácido-lácticas (Fleet, 1999).

Existen diferentes factores, tanto intrínsecos como extrínsecos, que pueden afectar a la existencia y crecimiento de microorganismos en la superficie de las bayas de uva, entre los que se encuentran la pluviosidad, temperatura, daños mecánicos y ataques de insectos (Longo et al., 1991).

No obstante, la podredumbre gris causada por *Botrytis cinerea* es la enfermedad más importante en la uva que causa elevadas pérdidas económicas, y es uno de los principales obstáculos para el almacenamiento y transporte a largas distancias. *B. cinerea* es un hongo patógeno necrotrófico que coloniza

las bayas de uva y provoca un ablandamiento acelerado. Las hifas del hongo penetran a través de las heridas y se expanden rápidamente a tejidos sanos, siendo resistente al almacenamiento a bajas temperaturas, por lo que es un problema antes y después de la recolección (Mansfield, 1980).

Para combatir este hongo y otros que se desarrollan en uva (especies de *Penicillium*, *Rhizopus* y *Aspergillus*), se han aplicado SO_2 y fungicidas sintéticos tanto durante el desarrollo de la uva como durante la post-recolección (Franck et al., 2005), pero la generación de resistencias es cada vez más común (Latorre et al., 2002). Junto a este problema y a la presencia de residuos, el uso de fungicidas sintéticos está cada vez más cuestionado.

En la actualidad existe un interés creciente en el uso de compuestos antibacterianos naturales como medio de conservación de los alimentos. En este sentido, las plantas tienen la capacidad de sintetizar sustancias aromáticas como consecuencia de su metabolismo secundario. La mayoría de ellas generan compuestos aromáticos que son fenoles o derivados de ellos. Muchos de estos compuestos son responsables del sabor y aroma, y algunas de estas plantas, especias o hierbas se utilizan como condimentos (Cowan, 1999). Entre estos compuestos naturales, la actividad antimicrobiana de algunos aceites esenciales de plantas que pertenecen a los géneros *Thymus*, *Syzygium*, *Mentha* y *Eucalyptus* se encuentra bien documentada (Appendini y Hotchkiss, 2002). De hecho su uso potencial en productos alimentarios como carnes y productos de panadería ha sido publicado recientemente (Skandamis y Nychas, 2001; Burt, 2004; Suhr y Nielsen, 2005).

Con el fin de aportar nuevas estrategias de conservación post-recolección que se consideren no contaminantes ni para el consumidor ni para el medio ambiente, en la presente Tesis Doctoral se ha desarrollado un envase activo mediante el uso combinado de MAP con compuestos naturales como eugenol, mentol y timol. El efecto más importante que se observó fue una reducción muy significativa de los microorganismos en las bayas de los envases que contenían estos compuestos, especialmente para el recuento de mohos y levaduras, con respecto a las uvas control. El grado de contaminación obtenido en las uvas tratadas cumple con los criterios exigidos para postres no tratados térmicamente (IFST, 1999). Así mismo se pudo comprobar que de los tres agentes adicionados en uva 'Crimson', el eugenol fue el más efectivo, seguido

de timol y mentol, pero también que la reducción era dosis dependiente, ya que en uva 'Autumn Royal', la dosis de 150 μL fue más efectiva que la de 75 μL .

Por otra parte, la reducción de mohos y levaduras estaba acompañada de una menor acumulación de etileno en el interior de los envases. De hecho, se ha establecido que *B. cinerea* produce cantidades de etileno crecientes a medida que aumenta la concentración de conidios inoculados *in vitro* en bayas (Cristescu et al., 2002), si bien el etileno exógeno parece no incrementar el grado de podredumbres en uva de mesa almacenada durante largos periodos (Palou et al., 2003).

Tanto eugenol como timol y mentol inhibieron el crecimiento de *B. cinerea* sobre PDA cuando fueron añadidos en concentraciones superiores a 0.1 mL de compuesto puro. Cuando este hongo fue inoculado en bayas de uva, también se comprobó una drástica reducción de las bayas podridas así como en el volumen de infección. Al mismo tiempo estas bayas presentaron menores tasas de respiración y de producción de etileno.

El eugenol es un componente del clavo y se ha demostrado su actividad antifúngica (Martini et al., 1996; Outtara et al., 1997). En este sentido, Vázquez et al. (2001) mostraron los efectos de diferentes concentraciones de eugenol sobre *Penicillium citrinum*, y comprobaron como a concentraciones de 200 $\mu\text{g/mL}$ el crecimiento de este hongo fue reducido por encima de 9 días. El timol, que es el aceite esencial del tomillo ha probado ser efectivo en reducir las podredumbres de cereza, bien aplicado en forma de fumigaciones (Chu et al., 1999) o bien incorporados en envases bajo condiciones MAP (Serrano et al., 2005). También ha resultado eficaz en reducir el crecimiento de diferentes especies de levaduras, tal como se ha recogido recientemente (Sacchetti et al., 2005).

Parece ser que el mecanismo de acción es la hidrofobicidad que tienen sobre su bioactividad en la fase de vapor. Así se ha visto que pueden provocar daños en la integridad de la membrana a través de alterar los lípidos de membrana y provocando un desequilibrio inorgánico mediante la salida de electrolitos (Lambert et al., 2001; Bagamboula et al., 2004). La presencia del anillo fenólico parece ser necesaria para la actividad antimicrobiana, y así se explicaría la menor eficacia del mentol comparada con eugenol o timol (Ultee et al., 2002).

Por tanto, para prolongar la vida útil de fruta fresca, la cual posee una mezcla compleja de bacterias, hongos y levaduras, el lavado puede no ser suficiente, por lo que se necesita algunas tecnologías post-recolección, como por ejemplo la adición de mentol, timol o eugenol en el interior del envase, evitando el contacto directo con la fruta, por lo que se garantiza la seguridad e inocuidad, una de las principales preocupaciones de los consumidores.

Por lo que respecta al uso del recubrimiento con *Aloe vera* gel, se obtuvieron resultados muy similares al uso combinado de MAP y los compuestos naturales procedentes de aceites esenciales, es decir una reducción significativa en el recuento de aerobios mesófilos y de forma especial de mohos y levaduras. La reducción microbiana también estuvo correlacionada con una menor producción de etileno.

Los recubrimientos comestibles, aparte de actuar como barrera a los gases, pueden servir para mejorar la seguridad de los alimentos mediante la inhibición o retraso en el crecimiento de los microorganismos, dando un paso más en el concepto de envasado inteligente (Appendini y Hotchkiss, 2002). Así, el uso de recubrimientos comestibles como quitosán o almidón ha sido una alternativa viable para controlar el crecimiento microbiano en zanahorias mínimamente procesadas (Durango et al., 2005), fresas (Mali et al., 2003), frambuesas (Han et al., 2004), así como uvas de mesa inoculadas con *B. cinerea* (Romanazzi et al., 2002). No obstante, Semprefresh™ resultó en un ligero incremento en el crecimiento de microorganismos de tipo fúngico en cerezas (Yaman y Bayindirli, 2002).

La actividad antifúngica de la pulpa de *Aloe vera* está documentada, incluyendo su eficacia frente a patógenos de frutos como *Penicillium digitatum*, *P. expansum*, *B. cinerea* y *Alternaria alternata* (Jasso de Rodríguez et al., 2005). La actividad antifúngica del *Aloe vera* está basada en la supresión de la germinación y la inhibición del crecimiento del micelio, y ha sido atribuida a la presencia de más de un compuesto activo con acción antifúngica (Ali et al., 1999), aunque el mecanismo de acción específico aún se desconoce.

Además, se ha comprobado que el gel de *Aloe vera* reduce el crecimiento de 17 especies bacterianas (Reynolds y Dweck, 1999), siendo la cantidad necesaria para inhibir el crecimiento menor para bacterias Gram + que para

Gram - (Ferro et al., 2003). Aunque el/los compuesto/s responsable/s de la acción antibacteriana no ha sido elucidado aún, se sabe que algunos componentes individuales encontrados en la composición del gel de *Aloe vera*, tales como derivados de saponinas, acemanan y antraquinonas, poseen actividad antibiótica.

Es interesante destacar que el *Aloe vera* como recubrimiento fue eficaz en controlar la proliferación microbiana de la uva de mesa 'Crimson' sin la necesidad de incorporarle otros compuestos de actividad antimicrobiana conocida, como puede ser aceite de ajo, sorbato potásico y nisina para aumentar dicha actividad (Pranoto, et al., 2005a; 2005b).

5.9. Valoración sensorial de racimos y bayas

La uva de mesa es un fruto muy apreciado por los consumidores, y concretamente las variedades utilizadas en esta Tesis poseen una gran aceptación. Ambas son sin semillas, y en el caso de 'Autumn Royal' el tamaño de la baya se encuentra entre los de mayor tamaño de todas las uvas, es de maduración tardía y presenta un color negro-violáceo en estado óptimo de madurez, mientras que 'Crimson' se considera una uva de gran apariencia. Los racimos de uva están compuestos por bayas y raspones. Las bayas están protegidas por una epidermis gruesa con capas de cutículas ceras que actúan como una barrera importante frente a la deshidratación, mientras que los raspones no poseen esta protección y por tanto son mucho más proclives a la pérdida de agua.

Desde el punto de vista de la calidad, se considera de suma importancia el color verde de los raspones, el cual sufre un rápido deterioro debido a la pérdida de agua originándose una deshidratación y pardemiento aunque se encuentre bajo almacenamiento en refrigeración (Crisosto et al., 2001). En cuanto a las bayas, los consumidores demandan uvas con un alto contenido en sólidos solubles, una equilibrada relación sólidos solubles/acidez titulable (índice de madurez), una elevada firmeza, ausencia de defectos y de podredumbres (Cliff et al., 1996; Wei et al., 2002).

La visualización de los racimos y los raspones mostró que, tanto el tratamiento con *Aloe vera* de uvas 'Crimson' y la adición de los aceites

esenciales en envases MAP en las dos variedades, presentaban un mejor aspecto que los correspondientes controles, según el panel evaluador. En los controles, los síntomas de deshidratación y pardeamientos severos comenzaron tras 7 días de almacenamiento en frío y los correspondientes periodos a 20°C. Estos síntomas aparecían inicialmente en los pedicelos, seguido de las ramas laterales y finalmente en el eje central del raspón. Este mismo comportamiento se ha observado en uva 'Flame Seedless' y se cree que está asociado a un incremento en la actividad polifenoloxidasa (Carvajal-Millán et al., 2001).

El *Aloe vera* como recubrimiento comestible, al actuar como barrera frente a las pérdidas de peso ha sido eficaz en mantener un mejor aspecto tanto de bayas como de raspones, conllevando a un mantenimiento de su color natural. La utilización de otros recubrimientos comestibles ha conllevado a una mejora de los parámetros de calidad sensorial, como es el caso de zanahorias recubiertas con goma de xantano (Mei et al., 2002), quitosán en fresas (Han et al., 2005) y litchi (Jiang y Jiang, 2005) y celulosa en manzanas cortadas (Pérez-Gago, et al., 2005).

El empleo de los aceites esenciales junto con el MAP puede considerarse como una buena tecnología para mantener el aspecto de los racimos de la uva, no presentando el inconveniente de otros tratamientos como SO₂, que es capaz de controlar las podredumbres pero que afectan a la calidad de las bayas y de los raspones (Crisosto et al., 2002b). No existen evidencias del papel de estos aceites esenciales sobre el retraso del deterioro de los racimos, si bien su alta capacidad antioxidante (Ruberto y Baratta, 2000; Ponce et al., 2004) podría reducir la deshidratación, la degradación de la clorofila y la aparición de polímeros pardos.

El análisis sensorial de los racimos tratados con *Aloe vera* reveló que todos los parámetros evaluados (firmeza, crujibilidad, jugosidad y acidez) eran superiores en las uvas tratadas que en las controles, mientras que ocurrió lo contrario cuando se evaluó el dulzor. Estos resultados están en concordancia con los resultados analíticos realizados, ya que las bayas control experimentaron una mayor pérdida de peso por lo que existe una concentración de azúcares, un mayor proceso de ablandamiento y pérdida de acidez. Así mismo, es interesante destacar que ninguno de los jueces detectó la aparición de malos sabores o aromas en las bayas tratadas con *Aloe vera* gel.

