UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE

ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA

GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

"APLICACIÓN DE ACEITES ESENCIALES COMBINADOS CON ATMÓSFERAS MACROPERFORADAS EN POSCOSECHA PARA MANTENER LA CALIDAD DE LA ALCACHOFA"

TRABAJO FIN DE GRADO

Julio-2015

Autor: MARIA EMMA GARCÍA PASTOR

Tutor/es: PEDRO JAVIER ZAPATA COLL

ANTONIO FABIÁN GUILLÉN ARCO

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

AGRADECIMIENTOS

Agradecer a esa persona que ha hecho posible este trabajo, que confió en mí y que profesionalmente es todo un referente. Gracias Pedro, agradecerte todo en pocas líneas es muy complicado. Los mejores resultados dentro de mi formación coinciden con el período en el que comencé a escuchar tus consejos, a aprender de tu mano y con todas esas oportunidades de progreso continuo que me has ido brindando. Pues todas las llevo guardadas en el corazón. Me ha encanto la forma en la que ambos hemos trabajado y estoy muy orgullosa del resultado obtenido. Sé que seguiré aprendiendo mucho más de ti, porque lo contrario estando cerca tuyo es imposible.

Al codirector del presente trabajo por el entusiasmo y las ganas que le pone a todo y porque siga contagiándonos de ello; Gracias Fabián. Mencionar también a todas las personas del grupo de Post-recolección que han hecho de este trabajo una experiencia inolvidable. A Alejandra y María José por toda la paciencia y tiempo que han depositado en mi iniciación y por todo lo enseñado con los mejores ejemplos. También a Diego por todos sus consejos y bromas. Y por supuesto, a los restantes miembros: Juan Miguel, Domingo, Salvador, Daniel y María, piezas fundamentales dentro de mi formación. Agradecerle también a Marina todos los buenos momentos compartidos dentro de la investigación y a lo largo de la carrera.

A mi familia, por el apoyo que siempre he tenido.

A mis padres en especial, por hacerme tan feliz y creer en mí.

A mi hermano, porque le quiero y seguiré luchando por su futuro.

Y a él, por su apoyo, por hacerme reír y porque el amor puede más que la distancia. Gracias Ángel.

TÍTULO:

Aplicación de aceites esenciales combinados con atmósferas macroperforadas en poscosecha para mantener la calidad de la alcachofa.

TITLE:

Application of essential oils in combination with postharvest macroperforated atmospheres to maintain the quality of the artichoke.

RESUMEN

Antecedentes:

La alcachofa es una hortaliza consumida en fresco por un amplio rango de consumidores. Su importancia en poscosecha radica en la presencia de una serie de alteraciones que acortan su vida útil y ocasionan una pérdida de calidad. Además, la gran importancia de los compuestos antioxidantes que se atribuyen a esta hortaliza, lleva consigo que las pérdidas de dichos compuestos durante el manejo poscosecha sean las mínimas para potenciar así su interés comercial.

Metodología:

En este trabajo, se pretende estudiar el efecto de la aplicación en poscosecha de aceites esenciales en combinación con atmósferas macroperforadas con el fin de conseguir mantener la calidad de la misma. Para la evaluación de la efectividad de dicha aplicación, se realizará un seguimiento de dos de los parámetros fisiológicos (pérdida de peso y tasa de respiración) así como un análisis en profundidad de los parámetros funcionales (fenoles totales, individuales y actividad antioxidante).

Resultados:

La aplicación de aceites esenciales a la concentración de 0,33 $mL \cdot L^{-1}$ en combinación con la protección de una bolsa macroperforada incrementa la calidad de las alcachofas "Blanca de Tudela", ya que se observa una disminución de los parámetros fisiológicos de la hortaliza, sin afectar al contenido en polifenoles y mejorando el carácter antioxidante. Por tanto, se puede concluir que es una herramienta útil para la poscosecha de la misma a pesar de que sería necesario seguir trabajando en este sentido para conseguir una transferencia a la industria de la alcachofa en fresco.

ABSTRACT

Background:

The artichoke is a vegetable consumed fresh for a wide range of consumers. Its importance in postharvest is the presence of a series of changes that shorten life and cause a loss of quality. In addition, the importance of antioxidant compounds that are attributed to this vegetable, keeps losses of these compounds during postharvest handling to the minimum so as to enhance their commercial interests.

Methodology:

In this work, we intend to study the effect of postharvest application of essential oils in combination with macroperforated atmospheres in order to be able to maintain the quality of it. For evaluating the effectiveness of such implementation, it tracks two of the physiological parameters (weight loss and respiration rate) and a thorough analysis of the functional parameters (total phenols, single phenols and antioxidant activity) to be held.

Results:

The application of essential oils to the concentration of 0,33 $mL \cdot L^{-1}$ in combination with the protection of a macroperforated bag increases the quality of artichokes "Blanca de Tudela", since a decrease of physiological parameters observed the vegetable, without affecting the polyphenol content and antioxidant improving character. Therefore, one can conclude that it is a useful tool for postharvest although it would be necessary to continue working in this direction for a transfer to industry fresh artichoke.

Fuente: *Google Translator*

PALABRAS CLAVE:

Vida útil, pérdida de peso, tasa de respiración, compuestos fenólicos, actividad antioxidante.

KEYWORDS:

Shelf life, weight loss, respiration rate, phenolic compounds, antioxidant activity.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES 13

1.1. La alcachofa 13

1.1.1. Origen, taxonomía y morfología 13

1.1.2. Composición nutricional 16

1.1.3. Exigencias relativas a la calidad comercial 18

1.1.4. Variedades de alcachofa 20

1.1.4.1. Variedad "Blanca de Tudela" 23

1.2. Importancia económica 24

1.2.1. Perfil de producción 24

1.2.2. Perfiles de exportación e importación 27

1.3. Problemática en poscosecha 29

1.4. Tratamientos poscosecha 32

1.4.1. Tecnologías emergentes: Aplicación de aceites esenciales 34

2. OBJETIVOS 39

3. MATERIAL Y MÉTODOS 40

3.1. Material vegetal 40

3.2. Diseño experimental y tratamientos 41

3.3. Determinaciones analíticas 44

3.3.1. Parámetros fisiológicos 44

3.3.1.1. Pérdida de peso 44

3.3.1.2. Tasa de respiración 45

3.3.2. Parámetros funcionales 47

3.3.2.1. Fenoles totales por Folin 47

3.3.2.2. Actividad antioxidante: Fases hidrosoluble y liposoluble 49

3.3.2.3. Fenoles individuales y totales por HPLC 53

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 56

4.1. Parámetros fisiológicos 56

4.1.1. Pérdida de peso 56

4.1.2. Tasa de respiración 58

4.2. Parámetros funcionales 61

4.2.1. Fenoles totales por Folin 61

4.2.2. Actividad antioxidante: Fases hidrosoluble y liposoluble 63

4.2.3. Fenoles individuales 66

4.2.3.1. Ácido clorogénico (CGA) 66

4.2.3.2. Ácido neoclorogénico (neo-CGA) 68

4.2.3.3. Ácido 3,5-dicafeioilquínico (3,5-DCQ) 70

4.2.3.4. Ácido X,X-dicafeioilquínico (X,X-DCQ) 72

4.2.4. Fenoles totales por HPLC 73

4.2.5. Cromatograma HPLC 74

5. CONCLUSIONES 76

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 77

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. Nº 1. Alcachofa (*Cynara scolymus L.*). Fuente: Universidad Pontificia Católica de Chile....13

Fig. Nº 2. Morfología de la planta de alcachofa. Fuente: Elaboración propia 15

Fig. Nº 3. Clasificación de las alcachofas en tres categorías. Fuente: REGLAMENTO (CE) Nº 1466/2003 DE LA COMISIÓN de 19 de agosto de 2013 por el que se establecen las normas de comercialización de las alcachofas y se modifica el Reglamento (CE) Nº 963/98 19

Fig. Nº 4. Logos de la Denominación de Origen Protegida (DOP) (imagen izquierda) e Indicación Geográfica Protegida (IGP) (imagen derecha). Fuente: Google - Directo del campo....23

Fig. Nº 5. Detalles gráficos de podredumbre gris en brácteas de alcachofa por *Botrytis cinerea* (imagen izquierda) y de daños por frío, heladas (imagen derecha). Fuente: Elaboración propia y Google – Infoagro 32

Fig. Nº 6. Estructuras químicas de los principales aceites esenciales que presentan tanto actividad antioxidante como antimicrobiana. Fuente: Postharvest Biology and Technology for Preserving Fruit Quality, 2010....36

Fig. Nº 7. Capítulos de alcachofa recepcionados y dispuestos en cajas. Fuente: Elaboración propia....40

Fig. Nº 8. Tratamiento "Aceites" (derecha) y "Control" o "Control Bolsa" (izquierda). Fuente: Elaboración propia....42

Fig. Nº 9. Representación esquemática del diseño experimental. Fuente: Elaboración propia....43

Fig. Nº 10. Balanza utilizada para el pesado de los capítulos. Fuente: Elaboración propia 44

Fig. Nº 11. Sistema estático o cerrado de extracción de gases de los capítulos de alcachofa. Fuente: Elaboración propia 46

Fig. Nº 12. Cromatógrafo de gases Shimadzu GC-14B. Fuente: Elaboración propia47

Fig. Nº 13. Desintegrador de tejido vegetal Polytron® modelo PT3100. Fuente: Elaboración propia....49

Fig. Nº 14. Separación de la fase hidrosoluble (marrón) y liposoluble (amarillo). Fuente: Elaboración propia 51

Fig. Nº 15. Tonalidad azulada tras darse la reacción de la peroxidasa. Fuente: Elaboración propia.....52

Fig. Nº 16. Vial de capacidad 1,5 mL para análisis de muestras por HPLC. Fuente: Grupo Alianza Estratégica (GAE); Repuestos HPLC Agilent.....54

Fig. Nº 17. Cromatograma HPLC de extractos de alcachofa "Blanca de Tudela". (1) Ácido neoclorogénico; (2) Ácido clorogénico; (3) Ácido 3,5-dicafeioilquínico; (4) Ácido X,X-dicafeioilquínico. Fuente: Adaptación de picos y elaboración a partir del sistema HPLC Hewlett-Packard 1100 pump.....75

UNIVERSITAS Miguel Hernández

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla. Nº 1. Encuadramiento taxonómico de la alcachofa. Fuente: Zohary et al., 1979 14

Tabla. Nº 2. Composición nutricional alcachofas en fresco. Recomendaciones: Ingestas Recomendadas/día para hombres y mujeres de 20 a 39 años con una actividad física moderada. Recomendaciones: Objetivos nutricionales/día. Consenso de la Sociedad Española de Nutrición Comunitaria, 2011. Recomendaciones: ▢ Ingestas Dietéticas de Referencia (EFSA, 2010). 0: Virtualmente ausente en el alimento. ---: Dato no disponible. *Datos incompletos. Fuente: BEDCA (Base de Datos Española de Composición de Alimentos) 17

Tabla. Nº 3. Variedades precoces de alcachofa. Fuente: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente 21

Tabla. Nº 4. Variedades de ciclo medio de alcachofa. Fuente: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente 21

Tabla. Nº 5. Variedades tardías de alcachofa. Fuente: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente 22

Tabla. Nº 6. Tasa de respiración de la alcachofa. Fuente: UC DAVIS POSTHARVEST TECHNOLOGY Maintaining Produce Quality & Safety, 2013 30

Tabla Nº 7. Cronología abreviada del diseño experimental. Fuente: Elaboración propia 42

Tabla Nº 8. Condiciones de trabajo del cromatógrafo de gases Shimadzu GC-14B. Fuente: Elaboración propia 46

Tabla Nº 9. Cantidades de reactivos y de muestra adicionadas a las cubetas en ambas fases. Fuente: Elaboración propia 52

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica Nº 1. Cantidades producidas de alcachofa (en toneladas) durante el período 2009-2013 por los 10 principales países productores en el mundo. Fuente: Elaboración propia a partir de datos estadísticos de la Dirección de Estadística de la FAO (FAOSTAT, 2015).....25

Gráfica Nº 2. Cantidades producidas de alcachofa (en toneladas) en España durante el período 1990-2013. Fuente: Elaboración propia a partir de datos estadísticos de la Dirección de Estadística de la FAO (FAOSTAT, 2015) 26

Gráfica Nº 3. Distribución de la producción de alcachofa en España por Comunidades Autónomas en el año 2013. Fuente: Elaboración propia a partir del Anuario de Estadística del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA, 2013) 26

Gráfica Nº 4. Evolución de la exportación española de alcachofa en distintos países de la UE durante los últimos seis años. Fuente: Elaboración propia a partir de datos estadísticos del sector en la Federación Española de Asociaciones de Productores y Exportadores de Frutas, Hortalizas, Flores y Plantas vivas (FEPEX, 2015).....28

Gráfica Nº 5. Cantidades importadas de alcachofa en España procedentes de países de la UE y representación de Francia como el principal país exportador. Fuente: Elaboración propia a partir de datos estadísticos del sector en la Federación Española de Asociaciones de Productores y Exportadores de Frutas, Hortalizas, Flores y Plantas vivas (FEPEX, 2015) 28

Gráfica Nº 6. Evolución de las pérdidas de peso (%) de las alcachofas almacenadas en frío a 1 °C y 2 días más a 20 °C con aplicación de aceites esenciales y sin estos (control) en combinación con un envasado en film macroperforado. Los datos son la media ± ES.....57

Gráfica Nº 7. Evolución de la tasa de respiración de las alcachofas almacenadas en frío a 1 °C y 2 días más a 20 °C con aplicación de aceites esenciales y sin estos (control) en combinación con un envasado en film macroperforado. Los datos son la media ± ES.....60

Gráfica Nº 8. Compuestos fenólicos de las alcachofas con aplicación de aceites esenciales y sin estos (control) en combinación con un envasado en film macroperforado. Técnica de medición: Reactivo Folin-Ciocalteu. Los datos son la media ± ES 63

Gráfica Nº 9. Actividad antioxidante de la fase hidrosoluble de las alcachofas con aplicación de aceites esenciales y sin estos (control) en combinación con un envasado en film macroperforado. Los datos son la media ± ES 64

Gráfica Nº 10. Actividad antioxidante de la fase liposoluble de las alcachofas con aplicación de aceites esenciales y sin estos (control) en combinación con un envasado en film macroperforado. Los datos son la media ± ES 66

Gráfica Nº 11. Ácido clorogénico presente en las alcachofas con aplicación de aceites esenciales y sin estos (control) en combinación con un envasado en film macroperforado. Los datos son la media ± ES..... 68

Gráfica Nº 12. Ácido neoclorogénico, isómero del ácido clorogénico, presente en las alcachofas con aplicación de aceites esenciales y sin estos (control) en combinación con un envasado en film macroperforado. Los datos son la media ± ES 69

Gráfica Nº 13. Ácido 3,5-dicafeoilquínico, isómero del ácido isoclorogénico, presente en las alcachofas con aplicación de aceites esenciales y sin estos (control) en combinación con un envasado en film macroperforado. Los datos son la media ± ES..... 71

Gráfica Nº 14. Ácido X,X-dicafeoilquínico, isómero del ácido isoclorogénico, presente en las alcachofas con aplicación de aceites esenciales y sin estos (control) en combinación con un envasado en film macroperforado. Los datos son la media ± ES..... 72

Gráfica Nº 15. Compuestos fenólicos de las alcachofas con aplicación de aceites esenciales y sin estos (control) en combinación con un envasado en film macroperforado. Técnica de medición: HPLC. Los datos son la media ± ES..... 73

1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

1.1. La alcachofa

La alcachofa es una planta diploide, principalmente alógama, perteneciente a la familia de las Asteráceas (Sonnante et al., 2007). Se encuentra englobada dentro del género *Cynara*, autóctono de la zona mediterránea, que incluye ocho especies (Sonnante et al., 2012). Científicamente se denomina ***Cynara scolymus L.***.

El término "alcachofa" hace referencia tanto a la parte de la planta entera como a la inflorescencia en capítulo; cabeza floral comestible, que se recolecta antes de que se alcance todo su desarrollo cuando aun tiene las brácteas tiernas y todavía no se ha desarrollado la flor. La importancia de la alcachofa en nuestro país respecto a otras hortalizas radica en las cualidades que la caracterizan.

La alcachofa puede ser consumida en fresco o industrializada. Normalmente, en fresco se consume hervida, asada o frita. El destino industrial más corriente de la alcachofa es la conserva. Los subproductos obtenidos en el proceso de aprovechamiento industrial pueden ser utilizados en la alimentación del ganado, bien directamente o bien en la fabricación de piensos compuestos.

Fig. Nº 1. Alcachofa (*Cynara scolymus L.*). Fuente: Universidad Pontificia Católica de Chile.

1.1.1. Origen, taxonomía y morfología

Las primeras noticias sobre la alcachofa se tuvieron en la Antigüedad por Teofastro, Galeno y Ateneo, y en lo dibujos grabados en las tumbas egipcias. Aunque se cree que estas informaciones se refieren a la alcachofa silvestre, de la

que derivaron los cultivares que tenemos en la actualidad de alcachofa (Maroto, 1995). Esta era consumida por griegos y romanos, importada de África y España.

Procede del cardo silvestre ***Cynara cardunculus L. var Silvestris*** (Foury, 1989). La domesticación de la alcachofa tuvo lugar cerca del inicio del primer milenio, posiblemente en Sicilia (Pignone y Sonnante, 2004). Posteriormente, este cultivo fue dispersado por los árabes en la cuenca del mediterráneo, quienes tuvieron un rol muy importante en la difusión ya que tenían un interés particular en el mismo (Idrisi, 2005).

Parece ser que el verdadero cultivo de alcachofa se dio en la Edad Media, al ser objeto de selecciones en Italia y en la España árabe; de hecho, la primera referencia en la que aparece la alcachofa como una hortaliza comestible es en el año 1400 en Italia. Se tienen noticias de su cultivo en Nápoles, hacia la mitad del siglo XV, y vuelve a ser descrita por los médicos renacentistas, Pier Andrea Mattioli y Andrés Laguna, los cuales dan algunas indicaciones de su cultivo al hablar de cómo obtener el cultivo sin espinas. Posteriormente, y a partir de Italia se extendió gradualmente, ya que es citada en Francia en el siglo XVIII, extendiéndose a otros países de Europa y de la Cuenca Mediterránea (España, Francia, Grecia, Marruecos, Túnez y Egipto), y posteriormente a algunas áreas de los Estados Unidos, principalmente estados sureños como California (Maroto, 1995).

La alcachofa es una planta de la familia de las compuestas, que en toda la zona mediterránea se comporta como remontante, es decir, brota en sucesivas ocasiones dentro del mismo año. Su clasificación taxonómica correspondiente es la mostrada a continuación (Tabla Nº 1), y su nombre hace referencia a su color verde-ceniciento.

Tabla. Nº 1. Encuadramiento taxonómico de la alcachofa.

REINO	**Vegetal (Eucariota)**
DIVISIÓN	**Fanerógamas (Espermatofita)**
SUBDIVISIÓN	**Angiosperma**
CLASE	**Dicotiledóneas**
SUBCLASE	***Asteridae***
SUPERORDEN	***Asteridae* (*Synandrae*)**
ORDEN	***Asterales***
FAMILIA	***Asteraceae* (*Compositae*)**
SUBFAMILIA	***Tubifloroideae* (Tubifloras)**
TRIBU	***Cybareae***
GÉNERO	***Cynara***
ESPECIE	***Scolymus***

Fuente: Zohary et al., 1979.

Dentro de la morfología de la planta de alcachofa, destacamos seis partes principales: Tallo, raíz, hojas, flores, fruto o aquenio y semilla. Dichas partes quedan expuestas en la siguiente representación gráfica (Figura Nº 2).

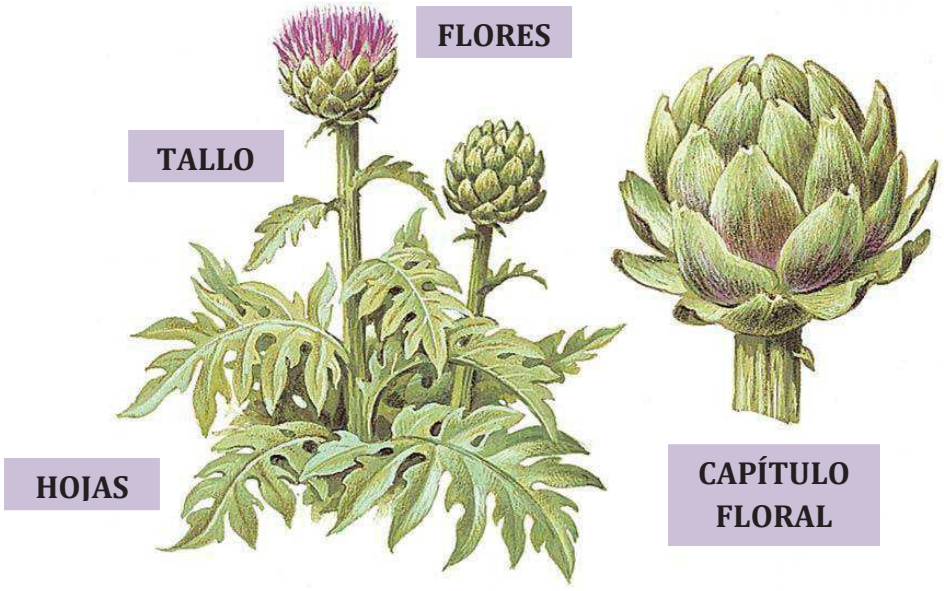


Fig. Nº 2. Morfología de la planta de alcachofa. Fuente: Elaboración propia.

Los tallos son gruesos, erguidos, no lignificados, presentan ramificaciones y son acanalados longitudinalmente. Pueden llegar a alcanzar hasta 1,5 m. En los extremos de los tallos se producen las inflorescencias. El aparato radical es grueso y poderoso y se inserta en un rizoma (el rizoma es un tallo hipógeo horizontal, radiciforme con yemas y raíces) muy desarrollado en el que se acumulan reservas alimenticias que elabora la planta.

Por otro lado, las hojas son oblongas y largas. Pueden alcanzar hasta 1 m de longitud; el limbo presenta los bordes aserrados y numerosos lóbulos laterales a veces muy profundos. Presentan un nervio central grueso y nervaduras marcadas. El haz o cara superior de la hoja, es de color verde grisáceo claro y el envés o cara inferior presenta pubescencia, es decir, una pelusa de color blanquecino.

Cuando el capítulo se deja madurar aparecen las flores, insertas en un tálamo terminal carnoso cubierto por brácteas. Estas son hermafroditas y están formadas por cinco pétalos soldados, que a la vez, forman una corola tubulosa; estos presentan también cinco estambres soldados por sus anteras.

El fruto es un aquenio provisto de vilano plumoso (transformación del cáliz que favorece la diseminación). La parte comestible de la planta es el capítulo floral o receptáculo, que se consume cuando es tierno, antes de que se desarrolle totalmente y aparezcan las flores, pues entonces el receptáculo se endurece y se vuelve espinoso.

La planta de alcachofa es capaz de producir semillas con gran poder de difusión y facilidad para ser trasladadas a grandes distancias por el viento, aunque su producción comercial se basa fundamentalmente en cultivos perennes propagados vegetativamente (Sonnante et al., 2007).

1.1.2. Composición nutricional

El órgano de consumo lo constituyen una pequeña porción del pedúnculo, el receptáculo carnoso y la base carnosa de las brácteas, del capítulo floral inmaduro. Las flores son lo que se conoce como la pelusa o pelos de la alcachofa y son desechadas al momento de consumir el receptáculo. El capítulo floral debe ser inmaduro pero del máximo tamaño posible (variable según cultivar y uso culinario, desde menos de 50 g a casi 500 g), compacto, de consistencia suculenta, con las brácteas tiernas y sin fibras. Al sobrepasar el momento óptimo de madurez, las cabezuelas se empiezan a abrir.

La composición nutricional de las hortalizas es muy variable, dependiendo en un principio del tipo y la procedencia, pero existe una larga lista de factores previos a la recolección y posteriores a ella que igualmente determinan esta variabilidad. Quizá la característica más importante sea su alta hidratación, la cual oscila entre el 80 y el 90 %. Por lo tanto, una de las principales funciones nutricionales de los vegetales es aportar agua a nuestra dieta.

Tras el agua, el componente mayoritario de las alcachofas son los hidratos de carbono, entre los que destaca la fibra: Inulina y fructooligosacáridos (FOS), principalmente. Los minerales mayoritarios son el potasio, el fósforo, el calcio y el magnesio; y entre las vitaminas destaca la presencia de vitamina C, vitamina B_3 y vitamina E (α-Tocoferol) (FEN, 2015).

Sin embargo, lo más destacable de su composición son una serie de sustancias que se encuentran en pequeña cantidad, pero dotadas de notables efectos fisiológicos positivos. Éstas son:

- **Los esteroles:** Con capacidad para limitar la absorción del colesterol en el intestino.
- **La cinarina:** Sustancia ácida con efecto colerético, es decir, con capacidad para aumentar la secreción biliar. La cinarina, además de hidrocolerética, es hipocolesterolemiante y disminuye el cociente beta/alfa de las lipoproteínas. También es diurética, provoca una mayor expulsión de orina. Junto a otra sustancia conocida como cinaropicrina (compuesto sesquipertenoide), otorgan el sabor amargo presente en las distintas partes de la planta (Rodríguez, 2009).

Por todo ello, está indicada para todas las enfermedades funcionales y orgánicas del hígado, vesícula biliar y vías biliares, así como para los trastornos digestivos que de ellas deriven. Por otro lado, el bajo contenido en calorías de dicha hortaliza hace que sea especialmente aconsejable en dietas adelgazantes.

La composición nutricional de la alcachofa en fresco, sin ningún tipo de tratamiento térmico o procesado, se muestra a continuación (Tabla Nº 2).

Tabla. Nº 2. Composición nutricional alcachofas en fresco. Recomendaciones: Ingestas Recomendadas/día para hombres y mujeres de 20 a 39 años con una actividad física moderada. Recomendaciones: Objetivos nutricionales/día. Consenso de la Sociedad Española de Nutrición Comunitaria, 2011. Recomendaciones: Ingestas Dietéticas de Referencia (EFSA, 2010). 0: Virtualmente ausente en el alimento. ---: Dato no disponible. *Datos incompletos.

