



Universitat de Lleida

Evaluación de diferentes estrategias químicas, físicas y biológicas para el desarrollo de productos vegetales de calidad enteros o mínimamente procesados

Lorena Zudaire Villanueva

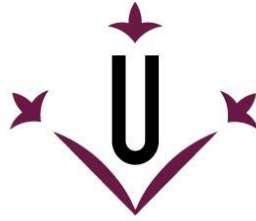
<http://hdl.handle.net/10803/663192>



Evaluación de diferentes estrategias químicas, físicas y biológicas para el desarrollo de productos vegetales de calidad enteros o mínimamente procesados està subjecte a una llicència de [Reconeixement-NoComercial-CompartirIgual 4.0 No adaptada de Creative Commons](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Les publicacions incloses en la tesi no estan subjectes a aquesta llicència i es mantenen sota les condicions originals.

(c) 2018, Lorena Zudaire Villanueva



Universitat de Lleida

TESIS DOCTORAL

Evaluación de diferentes estrategias químicas, físicas y biológicas para el desarrollo de productos vegetales de calidad enteros o mínimamente procesados

Lorena Zudaire Villanueva

Memoria presentada para optar al grado de
Doctor por la Universitat de Lleida
Programa de **Doctorado en Ciencia
y Tecnología Agraria y Alimentaria**

Directoras
Dra. Ingrid Aguiló Aguayo
Dra. Inmaculada Viñas Almenar

Lleida, Julio de 2018

Los estudios presentados en esta tesis doctoral se han desarrollado en el laboratorio de Tecnología del Procesado del programa de Poscosecha del Fruitcentre-IRTA de Lleida.

Para la realización de este trabajo se recibió aporte económico del Ministerio de Economía, Industria y Competitividad mediante el proyecto nacional AGL-2012-38671, Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), Programa CERCA (Generalitat de Catalunya), ACCIÓ (Generalitat de Catalunya, RD14-1-004), Sociedad Agrícola i Secció de Crèdit de Valls S.C.C.L, Cooperativa de Cambrils y la Secretaria d'Universitats i Recerca del Departament d'Economia i Coneixement de la Generalitat de Catalunya (AGAUR 2015-FI-B-00284), siendo la institución solicitante el IRTA.

A mi Aita, Ama, Nerea y Arantxa

“We cannot solve our problems with the same
thinking we used when we created them”

Albert Einstein

“La respuesta más corta es hacerlo”

Ernest Hemingway

“Lo que sabemos es una gota de agua,
lo que ignoramos es el océano”

Isaac Newton

“Pasioa da hemen exigitzea zilegi
den gutxieneko hori”

Berri Txarrak

ÍNDICE

ÍNDICE	1
RESUMEN/RESUM/SUMMARY	5
INTRODUCCIÓN GENERAL	13
1. Frutas y hortalizas	15
2. Frutas y hortalizas mínimamente procesadas.....	16
2.1 Consumo	17
2.2 Etapas.....	18
3. Alteraciones.....	24
3.1 Color	24
3.2 Textura.....	27
3.3 Sensoriales.....	29
3.4 Nutricionales.....	31
3.5 Microbiológicas	32
4. Tratamientos para aumentar la vida útil	34
4.1 Químicos	34
4.2 Físicos.....	41
4.3 Biológicos	49
4.4 Combinación de métodos desinfectantes	52
5. Bioaccesibilidad de compuestos bioactivos.....	52
6. Referencias.....	54
OBJETIVOS	81
PLAN DE TRABAJO	85
METODOLOGÍA	89
RESULTADOS	105
CAPÍTULO 1	107
Effect of calcium salts and antioxidant treatments on the storage quality of fresh-cut pears	
CAPÍTULO 2.....	131
Evaluation of <i>Pseudomonas graminis</i> CPA-7 as a biopreservation method for fresh-cut pear. Physicochemical, enzymatic and nutritional quality.	
CAPÍTULO 3.....	151
Evaluation of postharvest calcium treatment and biopreservation with <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG on the quality of fresh-cut 'Conference' pears	
CAPÍTULO 4.....	177
Effect of pre-harvest conditions and postharvest storage time on the quality of whole and fresh-cut <i>calçots</i> (<i>Allium cepa</i> L.)	

CAPÍTULO 5.....	203
Quality and bioaccessibility of total phenols and antioxidant activity of <i>calçots</i> (<i>Allium cepa</i> L.) stored under controlled atmosphere conditions	
CAPÍTULO 6.....	229
Microbiological and physicochemical quality of fresh-cut <i>calçots</i> (<i>Allium cepa</i> L.) stored under modified atmosphere or vacuum packaging	
CAPÍTULO 7.....	247
Efficacy of chlorine, peroxyacetic acid and mild-heat treatment on the reduction of natural microflora and maintenance of quality of fresh-cut <i>calçots</i> (<i>Allium cepa</i> L.)	
CAPÍTULO 8.....	265
Effect of ultrasound pre-treatment on the physical, microbiological, and antioxidant properties of fresh-cut <i>calçots</i> (<i>Allium cepa</i> L.)	
DISCUSIÓN GENERAL.....	283
CONCLUSIONES.....	331

RESUMEN/RESUM/SUMMARY

RESUMEN

Hoy en día, el incremento en la demanda de productos saludables y fáciles de consumir, ha hecho que crezca la producción y el diseño de nuevos productos mínimamente procesados (MP) basados en frutas y/o hortalizas. Sin embargo, en los últimos años ha aumentado la preocupación por el uso de productos químicos tanto para la desinfección como para la conservación debido a sus efectos negativos sobre la salud y el impacto sobre el medioambiente. Esto ha hecho que tanto la industria alimentaria como los grupos de investigación hayan enfocado sus esfuerzos hacia la búsqueda de nuevas alternativas químicas menos nocivas, físicas o biológicas con el objetivo de comercializar frutas u hortalizas MP microbiológicamente seguras y con una alta calidad fisicoquímica y organoléptica. Por tanto, el objetivo principal de la presente tesis fue el estudio del efecto de diferentes estrategias químicas, físicas y biológicas sobre la calidad de dos matrices vegetales (pera y calçot) enteras y MP.

En primer lugar, se estudió el efecto del tratamiento con calcio (tipo y concentración) en poscosecha y el tiempo y tipo de almacenamiento sobre la calidad de las peras enteras. Los resultados obtenidos demostraron que la aplicación de cloruro de calcio al 1 % en poscosecha junto con el almacenamiento en atmosfera controlada durante 5 u 8 meses permitió mantener la calidad de la pera entera. Además, el incremento del tiempo de almacenamiento de 5 a 8 meses produjo un incremento en el contenido total de fenoles. A continuación, y como una estrategia complementaria a la desinfección de fruta MP, se estudió la posibilidad de aplicar microorganismos antagonistas (*Pseudomonas graminis* CPA-7) o probióticos (*Lactobacillus rhamnosus* GG). La combinación del tratamiento antioxidante compuesto por 2 % ácido ascórbico, 2 % citrato de sodio y 1 % cloruro de calcio, junto con el microorganismo antagonista o probiótico permitió obtener un producto de IV gama de calidad y aumentar su vida útil hasta 6 y 9 días a 4 °C, respectivamente.

La calidad de los calçots enteros, así como la de los MP depende de varios factores precosecha (p.ej. variedad) y poscosecha (p.ej. el tipo de atmósfera). Además, el calçot está sujeto al límite de estacionalidad, siendo uno de los principales objetivos del estudio aumentar el tiempo de conservación poscosecha manteniendo su calidad. Entre los factores precosecha estudiados, la variedad tuvo mayor efecto, siendo la variedad mejorada Montferri la que presentó mejor aptitud tanto a la conservación como al procesado mínimo. En cuanto a la conservación, la utilización de una atmosfera controlada compuesta por 1,0 kPa O₂ y 2,0 kPa CO₂ y una temperatura de 1 °C permitió mantener la calidad inicial del calçot durante 60 días. Los calçots MP son susceptibles tanto a los cambios físico-químicos como a los microbiológicos y para mitigar dichos cambios se estudiaron diferentes estrategias. Entre los métodos de desinfección estudiados, el ácido peroxiacético (80 mg L⁻¹) podría ser una alternativa al uso de hipoclorito de sodio (100 mg L⁻¹). Además, el envasado al vacío permitió mantener la calidad fisicoquímica y microbiológica del calçot MP durante 15 días a 4 °C. Por otro lado, el pre-tratamiento con ultrasonidos ayudó a conseguir una mayor desinfección de producto con tiempos de hasta 45 min sin afectar su calidad inicial.

Por último, a lo largo de la tesis se evaluó el efecto de la digestión *in vitro* simulada sobre las propiedades antioxidantes tanto de las peras como de los calçots. Los resultados obtenidos demostraron que la bioaccesibilidad del contenido total de fenoles en la fase intestinal en peras y calçots fue del 5-20 % y 50 %, respectivamente.

RESUM

En els últims anys, l'increment en la demanda de productes saludables i fàcils de consumir ha provocat un creixement de la producció i el disseny de nous productes mínimament processats (MP) basats en fruites i/o hortalisses. No obstant això, en els últims anys ha augmentat la preocupació per l'ús de productes químics, tant per a la desinfecció com per a la conservació, a causa dels seus efectes negatius sobre la salut i el seu impacte sobre el medi ambient. Això ha provocat que, tant la indústria alimentària com els grups de recerca hagin enfocat els seus esforços cap a la recerca de noves alternatives químiques menys nocives, físiques o biològiques, amb l'objectiu de comercialitzar fruites i hortalisses MP microbiològicament segures i amb una alta qualitat tant fisicoquímica com organolèptica. Tenint en compte això, l'objectiu principal de la present tesi va ser estudiar l'efecte de diferents estratègies químiques, físiques i biològiques sobre la qualitat de dues matrius vegetals (pera i calçot) senceres i MP.

En primer lloc, es va estudiar l'efecte del tractament amb calci (tipus i concentració) en postcollita així com el temps i el tipus d'emmagatzematge sobre la qualitat de les peres senceres. Els resultats obtinguts van demostrar que l'aplicació de clorur de calci a l'1% en postcollita, juntament amb l'emmagatzematge en atmosfera controlada durant 5 o 8 mesos va permetre mantenir la qualitat de la pera sencera. A més, l'increment del temps d'emmagatzematge de 5 a 8 mesos va produir un increment en el contingut total de fenols. A continuació, i com una estratègia complementària a la desinfecció de fruita MP, es va estudiar la possibilitat d'aplicar microorganismes antagonistes (*Pseudomonas graminis* CPA-7) o probiòtics (*Lactobacillus rhamnosus* GG). La combinació del tractament antioxidant compost per 2% àcid ascòrbic, 2% citrat de sodi i 1% clorur de calci, juntament amb el microorganisme antagonista o probiòtic va permetre obtenir un producte de IV gamma de qualitat i augmentar la seva vida útil fins a 6 i 9 dies a 4 °C, respectivament.

La qualitat dels calçots sencers i la dels MP depèn de diversos factors precollita (p.ex. varietat) i postcollita (p.ex. el tipus d'atmosfera). A més, el calçot està subjecte al límit d'estacionalitat, i per aquest motiu, un dels principals objectius va ser augmentar el temps d'emmagatzematge postcollita mitjançant diferents estratègies tot mantenint la seva qualitat. Entre els factors precollita estudiats, la varietat fou la que va tenir major efecte. La varietat millorada Montferri ha estat la més apta tant pel que fa a la conservació com al processat mínim. Pel que fa a l'emmagatzematge, la qualitat inicial dels calçots es va mantenir durant 60 dies mitjançant l'ús d'una atmosfera controlada amb una composició d'1,0 kPa O₂ i 2,0 kPa CO₂ i a 1 °C. Els calçots MP són susceptibles tant als canvis fisicoquímics com als microbiològics i per mitigar aquests canvis es van estudiar diferents estratègies. Entre els mètodes de desinfecció estudiats, l'àcid peroxiacètic (80 mg L⁻¹) podria ser una alternativa a l'ús d'hipoclorit de sodi (100 mg L⁻¹). A més, l'envasat al buit va permetre mantenir la qualitat fisicoquímica i microbiològica del calçot MP durant 15 dies a 4 °C. D'altra banda, el pretractament de fins a 45 min amb ultrasons va contribuir a una millor desinfecció del producte sense afectar la seva qualitat inicial.

Finalment, al llarg de la tesi es va avaluar l'efecte de la digestió *in vitro* simulada sobre les propietats antioxidants tant de les peres com dels calçots. Els resultats obtinguts van demostrar que la bioaccessibilitat del contingut total de fenols en la fase intestinal en peres i calçots va ser del 5-20% i 50%, respectivament.

SUMMARY

Nowadays, the increase in the demand for healthy and ready-to-eat products has led to the production and design of new minimally processed products based on fruits and/or vegetables. However, in recent years the concern about the use of chemical products either in disinfection step or in conservation has increased due to their negative effects on human health and negative impact on environment. Both food industry and research groups have focused their efforts towards the search of new less harmful chemical, physical and biological alternatives in order to commercialise microbiologically safe and high quality fresh-cut fruit or vegetables. Hence, the main objective of the thesis was to study the effect of different chemical, physical and biological strategies on the quality of two whole and fresh-cut vegetable matrices (pear and *calçot*).

Firstly, the effect of calcium treatment in postharvest (type and concentration) and storage type and time on the quality of whole pears was studied. The obtained results demonstrated that the postharvest application of calcium chloride 1 % and storage under controlled atmosphere during 5 or 8 months were able to retain the quality of whole pears. Moreover, the increase of storage time from 5 to 8 months induced an increase in the total phenolic content of whole pears. Then, the possibility of antagonist microorganism (*Pseudomonas graminis* CPA-7) or probiotic bacteria (*Lactobacillus rhamnosus* GG) application as a complementary strategy to disinfection step in fresh-cut fruit was studied. The combination of antioxidant treatment (2 % ascorbic acid, 2 % sodium citrate and 1 % calcium chloride) with biocontrol agent or probiotic bacteria led to a high quality minimally processed product and an increase in the shelf-life up to 6 and 9 days at 4 °C, respectively.

The quality of whole and fresh-cut *calçots* depends on some pre-harvest (e.g. cultivar) and postharvest (e.g. storage atmosphere) factors. Moreover, *calçots* are subjected to the limit of seasonality and one of the main objective was to increase storage time through different strategies maintaining the quality. Among studied pre-harvest factors, the cultivar had a greater effect and the improved cultivar 'Montferri' presented the best aptitude to storage and minimal processing. Regarding storage, the conservation under controlled atmosphere composed by 1.0 kPa O₂ and 2.0 kPa CO₂ and at 1 °C retained the initial quality of *calçots* during 60 days. Fresh-cut *calçots* are susceptible to physicochemical and microbiological changes and different strategies were studied in order to mitigate these changes. Peroxyacetic acid (80 mg L⁻¹) could be an alternative to the use of sodium hypochlorite among all studied disinfection methods. Furthermore, packaging under vacuum allowed to maintain physicochemical and microbiological quality of fresh-cut *calçots* along 15 days at 4 °C. On the other hand, pre-treatment with ultrasounds helped to achieve greater product disinfection with times up to 45 min without affecting initial quality.

Finally, throughout the thesis the effect of *in vitro* simulated digestion on the antioxidant properties of pears and *calçots* was studied. The obtained results demonstrated that bioaccessibility of total phenolic content of pears and *calçots* was around 5-20 % and 50 % at the end of the intestinal phase, respectively.

INTRODUCCIÓN GENERAL

1. Frutas y hortalizas

Las frutas y hortalizas son componentes importantes dentro de una dieta saludable, y un consumo diario adecuado podría prevenir enfermedades cardiovasculares, algunos tipos de cáncer (Colás-Medà et al., 2016), osteoporosis y derrame cerebral (Ma et al., 2017). Además, son ingredientes básicos de la tan demandada dieta Mediterránea. Las frutas y hortalizas son la mayor fuente de macronutrientes como la fibra y los carbohidratos, y micronutrientes como la Vitamina C, vitaminas del grupo B (tiamina, riboflavina, B₆, niacina, folato), A, E, minerales, y los menos estudiados polifenoles, carotenoides, y glucosinolatos (Barrett et al., 2010).

Diversas organizaciones (OMS, FAO, USDA, EFSA) recomiendan aumentar el consumo de frutas y hortalizas para disminuir el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares o cáncer (Allende et al., 2006). La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda consumir más de 400 g de frutas y verduras al día como parte de una dieta saludable baja en grasas, azúcares y sodio (WHO y FAO, 2003). Este objetivo se corresponde en España con al menos 5 raciones entre frutas y hortalizas (5 al día, 2016). A pesar de las recomendaciones, el consumo permanece por debajo de lo recomendado en muchos países debido a las barreras como por ejemplo la autosuficiencia o la falta de fuerza de voluntad para cambiar la dieta (Ragaert et al., 2004). En el año 2016, el consumo de frutas y hortalizas frescas en los hogares españoles se redujo un 0,9 % en relación al año anterior y el gasto creció un 3,3 % (FEPEX, 2017). En el mismo año, el consumo de fruta en los hogares españoles fue de 99,54 kg per cápita y el de hortalizas de 82,61 kg per cápita (MAPAMA, 2017a).