En cuanto al experimento de conservación mediante la combinación de aceites esenciales y MAP, en la uva 'Crimson' no se realizó ningún análisis sensorial científico. No obstante, tras la apertura de los envases se detectó la persistencia del típico aroma de estos compuestos, el cual desaparecía de forma muy rápida tras dejar los racimos a temperatura ambiente. De forma análoga se detectó un cierto sabor "medicinal", el cual fue mucho más aparente para mentol y menos significativo para eugenol y timol. Es por esto, por lo que en la uva 'Autumn Royal' se ensayaron concentraciones mucho más reducidas. Los resultados del análisis sensorial revelaron que todos los parámetros evaluados mejoraron tras la adición de los aceites esenciales, con la excepción de la jugosidad y dulzor. Así mismo la persistencia del aroma y sabor característico de estos aceites esenciales era muy baja, especialmente en las uvas tratadas con eugenol.

5.10. Estimación de la vida útil

En la sociedad actual las frutas y las hortalizas están expuestas a una larga cadena de procesos que se inician con la separación de la planta y acaban en los platos de los consumidores. La uva de mesa es recolectada manualmente, transportada hasta la industria y envasada. Todos estos pasos van a afectar a la calidad final del producto. La investigación en post-recolección debe ir encaminada a mantener la calidad y seguridad de los frutos y minimizar las pérdidas entre las fases de producción y consumo (Kader, 2003).

La uva de mesa, que está catalogada como un fruto no climatérico presenta una elevada tasa de deterioro y es muy sensible a podredumbres, principalmente debidas al desarrollo de *Botrytis cinerea*. Así, se ha comprobado que la variedad 'Crimson' almacenada bajo condiciones de refrigeración mostraba un deterioro acelerado en los parámetros de calidad tras 7 días a 1°C y 4 días a 20°C. Tras este periodo, las pérdidas de peso fueron próximas al 8%, se produjeron los mayores cambios de color y la firmeza se redujo a la mitad. Así mismo una vez transcurrido este periodo de almacenamiento se detectaron síntomas de deshidratación de los raspones. Junto a estos parámetros considerados dentro del concepto de calidad sensorial, es interesante destacar que durante este periodo se produjeron las mayores pérdidas de calidad funcional, tanto en el contenido de ácido

ascórbico, como en la actividad antioxidante total y contenido de polifenoles totales de la piel y la pulpa.

Por el contrario el recubrimiento con *Aloe vera* mostró un retraso significativo en la pérdida de todos los parámetros relacionados con la calidad sensorial y funcional, estableciéndose como periodo de vida útil el de 21 días a 1°C y 4 días a 20°C.

El efecto de la conservación bajo condiciones MAP en uvas control fue aparente ya que la vida útil fue de 14 días a 1°C y 4 días a 20°C para la variedad 'Crimson' y de 28 días a 1°C y 2 días a 20°C para la 'Autumn Royal'. De estos resultados se deduce que el potencial de conservación en la uva de mesa puede diferir según la variedad a estudiar. Sin embargo, cuando se adicionaron los aceites esenciales, el periodo de vida útil fue de 21 días a 1°C y 4 días a 20°C en 'Crimson' y de 56 días a 1°C y 2 días a 20°C para 'Autumn Royal'.



6. CONCLUSIONES

1. La adición de los aceites esenciales eugenol, timol y mentol a los envases de atmósfera modificada tuvo muy poco efecto en la composición final de la atmósfera. Sin embargo, la concentración de CO_2 alcanzada fue mayor en los envases que contenían la variedad 'Autumn Royal' que en los de 'Crimson', ocurriendo lo contrario con la concentración de O_2 , lo que puede deberse a la mayor tasa de respiración de la variedad 'Autumn Royal' en el momento de la recolección, unas cuatro veces superior a la de la variedad 'Crimson'.

2. El tratamiento con el recubrimiento comestible de *Aloe vera* retrasó las pérdidas de peso durante la conservación de la uva 'Crimson', aunque en menor medida que las atmósferas modificadas. Además, la adición de los aceites esenciales a los envases de MAP tuvo un efecto adicional retrasando las pérdidas de peso en ambas variedades de uva de mesa.

3. El tratamiento con *Aloe vera*, así como los aceites esenciales retrasaron el descenso del parámetro L^* del color que se producía durante la conservación, lo que podía relacionarse con su efecto disminuyendo las pérdidas de peso. Por otra parte, los parámetros a^* , b^* y $Croma^*$ aumentaron durante la conservación en 'Crimson', al igual que lo hacía el contenido en antocianos totales, mientras que en 'Autumn Royal' b^* aumentaba sólo ligeramente y a^* y $croma^*$ disminuían, así como el contenido en antocianos totales. El tratamiento con *Aloe vera* y la conservación en AM retrasaron estos cambios en 'Crimson', aunque la adición de los aceites esenciales a los envases de MAP no tuvo ningún efecto adicional, mientras que sí lo tuvo en la uva 'Autumn Royal'.

4. En la uva 'Crimson' los dos únicos antocianos que se encontraron fueron cianidín-3-glucósido y peonidín-3-glucósido en concentraciones similares, mientras que en 'Autumn Royal' lo fueron malvidín-3-glucósido (60%) y peonidín-3-glucósido (20%), encontrándose petunidín-3-glucósido, delphinidín-3-glucósido y cianidín-3-glucósido en cantidades muy pequeñas.



5. El tratamiento con *Aloe vera* así como la combinación de MAP con los aceites esenciales conllevó a una menor tasa de ablandamiento, que se observó en el fruto entero y en la pulpa, y tanto durante la conservación en frío como cuando las uvas se transferían a 20 °C. Este efecto estuvo relacionado en la variedad 'Autumn Royal' con el mantenimiento de los componentes de la pared celular, mientras que en las uvas control disminuía el contenido en pectinas totales y en pectinas solubles en oxalato y aumentaba la cantidad de pectinas solubles en agua, indicando una despolimerización y degradación de los polisacáridos de la pared celular.

6. Durante la conservación de ambas variedades de uva se producía un aumento en el contenido de sólidos solubles y una disminución de la acidez, lo que determinaba un aumento en el índice de madurez, estando todos estos cambios significativamente retrasados en las uvas tratadas con *Aloe vera* y en las conservadas en MAP, obteniéndose un efecto adicional con los diferentes aceites esenciales. En todos los casos, la evolución del contenido en sólidos solubles fue similar a la observada para los azúcares mayoritarios de las dos variedades de uva, que fueron glucosa y fructosa, así como la evolución de la acidez total era concordante con la encontrada para el ácido mayoritario, el tartárico.

7. La AAT de la pulpa fue similar en ambas variedades de uva, pero mucho más baja que la encontrada en la piel, que a su vez era superior en la variedad 'Autum Royal'. En ambas variedades y tanto en la piel como en la pulpa la AAT disminuía durante la conservación en condiciones control, lo que indicaría una pérdida importante de las propiedades funcionales de estos frutos. Sin embargo, en las uvas tratadas con el recubrimiento de *Aloe vera*, así como en las conservadas en MAP y en las que además se les había añadido alguno de los aceites esenciales la AAT era superior a la de sus respectivos controles, e incluso incrementaba durante la conservación en las tratadas con eugenol.

8. El contenido de fenoles totales disminuía en la piel de ambas variedades durante la conservación, mientras que en la pulpa se produjo un aumento en 'Autumn Royal' y una disminución en 'Crimson'. La aplicación de *Aloe vera* así como el uso combinado de MAP y los aceites esenciales conllevó a una menor pérdida de fenoles totales en la piel de ambas variedades de uva y

en la pulpa de 'Crimson', mientras que en la pulpa de 'Autumn Royal' indujeron una acumulación.

9. La concentración de ácido ascórbico también disminuyó durante la conservación de ambas variedades en los frutos control, mientras que en los tratados con *Aloe vera* se mantenía y en los conservados en MAP con los diferentes aceites esenciales el descenso fue retrasado significativamente.

10. La AAT de la piel en la uva 'Crimson' estaba correlacionada positivamente con el contenido de fenoles y negativamente con el contenido de antocianos, mientras que en la piel de la variedad 'Autumn Royal' la AAT se correlacionaba positivamente con ambas variables. Sin embargo, en la pulpa la AAT de ambas variedades estaba correlacionada positivamente con el contenido de fenoles y con el de ácido ascórbico.

11. La adición de los aceites esenciales a los envases de MAP disminuyó significativamente los porcentajes de podredumbres y los recuentos microbianos en las uvas, especialmente los referentes a mohos y levaduras, siendo el eugenol el más efectivo, seguido de timol y mentol, comprobándose además, que esta inhibición era dosis dependiente. Asimismo, estos compuestos inhibieron el desarrollo de *Botrytis cinerea* sembrado sobre PDA o inoculado directamente sobre las bayas. Además, tanto en los envases de MAP como en los experimentos *in vitro*, se comprobó que el desarrollo de este hongo se correlacionaba con la acumulación de etileno. Resultados similares se obtuvieron en las uvas tratadas con *Aloe vera*.

12. Los procesos de deshidratación y pardeamiento del raspón ocurrían relativamente rápido durante la conservación en las uvas control de ambas variedades, pero fueron sensiblemente retrasados por los tratamientos con *Aloe vera* y con la combinación de MAP y aceites esenciales. Asimismo, la valoración global del aspecto de los racimos fue superior en las uvas sometidas a ambos tratamientos que en las controles.

13. El análisis sensorial reveló que en las uvas tratadas con *Aloe vera* todas las propiedades organolépticas evaluadas recibieron mejor puntuación que



en las uvas control y se correspondían con los resultados obtenidos en las determinaciones analíticas. Además, no se detectó la presencia de sabores ni olores extraños atribuidos al tratamiento. En la uva 'Crimson' conservada en MAP con los aceites esenciales se detectó un fuerte olor a estos compuestos al abrir las bolsas, que desaparecía con el tiempo, aunque su sabor característico perduraba. Por ello, en la uva 'Autumn Royal' se emplearon dosis más bajas y el análisis sensorial reveló mejor puntuación para los parámetros organolépticos en las uvas tratadas y muy poca persistencia del aroma y sabor característico de estos compuestos, especialmente en las tratadas con eugenol.

14. El análisis conjunto de todos los parámetros de calidad evaluados permite concluir que la uva 'Crimson', en las condiciones de conservación empleadas, tenía una vida útil de 7 días de conservación a 1 °C más 4 días a 20 °C, mientras que el tratamiento con *Aloe vera* alargó su vida útil hasta los 21 días a 1 °C más 4 días a 20 °C. La conservación en MAP también incrementó la vida útil de estas variedades de uva de mesa, que en estas condiciones fue de 14 días a 1 °C más 4 días a 20 °C en la 'Crimson' y de 21 días a 1 °C más 2 días a 20 °C en la 'Autumn Royal'. Además, la adición de los aceites esenciales supuso un incremento adicional de la vida útil en ambas variedades, hasta los 21 días de conservación a 1 °C más 4 días a 20 °C en la 'Crimson' y hasta los 56 días a 1 °C y 2 días a 20 °C en la 'Autum Royal'.

15. En la presente Tesis Doctoral se ha puesto de manifiesto que dos tecnologías muy diferentes, como son el uso de *Aloe vera* en forma recubrimiento comestible o la combinación de MAP con aceites esenciales, pueden considerarse como unas buenas estrategias no contaminantes de conservación post-recolección en la uva de mesa. Con ambos tratamientos se producía un mantenimiento de los parámetros relacionados con la calidad (organoléptica, nutritiva y funcional) y con la seguridad, pudiendo servir como alternativas al uso de fungicidas sintéticos.



Abbott, J.A. (1999). Quality measurement of fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology* 15: 207-225.

Al-Bachir, M. (1999). Effect of gamma irradiation on storability of two cultivars of Syrian grapes (*Vitis vinifera*). *Radiation Physics and Chemistry* 55: 81-85.

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 Research* 13: 401-407.

Alonso, F., Hueso, J.J., Cuevas, J. (2002). Variedades apirenas de uva de mesa. Editorial Instituto CajaMar. Almería.

Alonso, J., Alique, R. (2004). Influence of edible coating on shelf life and quality of "Picota" sweet cherries. *European Food Research Technology* 218: 535-539.