		Por 100 g de porción comestible	Por ración (300 g)	Recomendaciones día-hombres	Recomendaciones día-mujeres
MACRONUTRIENTES	**Energía (Kcal)**	23	69	3000	2300
	Proteínas (g)	2,9	8,7	54	41
	Lípidos totales (g)	0,2	0,6	100-117	77-89
	AG saturados (g)	Traza	Traza	23-27	18-20
	AG monoinsaturados (g)	Traza	Traza	67	51
	AG poliinsaturados (g)	0,09	0,27	17	13
	ω-3 (g)	---	---	3,3-3,6	2,6-5,1
	C18:2 Linoleico (ω-6) (g)	---	---	10	8
	Colesterol (mg/1000 Kcal)	0	0	<300	<230
	Hidratos de carbono (g)	2,26	6,78	375-413	288-316
	Fibra (g)	9,4	28,2	>35	>25
	Agua (g)	83,33	249,99	2500	2000
MINERALES	Calcio (mg)	44	132	1000	1000
	Hierro (mg)	1	3	10	18
	Yodo (µg)	1	3	140	110
	Magnesio (mg)	27	81	350	330
	Zinc (mg)	0,1	0,3	15	15
	Sodio (mg)	15	45	<2000	<2000
	Potasio (mg)	300	900	3500	3500
	Fósforo (mg)	50	150	700	700
	Selenio (µg)	0,2	0,6	70	55
VITAMINAS	Tiamina (mg)	0,05	0,15	1,2	0,9
	Riboflavina (mg)	0,04	0,12	1,8	1,4
	Equivalentes niacina (mg)	0,8	2,4	20	15
	Vitamina B_6 (mg)	0,09	0,27	1,8	1,6
	Folatos (µg)	28	84	400	400
	Vitamina B_{12} (µg)	0	0	2	2
	Vitamina C (mg)	6	18	60	60
	Vitamina A: Eq. Retinol (µg)	4	12	1000	800
	Vitamina D (µg)	0	0	15	15
	Vitamina E: Eq. α-Tocoferol (mg)	0,2	0,6	12	12

Fuente: BEDCA (Base de Datos Española de Composición de Alimentos).

La inulina, hidrato de carbono mayoritario, se metaboliza en el organismo dando lugar a unidades de fructosa, un azúcar asimilable sin la necesidad de insulina. Por este motivo, las alcachofas también están indicadas en la dieta de las personas diabéticas. Además, por su riqueza en fibra proporcionan sensación de saciedad y favorecen el tránsito intestinal, contribuyendo a aliviar o prevenir el estreñimiento. No obstante, como consecuencia de este alto contenido en fibra, pueden resultar flatulentas para personas con tendencia a este tipo de problemas digestivos.

Se pueden consumir cocidas, salvo los ejemplares de menor tamaño que se pueden tomar crudas con un aliño de ajo y aceite, por ejemplo. Desde el punto de vista nutricional, lo ideal es cocinarlas al vapor. Para ello, se colocan enteras, dentro de la olla. De esta manera conservan la mayor parte de sus sales minerales y oligoelementos. En caso de hervirlas, se recomienda utilizar la mínima cantidad de agua y aprovechar el agua de cocción para la elaboración de caldos o sopas.

Si se asan, tanto a la plancha como al horno, no deben cortarse las puntas de las hojas, ya que así se mantiene la humedad interna durante el proceso de asado. También se pueden preparar fritas, rebozadas, guisadas, salteadas con guisantes y jamón. Las más pequeñas suelen destinarse a la elaboración de conservas, al natural, en aceite o en vinagre. La composición nutricional de estas últimas varía relativamente con respecto al consumo en fresco, ya que los diferentes tratamientos sufridos en la industria conservera disminuirían el contenido nutricional y funcional descrito.

1.1.3. Exigencias relativas a la calidad comercial

Algunos de los atributos de calidad se pueden medir por técnicas físicas o químicas, pero la aceptación del consumidor es subjetiva y, por lo tanto, difícil de valorar. En líneas generales, se puede afirmar que la calidad está principalmente basada en la percepción de los atributos externos, como limpieza, firmeza, integridad y frescura, aunque no hay que olvidar la calidad interna del producto, que se asocia sobre todo con los atributos de sabor/aroma y con el contenido en nutrientes, en especial si éstos poseen efectos beneficiosos para la salud.

De forma práctica la legislación europea ha desarrollado normas de calidad que contemplan los principales parámetros de calidad externa, como son el calibrado y la presentación, que, unidos al aspecto, permiten la categorización comercial de la alcachofa. Los objetivos que se persiguen con esta categorización son:

- Homogeneizar y dar mayor transparencia a los mercados.
- Mejorar la calidad y las condiciones higiénico-sanitarias.
- Satisfacer, en mayor medida, las exigencias del consumidor.

- Favorecer la competencia leal de los operadores económicos.
- Aumentar la renta agrícola del producto en cuestión.

En concreto el ***REGLAMENTO (CE) Nº 1466/2003 DE LA COMISIÓN de 19 de agosto de 2003 por el que se establecen las normas de comercialización de las alcachofas y se modifica el Reglamento (CE) Nº 963/98***, es de obligado cumplimiento para que el producto sea comercializable por todo el territorio Europeo y recoge las distintas disposiciones relativas a la calidad, el calibrado, las tolerancias, la presentación y el marcado de las mismas. Dicha norma viene referida a los capítulos de las alcachofas de las variedades/cultivares procedentes de la especie *Cynara scolymus L.* que se entreguen en estado fresco al consumidor con excepción de las alcachofas destinadas a la transformación industrial. Además, establece una clasificación de las mismas en función del cumplimiento de requisitos mínimos de calidad (Figura Nº 3).

Categoría Extra

- **Las alcachofas de esta categoría deberán ser de calidad superior y presentarán las características que sean propias de la variedad o del tipo comercial al que pertenezcan. No podrán presentar defectos, salvo ligerísimas alteraciones superficiales en la piel de las brácteas, que no afecten al aspecto general del producto ni a su calidad, conservación y presentación en el envase.**

Categoría I

- **Estas alcachofas deberán ser de buena calidad y, al igual que en la categoría extra, presentarán las características que sean propias de la variedad o del tipo comercial al que pertenezcan. No obstante, se les permiten defectos leves, como son ligeras malformaciones, señales leves producidas por heladas y ligerísimas magulladuras, siempre que estos no afecten al aspecto general del producto ni a su calidad, conservación y presentación en el envase.**

Categoría II

- **Esta categoría comprenderá las alcachofas que no puedan clasificarse en las categorías superiores pero que cumplan los requisitos mínimos. Además, mientras conserven sus características esenciales se les permiten algunos defectos como magulladuras, señales producidas por heladas (alcachofas "quemadas"), ligeras magulladuras y ligeras manchas en las brácteas superiores.**

Fig. Nº 3. Clasificación de las alcachofas en tres categorías. Fuente: REGLAMENTO (CE) Nº 1466/2003 DE LA COMISIÓN de 19 de agosto de 2013 por el que se establecen las normas de comercialización de las alcachofas y se modifica el Reglamento (CE) Nº 963/98.

La calidad óptima de consumo es aquella en la que los parámetros sensoriales, nutritivos y funcionales del producto son los más adecuados. En el caso de la alcachofa, los atributos de calidad más importantes y más apreciables por parte del consumidor son los sensoriales (color, sabor, olor, textura, etc.). Pero es esencial también el mantenimiento de los parámetros nutritivos y funcionales, parte de la que se ocupa el tratamiento poscosecha y objetivo del presente trabajo.

1.1.4. Variedades de alcachofa

En horticultura se prescinde de las variedades que presentan espinas en el ápice de sus brácteas y existe un interés por aquellas que presentan ápices tiernos. Existen alcachofas espinosas o silvestres y otras no espinosas o domésticas (Tamaro, 1988). Las primeras poseen brácteas carnosas, terminadas en espinas, que recubren la inflorescencia joven. Las segundas se dividen en dos subgrupos: unas, cuyas brácteas terminan en un ápice sinuoso y con tres dientes, y otras que presentan un ápice recto. Estas últimas son las más generalizadas y se clasifican en blancas y violetas, según sea la coloración de sus brácteas.

Las variedades, también, se clasifican respecto a su capacidad de florescencia. Las variedades reflorecientes son aquellas que fructifican dos veces al año y las no reflorecientes lo hacen una sola vez. Otro elemento clasificador es el que tiene en cuenta si la producción es otoñal o invernal (Maroto, 1995).

Cada país del litoral Mediterráneo, tiene sus variedades típicas que están perfectamente adaptadas a las condiciones locales. En España, predominan los tipos llamados *alcachofas blancas*[1]. Los criterios de agrupación varietal de la alcachofa son muy variados. En estudios iniciados por Rodríguez (1979) para seleccionar y tipificar las variedades de la alcachofa, se han utilizado los siguientes:

- ***Caracteres morfológicos***: Basados en las características generales de las plantas (porte, altura, capacidad de ahijamiento, etc.), en los diversos aspectos que representan las hojas (color, forma, espinosidad, etc.), en el tipo de capítulos (color, forma, compacidad, etc.) y brácteas.
- ***Caracteres productivos***: Basados en el rendimiento, precocidad de la producción, duración del ciclo productivo, reflorecimiento, entre otros.

Sala y Carpintero (1967) subdividían las variedades españolas en dos grupos, a saber: blancas y violetas. Sin embargo en este último grupo predominan variedades extranjeras (Gil Ortega R., 1999). Por ello, el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente ha optado por clasificar las variedades de alcachofa según su época de recolección en:

- ***Variedades precoces:*** Susceptibles de iniciar la formación de capítulos en otoño, prosiguiéndose en invierno y primavera (Tabla Nº 3).
- ***Variedades de ciclo medio:*** Iniciación floral y consecuente formación de capítulos producida en un periodo intermedio (Tabla Nº 4).
- ***Variedades tardías:*** Inician la formación del capítulo al final del invierno (Tabla Nº 5).

[1] Se trata de plantas de gran desarrollo y buena productividad, bastante precoces, es decir, que producen cosechas tempranas, y las brácteas de los capítulos son de color verde claro.

VARIEDADES PRECOCES		
		BLANCA DE TUDELA: Es la variedad dominante en las plantaciones españolas de alcachofa (Gil Ortega, 2001). Capítulo verde claro, compacto y bien formado, con presencia de antocianos. Forma cónica-cilíndrica y buena homogeneidad. No presenta espinas. Porcentaje de inulina: 10,9 %.
		IMPERIAL STAR: Variedad de porte alto y baja capacidad de rebrotación. El capítulo principal es subesférico, compacto y grande, verde brillante con presencia de antocianos, apenas espinoso, consistentes y con bastante homogeneidad. Porcentaje de inulina: 17,5 %.
		LORCA: Variedad con capítulo de color verde. Planta de vigor medio, muy uniforme, que produce alcachofas con una ligera coloración antociánica en las brácteas exteriores. Alcachofa de forma esférica ligeramente alargada, uniforme y con las brácteas muy agrupadas. Porcentaje de inulina: 8,0 %.
		VIOLETA DE PROVENZA: Planta de vigor medio-bajo. Es la principal variedad cultivada en España con capítulos de color violeta. El capítulo es verde con jaspeado rojo intenso en su base. Forma cónica-alargada y homogeneidad media-buena. Presenta espinas. Su destino principal es el mercado francés.

Tabla. Nº 3. Variedades precoces de alcachofa. Fuente: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.

VARIEDADES DE CICLO MEDIO		
		GREEN GLOBE: Planta vivaz de hojas grandes verde claro. Los capítulos tienen abundantes tonos violeta y son espinosos, además la variedad es algo heterogénea. Porcentaje de inulina: 18,5 %.

		HARMONY: El capítulo es verde sin brillo, con vetas muy ligeras de color rojizo, inferior al 20%. Forma cónica y buena homogeneidad. Presenta espinas. Planta de vigor alto.

Tabla. Nº 4. Variedades de ciclo medio de alcachofa. Fuente: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.

VARIEDADES TARDÍAS		**CONCERTO:** El capítulo es rojo intenso en un 90%. Es la variedad de color más oscuro. Forma cónica y buena homogeneidad. Presenta espinas. Planta de vigor medio-alto. Buen olor y sabor. Es la variedad de alcachofa más vigorosa, destacando también por el calibre de sus capítulos. Porcentaje de inulina: 6,8 %.
		MADRIGAL: El capítulo es verde medio con jaspeado de un 20%, sobre todo en su parte basal. Coloración de su corazón similar a la Blanca de Tudela. Forma cónica y buena homogeneidad. Presenta algo de espinas. Planta de vigor alto. Porcentaje de inulina: 9,3 %.
		OPAL: El capítulo es rojo medio en un 80% del capítulo. En la base de las brácteas externas se aprecia un ligero color violáceo. Textura del capítulo firme (ideal para industrialización). Forma cónica-redondeada y con buena homogeneidad. Presenta espinas. Planta de vigor medio-alto. Porcentaje de inulina: 8,9 %.

Tabla. Nº 5. Variedades tardías de alcachofa. Fuente: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.

1.1.4.1. Variedad "Blanca de Tudela"

La alcachofa ***"Blanca de Tudela"*** es la variedad de alcachofa en la que se centra el presente experimento. Es la variedad predominante en nuestro país. Procede de Navarra y de ahí se ha ido extendiendo por toda España, siendo sus esquejes los más cultivados por todos los agricultores del mediterráneo. Se trata de una variedad muy precoz y productiva, con las características expuestas anteriormente (Tabla Nº 3). Las características vegetativas que presenta ofrecen una buena adaptación a nuestras condiciones de cultivo.

La alcachofa es considerada por el consumidor como un producto de una cierta calidad, incluso en determinadas ocasiones como un producto gourmet, similar al caso de otros productos como el vino, por ejemplo, y buscándose en ellas unas determinadas características y exigencias que definan dicha calidad.

Es por esto que como signo de distinción se comercializan las alcachofas con Denominación de Origen Protegida ***"Alcachofa de Benicarló"*** o con Indicación Geográfica Protegida ***"Alcachofa de Tudela"***. En ambos casos, es imprescindible que la variedad utilizada sea la Blanca de Tudela, y volviendo a la consideración de un producto de alta calidad, únicamente acoge las alcachofas que correspondan a las categorías comerciales Extra y Primera (I).

Fig. Nº 4. Logos de la Denominación de Origen Protegida (DOP) (imagen izquierda) e Indicación Geográfica Protegida (IGP) (imagen derecha). Fuente: Google - Directo del campo.

El 20 de mayo de 2011 la Comisión de Acreditación de ENAC (Entidad Nacional de Acreditación) acordó conceder la acreditación al Consejo Regulador de la ***Denominación de Origen Protegida "Alcachofa de Benicarló"*** como reconocimiento de la competencia técnica para la realización de Certificaciones en el Sector Agroalimentario, asignando la acreditación Nº 74/C-PR/177.

Consiste en capítulos florales de alcachofa, *Cynarus Scolymus* L, perteneciente a la variedad "Blanca de Tudela" y destinados al consumo en fresco. Está constituida por los términos municipales de Benicarló, Cálig, Peñiscola y Vinaroz, todos ellos cercanos a la costa y situado en la comarca del "Baix Maestrat", perteneciente a la provincia de Castellón (Comunidad Valenciana).

Por otro lado, en julio de 2000 fue aprobada por Orden Foral la ***Indicación Geográfica Protegida "Alcachofa de Tudela"***. Fue ratificada por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA) en mayo de 2001 e inscrita en el registro europeo el 9 de octubre de 2001. La zona geográfica comprende 33 localidades de la Ribera de Navarra, actuando Tudela como eje central. Estas a diferencia de las anteriores, podrán ser comercializadas en fresco o en conserva.

1.2. Importancia económica

Un estudio prospectivo titulado ***"El Sector Hortofrutícola en España 2012"*** y realizado por el Servicio Público de Empleo Estatal (SEPE), define el sector de la producción y comercialización de frutas y hortalizas como el subsector, enmarcado dentro del sector agroalimentario, más relevante del sector primario y con un peso específico e importante en la economía española pues abarca una gran diversidad de productos, entre ellos la alcachofa. Además, tiene una importante orientación exportadora, obteniéndose la mayor parte de sus ingresos de los mercados exteriores (Servicio Público de Empleo Estatal, 2013).

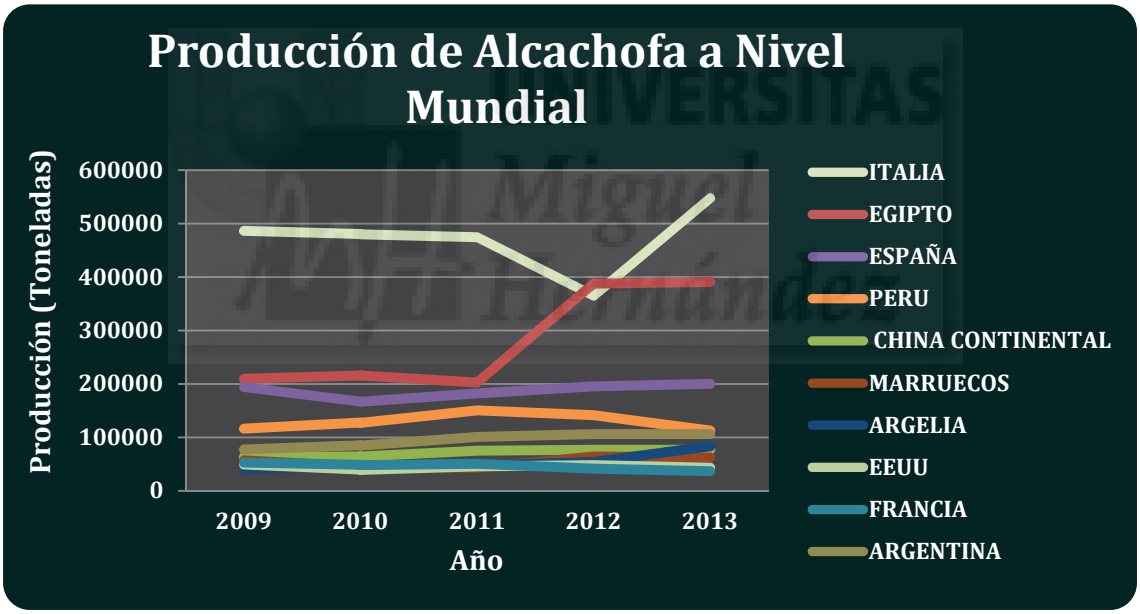
1.2.1. Perfil de producción

Los campos de las zonas bajas de la cuenca mediterránea fueron los primeros lugares donde se desarrolló el cultivo de la alcachofa, que ha ido proliferando a lo largo de los siglos hasta que la producción se ha estancado desde finales del siglo pasado. Según datos facilitados por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), para el año 2013, los principales productores de alcachofa a nivel mundial, en orden decreciente de producción, son: Italia, Egipto, España, Perú, Argentina, China Continental, Argelia, Marruecos, EEUU y Francia (Gráfica Nº 1).

Ya en el año 2009, según los datos proporcionados por la FAO, España ocupaba un tercer puesto con una producción de 194099 t de alcachofa, por detrás de Italia con 486595 t y de Egipto con 209614 t. Como bien se puede observar a continuación (Gráfica Nº 1), en torno al año 2012, países como Argelia y Egipto han aumentado sus producciones, mientras que las zonas de cultivo de dicha hortaliza más tradicionales como es el caso de España e Italia se han estancado y disminuido, respectivamente, en cuanto al valor de producción.

La tendencia evolutiva indica que del año 2013 en adelante, Italia ha recuperado su elevado nivel de producción, el cual sigue en aumento (547799 t). Mientras que Egipto y España se mantienen en torno a 390672 t en el caso de Egipto y 199900 t en el caso de España, sin signos significativos de un aumento progresivo.

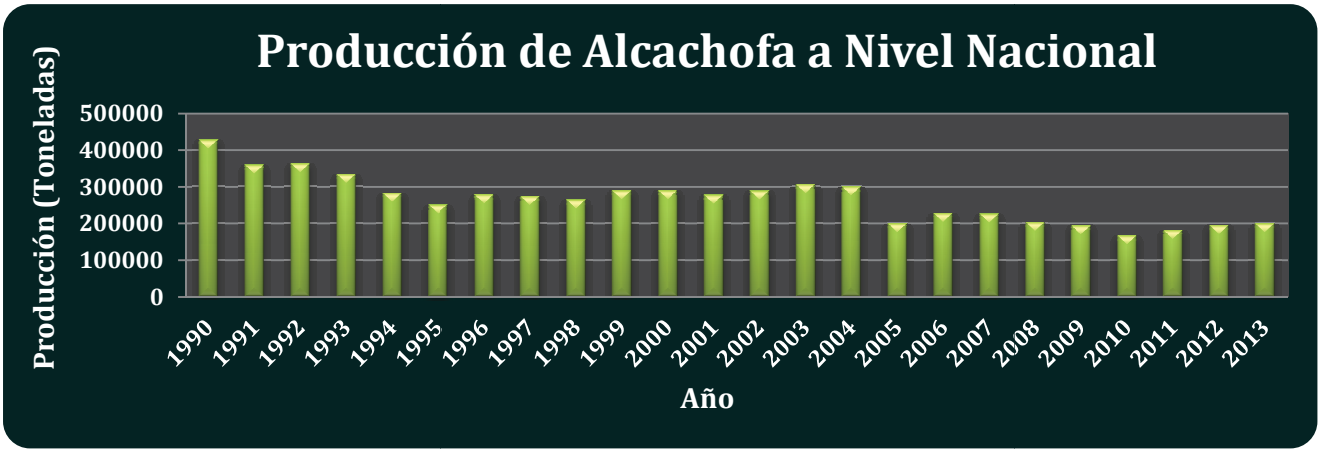
Tradicionalmente la alcachofa se cultiva ampliamente en el sur de Europa y la zona Norte de África, donde proporciona un pilar importante en la economía agrícola. Pero se han abierto dos nuevos horizontes para dicha hortaliza, en el Este de la cuenca mediterránea (China Continental) y al Oeste de la misma (Sudamérica). Los países latinoamericanos fueron los primeros en empezar a cultivar la alcachofa en grandes cantidades, lo cual ha venido favorecido por la utilización de semillas que permiten el desarrollo de plantas en un corto periodo de tiempo (Macua, 2007). Con lo que este cultivo se encuentra hoy en día muy extendido en California, Sudamérica (principalmente Perú y Argentina) y en China (FAO, 2014).



Gráfica Nº 1. Cantidades producidas de alcachofa (en toneladas) durante el período 2009-2013 por los 10 principales países productores en el mundo. Fuente: Elaboración propia a partir de datos estadísticos de la Dirección de Estadística de la FAO (FAOSTAT, 2015).

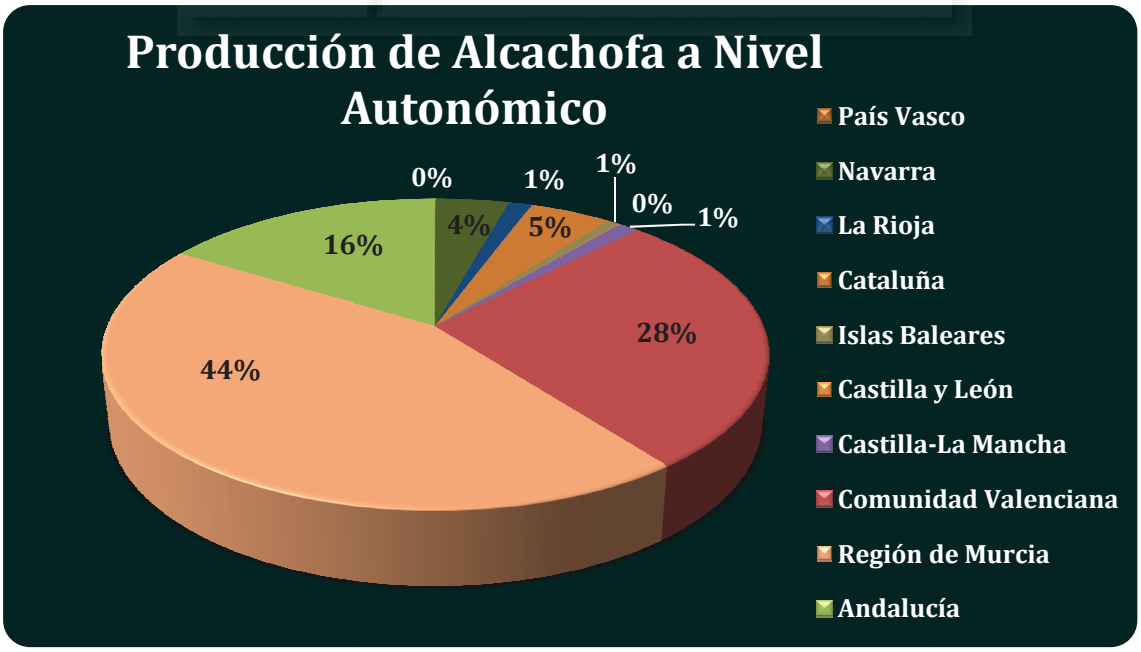
Como ya se ha comentado anteriormente, la producción de alcachofa en España ha disminuido de forma progresiva y sostenida a lo largo de los últimos 20 años. El descenso más acusado ocurrió a lo largo de la década de los 90 y, tras 10 años de relativa estabilidad, ha sufrido otro retroceso en los últimos años. Así la producción total a nivel nacional de alcachofa en el año 2013 (199900 t) es sensiblemente inferior a la del año 1990 (427900 t) (Gráfica Nº 2). En general, el 60 % de la producción se dirige a la industria y el 40 % restante para el consumo en fresco, quedando un 75 % en el mercado de interior y el restante 25 %

exportado al resto del mercado comunitario. España ha visto diezmada su producción por diversos factores comunes al resto de la actividad hortofrutícola como pueden ser el progresivo abandono de la agricultura por otras actividades económicas, la falta de ayudas en el sector y la creciente competencia de los mercados emergentes.



Gráfica Nº 2. Cantidades producidas de alcachofa (en toneladas) en España durante el período 1990-2013. Fuente: Elaboración propia a partir de datos estadísticos de la Dirección de Estadística de la FAO (FAOSTAT, 2015).

Dentro de nuestro país, este cultivo tiene especial importancia en las comunidades autónomas del litoral mediterráneo, especialmente en Murcia, con más de un 40 % de la producción nacional en el año 2012, y la Comunidad Valenciana con un 28 % de la producción nacional en dicho año. También, destaca Andalucía con un 16 % de la producción nacional (Gráfica Nº 3).



Gráfica Nº 3. Distribución de la producción de alcachofa en España por Comunidades Autónomas en el año 2013. Fuente: Elaboración propia a partir del Anuario de Estadística del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA, 2013).