Las **peras** (*Pyrus communis* L.) poseen un contenido bajo en proteínas (0,4 g 100 g⁻¹) y lípidos (0,08 g/100 g⁻¹) y son ricas en azúcares (10,6 g 100 g⁻¹) como la fructosa, sorbitol, o sacarosa. Además, son ricas en vitaminas como la vitamina C (3 mg 100 g⁻¹) o minerales como el potasio (130 mg 100 g⁻¹) (BEDCA, 2007; Colás-Medà et al., 2015). Cabe destacar que poseen un alto contenido de fibra (especialmente tipo insoluble) superior a la mayoría de frutas y hortalizas (Silva et al., 2014; Viñas, 2013) y una gran cantidad de compuestos fenólicos, siendo los principales los ácidos hidroxicinámicos y la arbutina (Brahem et al., 2017). En el año 2015, la producción de pera a nivel estatal fue de 355.410 toneladas de las cuales el 39,5 % se produjeron en la provincia de Lleida (MAPAMA, 2017b). En 2016, la producción de pera en la provincia de Lleida fue de 148.2000 toneladas de las cuales 71.300 (el 48 %) fueron de la variedad “Conference” (DARPA, 2017a). A nivel global, la pera “Conference” es la segunda variedad de pera más importante después de la variedad “Williams” (Iglesias et al., 2018).

En España, el consumo de peras en el año 2016 fue de 5,44 kg per cápita, un 0,8 % menos que en el año anterior (MAPAMA, 2017a). Los productores y comerciantes de peras han mostrado un gran interés en el desarrollo de pera mínimamente procesada para estimular el consumo de peras (Dong et al., 2000). El procesado de la pera como un producto mínimamente procesado o de IV gamma podría darle un valor añadido y además, comodidad y beneficios saludables para el consumidor (Colás-Medà et al., 2016). La variedad “Conference” es una de las preferidas para el procesado mínimo ya que presenta mayores valores de azúcares, jugo, firmeza, buenas características organolépticas y baja susceptibilidad al pardeamiento superficial respecto a otras variedades como “Williams” o “Passa-crassana” (Arias et al., 2008; Soliva-Fortuny et al., 2004a).

Los **calçots** (*Allium cepa* L.) son los tallos florales inmaduros de la cebolla (*Allium cepa* L.) y aparecen durante el segundo año de cultivo una vez pasado el proceso de bulbificación. La mayoría de los calçots que se consumen provienen de la variedad de cebolla Blanca Tardana de Lleida, aunque existen otras variedades con diferente nombre, morfología y color (Simó, 2013). Los calçots se

consumen habitualmente asados, aunque se han empezado a consumir crudos en ensaladas. El “Calçot de Valls” ha sido galardonado con la Indicación Geográfica Protegida (IPG) por parte de la Unión Europea (EC No 905/2002) debido a la singularidad de su producción (Simó et al., 2013). La producción del denominado “Calçots de Valls” fue de 1170 toneladas en el año 2016 y su producción ha aumentado un 57 % desde el año 2008 (DARPA, 2017b). Los productores de calçot ven el procesado mínimo como una salida comercial a la gran producción existente.

Las hortalizas pertenecientes al género *Allium* como la cebolla (*Allium cepa* L.) o el puerro (*Allium ampeloprasum* var. *Porrum*), han sido extensamente utilizadas como alimentos saborizantes. Además, han sido reconocidas como fuente rica de metabolitos secundarios como los compuestos polifenólicos, incluyendo ácidos fenólicos, flavonoides y polímeros flavonoides (Bernaert et al., 2013). Estos compuestos pueden tener efectos protectores contra diferentes patologías degenerativas como enfermedades cardiovasculares o neurológicas, cáncer u otras disfunciones basadas en el estrés oxidativo (Pérez-Gregorio et al., 2010). Por otro lado, los compuestos organosulfurados, responsables del característico gusto, aroma y efecto lacrimógeno de la hortalizas del género *Allium*, han sido relacionados con los efectos beneficiosos que ejerce el consumo de dichas hortalizas sobre la salud (Lanzotti, 2006; Xiao et al., 2005).

2. Frutas y hortalizas mínimamente procesadas

Las frutas y hortalizas mínimamente procesadas (MP) o de cuarta gama (IV gama) se definen como frutas y hortalizas las cuales han sido sometidas a diferentes etapas de procesado (p.ej., pelado, corte, lavado, desinfección, escurrido, etc.) para obtener un producto comestible mientras que a su vez proporcionan conveniencia y funcionalidad a los consumidores y asegura la seguridad alimentaria (Artés y Allende, 2014). La United Fresh Produce Association (UFPA) define el producto mínimamente procesado como una fruta u hortaliza la cual ha sido recortada y/o pelada y/o cortada consiguiendo un producto 100 % comestible, y además embolsada o envasada ofreciendo al consumidor una alta calidad nutricional, conveniencia, y sabor mientras mantiene la frescura (Pareek, 2017).

El sector de las frutas y hortalizas MP ha sido uno de los sectores que más ha crecido dentro de la industria alimentaria en estos últimos años (Jang y Moon, 2011; Rojas-Graü et al., 2009). El procesado mínimo de frutas y hortalizas se inició como un método de aprovechamiento de frutas y hortalizas de bajo grado o segundas cosechas, pero pronto se reconoció que se necesitaban frutas y hortalizas de alta calidad debido al aumento del deterioro en la preparación de los mismos. Las frutas y hortalizas enteras y MP tienen características similares, y normalmente no necesitan ser procesadas antes de su consumo (Artés y Allende, 2014). Manzanas, melones y piñas fueron las primeras frutas que se utilizaron para crear productos MP (Bett et al., 2001).

En Europa occidental, las frutas y hortalizas MP se han vuelto populares en los últimos 20 años. La producción de MP se ha convertido en el segmento más provechoso de la industria alimentaria con un incremento del volumen anual del 4 % (Paillart et al., 2017). El mercado de las frutas y hortalizas MP en Europa está dominado por la lechuga cortada y envasada, la cual ocupa alrededor del 50 % del volumen total del mercado de MP. El 50 % restante está compuesto por frutas MP (10 %) y otras categorías como listos para cocinar y las *crudités* (Rijswick, 2015). La IV gama se introduce en España en los años 80 en Navarra concretamente, extendiéndose rápidamente a otras comunidades autónomas. Hoy en día, se concentra en la Comunidad Foral de Navarra, la Comunitat Valenciana y la provincia de Almería. Florette lidera el sector de la IV gama de frutas y hortalizas en España (Valencia, 2017). El principal canal de comercialización es la distribución que representa

aproximadamente el 75 % de las ventas y el 25 % va dirigido al canal de Hostelería y Restauración, Horeca (CECU).

2.1 Consumo

El estilo de vida de los consumidores ha ido cambiando durante las últimas dos décadas donde los consumidores son más conscientes de los efectos que puede tener su dieta sobre la salud (Günes y Turan, 2017). Las frutas y hortalizas MP han sido desarrolladas debido a la demanda de productos saludables, frescos y fáciles de preparar. El marketing de estos productos continua aumentando principalmente debido a su frescura, economía y atractiva presentación (Ramos et al., 2013). Desde que los consumidores preparan menos comida en casa y perciben las frutas y hortalizas MP como alimentos saludables y nutritivos (Oms-Oliu et al., 2010), la industria está respondiendo con un aumento en la variedad de dichos productos (Choi et al., 2016). En Estados Unidos el consumo ronda los 30 kg por persona y año y el producto estrella es la ensalada envasada. Los cinco países de Europa donde más se consume son Reino Unido, Francia, Alemania, Italia y España con una media europea de 3.5 kg por persona y año. En España el consumo ronda los 3 kg per cápita y aunque el consumo no es muy alto, más del 70 % de los hogares ha incorporado alguna vez estos productos en la cesta de la compra (Valencia, 2017).

La elección, compra y consumo de las frutas y hortalizas MP dependen de factores intrínsecos y extrínsecos (Figura 1). Los consumidores tienden a depender de los atributos extrínsecos como por ejemplo el envase y sus características específicas en situaciones donde los atributos intrínsecos relevantes (como gusto, olor y textura) no son evaluables antes de la compra. Por eso es muy importante distinguir la relevancia de los atributos en la compra y después del consumo (Ragaert et al., 2004).

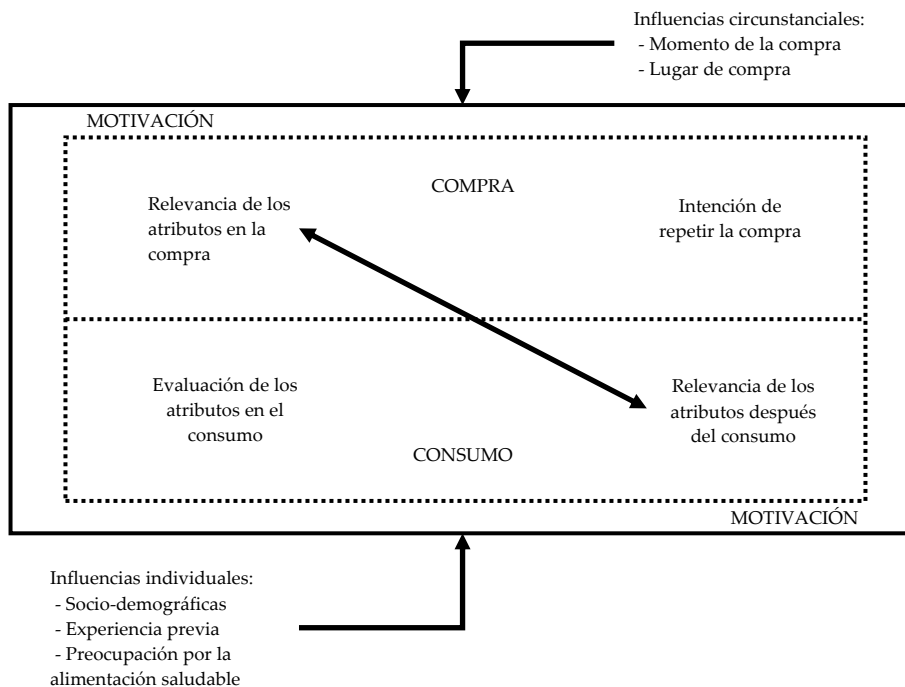


Figura 1. Atributos e influencias que afectan a la compra y consumo de frutas y hortalizas mínimamente procesadas (Imagen tomada y adaptada de Ragaert et al. 2004).

Aparte de los atributos mencionados anteriormente, existen factores individuales como por ejemplo las características socio-demográficas, las cuales son comúnmente incluidas como determinantes de actitud, percepción y elección y factores circunstanciales como por ejemplo el momento de la compra (Ragaert et al., 2004). El perfil de consumidor ideal es difícil de definir ya que dependiendo del estudio los resultados varían. Habitualmente el consumidor ideal suele ser hombre, soltero, joven, sin hijos y con mucha carga de trabajo, siendo el factor más importante el tiempo (Contini et al., 2016). Sin embargo, en el estudio realizado por Ragaert et al. (2004) se demostró que las familias con hijos jóvenes y alto nivel educativo eran los que mayor porcentaje de consumo presentaban. Por otro lado, se vio que la conveniencia y rapidez eran las mayores motivaciones a la hora de comprar frutas y hortalizas MP.

2.2 Etapas

La vida útil de las frutas y hortalizas MP está determinada por factores precosecha (variedad, condiciones de cultivo, cosecha, estado de maduración), factores de procesado (pre-enfriamiento, lavado, corte, pelado, etc.) y condiciones de distribución (temperatura, humedad relativa, composición atmosférica y duración) (Artés et al., 2009). El procesado mínimo de frutas y hortalizas incluye operaciones unitarias como selección, lavado, corte, pelado, desinfección o envasado (Figura 2) (Ramos et al., 2013). Cada etapa del procesado afecta a la calidad y microbiota de las frutas y hortalizas MP (Allende et al., 2006). La ausencia de microorganismos no está asegurada mediante estas operaciones, por tanto, la refrigeración es necesaria (Artés y Allende, 2014; Ramos

et al., 2013). Las frutas MP son más difíciles de producir en comparación con las hortalizas MP, ya que muchas frutas tienen que ser maduras antes de ser procesadas (Gorny et al., 2000).

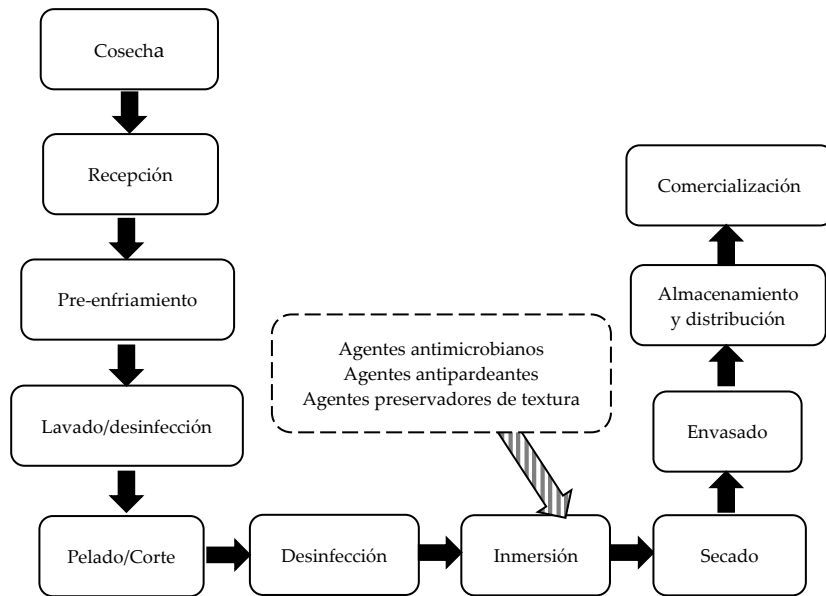


Figura 2. Diagrama de flujo del procesado mínimo de frutas y hortalizas (Imagen tomada y adaptada de Pareek, 2017).

Es muy importante implementar un sistema de seguridad alimentaria que incluya Buenas Prácticas Agrícolas (BPA), Buenas Prácticas de Higiene (BPH), Buenas Prácticas de Fabricación (BPF) y Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos (APPCC). Estos sistemas se deben aplicar desde el campo hasta el consumidor (EFSA, 2015a).

Las BPA son genéricas porque existe una gran variedad de frutas y hortalizas, y no contienen muestreo y guías de monitorización específicas. Las BPH cubren todos los aspectos del procesamiento desde el diseño sanitario hasta las reglas de prohibición en los trabajadores. A diferencia de las BPA, las BPH son reglas debidamente definidas y fáciles de aplicar pero necesitan de incorporarse a los planes de formación del personal. A pesar de que la implementación del APPCC es obligatorio, en la industria del procesamiento mínimo ha sido acogido como una herramienta útil para implementar prácticas alimentarias seguras. El APPCC es adecuado para identificar peligros, monitorizar su control a lo largo de su proceso de producción, y desarrollar un sistema de registros en la industria del procesamiento mínimo que permita verificar y validar el proceso, así como seguir la trazabilidad del producto a lo largo de la cadena de valor del alimento (Garrett et al., 2003).

Para garantizar la inocuidad de los productos de IV gama es importante no romper la cadena de frío bajo ningún concepto. Mantener la temperatura a 4 °C o menos durante la cadena de frío es esencial para la seguridad microbiológica (Oliveira et al., 2015).

2.2.1 Cosecha, recepción y almacenamiento

La selección de una materia prima de calidad es necesaria ya que no existen etapas específicas posteriores para la eliminación de los microorganismos (Siroli et al., 2014). Además, la selección de la variedad es probablemente la etapa más importante del procesado mínimo ya que puede haber una gran variabilidad en la textura, color y potencial de pardeamiento (Gorny et al., 2000). Las materias primas para la industria de IV gama, se cosechan, envasan y transportan directamente a empresas transformadoras que están cerca, o se envasan y se envían después de un período de almacenamiento, a aquellas empresas que están más lejos. Las frutas destinadas a empresas que están a corta distancia son cosechadas en su madurez óptima, mientras que las que se envían a empresas lejanas se cosechan en su madurez fisiológica. El estado de madurez de las frutas y las hortalizas en la cosecha tiene influencia en el nivel de tolerancia al estrés y en la calidad de los productos MP (Ansah et al., 2018).

El manejo de la temperatura es la herramienta más importante para extender la vida útil y mantener la calidad de las frutas y hortalizas. El retraso entre la cosecha y la refrigeración podría provocar pérdidas directas debido a la pérdida de agua y putrefacción y pérdidas indirectas en sabor y calidad nutricional (Barrett et al., 2010). Las peras y manzanas podrían estar almacenadas durante muchos meses a baja temperatura con o sin modificaciones atmosféricas (p.ej., atmósfera controlada) antes de ser procesadas (Gorny et al., 2000). En la etapa de pre-enfriamiento (p.ej., sala de enfriamiento, aire forzado o vacío) la eliminación del calor de campo reduce la respiración y las actividades fisiológicas. Las temperaturas ideales de almacenamiento son cercanas a 0 °C en los vegetales de hoja (Cantwell et al., 1996; Koukounaras et al., 2007), mientras que en las frutas y frutos vegetales, se debería tener en cuenta el daño por frío (Sargent, 1998). Aunque la temperatura adecuada y las condiciones de humedad retrasan la senescencia, el tiempo de almacenamiento y el tipo de producto pueden afectar a la calidad final del producto MP (Ansah et al., 2018). Hoy en día, la mayoría de las frutas y hortalizas se almacenan en atmósferas controladas antes de ser procesadas.

2.2.2 Lavado del producto entero

La primera etapa del procesado mínimo de frutas y hortalizas suele ser el lavado del producto entero para eliminar la suciedad, residuos de pesticidas, restos de plantas, tierra, insectos, y materia extraña y para reducir las reacciones de decoloración enzimática (Rico et al., 2007; Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2003a). El lavado de las frutas y hortalizas enteras se lleva a cabo generalmente mediante un lavado inicial con agua de red (Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2003a) seguido de una desinfección superficial con agua clorada (Artés y Allende, 2014). En esta etapa hay que prestar mucha atención a la calidad del agua ya que puede estar contaminada debido a la recirculación de la misma. Las etapas de lavado y desinfección anterior (y posterior) al corte disminuyen la contaminación de las frutas y hortalizas (Qadri et al., 2015). Es muy importante conseguir una reducción considerable de la carga microbiana superficial en esta etapa para evitar contaminaciones en las etapas posteriores.