Amaral, J.A., Ekins, A., Richards, S.R., Knowles, R. (1998). Effect of selected monoterpenes on methane oxidation, denitrification, and aerobic metabolism by bacteria in pure culture. *Applied Environmental Microbiology* 64: 520-525.

Amarante, C., Banks, N.H., Ganesh, S. (2001). Characterising ripening behaviour of coated pears in relation to fruit internal quality. *Postharvest Biology and Technology* 23: 51-59.

Ames, B.M., Shigena, M.K., Hagen, T.M. 1993. Oxidants, antioxidants and the degenerative disease of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 90: 7915-7922.

Anuario de Agricultura (2003). *Faostat-Agriculture*, F.A.O.

AOAC (Association of Official Analytical Chemistry). (1990). Official Methods of Analysis. 15th ed. Washington DC.

Appendini, P, Hotchkiss, J.A. (2002). Review of antimicrobial food packaging. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 3: 113-126.

Arin, S., Akdemir, S. (2004). Quality properties changing of grape during storage period. *Journal of Biological Sciences* 4: 253-257.

Arora, D.S., Kaur, J. (1999). Antimicrobial activity of spices. *International Journal of Antimicrobial Agents* 12: 257-262.

Artés-Hernández, F., Artés, F., Tomás-Barberán, F.A. (2003). Quality and enhancement of bioactive phenolics in cv. Napoleon table grapes exposed to different postharvest gaseous treatments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 5290-5295.

Artés-Hernández, F., Aguayo, E., Artés, F. (2004). Alternative atmosphere treatments for keeping quality of 'Autumn Seedless' table grapes during long-term cold storage. *Postharvest Biology and Technology* 31: 59-67.

Ascherio, A., Stamper, M.J., Colditz, G.A., Willett, W.C., McKinlay, J. (1991). Nutrient intakes and blood pressure in normotensive males. *International Journal of Epidemiology* 20: 886-891.

Ascherio, A., Rimm, E.B., Hernan, M.A., Giovannucci, E., Kawachi, I., Stampfer, M.J., Willett, W.C. (1999). Relation of consumption of vitamin E, vitamin C, and carotenoids to risk for stroke among men in the United States. *Annals of Internal Medicine* 130: 963-970.

Auger, C., Al-Awwadi, N., Bornet, A., Rouanet, J.M., Gasc, F., Cros, G., Teissedre, P.L. (2004). Catechins and procyanidins in Mediterranean diets. *Food Research International* 37: 233-245.

Aureli, P., Constantini, A., Zolea, S. (1992). Antimicrobial activity of some plant essential oils against *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection* 55: 344-348.

Ayed, N., Yu, H., Lacroix, M. (1999). Improvement of anthocyanin yield and shelf-life extension of grape pomace by gamma irradiation. *Food Research International* 32: 539-543.

Ayranci, E., Tunc, S. (2003). A method for the measurement of the oxygen permeability and the development of edible films to reduce the rate of oxidative reactions in fresh foods. *Food Chemistry* 80: 423-431.

Ayranci, E., Tunc, S. (2004). The effect of edible coatings on water and vitamin C loss of apricots (*Armeniaca vulgaris* Lam.) and green peppers (*Capsicum annuum* L.). *Food Chemistry* 87: 339-342.



Bagamboula, C.F., Uyttendaele, M., Debevere, J. (2004). Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and *p*-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiology* 21: 33-42.

Bai, J.H., Saftner, R.A., Watada, A.E., Lee, Y.S. (2001). Modified atmosphere maintains quality of fresh-cut Cantaloupe (*Cucumis melo* L.). *Journal of Food Science* 66: 1207-1211.

Baldwin, E.A., Burns, J.K., Kazokas, W., Brecht, J.K., Hagenmaier, R.D., Bender, R.J., Pesis, E. (1999). Effect of two edible coatings with different permeability characteristics on mango (*Mangifera indica* L.) ripening during storage. *Postharvest Biology and Technology* 17: 215-226.

Barbe, J., Revel, G., Joyeux, A., Bertrand, A., Lonvaud-Funel, A. (2001). Role of botrytized grape micro-organisms in SO₂ binding phenomena. *Journal of Applied Microbiology* 90: 34-42.

Barnavon, L., Doco, T., Terrier, N., Ageorges, A., Romieu, C., Pellerin, P. (2000). Analysis of cell wall neutral sugar composition, β -galactosidase activity and a related cDNA clone throughout the development of *Vitis vinifera* grape berries. *Plant Physiology and Biochemistry* 38: 289-300.

Bartolomé, B., Nuñez, V., Monagas, M., Gómez-Cordovés, C. (2004). In vitro antioxidant activity of red grape skins. *European Food Research and Technology* 218: 173-177.

Beaudry, R.M. (1999). Effect of O₂ and CO₂ partial pressure on selected phenomena affecting fruit and vegetable quality. *Postharvest Biology and Technology* 15: 293-303.

Beaudry, R.M. (2000). Responses of horticultural commodities to low oxygen: limits to the expanded use of modified atmosphere packaging. *HortTechnology* 10: 491-500.

Benencia, F., Courrèges, M.C. (2000). *In vitro* and *in vivo* activity of eugenol on human herpesvirus. *Phytotherapy Research* 14: 495-500.

Bennis, S., Chami, F., Chami, N., Bouchikhi, T., Remmal, A. (2004). Surface alteration of *Saccharomyces cerevisiae* induced by thymol and eugenol. *Letters in Applied Microbiology* 38: 454-458.

- Block, G., Patterson, B., Subar, A. (1992). Fruits, vegetables and cancer prevention: A review of epidemiological evidence. *Nutrition and Cancer* 18: 1-29.
- Bonilla, F., Mayen, M., Merida, J., Medina, M. (1999). Extraction of phenolic compounds from red grape marc for use as food lipid antioxidants. *Food Chemistry* 66: 209-215.
- Borris, R.P. (1996). Natural products research: perspectives from a major pharmaceutical company. *Journal of Ethnopharmacology* 51: 29-38.
- Boss, P.K., Davies, C., Robinson, S.P. (1996). Analysis of the expression of anthocyanin pathway genes in developing *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz grape berries and the implications for pathway regulation. *Plant Physiology* 111: 1059-1066.
- Brody, A.L. (1996). Introducción. En: *Envasado de Alimentos en Atmósferas Controladas, Modificadas y a Vacío*. A.L. Brody (Ed). Ed. Acribia, Zaragoza, pp. 1-19.
- Brody, A.L. (2005). Edible packaging. *Food Technology* 59: 65-66.
- Brugarolas, M., Martínez, A., Prieto, N., Martínez-Carrasco, L. (2003). Determinación mediante análisis conjunto de la importancia de los atributos comerciales de la uva de mesa. *Actas de Horticultura. X Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas, Pontevedra. Valorización*, 39: 49-51.
- Brummell, D.A., Harpster, M.H. (2001). Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. *Plant Molecular Biology* 47: 311-340.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *International Journal of Food Microbiology* 94: 223-253.
- C.A.P.A. (2001). Informe del Sector Agrario Valenciano. Ed. Generalitat Valenciana. Valencia.



- Cano, A., Hernández-Ruiz, J., García-Cánovas, F., Acosta, M., Arnao, M.B. (1998). An end-point method for estimation of the total antioxidant activity in plant material. *Phytochemical Analysis* 9: 196-202.
- Cantos, E., Espín, J.C., Tomás-Barberán, F. (2002a). Postharvest stilbene-enrichment of red and white table grape varieties using UV-C irradiation pulses. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 50: 6322-6329.
- Cantos, E., Espín, J.C., Tomás-Barberán, F.A. (2002b). Varietal differences among the polyphenol profiles of seven table grape cultivars studied by LC-DAD-MS-MS. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 50: 5691-5696.
- Cantuti-Castelvetri, I., Shukitt-Hale, B., Joseph, J.A. (2000). Neuro-behavioural aspects of antioxidants in aging. *International Journal of Development Neuroscience* 18: 367-381.
- Cao, Y., Cao, R. (1999). Angiogenesis inhibited by drinks tea. *Nature* 398: 381
- Capecka, E., Mareczek, A., Leja, M. (2005). Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some *Lamiaceae* species. *Food Chemistry* 93: 223-226.
- Capel Molina, J.J. (2000). El clima de la Península Ibérica. Ed. Ariel, Barcelona.
- Carreño, J., Almela, L., Martínez, A., Fernández-López, J.A. (1997). Chemotaxonomical classification of red table grapes based on anthocyanin profile and external colour. *Lebensmittel Wissenschaft und Technology* 30: 259-265.
- Carvajal-Millán E., Carvallo T., Orozco JA, Martínez MA., Tapia I., Guerrero VM., Rascon-Chu A., Llamas J., Gardea AA. (2001) Polyphenol oxidase activity, color changes, and dehydration in table grape rachis during development and storage as affected by n-(2-chloro-4-pyridyl)-n-phenylurea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 946-951
- Cha, D.S., Chinnan, M.S. (2004). Biopolymer-based antimicrobial packaging: A review. *Critical Review in Food Science and Nutrition* 44: 223-237.
- Chamara, D., Illeperuma, K., Galappatty, P.T., Saranda, K.H. (2000). Modified atmosphere packaging of 'Kolikuttu' bananas at low temperature. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 75: 92-96.



- Chen, H.C., Hsieh, W.T., Chang, W.C., Chung, J.G. (2004). Aloe-emodin induced in vitro G2/M arrest of cell cycle in human promyelocytic leukaemia HL-60 cells. *Food and Chemical Toxicology* 42: 1251-1257.
- Cho, M.J., Howard, L.R., Prior, R.L., Clark, J.R. (2004). Flavonoid glycosides, and antioxidant capacity of various blackberry, blueberry and red table genotypes determined by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84: 1771-1782.
- Chu, C.L., Liu, W.T., Zhou, T., Tsao, R. (1999). Control of postharvest grey mold rot of modified atmosphere packaged sweet cherries by fumigation with thymol and acetic acid. *Canadian Journal of Plant Science* 79:685-689.
- Cliff, M.A., Dever, M.C., Reynolds, A.G. (1996). Descriptive profiling of new and commercial British Columbia table grape cultivars. *American Journal Enology and Viticulture* 47: 301-308.
- Clydesdale, F.M. (1993). Color as a factor in food choice. *Critical Review in Food Science and Nutrition* 33:83-101.
- Coma, V., Martial-Gros, A., Garreau, S., Copinet, A., Salin, F., Deschamps, A. (2002). Edible antimicrobial films based on chitosan matrix. *Journal of Food Science* 67: 1162-1169.
- Combina, M., Mercado, L., Borgo, P., Elia, A., Ganga, A., Martínez, C., Catania, C. (2005). Yeasts associated to Malbec grape berries from Mendoza, Argentina. *Journal of Applied Microbiology* 98: 1055-1061.
- Commission Decision of 23 January 2002 amending Commission Decision 1999/217/CE as regards the register of flavouring substances used in foodstuffs. 2002/113/EC: Official Journal L49 20/02/2002, 1-160.
- Connor, A.M., Luby, J.J., Hancock, J.F., Berkheimer, S., Hanson, E.J. (2002). Changes in fruit antioxidant activity among blueberry cultivars during cold-temperature storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 893-898
- Coombe, B.G. (1976). The development of fleshy fruits. *Annual Review of Plant Physiology* 27: 207-228.



Coombe, B.G. (1992). Research on the development and ripening of the grape berry. *American Journal of Enology and Viticulture* 43: 101-110.

Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12: 546-582.

Crisosto, C., Smilanick, J., Dokoozlian, N., Luvisi, D. (1994). Maintaining table grape postharvest quality for long distant markets. In: Proceedings of the International Symposium on Table Grape Production. Anaheim, California, 195-199.

Crisosto, C., Smilanick, J., Dokoozlian, N. (2001). Table grapes suffer water loss, stem browning during cooling delays. *California Agriculture* 55: 39-42.

Crisosto, C., Crisosto, G. (2002). Understanding American and Chinese consumer acceptance of 'Redglobe' table grapes. *Postharvest Biology and Technology* 24: 155-162.

Crisosto, C., Garner, D., Crisosto, G. (2002a). High carbon dioxide atmospheres affect stored 'Thompson Seedless' table grapes. *HortScience* 37: 1074-1078.