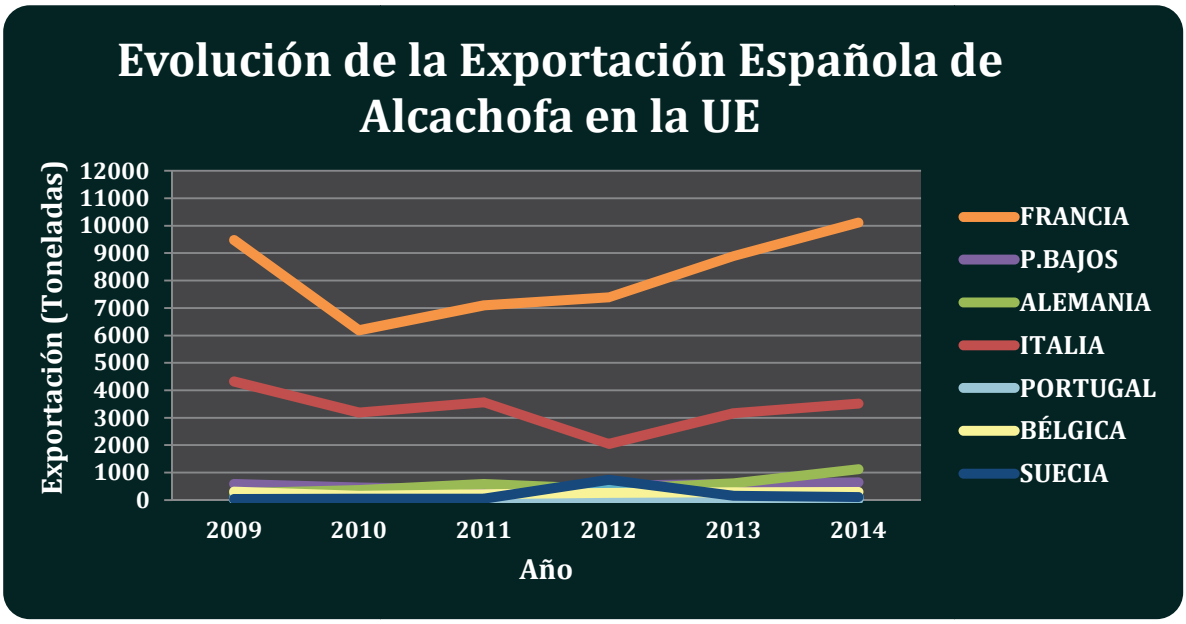
La producción de alcachofa para exportación se realiza casi exclusivamente en Murcia, empleándose variedades de tamaño grande y color violáceo, características más demandadas en el mercado exterior (predominantemente en Francia). La variedad cultivada en la Región de Murcia es mayoritariamente la "Blanca de Tudela", con la que se produce una alcachofa de calidad que presenta un aspecto exterior muy compacto y apiñado. La alcachofa de la zona presenta unas cualidades propias y un mayor aguante al ennegrecimiento después del corte, factor muy valorado por el comercio, que se refleja en unos precios de mercado superiores (Rodríguez-López, 2009).

1.2.2. Perfiles de exportación e importación

En cuanto al comercio exterior, España es el principal país exportador y se encuentra en una posición privilegiada en lo que a la exportación de alcachofa en fresco se refiere, siendo su principal mercado los países del norte y centro de Europa.

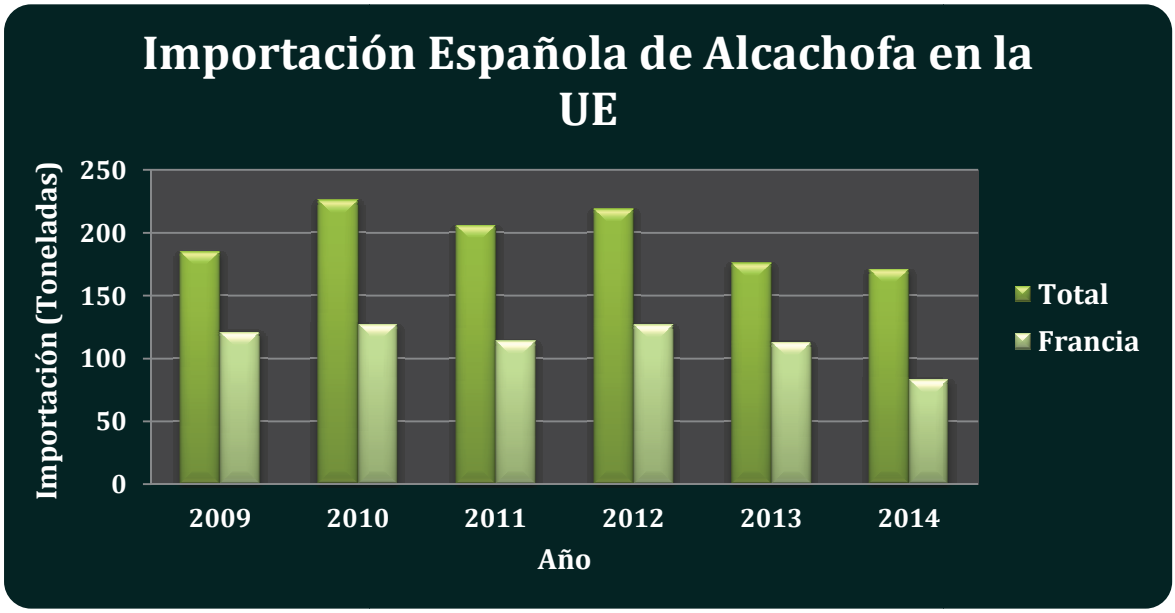
Según datos de la Federación Española de Asociaciones de Productores y Exportadores de Frutas, Hortalizas, Flores y Plantas vivas (FEPEX), en el año 2011 las exportaciones de alcachofa a países de la UE fueron de 12000 t, por lo que sufrió un ligero ascenso con respecto al año 2010, siendo Francia e Italia con 7093 t y 3562 t, respectivamente, los mayores clientes seguidos, muy de lejos, por países como Alemania con casi 586 t y los Países Bajos con 391 t. Las exportaciones fuera de la UE fueron tan solo de 206 t. La evolución del perfil de exportación española muestra una tendencia progresiva en la exportación a países como Francia, una recuperación del volumen exportado en el caso de Italia tras sufrir un descenso significativo en torno al año 2012 y un mantenimiento en el nivel de exportación de otros países como Alemania, Suecia, Países Bajos, etc. (Gráfica Nº 4).

El protagonismo de las exportaciones en la producción de alcachofa es debido, por un lado, a la época en la que se comercializan los capítulos y, por otro lado, a la variedad de alcachofa principalmente producida y a sus características. Pues la variedad "Blanca de Tudela" es ideal para su consumo en fresco dado el mayor tamaño de sus capítulos y que no es muy cultivada en otros países, ya que se prefieren variedades de propagación por semilla. En Navarra, donde se origina esta variedad, la temporada más habitual de plantación son los diez primeros días de agosto y la planta pasa el invierno en roseta, sin producir capítulos. En cambio, en la Región de Murcia y Comunidad Valenciana (principales zonas productoras por su clima templado) existe una tendencia en atrasar su plantación para conseguir una producción más precoz (Macua et al., 2012). Esto facilita su entrada en el mercado a mediados de octubre con respecto a otros países como Francia que tienen una producción más tardía.



Gráfica Nº 4. Evolución de la exportación española de alcachofa en distintos países de la UE durante los últimos seis años. Fuente: Elaboración propia a partir de datos estadísticos del sector en la Federación Española de Asociaciones de Productores y Exportadores de Frutas, Hortalizas, Flores y Plantas vivas (FEPEX, 2015).

En cuanto a las importaciones, España ocupaba el noveno lugar en el año 2008 con un volumen aproximado de 220 t de alcachofas importadas. De este volumen total, Francia representaba la mayor parte siendo, por lo tanto, el principal exportador. En los años posteriores, según datos estadísticos de FEPEX, el volumen de importación se mantiene en torno a un rango de 200-250 t y Francia continúa siendo el principal exportador (Gráfica Nº 5).



Gráfica Nº 5. Cantidades importadas de alcachofa en España procedentes de países de la UE y representación de Francia como el principal país exportador. Fuente: Elaboración propia a partir de datos estadísticos del sector en la Federación Española de Asociaciones de Productores y Exportadores de Frutas, Hortalizas, Flores y Plantas vivas (FEPEX, 2015).

La interpretación que podemos hacer de estos datos es que la alcachofa es un producto con cierto peso dentro de la actividad hortofrutícola española y que cuenta con una demanda significativa dentro del mercado de la UE. Adquiere especial relevancia la vida comercial de este producto ya que está sujetos a mantener sus características intrínsecas tras ser sometido a largas distancias. Es por ello crucial perfeccionar los tratamientos poscosecha, para poder ofrecer una calidad óptima durante un periodo prolongado, posibilitando así la creación de nuevos mercados y, en definitiva, ser más competitivos a la hora de utilizar los recursos disponibles.

1.3. Problemática en poscosecha

Tanto frutas como hortalizas son alimentos extremadamente delicados en cuanto a su conservación tras la recolección, fundamentalmente debido al elevado contenido en agua (aproximadamente, el 90 % de su composición). El término poscosecha se entiende como el periodo en que se encuentra un producto y las actividades que se realizan con él, una vez éste ha sido cosechado y hasta que sea consumido o llegue a manos del consumidor (Valero, 2012).

Las enfermedades de poscosecha que causan el deterioro se han generalizado debido a los procedimientos de transporte y manipulación inadecuada (aumento de los niveles de lesiones o heridas). El producto cosechado podría estar infectado por patógenos antes de la cosecha en condiciones de campo o pueden infectarse durante el transporte y almacenamiento. Se estima que en los países desarrollados, alrededor del 25 % de todas las frutas perecederas cosechadas se pierden entre la cosecha y el consumo, mientras que este porcentaje aumenta hasta el 50-70 % en los países subdesarrollados. Por lo tanto, una gestión poscosecha apropiada es de especial importancia para proporcionar productos con estándares de alta calidad y con una menor incidencia de deterioro (Valero y Serrano, 2010).

En el caso de la alcachofa, una vez que ha sido recolectado el capítulo inmaduro de la planta y se ha iniciado el periodo denominado poscosecha, pueden ocurrir una serie de cambios o alteraciones más o menos acusadas que merman la calidad del producto de forma progresiva. Dichas alteraciones son:

- ***Pérdida de peso*** con la consecución de un marchitamiento del capítulo.
- ***Endurecimiento y apertura de las brácteas***, es decir, obtención de capítulos espigados con falta de compacidad.
- ***Aumento de la pilosidad del receptáculo***, siendo esta dura y no sedosa.
- ***Alteraciones en el color***, por degradaciones de los pigmentos de la piel.
- ***Podredumbres o alteraciones fúngicas.***
- ***Daños por frío*** con la consecuente aparición de roturas y ampollas.

Los dos grandes procesos poscosecha que más van a comprometer la vida comercial de la alcachofa son la pérdida de agua por traspiración y la respiración del capítulo floral. Se puede afirmar que un gran número de las alteraciones postcosecha son derivadas de dichos procesos.

En el momento de la cosecha, el contenido en agua del producto suele ser elevado pero después de la cosecha, hay dos factores que conducen a la pérdida de peso del mismo: (1) El agua ya no puede ser tomada del suelo debido a la interrupción del ciclo de vida natural de la planta y (2) la transpiración de la misma, que es un proceso físico por el cual el vapor de agua puede penetrar en los estomas y la epidermis (Valero y Serrano, 2010). La transpiración supone ante todo una pérdida de peso que experimenta la alcachofa durante su vida poscosecha y que supone un factor negativo a la hora de su venta, pues baja considerablemente el rendimiento que el vendedor final va a conseguir de la misma. En diferentes bibliografías, se habla de que un 5 % de pérdida de peso convierte las alcachofas en productos incomerzializables pues presenta claros signos de marchitamiento como resultado de la plasmosis celular (Salunkhe et al., 1991).

La ***pérdida de peso*** está influenciada por factores como son: la respiración, la transpiración, la humedad, la temperatura, la estructura y el estado del producto, las heridas y la ventilación. Durante la respiración de la alcachofa, se va a ver afectado el valor nutritivo de la misma pues se desencadenan diferentes procesos degradativos. Además, una tasa de respiración elevada va a acrecentar la incidencia de las pérdidas de agua, pues durante el intercambio de gases que se lleva a cabo en la respiración es donde se pierde la mayor parte del vapor de agua, y las alcachofas se encuentran entre las hortalizas con mayor actividad metabólica (Tabla Nº 6).

Tabla. Nº 6. Tasa de respiración de la alcachofa.

Temperatura	mL CO_2/Kg·h
0 °C (32 °F)	8-22
5 °C (41 °F)	13-30
10 °C (50 °F)	22-49
15 °C (59 °F)	38-72
20 °C (68 °F)	67-126

Fuente: UC DAVIS POSTHARVEST TECHNOLOGY Maintaining Produce Quality & Safety, 2013.

Por tanto, la pérdida de agua conlleva alteraciones en el aspecto (arrugamiento y marchitamiento), la textura (endurecimiento de las brácteas, pérdida de crocantez y flacidez) y el valor nutritivo (Kader et al., 1996). Por lo que

se puede deducir que reduciendo la tasa de respiración se puede llegar a minimizar el impacto de un gran número de alteraciones poscosecha.

Es por tanto la actividad respiratoria un buen índice de la capacidad de conservación de un producto ya que a mayor velocidad de respiración, menor es la vida útil y cuanto menor sea la intensidad respiratoria, mayor será la capacidad de almacenamiento del mismo.

Por otro lado, el ***endurecimiento y la apertura de las brácteas*** así como el ***aumento de la pilosidad del receptáculo*** aparecen como una consecuencia directa de las pérdidas de peso por deshidratación que sufre la alcachofa. Se necesita, por lo tanto, para retrasar la aparición de estos defectos una conservación por frío. También, las ***alteraciones dadas en el color*** son uno de los problemas más frecuentes durante la conservación de la alcachofa debido a la degradación de los pigmentos (clorofilas), que se van oscureciendo.

En cuanto a las ***podredumbres***, son una de las enfermedades más importantes producidas por el hongo *Botrytis cinerea*. Esta podredumbre gris (*Botrytis cinerea*) y la pudrición blanda bacteriana (*Erwinia carotovora*) pueden suponer problemas en el almacenaje y la distribución si no se mantienen las condiciones de temperatura óptimas. Cuando se almacena a temperaturas bajas durante períodos prolongados, los hongos oportunistas (como *Fusarium spp.*) pueden desarrollarse en la zona cortada del tallo o en las brácteas (Figura Nº 5). Un enfriamiento rápido y el mantenimiento de temperaturas tan bajas como sea posible, sin que se produzcan daños por frío, son las medidas más eficaces para controlar el desarrollo de los mismos (UC DAVIS Postharvest Technology, 2013).

El ***daño por congelamiento*** en la alcachofa comienza a una temperatura de – 1,2 °C (29,9 °F). El ampollamiento de la cutícula y el bronceado de las brácteas externas son síntomas de un daño leve por congelamiento (Figura Nº 5). Esto puede ocurrir en el campo con yemas cosechadas en el invierno y se usa como un índice de calidad en la comercialización. Un daño más severo conlleva a brácteas de apariencia acuosa y un corazón de color café a negro, característico de una textura gelatinosa (UC DAVIS Postharvest Technology, 2013).

En el caso de que se hayan producido daños físicos durante la recolección o la manipulación, aparecen magulladuras y aumenta la susceptibilidad de los capítulos de alcachofa a problemas por infestación microbiana. Estos daños por magulladuras y compresión son muy comunes cuando no se siguen prácticas cuidadosas de cosecha y manejo (UC DAVIS Postharvest Technology, 2013).

Por concluyente, citar que el etileno es la fitohormona responsable de los procesos de estrés en las plantas, así como la maduración de los frutos, además de la senescencia de hojas y flores y de la abscisión del fruto. Las alcachofas tienen una sensibilidad baja al etileno presente en el ambiente, por lo que este gas no se

considera como factor de cuidado en el manejo de postcosecha y en la distribución del producto (UC DAVIS Postharvest Technology, 2013).

Fig. Nº 5. Detalles gráficos de podredumbre gris en brácteas de alcachofa por *Botrytis cinerea* (imagen izquierda) y de daños por frío, heladas (imagen derecha). Fuente: Elaboración propia y Google – Infoagro.

1.4. Tratamientos poscosecha

Con el fin de evitar los daños producidos durante el almacenamiento tras la recolección, es importante mantener las cualidades nutricionales y organolépticas del producto en cuestión. La alcachofa, es concretamente una hortaliza muy perecedera debido a su elevada actividad respiratoria y a su susceptibilidad a perder peso, pudrirse y sufrir daños fisiológicos y bioquímicos. Para evitar cualquier tipo de desorden en el periodo poscosecha y extender su vida útil, se pueden emplear diferentes tratamientos poscosecha (Melilli et al., 2012).

Las técnicas empleadas para la conservación de frutas y hortalizas se basan principalmente en reducir la actividad metabólica del producto. Las dos técnicas consideradas más importantes en la preservación de la calidad del producto son la implementación de la tecnología de refrigeración junto a mecanismos que modifican los gases en el entorno del producto. Actualmente, todas estas herramientas se pueden complementar con tecnologías emergentes como se verá a continuación.

La ***refrigeración*** es la principal herramienta para prolongar la vida útil y mantener la calidad de los productos vegetales. Aplicando bajas temperaturas durante el almacenamiento, se logra un aumento del tiempo de conservación de los productos vegetales, ya que serán más lentas las reacciones químicas, la actividad enzimática y la multiplicación de los microorganismos. De hecho, por cada 10 °C de

reducción en la temperatura, el ritmo respiratorio se reduce de 2 a 3 veces y la vida útil se incrementa también en la misma proporción.

Aunque hay que tener en cuenta que temperaturas por encima o por debajo del rango óptimo pueden causar deterioro debido a congelamiento, daño por frío (chilling injury) y/o quemaduras. Para poder conservar el producto en refrigeración es necesario crear una cadena de frío desde su inmediata recolección hasta el posterior almacenaje, transporte y comercialización. Con la refrigeración de estos productos se consigue aminorar drásticamente su intensidad respiratoria, las pérdidas de peso por traspiración, la producción de etileno y el desarrollo de microorganismos (Raccuia y Melilli, 2007).

Por otro lado, en la ***pre-refrigeración*** se emplean las temperaturas bajas para retardar las reacciones químicas y la actividad de las enzimas de los alimentos, así como para prevenir o detener la multiplicación y la actividad de los microorganismos existentes en los mismos, aunque solo a corto plazo (Valero, 2012). Dicho tratamiento tiene como objetivo eliminar el calor de campo, moderando rápidamente la intensa actividad fisiológica tras la recolección y prolongando la conservación de los tejidos vegetales. Sus principales ventajas son: disminuir la transpiración (pérdida de peso y marchitez), frenar la maduración, senescencia y pérdida de valor nutritivo, reducir el ataque de microorganismos, mantener la firmeza, evitar oscilaciones térmicas y facilitar el transporte frigorífico.

Por último, dentro del almacenamiento en ***atmósferas controladas (AC)*** se define la atmósfera controlada como una modificación controlada de la misma durante todo el ciclo (Guillén, 2010). En este método de conservación el producto se almacena en una cámara hermética y se produce una modificación intencionada de la atmósfera natural y mantenimiento de la misma durante todo el ciclo, con los gases en las proporciones adecuadas para mantener la óptima calidad de cada producto. Se controlan los niveles de oxígeno, dióxido de carbono, vapor de agua y etileno. Consigue un retraso de maduración y senescencia, una reducción de los desórdenes fisiológicos y de las podredumbres y controla la acción de los insectos. No hay grandes beneficios con la aplicación de la atmósfera controlada en las alcachofas si estas son almacenadas a 0 °C (Madrid, 2011).

En cambio, en el envasado en ***atmósferas modificadas (MAP)*** se define una atmósfera modificada como una modificación de la atmósfera natural teniendo en cuenta las actividades respiratorias de los productos e implica el uso de polímeros plásticos permeables a los gases (Guillén, 2010). En dicho, no se controla o ajusta la composición de los gases en el interior del envase durante el almacenamiento. Por ello, se utiliza a veces el término envasado en atmósferas pasivas (PAM). Consiste en hacer fluir en el interior del envase, antes de su sellado, aire o la

mezcla de gases que se haya predeterminado, de acuerdo con la sensibilidad al oxígeno y con la actividad metabólica del producto que se va a envasar.

El curso de la modificación de la atmósfera se determina atendiendo a tres fenómenos que interactúan entre sí: respiración del producto, difusión de los gases a través del producto y permeabilidad del film. El control riguroso de la temperatura en la cadena de distribución es un pre-requisito para el uso óptimo del MAP. Estudios realizados en la materia, aconsejan que la atmosfera final tenga unas proporciones de 2 KPa de O_2 y de 8 a 10 KPa de CO_2 con una humedad relativa del 95-99 % y refrigeradas a 2 °C para lograr mantener la calidad de la alcachofa durante 2-3 semanas (Artés F., 2007). Sus beneficios consisten en una reducción de la tasa de respiración y del producto a la sensibilidad y acción del etileno, mantenimiento del color, textura, vitaminas y minerales así como una reducción del pardeamiento enzimático y de los síntomas de daños por frío.

Otra variante dentro del envasado, es el envasado en ***film macroperforados*** que consiste en una técnica poscosecha totalmente natural. Se utiliza con diversos productos en la actualidad, pero aún no se comercializa con alcachofa. Mediante el envasado utilizado se protege al producto de diferentes magulladuras y a su vez, con las macroperforaciones que presenta el film cobertor se ayuda a la alcachofa a transpirar, evitando así las condensaciones y disminuyendo sus pérdidas de peso en comparación con el mismo producto sin envasar. Este tratamiento ha sido el utilizado en el presente trabajo en combinación con una de las tecnologías emergentes poscosecha como es la aplicación de productos con propiedades antioxidantes para el control de desórdenes fisiológicos y mantenimiento de la calidad, en concreto la aplicación de aceites esenciales.

1.4.1. Tecnologías emergentes: Aplicación de aceites esenciales

Actualmente se encuentra en desarrollo una serie de nuevas tecnologías poscosecha para alargar la vida útil de frutas y verduras, así como para mejorar sus cualidades de consumo. Entre las tecnologías emergentes más significativas, encontramos: Radiaciones de luz UV, ozono, aceites esenciales y recubrimientos comestibles.

La aplicación de ***aceites esenciales*** es la tecnología poscosecha en la que se centra este trabajo. Los aceites esenciales son una mezcla compleja de varios compuestos de aromas volátiles, pertenecientes a diferentes componentes químicos orgánicos provenientes del metabolismo secundario de algunos vegetales superiores en los que ejercen funciones de defensa y atracción. Se obtienen mediante destilación en corriente de vapor o por expresión del material vegetal. Algunos de los más usados se obtienen de la canela ***(cinamaldehído)***, clavo ***(eugenol)***, orégano ***(carvacrol)***, eucalipto ***(cineol)*** y tomillo ***(timol)***, entre otros.

Generalmente, los aceites esenciales poseen notables propiedades antimicrobianas. Sin embargo, su mecanismo de acción aún no está definido. Considerando la gran variedad de compuestos químicos presentes en los aceites esenciales, es muy probable que su actividad antimicrobiana no sea atribuible a un mecanismo específico sino a la acción combinada de varios de ellos sobre distintas localizaciones de la célula.

Entre los compuestos naturales, las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales derivados de muchos órganos de la planta han sido empíricamente reconocidas desde hace siglos, pero han llamado recientemente la atención científica (Appendini y Hotchkiss, 2002; Burt, 2004). Además, dichos volátiles han mostrado también propiedades antioxidantes (Ruberto y Baratta, 2000).

Los aceites esenciales o los llamados aceites volátiles o etéreos (Guenther, 1948) son líquidos aceitosos aromáticos obtenidos a partir de órganos de la planta: flor, brote, semilla, rama, corteza, frutos y raíces. El término "*aceite esencial*" se cree que deriva de la palabra "*Quinta essentia*" con uso médico atribuido a Paracelso. Los aceites esenciales se utilizan como alimentos aromatizantes debido a su sabor y aroma, pero hoy en día los aceites esenciales y sus componentes puros están ganando cada vez mayor interés desde el punto de vista de su seguridad, su amplia aceptación por los consumidores y su explotación para usos polivalentes (Cowan, 1999). Los aceites esenciales más comunes así como el componente principal utilizado en la industria alimentaria con la descripción de propiedades antioxidantes o antimicrobianas *in vitro*, han sido revisados recientemente (Serrano et al., 2008a). Estos compuestos naturales pertenecen a los géneros *Thymus*, *Origanum*, *Syzygium*, *Mentha* y *Eucalyptus*.

Muy recientemente, los aceites esenciales de especies de cítricos se han postulado como antimicrobianos potenciales. Los componentes de los aceites esenciales de cítricos se componen del 85 al 99 % por componentes volátiles y del 1 al 15 % por componentes no volátiles. Los constituyentes volátiles son una mezcla de monoterpenos (limoneno) y de hidrocarburos de sesquiterpeno y sus derivados oxigenados, incluyendo aldehídos (citral), cetonas, ácidos, alcoholes (linalol) y ésteres (Fisher y Phillips, 2008). Todos los aceites esenciales muestran actividad antioxidante, pero su fraccionamiento ha indicado que los componentes principales responsables del efecto antioxidante son el carvacrol procedente del orégano, el timol para el tomillo, el eugenol para el clavo, el mentol de la menta y eucaliptol del eucalipto.

Las estructuras químicas de estos aceites esenciales naturales (Figura Nº 6), muestran que el eugenol, timol y carvacrol son fenoles, mientras que el eucaliptol y mentol son terpenoides. Para dichos compuestos, se ha informado que la actividad

como antioxidantes es cercana a la del α-tocoferol (Ruberto y Baratta, 2000; Sacchetti et al., 2005) o a la de la vitamina C (Kim y Lee, 2004), debido principalmente a la presencia de grupos hidroxilo en el anillo de benceno.

Sin embargo, la principal actividad biológica y el posible uso de los aceites esenciales en la industria alimentaria derivan de su capacidad para destruir microorganismos. La actividad antimicrobiana *in vitro* del eugenol, timol y carvacrol se ha observado contra bacterias (Periago et al., 2004), levaduras (Arora y Kaur, 1999) y hongos (Vázquez et al., 2001). Entre las bacterias, los aceites esenciales son generalmente más inhibidores frente a las Gram-positivas que contra las bacterias Gram-negativas (Holley y Patel, 2005).

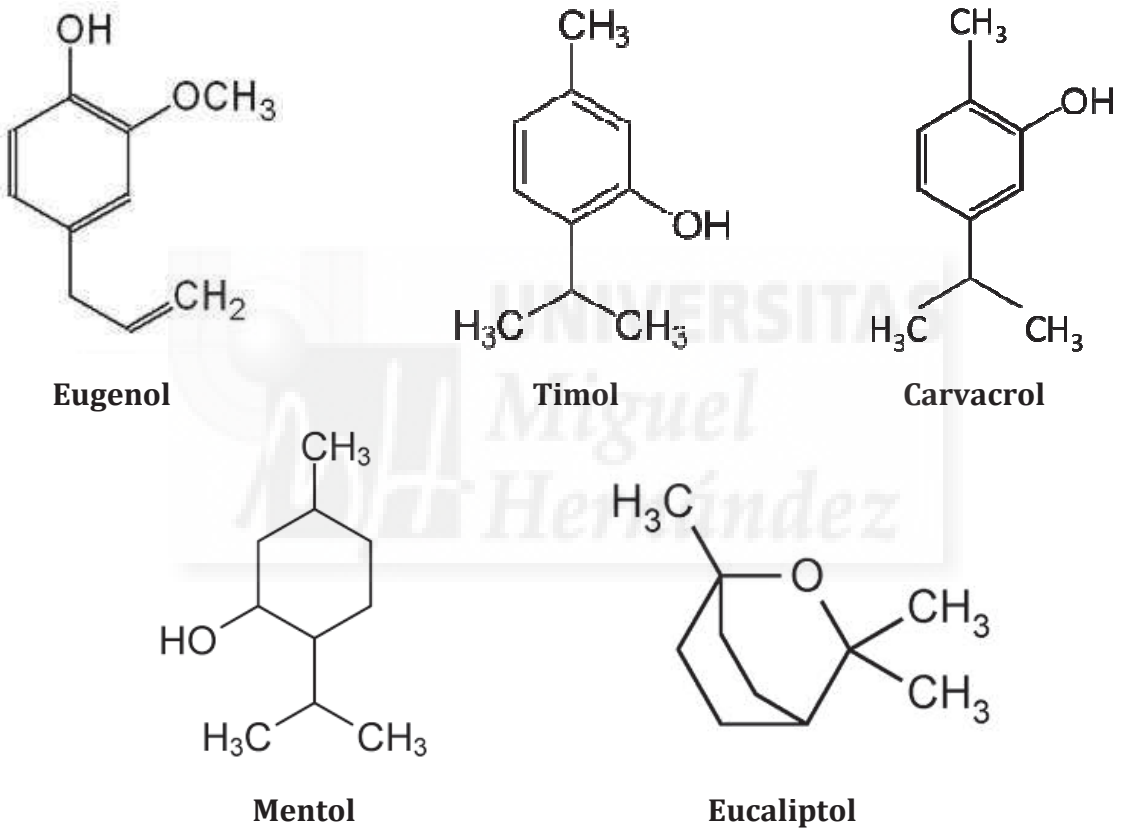


Fig. Nº 6. Estructuras químicas de los principales aceites esenciales que presentan tanto actividad antioxidante como antimicrobiana. Fuente: Postharvest Biology and Technology for Preserving Fruit Quality, 2010.