2.2.3 Pelado y corte

En primer lugar, se realiza una etapa preliminar de selección para segregar los productos aceptables y no aceptables. Se suele realizar para eliminar los defectos fisiológicos y normalmente la selección manual es más eficiente que la automática (Bansal et al., 2015). El pelado se puede llevar a cabo de diferentes maneras: manual, mecánico, químico, o con altas presiones (Allende et al., 2004). La etapa de corte permite dividir la fruta u hortaliza entera en fracciones pequeñas antes de ser envasadas (Jideani et al., 2017). Hay que prestar especial atención a las frutas como las peras y manzanas durante la etapa de corte. En este tipo de frutas se deben eliminar completamente el corazón y los tejidos que lo rodean ya que la susceptibilidad al pardeamiento es mayor que en otras partes (Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2003a).

El corte convierte a este tipo de productos en vulnerables frente a infecciones microbiológicas y pardeamiento enzimático con altas actividades metabólicas (Figura 3) (Bansal et al., 2015). Las heridas producidas en estas etapas provocan una respuesta estresante (stress mecánico) ya que se elimina la capa epidérmica protectora y se acumula humedad superficial, aumenta la exposición hacia los contaminantes, los niveles de respiración y las emisiones de etileno (Barrett et al., 2010; Martínez et al., 2005a). Se estima que la respiración es entre 3 y 5 veces superior a la de la fruta u hortaliza intacta (Solomos, 2017). Los solutos liberados debido a la ruptura de los tejidos se pueden mezclar con las enzimas liberadas y desencadenar reacciones no deseadas (Jideani et al., 2017) las cuales pueden producir alteraciones en el color, textura, sabor y olor de la fruta u hortaliza MP (Hodges y Toivonen, 2008; Rico et al., 2007). Algunos de esos solutos podrían ser utilizados por los microorganismos exógenos para crecer en la superficie del producto (Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2003b). Además, los solutos como azúcares, ácidos orgánicos, proteínas y fibras pueden limitar seriamente la efectividad del cloro en la etapa de lavado y desinfección (Delaquis et al., 2004).

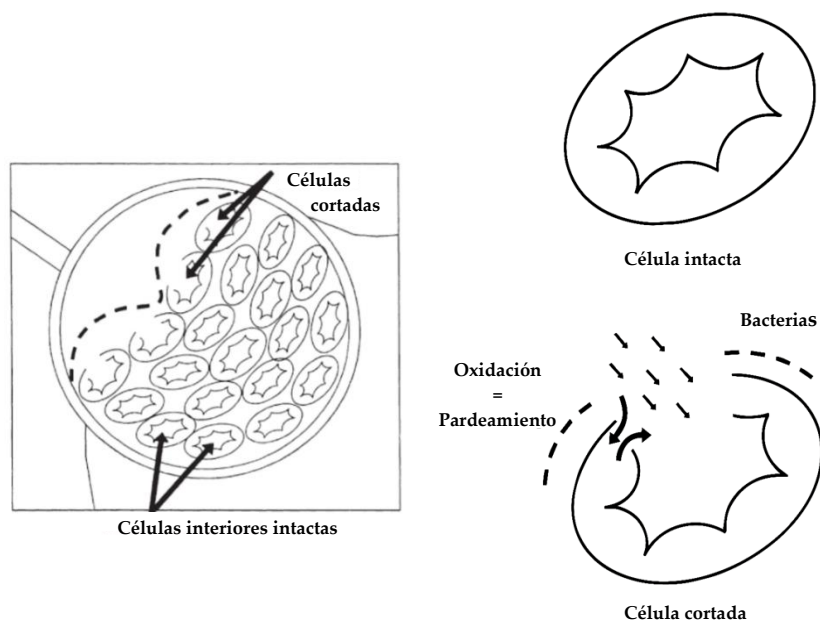


Figura 3. Efecto del pelado y corte sobre las células de las frutas y hortalizas MP (Imágenes tomadas y adaptadas de Wiley and Yildiz, 2017).

El estado de madurez de la fruta se ha visto que influye en el daño producido por las operaciones mecánicas sobre los tejidos. A medida que la etapa de madurez avanza, el daño producido por dichas operaciones es mayor (Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2003a). Por ejemplo, Gorny et al. (2002) destaca que el estado de madurez óptimo para el procesado mínimo de las peras es de 45-58 N. Otro de los factores que influyen en la calidad es el tipo de pelado y corte (Han et al., 2016). El pelado manual y pelado por abrasión son los métodos más comunes en la industria del MP. A pesar de que el pelado manual es muy laborioso, este tiende a disminuir el daño, proporcionando un producto de alta calidad (Bahram-Parvar y Lim, 2018). Durante las operaciones de pelado y corte si los equipos y las herramientas utilizadas no están en buen estado, como por ejemplo cuchillos u hojas desafiladas, la herida y el daño se produce en más capas vegetales de las previstas. Por tanto, el corte del cuchillo o cuchillas pueden afectar significativamente a la vida útil del producto (García y Barrett, 2002). Además, la dirección del corte juega un papel importante en la respuesta al daño/herida por parte de diferentes frutas (Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2003a).

2.2.4 Lavado y desinfección del producto de IV gama

Los productos de IV gama o MP están listos para su consumo, y no están sujetos a posteriores etapas de eliminación de microorganismos. Por tanto, el uso de agentes desinfectantes efectivos es necesario para asegurar la seguridad del producto. Los productos químicos han sido extensamente utilizados en el procesado de alimentos con el objetivo de reducir los patógenos (Ruiz-Cruz et al., 2007). Los métodos químicos de lavado y desinfección normalmente se aplican mediante un lavado mecánico en presencia de desinfectantes, seguido de un aclarado con agua potable (Ramos et al., 2013). Estas son las únicas etapas en toda la cadena de producción en las cuales se consigue una reducción de la carga microbiana incluyendo los patógenos (Artés y Allende, 2014). En general, se podría asumir que la etapa de lavado elimina los microorganismos del producto y el agente desinfectante elimina los microorganismos en suspensión (Gil et al., 2009). Sin embargo, en estas etapas puede ocurrir una contaminación cruzada de patógenos, especialmente cuando el agua se reutiliza y recircula (Luo et al., 2011b). El tiempo de contacto, el pH y la temperatura de la solución juegan un papel muy importante (Bansal et al., 2015).

La etapa de lavado y desinfección tiene un gran impacto económico y medioambiental debido principalmente a la gran cantidad de agua que se necesita para asegurar que sea adecuada para su uso, tanto al inicio como al final del proceso de lavado (Gil et al., 2009; Ölmez y Kretzschmar, 2009).

En esta etapa además de la desinfección, se les suele aplicar tratamientos superficiales a las frutas y hortalizas MP con el objetivo de retrasar el deterioro fisiológico de los tejidos. Los tratamientos de inmersión son beneficiosos porque eliminan de la superficie del producto los substratos y enzimas liberadas por las células dañadas en la etapa de corte (Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2003a). Las frutas u hortalizas MP se suelen sumergir en soluciones que contienen sustancias antimicrobianas (p.ej., aceites esenciales), antipardeantes (p.ej., ácido ascórbico) o preservadoras de la textura (p.ej., cloruro de calcio).

Los productos químicos o sustancias que se apliquen en esta etapa deben tener el estatus de "Generally Regarded as Safe" (GRAS). El lavado y la desinfección del producto antes de su preparación o consumo es recomendable pero no garantiza que el producto esté libre de patógenos (Gross et al., 2016).

2.2.5 Ecurrido y secado

El secado de las superficies húmedas se debe llevar a cabo de una manera cautelosa para evitar daños innecesarios en los tejidos de las frutas y hortalizas. La mayoría de los autores sugieren eliminar el agua mediante el escurrido. El exceso de agua se debe eliminar completamente para evitar problemas de contaminación microbiana (Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2003a). La centrifugación es el método más utilizado en la industria del MP para eliminar el agua después del lavado. Es necesario ajustar el tiempo y la velocidad de centrifugación para prevenir el daño celular y la exudación de fluidos después del envasado. El secado mediante aire forzado podría también ser utilizado en la industria del procesado mínimo, especialmente en el caso de los productos delicados (Cantwell y Suslow, 2002).

2.2.6 Envasado, almacenamiento y distribución

El envasado es necesario para prevenir contaminaciones post-procesado y reducir la pérdida de agua del producto MP (Gomes et al., 2012). El envasado en atmosfera modificada pasiva o activa podría utilizarse para aumentar la vida útil del producto. La modificación de la composición gaseosa del envase produce una disminución de la tasa de respiración y disminuye el metabolismo y maduración del producto (Rico et al., 2007).

Los productos MP necesitan ser almacenados en condiciones de refrigeración a temperaturas entre 0 y 5 °C (Bansal et al., 2015). En Estados Unidos, es obligatorio que las frutas y hortalizas MP estén refrigeradas a 5 °C o menos durante el transporte y el almacenamiento/exposición en el lugar de venta (Bahram-Parvar y Lim, 2018). Por ejemplo, las peras cortadas se deben almacenar en atmósferas que contengan 0,5 % O₂ y <10 % CO₂ a una temperatura de entre 0 y 5 °C (Beaulieu y Gorny, 2016). El abuso de las temperaturas durante el transporte, almacenamiento y venta es la mayor preocupación de la industria, porque un control deficiente de la temperatura puede conllevar un deterioro del producto envasado debido al aumento del metabolismo y el crecimiento de microorganismos alterantes y patógenos (Sandhya, 2010).

La vida útil de las frutas y hortalizas enteras suele ser de varias semanas o incluso meses, sin embargo, las frutas y hortalizas MP tienen una vida útil muy corta de aproximadamente 4-10 días (Siroli et al., 2015a). Este periodo se puede aumentar hasta 21 días dependiendo del producto y el lugar de venta (Arias et al., 2008).

3. Alteraciones

Las frutas y hortalizas MP son generalmente más perecederas que las materias primas originales (Rojas-Graü et al., 2008). La preparación de frutas y hortalizas MP causa daños en los tejidos vegetales ya que se eliminan las capas protectoras, promoviendo alteraciones físicas y fisiológicas (decoloración, reblandecimiento, pérdida de agua, aromas y sabor) (Oms-Oliu et al., 2010) las cuales aceleran el proceso de descomposición, reducen la vida útil, y facilitan la entrada de microorganismos patógenos y contaminantes químicos (Artés y Allende, 2014). Los dos desafíos más importantes para la industria alimentaria son: el control del pardeamiento enzimático y el control de los microorganismos (Luo et al., 2011a) La calidad y la seguridad alimentaria dependen de muchos factores como prácticas de manipulación, la calidad del agua, las tecnologías de procesado, los materiales y métodos de envasado. transporte, almacenamiento, distribución y la cadena de frío (Allende et al., 2004). Los factores más comunes se resumen en la Figura 4.

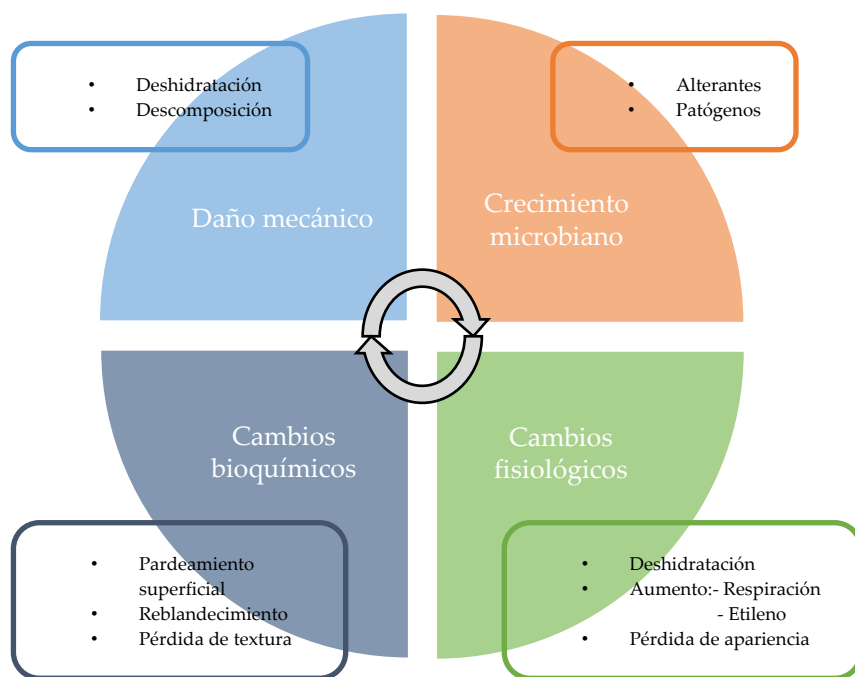


Figura 4. Factores que afectan a la calidad y vida útil de la frutas y hortalizas mínimamente procesadas (Imagen tomada y adaptada de Artés y Allende, 2014).

3.1 Color

El color es el factor más importante en la elección, preferencia y aceptabilidad del producto por parte de los consumidores (Putnik et al., 2017b; Rico et al., 2007). Los cambios de color producidos en las frutas y hortalizas procesadas comienzan habitualmente después de la etapa de corte y se manifiestan a modo de pardeamiento. El pardeamiento es una de las mayores causas de pérdida de calidad y suele ser el factor limitante de la vida útil y comercialización y aceptación por

parte del consumidor de las frutas y hortalizas MP (Tabla 1) (Artés y Allende, 2014; Oms-Oliu et al., 2010). Se estima que más del 50 % de las pérdidas se deben al pardeamiento. Existen dos tipos de pardeamiento: pardeamiento enzimático y pardeamiento secundario (Pareek, 2017). Además, puede ocurrir un pardeamiento no-enzimático de la oxidación de ácido ascórbico naturalmente presente en manzanas (Putnik et al., 2017b).

Tabla 1. Principales causas de pérdida de calidad de algunas frutas y hortalizas MP (Tabla tomada y adaptada de Ma et al., 2017).

Productos MP	Principales causas de degradación
manzana	pardeamiento
pera	pardeamiento
mango	pardeamiento, descomposición
sandía	exudación, reblandecimiento
lechuga	pardeamiento
patata	pardeamiento
zanahoria	pardeamiento, pérdida de agua, formación de lignina
berenjena	pardeamiento, reblandecimiento
brocoli	degradación de clorofila
pepino	reblandecimiento, fermentación
cebolla	reblandecimiento, pardeamiento

El **pardeamiento enzimático** es causado principalmente por la enzima polifenol oxidasa (PPO, EC 1. 14. 18. 1) la cual oxida los compuestos fenólicos presentes en los tejidos y la fenilalanina amonio liasa (PAL, EC 4. 3. 1. 5), la cual cataliza la síntesis de los substratos fenólicos (Figura 5) (Barrett et al., 2010). Esta oxidación hace que los compuestos fenólicos se condensen en puntos marrones. La síntesis de estas enzimas ha sido relacionada con el aumento de la respiración debido a las heridas producidas en la etapa de corte (Hodges y Toivonen, 2008). Por ejemplo, Campos-Vargas et al. (2005) observaron que después del corte de hojas de lechuga, la actividad de la enzima PAL era ocho veces superior a la inicial y esta actividad se mantuvo durante 24 horas.

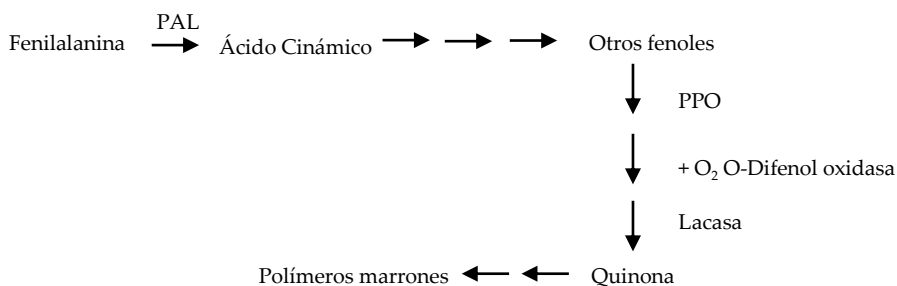


Figura 5. Mecanismo del pardeamiento enzimático en frutas y hortalizas mínimamente procesadas (Esquema tomado y adaptado de Pareek, 2017).

Normalmente, los compuestos fenólicos están separados de la PPO en los tejidos intactos, y esa separación en diferentes orgánulos limita el pardeamiento enzimático (Kou et al., 2015). Sin embargo, la ruptura de la estructura de las células debido al corte hace que los compuestos fenólicos se liberen y gracias a la penetración del oxígeno, la PPO inicie su actividad. La PPO en presencia de oxígeno puede catalizar dos tipos de reacciones (Figura 6): la hidroxilación de monofenoles a *o*-difenoles (actividad monofenolasa o cresolasa) y la oxidación de *o*-difenoles a *o*-quinonas (actividad difenolasa o catecolasa) (Arias et al., 2007; de Queiroz et al., 2014; Oms-Oliu et al., 2010; Pareek, 2017; Yoruk y Marshall, 2003). Estas *o*-quinonas incoloras condensan y reaccionan no enzimáticamente con aminoácidos o proteínas (principalmente los grupos -SH y -NH₂ de los aminoácidos), dando lugar a complejos poliméricos marrones (melaninas) (Zawistowski et al., 1991). Estas melaninas forman una barrera microbiológica impermeable la cual asegurará la defensa natural contra los intrusos (Alzetta, 2014). Aparte del pardeamiento, las quinonas formadas por la oxidación de la PPO podrían someterse a un reciclaje redox generando radicales libres los cuales podrían dañar el ADN, proteínas, aminoácidos o lípidos (Yoruk y Marshall, 2003). La intensidad del pardeamiento depende de la cantidad de formas activas de la enzima y del contenido fenólico presente en el tejido vegetal (Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2003a). La mayoría de las estrategias para el control del pardeamiento enzimático se han centrado en aproximaciones teóricas de las actividades de la PPO (Rojas-Graü et al., 2009). Por ejemplo, en el estudio realizado por López-López et al. (2013) observaron que todos los cambios producidos en la actividad de la PPO de las manzanas MP, eran consistentes con los cambios de color expresados como valores de *L** y *a**.