Crisosto, C., Palou, L., Garner, D., Armson, D. (2002b). Concentración by time product and gas penetration alter container fumigation of table grapes with reduced doses of sulfur dioxide. *HortTechnology* 12: 241-245.

Crisosto, C., Garner, D., Crisosto, G. (2003a). Developing optimal controlled atmosphere conditions for 'Redglobe' table grapes. *Acta Horticulturae* 600: 803-808.

Crisosto, C., Garner, D., Crisosto, G. (2003b). Developing optimal controlled atmosphere conditions for 'Thompson Seedless' table grapes. *Acta Horticulturae* 600: 817-821.

Crisosto, C.H., Mitcham, E.J., Kader, A.A. (2004). Grape Recommendations for Maintaining Postharvest Quality. Produce Facts. Department of Pomology. University of California. Davis. 95616. <http://rics.ucdavis.edu/postharvest2/Produce/ProduceFacts>. Visitada en Julio de 2004.

Cristescu, S.M., De Martinis, D., Hekkert, S.L., Parker, D.H., Harren, F.J.M. (2002). Ethylene production by *Botrytis cinerea* in vitro and in tomatoes. *Applied Environmental Microbiology* 68: 5342-5350.

Cutter, C.N. (2002). Microbial control by packaging: a review. *Critical Review in Food Science and Nutrition* 42: 151-161.

Daferera, D.J., Ziogas, B.N., Polissiou, M.C. (2003). The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subs. *michiganensis*. *Crop Protection* 22: 39-44.

Dávalos, A., Bartolomé, B., Gómez-Cordovés, C. (2005). Antioxidant properties of commercial grape juices and vinegars. *Food Chemistry* 93: 325-330.

Davies, C., Robinson, S.P. (2000). Differential screening indicates a dramatic change in mRNA profiles during grape berry ripening. Cloning and characterization of cDNAs encoding putative cell wall and stress response proteins. *Plant Physiology* 122: 803-812.

De Pascale, S., Maggio, A., Fogliano, V., Ambrosino, P., Ritieni, A. (2001). Irrigation with saline water improves carotenoids content and antioxidant activity of tomato. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 76: 447-453.

Dehin, R. (2000). El poder curativo del Aloe. Ed. Robin Book, Barcelona.

Delgado, B., Fernández, P.S., Palop, A., Periago, P.M. (2004a). Effect of thymol and cymene on *Bacillus cereus* vegetative cells evaluated through the use of frequency distributions. *Food Microbiology* 21: 327-334.

Delgado, B., Palop, A., Fernández, P.S., Periago, P.M. (2004b). Combined effect of thymol and cymene to control the growth of *Bacillus cereus* vegetative cells. *European Food Research Technology* 218: 188-193.

Delgado, B., Periago, P.M., Conesa, R., Palop, A., Fernández, P.S. (2005). Use of frequency distribution functions to establish safe conditions in relation to the foodborne pathogen *Bacillus cereus*. *Food Technology and Biotechnology* 43: 195-200.



- Del-Valle, V., Hernández-Muñoz, P., Guarda, A., Galotto, M.J. (2005). Development of a cactus-mucilage edible coating (*Opuntia ficus indica*) and its application to extend strawberry (*Fragaria ananassa*) shelf life. *Food Chemistry* 91: 751-756.
- Deng, Y., Wu, Y., Li, Y. (2005). Changes in firmness, cell wall composition and cell wall hydrolases of grapes stored in high oxygen atmospheres. *Food Research International* 38: 769-776.
- Díaz, R.J. (1987). Atlas de las frutas y hortalizas. Ed. Ministerio de Agricultura. Valencia.
- Dixon, R.A., Paiva, N.L. (1995). Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell* 7: 1085-1097.
- Dorman, H.J.D., Peltoketo, A., Hiltunen, R., Tikkanen, M.J. (2003). Characterization of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae-herbs. *Food Chemistry* 83: 255-262.
- Duke, J.A. (1985). Handbook of medicinal herbs. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.
- Durango, A.M., Soares, N.F.F., Andrade, N.J. (2005). Microbiological evaluation of an edible antimicrobial coating on minimally processed carrots. *Food Control*. En prensa.
- Duthie, G.G. (1999). Parsley, polyphenols and nutritional antioxidants. *British Journal of Nutrition* 81: 425-426.
- Eberhardt, M.V., Lee, C.Y., Liu, R.H. (2000). Antioxidant activity of fresh apples. *Nature* 405: 903-904.
- Eckert, J., Ogawa, J. (1985). The chemical control of postharvest diseases: subtropical and tropical fruits. *Annual Review of Phytopathology* 23: 421-454.
- EPA (1986). Interim policy for sulfiting agents on grapes. Environmental Protection Agency of United States. Fed. Reg. 51: 47240-47241.

Eshun, K., He, Q. (2004). Aloe vera: A valuable ingredient for the food, pharmaceutical and cosmetic industries - A review. *Critical Review in Food Science and Nutrition* 44: 91-96.

Espín, J.C., Wichers, H.J. (1999). Kinetic of activation of latent mushroom (*Agaricus bisporus*) tyrosinase by benzyl alcohol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 3503-3508

Fan, S., Blake, J., Blumwald, E. (1994). The relative contribution of elastic and osmotic adjustments to turgor maintenance of woody species. *Physiologia plantarum* 90: 408-413.

FAOSTAT (2003). Anuario de Agricultura. Base de datos de la FAO.

Farelli, P. (2002). Aloe vera: el más poderoso remedio natural. Ed. Edad, Madrid.

Fernández-Lopez, J.A., Almela, L., Muñóz, J.A., Hidalgo, V. (1998). Dependence between colour and individual anthocyanin content in ripening grapes. *Food Research International* 31: 667-672.

Fernández-Trujillo, J.P., Artés, F. (1997). Quality improvement of peaches by intermittent warming and modified-atmosphere packaging. *Food Research and Technology* 205: 59-63.

Ferro, V.A., Bradbury, F., Cameron, P., Shakir, E., Rahman, S.R., Stinson, W.H. (2003). In vitro susceptibilities of *Shigella flexneri* and *Streptococcus pyogenes* to inner gel of *Aloe barbadensis* Miller. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 47: 1137-1139.

Feskanich, D., Ziegler, R.G., Michaud, D.S., Giovannucci, E.L., Speozer, F.E., Willet, W.C., Colditz, G.A. (2000). Prospective study of fruit and vegetable consumption and risk of lung cancer among men and women. *Journal of the National Cancer Institute* 92: 1812-1823.

Figuérédo, G., Cabassu, P., Chalchat, J.C., Pasquier, B. (2005). Studies of Mediterranean composition of essential oils of oregano: *Origanum syriacum* L. var. *behanii* (Holmes) letsvaart, *O. syriacum* L. var. *sinaicum* (Boiss.) letsvaart, and *O. syriacum* L. var. *syriacum* from Lebanon and Israel. *Flavour and Fragrance Journal* 20: 164-168.



Fleet, G. (1999). Microorganisms in food ecosystems. *International Journal of Food Microbiology* 50: 101-117.

Fockens, H.E., Meffert, H.T.Th. (1972). Biophysical properties of horticultural products as related to loss of moisture during cooling down. *Journal of the Science in Food and Agriculture* 23: 285-298.

Forster, B., Staub, T. (1996). Basis for use strategies of anilinopyrimidine and phenylpyrrole fungicides against *Botrytis cinerea*. *Crop Protection* 15: 529-537.

Franck, J., Latorre, B.A., Torres, R., Zoffoli, J.P. (2005). The effect of preharvest fungicide and postharvest sulfur dioxide use on postharvest decay of table grapes caused by *Penicillium expansum*. *Postharvest Biology and Technology* 37: 20-30.

Frankel, E.N., Meyer, A.S. (2000). The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 1925-1941.

Friedman, M., Henika, P.R., Levin, C.E., Mandrell, R.E. (2004). Antibacterial activities of plant essential oils and their components against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* in apple juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 6042-6048.

Fügel, R., Carle, R., Schieber, A. (2004). A novel approach to quality and authenticity control of fruit products using fractionation and characterisation of cell wall polysaccharides. *Food Chemistry* 87: 141-150.

Fuleki, T., Pelayo, E., Palabay, R. (1993). Carboxylic acid composition of authentic varietal and commercial grape guises. *Journal of AOAC International* 76: 591-600.

Fuller, C.J., Jialal, I. (1997). Antioxidants and LDL oxidation. En: Antioxidants and disease prevention. H.S. Garewal (Ed.). CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 115-130.

Galeotti, N., Mannelli, L. di C., Mazzanti, G., Bartolini, A., Ghelardini, C. (2002). Menthol: a natural analgesic compound. *Neuroscience Letters* 322: 145-148.

- García, J.M., Medina, R.J., Olías, J.M. (1998). Quality of strawberries automatically packed in different plastic films. *Journal of Food Science* 63: 1037-1041.
- García, M. (1998). Dioscórides: De Materia Medica: Plantas y remedios medicinales. Ed. Gredos, Madrid.
- García-Beneytez, E., Revilla, E., Cabello, F. (2002). Anthocyanin pattern of several red grape cultivars and wines made from them. *European Food Research Technology* 215: 32-57.
- García-Viguera, C., Bridle, P., Bakker, J. (1994). The effect of pH on the formation coloured compounds in model solutions containing anthocyanins, catechin and acetaldehyde. *Vitis* 33: 37-40.
- García-Viguera, C., Zafrilla, P., Romero, F., Abellá, P., Artés, F., Tomás-Barberán, F.A. (1999). Color stability of strawberry jam as affected by cultivar and storage temperature. *Journal of Food Science* 64: 243-247.
- Gardner, P.T., White, T.A.C., McPhail, D.B., Duthie, G.G. (2000). The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. *Food Chemistry*, 68: 471-474.
- Gherardi, S., Saccani, G., Trifir, A., Calza, M. (1995). Use of ion chromatography for organic acid determination in fruit juices. *Fruit Processing* 7: 206-212.
- Gil, M.I., Holcroft, D.M., Kader, A.A. (1997). Changes in strawberry anthocyanins and other polyphenols in response to carbon dioxide treatments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 1662-1667.
- Gil, M.I., Tomás-Barberán, F.A., Hess-Pierce, B., Kader, A.A. (2002). Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach and plum cultivars from California. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 4976-4982.
- Gill, A.O., Holley, R.A. (2004). Mechanisms of bactericidal action of cinnamaldehyde against *L. monocytogenes* and of eugenol against *L. monocytogenes* and *Lactobacillus sakei*. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 5750-5755.



Gillman, M.W., Cupples, L.A., Gagnon, D., Posner, B.M., Ellison, R.C., Castelli, W.P., Wolf, P.A. (1995) Protective effect of fruits and vegetables on development of stroke in men. *Journal of American Medical Association* 273: 1113-1117.

Goiffon, J., Mouly, P., Gaydou, E. (1999). Anthocyanic pigment determination in red fruit juices, concentrated juices and syrups using liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta* 382: 39-50.

Gómez-Galindo, F., Herppich, W., Gekas, V., Sjöholm, I. (2004). Factor affecting quality and postharvest properties of vegetables: integration of water relations and metabolism. *Critical Review in Food Science and Nutrition* 44: 139-154.

González-Meler, M.A., Ribas-Carbó, M., Siedow, J.N., Drake, B.G. (1996). Direct inhibition of plant mitochondrial respiration by elevated CO₂. *Plant Physiology* 112: 1349-1355.

Gorinstein, S., Cvkrova, M., Machackova, I., Hauenkit, R., Park, Y.S., Jung, S.T., Yamamoto, K., Martínez-Ayala, A.L., Katrich, E., Trakhtenberg. (2004). Bioactive compounds and antioxidant potential in fresh and dried Jaffa^(R) sweeties, a new kind of citrus fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84: 1459-1483.

Guendez, R., Kallithraka, S., Makris, D.P., Kefalas, P. (2005). Determination of low molecular weight polyphenolic constituents in grape (*Vitis vinifera* sp.) seed extracts: Correlation with antiradical activity. *Food Chemistry* 89: 1-9.

Guenther, E. (1948). *The essential Oils*. Ed. Van Norstrand, New York.

Gülçin, İ., Şat, G., Beydemir, Ş., Elmastaş, M., Küfrevioğlu, Ö.I. (2004). Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.). *Food Chemistry* 87: 393-400.