Sin embargo, la eficacia *in vivo* y la actividad práctica de la acción de los aceites esenciales no ha sido completamente aclarada. Algunos autores se lo han atribuido a su hidrofobicidad, la cual les permite particionar los lípidos de la membrana celular perturbando su integridad y la de los iones de equilibrio inorgánico (Bagamboula et al., 2004), pero otros han postulado que la presencia del anillo fenólico puede ser necesario para la actividad antimicrobiana del eugenol y del timol (Ultee et al., 2002). Por otra parte, se cree que el lugar/es así

como el número de grupos hidroxilo en el anillo fenólico están relacionados con la toxicidad relativa a los microorganismos, con la evidencia de que un incremento en la hidroxilación tiene como resultado un aumento de la toxicidad (Cowan, 1999).

Para los aceites esenciales con una ausencia de grupos fenólicos como el mentol, se ha especulado que el mecanismo de acción implica disrupción de la membrana por los compuestos lipófilos (Serrano et al., 2008a). Específicamente, los compuestos aromáticos y fenólicos ejercen sus efectos antimicrobianos en la membrana citoplasmática mediante la alteración de su estructura y función. El flujo de salida de K^+ es generalmente un signo temprano de daño y, a menudo, es seguido por un flujo de salida de los componentes citoplasmáticos (Cowan, 1999; Ultee et al., 2002).

La pérdida del carácter diferencial en la permeabilidad de la membrana citoplasmática se identifica a menudo como la causa de muerte celular. Otros eventos que podrían conducir a disfunción de la membrana y a la subsiguiente interrupción, incluyen la disipación de los dos componentes de la fuerza motriz de los protones en las células (el gradiente de pH y el potencial eléctrico) ya sea por los cambios en el transporte de iones o por una despolarización a través de cambios estructurales en la membrana; la interferencia con el sistema de generación de energía (ATP) en la célula; o la inhibición de la enzima impidiendo la utilización de sustratos para la producción de energía (Holley y Patel, 2005).

La Comisión Europea ha registrado una serie de aceites esenciales así como sus componentes que se aplicarán en los productos alimenticios, incluyendo el eugenol, mentol y timol (Decisión de la Comisión, el 23 de enero de 2002, CE). Estos compuestos aparecen también en EAFUS (*Everything Added to Food in the US*)[2] y en la lista GRAS (*Generally Recognized as Safe*)[3]. En los alimentos, el uso potencial de los aceites esenciales como conservantes naturales se ha observado en el queso, en productos de panadería y en la carne, entre otros (Burt, 2004), con las principales desventajas en el uso de estos compuestos naturales que están relacionadas con la persistencia del fuerte aroma y el hecho de que a veces cambian las propiedades organolépticas de los alimentos de manera adversa. En los frutos, el uso de compuestos naturales tales como hexanal, 2-(E)-hexenal y acetato de hexilo mejoran la vida útil y la seguridad de las frutas mínimamente procesadas (Lanciotti et al., 2004).

Aunque las propiedades fungitóxicas de los componentes volátiles de las plantas superiores se han demostrado, se ha prestado poca atención a la fungitoxicidad de estas sustancias cuando se combinan. Se ha descrito que los

[2] EAFUS es una base de datos desarrollada por la FDA de aquellas sustancias que pueden adicionarse a un alimento dentro de la reglamentación de los Estados Unidos.
[3] Generalmente reconocido como seguro; Aquellas sustancias cuyo uso en alimentos ya había sido reconocido como seguro por los expertos, antes de 1958. Hoy en día, hay en torno a 700.

aceites esenciales pueden inducir la potencia fungitóxica, que puede ser debido a la sinergia entre sus componentes.

De hecho, en un estudio sobre uva de mesa Aledo se utilizó una mezcla de aceites esenciales (carvacrol, timol y eugenol) y la concentración más baja era suficiente para controlar el deterioro microbiano (Guillén et al., 2007b) con respecto a estos aceites esenciales utilizados solos (Valverde et al., 2005a; Valero et al., 2006). Esta información es muy valiosa para la investigación futura, ya que la potencia fungitóxica de la mayoría de los fungicidas se ha visto mejorada cuando se combina (Tripathi y Dubey, 2004), así como la actividad antimicrobiana (Burt, 2004).

La mejora del potencial fungitóxico de mezclas de aceites puede ser debido a la acción conjunta de dos o más sustancias presentes en los mismos. Este sinergismo, sería beneficioso en la protección después de la cosecha debido a que el patógeno no produciría fácilmente resistencia contra los componentes. Sin embargo, se requiere más trabajo en la acción sinérgica de productos vegetales bajo *in vitro* e *in vivo*. La literatura también es escasa en el modo de acción de los aceites esenciales como antifúngico en poscosecha.

Se necesitan estudios adicionales para una mejor comprensión del mecanismo/s por el cual estos aceites esenciales afectan a la fisiología modular del proceso de maduración, así como su capacidad para destruir los microorganismos. Además, la eficacia de una combinación de dos o más de estos compuestos (con diferentes grupos funcionales) es muy aconsejable.

2. OBJETIVOS

La alcachofa es una hortaliza que muchos consumidores consideran selecta por sus excelentes propiedades organolépticas y nutritivas. Como se ha mostrado en la literatura expuesta, su cultivo a nivel europeo se limita prácticamente a los países de la cuenca mediterránea y, entre ellos, España ocupa un lugar destacado, siendo la variedad "Blanca de Tudela" la de mayor producción y relevancia.

Por otro lado, la exigencia actual del consumidor en demandar cada vez más productos hortícolas de mayor calidad y con concentraciones residuales de fitosanitarios químicos menores, se ha visto reflejada en que la tendencia de los mercados lleve a los productores y comercializadores a poner en los lineales de los supermercados hortalizas que cumplan dichas premisas. De ahí, que no sólo en la agricultura ecológica sino también en la intensiva tradicional, se busquen cada alternativas de tipo natural al uso de fitosanitarios de síntesis química.

Por ello, el objetivo fundamental del presente trabajo ha sido estudiar si la aplicación de aceites esenciales combinados con la utilización de film macroperforado mejora la conservación poscosecha de la alcachofa "Blanca de Tudela", manteniendo la calidad de la misma y, por lo tanto, aumentando las posibilidades de comercialización de forma viable económicamente. A la vez, se evaluarán las propiedades funcionales de esta hortaliza, mediante la determinación de la actividad antioxidante y los principales compuestos fenólicos, para determinar cómo se ven afectadas por el tratamiento.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Material vegetal

El material vegetal utilizado para llevar a cabo el experimento ha sido la alcachofa. En concreto, la variedad ***"Blanca de Tudela"***. Las inflorescencias cosechadas presentaban una gran heterogeneidad en cuanto a tamaños se refiere dado que el cultivo de las mismas se había obtenido por multiplicación vegetativa por zueca (Arce, 1993). Por ello, se adquirió una cantidad aproximada de 1000 alcachofas de las cuales, tras realizar un destrío, se seleccionaron 300 alcachofas con el fin de que fuesen lo más homogéneas posibles en cuanto a calibre.

El calibre aproximado de los capítulos de alcachofa utilizados era de 84,5 mm de diámetro. Una vez recolectadas en campo fueron transportadas al laboratorio de forma inmediata para someterlas al experimento, sin sufrir tratamientos previos de refrigeración.

Fig. Nº 7. Capítulos de alcachofa recepcionados y dispuestos en cajas. Fuente: Elaboración propia.

Dicha variedad es la variedad dominante en las plantaciones españolas de alcachofa (Gil Ortega, 2001). Como se observa en la imagen superior, se caracteriza por un capítulo verde claro, compacto y bien formado, con presencia de antocianos y un jaspeado inferior al 5% en la base de las brácteas de la base del capítulo. Su forma es cónica-cilíndrica y no presenta espinas (MAGRAMA, 2015).

Se ha escogido en concreto esta variedad dada su producción temprana en el área mediterránea, su amplia comercialización en la zona de la Vega Baja y por el buen nivel de calidad que presenta. La parte vegetal utilizada en el experimento ha sido la parte comestible, es decir, el capítulo floral.

Los capítulos florales han sido recolectados una vez han alcanzado su estado óptimo de madurez comercial en base a los índices de calidad establecidos para su comercialización: Yemas compactas y bien formadas, de un color verde típico, un corte de tallo liso y uniforme realizado de 2,5 a 3,8 cm a partir de la base, libres de daños por insectos o por manejo y de defectos (UCDAVIS, Postharvest Technology).

3.2. Diseño experimental y tratamientos

En base a un estudio anterior titulado ***"Utilización del envasado macroperforado en poscosecha para mantener la calidad de alcachofa Blanca de Tudela"*** (Espinosa-Vicente, 2013), se ha querido profundizar en la investigación acerca de cómo mantener la calidad de la alcachofa en poscosecha y con ello, poner a punto las nuevas tecnologías poscosecha. En concreto, las referidas a la utilización de aceites esenciales como agentes antimicrobianos.

Para ello, se ha estudiado una combinación entre la aplicación de determinados aceites esenciales (eugenol, timol y carvacrol) con la creación de una atmósfera macroperforada alrededor de los capítulos de alcachofa.

La realización del experimento se fundamenta en realizar muestreos semanales, concretamente 5, de 60 alcachofas divididas en lotes de 15 unidades sobre los que se probó un tratamiento poscosecha. Dicho tratamiento consistía en lo siguiente:

- **1). CÁPSULA DE ACEITES ADHERIDA A LA BANDEJA DE PLÁSTICO:** La aplicación de los aceites esenciales se realizaba gracias a una especie de cápsula adherida a la bandeja de plástico que contenía el capítulo floral. En dicha cápsula se introducía un algodón empapado de los aceites, se embolsaban las muestras en las bolsas macroperforadas y se refrigeraban en cámaras. La aplicación del aceite era permanente y continua ya que dicha cápsula formaba parte de la muestra objeto de estudio, titulada ***"Aceites"***. El volumen de la bolsa macroperforada era de 3 L mientras que la concentración o dosis de aceites esenciales que se aplicó era de 0,33 $mL \cdot L^{-1}$. La mezcla de aceites esenciales aplicados estaba compuesta por eugenol, timol y carvacrol.

Como referencia para realizar la comparativa correspondiente de los datos obtenidos se tomó una muestra control, denominada; ***"Control" o "Control bolsa"***. La diferencia únicamente radica en la aplicación de los aceites esenciales. Todas las muestras tenían en común la utilización de la bolsa de plástico macroperforada. El control al igual que los aceites, estaba en cámara hasta el día correspondiente de muestreo.

Se midieron los parámetros fisiológicos y funcionales en 5 muestreos correspondientes a las sesiones semanales de: ***"Día 0+2"***, "***Día 7+2"***, "***Día 14+2"***, "***Día 21+2"***, "***Día 28+2"***. Cada muestreo semanal, a su vez, se dividía en dos sesiones de análisis: La primera se realizaba en el día correspondiente y la segunda a los dos días posteriores al mismo.

Fig. Nº 8. Tratamiento "Aceites" (derecha) y "Control" o "Control Bolsa" (izquierda). Fuente: Elaboración propia.

Con respecto a la medición de los parámetros fisiológicos, en la primera sesión se realizaban las determinaciones analíticas de todas las muestras embolsadas que habían estado en cámara. Mientras que en la segunda sesión, a los dos días, las mismas muestras se volvían a analizar pero habían pasado los dos días a temperatura ambiente. El objetivo era evitar la ralentización de la maduración y simular las condiciones reales de comercialización del producto o lo que se conoce con el término de ***"vida útil"*** o ***"shelf life"***. Es decir, periodo de tiempo en el cual el producto almacenado a temperatura ambiente mantiene los atributos de calidad mínimos para que sea comercialmente apto para su consumo.

Para la determinación de los parámetros funcionales, dependía del parámetro en sí. Los fenoles individuales y totales por HPLC se midieron únicamente a los dos días posteriores puesto que había que desembolsar la muestra ya que se realizó la medición en fresco de los muestreos 0+2, 14+2 y 28+2. Para la medición de la actividad antioxidante a pesar de que igualmente había que destruir la muestra (pelado de los capítulos), dichas muestras eran sometidas a una congelación rápida con nitrógeno líquido y se realizaba con el mismo patrón de tiempo y por duplicado. En cambio, los fenoles totales por Folin, al igual que los fenoles por HPLC, se midieron en fresco y dada la simplicidad de la técnica, se pudieron realizar a los dos días posteriores de todos los muestreos realizados.

Tabla Nº 7. Cronología abreviada del diseño experimental.

1º Muestreo	1º Sesión	Semana 0	Día 0	Aplicación de los dos tratamientos
	2º Sesión	Semana 0	Día 0+2	2 días a 20°C
2º Muestreo	1º Sesión	Semana 1	Día 7	7 días a 3°C y 95%HR
	2º Sesión	Semana 1	Día 7+2	7 días a 3°C y 95%HR + 2 días a 20°C
3º Muestreo	1º Sesión	Semana 2	Día 14	14 días a 3°C y 95%HR
	2º Sesión	Semana 2	Día 14+2	14 días a 3°C y 95%HR + 2 días a 20°C
4º Muestreo	1º Sesión	Semana 3	Día 21	21 días a 3°C y 95%HR
	2º Sesión	Semana 3	Día 21+2	21 días a 3°C y 95%HR+ 2 días a 20°C
5º Muestreo	1º Sesión	Semana 4	Día 28	28 días a 3°C y 95%HR
	2º Sesión	Semana 4	Día 28+2	28 días a 3°C y 95%HR + 2 días a 20°C

Fuente: Elaboración propia.

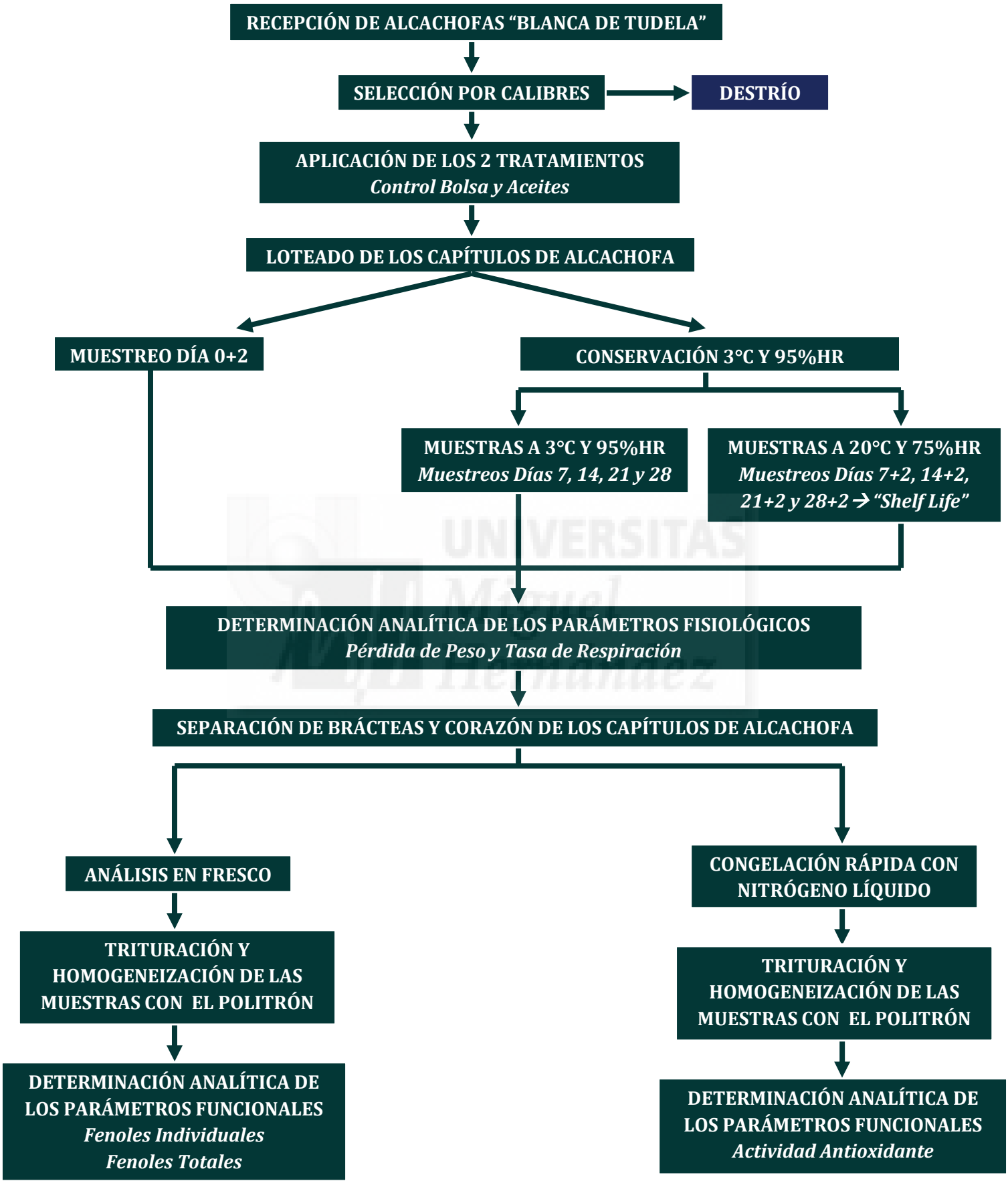


Fig. Nº 9. Representación esquemática del diseño experimental. Fuente: Elaboración propia.

3.3. Determinaciones analíticas

Las determinaciones analíticas realizadas durante el estudio se pueden dividir en dos ramas en función de los parámetros de interés. Por un lado, se realizaron análisis de dos parámetros fisiológicos: Pérdida de peso y tasa de respiración. Y por otro lado, de los parámetros funcionales: Fenoles totales por Folin, actividad antioxidante y fenoles individuales y totales por HPLC.

3.3.1. Parámetros fisiológicos

3.3.1.1. Pérdida de peso

La pérdida de peso es la principal causa de pérdida de calidad del producto en la conservación poscosecha del producto fresco (Barba-Teodoro, 2015). Las frutas y hortalizas frescas se componen principalmente de agua (80 % o más) y en la etapa de crecimiento tienen un abastecimiento abundante de agua a través del sistema radicular de la planta. Con la cosecha, este abastecimiento de agua se corta y el producto debe sobrevivir de sus propias reservas. Al mismo tiempo que ocurre la respiración, el producto cosechado continúa perdiendo agua hacia la atmósfera, tal como lo hacía antes de la cosecha, por un proceso conocido como transpiración.

El efecto neto de la transpiración es una pérdida de agua del producto cosechado, que no puede ser reemplazada. La velocidad con que se pierde esta, será un factor determinante en la vida poscosecha del producto. La pérdida de agua causa una disminución significativa del peso y a medida que avanza, disminuye la apariencia y elasticidad del producto perdiendo su turgencia, es decir, se vuelve blando y marchito (Repositorio FAO, 2015).

En el experimento, tanto en refrigeración como posteriormente durante el estudio de la vida útil a 20 °C, las pérdidas de peso se han calculado en % con respecto al peso inicial de los frutos antes de la conservación que se consideró como el 100 %. El pesado se efectuó con una balanza de la categorización Gram Precision, Serie BH-600, con una precisión de ± 0,01 gramos y una capacidad de 600 gramos.

Fig. Nº 10. Balanza utilizada para el pesado de los capítulos. Fuente: Elaboración propia.

3.3.1.2. Determinación de la tasa de respiración

Las frutas y hortalizas frescas necesitan respirar a fin de obtener la energía suficiente para la mantención de la vida. Respiran absorbiendo oxígeno (O_2) de la atmósfera y liberando dióxido de carbono (CO_2), tal como lo hacen el hombre, los animales y otros organismos. Durante la respiración la producción de energía proviene de la oxidación de las propias reservas de almidón, azúcares y otros metabolitos. Una vez cosechado, el producto no puede reemplazar estas reservas que se pierden y la velocidad con que disminuyen será un factor de gran importancia en la duración de la vida poscosecha del mismo (Repositorio FAO, 2015).

$$(CH_2O)_n + nO_2 \rightarrow nCO_2 + nH_2O + \text{Energía}$$

Fig. Nº 4. Reacción química del proceso respiratorio aerobio. Fuente: Repositorio FAO, 2015.

La medición de la actividad respiratoria de los capítulos de alcachofa es un indicador excelente de la actividad metabólica del tejido vegetal, por lo que, puede ser utilizada como parámetro orientativo de la vida útil del producto. Dicha medición, se puede realizar mediante dos tipos de sistemas:

- **1). Sistema estático o cerrado.**
- **2). Sistema dinámico de flujo o abierto.**

En este estudio, se optó por la utilización del sistema estático o cerrado. Dicho sistema fue propuesto por Adel A. Kader (1992) y al contrario que el sistema dinámico de flujo, no existe una mezcla de flujo continuo de gases por lo que no requiere de dispositivos de control del mismo, tales como tubos capilares y válvulas de aguja. El sistema consiste básicamente en encerrar el producto en recipientes de cierre hermético durante un período de tiempo determinado. Tras dicho tiempo, se extraen con ayuda de jeringuillas las correspondientes muestras de gases para conocer la concentración de CO_2 de las mismas, y así poder determinar la cantidad de este que se puede llegar a producir en un tiempo dado.

Por otro lado, los capítulos embolsados y dispuestos en las bandejas de plástico se introdujeron de dos en dos en 7 tarros de vidrio de unos 10 L de capacidad, provistos de una tapadera con doble cierre para conseguir la hermeticidad del interior. Dichos tarros, disponían de una válvula (septum) de material elastómero que permitió las extracciones de 5 jeringuillas de 1 mL de aire de cabeza de cada tarro al cabo de 30 minutos.

Fig. Nº 11. Sistema estático o cerrado de extracción de gases de los capítulos de alcachofa. Fuente: Elaboración propia.

El CO_2 producido como consecuencia de la respiración se acumula con el tiempo y puede cuantificarse mediante cromatografía de gases. Para el análisis de las muestras de gases se empleó un cromatógrafo Shimadzu GC-14B, equipado con un integrador Shimadzu C-R6A Chromatopac. Las condiciones de trabajo de dicho cromatógrafo utilizadas en el experimento se muestran a continuación:

Tabla Nº 8. Condiciones de trabajo del cromatógrafo de gases Shimadzu GC-14B.

Temperatura del horno	35 °C
Temperatura del inyector	115 °C
Temperatura del detector	150 °C
Flujo del gas portador (Helio)	16 mL·min^{-1}
Tipo de calibración	Patrón externo (Aire atmosférico)
Tiempo de retención del CO_2	0,6 min
Columna de separación y determinación del CO_2	CHROMOSORB 102 80/100 de 2m x 1,8”
Detector de conductividad térmica (TCD)	

Fuente: Elaboración propia.

Finalmente la tasa de respiración se calculó mediante la fórmula que se muestra a continuación, conociendo el peso del producto (en nuestro caso el peso de las 15 alcachofas que componían cada repetición), el volumen del recipiente y la concentración de CO_2, después de un determinado tiempo, que en este caso fueron 30 minutos.

$$\frac{mgCO_2}{kg\ x\ h} = \frac{(V - P)\ x\ 0,687 x\ A\ x\ 60}{A_{patrón}\ x\ P\ x\ T}$$

Siendo;

V = Volumen del recipiente (mL).
P = Peso del producto (mg).
A = Área de CO_2 obtenida en el cromatógrafo al analizar la muestra (mm^2).
$\mathbf{A_{patrón}}$ = Área de $C0_2$ obtenida en el cromatógrafo al introducir el patrón de aire exterior (mm^2).
T = Tiempo que ha permanecido la muestra cerrada en el recipiente (min).

El pico de CO_2 se detectó en el cromatograma en función de su tiempo de retención, que en las condiciones de trabajo especificadas se encuentra en el rango de tiempo de 0,60-1,08 minutos. Integrando el área resultante del pico y comparándola con la de un patrón de CO_2 de concentración conocida, en este caso la atmósfera de 0,036 %, hallamos la concentración de CO_2 de la muestra analizada.

Fig. Nº 12. Cromatógrafo de gases Shimadzu GC-14B. Fuente: Elaboración propia.

3.3.2. Parámetros funcionales

3.3.2.1. Fenoles totales por Folin

La sobreproducción de oxidantes en determinadas condiciones puede producir un desequilibrio que conduzca al daño oxidativo de diferentes biomoléculas tales como lípidos, ADN y proteínas. La presencia de antioxidantes tiene un efecto protector, tal es el caso de los polifenoles.

Estos fitoquímicos en frutas y vegetales pueden presentar diferentes mecanismos que se complementen o sean sinérgicos en la neutralización de los agentes oxidantes, estimulación del sistema inmune, regulación de la expresión de genes implicados en la proliferación y apoptosis celular, regulación del metabolismo de hormonas y efecto antiviral y antibacteriano (Liu, 2004). Por ello, en los últimos años el interés en los polifenoles se ha incrementado especialmente en la industria de los alimentos.

Los polifenoles son los antioxidantes más abundantes en la dieta (Scalbert y Williamsom, 2000) e incluyen a un amplio rango de componentes con actividad antioxidante, tales como los ácidos hidroxicinámicos, hidroxibenzóicos, flavonoles, flavanoles, antocianinas, etc. Para analizar el contenido en fenoles totales, se ha utilizado la metodología de Folin-Ciocalteu. Dicha metodología analítica se dividía en dos fases:

- **1º FASE: EXTRACCIÓN DE FENOLES TOTALES.** Se pesaban 3 gramos de alcachofa en tubos de centrífuga introducidos en una gradilla con hielo, y se les adicionaba 15 mL de Metanol + Fluoruro de sodio (MeOH + FNa) para parar la fotólisis, es decir, la ruptura de los enlaces químicos por causa de energía radiante. Dicho solvente fue empleado como agente extractante de la solución. Posteriormente, se homogeneizó en el desintegrador de tejido vegetal Polytron® modelo PT3100 durante 60 segundos a 24000 r.p.m. y se centrifugó durante 10 minutos a 20000 r.p.m. a una temperatura de 4 °C en una centrífuga modelo C30P CENTRIFUGE, B. Braun. Biotech. Antes de centrifugar, se calibraban los tubos con arena. La duración de dicha etapa era influyente en las oxidaciones y pardeamientos de las muestras.