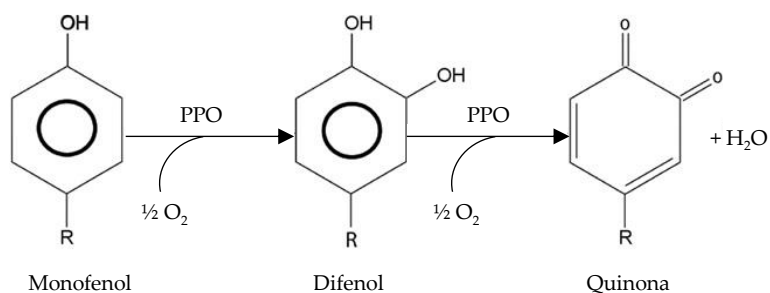


Figura 6. Mecanismo de la acción de la polifenol oxidasa en monofenoles y difenoles (Imagen tomada y adaptada de Toivonen y Brummell, 2008).

La enzima peroxidasa (POD, EC 1. 11. 1. 7) podría participar en el pardeamiento enzimático ya que esta enzima está implicada en la oxidación de una gran cantidad de sustratos orgánicos e inorgánicos mediante la utilización del hidrogeno de peróxido (H₂O₂) y los peróxidos orgánicos como oxidantes terminales (Kubo et al., 2017). La POD podría promover indirectamente el proceso de pardeamiento mediante la detoxificación de peróxidos utilizando los antioxidantes como sustratos (Rojas-Graü et al., 2008). El papel de la POD en el pardeamiento enzimático se ha cuestionado por dos razones: la gran afinidad de la PPO hacia su sustrato natural y los bajos niveles de H₂O₂ presentes en los tejidos vegetales (Cantos et al., 2002; Degl'Innocenti et al., 2005; Oms-Oliu et al., 2010).

El pardeamiento enzimático es el principal desorden fisiológico que causa una disminución de la calidad en las manzanas MP (Lu et al., 2007). El pardeamiento enzimático no solo afecta al color de las frutas y hortalizas sino que también afecta al sabor y olor y a la calidad nutricional

(Chaisakdanugull et al., 2007). Además, la enzima POD ha sido relacionada con la pérdida de sabor y la formación de malos olores en los alimentos almacenados así como con una gran variedad de reacciones de biodegradación (Rojas-Graü et al., 2008).

Diversos estudios han mostrado que el pardeamiento de frutas y hortalizas MP no solo es causado por la ruptura de las células, sino que también podría ser causado por una exudación de enzimas asociada a microorganismos, denominado **pardeamiento secundario** (Pareek, 2017; Toivonen, 2006; Toivonen y Delaquis, 2006). El pardeamiento secundario se produce como resultado de una contaminación cruzada entre la superficie exterior y la superficie cortada en las soluciones post-corte, pero no está estrictamente relacionado con los recuentos microbianos de la superficie cortada (Delaquis et al., 2004). Es un problema que ocurre a nivel comercial y se debe a las esporas fúngicas de la fruta u hortaliza (Toivonen y Delaquis, 2006). A diferencia del pardeamiento enzimático, el pardeamiento secundario ocurre en cualquier momento entre la semana 1 y 3 de almacenamiento (Pareek, 2017; Toivonen, 2006).

Además, las hortalizas del género *Allium* pueden desarrollar **decoloración** rosa, roja (cebolla), verde (ajo) o azul como consecuencia de la ruptura de las células. No es muy habitual en los productos MP, pero cuando el corte produce un gran daño en los tejidos se desarrolla dicha decoloración (Toivonen y Brummell, 2008). La química de esta decoloración es específica del género *Allium* y tanto la enzima isoaliina como la alinasa son necesarias (Kubec et al., 2004). El etanol (desnaturalizador de la alinasa) y la hidroxilamina (inhibidor de la alinasa) son capaces de inhibir dicha decoloración (Zang et al., 2013).

A parte de las acciones enzimáticas o microbiológicas, hay otros factores que afectan al pardeamiento de los tejidos como el pH, la temperatura y la concentración de oxígeno (Arias et al., 2008). Las temperaturas de refrigeración, la inmersión en soluciones antipardeantes y el envasado en MAP son las barreras más utilizadas para preservar en color inicial de las frutas y hortalizas MP (Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2003a). El control del pardeamiento se puede llevar a cabo mediante diferentes agentes químicos y los más utilizados son los acidulantes, reductores y quelantes. Los acidulantes, como el ácido cítrico, se suelen utilizar para el control de la actividad de la PPO mediante la disminución del pH del medio. Los agentes reductores, como el ácido ascórbico, producen una reducción inversa de las incoloras *o*-quinonas a *o*-difenoles. Los agentes quelantes, como la EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), inhiben la PPO mediante la quelación del cobre que se encuentra en el sitio activo de la enzima (García y Barrett, 2002). Por ejemplo, en el estudio realizado por Ali et al. (2015) tanto el ácido ascórbico como el ácido cítrico redujeron significativamente la actividad PPO en lechuga MP. Además, en dicho estudio se analizó el modo de acción de los agentes y se observó que el ácido ascórbico a altas concentraciones pudo reducir instantáneamente el color formado y actuar como reductor de quinonas. El cítrico, sin embargo, no pudo eliminar las quinonas que daban color pero sí pudo reducir la tasa de desarrollo del color.

3.2 Textura

La textura es un atributo crítico que ayuda a la industria alimentaria y al consumidor a determinar la aceptabilidad del alimento. Las frutas y hortalizas MP más deseadas son aquellas que presentan mayor retención de firmeza, textura crujiente y crocante (Ma et al., 2017). El reblandecimiento de los tejidos es uno de los mayores problemas de las frutas y hortalizas MP. Sin embargo, las hortalizas MP presentan menos problemas que las frutas, ya que en las hortalizas no ocurre la progresión natural de las modificaciones de la pared celular que causan el reblandecimiento en frutas (Toivonen y Brummell, 2008). En las hortalizas, la lignificación y la

solidificación/endurecimiento pueden aparecer como consecuencia de las heridas causadas en el procesado mínimo (Viña y Chaves, 2003).

El factor más importante en la textura de los alimentos vegetales es el genético, sin embargo, existen otros factores como la morfología, la estructura de la lamela intermedia, turgencia celular, contenido de agua y compuestos bioquímicos. Además, la textura puede verse afectada por las condiciones de crecimiento, incluyendo factores medioambientales y prácticas de producción. Después de la cosecha es muy importante almacenar las frutas y hortalizas a una temperatura y HR adecuada ya que la temperatura de almacenamiento tiene un gran efecto sobre el agua, la pérdida de peso y la actividad metabólica (García y Barrett, 2002). La madurez a la hora del procesado afecta a la vida útil del producto (Soliva-Fortuny et al., 2004a), particularmente en las frutas en las que durante la maduración se vuelven muy blandas y susceptibles al daño en el transporte y recepción (Toivonen y Brummell, 2008).

Las heridas producidas en los tejidos inducen a una tasa respiratoria alta, la cual desencadena una rápida deterioración de la textura en comparación con los tejidos intactos (Dong et al., 2000). El reblandecimiento de las frutas enteras y MP se debe principalmente a una degradación enzimática de la pared celular, la cual está compuesta por celulosa, hemicelulosas, y pectinas (Colás-Medà et al., 2016). Esta degradación enzimática ocurre debido a la exudación de enzimas pectinolíticas y proteolíticas desde las células dañadas hacia los tejidos internos (Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2003a). Las enzimas pectin metil esterasa (PME, EC 3. 1. 1. 11) y poligalacturonasa (PG, EC 3. 2. 1. 15) juegan un papel muy importante en el reblandecimiento de los tejidos (Alandes et al., 2006). La PME cataliza la desmetoxilación específica de los homogalacturonanos (HG) en el O-6 del ácido galacturónico, liberando metanol y protones y creando grupos carboxílicos disociables en la cadena de pectina (Jolie et al., 2010; Pelloux et al., 2007). La enzima PG es la responsable de la despolimerización y para ello atraviesa el enlace α (1-4)-D entre dos ácidos galacturónicos adyacentes en la cadena de HG mediante una hidrólisis ácido/base. Las endo-PGs (EC 3.2.1.15) hidrolizan aleatoriamente los sustratos poliméricos (disminución de la masa molar de la pectina), mientras que las exo-PGs son las que rompen la cadena por la parte exterior (Benen y Visser, 2003). La hidrólisis de las protopectinas lleva a la formación de pectinas hidrosolubles (Toivonen y Brummell, 2008). Por ejemplo, en el estudio realizado por Zambrano-Zaragoza et al. (2014) se observó que las manzanas MP exhibieron un incremento de la actividad de PME durante los primeros 9 días de almacenamiento, seguido de una reducción directamente proporcional con la cantidad de sustrato residual asociada a la pérdida de firmeza.

A nivel microscópico, la alteración de la textura es causada por las anteriormente mencionadas enzimas. Sin embargo, aunque hay muchos estudios sobre los cambios bioquímicos cuantitativos y cualitativos durante los cambios físicos en la textura, el proceso de desmantelamiento de los polisacáridos de las frutas incluyendo las pectinas, hemicelulosas y celulosa ha recibido muy poca atención (Liu et al., 2017). Además, la textura puede verse afectada por la actividad microbiológica. Algunos tipos de microorganismos son capaces de producir enzimas pectinolíticas las cuales pueden producir cambios en la textura degradando la lamela intermedia y la pared celular primaria. Las enzimas habitualmente producidas son: pectina liasa, pectato liasa, PG y PME (Ragaert et al., 2007). Asimismo, los cambios producidos en los tejidos causados por la descomposición pectinolítica puede también ser indicador de contaminación microbiológica (Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2003b). La pérdida de agua y los cambios osmóticos podrían afectar a la textura de la fruta u hortaliza MP. La pérdida de agua conlleva una pérdida de turgencia y crocancia, y es muy rápida en los productos MP debido a la ausencia de cutícula y láminas sub-epidérmicas y la exposición de los tejidos internos. Sin embargo, esa pérdida de agua se puede retardar con un envasado apropiado (Toivonen y Brummell, 2008). Por ejemplo, en el estudio

realizado por González-Aguilar et al. (2004) observaron que a medida que aumentaba el periodo de almacenamiento, la pérdida de agua y firmeza de los pimientos MP envasados al vacío era mayor. Además, el envasado en MAP redujo significativamente la pérdida de textura de los pimientos MP. Los autores de dicho estudio llegaron a la conclusión de que el descenso en la firmeza durante el almacenamiento podría ser debido al desarrollo de crecimiento fúngico y el aumento del metabolismo, el cual aumenta la actividad enzimática.

Los tratamientos térmicos podrían inactivar la PME y PG pero a su vez dañarían la estructura de los tejidos vegetales (Soliva-Fortuny et al., 2002a). El tratamiento más habitual para mantener la textura de las frutas y hortalizas enteras y MP son las sales de calcio (sección 4.1.3) y se ha visto que retrasan el reblandecimiento en numerosas frutas MP (Gorny et al., 2002; Luna-Guzmán y Barrett, 2000; Soliva-Fortuny et al., 2002b).

3.3 Sensoriales

Una valoración aceptable de la apariencia no tiene por qué implicar que el producto tenga una calidad sensorial satisfactoria (Beaulieu y Gorny, 2016). El aroma y el sabor son unos de los atributos sensoriales más importantes de los productos MP, los cuales suelen ser los indicadores principales de vida útil desde el punto de vista del consumidor (Beaulieu y Lea, 2003; Giné Bordonaba et al., 2014). El aroma se define como la fragancia de un sabor (Echeverría et al., 2013). Además, los consumidores suelen utilizar las propiedades texturales como indicadores de calidad. Una de las más estudiadas es la crocancia, el factor que más afecta a la aceptabilidad del consumidor a parte del gusto. La crocancia no solo tiene una función hedónica, sino que también tiene un papel importante en la fisiología del apetito y la sensación de saciedad (Cortellino et al., 2017).

El sabor de las frutas y hortalizas MP está determinado por la percepción humana como una combinación compleja de compuestos volátiles, no-volátiles y estructurales los cuales determinan la apariencia, aroma, gusto y textura (Drewnowski, 1997). Los compuestos volátiles que representan los olores y sabores característicos de las frutas y hortalizas MP incluyen alcoholes, aldehídos, terpenos, ésteres y sus derivados (Caleb et al., 2015). El aroma de las frutas se caracteriza por su alto contenido en aceites y ésteres alifáticos volátiles, los cuales tienen un mayor umbral de percepción en comparación con los volátiles responsables del aroma vegetal, los cuales son principalmente compuestos nitrogenados y sulfurados (Francis et al., 2012). El sabor de las frutas y hortalizas MP depende de la composición (p.ej., azúcares, ácido orgánicos, compuestos fenólicos y volátiles), factores genéticos, madurez, y tratamientos poscosecha (Ansah et al., 2018; Kader, 2002; Ma et al., 2017). Sin embargo, Giné Bordonaba et al. (2014) observaron que el estado de madurez no tuvo un efecto significativo sobre el contenido total de compuestos volátiles de las nectarinas MP, excepto para la variedad "Big Top" después de 5 días de almacenamiento, y las variedades "Big Nectared" y "Nectalady" después de 8 días. El sabor de las frutas MP es más importante que el de las hortalizas ya que estas últimas se suelen consumir en ensaladas o cocinadas (Barrett et al., 2010). Cabe destacar que la calidad sensorial nunca puede ser mejorada durante el almacenamiento; en su lugar, puede ser mantenida o se puede retrasar su deterioro (Artés y Allende, 2014). La pérdida de sabor y aroma de las frutas y hortalizas MP debido a la manipulación poscosecha, almacenamiento y venta, precede habitualmente a una pérdida de la calidad visual (Gorny, 2005).

Los malos olores o sabores pueden surgir a partir de las heridas producidas en el procesado ya que las heridas mecánicas aumentan la activación de diferentes vías enzimáticas asociadas a la

generación de volátiles (Ragaert et al., 2007). La pérdida de aroma y sabor debido al procesado mínimo está basada en dos mecanismos primarios, uno metabólico y el otro de difusión (Forney, 2008). Los cambios metabólicos son el resultado de la síntesis o catabolismo de los compuestos responsables del sabor y aroma o de los compuestos responsables de los malos olores. Estos cambios metabólicos dependen de la fisiología del producto, la cual esta a su vez influenciada por la madurez y factores ambientales, de manejo y procesado (Beaulieu y Lancaster, 2007). Los cambios de difusión son el resultado de la difusión y transferencia de masa de los compuestos volátiles hacia el exterior del producto. Estos cambios dependen de las propiedades químicas y físicas de cada componente, de la matriz y del tipo de envasado (Forney, 2008). Por ejemplo, en el estudio realizado por Bett et al. (2001) se observó que las manzanas MP envasadas en un envase con un film barrera tuvieron una calidad sensorial estable durante el almacenamiento (14 días, 1 °C) sin desarrollo de malos olores. La dulzura aromática y el gusto dulce aumentaron hasta los 9 días, después disminuyeron lentamente.

En la etapa de corte no solo se producen compuestos que causan malos olores o sabores sino que también se producen volátiles aromáticos secundarios en algunas frutas y hortalizas como resultado de la interrupción celular (Forney, 2008). Por ejemplo, el corte propicia la formación de compuestos nuevos como resultado de la reacción de los sulfóxidos de cisteína con la enzima alinasa en cebollas (Järvenpää et al., 1998) o la formación de nuevos compuestos volátiles como resultado de una oxidación lipídica en tomates (Baldwin et al., 2000).

Los tratamientos poscosecha como la inmersión en soluciones antioxidantes, el 1-MCP, los tratamientos con calor, los pulsos eléctricos o la radiación ultravioleta pueden tener influencia sobre el sabor y aroma de las frutas y hortalizas MP. Además, el envasado puede afectar a la calidad sensorial del producto MP. El sistema de atmosfera modificada puede afectar seriamente al perfil de volátiles. Las frutas y hortalizas MP pueden desarrollar olores indeseables en atmosferas con baja concentración de O₂ y alta de CO₂ debido a la formación de metabolitos fermentativos (Cortellino et al., 2015a; Rojas-Graü et al., 2009). Sin embargo, no queda muy claro si los cambios en el aroma y sabor son el resultado directo de la modificación de la atmosfera o de otros factores como la senescencia, actividad microbiológica o interacción con el envase (Forney, 2008). Cabe destacar que la baja retención del sabor y aroma en los productos MP, especialmente en frutas, es un problema extensamente reconocido y podría ser un síntoma del daño por frio relacionado con la producción de volátiles aromáticos (Dea et al., 2010).

3.4 Nutricionales

El valor nutricional es un componente cualitativo extremadamente importante ya que es imposible de ver, saborear, o sentir. Los nutrientes son críticos para el crecimiento y el desarrollo corporal, y esto incluye micronutrientes y macronutrientes (Barrett et al., 2010).