Halliwell, B. (1996). Antioxidants in human health and disease. *Annual Review of Nutrition* 16: 33-50.

Han, C., Zhao, Y., Leonard, S.W., Traber, M.G. (2004). Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen

strawberries (*Fragaria ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*). *Postharvest Biology and Technology* 33: 67-78.

Han, C., Lederer, C., McDaniel, M., Zhao, Y. (2005). Sensory evaluation of fresh strawberries (*Fragaria ananassa*) coated with chitosan-based edible coatings. *Journal of Food Science* 70: S172-S178.

Hardie, W.J., O'Brien, T.P., Jaudzems, V.G. (1996). Morphology, anatomy and development of the pericarp after anthesis in grape *Vitis vinifera* L. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 2: 97-142.

Harker, F.R., Redgwell, R.J., Hallett, J.C., Murray, S.H. (1997). Texture of fresh fruits. *Horticultural Review* 20: 121-224.

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.

Hertog, M.G.L., Feskens, E.J.M., Hollman, P.C.H., Katan, M.B., Kromhout, D. (1993). Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *The Lancet* 342: 1007-1011.

Hidalgo, L. (2002). *Tratado de Viticultura General*. Ed. Mundi-Prensa, Madrid.

Hiratsuka, S., Onodera, H., Kawai, Y., Kubo, T., Itoh, H., Wada, R. (2001). ABA and sugar effects on anthocyanin formation in grape berry cultured in vitro. *Scientia Horticulturae* 90: 121-130.

Holley, R.A. y Patel, D. (2005). Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. Review. *Food Microbiology* 22: 273-292.

Hu, Q., Hu, Y., Xu, J. (2003). Evaluation of antioxidant potential of *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 7788-7791.

Hu, Q., Hu, Y., Xu, J. (2005). Free radical-scavenging activity of *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) extracts by supercritical carbon dioxide extraction. *Food Chemistry* 91: 85-90.



Huang, X.M., Huang, H.B., Wang, H.C. (2005). Cell walls of loosening skin in post-veraison grape berries lose structural polysaccharides and calcium while accumulate structural proteins. *Scientia Horticulturae* 104: 249-263.

IFST. Microbiological Criteria for Food. Institute of Food Science and Technology: London, 1999.

İşcan, G., Kirimer, N., Kürkcüoğlu, M., Başer, K.H.C., Demirci, F. (2002). Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 3943-3946.

Ishimaru, M., Kobayashi, S. (2002). Expression of a xyloglucan endo-transglycosylase gene is closely related to grape berry softening. *Plant Science* 162: 621-628.

Jackman, R.L., Stanley, D.W. (1995). Perspectives in the textural evaluation of plant foods. *Trends in Food Science and Technology* 6: 187-194.

James, J., Lamikanra, O., Morris, J.R., Main, G., Walker, T., Siva, J. (1999). Interstate shipment and storage of fresh muscadine grapes. *Journal of Food Quality* 22: 605-617.

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. *Industrial Crop Production* 21: 81-87.

Jayaprakasah, G.K., Singh, R.P., Sacaríá, K.K. (2001). Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food Chemistry* 73: 285-290.

Jayashree, T., Subramanyam, C. (1999). Antiaflatoxigenic activity of eugenol is due to inhibition of lipid peroxidation. *Letters in Applied Microbiology* 28: 179-183.

Jia, Z.S., Zhou, B., Yang, L., Wu, L.M., Liu, Z.L. (1998). Antioxidant synergism of tea polyphenols and α -tocopherol against free radical induced peroxidation of linoleic acid in solution. *Journal of the Chemical Society - Perkin Transactions 2*: 911-915.

- Jiang, Y., Li, J., Jiang, W. (2005). Effects of chitosan coating on shelf life of cold-stored litchi fruit at ambient temperature. *Lebensmittel Wissenschaft und Technology* 38: 757-761.
- Jirovetz, L., Buchbauer, G., Shafi, M.P., Kaniampady, M.M. (2003). Chemotaxonomical analysis of the essential oil aroma compounds of four different *Ocimum* species from southern India. *European Food Research Technology* 217: 120-124.
- Joshipura, 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. *Journal of American Medical Association* 282: 1233-1239.
- Kader, A. (1982). Proper units for firmness and abscission force data. *HortScience* 17: 707.
- Kader, A.A., Zagory, D., Kerbel, E.L. (1989). Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. *Critical Review in Food Science and Nutrition* 28: 1-30.
- Kader, A. (1992). Methods of gas mixing, sampling and analysis. En: A.A. Kader (Eds.) Publ. 3311. Postharvest technology of horticultural crops. University of California, Berkley, California: 93-95.
- Kader, A.A. (2003). A perspective on postharvest horticulture (1978-2003). *HortScience* 38: 1004-1008.
- Kallithraka, S., Mohdaly, A.A.A., Makris, D.P., Kefalas, P. (2005). Determination of major anthocyanin pigments in Hellenic native grape varieties (*Vitis vinifera* sp.): association with antiradical activity. *Journal of Food Composition and Analysis* 18: 375-386.
- Kalt, W., Forney, C.F., Martin, A., Prior, R.L. (1999). Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 4638-4644.
- Kalt, W., Howell, A., Duy, J.C., Forney, C.F., McDonald, J.E., (2001). Horticultural factors affecting capacity of blueberries and other small fruit. *HortTechnology* 11: 523-528.



- Kalt, W. (2005). Effects of production and processing factors on major fruit and vegetables antioxidants. *Journal of Food Science* 47: 4639-4644.
- Kanellis, A.K., Roubelakis-Angelakis, K.A. (1993). Grape. En: *Biochemistry of Fruit Ripening*. G.B. Seymour, J.E. Taylor, G.A. Tucker (Eds.). Chapman and Hall, London. 189-234.
- Kant, A.K., Schatzkin, A., Graubard, B.I., Schairer, C. (2000). A prospective study of diet quality and mortality in women. *Journal of American Medical Association* 283: 2109-2115.
- Karabulut, O., Gabler, F., Mansour, M., Smilanick, J. (2004). Postharvest ethanol and hot water treatments of table grapes to control gray mold. *Postharvest Biology and Technology* 34: 169-177.
- Karakaya, S. (2004). Bioavailability of phenolic compounds. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 44: 453-464.
- Kays, S.J. (1999). Preharvest factors affecting appearance. *Postharvest Biology and Technology* 15: 233-247.
- Keli, S.O., Hertog, M.G., Feskens, E.J., Kromhout, D. (1996). Dietary flavonoids, antioxidant vitamins, and incidence of stroke: the Zutphen study. *Archives of International Medicine* 156: 637-642.
- Ketsa, S., Chidtragool, S., Klein, J.A., Lurie, S. (1999). Firmness, pectin components and cell wall hydrolases of mango fruit following low-temperature stress. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 74: 685-689.
- Key, T.J.A, Thorogood, M., Appleby, P.N., Burr, M.L. (1996). Dietary habits and mortality in 11000 vegetarians and health conscious people: Results of a 17 year follow up. *British Medical Journal* 313: 775-779.
- Kidd, F., West, C. (1930). The gas storage of fruit. II. Optimum temperatures and atmospheres. *Journal of Pomology and Horticultural Science* 8: 67-77.
- Kim, D.O., Jeong, S.W., Lee, C.Y. (2003). Antioxidant capacity from various cultivars of plums. *Food Chemistry* 81: 321-326.

- Kim, H.M., Lee, E.H., Hong, S.H., Song, H.J., Shim, M.K., Kim, S.H., Shin, T.Y. (1998). Effect of *Syzygium aromaticum* extract on immediate hypersensitivity in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 60: 125-131.
- Kim, J.M., Marshall, M.R., Cornell, J.A., Preston, L.F., Wei, C.I. (1995). Antimicrobial activity of some essential oil components against five food borne pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43: 2839-2845.
- Knekt, P., Jarvinen, R., Seppanen, R., Hellevoara, M., Teppo, L., Pukkala, E., Aroma, A. (1997). Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms. *American Journal of Epidemiology* 146: 223-230.
- Kotamballi, N., Murthy, C., Singh, R.P., Jayaprakash, G.K. (2002). Antioxidant activity of grape (*Vitis vinifera*) pomace extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 5909-5914.
- Kulusic, T., Radonic, A., Katalinic, V., Milos, M. (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry* 85: 633-640.
- Lambert, R.J.W., Skandamis, P.N., Coote, P.J., Nychas, G.J.E. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology* 91: 453-462.
- Lancaster, J.E., Lister, C.E., Reay, P.F., Triggs, C.M. (1997). Influence of pigment composition on skin color in a wide range of fruits and vegetables. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 122: 594-598.
- Lange, D.L. (2000). New film technologies for horticultural products. *HortTechnology* 10: 487-490.
- Langmead, L., Makins, R.J., Rampton, D.S. (2004). Anti-inflammatory effects of Aloe vera gel in human colorectal mucosa in vitro. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 19: 521-527.
- Laszlo, J.C., Saayman, D. (1985). In search of the optimum harvesting stage for table grapes. *Deciduous Fruit Grower* 35: 320-326.



- Latorre, B., Spadaro, I., Rioja, M. (2002). Occurrence of resistant strains of *Botrytis cinerea* to anilinopyrimidine fungicides in table grapes in Chile. *Crop Protection* 21: 957-961.
- Lee, J.Y., Park, H.J., Lee, C.Y., Choi, W.Y. (2003). Extending shelf-life of minimally processed apples with edible coatings and antibrowning agents. *Lebensmittel Wissenschaft und Technology* 36: 323-329.
- Lee, K.G., Shibamoto, T. (2001). Antioxidant property of aroma extract isolated from clove buds [*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry]. *Food Chemistry* 74: 443-448.
- Lee, S.J., Umamo, K., Shibamoto, T., Lee, K.G. (2005). Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry* 91: 131-137.
- Lelièvre, J. M., Latché, A., Jones, B., Bouzayen, M., Pech, J.C. (1997). Ethylene and fruit ripening. *Physiologia Plantarum* 101: 727-739.
- Leong, L.P., Shui, G. (2002). An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chemistry* 76: 69-75.
- Leppala, J.M., Virtamo, J., Fogelholm, R., Huttunen, J.K., Albanese, D., Taylor, P.R., Heinonen, O.P. (2000). Controlled trial of alpha-tocopherol and beta-carotene supplements on stroke incidence and mortality in male smokers. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 20: 230-235.
- Lichter, A., Zutkhy, Y., Sonogo, L., Dvir, O., Kaplunov, T., Sarig, P., Ben-Arie, R. (2002). Ethanol controls postharvest decay of table grapes. *Postharvest Biology and Technology* 24: 301-308.
- Linneo, C. (1957). A facsimile of the first edition 1753. *Species Plantarum*. Ed. Ray Society, London.
- Liu, S., Manson, J.E., Lee, I.M., Cole, S.R., Hennekens, C.H., Willet, W.C., Burining, J.E. (2000). Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease in the women's health study. *American Journal of Clinical Nutrition* 72: 922-928.
- Lluesma, E. (1999). Paracelso: Botánica Oculta. Ed. Edicomunicación, Barcelona.

- Lo Scalzo, R., Forni, E., Lupi, D., Giudetti, G., Testoni, A. (2005). Changes in pectic composition of 'Annurca' apple fruit after storage. *Food Chemistry* 93: 521-530.
- Longo, E., Cansado, J., Agrelo, D., Villa, T. (1991). Effect of climatic conditions on yeast diversity in grape justrs from Northwest Spain. *American Journal of Enology and Viticulture* 42: 141-144.
- López-Malo, A., Alzamora, S., Palou, E. (2002). *Aspergillus flavus* dose-response curves to selected natural and synthetic antimicrobials. *International Journal of Food Microbiology* 73: 213-218.
- Ložienė, K., Vaičiūnienė, J., Venskutonis, P.R. (2003). Chemical composition of the essential oil of different varieties of thyme (*Thymus pulegioides*) growing wild in Lithuania. *Biochemical Systematics and Ecology* 31: 24-259.
- Lydakis, D., Aked, J. (2003a). Vapour heat treatment of Sultanina table grapes. I: control of *Botrytis cinerea*. *Postharvest Biology and Technology* 27: 109-116.
- Lydakis, D., Aked, J. (2003b). Vapour heat treatment of Sultanina table grapes. II: Effects on postharvest quality. *Postharvest Biology and Technology* 27: 117-126.
- Machiex, J.J., Fleuriet, A., Billot, J. (1990). Changes in phenolic compounds during growth and maturation. En: Fruits phenolics. CRC Press, Boca Ratón, Florida, USA, pp. 149-168.
- Maftoonazad, N., Ramaswamy, H.S. (2005). Postharvest shelf-life extension of avocados using methyl cellulose-based coatings. *Lebensmittel Wissenschaft und Technology* 38: 617-624.
- Mali, S., Grossmann, M.V.E. (2003). Effects of yam starch on storability and quality of fresh strawberries (*Fragaria ananassa*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 21: 7005-7011.
- Manrique, G.D., Lajolo, F.M. (2004). Cell-wall polysaccharide modifications during post-harvest ripening of papaya fruit (*Carica papaya*). *Postharvest Biology and Technology* 33: 11-26.