- **2º FASE: DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES.** Una vez los tubos fueron sacados de la centrífuga se tomó con una pipeta 1 mL de la muestra para la determinación de fenoles totales. El método empleado fue el descrito por Wood y cols., (2002), con ligeras modificaciones. Este método se basa en la medida de la absorbancia para la posterior comparación con una recta de calibrado construida con las medidas de absorbancia correspondientes a distintas concentraciones de un patrón conocido de contenido en fenoles totales. En este caso, el patrón empleado fue el ácido gálico. La ecuación de la recta de calibrado que se empleó es:

$$\mathbf{Y = 0{,}035x + 0{,}0078}$$

Siendo;

Y = Unidades de absorbancia (ABS).
x = Concentración de Ácido gálico (µg/cubeta).
$\mathbf{r^2}$ = Valor de 0,995.

Se prepararon 2 tubos de ensayo por cada extracción. En cada uno de los tubos, se añadieron 2,5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu 1/10 (100 mL de folin-fenol + 900 mL H_2O ultrapura). Al tubo rotulado como "BLANCO", se le adicionó 500 µL de Tampón Fosfato 50 mM y pH 7,8. Mientras que al resto de tubos rotulados como "MUESTRAS", se les añadió 300 µL de Tampón Fosfato 50 mM y pH 7,8, y 200 µL de la muestra extraída. Por último, se agitaron todos los tubos.

Al cabo de 2 minutos de reposo, la reacción se paralizó con la adición de 2 mL de carbonato sódico (Na_2CO_3) y se volvieron a agitar los tubos de ensayo previamente a ser introducidos en un baño de agua a 50 °C durante 5 minutos. Finalmente, y una vez frías, se vertieron cada una de las muestras en cubetas reciclables y se introdujeron en el espectofotómetro modelo Uvikon XS, Bio- Tek Instruments donde la absorbancia producida por la coloración azul era medida a una longitud de onda de 760 nm.

Los resultados obtenidos se expresan en mg equivalentes de Ácido Gálico por 100 g de peso fresco y son la media ± ES de las determinaciones realizadas por duplicado en cada una de las extracciones realizadas en cada muestra.

Fig. Nº 13. Desintegrador de tejido vegetal Polytron® modelo PT3100. Fuente: Elaboración propia.

3.3.2.2. Actividad antioxidante: Fases hidrosoluble y liposoluble

En general, los métodos analíticos para determinar las propiedades antioxidantes de un alimento vegetal se pueden clasificar en directos e indirectos. Los métodos directos se basan en estudiar el efecto de un alimento con propiedades antioxidantes sobre la degradación oxidativa de lípidos, proteínas,

ADN, plasma, membranas biológicas, etc. Estos métodos requieren de un gran conocimiento teórico y son relativamente complejos. Por el contrario, los métodos indirectos que se basan en la capacidad de los componentes de ciertos alimentos en atrapar determinados radicales libres, son más sencillos y menos laboriosos para su aplicación en determinaciones rutinarias (Roginsky y Lissi, 2005; Becker et al., 2004; Sánchez-Moreno, 2002).

La determinación de la capacidad antioxidante total se llevó a cabo según el método de Cano et al., (1998), adecuado posteriormente por Cano et al., (2001), para determinar la actividad antioxidante (AAT) en la fase hidrosoluble (FH) y liposoluble (FL). Dicha metodología analítica se dividía en tres fases:

- **1º FASE: EXTRACCIÓN VEGETAL.** Para preparar los extractos vegetales, se pelaba el capítulo de alcachofa dejando el corazón al descubierto para posteriormente cortar una porción del mismo y congelarla inmediatamente con nitrógeno líquido. Una vez congeladas todas las muestras en bolsas rotuladas con el nombre del tratamiento, se pesaban aproximadamente 3 gramos de las mismas en tubos anchos de centrífuga dispuestos en una gradilla con hielo para evitar la degradación de las mismas. A dichos tubos, se les añadían 15 mL de Tampón Fosfato + Fluoruro de sodio (FNa) que actuaban de agente extractante de aquellos compuestos hidrosolubles. De forma continuada y trabajando en campana de gases, se adicionaban 10 mL de Acetato de etilo, que al igual que el solvente anterior, actuaba de agente extractante pero en este caso de compuestos liposolubles.

  Las muestras se homogenizaban en el desintegrador de tejido vegetal Polytron® modelo PT3100 a 4000 r.p.m. durante 40 segundos. Una vez homogeneizados y calibrados con arena los tubos, se introducían en la centrífuga modelo C30P CENTRIFUGE, B. Braun, Biotech a 15.000 r.p.m. durante 15 minutos a una temperatura de 4 °C. Una vez centrifugadas las muestras se separaban las dos fases para su posterior análisis. La fase liposoluble se encontraba en la parte superior y la hidrosoluble en la inferior.

- **2º FASE: SEPARACIÓN DE FASES.** A pesar de que las dos fases quedaban ya separadas tras el centrifugado de los tubos, con el fin de realizar una separación exacta y precisa de ambas fases, se utilizó un método de separación y filtrado adicional.

  Trabajando en campana y con la ayuda de lana de vidrio dispuesta sobre un embudo analítico, se depositaba el contenido del tubo sobre dicha lana. Lo que se realizaba era un filtrado que permitía volver a separar ambas fases en un vaso de precipitados de vidrio, pero además permitía eliminar

cualquier gránulo de arena para que no obstruyese el filtro de la operación posterior. De forma continuada, se adicionaba la muestra contenida en el vaso de precipitados a un embudo de separación, de forma que se dejaba caer a otro vaso de precipitados de vidrio únicamente la fase depositada en la base del embudo que se correspondía con la fase hidrosoluble (de mayor proporción en comparación con la fase liposoluble). Haciendo uso de una pipeta pasteur, se llenaba un tubo eppendorf de 1,5 mL con dicha fase hidrosoluble.

Con respecto a la fase liposoluble, aún contenida en el embudo de decantación, se dejaba caer a una probeta normal y graduada y se enrasaba hasta 10 mL con Acetato de etilo y con la ayuda de una pipeta pasteur. Finalmente, se llenaba un tubo eppendorf de 1,5 mL con dicha fase liposoluble al igual que en el caso anterior. El contenido restante de la fase liposoluble se vertía en tubos de ensayo rotulados con el número de la muestra correspondiente y se tapaban con parafilm puesto que el Acetato de etilo es un compuesto relativamente volátil. El contenido de dichos tubos era utilizado para la medición de carotenos de las muestras.

Fig. Nº 14. Separación de la fase hidrosoluble (marrón) y liposoluble (amarillo). Fuente: Elaboración propia.

- **3º FASE: DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.** Para la determinación de la AAT en la FH se hizo un blanco con Tampón Glicina y se comenzó con las distintas mediciones a una longitud de onda de 730 nm. Para la medición de las muestras, se fueron introduciendo en las cubetas

reciclables los siguientes compuestos: En primer lugar, 25 µL de ABTS 5 mM; a continuación, 25 µL de Agua Oxigenada (H_2O_2) 0,5 mM; y por último, 25 µL del enzima peroxidasa "horse radish sigma" 5 µM. Se golpeaba suavemente la cubeta y la reacción correspondiente tras la actuación del enzima hacía que se diese un cambio de color a una tonalidad azulada. Finalmente, se le adicionaba 880 µL de tampón Glicina – HCl 50 mM de pH 4,5 y se agitaba con parafilm para realizar la primera medición a tiempo 0. A continuación, se añadía 25 µL de muestra a la vez que se empezaba a cronometrar el tiempo.

Tabla Nº 9. Cantidades de reactivos y de muestra adicionadas a las cubetas en ambas fases.

		TAMPÓN GLICINA	ETANOL ABSOLUTO	ABTS	H2O2	PEROXIDASA	MUESTRA
AAT	FH	880 µL	-	25 µL	25 µL	25 µL	25 µL
	FL	-	880 µL	25 µL	25 µL	25 µL	50 µL

Fuente: Elaboración propia.

Se agitaba vigorosamente tapando la cubeta con parafilm y se medía igualmente la absorbancia a los 30, 60 y 90 segundos desde la adición de la muestra. Con la adición de los antioxidantes que contiene la muestra, disminuyen los radicales ABTS que se habían generado previamente, por lo que se produce un descenso de la absorbancia que es proporcional a la cantidad de antioxidantes presentes en la misma.

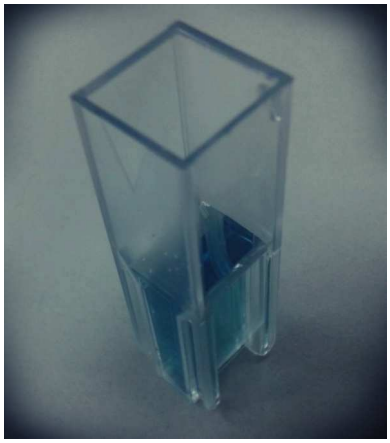


Fig. Nº 15. Tonalidad azulada tras darse la reacción de la peroxidasa. Fuente: Elaboración propia.

La AAT de la FL se cuantificó de manera similar, pero utilizando Etanol absoluto en lugar de Tampón Glicina con el fin de conseguir que se solubizasen los compuestos apolares presentes en la fracción liposoluble de

los extractos vegetales. Por lo tanto, en esta fase el blanco utilizado para comenzar la medición fue el Etanol Absoluto. Puesto que este solvente es muy corrosivo las cubetas utilizadas eran desechables. Otra variante con respecto a la medición de la fase anterior, es que la cantidad de muestra utilizada en dicha fase era el doble, es decir, se le adicionó a cada cubeta 50 µL de muestra.

Las medidas de absorbancia se llevaron a cabo en un espectrofotómetro modelo Uvikon XS, Bio - Tek Instruments. En ambos casos, la AAT se expresa como equivalentes de Trolox, por 100 g de peso fresco, ya que este compuesto, un anágolo estructural de la vitamina E, es soluble tanto en disolventes orgánicos como inorgánicos. Para ello, se realizaron rectas de calibrado con cantidades conocidas de Trolox, tanto en medio de Tampón Glicina como en medio Etanólico y que se usaron para cuantificar la AAT en la FH y FL, respectivamente. Para cada una de las extracciones, la cuantificación se realizó por duplicado y los datos son la media ± ES. Las ecuaciones de la recta de calibrado que se emplearon para la fase hidrosoluble y liposoluble, respectivamente, fueron:

$$Y = 9{,}185x - 0{,}375$$

Siendo;

Y = Concentración de Trolox (µg/cubeta).
x = Unidades de absorbancia (ABS).
$\mathbf{r^2}$ = Valor de 0,993

$$Y = 7{,}849x - 0{,}229$$

Siendo;

Y = Concentración de Trolox (µg/cubeta).
x = Unidades de absorbancia (ABS).
$\mathbf{r^2}$ = Valor de 0,994

3.3.2.3. Fenoles individuales y totales por HPLC

Se emplea la denominación de Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC), *High Performance Liquid Chromatography* en inglés, para designar aquella técnica utilizada para separar los componentes de una mezcla basándose en diferentes tipos de interacciones químicas entre las sustancias analizadas y la columna cromatográfica.

Para la determinación de los fenoles individuales y totales por dicha técnica, la primera fase de extracción de fenoles es igual a la descrita en el apartado de fenoles totales por la metodología de Folin-Ciocalteu. Una vez realizada la extracción (1º FASE), se procedía a realizar las fases consecutivas:

- **2º FASE: DETERMINACIÓN DE FENOLES INDIVIDUALES Y TOTALES POR HPLC.** Una vez los tubos fueron sacados de la centrífuga se tomó 1 mL de la muestra con una jeringuilla para la determinación de los mismos por HPLC. Esta cantidad antes de ser depositada en un vial HPLC, se pasó por un filtro de membrana con un poro de 0,45 µm. El método empleado fue el descrito por Tomás-Barberán et al., (2001), con ligeras modificaciones en cuanto al equipo y material empleado. A diferencia del método para la determinación de fenoles totales por Folin, este método identifica los fenoles individuales presentes en el extracto estudiado tras analizar el cromatograma obtenido y estudiar los tiempos de retención de los mismos. De forma posterior, se realiza una cuantificación.

Muestras de 20 µL de extracto se analizaron utilizando el sistema HPLC (Hewlett-Packard 1100 pump) acoplado con un detector de matriz de fotodiodos (DAD) (Series 1040M, Series II) y un inyector automático (Serie 1050), operado por el software HP ChemStation. Se utilizó una columna en la fase reversa C_{18} Teknokroma (25 x 0,4 mm i.d.; tamaño de partícula 5 µm) (Teknokroma, Mediterránea, SEA 18) con una pre-columna que contiene la misma fase estacionaria (10 x 3,2 mm i.d.) (Ultraguard, SEA 18).

Fig. Nº 16. Vial de capacidad 1,5 mL para análisis de muestras por HPLC. Fuente: Grupo Alianza Estratégica (GAE); Repuestos HPLC Agilent.

Cuatro bombas (A, B, C y D) se utilizaron para la mezcla de la fase móvil evitando fluctuaciones de presión debido a la mezcla de metanol (MeOH) en agua. El ácido fórmico (5 %) se añadió a agua y metanol para aumentar la resolución del pico antes de preparar las siguientes fases móviles: 95 % de agua + 5 % de metanol (A); 88 % de agua + 12 % de MeOH (B); 20 % de agua + 80 % de MeOH (C); y MeOH (D). Todos los disolventes eran de grado HPLC. La elución comenzó con 100 % de A, que se mantuvo isocrático hasta 5 min. En gradiente fue utilizado para llegar a 100 % de B en 10 min, manteniéndose isocrático durante 3 minutos más. De 13 a 35 min un gradiente lineal se utilizó para llegar a 75 % B y 25 % C, y luego un 50 % B y 50 % C en 50 min, y 100 % de C en 52 min, después se mantuvo isocrático hasta 57 min. A continuación, la columna se lavó con 100 % de D en 60 min. La tasa de flujo fue de 1 mL·min^{-1} y los cromatogramas se registraron a 520,

340, y 280 nm. Los espectros UV de los diferentes compuestos se registraron con un detector de matriz de diodos.

- **3º FASE: IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS.** A continuación, se identifican los distintos picos representados en el cromatograma en función de los tiempos de retención acordes a los proporcionados en el catálogo por el fabricante. Con ello, conseguimos identificar los compuestos fenólicos presentes en el extracto. Para la cuantificación posterior de los mismos, se utiliza una recta patrón por ácido. Las rectas patrón utilizadas se representan a continuación en el orden de: Ácido neoclorogénico, ácido clorogénico, ácido 3,5-dicafeioilquínico y ácido X,X-dicafeioilquínico.

$$Y = 20793x - 88{,}039$$

Siendo;

Y = Concentración de Ácido neoclorogénico (µg/vial).
x = Unidades de absorbancia (ABS).
$\mathbf{r^2}$ = Valor de 0,9997

$$Y = 23469x + 10{,}184$$

Siendo;

Y = Concentración de Ácido clorogénico (µg/vial).
x = Unidades de absorbancia (ABS).
$\mathbf{r^2}$ = Valor de 0,9997

$$Y = 26991x - 169{,}45$$

Siendo;

Y = Concentración de Ácido 3,5-dicafeioilquínico (µg/vial).
x = Unidades de absorbancia (ABS).
$\mathbf{r^2}$ = Valor de 0,9986

$$Y = 25427x - 238{,}41$$

Siendo;

Y = Concentración de Ácido X,X-dicafeioilquínico (µg/vial).
x = Unidades de absorbancia (ABS).
$\mathbf{r^2}$ = Valor de 0,9985

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Parámetros fisiológicos

4.1.1. Pérdida de peso

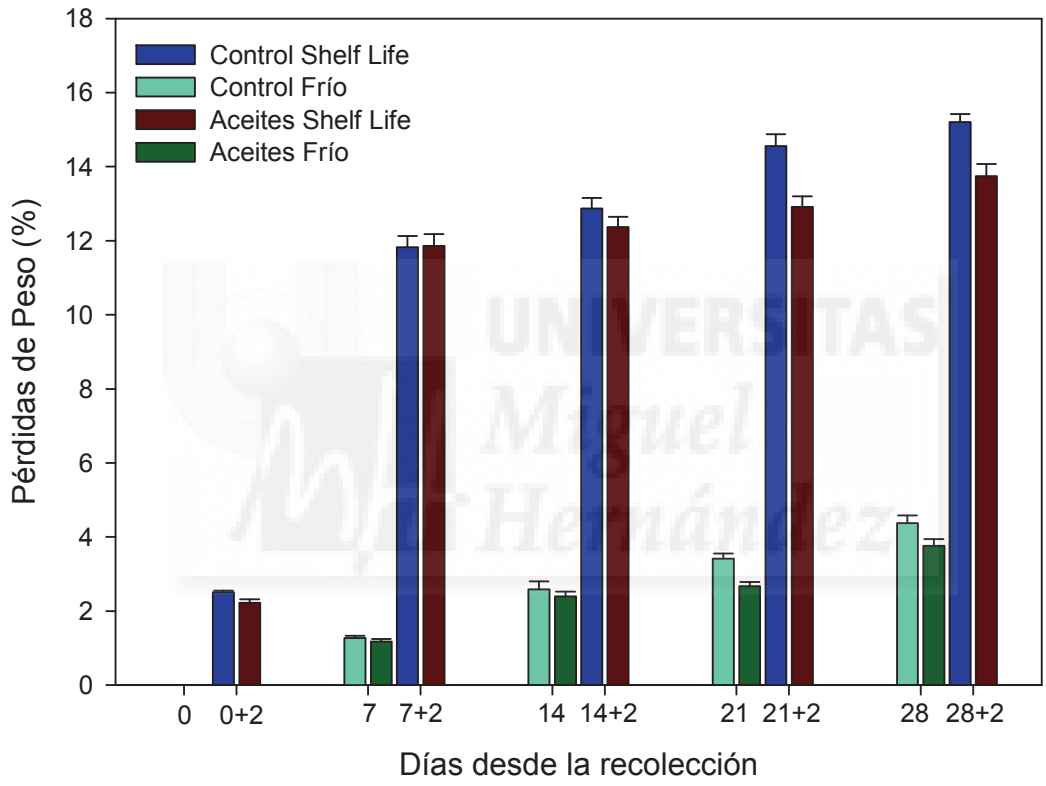
Las condiciones de precosecha afectan en gran medida a la calidad, a la composición química, a la textura y a la pérdida de humedad en poscosecha (Gómez-Galindo et al., 2004). En el momento de la cosecha, el contenido de agua de los productos suele ser elevado pero después de la recolección, hay dos factores que conducen a la pérdida de peso: (1) El agua ya no puede ser tomada del suelo debido a la interrupción del ciclo de vida natural de la planta y (2) la transpiración, que es un proceso físico por el cual el vapor de agua puede penetrar en los estomas y la epidermis. El agua también se pierde a través de las lenticelas de los frutos, que son huecos en la peridermis formados para permitir el intercambio de gases en la respiración. Si la epidermis o peridermis están dañadas, la pérdida de agua puede ser exacerbada masivamente.

La pérdida de agua tras la cosecha depende principalmente del déficit de presión de vapor externo, aunque hay otros factores que influyen también en dicha situación. Los productos con una gran relación superficie/volumen, como los cultivos de hoja, perderán mayores porcentajes de agua mucho más rápido que las grandes frutos esféricos. La estructura específica de la cutícula así como la extensión de la suberización en la peridermis, parecen ser más importantes que el espesor en la mejora de la resistencia a la circulación del vapor de agua. Los productos varían en el porcentaje de agua que se puede perder antes de su comercialización sin que la calidad se reduzca notablemente (Acked, 2002).

Cuando el producto exhibe una considerable pérdida de peso, la calidad del mismo es considerada como pobre debido a la pérdida de turgencia. Durante la poscosecha, la turgencia es una condición necesaria para la consecución de una apariencia de producto fresco, ya que las propiedades de textura así como los atributos de color pueden afectar en gran medida a la decisión del consumidor. Además, se incrementa la susceptibilidad del producto a sufrir ataques microbianos con importantes repercusiones económicas.

Las frutas y hortalizas sufren pérdidas de peso como consecuencia de varios factores exteriores como son la temperatura (a mayor temperatura, mayor transpiración), la humedad relativa (inversamente proporcional a la transpiración) y el recubrimiento de los vegetales (utilizado como barreras físicas que evitan el contacto entre el aire y el producto). Por lo que, la temperatura y la humedad relativa se encuentran entre los principales factores a controlar cuando se establecen las condiciones óptimas de almacenamiento específicas para el producto.

Los resultados obtenidos de pérdida de peso del presente experimento, quedan representados a continuación en la gráfica Nº 1. Se representa de forma conjunta el resultado obtenido en el almacenamiento a 1 °C (Término asociado; "Frío") y el conservado 2 días más a 20 °C (Término asociado; "Shelf Life"). En el eje de abscisas, se representa el tiempo de almacenamiento como días transcurridos desde la recolección y en el eje de ordenados el parámetro a estudiar, que en este primer caso se corresponde con las pérdidas de peso expresadas en porcentaje con respecto al día de la recolección.



Gráfica Nº 6. Evolución de las pérdidas de peso (%) de las alcachofas almacenadas en frío a 1 °C y 2 días más a 20 °C con aplicación de aceites esenciales y sin estos (control) en combinación con un envasado en film macroperforado. Los datos son la media ± ES.

Tal y como cabía esperar, las pérdidas de peso fueron incrementando conforme transcurrían los días desde la recolección. Se puede observar como la muestra control, envasadas en el film macroperforado, fue la que mayores pérdidas de peso alcanzó en ambas condiciones de almacenamiento, a 1 °C y con 2 días más a 20 °C, con unos valores de 4,37±0,21 % y 15,21±0,20 %, respectivamente. De forma gráfica, se apreció el efecto esperado de la temperatura, ya que tras el almacenamiento en frío, con 2 días más a 20 °C las pérdidas de peso aumentan aproximadamente un 10 %, alcanzando de esta forma los límites válidos para su comercialización.

Del mismo modo, también se refleja que las muestras a las que se les ha aplicado una dosis de aceites esenciales en combinación con un envasado en film macroperforado, han mostrado una pérdida de peso ligeramente inferior a las muestras control. En concreto, este efecto se puso de manifiesto a partir de la segunda semana de almacenamiento, obteniendo al final del experimento una reducción en las pérdidas de peso con respecto a las muestras control del 0,6 % en frío y 1,47 % con 2 días más a 20 °C (Gráfica Nº 1).

Dicha diferencia encontrada entre las alcachofas a las que se les ha aplicado los aceites esenciales y a las que no, nos indica que la técnica lleva implícito un aumento considerable en el mantenimiento de la calidad en combinación con las principales ventajas que presenta el uso de los films en la poscosecha de frutas y hortalizas. Pero dicho aumento no es observable hasta alcanzar los 21 días desde la recolección, pues en los días anteriores a este período están actuando los beneficios asociados al tratamiento del film macroperforado junto a la refrigeración del producto. Por lo que, se está creando una atmósfera modificada que es deseada pero que conlleva, a su vez, una serie de cambios en el entorno del mismo con un % de humedad elevado que consecuentemente deriva en a la aparición de parásitos criptogámicos como es el caso de los hongos. Con el transcurso del tiempo, se observa que a partir de los días 21 y 28, comienzan a actuar los beneficios atribuibles a los aceites aplicados.

La diferencia obtenida en los incrementos de pérdidas de peso entre el almacenamiento en frío a 1 °C y la conservación a 1 °C más dos días a 20 °C, se debe a que, por un lado, el envasado en film macroperforado preserva el vapor de agua, ralentizando por lo tanto la deshidratación y consecuentemente las pérdidas de peso (Martínez López, 2010). Y por otro lado, a que la aplicación de aceites esenciales puros (eugenol, timol y carvacrol) en combinación con MAP pasivo en estudios de cereza y uva de mesa para mejorar la calidad general de las mismas, se ha observado que mejoran los parámetros de calidad más importantes que determinaban la aceptabilidad por parte de los consumidores, en cuanto a términos de una reducción en la pérdida de peso, retraso en el cambio de color y mantenimiento de la firmeza del fruto en comparación con el control (Mastromatteo et at., 2010)

4.1.2. Tasa de respiración

Las frutas y hortalizas frescas necesitan respirar; toman oxígeno y desprenden dióxido de carbono, a fin de obtener la energía suficiente para mantenerse con vida. Dicho proceso continúa tras la recolección, a pesar de que la fotosíntesis cesa, y en él los azúcares se oxidan para obtener anhídrido carbónico, agua y energía. La velocidad con la que respiran da idea del metabolismo del tejido y puede medirse y expresarse como mililitro de CO_2 por kilogramo y hora.

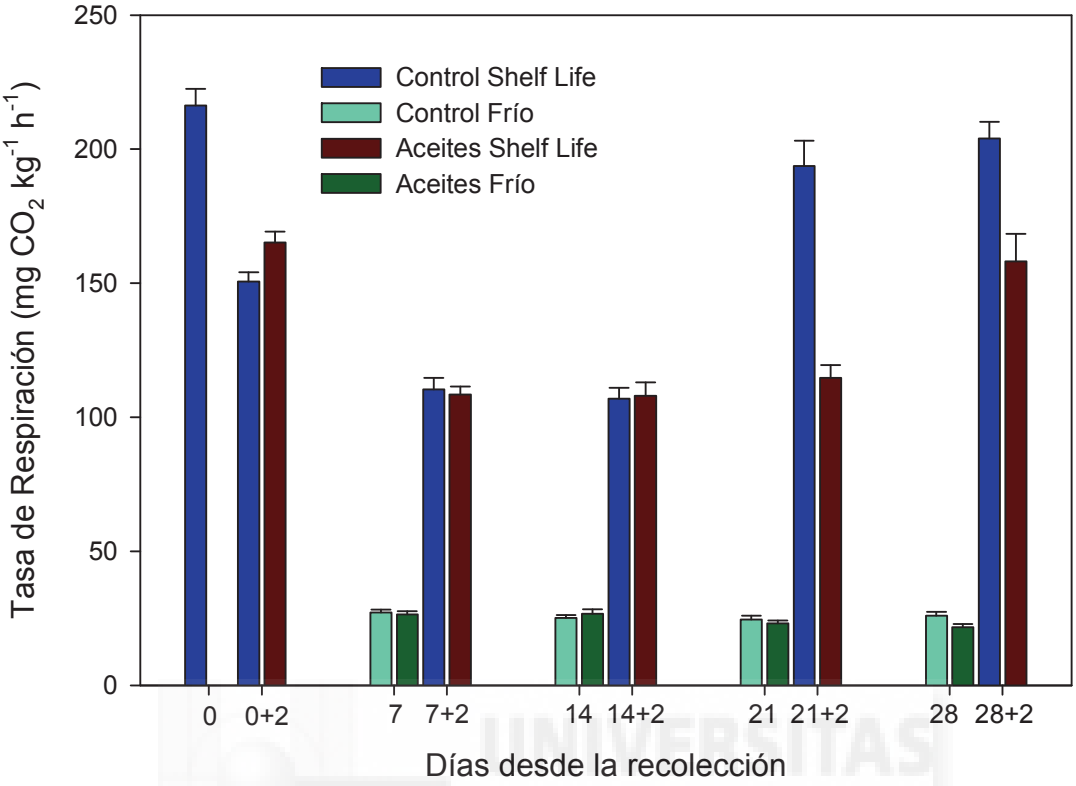
La velocidad es distinta en los vegetales y está relacionada con la vida comercial del producto. Una actividad respiratoria elevada conlleva a que el tiempo de vida útil del producto sea más corto, lo cual implica un período de almacenamiento menor del mismo (Gil, 2010). En concreto, la alcachofa es un producto altamente perecedero, con una tasa de respiración elevada.