El corte estimula la producción de etileno el cual se traduce en un aumento de la respiración y senescencia dando lugar a una mayor pérdida de ciertas vitaminas. La **vitamina C** es un componente esencial en la dieta humana (da Silva et al., 2017) y es la vitamina que más rápidamente se degrada, convirtiéndose en un indicador de frescura (Barrett et al., 2010). El contenido total de vitamina C en las muestra biológicas está formado por ácido ascórbico y ácido dehidroascórbico (DHAA), aunque debido a la baja absorbancia del DHAA por debajo de 210 nm, se realiza una reducción de DHAA a ácido ascórbico para determinar la cantidad total (Wechtersbach y Cigić, 2007). El ácido ascórbico es muy susceptible a la oxidación química y enzimática durante el procesado y el almacenamiento. La enzima ácido ascórbico oxidasa es la principal responsable, aunque otras enzimas vegetales como la fenolasa, citocromo oxidasa y POD son indirectamente responsables de la pérdida de ácido ascórbico. Además, se oxida muy rápidamente en soluciones acuosas y esta oxidación es favorecida por la presencia de oxígeno, iones metálicos fuertes, especialmente Cu^{2+} , Ag^+ , y Fe^{3+} , y por el pH alcalino y las altas temperaturas (Lee y Kader, 2000).

La combinación adecuada de envasado en atmósfera modificada con refrigeración puede ayudar a mantener las concentraciones de vitamina C limitando la oxidación del ácido ascórbico (Rojas-Graü et al., 2009). Sin embargo, aunque la disponibilidad de oxígeno es el factor que mayor efecto ejerce sobre la degradación de la vitamina C, algunos estudios han concluido que las altas concentraciones de dióxido de carbono tienen un efecto negativo sobre el contenido de vitamina C en manzanas y peras MP (Soliva-Fortuny et al., 2004b; Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2003b). El efecto de la concentración gaseosa del envase sobre el contenido de vitamina C también se ha estudiado en hortalizas. Por ejemplo, los pimientos MP envasados en atmósfera modificada pasiva presentaron los mayores valores de ácido ascórbico durante el almacenamiento (14 días) a 5 °C (González-Aguilar et al., 2004).

Los cambios que ocurren en las frutas y hortalizas durante la cosecha, recepción y procesado pueden afectar a la actividad antioxidante (Rico et al., 2007). La conservación del contenido de **compuestos fenólicos** (p.ej., antocianinas, flavonoides y ácidos fenólicos) tiene un gran impacto en la calidad de la fruta u hortaliza MP no solo por su participación en las reacciones enzimáticas de pardeamiento, sino también por su valor nutricional (Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2003a). Los compuestos fenólicos presentes en las frutas y hortalizas secuestran los radicales libres e inhiben la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) las cuales pueden causar efectos dañinos sobre la salud (Manohar et al., 2017). El contenido de compuestos fenólicos de las frutas y hortalizas puede verse afectado por el procesado mínimo. Por un lado, las acciones mecánicas como el corte o el troceado aumentan la oxidación causada principalmente por la mezcla de compuestos fenólicos y PPO endógena y esto puede conllevar una disminución del contenido de los mismos (Bernart et al., 2013; Cocci et al., 2006). Por otro lado, las frutas y hortalizas MP producen señales debidas a las heridas producidas en el procesado y estas señales inducen a la producción de metabolitos secundarios incluyendo antioxidantes fenólicos para defender y curar el daño. Además, el estrés producido por el corte puede activar la enzima PAL la cual es la responsable de la síntesis de compuestos fenólicos en los tejidos vegetales (Fernando Reyes et al., 2007; Jideani et al., 2017). Por ejemplo, Heredia and Cisneros-Zevallos (2009) observaron que las heridas producidas por el corte aumentaron el contenido total de fenoles y la actividad antioxidante de los tejidos en zanahorias.

Un efecto similar se observó en el estudio realizado por Tudela et al. (2002) donde el corte de la patata indujo la biosíntesis de tres tipos de flavonoides.

3.5 Microbiológicas

El aumento en el consumo de frutas y hortalizas MP ha llevado a un aumento en la frecuencia de brotes de enfermedades relacionadas con el consumo de frutas y hortalizas crudas (Bhagwat et al., 2004). Además, el crecimiento microbiano es la mayor limitación de la vida útil de un producto MP durante el almacenamiento (Ragaert et al., 2011). Existen tres factores críticos que afectan a la seguridad de las frutas y hortalizas MP: (1) tratamientos poscosecha, (2) prácticas de manipulación de los trabajadores y (3) prácticas de manipulación domésticas por parte de los consumidores (Yu et al., 2018).

La contaminación microbiana depende principalmente de dos factores: el producto y el procesado del mismo. Los factores intrínsecos del **producto** que pueden afectar a la calidad microbiana son el pH, la actividad del agua, la tasa de respiración, la microbiota competitiva y sustancias antimicrobianas innatas siendo el pH uno de los más determinantes (Jideani et al., 2017). El **procesado** (pelado, cortado) puede destruir la superficie celular y la exposición del citoplasma puede proporcionar una mejor fuente de nutrientes para los microorganismos que las células intactas (Francis et al., 2012). El corte proporciona una mayor superficie para el crecimiento de microorganismos (Ajlouni et al., 2006). Además, se puede producir una contaminación cruzada en la etapa de corte si la desinfección de la fruta u hortaliza entera no se ha llevado a cabo de manera correcta (Heard, 2002). Sin embargo, Colás-Medà et al. (2016) observaron que el recuento de microorganismos psicrótrofos después del procesado mínimo de pera fue de $2,7 \log \text{ufc g}^{-1}$ y tanto los recuentos de levaduras y mohos como de las bacterias ácido lácticas estaban por debajo del límite de detección. Finalmente, se esperan cambios microbiológicos en las frutas y hortalizas MP y envasadas debido a las altas concentraciones de humedad dentro del envase y la presencia de superficies cortadas, las cuales son una fuente rica en nutrientes, creando un ambiente ideal para el crecimiento de los mismos (Oms-Oliu et al., 2010). Montero-Calderón et al. (2008) observaron que los recuentos de mohos y levaduras en piña MP alcanzaron valores de $7-7,5 \log \text{ufc g}^{-1}$ después de 18 días de almacenamiento en diferentes tipos de envases. Además, los recuentos de bacterias psicrótrofas alcanzaron valores de $7-8,5 \log \text{ufc g}^{-1}$.

La contaminación puede ocurrir en cualquier etapa de la producción. Durante el crecimiento, cosecha, transporte y posteriores etapas, las frutas y hortalizas MP se pueden contaminar con microorganismos de origen humano, animal o ambiental (Jideani et al., 2017). En las hortalizas MP la proliferación de bacterias podría ser un síntoma asociado a la senescencia de los tejidos y podría no ser la causa de una alteración excepto en algunos casos donde *Pseudomonas pectinolicas* están presentes. Sin embargo, en las frutas MP las levaduras y los mohos han sido asociados con la alteración del producto (Beaulieu y Gorny, 2016). La población bacteriana predominante principalmente está formada por especies pertenecientes a las familias *Pseudomonadaceae* (particularmente *Pseudomonas fluorescens*) y *Enterobacteriaceae* (particularmente *Erwinia herbicola* y *Rahnella aquatilis*), y por algunas especies pertenecientes a las bacterias ácido lácticas (particularmente *Leuconostoc mesenteroides*) (Ragaert et al., 2007; Siroli et al., 2015a). Las levaduras más habituales son del género *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Trichosporon*, *Pichia* y *Torulaspota* (Ragaert et al., 2007). Los microorganismos patógenos *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* y *Escherichia coli* O157:H7 están relacionados con la mayoría de los brotes debidos al consumo de frutas y hortalizas MP (Ma et al., 2017). Además, la presencia de bacterias alterantes tiene un impacto negativo sobre la calidad nutricional de los alimentos. Estos microorganismos afectan

negativamente a los contenidos de aminoácidos, carbohidratos, vitaminas y minerales (Genta y Heluane, 2001).

Este tipo de alimentos debe cumplir con la normativa de carácter horizontal, como son el Reglamento 852/2004 de 29 de mayo de 2003 del Parlamento Europeo y del Consejo, relativo a la higiene de productos alimenticios y el Reglamento (CE) N° 2073/2005 de la Comisión, de 15 de noviembre de 2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios (AESAN, 2011). Los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios están regulados por el Reglamento de la Comisión Europea n° 1441/2007 de 5 de diciembre de 2007 que modifica el Reglamento (CE) n° 2073/2005. En este reglamento se establecen los criterios de seguridad alimentaria que regulan la presencia de *Salmonella* spp. y *L. monocytogenes* y los criterios de higiene que regulan los niveles de *E.coli* en frutas y hortalizas troceadas (listas para el consumo). El Real Decreto 3484/2000 del 29 de diciembre, donde se establecía las normas de higiene para la elaboración distribución y comercio de comidas preparadas fue derogado en el año 2011. Hoy en día, solo existen recomendaciones de los límites máximos permitidos de bacterias aerobias mesófilas y mohos y levaduras de productos de IV gama, elaboradas por diferentes organizaciones o instituciones como el CNERNA-CNRS (1996) o el Ministère de l'Economic des Finances et du Budget (1988).

4. Tratamientos para aumentar la vida útil

La conservación y la extensión de la vida útil han sido unas de las mayores preocupaciones de la industria del procesado mínimo desde que las frutas y hortalizas MP fueron comercializadas por primera vez en los años 40 (Ma et al., 2017). Los cambios químicos y enzimáticos que deterioran la calidad del producto se pueden controlar mediante la aplicación de tecnologías innovadoras (M. Siddiq et al., 2013). En los últimos años se han estudiado múltiples métodos químicos, físicos y biológicos para la reducción de patógenos y extensión de la vida útil de la frutas y hortalizas MP (Figura 7) (Yu et al., 2018). La temperatura de almacenamiento es el factor más importante. Sin embargo, existen muchos otros métodos de conservación en la industria, como el uso de los antioxidantes, desinfectantes o las atmósferas modificadas, sin restar importancia a las buenas prácticas de manipulación en empresas correctamente diseñadas (Artés y Allende, 2014). En muchos casos, la seguridad de esos productos se consigue mediante la combinación de varios tratamientos, produciéndose una interacción sinérgica o antagonista (Allende et al., 2006; Leistner y Gould, 2002).



Figura 7. Resumen esquemático de las ventajas y desventajas del cloro y los métodos alternativos de desinfección y/o descontaminación (químicos, físicos, biológicos y sus combinaciones) (Imagen tomada y adaptada de Meireles et al., 2016).

4.1 Químicos

La tecnología de conservación química está compuesta por conservantes naturales o sintéticos con el objetivo de prolongar la vida útil de las frutas y hortalizas MP (Meireles et al., 2016). La retención de la firmeza y la inhibición del pardeamiento son las medidas habituales para determinar la eficacia de los tratamientos químicos (Beaulieu y Gorny, 2016). Sin embargo, los

consumidores cada vez son más críticos con los conservantes sintéticos y por eso en los últimos años se ha observado una tendencia hacia los conservantes naturales (Ma et al., 2017).

4.1.1 Cloro (hipoclorito de sodio)

La cloración es el método de desinfección más ampliamente utilizado con el objetivo de evitar la transmisión de patógenos (Artés et al., 2009). El cloro ha sido utilizado de una forma abusiva y exagerada en el pasado hasta llegar al extremo de que si no se controla su uso, este podría llegar a ser prohibido (Russell, 2005). La actividad antimicrobiana del cloro es debida a la naturaleza oxidativa del ion hipoclorito, el cual reacciona rápidamente con los compuestos orgánicos (Delaquis et al., 2004). Se debe tener en cuenta que el cloro retrasa la contaminación microbiológica pero no presenta efectos beneficiosos en desordenes bioquímicos y fisiológicos del producto fresco (Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2003a).

El hipoclorito de sodio (NaClO) es la sal más utilizada para la desinfección de frutas y hortalizas debido a su bajo coste y su bajo impacto sobre la calidad nutricional (López-Gálvez et al., 2009; Luo et al., 2011b). El hipoclorito se suele añadir en concentraciones de 50 a 200 ppm (mg L^{-1}) de cloro libre y un tiempo de exposición de 1-5 min para garantizar la seguridad microbiana (Jideani et al., 2017), aunque una concentración entre 50 y 100 mg L^{-1} es suficiente si el pH se mantiene entre 6 y 7. Alternativamente, un potencial de óxido-reducción (ORP) superior a 650 mV asegura que todas las bacterias que entren en contacto mueran (Gorny y Zagory, 2016; Suslow, 2004). El ORP es la medida del nivel de oxidación en el agua (James y Ngarmsak, 2011) y se suele medir utilizando un pH/ion/conductímetro el cual posee un electrodo para pH y/u otro para ORP (Abadias et al., 2011).

El efecto del cloro es extremadamente dependiente de la cantidad de cloro libre disponible, duración del tratamiento, materia orgánica presente y componentes del tejido vegetal (Alegria et al., 2009). Por ejemplo, Bermúdez-Aguirre y Barbosa-Cánovas (2013) estudiaron el efecto desinfectante del hipoclorito de sodio a diferentes concentraciones (50, 100 y 200 mg L^{-1}) y tiempos de aplicación (0, 3, 6, 9, 12 y 15 min) sobre la población de *E.coli* en lechuga y tomate. En dicho estudio se observó que en lechuga la mayor inactivación se consiguió después de 15 min en contacto con una solución de 100 mg L^{-1} y en el caso del tomate, se consiguió una inactivación completa después de 15 min con una solución de 200 mg L^{-1} .

La adición del NaClO al agua produce un descenso del pH y desencadena la producción de ácido hipocloroso (HClO) el cual es una especie antimicrobiana activa. Cloro libre se le llama al ácido hipocloroso, el cual es la forma de cloro más importante en el agua y es el agente primario responsable de la muerte de los microorganismos (Kelley, 2004). El ácido se disocia rápidamente a iones de hipoclorito (OCl^-) a pHs altos, o gas de cloro (Cl_2) a pHs bajos (Artés et al., 2009). Por ese motivo, aunque es más eficiente a pHs bajos, se suelen seleccionar valores entre 6 y 7,5 para reducir el riesgo de corrosión metálica de los equipos de procesado (Beuchat, 2000). La efectividad de la cloración en la reducción de la población bacteriana está limitada debido a la hidrofobia de las superficies vegetales. Se cree que las superficies vegetales hidrófobas limitan el contacto entre el cloro y los contaminantes microbianos (Akbas y Ölmez, 2007).

El NaClO es inactivado por la materia orgánica y además puede liberar vapores y formar subproductos clorados (cloraminas, cloroformo, clorato, ácidos haloacéticos y trihalometanos) los cuales presentan riesgos para la salud (Artés-Hernández et al., 2017; Ramos et al., 2013). Además, el cloro está relacionado con la producción de grandes cantidades de residuos acuosos con altos

niveles de demanda biológica de oxígeno (BOD) (Ölmez y Kretzschmar, 2009). Hay muy pocos estudios donde se analice la presencia de subproductos del cloro en el agua de lavado o en la superficie vegetal y uno de ellos es el realizado por López-Gálvez et al. (2010). En este estudio se observó una producción de trihalometanos (THM) en el agua de procesado tratada con hipoclorito de sodio, incluso a la concentración (100 mg L^{-1}) y tiempo de contacto (30 min) más bajos confirmándose la teoría de que el nivel de THM aumenta a medida que se aumenta la concentración de hipoclorito de sodio. En cambio, los niveles de THM en la superficie de la lechuga estaban por debajo del límite de detección.

Uno de los mayores subproductos son los anteriormente mencionados THM, formados a partir de la reacción de hipoclorito activo con compuestos nitrogenados (Allende et al., 2009) los cuales son potencialmente cancerígenos (Silveira et al., 2010). Los THM se han convertido en una de las mayores preocupaciones para los investigadores, industria y agencias reguladoras (Artés y Allende, 2014). A pesar de la alerta que hay hoy en día con los subproductos del cloro, Russell (2005) destaca que para que se supere el límite toxicológico por el consumo de lechuga tratada con hipoclorito, se deberían consumir muchos kg por día. En Europa, el uso de agua clorada para el lavado de frutas y hortalizas está permitido bajo regulaciones nacionales (EFSA, 2015b). Sin embargo, su uso como desinfectante para frutas y hortalizas MP ha sido prohibido en varios países de Europa (p. ej., Alemania, Holanda, Dinamarca, Suiza o Bélgica) debido a los aspectos negativos mencionados anteriormente (Artés et al., 2011).

Por todo lo mencionado anteriormente, hoy en día, el objetivo de muchos estudios y proyectos es la búsqueda de nuevos métodos desinfectantes alternativos al uso del cloro.

4.1.2 Ácido peroxiacético

El ácido peroxiacético (PAA), el cual también se conoce como ácido peracético, es el resultado del equilibrio cuaternario de la mezcla de ácido acético (CH_3COOH) y peróxido de hidrogeno (H_2O_2) (Dell'Erba et al., 2007). Los productos que se forman a partir de su descomposición son ácido acético, O_2 , CO_2 , y agua y por ese motivo, se considera un agente químico respetuoso con el medioambiente (Koivunen y Heinonen-Tanski, 2005). Es un fuerte agente oxidante y es utilizado para lavar las frutas y hortalizas en concentraciones de hasta 80 ppm (Ramos et al., 2013) ya que es la concentración máxima autorizada en los Estados Unidos (21CFR173, 2017). El efecto antimicrobiano del PAA se basa en la oxidación de proteínas y lípidos de la pared celular de los microorganismos, el cual puede conllevar una interrupción de la permeabilidad de la pared celular, oxidación de enzimas como la catalasa y la inhibición de la síntesis de ADN (Vandekinderen et al., 2007). Además, se cree que el PAA actúa sobre las lipoproteínas de la membrana celular y en consecuencia, podría actuar de la misma manera sobre las lipoproteínas de la membrana externa facilitando la acción contra las bacterias Gram-negativas (Silveira et al., 2010). El PAA es efectivo contra microorganismos patógenos como *E.coli*, *Salmonella* o *Listeria* en suspensión a bajas concentraciones comparando con el cloro (Joshi et al., 2013). La eficiencia del PAA contra los microorganismos puede clasificarse en: bacterias > virus > esporas bacterianas > quistes protozoicos (Kitis, 2004; Koivunen y Heinonen-Tanski, 2005).