Mansfield, J.W. (1980). Mechanism of resistance to *Botrytis*. En: The Biology of *Botrytis*. J.R. Coley-Smith, K. Verhoeff, W.R. Jarvis (Eds.). Academic Press, New York, pp. 181-218.

MAPA. (2002). Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Anuario de Estadística Agraria, Capítulo 14 y 16.

Marín, A., Oliva, J., García, C., Navarro, S., Barba, A. (2003). Dissipation rates of cyprodinil and fludioxonil in lettuce and table grape in the field and under cold storage conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 4708-4711.

Martínez-Romero, D. (2000). Estudios de tratamientos para la mejora postrecolección de frutos. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.

Martínez-Romero, D., Guillén, F., Castillo, S., Valero, D., Serrano, M. (2003a). Modified atmosphere packaging maintains quality of table grapes. *Journal of Food Science* 68: 1838-1843.

Martínez-Romero, D., Serrano, M., Valero, D., Castillo, S. (2003b). Aplicación de Aloe vera como recubrimiento sobre frutas y hortalizas. 2003, Patente Española Reg. N° 200302937.

Martini, H., Weidenbörner, M., Adams, S. Kunz, B. (1996). Eugenol and carvacrol: the main fungicidal compounds in clove. *Italian Journal of Food Science* 1: 63-67.

Mason, T.L., Wasserman, B.P. (1987). Inactivation of red beet betaglucan syntase by native and oxidized phenolic compounds. *Phytochemistry* 26: 2197-2202.

Mathooko, F. M. (1996). Regulation of ethylene biosynthesis in higher plants by carbon dioxide. *Postharvest Biology and Technology* 7: 1-26.

Mazza, G. (1995). Anthocyanins in grapes and grape products. *Critical Review in Food Science and Nutrition* 35: 341-371.

Mei, Y., Zhao, Y., Yang, J., Furr, H.C. (2002). Using edible coating to enhance nutritional and sensory qualities of baby carrots. *Journal of Food Science* 67: 1964-1968.



- Mendoza, L., Wilkens, M., Urzua, A. (1997). Antimicrobial study of the resinous exudates and of diterpenoids and flavonoids isolated from some Chilean *Pseudognaphalium* (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology* 58: 85-88.
- Miguel, G., Simões, M., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Pedro, L.G., Carvalho, L. (2004). Composition and antioxidant activities of the essential oils of *Thymus caespititus*, *Thymus camphoratus*, and *Thymus mastichina*. *Food Chemistry* 86: 183-188.
- Milos, M., Mastelic, J., Jerkovic, I. (2000). Chemical composition and antioxidant effect of glycosidically bound volatile compounds from oregano (*Origanum vulgare* L. spp. hirtum). *Food Chemistry* 71: 79-83.
- Moerman, D.E. (1996). An analysis of the food plants and drug plants of native North America. *Journal of Ethnopharmacology* 52: 1-22.
- Moldão-Martins, M., Bernardo-Gil, M.G., Beirão da Costa, M.L. (2002). Sensory and chemical evaluation of *Thymus zygis* L. essential oil and compressed CO₂ extracts. *European Food Research Technology* 214: 207-211.
- Moldão-Martins, M., Beirão da Costa, S.M., Beirão da Costa, M.L. (2003). The effects of edible coatings on postharvest quality of the "Bravo de Esmolfe" apple. *European Food Research Technology* 217: 325-328.
- Montero, C., Cristescu, S., Jimenez, J., Orea, J., Lintel Hekkert, S., Harren, F., González-Ureña, A. (2003). Trans-Resveratrol and grape disease resistance. A dynamical study by high-resolution laser-based techniques. *Plant Physiology* 131: 129-138.
- Morais, H., Ramos, C., Forgács, E., Cserhádi, T., Oliveira, J. (2002). Influence of storage conditions on the stability of monomeric anthocyanins studied by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B* 770: 297-301.
- Moreira, M.R., Ponce, A.G., del Valle, C.E., Roura, S.I. (2005). Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *Lebensmittel Wissenschaft und Technology* 38: 565-570.

Morillon, V., Debeaufort, F., Blond, G., Capelle, M., Voilley, A. (2002). Factors affecting the moisture permeability of lipid-based edible films: A review. *Critical Review in Food Science and Nutrition* 42: 67-89.

Moyer, R.A., Hummer, K.E., Finn, C.E., Frei, B., Wrolstad, R.E. (2002). Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: vaccinium, rubus, and ribes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 519-525.

Moyls, A., Sholberg, P., Gaunce, A. (1996). Modified-atmosphere packaging of grapes and strawberries fumigated with acetic acid. *HortScience* 31: 414-416.

Nelson, K. (1985). Harvesting and handling California table grapes for market. Bull. 1913, Univ. Calif., DANR Publications, Oakland, CA, p 21.

Nelson, K. (1991). The grape. En: Quality and preservation of fruits. N.M.M. Eskin (Ed.), CRC Press, Boston, USA, pp. 125-165.

Ness, A.R., Powles, J.W. (1997). Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: A review. *International Journal of Epidemiology* 26: 1-13.

Ni, Y., Turner, D., Yates, K.M., Tizard, I. (2004). Isolation and characterization of structural components of *Aloe vera* L. leaf pulp. *International Immunopharmacology* 4:1745-1755.

Nigro, F., Ippolito, A., Lima, G. (1998). Use of UV-C light to reduce *Botrytis* storage rot of table grapes. *Postharvest Biology and Technology* 13: 171-181.

Nunan, K.J., Sims, I.M., Bacic, A., Robinson, S.P., Fincher, G.B. (1997). Isolation and characterization of cell walls from the mesocarp in mature grape berries (*Vitis vinifera*). *Planta* 203: 93-100.

Nunan, K.J., Sims, I.M., Bacic, A., Robinson, S.P., Fincher, G.B. (1998). Changes in cell wall composition during ripening of grape berries. *Plant Physiology* 118: 783-792.

Nychas, G.J.E. (1995). Natural antimicrobial from plants. En: New Methods of Food Preservation. C.W. Gould (Ed). Blackie: Academic Professional, London.



Organización Internacional de la Viña y el Vino (2002). Situación y Estadísticas del sector vinícola mundial en 2002.

Outtara, B., Simard, R.E., Holley, R.A., Piette, G. Begin, A. (1997). Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology* 37: 155-162.

Ozdemir, M., Floros, J.D. (2004). Active food packaging technologies. *Critical Review in Food Science and Nutrition* 44: 185-193.

Özden, Ç., Bayindirli, L. (2002). Effects of combinational use of controlled atmosphere, cold storage and edible coating application on shelf life and quality attributes of green peppers. *European Food Research Technology* 214: 320-326.

Palou, L., Crisosto, C., Smilanick, J., Adaskaveg, J., Zoffoli, J. (2002). Effects of continuous 0.3 ppm ozone exposure on decay development and physiological responses of peaches and table grapes in cold storage. *Postharvest Biology and Technology* 24: 39-48.

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 Biology and Technology* 27: 243-254.

Park, H.J. (1999). Development of advanced edible coatings for fruits. *Trends in Food Science and Technology* 10: 252-260.

Pazos, M., Gallardo, J.M., Torres, J.L., Medina, I. (2005). Activity of grape polyphenols as inhibitors of the oxidation of fish lipids and frozen fish muscle. *Food Chemistry* 92: 547-557.

Pérez, F. (1992). La uva de mesa. Ed. Mundi-Prensa. Madrid.

Pérez-Gago, M.B., Rojas, C., del Río, M.A. (2002). Effect of lipid type and amount of edible hydroxypropyl methylcellulose-lipid composite coatings used to protect postharvest quality of Mandarins cv. Fortune. *Journal of Food Science* 67: 2903-2910.



Pérez-Gago, M.B., Serra, M., Alonso, M., Mateos, M., del Río, M.A. (2005). Effect of whey protein-and hydroxypropyl methylcellulose-based edible composite coatings on color change of fresh-cut apples. *Postharvest Biology and Technology* 36: 77-85.

Periago, P.M., Delgado, B., Fernández, P.S., Palop, A. (2004). Use of carvacrol and cymene to control growth and viability of *Listeria monocytogenes* cells and predictions of survivors using frequency distribution functions. *Journal of Food Protection* 67: 1408-1416.

Petersen, K., Nielsen, P.V., Lawther, M., Olsen, M.B., Nilsson, N.H., Mortensen, G. (1999). Potential of biobased materials for food packaging. *Trends in Food Science and Technology* 10: 52-68.

Ponce, A.G., del Valle, C.E., Roura, S.I. (2004). Natural essential oils as reducing agents of peroxidase activity in leafy vegetables. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie* 37: 199-204.

Pranoto, Y., Salokhe, V.M., Rakshit, S.K. (2005a). Physical and antibacterial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. *Food Research International* 38: 267-272.

Pranoto, Y., Rakshit, S.K., Salokhe, V.M. (2005b). Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie* 38: 859-865.

Pretel M.T., Serrano M., Martínez G., Riquelme F., Romojaro F. (1993). Influence of films of different permeability on ethylene synthesis and ripening of MA-Packaged apricot. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie* 26: 8-13.

Pretel, M.T., Serrano, M., Martínez, C., Lozano, P., Romojaro, F., Riquelme, F., Segura, P., Luna, P. (1996). Nuevas tecnologías para la conservación de frutas y hortalizas: atmósferas modificadas. Ed. Mundi-Prensa. Madrid.

Pretel M.T., Serrano M., Amorós A., Romojaro F. (1999). Ripening and ethylene biosynthesis in controlled atmosphere stored apricots. *European Food Research Technology* 209: 130-134.

- Pretel, M.T., Botella, M.A., Zapata, P.J., Amorós, A., Serrano M. (2004). Antioxidative activity and general fruit characteristics in different traditional orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) varieties. *European Food Research and Technology* 219: 474-478.
- Prince, T.A. (1996). Envasado de Productos Hortofrutícolas en Atmósferas Modificadas. En: *Envasado de Alimentos en Atmósferas Controladas, Modificadas y a Vacío*. A.L. Brody (Ed). Ed. Acribia, Zaragoza, pp.79-117.
- Proteggente, A.R., Pannala, A.S., Paganga, G., Van Buren, L., Wagner, E., Wiseman, S., Van de Put, F., Dacombe, C., Rice-Evans, C.A. (2002). The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. *Free Radical Research* 36: 217-233.
- Raina, V.K., Srivastava, S.K., Aggarwal, K.K., Symasundar, K.V., Kumar, S. (2001). Essential oil of *Syzygium aromaticum* leaf from Little Andaman, India. *Flavour and Fragrance Journal* 16: 334-336.
- Rana, B.K., Singh, U.P., Taneja, V. (1997). Antifungal activity and kinetics of inhibition by essential oil isolated from leaves of *Aegle marmelos*. *Journal of Ethnopharmacology* 57: 29-34.
- Rapola, J.M, Virtamo, J., Huttunen, J.K. (1997). Antioxidants and ischaemic heart disease. *The Lancet* 350: 667-668.
- Rasooli, I., Abyaneh, M.R. (2004). Inhibitory effects of Thyme oils on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *Food Control* 15: 479-483.
- Retamales J., Defilippi B., Campos R. (2000). Alleviation of cold storage disorders in nectarines by modified atmosphere packaging. *Fruits* 55: 213-219.
- Reynolds, T., Dweck, A.C. (1999). *Aloe vera* leaf gel: a review update. *Journal of Ethnopharmacology* 68: 3-37.
- Rhoades, J., Roller, S. (2000). Antimicrobial actions of degraded and native chitosan against spoilage organisms in laboratory media and foods. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 80-86.