La energía producida en el proceso, produce calor que debe ser disipado de alguna manera, o de lo contrario el producto se calentará, sobreviniendo la degradación de los tejidos y finalmente la muerte. La importancia de la disipación del calor del producto fresco reside en el hecho de que la respiración consiste en una serie de reacciones catalizadas por enzimas, cuya velocidad aumenta al incrementar la temperatura. En consecuencia, una vez que el producto comienza a calentarse, se estimula aún más la respiración y de este modo, se vuelve muy difícil controlar la temperatura del mismo (Barba-Teodoro, 2015).

La tasa de respiración estudiada fue menor en las alcachofas almacenadas en frío a 1 °C que en las conservadas a 1 °C más 2 días a 20 °C, lo cual es lógico ya que al someter el producto a una conservación a bajas temperaturas se da el efecto de una ralentización en el proceso de respiración, como consecuencia directa de una reducción en la actividad metabólica de la alcachofa. Por esta misma razón, cuando fueron conservadas a 20 °C, simulando las condiciones de "Shelf life", se apreció un incremento significativo (Gráfica Nº 2).

La tasa de producción de CO_2 en el momento de la recolección fue de 216,2±6,3 mg $CO_2 \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$, disminuyendo a valores inferiores a 30 mg $CO_2 \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$ como consecuencia de la aplicación del frío durante la duración del experimento (Gráfica Nº 2). Sin embargo, la conservación durante 2 días más a 20 °C disminuye hasta 150,5±3,6 mg $CO_2 \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$, y continua esta disminución si previamente a las condiciones ambientales se almacenan en frío durante 7 y 14 días (≈ 110 mg $CO_2 \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$), pero por el contrario en las últimas semanas de muestreo estas alcachofas control vuelven a aumentar su intensidad respiratoria en estas condiciones alcanzando al final del experimento valores similares a los del día de la recolección.

Por otro lado, la aplicación de los aceites esenciales no muestra diferencias en la respiración en las primeras semanas del experimento, pero a partir de los 21 días en frío más 2 días a temperatura ambiente la tasa de respiración es similar a la de las semanas anteriores (114,7±4,8 mg $CO_2 \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$) y aumenta ligeramente en el último muestreo, mientras que como hemos descrito anteriormente las alcachofas control muestran valores muy superiores.



Gráfica Nº 7. Evolución de la tasa de respiración de las alcachofas almacenadas en frío a 1 °C y 2 días más a 20 °C con aplicación de aceites esenciales y sin estos (control) en combinación con un envasado en film macroperforado. Los datos son la media ± ES.

Al igual que ocurría con el parámetro de pérdida de peso, las diferencias significativas comienzan a ser observables a partir de los 21 desde la recolección de las alcachofas. Y sobre todo, como se ha comentado anteriormente, tras el almacenamiento a 1 °C más 2 días a 20 °C. El fundamento de dichas diferencias significativas es que en dicho período es cuando comienza la actuación de los aceites esenciales aplicados, con la consecución de una disminución significativa de la actividad metabólica en comparación con el control.

El problema del deterioro de los productos hortofrutícolas se debe a que éstos son tejidos vivos que están sujetos a continuos cambios tras ser recolectados. La velocidad de deterioro es generalmente proporcional a la velocidad a la que transcurre la respiración del producto y está fuertemente influenciada por la temperatura de conservación, por ello se recomienda la conservación a 1-2 °C y la aplicación de una pre-refrigeración antes de conservarlo (Artés, 2007).

Por lo tanto, los resultados obtenidos nos harían confirmar, al igual que anteriormente lo han hecho numerosos autores (Díaz-Mula et al., 2011; Valero et al., 2010; Serrano et al., 2008; Amorós et al., 2008; Martínez-Romero et al., 2005; Espinosa-Vicente, 2013; Barba-Teodoro, 2015), que la utilización del film en

combinación con la refrigeración constituye una buena herramienta poscosecha para disminuir la actividad respiratoria, y por tanto metabólica, de la alcachofa.

La utilización de plásticos como herramienta poscosecha está ampliamente descrita, alargando la vida útil de frutas y hortalizas, debido principalmente a las concentraciones de O_2 y CO_2 que se alcanzan en el interior del envase y al aumento de la humedad que influye directamente en las pérdidas de peso. En productos con una alta tasa de respiración, como es el caso de la alcachofa, la escasa permeabilidad de los envases puede provocar efectos negativos. Por ello, se recurren a envases macroperforados que evitan las elevadas concentraciones de CO_2 así como las condensaciones en los plásticos (Valero y Serrano, 2010). La reducción de la tasa de respiración disminuye la tasa de deterioro de los tejidos, extendiendo así la vida de almacenamiento. Se sugiere un nivel de reducción de un 50 % en la respiración para asociarlo con una mejora suficiente de la vida útil, de tal manera que el coste de manipulación y materiales resultante de la aplicación de MAP se vea recuperado (Beaudry, 2000).

Por otro lado, la tasa de respiración y producción de etileno mostraron los valores más altos en los limones control inoculados, seguidos de la fruta inoculada recubierta con cera únicamente, que mostró una reducción significativa por el uso de cera con respecto a los controles. La incorporación de ambos aceites esenciales, carvacrol y timol, a la cera condujo a una reducción progresiva en ambos parámetros fisiológicos conforme la concentración de estos aumentó. Por otra parte, se observó una reducción lineal en el porcentaje de frutos infectados en la superficie tanto en la tasa de respiración como en la producción de etileno, mostrando que el aumento de ambos parámetros fisiológicos era proporcional a la infección fúngica (Pérez-Alfonso, 2012).

Por lo que se puede concluir, al igual que se describe en la bibliografía consultada, que la aplicación de aceites esenciales en combinación con la atmósfera macroperforada, reducen la tasa de respiración con respecto al control, por tanto, los capítulos florales mostrarían una menor actividad metabólica que favorecería el alargamiento de la vida útil de los mismos.

4.2. Parámetros funcionales

4.2.1. Fenoles totales por Folin

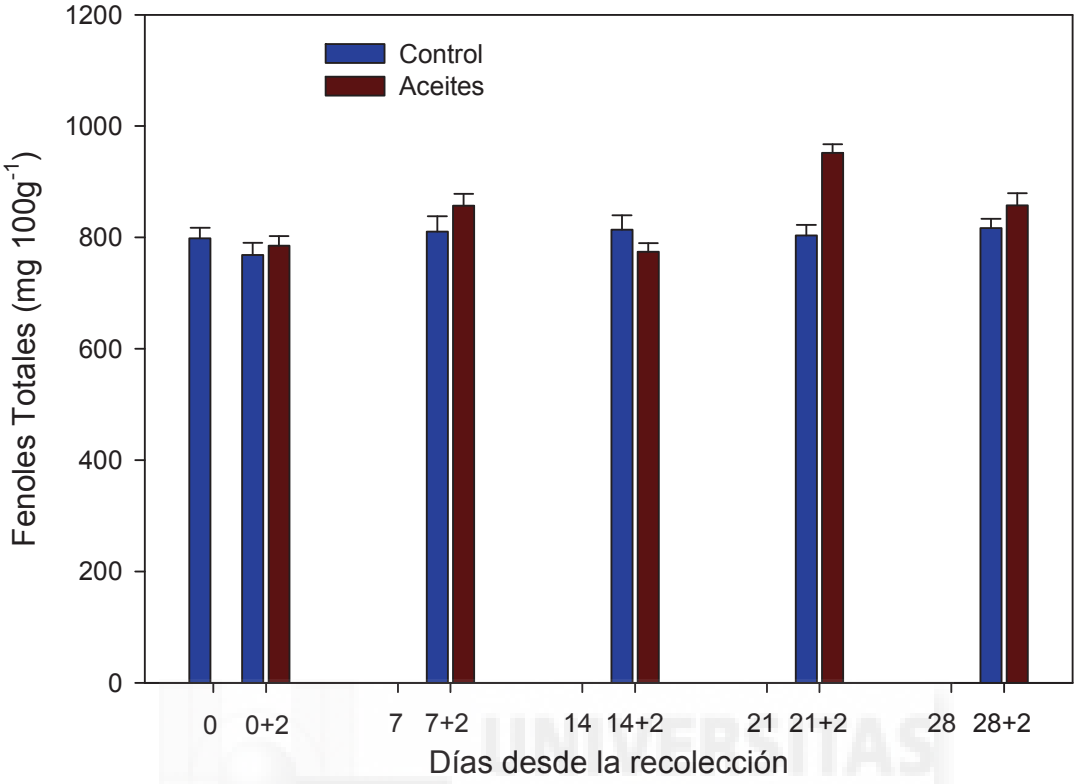
La actividad biológica de los compuestos fenólicos es generalmente antioxidante, antiinflamatoria, antibacteriana, antiviral y antitumoral, entre otras, siendo los flavonoides los que presentan mayor actividad (Braca, 2008). Por lo tanto, este grupo de sustancias es atractivo para los nutricionistas, la fabricación y las comunidades científicas de los consumidores debido a sus supuestos efectos beneficiosos sobre la salud humana, especialmente en las últimas dos décadas (Valero y Serrano, 2010).

Un gran número de plantas utilizan estos compuestos en momentos de estrés (hídrico, luminoso, etc.), además de que son indispensables en otros procesos fisiológicos. La alcachofa es considerada como una especie que proporciona durante su ingesta una gran cantidad de compuestos fenólicos y antioxidantes. Los compuestos fenólicos más representativos en la alcachofa son el ácido cafeico (ácido 3,4-dihidroxicinámico), el ácido clorogénico (ácido 3-cafeilquínico), la cinarina, el cinarósido, la isorhoifolina y la narirutina, todos estos con propiedades antioxidantes (Mabeau Serge et al., 2005).

Los tejidos de plantas sintetizan un gran número de metabolitos secundarios, de los cuales los compuestos fenólicos son los más distribuidos en el reino vegetal. La definición química de fenol y polifenoles se refiere a compuestos que poseen un anillo aromático que lleva uno (fenol) o más (polifenoles) radicales hidroxilo. Sin embargo, desde el punto de vista biológico, fenoles o polifenoles vegetales se definen como metabolitos secundarios naturales formados a partir de la vía fenilpropanoide que exhiben una muy amplia gama de funciones fisiológicas en plantas, incluyendo la pigmentación, el crecimiento y la resistencia a los patógenos, entre muchas otras funciones (Daayf y Lattancio, 2008).

Los fenoles totales fueron medidos de dos métodos: mediante el reactivo Folin-Ciocalteu (Gráfica Nº 3) y por HPLC (Gráfica Nº 10). De esta forma, se pretende estudiar, por un lado, la cuantificación total de fenoles sin la identificación de los cuatro fenoles individuales estudiados y, por otro lado, se estudia la cuantificación total de dichos compuestos fenólicos presentes en los extractos de alcachofa.

La concentración inicial de compuestos fenólicos en la parte comestible de los capítulos florales fue de 798,2±19,3 mg·100 g^{-1} de peso fresco, aproximadamente, y durante la duración del experimento estos valores permanecen más o menos constantes. No se observan diferencias significativas entre las muestras por la aplicación de los aceites esenciales, tan sólo un incremento respecto a la concentración inicial (día 0) del 23 %, en el día 21+2, en el cual las muestras a las que se les había aplicado los aceites esenciales en combinación con el envasado en film macroperforado presentan 952,1±15,2 mg·100 g^{-1} de fenoles totales. Este incremento no se observa en las muestras control, envasadas en film macroperforado, ya que estas únicamente mantienen la concentración inicial de la recolección (Gráfica Nº 3).



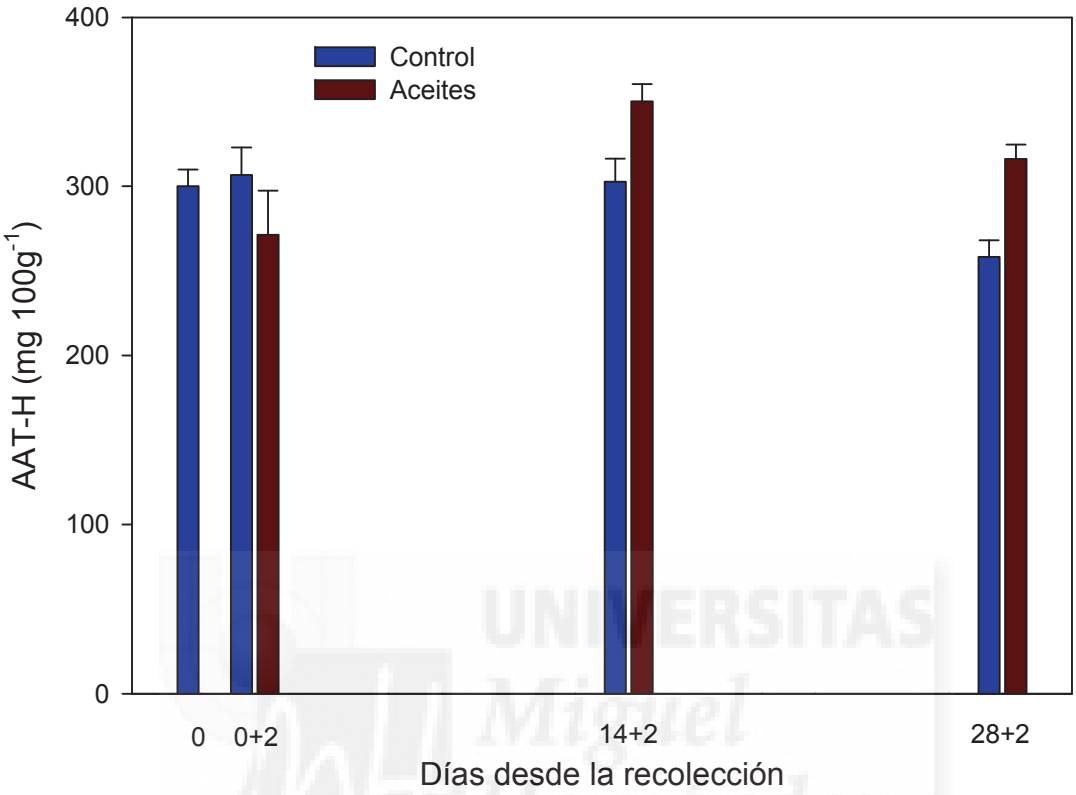
Gráfica Nº 8. Compuestos fenólicos de las alcachofas con aplicación de aceites esenciales y sin estos (control) en combinación con un envasado en film macroperforado. Técnica de medición: Reactivo Folin-Ciocalteu. Los datos son la media ± ES.

En una purificación hecha en diferentes variedades de alcachofa (Wang et al., 2003), se muestra como los diferentes compuestos fenólicos presentes en alcachofa varían en función de la variedad y las diferentes partes de la misma. En nuestro ensayo, los resultados obtenidos mostraron como al final del experimento las alcachofas que habían sido tratadas con aceites esenciales mostraban unos niveles superiores de dichos compuestos fenólicos, lo que podría ser debido a una menor degradación de la inflorescencia como se ha mostrado en los resultados fisiológicos presentados en el punto anterior (Gráficas Nº 1 y 2).

4.2.2. Actividad antioxidante: Fases hidrosoluble y liposoluble

En los últimos años, el aumento de la atención por parte de los consumidores se ha centrado en los efectos beneficiosos para la salud de la ingesta de frutas y verduras debido a su contenido en moléculas bioactivas con propiedades antioxidantes, que pueden proteger el cuerpo humano contra las enfermedades degenerativas (Brandt et al., 2004; Hung et al., 2004; Chen et al., 2007). Por lo tanto, actualmente el contenido de antioxidantes se está convirtiendo en una medida cada vez más importante de la calidad en relación a las frutas y verduras. Entre las sustancias con actividad antioxidante, se incluyen las

antocianinas y otros polifenoles (Espín et al., 2007; Stevenson y Hurst, 2007; Dorais et al., 2008), los carotenoides (Perera y Yen, 2007) y varias vitaminas (A, C y E) (Hounsome et al., 2008).



Gráfica Nº 9. Actividad antioxidante de la fase hidrosoluble de las alcachofas con aplicación de aceites esenciales y sin estos (control) en combinación con un envasado en film macroperforado. Los datos son la media ± ES.

Hasta hace unas décadas, la mayoría de los ensayos para medir la capacidad antioxidante de las frutas y hortalizas se han llevado a cabo en extractos hidrofílicos, y sólo recientemente la actividad antioxidante derivada de moléculas hidrosolubles o liposolubles está siendo evaluada por separado en unas pocas frutas y hortalizas (Wu et al., 2004; Cano y Arnao, 2005; Scalzo et al., 2005; Cho et al., 2007).

En los capítulos de alcachofa estudiados, se ha observado que la actividad antioxidante de la fase hidrosoluble (AAT-H) en el momento de la recolección era de 302,4±8,4 mg·100 g^{-1} de peso fresco. Estos niveles de AAT se mantenían a los 14+2 días y únicamente disminuían hasta 258,4±9,8 mg·100 g^{-1} de peso fresco en las muestras control al final del experimento y almacenadas en film macroperforado. Sin embargo, en aquellas alcachofas a las que se les aplicaron los aceites esenciales, se observó un incremento que supone un valor aproximado del 17 % en el día 14+2 y, a pesar de que en el día 28+2 la actividad antioxidante disminuye, las muestras de los aceites continúan manteniendo un nivel de

actividad antioxidante en dicha fase superior al de las muestras control (Gráfica Nº 4).

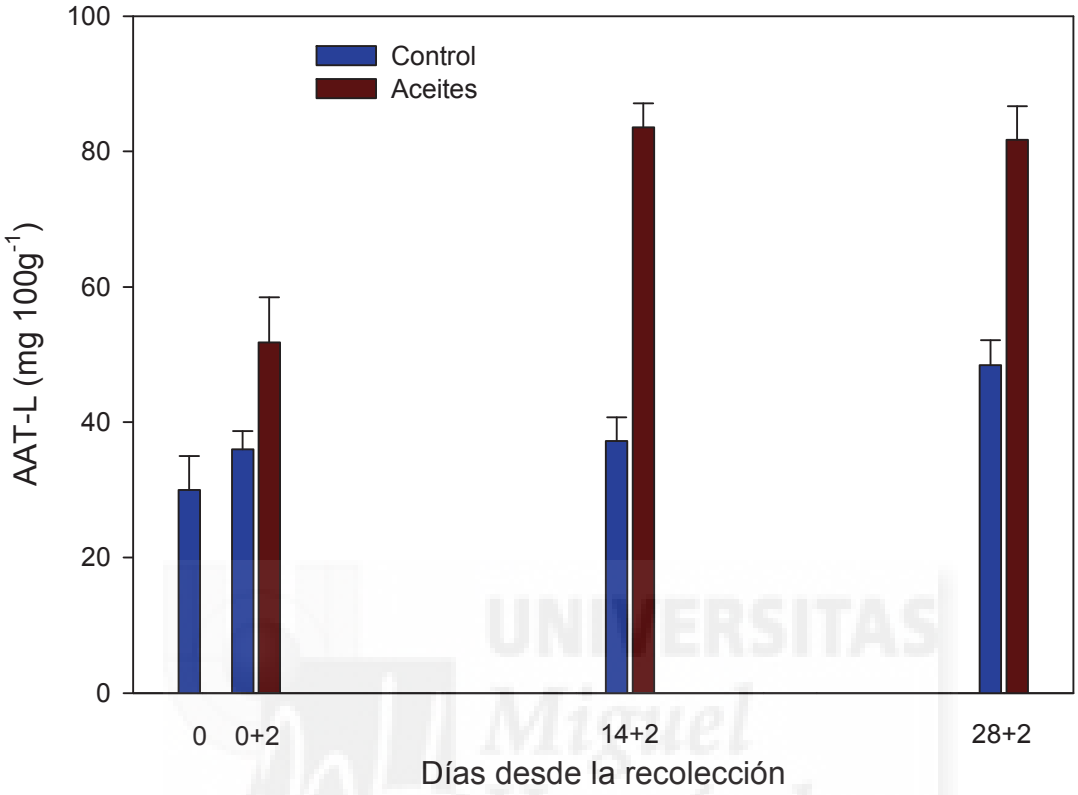
En estudios previos, se ha informado de la relación entre los fenoles totales y la actividad antioxidante en una amplia gama de cultivares de ciruela cosechadas en la maduración comercial (Chun et al., 2003; Kim et al., 2003; Cevallos-Casals et al., 2006; Rupasinghe et al., 2006; Vizzotto et al., 2007). Sin embargo, en estos documentos se evaluó sólo la actividad antioxidante de los extractos hidrosolubles y la contribución de las sustancias lipofílicas, tales como los carotenoides y tocoferoles que son antioxidantes importantes de la planta (Cho et al., 2007), no se llegó a estimar. Por lo que es importante la determinación por separado ya que hay grandes variaciones en el contenido de los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante dependiendo del cultivar de ciruela, aunque con carácter general, no hay pérdidas importantes durante el almacenamiento prolongado en frío y la vida útil posterior (Díaz-Mula et al., 2008).

Por lo tanto, el comportamiento de los compuestos bioactivos se ve reflejado en los cambios de la AAT, desde la AAT-Hidrófila (AAT-H) que se correlacionó con compuestos fenólicos y antocianinas, hasta la AAT-Lipófila (AAT-L) que se correlacionó con carotenoides. Los carotenoides y compuestos fenólicos, y entre ellos las antocianinas, podrían ser los principales compuestos lipofílicos e hidrofílicos que contribuyen en la AAT-L y AAT-H, respectivamente (Díaz-Mula et al., 2008). El incremento del contenido polifenólico de las muestras de los aceites es coincidente con el incremento de la AAT-H (Gráficas Nº 3 y 4). Esto es debido, a que los compuestos bioactivos que contribuyen principalmente en la AAT-H de los capítulos de alcachofa estudiados son los compuestos fenólicos. Y se observa como los aceites esenciales aplicados consiguen un incremento de ambos en conjunto con una menor degradación de las inflorescencias.

Respecto a la actividad antioxidante de la fase liposoluble (AAT-L), podemos observar cómo los valores obtenidos representan aproximadamente un 10 % de la fase hidrosoluble, siendo en el instante de la recolección de 29,4±4,26 mg·100 g^{-1} de peso fresco e incrementándose hasta 48,4±3,71 mg·100 g^{-1} al final del experimento en condiciones control. La aplicación de los aceites esenciales supuso un incremento mayor en la concentración de los compuestos lipofílicos con carácter antioxidante tanto a los 14+2 días como a los 28+2 días (≈ 80 mg·100 g^{-1}) (Gráfica Nº 5).

Al igual que ocurría en la fase hidrosoluble (Gráfica Nº 4), a pesar de que en el día 28+2 la actividad antioxidante en las muestras de los aceites esenciales disminuye, estas continúan manteniendo un nivel de actividad antioxidante en dicha fase superior al de las muestras control (Gráfica Nº 5). Esto puede ser debido, a que conforme transcurren los días comienza a observarse la actuación de

los aceites esenciales una vez que se han dado los beneficios del film macroperforado en los primeros días de la experimentación (Gráfica Nº 5).



Gráfica Nº 10. Actividad antioxidante de la fase liposoluble de las alcachofas con aplicación de aceites esenciales y sin estos (control) en combinación con un envasado en film macroperforado. Los datos son la media ± ES.

Se ha reportado en frutas como fresa, melocotón, albaricoque y manzana, que la contribución de la AAT-L en la AAT total era mucho menor que la AAT-H (Scalzo et al., 2005). En alcachofa se ha observado lo mismo, los valores iniciales de AAT-L así como los valores alcanzados a lo largo de los días se situaban en una escala de 0 a 100 mientras que en la AAT-H se cuadriplicó la escala, siendo de 0 a 400. Al igual que en un estudio de ciruela y como cabría esperar, los resultados revelaron que AAT-H fue altamente correlacionada con el contenido de fenoles totales y en una dimensión inferior con antocianinas, mientras que la AAT-L fue altamente correlacionada con los carotenoides totales (Díaz-Mula et al., 2008).

4.2.3. Fenoles individuales

4.2.3.1. Ácido clorogénico (CGA)

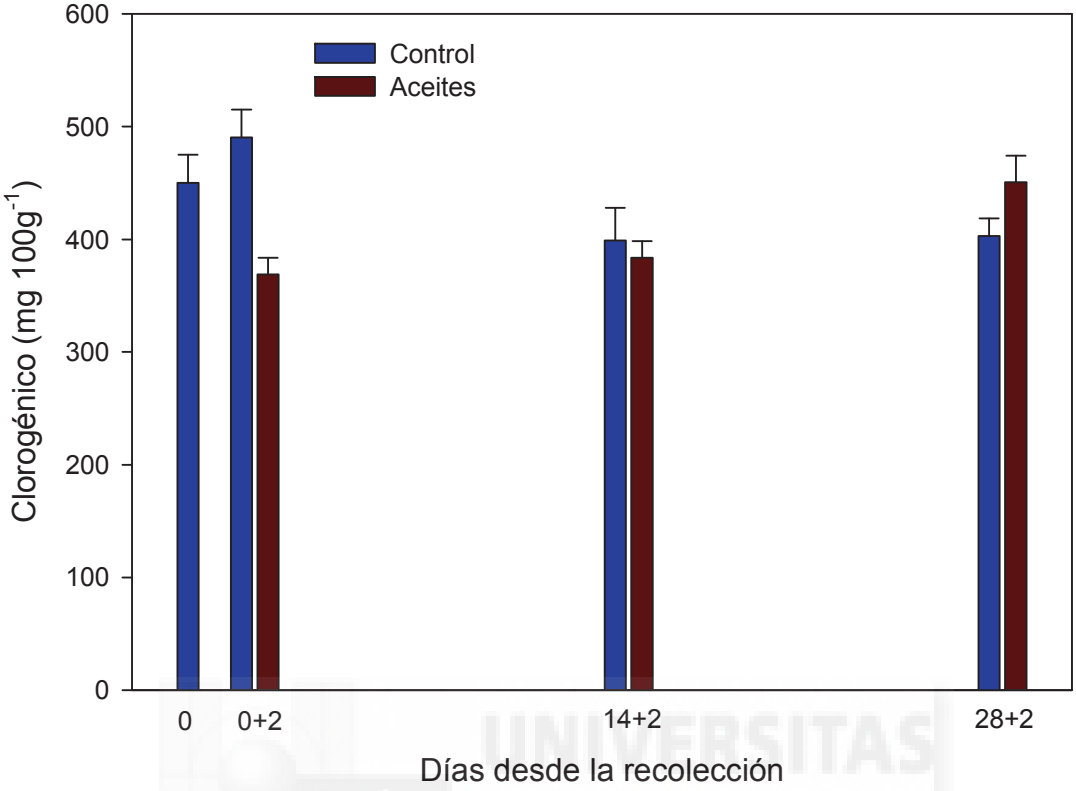
El término "ácido clorogénico" (CGA), incluido en la amplia categoría de compuestos denominados fenólicos, ha sido utilizado para referirse a la familia de ésteres formados por ciertos ácidos trans-cinámicos (cafeico, ferúlico o p-cumárico) y el ácido quínico. De cualquier manera, el nombre de ácido clorogénico, se emplea para denominar específicamente al compuesto individual más común: el ácido 5-O-cafeoilquínico, éster del ácido cafeico (AC) y quínico (AQ) (Clifford, 2000). A su vez, existen isómeros que incluyen el ácido 3-O-cafeoilquínico y ácido 4-O-cafeoilquínico, al ácido isoclorogénico con dos moléculas de ácido cafeico, y otros como los ácidos 3,4-dicafeoilquínico y 3,5-dicafeoilquínico (Niggeweg y col., 2004). El CGA es predominante en berenjena pero también en patata, ciruela, alcachofa y café (Niggeweg y col., 2004; Vermerris y Nicholson, 2006).