Hoy en día se considera una alternativa al uso del cloro por su tolerancia a la temperatura, pH (1-8), dureza, contaminación del suelo (Artés et al., 2007) y por ser más activo contra los biofilms (Holah et al., 1990). Además, su eficacia no está sujeta a las fluctuaciones del pH como ocurre con el cloro y su acidez le permite no debilitarse ante la presencia de materia orgánica. Cabe destacar que este ácido tiene menos efectos negativos sobre la salud y el medioambiente que el cloro (Neo

et al., 2013). Diversos estudios han comparado el efecto del PAA y el hipoclorito de sodio sobre la población microbiana de frutas y hortalizas. Sin embargo, se deben tener en cuenta otros aspectos cualitativos como la calidad sensorial, el contenido nutricional y la fisiología (Vandekinderen et al., 2009a). Por ejemplo, Vandekinderen et al. (2009b) observaron que la desinfección con NaClO (200 mg L⁻¹) o PAA (80 o 250 mg L⁻¹) produjo una reducción microbiana similar (>1 log cfu g⁻¹) y aunque ninguno de los dos tuvo efectos negativos sobre la calidad sensorial y propiedades antioxidantes del puerro MP, la desinfección con PAA a 250 mg L⁻¹ produjo una reducción significativa en el contenido de tocoferol. Sin embargo, en el estudio realizado por Vandekinderen et al. (2009c) en col blanca MP bajo las mismas condiciones, se observó que la desinfección con PAA (80 o 250 mg L⁻¹) produjo una mayor reducción de aerobios totales que con NaClO (200 mg L⁻¹). En este estudio la desinfección con PAA a 250 mg L⁻¹ produjo una disminución del contenido de vitamina C, α -tocoferol y actividad antioxidante, los cuales no se vieron tan afectados cuando se redujo la concentración a 80 mg L⁻¹. El PAA presenta algunas desventajas como su inestabilidad a altas concentraciones o su gran coste cuando se compara con desinfectantes tradicionales como el hipoclorito de sodio (Kunigk y Almeida, 2001; Vandekinderen et al., 2007).

La combinación del PAA con otros agentes descontaminantes es una posibilidad para mejorar sus propiedades fungicidas y esporicidas. Los desinfectantes comerciales a base de PAA contienen una cantidad considerable de peróxido de hidrógeno el cual posee también propiedades antimicrobianas (Wagner et al., 2002). Por ejemplo, el producto comercial Tsunami®, comercializado por Ecolab®, contiene un 30-60 % de ácido acético, 10-30 % de ácido peracético y 10-30 % de peróxido de hidrógeno.

El PAA está aprobado por la Unión Europea (Regulation 2016/672) como desinfectante para el agua potable y las áreas alimentarias y como conservante. Además, en Estados Unidos, la FDA (Food and Drug Administration) lo incluye dentro de los químicos que se pueden utilizar en el lavado o pelado de frutas y hortalizas (21CFR173, 2017).

4.1.3 Calcio

El calcio es un elemento esencial en una amplia variedad de procesos fisiológicos clave relacionados con la maduración ya que este está implicado en la división celular, elongación y crecimiento del fruto. Además, el Ca²⁺ juega un papel muy importante en el retraso de la senescencia a través de la estabilización de la membrana celular y el retraso del proceso catabólico de la membrana lipídica en la poscosecha (Belge et al., 2017; Serrano et al., 2004). Las sales de calcio se suelen aplicar en precosecha, poscosecha o en el procesado de las frutas y hortalizas. La aplicación del calcio en precosecha (suelo o spray foliar) tiene como objetivo reducir la incidencia de ciertas enfermedades como la podredumbre marrón (Holb et al., 2012) o la depresión amarga (Torres et al., 2017) en manzanas. Sin embargo, el objetivo principal de los tratamientos con calcio en poscosecha (vacío, spray o inmersión) es el mantenimiento o mejora de la textura en las frutas y hortalizas enteras y/o MP. Por ejemplo, Manganaris et al. (2007) demostraron que la inmersión de melocotón entero durante 5 min en un baño que contenía 62,5 mmol L⁻¹ de cloruro de calcio mejoró la textura del mismo. Aunque la aplicación de sales de calcio ofrece otras ventajas como la reducción de la tasa respiratoria y la tasa de liberación de etileno, el retraso de la senescencia y del catabolismo de los lípidos (Zhao y Wang, 2015).

El calcio aumenta la fuerza mecánica de la pared celular mediante su unión con las cargas negativas de los residuos galacturónicos desmetilados de las pectinas (Figura 8) (Gomes et al., 2010; Toivonen y Brummell, 2008). En resumen, los iones de calcio interactúan con los ácidos carboxílicos libres

disponibles gracias a la desmetil-esterificación de la pectina por parte de la enzima PME (Alandes et al., 2006). Estas moléculas pécticas de baja metilación son reticuladas mediante puentes de calcio, formando pectatos de calcio. Los puentes de calcio se forman entre los grupos carboxílicos libres de las cadenas de pectina (Cybulska et al., 2011). Los complejos divalentes ion-pectina actúan como un cemento intracelular reforzando la estructura de la lamela intermedia y la pared celular (Alandes et al., 2006; Oms-Oliu et al., 2010). Existe una hipótesis en la cual se determina que la activación de la PME por parte de los iones de calcio es debida a la unión del ion a la enzima como cofactor en vez de un efecto directo del ion de calcio sobre el producto de reacción (Alandes et al., 2006). Sin embargo, Manganaris et al. (2005) observaron que la actividad de PME en nectarinas enteras no fue dependiente del tratamiento de calcio. La hipótesis mencionada anteriormente se pudo comprobar en el estudio realizado por el mismo grupo de investigación años más tarde (Manganaris et al., 2007), donde la actividad de la PME era mayor en los melocotones enteros sumergidos en sales de calcio y los investigadores sugirieron que eso pudo ser debido al aumento de sitios para la unión de calcio en la cadena de pectina. Sin embargo, en el estudio realizado por Quiles et al. (2007) se observó que independientemente del tiempo de almacenamiento, las manzanas MP tratadas con propionato de calcio presentaron menores valores de actividad PME. Además, las manzanas MP tratadas con propionato de calcio y almacenadas durante 2 semanas presentaron la misma actividad que aquellas almacenadas durante 1 semana. Los investigadores concluyeron que eso pudo ser debido a que el calcio mantiene la estructura celular y actúa como una barrera natural previniendo la entrada de la enzima.

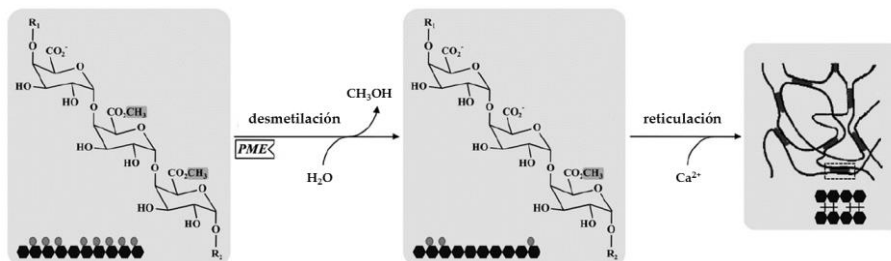


Figura 8. Esquema general de la acción de la PME y el calcio sobre la cadena de homogalacturonanos de la pectina (Imagen tomada y adaptada de Jolie et al., 2012).

El calcio además aumenta la presión de turgencia celular y estabiliza la membrana celular (Alandes et al., 2009). El mantenimiento de la firmeza durante el almacenamiento se cree que es debido a la interacción de los iones de calcio con los grupos negativamente cargados de los fosfolípidos y proteínas de la membrana plasmática. Así, los iones de calcio protegen la membrana de la degradación lipídica (Ngamchuachit et al., 2014).

Además, se cree que las sales de calcio inhiben la actividad de la PG. Sin embargo, las evidencias sugieren que el efecto del calcio no es sobre la actividad catalítica de la PG sino que se produce una solubilización de los productos de la hidrólisis llevada a cabo por la PG (Gomes et al., 2010). Por último, la utilización de sales de calcio podría aumentar el contenido de calcio en el producto final (Anino et al., 2006; Manganaris et al., 2007) dándole un valor añadido (Rico et al., 2007). Por ejemplo, Kou et al. (2015) observaron que la aplicación poscosecha de cloruro de calcio al 2 % produjo un aumento del 89 % en la concentración de calcio en la piel de pera entera al final del ensayo. Además, en el estudio realizado por Ngamchuachit et al. (2014) se observó un aumento de más del 50 % en el contenido de calcio de los mangos MP tratados con cloruro o lactato de calcio.

El cloruro de calcio es una de las sales de calcio más utilizadas aunque existen otras como el lactato de calcio, propionato de calcio o carbonato de calcio (Gorny et al., 2002; Oms-Oliu et al., 2010; Quiles et al., 2007). En los últimos años, el lactato de calcio está siendo estudiado como alternativa al cloruro de calcio, ya que no deja un gusto residual amargo en el producto, previene el pardeamiento y actúa como regulador de la acidez (Manganaris et al., 2005). Además, el lactato de calcio ha sido extensamente utilizado para frutas delicadas o productos con un alto índice de senescencia como la vid o melocotón (Rico et al., 2007). Aguayo et al. (2008) realizaron un estudio cuyo objetivo era evaluar el efecto de diferentes sales de calcio (cloruro, carbonato, lactato o propionato) sobre la calidad del melón “Amarillo” MP y concluyeron que los baños de propionato de calcio podrían ser una posible alternativa al uso de cloruro de calcio.

Las sales de calcio han sido ampliamente utilizadas en combinación con ácidos orgánicos (sección 4.1.4) como el ácido ascórbico con el objetivo de prevenir el pardeamiento enzimático y mantener la textura de las frutas y hortalizas enteras y MP (García Loredó et al., 2013). Además, el propio tratamiento de inmersión actúa como un aclarado de las enzimas y solutos de las células dañadas en las superficies cortadas (Toivonen y Brummell, 2008).

4.1.4 Ácidos Orgánicos

Los ácidos orgánicos han sido extensamente utilizados en la industria alimentaria. Algunos de los ácidos orgánicos débiles están reconocidos como GRAS por la FDA y la Comisión Europea (Artés-Hernández et al., 2017). El efecto principal de los aditivos, intencionadamente o no, es la alteración del pH de la superficie del producto MP (Gomes et al., 2010). Los ácidos orgánicos han sido utilizados para aumentar la vida útil de muchos productos, pero cuando se utilizan en altas concentraciones o largos tiempos de exposición (5-15 min) son capaces de inactivar microorganismos debido a la acidificación del citoplasma de la célula bacteriana, stress osmótico y síntesis inhibitoria de macromoléculas (Virto et al., 2005). Sin embargo, estas condiciones extremas no se suelen aplicar en la industria alimentaria por las desventajas que se mencionaran posteriormente (Ölmez y Kretzschmar, 2009). El ácido cítrico, acético, láctico, y ascórbico son los más utilizados en la industria alimentaria (Artés-Hernández et al., 2017). Estos compuestos presentan ventajas y desventajas. Una de las grandes ventajas es que la interacción con moléculas orgánicas no produce compuestos tóxicos o carcinógenos a diferencia del hipoclorito de sodio (Lianou et al., 2012). Una de las grandes desventajas es los cambios que se pueden producir en el sabor del alimento. Además, cuando los ácidos orgánicos son utilizados como desinfectantes, las aguas residuales podrían presentar altos valores de compuestos químicos y bioquímicos con alta demanda de oxígeno (BOD) (Ölmez y Kretzschmar, 2009).

El **ácido ascórbico**, se considera un agente reductor y a su vez un potente agente antimicrobiano debido a la reducción del pH del medio, perturbación en la membrana de transporte y/o permeabilidad, acumulación de aniones, o la reducción del pH intracelular (García Loredó et al., 2013; Oms-Oliu et al., 2010; Ramos et al., 2013). Este aditivo acidificante tiene la capacidad de reducir las *o*-quinonas a sus precursores difenólicos, previniendo el pardeamiento enzimático de las frutas MP ya que solo producen derivados incoloros (Arias et al., 2008; Oms-Oliu et al., 2010, 2006). Sin embargo, numerosos estudios han observado que esta acción inhibitoria es temporal (Arias et al., 2008) ya que una vez que el ácido ascórbico se oxida completamente a ácido dehidroascórbico (Figura 9), las *o*-quinonas no se reducen más y puede aparecer un oscurecimiento debido a la formación de melaninas (Oms-Oliu et al., 2006; Rojas-Graü et al., 2008). Además, teniendo en cuenta que la mayoría de los agentes desinfectantes son oxidativos y el ácido ascórbico

se considera reductor, el ácido ascórbico neutraliza y vuelve inefectivos los desinfectantes extensamente utilizados para el control de patógenos (Yan et al., 2017).

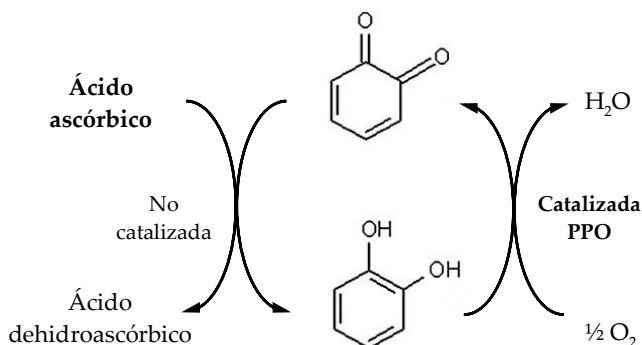


Figura 9. Conversión de las o-quinonas hacia sus precursores difenólicos mediante la acción del ácido ascórbico (Imagen tomada y adaptada de Rico et al. 2007).

La combinación de sustancias puede ser un método de conservación más efectivo, por ejemplo la mezcla de un agente antioxidante (ácido ascórbico) con un acidulante (ácido cítrico) (Cocci et al., 2006). Los baños de ácido ascórbico se suelen aplicar en combinación con otros ácidos orgánicos y sales de calcio con el objetivo de prevenir el pardeamiento enzimático (Soliva-Fortuny et al., 2002a). Por ejemplo, la combinación de ácido ascórbico con cítrico es más efectiva. El ácido cítrico podría tener la función inhibitoria sobre la PPO a través de su función quelante y el ácido ascórbico a través de su especificidad hacia los residuos de histidina presentes en la proteína PPO (Yoruk y Marshall, 2003). Este efecto se vio en el estudio realizado por Son et al. (2001), donde las manzanas MP sumergidas (3 min) en una solución de 1 % ácido cítrico y 1 % ácido ascórbico presentaron bajos niveles de pardeamiento después de 3 horas. Estos baños causan mayor efecto sobre las bacterias que sobre mohos y levaduras debido al bajo pH (entre 2,1 y 2,7) de aplicación (Artés et al., 2009).

El **ascorbato de calcio** es uno de los principales antipardeantes utilizados en la industria de las frutas y hortalizas MP. El efecto del ascorbato de calcio sobre el color y la firmeza depende del pH, el cual es la clave en el efecto de los aditivos sobre la calidad del producto (Gomes et al., 2010). Por ejemplo, Gomes et al. (2012) estudiaron el efecto de la adición de ascorbato de calcio a pH 3,0 o 7,0 junto con el envasado en atmósfera modificada en la calidad de pera MP. En este estudio se observó que el pH de la solución afectó al color de la pera y el panel sensorial consideró que las tratadas a pH 3,0 presentaban un color más oscuro. La gran desventaja del ascorbato de calcio es que es incompatible con la mayoría de los desinfectantes oxidativos (cloro, ozono o dióxido de cloro), lo cual hace que esto sea un gran desafío para la industria alimentaria (Luo et al., 2011a). Además, su elevado coste hace que se reutilice la solución acuosa, y eso conlleva una acumulación de nutrientes y microorganismos (patógenos y alterantes) convirtiéndose en una fuente de contaminación (Wang et al., 2007).

El **ácido cítrico** ha sido ampliamente utilizado debido a su actividad antipardeante. El ácido cítrico ejerce un efecto inhibitorio doble reduciendo el pH y secuestrando el cobre presente en el sitio activo de la PPO, y, por tanto, inactivando la enzima (Son et al., 2001). El pH óptimo para la actividad de la PPO está entre ácido y neutro aunque por debajo de 4,5 su actividad es muy baja. La inactivación

irreversible de la PPO se da en un pH por debajo de 3,0 (Pareek, 2017). La inhibición por bajo pH es atribuido a la protonación de grupos catalíticos esenciales para la catálisis, cambios conformacionales en el sitio activo de la enzima, desnaturalización irreversible de la proteína, y/o reducción de la estabilidad del sustrato (Yoruk y Marshall, 2003).

El reglamento (CE) N° 1331/2008 del Parlamento Europeo del 16 de diciembre de 2008 establece la autorización y normas para los aditivos alimentarios. Además, la lista autorizada de aditivos alimentarios aprobados para su uso alimentario se puede encontrar en el Anexo del reglamento (CE) N° 1129/2011. El ascorbato cálcico (E-302), citrato de sodio (E-331), cloruro cálcico (E-509), lactato cálcico (E-327), ácido ascórbico (E-300) y ácido cítrico (E-330) aparecen en dicha lista. En el año 2016, se modifica y corrige el anexo II, en lo que respecta a la utilización de determinados aditivos alimentarios autorizados en todas las categorías de alimentos mediante el reglamento (UE) 2016/324. Por último, el 23 de enero de 2018 se publicó el reglamento (UE) 2018/97 por el que se modifica el anexo II del reglamento (CE) 1333/2008, pero no hubo modificaciones respecto a la legislación de los aditivos mencionados anteriormente.