- Robertson, G.L. (1993). Food packaging: principles and practises. Ed. Marcel Dekker, New York.
- Roginsky, V., Lissi, E.A. (2005). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry* 92: 235-254.
- Romanazzi, G., Nigro, F., Ippolito, A., Salerno, M. (2001). Effect of short hypobaric treatments on postharvest rots of sweet cherries, strawberries and table grapes. *Postharvest Biology and Technology* 22: 1-6.
- Romanazzi, G., Nigro, F., Ippolito, A. Di Venere, D., Salerno, M. (2002). Effects of pre- and postharvest chitosan treatments to control storage grey mold of table grapes. *Journal of Food Science* 57: 1862-1867.
- Romero, E.G., Muñoz, G.S. (1993). Determination of organic acids in grape musts, wines and vinegars by high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 665: 111-117.
- Rooney, M.L. (1995). Active Food Packaging. Ed. Blackie Academic and Professional, London.
- Ross, J.A., Kasum, C.M. (2002). Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annual Review of Nutrition* 22: 19-34.
- Ruberto, G., Baratta, M.T. (2000). Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chemistry* 69: 167-174.
- Ruíz del Castillo, M.L., Blanch, G.P., Herraiz, M. (2004). Natural variability of the enantiomeric composition of bioactive chiral terpenes in *Mentha piperita*. *Journal of Chromatography A* 1054: 87-93.
- Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., Bruni, R. (2005). Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry* 91: 621-632.
- Sams, C.E. (1999). Preharvest factors affecting postharvest texture. *Postharvest Biology and Technology* 15: 249-254.

Sánchez-Moreno, C. (2002). Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems. *Food Science Technology International* 8: 121-137.

Sanz, C., Pérez, A.G, Olías, R., Olías, J.M. (1999). Quality of strawberries packed with perforated polypropylene. *Journal of Food Science* 64: 748-752.

Schena, L., Ippolito, A., Zahavi, T., Cohen, L., Nigro, F., Droby, S. (1999). Genetic diversity and biocontrol activity of *Aureobasidium pullulans* isolate against postharvest rots. *Postharvest Biology and Technology* 17: 189-199.

Schena, L., Nigro, F., Pentimone, I., Ligorio, A., Ippolito, A. (2003). Control of postharvest rots of sweet cherries and table grapes with endophytic isolates of *Aureobasidium pullulans*. *Postharvest Biology and Technology* 30: 209-220.

Schreiner, M., Huyskens-Keil, S., Krumbein, A., Prono-Widayat, H., Lüdders, P. (2003). Effect of film packaging and surface coating on primary and secondary plant compounds in fruit and vegetable products. *Journal of Food Engineering* 56: 237-240.

Sebti, I., Martial-Gros, A., Carnet-Pantiez, A., Grelier, S., Coma, V. (2005). Chitosan polymer as bioactive coating and film against *Aspergillus niger* contamination. *Journal of Food Science* 70: M100-M104.

Serrano, M., Martínez-Madrid, M. C., Pretel, M. T., Riquelme, F., Romojaro, F. (1997). Modified atmosphere packaging minimizes increases in putrescine and abscisic acid levels caused by chilling injury in pepper fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 1668-1672.

Serrano, M., Martínez-Madrid, M. C., Romojaro, F., Riquelme, F. (1999). CO₂ treatment of zucchini squash reduces chilling-induced physiological changes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 2465-2468.

Serrano, M., Amorós, A., Pretel, M.T., Martínez-Madrid, M.C., Madrid, R., Romojaro, F. (2002). Effect of calcium deficiency on melon (*Cucumis melo* L.) texture and glassiness incidence during ripening. *Food Science Technology International* 8: 147-154.

Serrano, M., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Guillén, F., Valero, D. (2005). The use of antifungal compounds improves the beneficial effect of MAP in



sweet cherry storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 6: 115-123.

Shahidi, F., Janitha, P.K., Wanasundara, P.D. (1992). Phenolic antioxidants. *Critical Review in Food Science & Nutrition* 32: 67-103.

Shahidi, F., Arachchi, J.K.V., Jeon, Y.J. (1999). Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science and Technology* 10: 37-51.

Shelelf, L.A. (1983). Antimicrobial effects of spices. *Journal of Food Safety* 6: 29-44.

Shewfelt, R.L. (1999). What is quality? *Postharvest Biology and Technology* 15: 197-200.

SIAM, (2005). Servicio Información Agraria de Murcia. Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA). Dirección General de Investigación y Transferencia Tecnológica, Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia.

Siddiqui, S., Brackmann, A., Streif, J., Bangerth, F. (1996). Controlled atmosphere storage of apples: Cell wall composition and fruit softening. *Journal of Horticultural Science* 71: 613-620.

Silacci, M.W., Morrison, J.C. (1990). Changes in pectin content of Cabernet Sauvignon grape berries during maturation. *American Journal of Enology and Viticulture* 41: 111-115.

Skandamis, P.N., Nychas, G.J.E. (2001). Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. *Journal of Applied Microbiology* 91: 1011-1022.

Smith, R.L., Cohen, S.M., Doull, J., Feron, V.J., Goodman, J.I., Marnett, L.J., Portuguese, P.S., Waddell, W.J., Wagner, B.M., Halls, R.L., Higley, N.A., Lucas-Gavin, C., Adams, T.B. (2005). A procedure for the safety evaluation of natural flavour complexes used as ingredients in food: essential oils. *Food and Chemical Toxicology* 43: 345-363.

Soliva-Fortuny, R.C., Martín-Belloso, O. (2003). New advances in extending shelf-life of fresh-cut fruits: a review. *Trends in Food Science & Technology* 12: 341-353.

Sonego, L., Lurie, S., Zuthi, Y., Kaplonov, T., Ben-Arie, R., Kosto, I. (2002). Factors affecting taste scores of early season seedless table grape cv. Mystery and Prime. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 544-548.

Soyer, Y., Koca, N., Karadeniz, F. (2003). Organic acid profile of Turkish white grapes and grape juices. *Journal of Food Composition and Analysis* 16: 629-636.

Spadaro, D., Gullino, M. (2004). State of the art future prospects of the biological control of postharvest fruit diseases. *International Journal of Food Microbiology* 91: 185-194.

Spotts, R.A., Cervantes, L.A., Facticeau, T.J. (2002). Integrated control of brown rot of sweet cherry fruit with a preharvest fungicide, a postharvest yeast, modified atmosphere packaging, and cold storage temperature. *Postharvest Biology and Technology* 24: 251-257.

Steinmetz, K.A., Potter, J.D. (1996). Vegetables, fruit, and cancer prevention: A review. *Journal of the American Dietetic Association* 96: 1027-1039.

Stevens, N. (2001). Aloe vera. Ed. Sirio, Málaga.

Suhr, K.I., Nielsen, P.V. (2005). Inhibition of fungal growth on wheat and rye bread by modified atmosphere packaging and active packaging using volatile mustard essential oil. *Journal of Food Science* 70: M37-M44.

Szeto, Y.T., Tomlinson, B., Benzoe, I.F.F. (2002). Total antioxidant and ascorbic acid content of fresh fruits and vegetables: implications for dietary planning and food preservation. *British Journal of Nutrition* 87: 55-59.

Teissedre, P.L., Waterhouse, A.L. (2000). Inhibition of oxidation of human low-density lipoproteins by phenolic substances in different essential oils varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 3801-3805.

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. *Journal of American Dietetic Association* 99: 1241-1248.

Thompson, J.F., Mitchell, F.G., Rumsey, T.R., Kasmire, R.F., Crisosto, C.H. 1998. Commercial cooling of fruits, vegetables, and flowers. Oakland, California: University of California. Division of Agriculture and Natural Resources.

Threlfall, R.T., Morris, J.R., Howard, L.R., Brownmiller, C.R., Walker, T.L. (2005). Pressing effects on yield, quality, and nutraceutical content of juice, seeds, and skins from Black Beauty and Sunbelt grapes. *Journal of Food Science* 70: S167-S171.

Tian, B., Hua, Y. (2005). Concentration-dependence of prooxidant and antioxidant effects of aloin and aloe-emodin on DNA. *Food Chemistry* 91: 413-418.

Tian, S. P., Fan, Q., Xu, Y., Wang, Y. S., Jiang, A. L. (2001). Evaluation of the use of high CO₂ concentrations and cold storage to control *Monilia fruticola* on sweet cherries. *Postharvest Biology and Technology* 21: 53-60.

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.

Tsimidou, M., Boskou, D. (1994). Antioxidant activity of essential oils from the plants of the Lamiaceae family. En: *Spices, Herbs and Edible Fungi*. G. Charalambous (Ed). Elsevier, Amsterdam, pp. 273-284.

Ultee, A., Kets, E.P.W., Smid, E.J. (1999). Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology* 65: 4606-4610.

Ultee, A., Bennik, M.H.J., Moezelaar, R. (2002). The phenolic hydroxyl group is essential for action against the food-borne pathogen: *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology* 68: 1561-1568.

USDA. Agricultural Research Service, Nutrient Data Laboratory (www.nal.usda.gov).

- Uyttendaele, M., Vanderswalmen, H., Notebaert, E., Debevere, J. (2004). Control of *Aeromonas* on minimally processed vegetables by decontamination with lactic acid, chlorinated water, or thyme essential oil solution. *International Journal of Food Microbiology* 90: 263-271.
- Vági, E., Rapavi, E., Hadolin, M., Perédi, K.V., Balázs, A., Blázovics, A., Simándi, B. (2005). Phenolic and triterpenoid antioxidants from *Origanum majorana* L. herb and extracts obtained with different solvents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 17-21.
- Vallejo, F., Gil-Izquierdo, A., Pérez-Vicente, A., García-Viguera, C. (2004). In vitro gastrointestinal digestion study of broccoli inflorescence phenolic compounds, glucosinolates, and vitamin C. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 135-138.
- Van der Sluis, A.A., Dekker, M., De Jager, A., Jongen, W.M.F. (2001). Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 140-146.
- Vázquez, B.I., Fente, C., Franco, C.M., Vázquez, M.J., Cepeda, A. (2001). Inhibitory effects of eugenol and thymol on *Penicillium citrinum* strains in culture media and cheese. *International Journal of Food Microbiology* 67: 157-163.
- Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L. Oomah, B.D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 4113-4117.
- Vitrac, X., Larronde, F., Krisa, S., Decendir, A., Deffieux, G., Mérillon, J. (1999). Sugar sensing and Ca²⁺-calmodulin requirements in *Vitis vinifera* cells producing anthocyanins. *Phytochemistry* 53: 659-665.
- Wang, H., Cao, G., Prior, R. L. (1996). Total antioxidant capacity of fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44: 701-705.
- Wang, S.Y., Lin, H. (2000). Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 140-146.



Wang, S.Y., Stretch, A.W. (2001). Antioxidant capacity in cranberry is influenced by cultivar and storage temperature. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 969-974.

Watkins, C.B. (2000). Responses of horticultural commodities to high carbon dioxide as related to modified atmosphere packaging. *HortTechnology* 10: 501-506.

Wei, X., Sykes, S.R., Clingeleffer, P.R. (2002). An investigation to estimate genetic parameters in CSIRO's table grape breeding program. 2. Quality characteristics. *Euphytica* 128: 343-351.

WHO. (2002). Food safety and foodborne illness. World Health Organisation. Fact Sheet 237, Revised January 2002, Geneva.

Wood, J.E., Senthilmohan, S.T., Peskin, A.V. (2002). Antioxidant activity of procyanidin-containing plant extracts at different pHs. *Food Chemistry* 77: 155-161.

Xu, H.X., Zeng, F.Q., Wan, M., Sim, K.Y. (1996). Anti-HIV triterpene acids from *Geum japonicum*. *Journal of Natural Products* 59: 643-645.

Yakushiji, H., Sakurai, N., Morinaga, K. (2001). Changes in cell-wall polysaccharides from the mesocarp of grape berries during veraison. *Physiologia Plantarum* 111: 188-195.