También se han aislado en ciruelas, isómeros del CGA como el ácido neoclorogénico y el ácido criptoclorogénico. Estos compuestos han demostrado ser efectivos agentes antioxidantes, siendo capaces de "secuestrar" los radicales del anión superóxido (altamente dañinos para las células) y de proteger frente a la oxidación a las LDL colesterol, por lo que podrían ejercer un papel importante en la prevención de la enfermedad cardiovascular y del cáncer (Zaro, 2014).

Las alcachofas estudiadas presentaron en el momento de la recolección una concentración de CGA de 447,3±18,64 mg·100 g^{-1}. En el día 0+2, la concentración aumentó en las muestras control, envasadas en film macroperforado, hasta alcanzar una concentración de 490,5±24,7 mg·100 g^{-1}, es decir, un aumento del 9 %. En cambio, en dicho período se observa como las muestras tratadas con aceites sufren una disminución del 18 % (368,8±14,7 mg·100 g^{-1}). Sin embargo, al final del experimento los valores mostrados por los dos tratamientos estudiados, control y aceites, mostraron valores similares a los del día de la recolección (Gráfica Nº 6).

El efecto del MAP en el contenido fenólico de los extractos de cabezas de alcachofa estudiados, ha mostrado que en la cuantificación de compuestos fenólicos individuales el ácido clorogénico fue el principal ácido fenólico y los ácidos neoclorogénico (ácido 3-cafeoilquínico) y criptoclorogénico (ácido 4-cafeoilquínico) eran los únicos componentes menores (Gil-Izquierdo et al., 2002).

Al observar los compuestos individuales, el contenido de ácido clorogénico en la parte interna de las cabezas de alcachofa disminuyó después del almacenamiento en las muestras mantenidas en paquetes de polipropileno microperforados, a excepción de las muestras envasadas en paquetes de polietileno de baja densidad (LDPE) y de cloruro de polivinilo (PVC) que conservaban su contenido como en la cosecha. Además, en la parte externa, también se observó una disminución de dicho compuesto en todas las muestras tras el almacenamiento (Gil-Izquierdo et al., 2002).



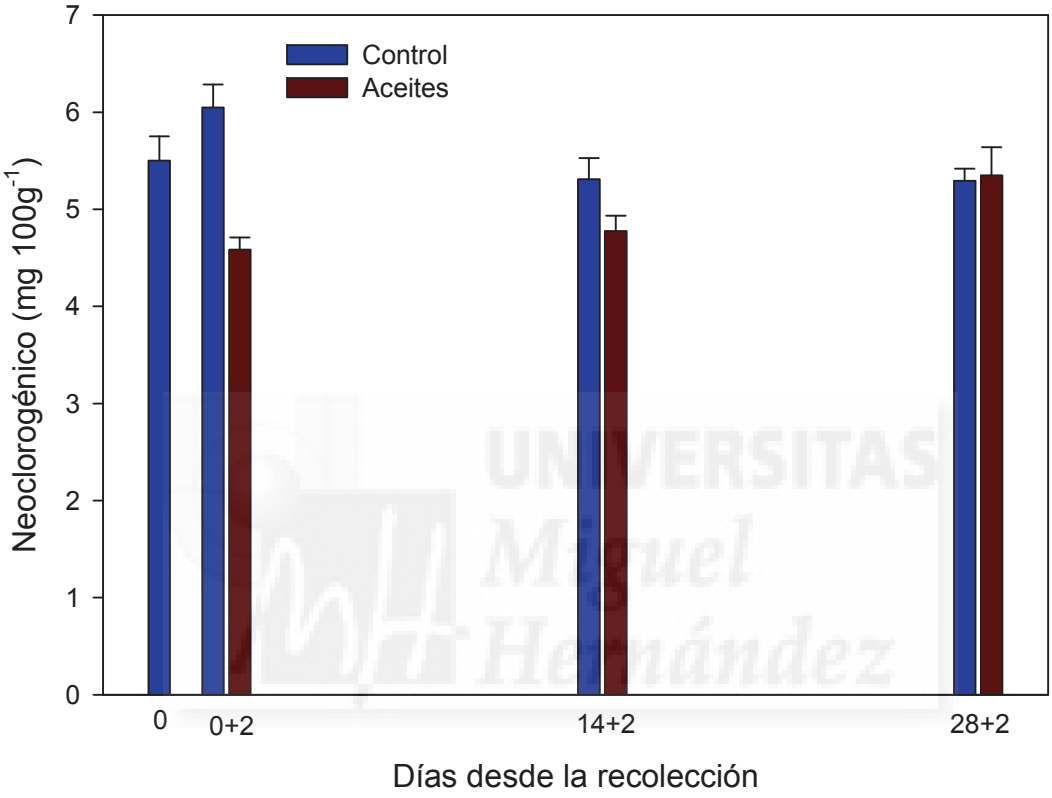
Gráfica Nº 11. Ácido clorogénico presente en las alcachofas con aplicación de aceites esenciales y sin estos (control) en combinación con un envasado en film macroperforado. Los datos son la media ± ES.

La disminución en el contenido de CGA en berenjenas violetas almacenadas por largos períodos, no parece estar asociada al pardeamiento enzimático. La marcada pérdida de compuestos fenólicos en este tipo de frutos podría estar entonces asociada con la lignificación de semillas, fibras y haces vasculares. Esto se produciría si restos cafeoil- provenientes del CGA fueran reciclados (vía cafeoil-CoA) y reducidos a monolignoles (Zaro, 2014). En este sentido, trabajos previos han sugerido que el ácido clorogénico puede contribuir a la arquitectura de la pared celular (Schoch y col., 2001; Mondolot y col., 2006). La aplicación exógena de ácido cafeico podría canalizarse hacia la ruta de los fenilpropanoides, resultando en un incremento de la formación de monómeros de lignina (Bubna y col., 2011). Apoyando esta hipótesis, se ha observado en plantas de café que marcados aumentos del contenido de CGA coincidieron con un incremento en el nivel de compuestos fenólicos unidos a las paredes celulares (Aerts y Baumann, 1994).

4.2.3.2. Ácido neoclorogénico (neo-CGA)

Entre los polifenoles, los tres derivados monocafeoilquínicos son: el ácido clorogénico (Ácido 3-O-cafeoilquínico), criptoclorogénico (Ácido 4-O-cafeoilquínico) y neoclorogénico (Ácido 5-O-cafeoilquínico). El ácido

neoclorogénico (neo-CGA) es un isómero, junto al ácido criptoclorogénico, del ácido clorogénico. Estos compuestos generalmente se valoraron como ácido clorogénico ya que no se dispone de todos los testigos, pero se pueden identificar por su espectro de UV. Por otra parte, al ser isómeros de posición, su absortividad es muy semejante así como también lo es su máximo de absorbancia (Anusic, 2011).



Gráfica Nº 12. Ácido neoclorogénico, isómero del ácido clorogénico, presente en las alcachofas con aplicación de aceites esenciales y sin estos (control) en combinación con un envasado en film macroperforado. Los datos son la media ± ES.

Las alcachofas presentaron una concentración de neo-CGA en el momento de la recolección (Día 0) de 5,51±0,21 mg·100 g^{-1} de peso fresco de alcachofa. La concentración inicial de dicho ácido en los capítulos florales es unas 100 veces menor que la del ácido clorogénico (Gráfica Nº 6). Se pudo observar como las variaciones en este fenol son muy pequeñas, presentando al final del experimento valores muy similares a los iniciales tanto en las alcachofas almacenadas en las bolsas macroperforadas (5,29±0,12 mg·100 g^{-1}) como en las que se adicionaba en este mismo formato los aceites esenciales (5,34±0,29 mg·100 g^{-1}) (Gráfica Nº 7).

El efecto del MAP en el contenido fenólico de los extractos de cabezas de alcachofa estudiados, ha mostrado que en la cuantificación de compuestos fenólicos individuales el ácido clorogénico fue el principal ácido fenólico y los

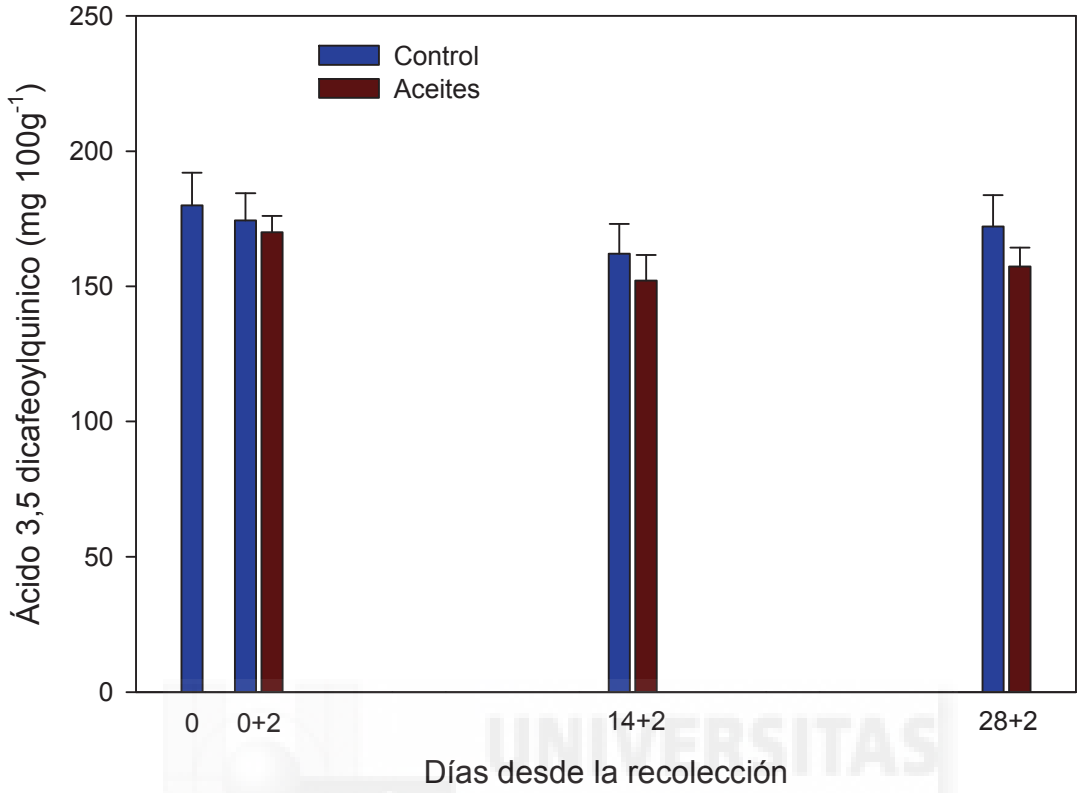
ácidos neoclorogénico (ácido 3-cafeoilquínico) y criptoclorogénico (ácido 4-cafeoilquínico) eran componentes menores (Gil-Izquierdo et al., 2002). Además estos autores detectaron una mayor cantidad de ácido neoclorogénico en el interior que en la parte externa (4,6 y 3,6 mg·100 g^{-1} de peso fresco, respectivamente). El contenido inicial de ácido neoclorogénico fue similar al observado después del almacenamiento de las alcachofas control en ambas porciones internas y externas.

4.2.3.3. Ácido 3,5-dicafeioilquínico (3,5-DCQ)

Es sabido que los extractos de alcachofa (*Cynara scolymus*), perteneciente también a la familia de las Compuestas, han sido usados desde tiempos remotos en medicina para el tratamiento de desórdenes hepáticos y por sus propiedades coleréticas y diuréticas (Martino et al., 1989). Panizzi y Scarpati (1954) aislaron de esta planta cinarina (ácido 1,5-dicafeoilquínico) y ácidos 1,3- y 3,5-dicafeoilquínico, además de ácido clorogénico (3-O-cafeoilquínico). Preziosi y Loscalzo (1956), Montini y Lietti et al. (1975) demostraron en sus respectivos estudios que la propiedad colerética de la alcachofa era debida a los ácidos cafeoilquínicos contenidos en ella. El ácido 3,5-dicafeoilquínico (3,5-DCQ) se encuentra clasificado dentro de los ácidos cafeoilquínicos (ACQ) junto al ácido 5-O-cafeoilquínico, ácido 3,4-O-dicafeoilquínico, ácido 4,5-O-dicafeoilquínico y ácido tricafeoilquínico. En concreto, el 3,5-DCQ es considerado uno de los isómeros del ácido isoclorogénico.

En el momento de la recolección, las muestras de alcachofa presentaron una concentración de ácido 3,5-DCQ de 177,9±10,7 mg·100 g^{-1} de peso fresco. En general, la aplicación del tratamiento de aceites esenciales no supuso variaciones en la concentración de este ácido fenólico, ya que aunque las alcachofas tratadas con el antifúngico natural muestran valores inferiores, las barras de error de las muestras obtenidas nos indican que las variaciones no son significativas. Igualmente, durante la conservación frigorífica de 28 días más 2 a temperatura ambiente, los niveles de 3,5-DCQ fueron muy similares a los obtenidos en el día de la recolección (Gráfica Nº 8).

Tres grupos de compuestos fenólicos se han identificado y cuantificado en cabezas de alcachofa: el ácido clorogénico (CGA), el ácido 1,5-dicafeoilquínico (DCQ), 3,5-DCQ, 1,4-DCQ y 4,5-DCQ. Se observó un mayor aumento de las brácteas internas de alcachofas por MAP, en particular para polietileno de baja densidad (LDPE) y cloruro de polivinilo (PVC). Derivados fenólicos 1,5-dicafeoilquínico (DCQ), 3,5-DCQ, 1,4-DCQ y 4,5-DCQ fueron los principales compuestos responsables de dicho aumento (Gil-Izquierdo et al., 2002).



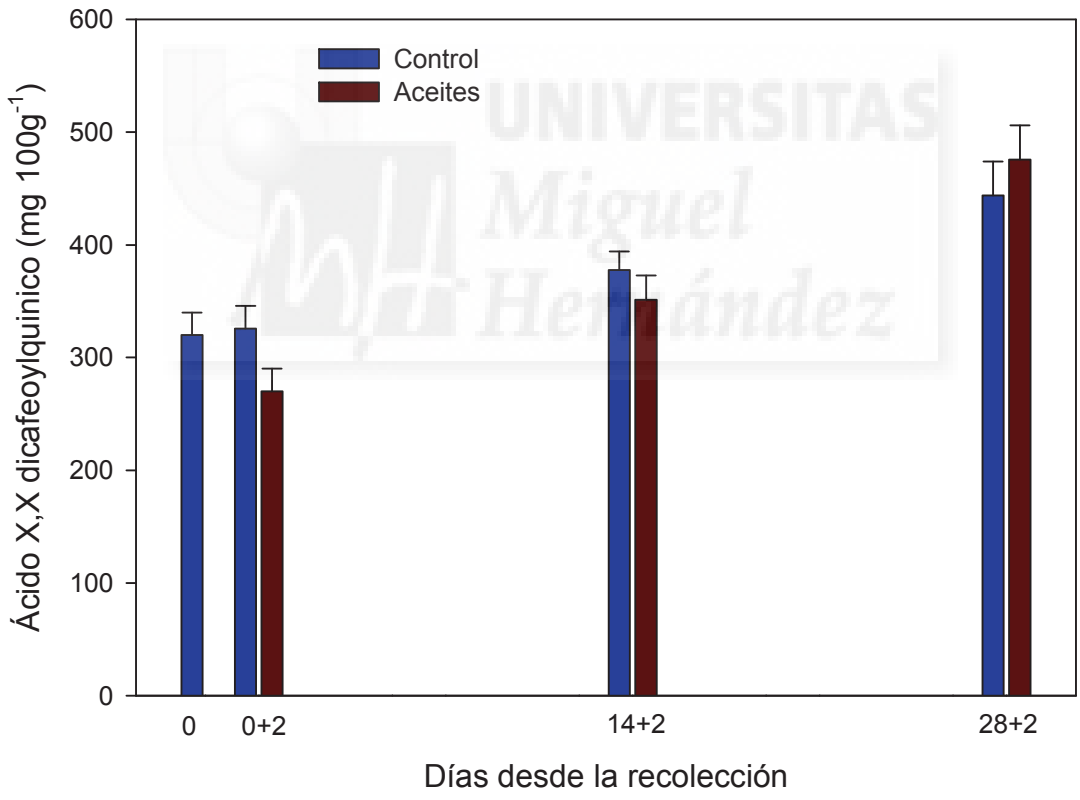
Gráfica Nº 13. Ácido 3,5-dicafeoilquínico, isómero del ácido isoclorogénico, presente en las alcachofas con aplicación de aceites esenciales y sin estos (control) en combinación con un envasado en film macroperforado. Los datos son la media ± ES.

Gil-Izquierdo et al., (2002) publicaron que el envasado en atmósfera modificada con valores bajos de CO_2 (paquetes de PVC y LDPE) mantiene el contenido de vitamina C. Además, se observó un gran aumento en el contenido de compuestos fenólicos en los paquetes con bajo CO_2 en comparación con aquellos con valores de CO_2 más altos (PP1, PP2 y PP3, envases microperforados). La reducción de la concentración de O_2 en la atmósfera de almacenamiento tuvo poco efecto sobre la vitamina C y los contenidos fenólicos. Teniendo en cuenta las propiedades que promueven la salud y nutricionales de los compuestos fenólicos y vitamina C, LDPE es la película que se recomienda para mantener la calidad de las alcachofas.

La base que fundamenta que las muestras envasadas en film macroperforado (control) presenten una concentración de 3,5-DCQ superior a las muestras con aceites esenciales, es la composición gaseosa del entorno y la actuación tardía de los aceites. El film macroperforado consigue una atmósfera con valores bajos de CO_2, preservando los compuestos fenólicos.

4.2.3.4. Ácido X,X-dicafeioilquínico (X,X-DCQ)

Tres grupos de compuestos fenólicos se han identificado y cuantificado en cabezas de alcachofa: el ácido clorogénico (CGA), el ácido 1,5-dicafeoilquínico (DCQ), 3,5-DCQ, 1,4-DCQ y 4,5-DCQ (Gil-Izquierdo et al., 2002). Sin embargo, el resto de la bibliografía consultada resulta confusa en este aspecto, y no se tiene claro la composición exacta de las alcachofas. El ácido X,X-dicafeioilquínico puede ser cualquiera de los ácidos nombrados pero no se ha podido reconocer la posición correcta de los dos grupos cafeioil-, puesto que el pico representado dentro del cromatograma estudiado así como el tiempo de retención en la columna del cromatógrafo no nos confirman la determinación correcta del mismo. De todas formas, se ha realizado la cuantificación del mismo puesto que se presentan en una escala de concentración significativa.



Gráfica Nº 14. Ácido X,X-dicafeoilquínico, isómero del ácido isoclorogénico, presente en las alcachofas con aplicación de aceites esenciales y sin estos (control) en combinación con un envasado en film macroperforado. Los datos son la media ± ES.

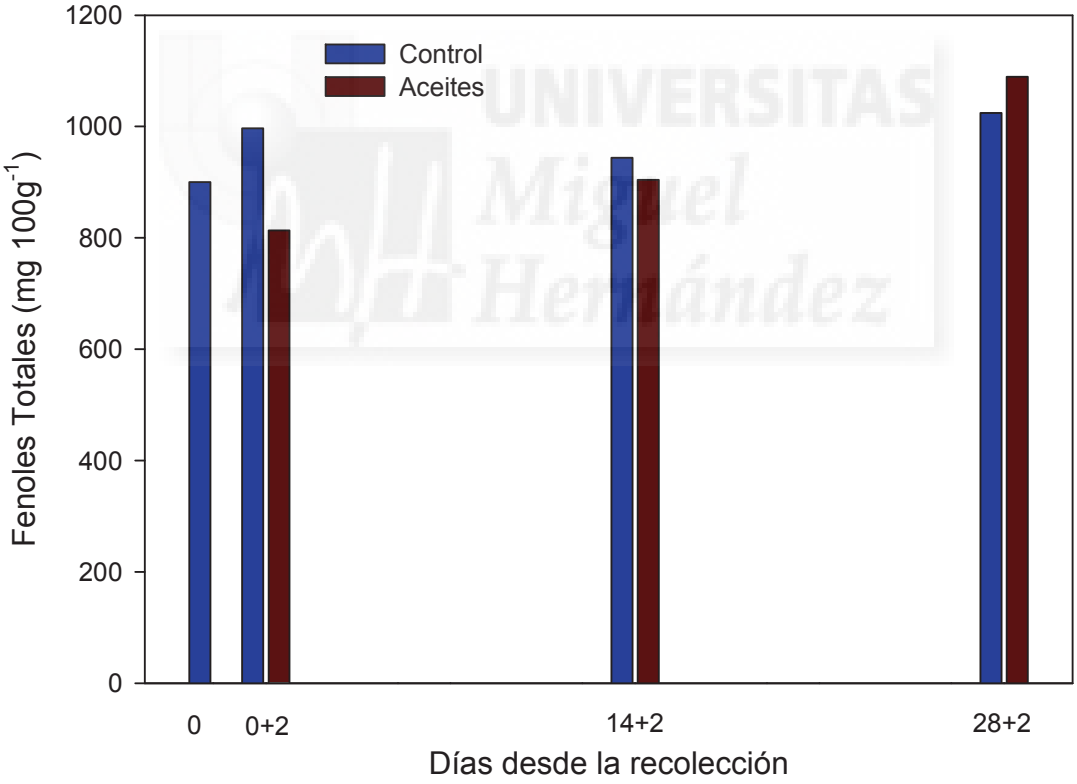
Como se observa, la concentración del ácido de interés en el momento de la recolección es de 320,6±18,3 mg·100 g^{-1} de peso fresco. A pesar de que no se pudieron observar diferencias significativas entre los dos tratamientos ensayados, en el día 28+2 las muestras a las que se les aplicaron los aceites incrementaron la

concentración con respecto al día 0 en un 48 % mientras que el de las muestras control lo hicieron en un 38 % (Gráfica Nº 9).

En un estudio similar, realizado por Gil-Izquierdo et al., (2002) se reportó que los derivados fenólicos 1,5-dicafeoilquínico (DCQ), 3,5-DCQ, 1,4-DCQ y 4,5-DCQ fueron los principales compuestos responsables de un aumento fenólico en las brácteas internas de las alcachofas envasadas por MAP.

4.2.4. Fenoles totales por HPLC

La cuantificación fenólica total por la técnica del HPLC nos permitió representar la concentración total que supone en los capítulos de alcachofa los cuatro compuestos fenólicos estudiados. Estos son: el ácido clorogénico (CGA), el ácido neoclorogénico (neo-CGA), el ácido 3,5-dicafeioilquínico (3,5-DCQ) y el ácido X,X-dicafeioilquínico (X,X-DCQ).



Gráfica Nº 15. Compuestos fenólicos de las alcachofas con aplicación de aceites esenciales y sin estos (control) en combinación con un envasado en film macroperforado. Técnica de medición: HPLC. Los datos son la media ± ES.

Respecto a la concentración fenólica total de los fenoles individuales cuantificados, se observó como las concentraciones obtenidas fueron muy parecidas aunque ligeramente superiores a las determinadas por el reactivo de Folin, manteniendo las diferencias, aunque no significativas, por la aplicación de

los tratamientos. Se pudo observar como la concentración de fenoles osciló entre los 900 y 1000 mg·100 g^{-1} de peso fresco durante los 30 días que duró el experimento. En la suma de los fenoles individuales, destaca como dos días después de la recolección, las muestras control, envasadas en film macroperforado, que sufren un incremento del 11 % respecto a la concentración inicial. Mientras que las muestras a las que se les habían aplicado los aceites esenciales descienden en la misma proporción hasta alcanzar una concentración de unos 800 mg·100 g^{-1} de peso fresco de alcachofa (Gráfica Nº 10).

En el día 14+2 no se presentan diferencias significativas, pero una vez que se alcanza el período 28+2 podemos ver el incremento con respecto a la concentración fenólica de partida en ambos tratamientos. Las muestras a las que se les había aplicado los aceites esenciales mostraron un incremento hasta 1090 mg·100 g^{-1} de peso fresco mientras que las muestras control se mantuvieron con el nivel que habían alcanzado a los dos días de la recolección. Esto es debido a que es en este período en el que se observa la actuación de los aceites esenciales con respecto al mantenimiento de la calidad de la alcachofa, efectos también visibles anteriormente (Gráfica Nº 10).

En una purificación hecha en diferentes variedades de alcachofa (Wang et al., 2003), se muestra como los diferentes compuestos fenólicos presentes en alcachofa varían en función de la variedad y las diferentes partes de la misma. En nuestro ensayo, al igual que se concluía en el otro punto de compuestos fenólicos totales (Gráfica Nº 3), los resultados obtenidos muestran como al final del experimento las alcachofas que habían sido tratadas con aceites esenciales mostraban unos niveles mayores de dichos compuestos fenólicos, lo que podría ser debido a una menor degradación de la inflorescencia como se ha mostrado en los resultados fisiológicos presentados en el punto anterior (Gráficas Nº 1 y 2).

4.2.5. Cromatograma HPLC

En el cromatograma HPLC obtenido de los extractos de alcachofa estudiados se pueden identificar los cuatro picos representativos de los cuatro fenoles individuales que se han ido comentando y discutiendo en los puntos anteriores. La técnica de la cromatografía de líquidos de alta resolución nos permite poder identificar los picos de dicho cromatograma comparando los tiempos de retención con los tiempos que vienen dados por el manual del fabricante.

En nuestro experimento, hemos podido identificar tres fenoles presentes en los capítulos de alcachofa: el ácido neoclorogénico (t_r = 21,116), el ácido clorogénico (t_r = 31,901) y el ácido 3,5-dicafeioilquínico (t_r = 51,470). En cambio, se ha identificado otro fenol más presente en la alcachofa con un tiempo de retención de 52,369 minutos pero no se ha podido especificar a ciencia cierta de cual se trata. Para ello, se aconseja utilizar técnicas analíticas más sofisticadas.