4.2 Físicos

Los tratamientos físicos han ganado un gran interés estos últimos años debida a la ausencia total de residuos en los productos tratados y por el mínimo impacto sobre el medioambiente. Sin embargo, podrían tener algunas limitaciones, incluyendo la baja persistencia, el riesgo de efectos adversos en la calidad del producto o problemas tecnológicos en la aplicación comercial (Usall et al., 2016). A pesar de que el almacenamiento en frío es uno de los métodos más extendidos (Ma et al., 2017), existen otros como el almacenamiento en atmósferas controladas, envasado en atmósferas modificadas o vacío y tratamientos con calor o ultrasonidos.

4.2.1 Atmósferas Controladas

Las atmósferas controladas (CA) consisten en mantener la composición atmosférica diferente a la composición del aire (alrededor de 78 % N₂, 21 % O₂, y 0.03 % CO₂); generalmente se utilizan concentraciones de oxígeno por debajo de un 8 % y concentraciones de dióxido de carbono por encima de un 1 % (Kader, 2016).

El uso de atmósferas controladas ha sido recomendado para aumentar la vida útil de muchas frutas y hortalizas (Teixeira et al., 2016). La aplicación industrial de las AC ha conseguido los mejores resultados en peras y manzanas (Kader, 2016). Las recomendaciones de la concentración de gases y temperatura deben ser específicas para cada fruta u hortaliza. Por ejemplo, Galvis-Sánchez et al. (2004) recomienda atmósferas que contengan 2,0-5,5 % de O₂ y 0,5-1,5 % de CO₂ en peras que se almacenen entre -0,5 °C y 0 °C y Saltveit (2003) recomienda 1-2 % de O₂ y 0-10 % de CO₂ para cebollas que se almacenen a 0-5 °C. La tolerancia de la fruta u hortaliza a las CA depende de varios factores como la variedad, maduración, concentraciones de O₂ y CO₂, temperatura o el tiempo de almacenamiento (Bekele et al., 2016). Por ejemplo, Luengwilai et al. (2007) observaron que las atmósferas con bajo oxígeno (5, 3 o 1 kPa) redujeron la tasa de respiración de las mandarinas "Clemenules Clementine" en un 50-75 % durante las primeras 6 semanas mientras que la de la variedad "W.Murcott" se redujo en un 77-84 % la primera semana a 5 °C.

El almacenamiento en CA presenta diversos efectos beneficiosos como la disminución de la velocidad de producción de etileno, retraso de la senescencia, el mantenimiento de la textura, el

Introducción general

color y la calidad organoléptica (Larrigaudiere et al., 2001), además de la reducción del escaldado superficial en peras y manzanas (Lurie y Watkins, 2012). Asimismo, en muchos productos vegetales cuando la presión externa de O₂ es baja, se produce una disminución severa de la actividad respiratoria la cual es atribuida a la reducción de actividades oxidasa como la PPO, ascorbato oxidasa o la ácido glicólico oxidasa (Sánchez-Mata et al., 2003). Por ejemplo, Ali et al. (2016) observaron que el almacenamiento de lichis en CA (28 días) produjo un descenso del 68 % en la actividad de la enzima POD. A parte de los efectos bioquímicos sobre la fruta u hortaliza, la incidencia de ciertas enfermedades se podría reducir mediante el uso de CA ya que estas reducen la tasa respiratoria del patógeno, y pueden mantener la resistencia natural de la fruta u hortaliza (Falagán y Terry, 2018). A pesar de esos efectos beneficiosos, se deben controlar las condiciones de almacenamiento para evitar la respiración anaeróbica del producto la cual podría inducir la producción de compuestos alcohólicos y volátiles (aparición de olores y sabores extraños), aparición de pardeamiento interno, así como la proliferación de microorganismos anaerobios (Sánchez-Mata et al., 2003).

Existen diferentes formas de aplicar las atmósferas controladas y una de ellas es el sistema de Palliflex (Van Amerongen, Biezenwei, Holanda). Este sistema es adecuado para almacenamientos a corto y largo plazo bajo CA y condiciones de ULO (Ultras Low Oxygen). En este sistema de almacenamiento es posible establecer la composición de O₂ y CO₂ deseada en pallets individuales creando condiciones de CA. Este sistema es idóneo para frutas y hortalizas que estén almacenadas en la misma cámara ya que permite obtener diferentes composiciones en cada pallet individual (Selcuk y Erkan, 2015).



Figura 10. Sistema Palliflex de almacenamiento en atmósfera controlada.

4.2.2 Envasado en Atmósferas Modificadas

El envasado en atmósfera modificada (MAP) es una de las técnicas de envasado más utilizada y la combinación de MAP con almacenamiento en temperaturas de refrigeración se considera la mejor forma de aumentar la vida útil (Anurag et al., 2016). El MAP es un tipo de tecnología de obstáculo al final del procesado para la conservación de los alimentos (Church y Parsons, 1995). El envasado en atmósfera modificada consiste en la modificación de la composición atmosférica interna del envase (78 % N₂, 21 % O₂, 0.03 % CO₂ y trazas de gases nobles) mediante la reducción de la cantidad de oxígeno y el reemplazamiento de este por dióxido de carbono y/o nitrógeno (Farber et al., 2003; Ramos et al., 2013). El objetivo de la atmósfera modificada es la disminución de la tasa de respiración y la senescencia de las frutas y hortalizas la cual se puede conseguir con bajos niveles de O₂ (1-5 %) y refrigeración (Farber et al., 2003; Sandhya, 2010). En general, la composición gaseosa dentro del envase depende de la temperatura, peso del producto, tasa de respiración, tasas de transmisión de O₂ y CO₂ del film, y superficie total respiratoria (Oliveira et al., 2010). La tolerancia a las diferentes concentraciones de O₂ y CO₂ depende del tipo de fruta u hortaliza y variedad. Por ejemplo, el límite de la mayoría de manzanas y peras está en 1,5 % de O₂, mientras que en las cebollas está en 1,0 % (Mir y Beaudry, 2016). Los efectos beneficiosos de las atmósferas modificadas son en parte debido a la disminución de los niveles de O₂ y al aumento de los niveles de CO₂, y en parte a la disminución de la pérdida de agua (Solomos, 2017). Además, tienen un coste relativamente bajo y son fáciles de aplicar (Anurag et al., 2016).

Existen dos tipos de atmósferas modificadas, pasiva y activa. La atmósfera **pasiva** se genera dentro del envase de forma natural debido a la interacción entre la respiración del producto y la permeabilidad del film (Farber et al., 2003). El oxígeno del espacio de cabeza se consume y el dióxido de carbono aumenta como resultado de la respiración, normalmente en un ratio de 1:1. Después de un tiempo, se crea un equilibrio dependiendo de la actividad respiratoria del producto, temperatura de almacenamiento y permeabilidad del film (Giménez et al., 2003; Zhang et al., 2014). Mientras que la atmósfera **activa** se consigue mediante el desplazamiento (habitualmente con N₂) o reemplazamiento de los gases mediante captadores o absorbedores para alcanzar la mezcla de gases deseada (Farber et al., 2003). Por ejemplo, Horev et al. (2012) observaron que los efectos de la atmósfera pasiva sobre las hojas de lechuga eran menos pronunciadas, mientras que la activa tuvo un efecto antimicrobiano sobre la microbiota nativa, pero no sobre la *Salmonella* spp. e incluso favoreció la supervivencia del patógeno posiblemente debido a la eliminación de sus antagonistas naturales.

Aparte de la atmósfera modificada pasiva y activa existen otras como MAP con altas concentraciones de oxígeno (súper-atmosféricas), MAP compuesto por altas concentraciones de oxígeno y dióxido de carbono y por último, como algo reciente y novedoso, el uso de gases nobles como el argón, helio u óxido de nitrógeno. Estos últimos no tienen un efecto directo sobre el metabolismo vegetal si no que podrían aumentar la difusividad del O₂, C₂H₄ y CO₂ desde los tejidos debido a una mayor densidad respecto al nitrógeno, o por la inhibición de la respiración afectando la actividad del citocromo oxidasa C en las mitocondrias (Ma et al., 2017).

El tipo de film es un factor muy importante. Los materiales poliméricos extraídos del petróleo son los más utilizados pero no son biodegradables y su destrucción puede causar problemas medioambientales. Hoy en día se han desarrollado nuevos films biodegradables procedentes del sector de la agricultura, microbiología o biotecnología con el objetivo de reducir los residuos plásticos (Caleb et al., 2013; Del Nobile et al., 2006). Uno de los factores más importantes a la hora de elegir el film adecuado es la tasa de transmisión de oxígeno (OTR) ya que será crítica en el desarrollo de un ambiente MAP (Barrett et al., 2010). Otro factor muy importante es la humedad

relativa (HR). El uso de un film polimérico en MAP sirve como barrera mecánica frente al movimiento de vapor de agua ayudando a mantener altos niveles de HR dentro del mismo, y reduciendo la pérdida de peso. Sin embargo, niveles altos de HR pueden tener como consecuencia una condensación de agua la cual crea unas condiciones favorables para el crecimiento de microorganismos alterantes y patógenos (Caleb et al., 2013; Ragaert et al., 2007). Además, existen films con micro perforaciones como primera ruta de intercambio de gases (Mir y Beaudry, 2016) que pueden alcanzar altas tasas de transmisión gaseosa. El diámetro de las perforaciones suele ser entre 40 y 200 μm alterando el tamaño y el grosor de los mismos (Sandhya, 2010). La temperatura es extremadamente importante en el diseño de un envase, y los films continuos y perforados difieren en la respuesta a los cambios de temperatura (Mir y Beaudry, 2016).

El envasado en MAP puede afectar a las características físico-químicas de las frutas y hortalizas MP como la textura y el color y a las características sensoriales. La modificación de la atmósfera se suele utilizar junto con otros tratamientos auxiliares para retrasar el desarrollo del pardeamiento (Mir y Beaudry, 2016). Varios investigadores han demostrado que el sistema de MAP es capaz de mantener la calidad de los productos frescos si el diseño de la composición gaseosa y la permeabilidad del film se realiza de manera adecuada (Belay et al., 2016). Sin embargo, en el estudio realizado por Cortellino et al. (2015a) se observó que las dos atmósferas convencionales MAP indujeron mayor degradación del color (mayor índice de pardeamiento (BI)) que el envasado en aire hasta el cuarto día de almacenamiento. Después, el BI de las manzanas MP envasadas en MAP disminuyó y llegó a los valores de las muestras envasadas en aire, y eso pudo ser debido a los procesos bioquímicos que dieron lugar a la formación de compuestos menos oscuros. Hay muy pocos estudios sobre el efecto del MAP sobre la calidad sensorial evaluada por un panel entrenado (Cortellino et al., 2015b). Por ejemplo, Soliva-Fortuny et al. (2005) compararon el efecto de las MAP junto con baños de cloruro de calcio con el consumo después del corte en la calidad sensorial de las manzanas MP. La puntuación de la calidad global disminuyó a medida que aumentaba el tiempo de almacenamiento y a las 3 semanas llegaron a puntuaciones muy bajas debido a la detección de olores extraños por parte de los panelistas. Además, la síntesis de compuestos aromáticos es generalmente suprimida con altas concentraciones de CO_2 y bajas de O_2 , en parte por su acción en la percepción de etileno pero también a través de la acción del O_2 en los procesos oxidativos (Mir y Beaudry, 2016).

La proliferación de los microorganismos aerobios se puede retrasar con niveles bajos de oxígeno y estos bajos niveles producen un mayor efecto sobre el crecimiento de bacterias aerobias Gram-negativas como *Pseudomonas* que sobre las Gram-positivas como *Lactobacillus* (Rojas-Graü et al., 2009). La hipótesis es que las especies radicales de oxígeno activo dañan las macromoléculas celulares vitales y de ese modo inhiben el crecimiento microbiano cuando el estrés oxidativo sobrepasa al sistema protector celular (Day, 2001). El CO_2 es un agente antimicrobiano, ideal para el control del crecimiento microbiano en productos frescos (Putnik et al., 2017b) pero su efecto depende de la temperatura, tipo de microorganismo, fase de crecimiento, actividad de agua, y composición química del alimento (Devlieghere y Debevere, 2000). Sin embargo, el aumento en la concentración de CO_2 y disminución en la concentración de O_2 puede favorecer el crecimiento de bacterias ácido lácticas (Farber et al., 2003). Además, si la presión parcial del oxígeno se encuentra por debajo del umbral de fermentación, los tejidos iniciarán una respiración anaeróbica con su correspondiente producción de olores y sabores indeseados (producción de etanol y acetaldehído) (Oms-Oliu et al., 2007). Generalmente, una concentración de CO_2 de 5 kPa es suficiente para prevenir el crecimiento bacteriano. Sin embargo, Hong and Kim (2001) observaron que los recuentos de bacterias ácido lácticas en las cebollas MP envasadas en MAP (activa o pasiva) estaban por debajo de 10^5 ufc g^{-1} y además, sin producción de malos sabores y olores causados por los ácidos orgánicos, etanol, y acetaldehído. En cambio, las levaduras se pueden expandir

anaeróbicamente y su tolerancia al CO₂ es bastante alta (Arias et al., 2008). Por ejemplo, en el estudio realizado por Bai et al. (2003) se observó que los recuentos totales de bacterias en melones MP envasados en MAP activa o pasiva, estaban en un rango de 5,8-12,3 ufc kg⁻¹, mientras que los recuentos de mohos y levaduras eran más bajos. Cabe destacar que no existen apenas estudios donde se analice el efecto del envasado en MAP sobre la inactivación de virus en frutas y hortalizas MP (Jideani et al., 2017).

Por último, es necesario remarcar que una atmósfera óptima de envasado no es lo suficientemente efectiva para aplicarse en solitario y se debe utilizar junto con otras técnicas de conservación como por ejemplo baños que contengan soluciones antipardeantes (Toivonen, 2006).

Los gases incluidos en las atmósferas modificadas deben cumplir lo establecido en el Real Decreto 142/2002 de 1 de Febrero de 2002, por el que se aprueba la lista positiva de aditivos distintos de colorantes y edulcorantes para su uso en la elaboración de productos alimenticios, así como sus condiciones de utilización (AESAN, 2011). Además, el Reglamento (CE) n° 1935/2004, del 27 de Octubre, regula los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos.

4.2.3 Envasado al Vacío

El envasado al vacío es uno de los métodos naturales de envasado el cual puede aumentar la vida útil y la calidad del producto fresco (Chang y Kim, 2015) mediante la eliminación de aire del envase (Denoya et al., 2015; Rocha et al., 2003). En este sistema, el producto respiratorio se envasa en un recipiente bajo una presión atmosférica reducida y se almacena a temperaturas de refrigeración. La composición gaseosa inicial es la misma que el aire pero con una presión parcial gaseosa reducida (Hong y Kim, 2004). Además, la baja concentración de oxígeno presente en el envase permite extender la vida útil del producto mediante la inhibición de reacciones oxidativas y del crecimiento de bacterias aerobias (Chang y Kim, 2015; González-Aguilar et al., 2004). Por ejemplo, Hong and Kim (2004) observaron recuentos microbiológicos menores en las cebolletas MP envasadas al vacío en comparación con las envasadas en MAP pasiva. Además, las muestras envasadas al vacío retuvieron mejor calidad visual y presentaron menor descoloración y descomposición. En el estudio realizado por Beltrán et al. (2005) el envasado al vacío aumentó el efecto antimicrobiano de la combinación de ozono y ácido peroxiacético sobre la población de coliformes en patata MP.

El envasado al vacío ha sido probado especialmente para productos en los que el oxígeno puede provocar alteraciones químicas y bioquímicas. Las frutas y hortalizas MP se pueden beneficiar de esta tecnología, considerando que el oxígeno es uno de los substratos de las reacciones de pardeamiento. Sin embargo, si no se controla de manera adecuada, los bajos niveles de oxígeno podrían propiciar el inicio de un metabolismo fermentativo con su consecuente formación de metabolitos fermentativos (acetaldehído y etanol) (Denoya et al., 2015). Por ejemplo, en el estudio realizado por Teixeira et al. (2007) el envasado al vacío no tuvo efecto sobre el color de la carambola MP. Además, las muestras envasadas al vacío presentaron menores valores de actividad enzimática PPO. En cuanto a la posible respiración anaeróbica en las frutas y hortalizas MP envasadas al vacío, González-Aguilar et al. (2004) observaron que el contenido de etanol y acetaldehído de los pimientos MP se fue acumulando durante el almacenamiento, siendo más notable en aquellos envasados al vacío.

En teoría el envasado al vacío permite mantener la pérdida de peso y la textura ya que el alimento húmedo no se seca debido a que no hay aire que absorba la humedad del mismo (Rocha et al., 2003). Sin embargo, en el estudio realizado por Rocha et al. (2003) se observó un inesperado aumento de la pérdida de peso de las patatas “Désirée” MP al final del almacenamiento. Ese aumento fue inesperado ya que ocurrió en los últimos días de almacenamiento y no iba acompañado de ningún cambio en la textura.

La falta de oxígeno en el envase hace que se reduzca la actividad enzimática de ciertas enzimas como la PAL. La PAL cataliza el primer paso del metabolismo fenólico en plantas produciéndose precursores de una gran cantidad de compuestos como los flavonoides y su actividad depende del contenido de oxígeno (Pérez-Gregorio et al., 2011). Por ejemplo, en el estudio realizado por Pérez-Gregorio et al. (2011) observaron que las cebollas MP y envasadas al vacío mantuvieron los valores iniciales de flavonoides totales. Sin embargo, Martínez et al. (2005b) observaron que después de 30 días a 4 °C, las cebollas MP envasadas al vacío presentaron una concentración de queretina un 32 % superior a la de las cebollas envasadas en MAP.