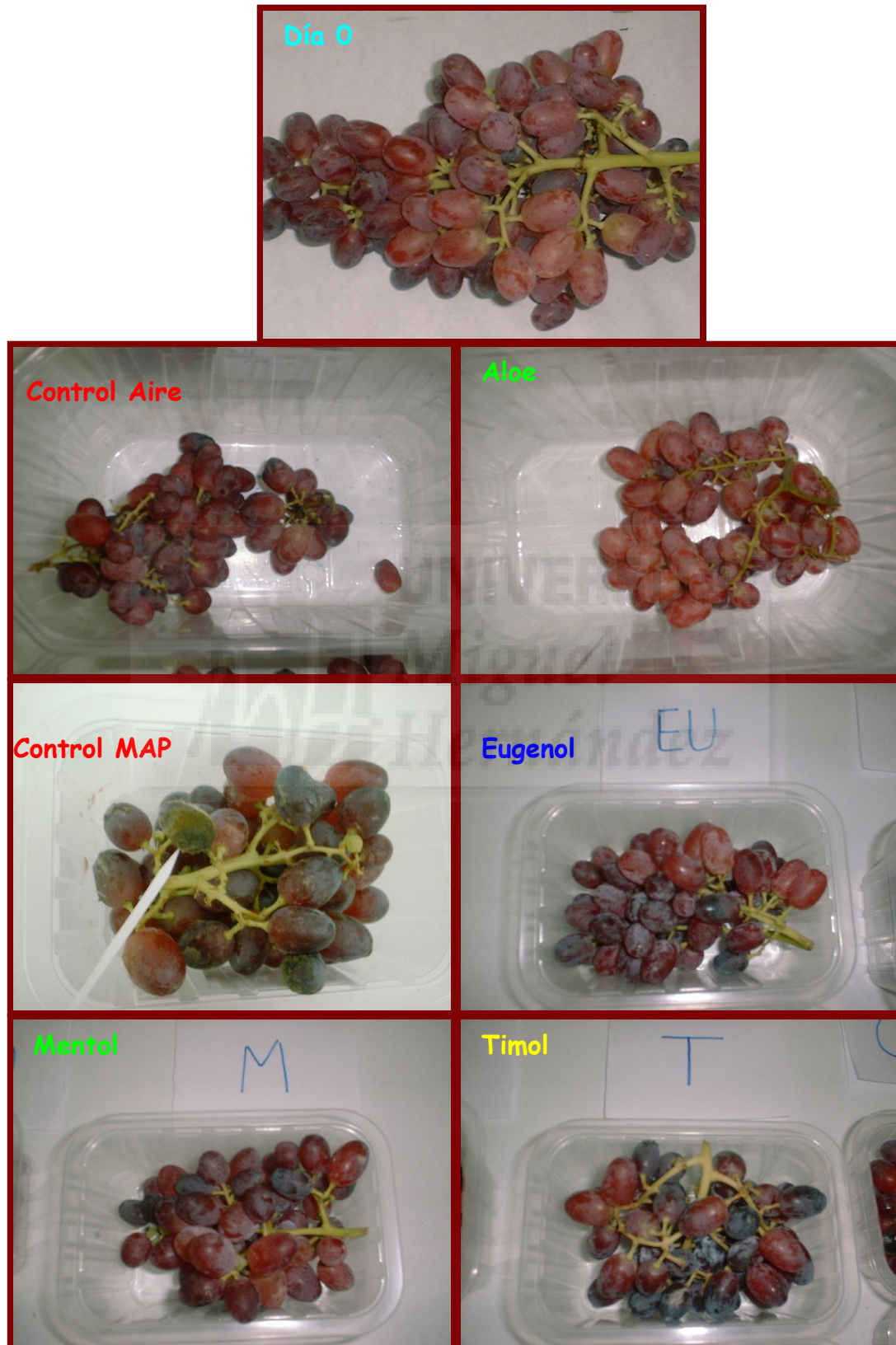
Yam, K.L., Takhistov, P.T., Miltz, J. (2005). Intelligent packaging: concept and applications. *Journal of Food Science* 70: R1-R10.

Yaman, Ö., Bayindirli, L. (2002). Effects of an edible coating and cold storage on shelf-life and quality of cherries. *Lebensmittel Wissenschaft und Technology* 35: 146-150.

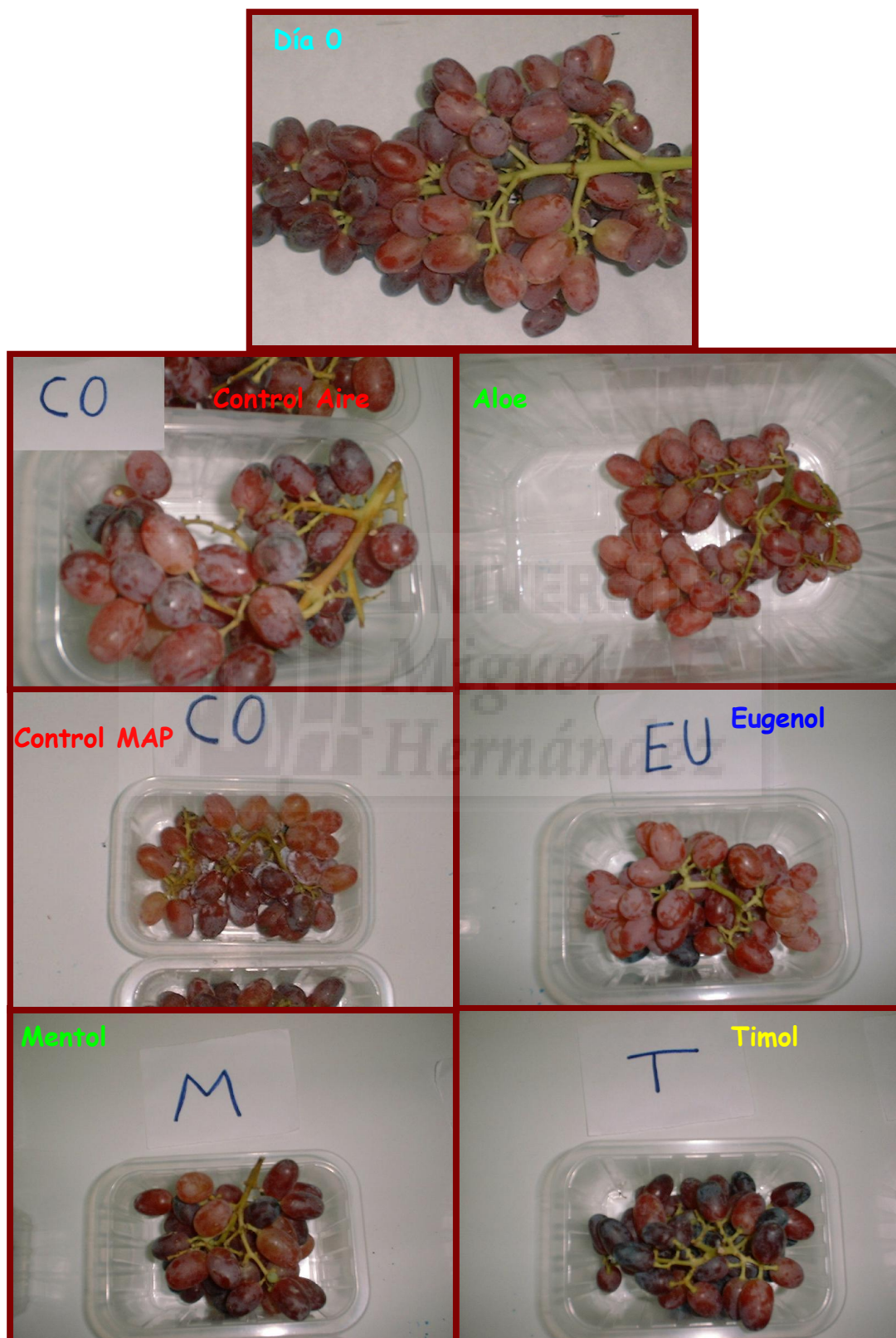
Yamashita, F., Tonzar, A., Fernandes, J., Moriya, S., Benassi, M. (2000). Influência de diferentes embalagens de atmosfera modificada sobre a aceitação de uvas finas de mesa var. Itália mantidas sob refrigeração. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos* 20: 110-114.

Yang, S.F., Hoffman, N.E. (1984). Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology* 35: 155-189.

- Yen, G., Duh, P.D. (1994). Scavenging effect of methanolic extracts of peanut hulls on free-radical and active-oxygen species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42: 629-632.
- Yen, G.C., Duh, P.D., Chuang, D.Y. (2000). Antioxidant activity of anthraquinones and anthrone. *Food Chemistry* 70: 437-441.
- Yilmaz, Y., Toledo, R.T. (2004). Health aspects of functional grape seed constituents. *Trends in Food Science and Technology* 15: 422-433.
- Yurdugül, S. (2005). Preservation of quinces by the combination of an edible coating material, Semperfresh, ascorbic acid and cold storage. *European Food Research and Technology* 220: 579-586.
- Yusuf, S., Dagenais, G., Pogue, J., Bosch, J., Sleight, P. (2000). Vitamin E supplementation and cardiovascular events in high-risk patients. The Heart outcomes prevention study investigators. *The New England Journal of Medicine*. 342: 154-160.
- Zagory, D., Kader, A.A. (1988). Modified atmosphere packaging of fresh produce. *Food Technology* 42: 70-77.
- 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 Biology and Technology* 20: 115-124.
- Zamora, F. (2003). Elaboración y crianza del vino tinto: Aspectos científicos y prácticos. Ed. Mundi-Prensa, Madrid.
- Zerbini, PE., Rizzolo, A., Brambilla, A., Cambiagli, P. y Grassi, M. (2002). Loss of ascorbic acid during storage of conference of brown heart. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82: 1007-1013.
- Zheng, G.Q., Kenny, P.M., Lam, K.T. (1992). Sesquiterpenes from clove (*Eugenia carophyllata*) as potential anticarcinogenic agents. *Journal of Natural Products* 55: 999-1003.
- Zoffoli, J., Latorre, B., Rodríguez, E., Aldunce, P. (1999). Modified atmosphere packaging using chlorine gas generators to prevent *Botrytis cinerea* on table grapes. *Postharvest Biology and Technology* 15: 135-142.



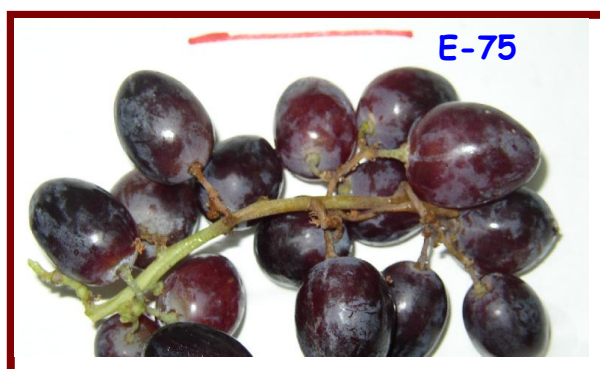
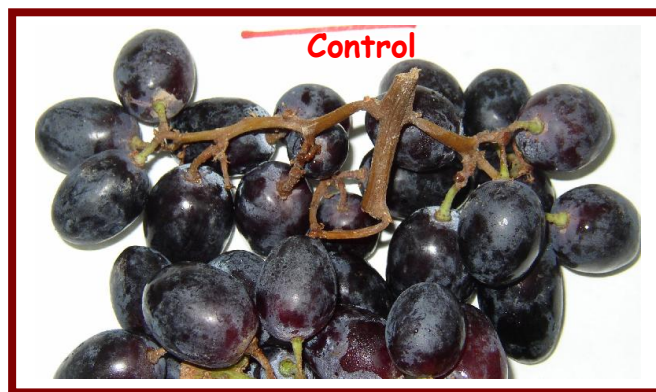
Fotografía 29. Aspecto de los racimos de uva 'Crimson' tras 21 días a 1°C + 4 días a 20°C.



Fotografía 30. Aspecto de los racimos de uva 'Crimson' tras 35 días a 1°C.



Fotografía 31. Aspecto de los racimos de uva 'Autumn Royal' tras 28 días a 1°C + 2 días a 20°C.



Fotografía 32. Aspecto de los racimos de uva 'Autumn Royal' tras 56 días a 1°C.