Resultados y discusión

Fig. Nº 17. Cromatograma HPLC de extractos de alcachofa "Blanca de Tudela". (1) Ácido neoclorogénico; (2) Ácido clorogénico; (3) Ácido 3,5-dicafeioilquínico; (4) Ácido X,X-dicafeioilquínico. Fuente: Adaptación de picos y elaboración a partir del sistema HPLC Hewlett-Packard 1100 pump.

5. CONCLUSIONES

1.- La aplicación de aceites esenciales a la concentración de 0,33 $mL \cdot L^{-1}$ en combinación con la protección de una bolsa macroperforada incrementa la calidad de las alcachofas "Blanca de Tudela" con respecto a las mismas sin aceites (control), ya que disminuye las pérdidas de peso y la tasa de respiración.

2.- Las alcachofas tratadas con aceites esenciales presentan una mayor actividad antioxidante total, debido a que ésta incrementa tanto en la fase hidrosoluble como liposoluble.

3.- Los principales fenoles detectados en alcachofa son el ácido clorogénico, el ácido neoclorogénico y dos isómeros del ácido isoclorogénico (uno el ácido 3,5-dicafeioilquínico y el otro estaría por determinar con técnicas analíticas más sofisticadas).

4.- Los fenoles, con una alta concentración, permanecen constantes durante los 28 días de almacenamiento, sin observar un efecto negativo en los mismos por la aplicación de los aceites esenciales.

Por tanto, como conclusión final, podríamos afirmar que la aplicación de aceites esenciales en combinación con la atmosfera controlada sería una herramienta útil para la poscosecha de la alcachofa "Blanca de Tudela", ya que mejora los principales parámetros fisiológicos que se alteran en esta hortaliza, sin afectar al contenido en polifenoles y mejorando el carácter antioxidante. Aun así, sería necesario seguir trabajando en este sentido para conseguir una transferencia a la industria de la alcachofa en fresco.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acked J. 2002. Maintaining the post-harvest quality of fruits and vegetables. In Fruit and Vegetable Processing, ed. W. Jongem, pp. 121-149.

Aerts R.J., Baumann T.W. 1994. Distribution and utilization of chlorogenic acid in Coffea seedlings. Journal of Experimental Botanic, Vol. 45, pp. 497–503.

Amorós A., Petrel M.T., Zapata P.J., Botella M.A., Romojaro F., Serrano M. 2008. Use of modified atmosphere packaging with microperforated polypropylene films to maintain postharvest loquat fruit quality. Food Science and Technology International, Vol. 14, pp. 95-103.

Anusic N. 2011. Identificación y cuantificación de polifenoles en yerba mate y brebajes. Las tesinas de Belgrano. Universidad de Belgrano.

Appendini P., Hotchkiss J.H. 2002. Review of antimicrobial food packaging. Innovative Food Science and Emerging Technology, Vol. 3, pp. 113-126.

Arce P., López B., Macua J.L., Gil Ortega R., Villa F. 1993. Comportamiento agronómico de variedades de alcachofa *(Cynara scolymus L.)* de multiplicación por zueca, semilla y técnicas de cultivo «in vitro». Acta de Horticultura, Vol. 10, pp. 1565-1570.

Arora D.S, Kaur J. 1999. Antimicrobial activity of spices. International Journal of Antimicrobial Agents, Vol. 12, pp. 257-262.

Artés Calero F. 2006. El envasado en atmósfera modificada mejora la calidad de consumo de los productos hortofrutícolas innatos y mínimamente procesados en fresco. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, Vol. 7, pp. 61-85.

Artés F. 2007. Challenges and advances in the chilling storage and minimal processing of artichoke. Acta Horticulture, Vol. 730, pp. 429-434.

Bagamboula C.F., Uyttendaele M., Debevere J. 2004. Inhibitory effect of tyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. Food Microbiology, Vol. 21, pp. 33-42.

Barba Teodoro A. 2015. Nuevas tecnologías poscosecha para la conservación en fresco de la alcachofa Blanca de Tudela. Trabajo Fin de Carrera. Universidad Miguel Hernández de Elche (EPSO).

Base de Datos Española de Composición de Alimentos (BEDCA). 2007. Alcachofa, cruda (Id: 1176).

Beaudry R.M. 2000. Responses of horticultural commodities to oxygen: Limits to the expended use of modified atmosphere packaging. HortTechnology, Vol. 10, pp. 491-500.

Becker E.M., Nissen L.R., Skibsted L.H. 2004. Antioxidant evaluation protocols: food quality or health effects. European Food Research and Technology, Vol. 219, pp. 561-571.

Braca A. 2008. Chemical composition and antimicrobial activity of *Momordica charantia* seed essential oil. Fitoterapia, Vol. 19, pp. 123-125.

Brandt K., Christensen L.P., Hansen-Møller J., Hansen S.L., Haraldsdottir J., Jespersen L., Purup S., Kharazmi A., Barkholt V., Frøkiær H., Kobæk-Larsen M. 2004. Health promoting compounds in vegetables and fruits: a systematic approach for identifying plant components with impact on human health. Trends in Food Science & Technology, Vol. 15, pp. 384–393.

Bubna G.A., Lima R.B., Zanardo D.Y., Dos Santos W.D., Ferrarese M de L, Ferrarese-Filho O. 2011. Exogenous caffeic acid inhibits the growth and enhances the lignification of the roots of soybean (Glycine max). Journal of Plant Physiology, Vol. 168, pp. 1627-1633.

Burt S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – A review. International Journal of Food Microbiology, Vol. 94, pp. 223-253.

Calculadora Nutricional. 2015. Alce Ingeniería (Ingeniería, informática y estadística en medicina y biología). http://www.seh-lelha.org/calena.aspx

Castillo S. 2014. Tablas para la determinación de necesidades de frio en el enfriamiento de frutas y hortalizas. Asignatura Bases del Diseño de la Industria Alimentaria. Universidad Miguel Hernández de Elche (EPSO).

Chen L., Vigneault C., Raghavan G.S.V., Kubow S. 2007. Importance of the phytochemical content of fruits and vegetables to human health. Stewart Postharvest. Rev. 3, 2.

Cho Y.S., Yeum K.J., Chen C.Y., Beretta G., Tang G., Krinsky N.Y., Yoon S., Lee-Kim Y.C., Blumberg J.B., Russell R.M. 2007. Phytonutrients affecting hydrophilic and lipophilic antioxidant activities in fruits, vegetables and legumes. Journal of the Science of Food and Agriculture, Vol. 87, pp. 1096–1107.

Chun O.K., Kim D.O., Moon H.Y., Kang H.G., Lee C.Y. 2003. Contribution of individual polyphenolics to total antioxidant capacity of plums. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 51, pp. 7240–7245.

Clifford M. 2000. Chlorogenic acids and other cinnamates–nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. Journal of the Science of Food and Agriculture, Vol. 80, pp. 1033-1043.

Cruzado M., Pastor A., Castro N., Cedrón J.C. 2013. Determinación de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos de alcachofa (*Cynara scolymus* L.). Revista de la Sociedad Química del Perú, Vol. 79, Nº 1.

Cowan M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, Vol. 12, pp. 564-582.

Daayf F., Lattancio V. 2008. Recent Advances in Polyphenol Research. Chinchester: Blackwell Publishing Ltd.

Decisión de la Comisión de 23 de enero de 2002, por la que se modifica la Decisión 1999/217/CE por lo que respecta al repertorio de sustancias aromatizantes utilizadas en o sobre los productos alimenticios. Diario Oficial de las Comunidades Europeas (CE).

Del Nobile M.A., Conte A., Scrocco C., Laverse J., Brescia I., Conversa G., Elia A. 2008. New packaging strategies to preserve fresh-cut artichoke quality during refrigerated storage. Innovative Food Science & Emerging Technologies, Vol. 10, pp. 128-133.

Del Valle L. 1987. El cultivo moderno de la alcachofa. (Ed.) De Vecchi S.A., pp. 9-22.

Díaz-Mula H.M., Zapata P.J., Guillén F., Martínez-Romero D., Castillo S., Serrano M., Valero D. 2008. Changes in hydrophilic and lipophilic antioxidant activity and related bioactive compounds during postharvest storage of yellow and purple plum cultivars. Postharvest Biology and Technology, Vol. 51, pp. 354-363.

Díaz-Mula H.M., Martínez-Romero D., Castillo S., Serrano M., Valero D. 2011. Modified atmosphere packaging of yellow and purple plum cultivars. 1. Effect on organoleptic quality. Postharvest Biology and Technology, Vol. 61, pp. 103-109.

Díaz-Mula H.M., Zapata P.J., Guillén F., Valverde J.M., Valero D., Serrano M. 2011. Modified atmosphere packaging of yellow and purple plum cultivars. 2. Effect on bioactive compounds and antioxidant activity. Postharvest Biology and Technology, Vol. 61, pp. 110-116.

Dorais M., Ehret D.L., Papadopoulos A.P. 2008. Tomato (*Solanum lycopersicum*) health components: from the seed to the consumer. Phytochemistry Reviews, Vol. 7, pp. 231–250.

Espín J.C., García-Conesa M.T., Tomás-Barberán F.A. 2007. Nutraceuticals. Facts and fiction. Phytochemistry, Vol. 68, pp. 2986–3008.

Espinosa Vicente M. 2013. Utilización del envasado macroperforado en poscosecha para mantener la calidad de alcachofa Blanca de Tudela. Trabajo Fin de Carrera. Universidad Miguel Hernández de Elche (EPSO).

Europa firma los productos de su tierra. 2015. IGP Alcachofa de Tudela. http://www.europafirma.es/2-ES-Alcachofa_de_Tudela

Federación Española de Asociaciones de Productores y Exportadores de Frutas, Hortalizas, Flores y Plantas vivas (FEPEX). 2015. Datos estadísticos.

FEN - Fundación Española de la Nutrición. 2015. Verduras y Hortalizas. Alcachofa (*Cynara scolymus L.*), pp. 131-132.

Fisher K., Phillips C. 2008. Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer? Trends in Food Science and Technology, Vol. 19, pp. 156-164.

Foury C. 1989. Ressources genetiques et diversification de l'artichaut *Cynara scolymus L.* Acta Horticulturae, Vol. 242, pp. 155-166.

Frattiani F., Tucci M., De Palma M., Pepe R., Nazzaro F. 2007. Polyphenolic composition in different parts of some cultivars of globe artichoke (*Cynara cardunccculus L. var. scolymus (L.) Fiori*). Food chemistry, Vol. 104, pp. 1282-1286.

Gil A. 2010. Tratado de Nutrición. Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos (2º ed.). Tomo II. (Ed.) Médica Panamericana S.A., pp. 141-164.

Gil-Izquierdo A., Conesa M.A., Ferreres F., Gil M.I. 2002. Influence of modified atmosphere packaging on quality, vitamin C and phenolic content of artichokes (Cynara scolymus L.). European Food Research and Technology, Vol. 215, pp. 21-27.

Gil Ortega R. 1999. El cultivo de la alcachofa. Variedades de semilla. Hoja Divulgadora, Nº 2097, pp. 47.

Gil Ortega R. 2001. Alcachofa. En: La Horticultura Española. Nuez, F y Llacer G. (Eds.) Sociedad Española de Ciencias Hortícolas (SECH) y Ediciones de Horticultura S.L., pp. 90-92.

Gómez-Galindo F., Herppich W., Gekas V., Sjöholm I. 2004. Factors affecting quality and postharvest properties of vegetables: Integration of water relations and metabolism. Critical Review in Food Science and Nutrition, Vol. 44, pp. 139-154.

Guenther E. 1948. The Essential Oils. D. New York: Van Nostrand.

Guías de los alimentos de Eroski Consumer. 2006. Verduras y Hortalizas: La alcachofa.

Guillén A.F. 2010. Apuntes de la asignatura Conservación de los Alimentos en la Universidad Miguel Hernández de Elche.

Guillén F., Zapata P.J., Martínez-Romero D., Castillo S., Serrano M., Valero D. 2007b. Improvement of the overall quality of table grapes store under modified atmosphere packaging in combination with natural antimicrobial compounds. Journal of Food Science, Vol. 72, pp. S185-S190.

Gutierrez J., Bourke P., Lonchamp J., Barry-Ryan C. 2008. Impact of plant essential oils on microbiological, organoleptic and quality markers of minimally processed vegetables. Innovative Food Science & Emerging Technologies, Vol. 10, pp. 195-202.

Holley R.A., Patel D. 2005. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. Food Microbiology, Vol. 22, pp. 273-292.

Hounsome N., Hounsome B., Tomos D., Edwards-Jones G. 2008. Plant metabolites and nutritional quality of vegetables. Journal of Food Science, Vol. 73, pp. R48–R65.

Hung H.C., Joshipura K.J., Jiang R., Hu F.B., Hunter D., Smith-Warner S.A., Coldditz G.A., Rosner B., Spiegelman D., Willett V.C. 2004. Fruit and vegetable intake and risk of major chronic disease. Journal of the National Cancer Institute, Vol. 96, pp. 1577–1584.

Idrisi Z. 2005. The Muslim agricultural revolution and its influence on Europe. Manchester. UK: Foundation for Science, Technology and Civilization FSTC.

Kader A.A. 2002. Postharvest Technology of Horticultural Crops (3º ed.). Agriculture and Natural Resources. University of California.

Kader F., Rovel B., Girardin M., Metche M.J. 1997. Science Food Agriculture, Vol. 73, pp. 513.

Kim D.O., Lee C.Y. 2004. Comprehensive study on vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of various polyphenolics in scavenging a free radical and its structural relationship. Critical Review in Food Science and Nutrition, Vol. 44, pp. 153-273.

Lanciotti R., Gianotti A., Patrignani F., Belletti N., Guerzoni M.E., Gardini F. 2004. Use of natural aroma compounds to improve shelf-life and safety of

minimally processed fruits. Trends in Food Science and Technology, Vol. 15, pp. 201-208.

Legislación y publicaciones de la UE (EUR-LEX). 2015. REGLAMENTO (CE) Nº 1466/2003 DE LA COMISIÓN de 19 de agosto de 2013, por el que se establecen las normas de comercialización de las alcachofas y se modifica el Reglamento (CE) Nº 963/98.

Liu R.H. 2004. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. The Journal of Nutrition, Vol. 134, pp. 3479S-3485S.

Mabeau S., Baty-Julien C., Hélias A.B., Chodosas O., Surbled M., Metra P., Durand D., Morice G., Chesné C., Mekideche K. 2005. Antioxidant activity of extracts of artichoke and by-products. BBV Applied Research Center for plant breeding, biotechnology and quality, Canadá.

Macua J.I. 2007. New horizons for artichoke cultivation. Acta Horticulturae, Vol. 730, pp. 39-48.

Macua J.I., Fernández J.A., Egea-Gilabert C., Lahoz I. 2003. Futuro de la alcachofa de semilla en Navarra. Sociedad Española de Ciencias Hortícolas (SECH). Actas de Horticultura, Nº 58. Capítulo 1: Material Vegetal.

Macua J.I., Lahoz I., Santos A., Urmeneta I. 2012. Influence of the planting season on the "Blanca de Tudela" artichoke in the agroclimatic conditions of Navarre. Acta Horticulturae, Vol. 942, pp. 325-330.

Madrid M. 2011. Alcachofa, prácticas recomendadas de cosecha y post-cosecha. http://www.fruitprofits.com/sp/noticia.asp?reg=9

Maroto Borrego J.V. 1995. Horticultura herbácea especial. Ediciones Mundi-Prensa, 4º ed., pp. 315.

Martínez López J.A. 2010. Tesis Doctoral sobre la Optimización del envasado en atmósfera modificada de la lechuga Iceberg. Universidad de Murcia, pp. 32.

Martínez-Romero D., Castillo S., Valverde J.M., Guillén F., Valero D., Serrano M. 2005. The use of natural aromatic essential oils helps to maintain post-harvest quality of "Crimson" table grapes. Acta Horticulturae, Vol. 682, pp. 1723-1730.

Martino V.S., Ferraro G.E., Debenedetti S.L., Coussio J.D. 1989. Determinación Espectrofotométrica del Contenido de Ácidos Cafeoilquínicos en Especies Argentinas de Compuestas usadas en Medicina Popular. Acta Farmacia Bonaerense, Nº 8. Buenos Aires, Argentina.

Mastromatteo M., Conte A., Del Nobile M.A. 2010. Combined Use of Modified Atmosphere Packaging and Natural Compounds for Food Preservation. Food Engineering Reviews, Vol. 2, pp. 28-38.

Melilli M.G., Raccuia S.A., Paneblanco G., Scandurra S., Di Blasi P. 2012. Influence of cold storage and washing treatments on total polyphenols content in globe artichoke heads. Acta Horticulturae, Vol. 942, pp. 391-394.

Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA). 2015. Alcachofa. Cultivo, plagas y enfermedades (I parte).

Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA). 2013. Anuario de Estadística. Capítulo 13: Superficies y Producciones de Cultivo. Parte 13.6.31: Alcachofa.

Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA). 2014. Encuesta sobre Superficies y Rendimientos Cultivos (ESYRCE). Encuesta de Marco de Áreas de España.

Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA). 2015. Ficha técnica. Globe artichoke (*Cynara Scolymus L.*).

Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA). 2015. Hoja divulgadora, Nº 2097. El cultivo de la alcachofa. Variedades de semilla.

Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA). 2015. Indicación Geográfica Protegida "Alcachofa de Tudela".

Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA). 2015. La prerrefrigeración de la alcachofa.

Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA). 2015. Material Vegetal: Alcachofa - Blanca de Tudela.

Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA). 2015. Variedades de alcachofa.

Mondolot L., La Fisca P., Buatoris B., Talansier E., De Kochko A., Campa C. 2006. Evolution in caffeoylquinic acid content and histolocalization during Coffea canephora leaf development. Annals of Botany, Vol. 98, pp. 33–40.

Niggeweg R., Michael A., Martin C. 2004. Engineering plants with increased levels of the antioxidant chlorogenic acid. Nature Biotechnology, Vol. 22, pp. 746-754.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 2015. Dirección de Estadística (FAOSTAT). Cultivos de Alcachofa.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 2015. Repositorio. Manual para el mejoramiento del manejo poscosecha de frutas y hortalizas. Título: Las frutas y hortalizas frescas como productos perecibles.

Perera C.O., Yen G.M. 2007. Functional properties of carotenoids in human health. International Journal of Food Properties, Vol. 10, pp. 201–230.

Pérez-Alfonso C.O., Martínez-Romero D., Zapata P.J., Serrano M., Valero D., Castillo S. 2012. The effects of essential oils carvacrol and thymol on growth of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* involved in lemon decay. International Journal of Food Microbiology, Vol. 158, pp. 101-106.

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, Vol. 67, pp. 1408-1416.

Pignone D., Sonnante G. 2004. Wild artichokes of south Italy: did the story begin here? Genetic Resources and Crop Evolution, Vol. 51, pp. 577-580.

Pontificia Universidad Católica de Chile. 2015. Agronomía. Manual de poscosecha: Alcachofa (*Cynara cardunculus L.*) http://www7.uc.cl/sw_educ/agronomia/manual_poscosecha/archiv/prodf8.html

Postharvest Technology Maintaining Produce Quality & Safety. University of California, DAVIS. 2013. Artichoke (Globe): Recommendations for Maintaining Postharvest Quality.

Raccuia S.A., Melilli M.G. 2007. Effect of storage temperature and genotype on quality of globe artichoke [*Cynara cardunculus L. subsp. scolymus (L.) Hegi*] head. Acta Horticulturae, Vol. 730, pp. 449-454.

Ramírez Anaya J.P. 2013. Influencia de las técnicas culinarias sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante en hortalizas de la dieta mediterránea. Tesis doctoral. Universidad de Granada.

Reglamentación de Estados Unidos sobre aditivos en alimentos: Aditivos autorizados. 2015. Oficina Económica y Comercial de España – Washington. http://www.ribeirasacra.org/media/documentos/REGLAMENTACIoNEEUUADITIVOSALIMENTOS.pdf

Rodrigo García J., De la Rosa L.A., Herrera Duenez B., González Barrios A.G., López Díaz J.A., González Aguilar G.A., Ruiz Cruz S., Álvarez Parrilla E. 2011.

Polyphenol and antioxidant capacity quantification in peaches commercialized in Ciudad Juarez, Mexico. Artículo arbitrado. TECNOCIENCIA, Vol. 5, Nº 2.

Rodríguez López J.N. 2009. Profesor Titular del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Murcia, en su estudio sobre aprovechamiento de residuos de alcachofa. ***http://digitum.um.es/xmlui/bitstream/10201/6303/1/Aprovechamiento%20de%20Residuos%20de%20Alcachofa-Aspectos%20Teoricos.pdf***

Rogensky V., Lissi E.A. 2005. Review of methods to determine chain breaking antioxidant activity in food. Food Chemistry, Vol. 92, pp. 235-254.

Ruberto G., Baratta M.T. 2000. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. Food Chemistry, Vol. 69, pp. 167-174.

Rubio Castillo P. 2012. Efecto de pre-enfriamiento con hydrocooling sobre la calidad post-cosecha de alcachofa Blanca de Tudela. Trabajo Fin de Carrera. Universidad Miguel Hernández de Elche (EPSO).

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, Vol. 91, pp. 621-632.

Sala Magraner F., Carpintero Rodríguez C. 1967. La alcachofa. Madrid. Ministerio de Agricultura, España. (1ª ed.), 149 p.

Salunke D.K., Bolin H.R., Reddy N.R. 1991. Storage, processing and nutritional quality of fruits and vegetables. CRC Press Inc., (2ª ed.), Vol. 2.

Sánchez Moreno C. 2002. Review: Methods used to evaluate the free radial scavenging activity in food and biological systems. Food Science and Technology, Vol. 8, pp. 121-137.

Scalbert A., Williamson G. 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. The Journal of Nutrition, Vol. 130, pp. 2073S-2085S.

Scalzo J., Politi A., Pellegrini N., Mezzeti B., Battino M. 2005. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic content in fruit. Nutrition, Vol. 21, pp. 207–213.

Schoch G., Goepfert S., Morant M., Hehn A., Meyer D., Ullmann P., Werck-Reichhart D. 2001. CYP98A3 from Arabidopsis thaliana is a 3′-hydroxylase of phenolic esters, a missing link in the phenylpropanoid pathway. The Journal of Biological Chemistry, Vol. 276, pp. 36566–36574.

Serrano M., Martínez-Romero D., Guillén F., Valverde J.M., Zapata P.J., Castillo S., Valero D. 2008a. The addition of essential oils to MAP as a tool to maintain the overall quality of fruits. Trends in Food Science & Technology, Vol. 19, pp. 464-471.

Serrano Z. 2006. La alcachofa. Consejería de Agricultura y Pesca – Junta de Andalucía.

Servicio Público de Empleo Estatal. 2013. Estudio prospectivo titulado "El Sector Hortofrutícola en España 2012".

Soliva-Fortuny R.C., Martín-Belloso O. 2003. New advances in extending the shelf-life of fresh-cut fruits: A review. Trends in Food Science & Technology, Vol. 14, pp. 341-353.

Sonnante G., Morgese A., Sonnante Gi. y Pignone D. 2012. The evolution of *Cynara*: diversity and domestication of artichoke and cardoon. Acta horticulture, Vol. 942, pp. 61-66.

Sonnante G., Pignone D., Hammer K. 2007. The domestication of artichoke and cardoon: from Roman times to the genomic age. Annals of Botany, Vol. 100, pp. 1095-1100.

Stevenson D.E., Hurst R.D. 2007. Polyphenol phytochemicals-just antioxidants or much more? Cellular and Molecular Life Sciences, Vol. 64, pp. 2900–2916.

Tamaro D. 1988. Manual de horticultura. Ediciones G. Gili. México, D.F.

Tomás-Barberán F.A., Gil M.I., Cremin P., Waterhouse A.L., Hess-Pierce B., Kader A.A. 2001. HPLC-DAD-ESIMS Analysis of Phenolic Compounds in Nectarines, Peaches, and Plums. Journal of agricultural and food chemistry, Vol. 49, pp. 4748-4760.

Tripathi P., Dubey N.K. 2004. Exploitation of natural products as alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. Postharvest Biology and Technology, Vol. 32, pp. 235-245.

Ultee A., Bennik M.H.J, Moezelaar R. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen: *Bacillus creus*. Applied Environmental Microbiology, Vol. 68, pp. 1561-1568.

Valero D. 2012. Apuntes de la asignatura Tecnología de la Post-recolección en la Universidad Miguel Hernández de Elche.

Valero D., Guillén F., Martínez-Romero D., Castillo S., Zapata P.J., Serrano M. 2010. A novel active packaging to maintain quality and increase shelf life and safety of table grapes. Acta Horticulturae, Vol. 856, pp. 281-286.

Valero D., Serrano M. 2010. Postharvest Biology and Technology for Preserving Fruit Quality. (Ed.) CRC Press, Taylor & Francis Group.

Valero D., Valverde J.M., Martínez-Romero D., Guillén F., Castillo S., Serrano M. 2006. The combination of modified atmosphere packaging with eugenol or thymol to maintain quality, safety and functional properties of table grapes. Postharvest Biology and Technology, Vol. 41, pp. 317-327.

Valverde J.M., Guillén F., Martínez-Romero D., Castillo S., Serrano M. Valero D. 2005a. Improvement of table grapes quality and safety by the combination of modified atmosphere packaging (MAP) and eugenol, menthol or thymol. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 53, pp. 7458-7464.

Valverde J.M., Valero D., Martínez-Romero D., Guillén F., Castillo S., Serrano M. 2005. Novel edible coatings based on Aloe Vera gel to maintain table grape quality and safety. Journal of agricultural and food chemistry, Vol. 53, pp. 7807-7813.

Vázquez B.I., Gente 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, Vol. 67, pp. 157-163.

Vermerris W., Nicholson R. 2006. Phenolic Compound Biochemistry. Springer, 276 p.

Wang M., Simon J.E, Aviles I.F., He K., Zheng Q.Y., Tadmor Y. 2003. Analysis of Antioxidative Phenolic Compounds in Artichoke (*Cynara scolymus L.*). Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 51, pp. 601–608.

Wood J.E., Senthilmohan S.T., Peskin A.V. 2002. Antioxidant activity proacyanidin-containing plant extracts at different pHs. Food Chemistry, Vol. 77, pp. 155-161.

Wu X., Beecher G.R., Holden J.M., Haytowitz D.B., Gebhardt S.E., Prior R.L. 2004. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 53, pp. 4026–4037.

Zaro M.J. 2014. Análisis de factores que afectan la acumulación, distribución y estabilidad de antioxidantes de naturaleza fenólica en berenjena (*Solanum*

Referencias bibliográficas

melongena L.). Tesis doctoral. Universidad Nacional de la Plata. Buenos Aires, Argentina.

Zohary D., Basnizki J. 1975. The cultivate artichoke (*Cynara scolymus L.*) its probable wild ancestors. Economic Botany, Vol. 29, pp. 233-235.

UNIVERSITAS Miguel Hernández