La combinación del envasado al vacío con otros tratamientos físicos, químicos o biológicos podría aumentar la vida útil del producto. Por ejemplo, Chang and Kim (2015) observaron que los “taros” sometidos a tratamiento con calor (55 °C, 45 s) y posterior envasado al vacío presentaron menor pérdida de peso y firmeza, inhibición del pardeamiento, menores recuentos microbiológicos y mayor puntuación visual después de 12 días de almacenamiento a 4 °C.

4.2.4 Tratamiento Térmico

El tratamiento con agua caliente (“mild heat”) ha sido extensamente utilizado como un tratamiento de mitigación en algunas frutas para controlar los insectos y los patógenos de origen vegetal (Parish et al., 2003). El uso de calor suave es una técnica desinfectante prometedora para la industria alimentaria ya que puede alargar la vida útil del producto mediante la destrucción microbiana e inactivación enzimática parcial. Sin embargo, la temperatura y el tiempo de exposición pueden producir cambios indeseados en las características sensoriales (p. ej. color) y nutricionales. Se consideran frutas y hortalizas frescas aquellas que han sido tratadas con temperaturas entre 40 y 60 °C durante 1-5 min. Los métodos más utilizados son los baños de agua caliente, los tratamientos con vapor o aire caliente, aunque se está investigando la aplicación de calor mediante el uso de microondas (Artés-Hernández et al., 2017).

La técnica de inmersión en agua templada/caliente ha sido ampliamente utilizada en frutas y hortalizas MP como método de desinfección alternativo al cloro, aunque se ha visto que puede tener otros efectos como la mejora en el perfil de compuestos fenólicos o la actividad antioxidante (M Siddiq et al., 2013). Por ejemplo, Sgroppo and Pereyra (2009) demostraron que la inmersión de pimientos verdes MP en un baño de agua caliente (55 °C y 60 °C; 180 s) produjo un aumento de un 24 % en los fenoles totales durante los primeros cinco días de almacenamiento (4 °C, 87 % HR) y al final del almacenamiento (día 15) el contenido era un 11 % superior que el inicial. Además, los baños con agua caliente han sido propuestos como tratamiento para reducir el pardeamiento en productos MP ya que se ha demostrado que retrasa el aumento de la actividad de la enzima PAL inducida por las heridas del corte (Saltveit, 2000). Sin embargo, estos tratamientos pueden causar una pérdida de compuestos nutricionales y reblandecimiento de los productos MP (Abreu et al., 2003; Alegria et al., 2012; Sgroppo y Pereyra, 2009).

Normalmente los tratamientos con calor en frutas y hortalizas MP se aplican después de la etapa de corte, pero se ha visto que la aplicación de dichos tratamientos antes del corte podría mejorar la calidad del producto. Por ejemplo, Lamikanra and Watson (2007) observaron que la aplicación del tratamiento de calor (60 °C, 60 min) en melones antes de la etapa de corte produjo una reducción en actividad de la enzima lipasa. Además, los tratamientos con calor en la fruta u hortaliza entera se suelen aplicar con el objetivo de reducir la incidencia de enfermedades poscosecha causadas por mohos y levaduras (Usall et al., 2016) como por ejemplo *Botrytis cinerea* en tomates (Fallik et al., 2002) o *Penicillium expansum* en manzanas (Spadoni et al., 2015). Sin embargo, esos tratamientos pueden causar daños colaterales como por ejemplo el amarillamiento en el calabacín verde o pepino (El-hamahmy et al., 2017) o la alteración de la habilidad de los tejidos vegetales (defensa natural) para soportar el crecimiento de microorganismos (Stringer et al., 2007).

Los tratamientos con calor se pueden utilizar también para evitar el fenómeno de crecimiento conocido como “telescoping” (extensión de las hojas) en puerros y cebollas, el cual causa grandes pérdidas económicas ya que empeora su apariencia y en algunas ocasiones puede llegar incluso a causar la ruptura del envase (Cantwell et al., 2001; Tsouvaltzis et al., 2013, 2010, 2006). Además, ha sido utilizado para evitar el crecimiento de brotes en patatas y la curvatura geotrópica en espárragos (Hong et al., 2000).

4.2.5 Ultrasonidos

Los tratamientos térmicos son los métodos de conservación más habituales, pero pueden tener efectos negativos sobre el sabor y el valor nutricional de los alimentos, por tanto, se han desarrollado nuevos métodos no térmicos como los ultrasonidos (US) (Buniowska et al., 2017; Soria y Villamiel, 2010). La tecnología de ultrasonidos fue adoptada de la industria electrónica para descontaminar superficies y su uso ha sido recientemente recomendado como método de desinfección alternativo (Brilhante São José y Dantas Vanetti, 2012). Se considera una tecnología no-térmica “verde e innovadora” y además permite un ahorro de tiempo, agua y energía (Chemat et al., 2011). Los US que se suelen aplicar en la industria alimentaria presentan frecuencias que varían entre 20 y 100 kHz y requieren la presencia de un medio líquido para la transmisión de los mismos (Knorr et al., 2004; Ramos et al., 2013). Los US pueden ser aplicados en diferentes tipos de equipos como los baños de sonicación o los sistemas vibratorios los cuales pueden ser instalados en un proceso continuo (Barba et al., 2017). Las principales aplicaciones de los ultrasonidos en la industria alimentaria son la extracción de compuestos orgánicos, emulsificación/homogeneización, cristalización, filtración, separación, alteración de la viscosidad, antiespumante, extrusión, inactivación microbiana y enzimática, fermentación y transferencia térmica (Patist y Bates, 2008).

La efectividad de los US en medio líquido se debe al fenómeno de la cavitación (Soria y Villamiel, 2010). El fenómeno de la cavitación consiste en la generación de burbujas de gas las cuales crecen y colapsan después de varios ciclos de compresión y rarefacción (Figura 11). Una vez se produce el colapso y las burbujas implosionan, se forman ondas de choque las cuales generan altas temperaturas y presiones (5000 °C y 1000 atm) en la zona de cavitación con efectos estructurales en las proteínas y membranas pudiendo generar hasta una lisis celular (Cravotto y Binello, 2016; Soria y Villamiel, 2010). La frecuencia de los ultrasonidos es inversamente proporcional al tamaño de la burbuja. Por tanto, ultrasonidos con baja frecuencia producen grandes burbujas de cavitación generando altas temperaturas y presiones en la zona de cavitación. A medida que la frecuencia aumenta, la zona de cavitación se vuelve menos violenta (Patist y Bates, 2008).

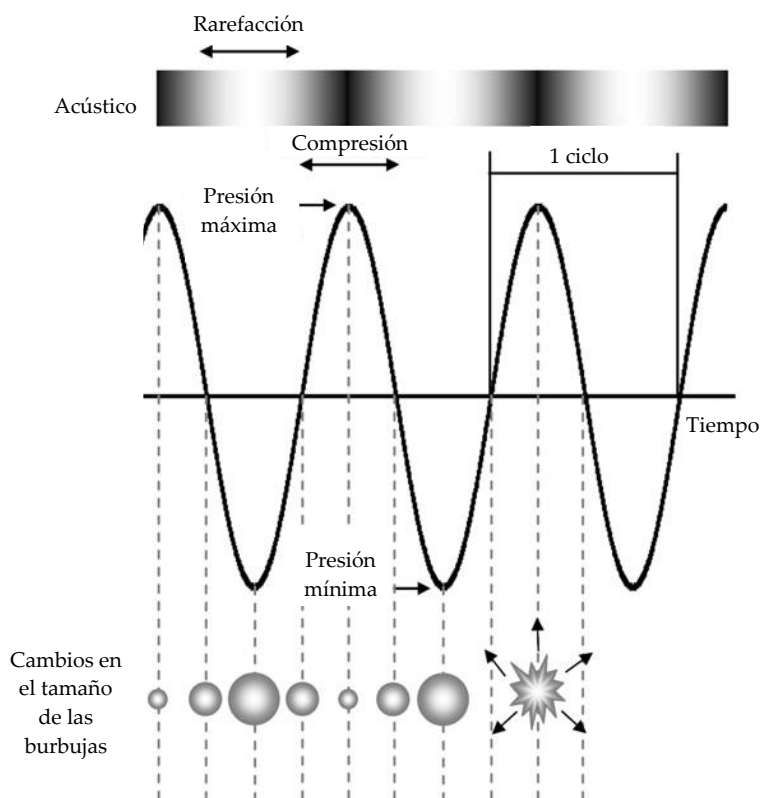


Figura 11. Cavitación ultrasónica (Imagen tomada y adaptada de Soria and Villamiel, 2010).

Los US por si solos no son lo suficientemente efectivos para reducir altos niveles de carga microbiana, eliminar esporas o inactivar enzimas y por esa razón se suelen combinar con desinfectantes acuosos (Ramos et al., 2013) o con presión y/o calor (manosonicación, termosonicación y manotermosonicación) (Chemat et al., 2011). Por ejemplo, la aplicación de ultrasonidos (32-40 kHz) junto con cloro (25 mg L⁻¹) durante 10 min produjo una reducción de 2,7 log ufc g⁻¹ en la población de *Salmonella Typhimurium* de las lechugas MP (Seymour et al., 2002).

Uno de los efectos negativos de los US es la formación de radicales hidróxilo (OH) los cuales pueden reaccionar con los compuestos bioactivos como los fenoles (Wan et al., 2005). Sin embargo, se puede aumentar la actividad antioxidante de otros compuestos como los flavonoides, aumentando el alcance de la hidroxilación. Estos efectos negativos se pueden evitar añadiendo compuestos antioxidantes como el ácido ascórbico (Ashokkumar et al., 2008). Los US se suelen utilizar junto con soluciones antipardeantes para facilitar el acceso de las soluciones dentro los tejidos internos (Jang y Moon, 2011). Al añadir el ácido ascórbico al medio de sonicación, se espera que este reaccione con la mayoría de los radicales hidroxilos, así disminuyendo la reacción entre los radicales y los compuestos alimentarios. Además, la presencia de ácido ascórbico puede reducir la hidroxilación de los fenoles (Ashokkumar et al., 2008). En el estudio realizado por Putnik et al. (2017a), la combinación de ultrasonidos con tratamientos antipardeantes (ácido ascórbico + ácido cítrico; ascorbato cálcico) no tuvo efecto sobre el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de las manzanas MP envasadas en MAP.

Por otro lado, la influencia del gas en la intensidad de la inactivación enzimática ha sido relacionada con la formación de radicales libres. Generalmente, los US combinados con otros tratamientos son más eficaces a la hora de inactivar enzimas (Chemat et al., 2011). En el estudio realizado por Santos et al. (2015) los resultados obtenidos para PME y PG demostraron que las actividades fueron estimuladas por los US y su incremento pudo ser directamente relacionado con la pérdida de firmeza observada en los mangos MP tratados con US. Además, la actividad de la enzima PAL fue estimulada por el tratamiento con US y continuó aumentando hasta después del almacenamiento. Los cambios de presión producidos por las implosiones son el mayor efecto bactericida de los ultrasonidos. La inactivación de microorganismos mediante US se debe al daño en el ADN producido por los radicales libres y depende de varios factores: amplitud de las ondas ultrasónicas, exposición o tiempo de contacto, volumen de alimento procesado, composición del alimento y la temperatura de tratamiento (Piyasena et al., 2003). El efecto del tiempo en la inactivación microbiana se estudió en el trabajo realizado por Muzaffar et al. (2016), donde observaron que el menor recuento total de bacterias, mohos y levaduras se dio en aquellas cerezas enteras tratadas con US durante 40 min. Sin embargo, el tiempo de exposición tan largo no ayudó a alargar la vida útil del producto ya que los recuentos eran comparablemente mayores que en las muestras tratadas durante menos de 40 min. El efecto de la densidad de potencia ($W L^{-1}$) se estudió en el trabajo realizado por Wang et al. (2015), donde observaron que el número de microorganismos en los tomates cherry enteros era reducido significativamente por todos los tratamientos US comparando con el control a día 0, y disminuía a medida que aumentaba la densidad de potencia de los US. Además de estos factores, se debe tener en cuenta el tipo (Gram + son más resistentes), tamaño (las células pequeñas son más resistentes), forma (los cocos son más resistentes) o metabolismo celular (los aeróbicos son más resistentes) del microorganismo que se desea inactivar (Chemat et al., 2011; Jang y Moon, 2011). Los ultrasonidos son efectivos también contra las células vegetativas y esporas (Pareek, 2017).

4.3 Biológicos

Este método es conocido como bioconservación y consiste en la extensión de la vida útil y la mejora de la seguridad alimentaria (Ramos et al., 2013) mediante el uso de microorganismos antagonistas o sus productos metabólicos para inhibir o destruir microorganismos indeseados en los alimentos (Schillinger et al., 1996). Los microorganismos no patógenos (p.ej, microorganismos epifitos o bacterias ácido lácticas) ejercen su función ocupando el mismo nicho que los patógenos (compitiendo con los patógenos por el espacio físico y los nutrientes), produciendo sustancias antimicrobianas, y en el caso de algunas bacterias, en concreto las probióticas, también pueden

actuar a nivel de intestino impidiendo que los patógenos se adhieran e invadan los enterocitos y activando una respuesta inmunitaria como barrera defensiva contra los patógenos (Fliss et al., 2011; Parish et al., 2003; Sharma et al., 2009). Este método puede ser una alternativa a los tratamientos químicos ya que aumenta la seguridad, la vida útil y la calidad de las frutas y hortalizas MP (Abadias et al., 2009). Los agentes de biocontrol han sido utilizados solos o en combinación con envasado en atmósfera modificada, compuestos antimicrobianos naturales, radiación gamma, agentes reductores y tratamientos térmicos (Siroli et al., 2015a). La combinación de sales (p.ej., cloruro de calcio o carbonato sódico) y microorganismos antagonistas ha dado buenos resultados en el control de enfermedades poscosecha en frutas y hortalizas (Sharma et al., 2009).

4.3.1 Microbiota nativa o epífita

El uso de la microbiota nativa podría ser una gran alternativa al uso del cloro para la reducción del crecimiento y supervivencia de los patógenos en frutas y hortalizas (Siroli et al., 2015b). Los antagonistas naturales son aquellos que están presentes en la superficie de frutas y hortalizas, y después del aislamiento, se utilizan para el control de enfermedades poscosecha (Sharma et al., 2009). Es sabido que la microbiota nativa de las frutas y hortalizas frescas es capaz de inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos (Nguyen-the y Carlin, 1994) mediante la competición o antibiosis funcionando como una barrera al crecimiento y supervivencia del patógeno (Alegre et al., 2013b). Estos organismos tienen la ventaja de ser parte de la microbiota no necesitando una adaptación al medio lo que facilita su colonización y supervivencia cuando se añaden en cantidades adecuadas (Leverentz et al., 2006). Por tanto, debería ser posible encontrar microorganismos específicos dentro de la microbiota nativa los cuales presenten dichas características (Alegre et al., 2013b). La microbiota presente en la mayoría de las hortalizas está formada principalmente por bacterias Gram-negativas del género *Pseudomonas*, mientras que en las frutas frescas las predominantes son las levaduras y los mohos (Qadri et al., 2015). Algunas bacterias, como las del género *Pseudomonas*, así como algunas levaduras han sido identificadas y comercializadas para el control de enfermedades poscosecha causadas por mohos en frutas (Janisiewicz y Korsten, 2002). La mayoría de los estudios están centrados en los aspectos microbiológicos y muy pocos en los aspectos nutricionales, enzimáticos o antioxidantes (Plaza et al., 2016).

La cepa CPA-7 de *Pseudomonas graminis* (patente EP2886665) es un bacilo aerobio epífita el cual fue aislado de la piel de manzana entera (Alegre et al., 2013b). Se ha demostrado que esta cepa es capaz de inhibir el crecimiento de patógenos de transmisión alimentaria como *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* O157:H7 en diferentes tipos de frutas MP (Abadias et al., 2014; Alegre et al., 2013a, 2013b, Collazo et al., 2017a, 2017b; Iglesias et al., 2018). Sin embargo, su efectividad varía dependiendo del patógeno, condiciones de conservación y matriz alimentaria (Collazo et al., 2017a). Además, se ha observado que su aplicación no afecta a la calidad físico-química y nutricional del melón MP (Abadias et al., 2014; Plaza et al., 2016) y manzana MP (Collazo et al., 2018).

4.3.2 Bacterias ácido lácticas

Las bacterias ácido lácticas son un grupo muy diverso de bacterias Gram-positivas ácido-tolerantes las cuales se caracterizan por la producción de ácido láctico como producto final (Ruiz-Rodríguez, L. Bleckwedel et al., 2017). Las bacterias ácido lácticas han sido propuestas como

microorganismos antagonistas y son generalmente reconocidas como seguras (GRAS) por la FDA (Iglesias et al., 2017b). La habilidad de conservación de las bacterias ácido lácticas se debe a varios mecanismos de acción y están principalmente relacionados con la secreción de compuestos antimicrobianos como los ácidos orgánicos, peróxido de hidrogeno, bacteriocinas (péptidos antimicrobianos) y diacetil. Además, existe una competencia por nutrientes y espacio con los microorganismos patógenos y alterantes (Hossain et al., 2017; Siroli et al., 2015a).

A parte de su acción conservante, algunas de estas bacterias ácido lácticas como por ejemplo las del género *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* pueden presentar una actividad probiótica. Los microorganismos probióticos se definen como “microorganismos vivos los cuales cuando se administran en cantidades adecuadas confieren efectos saludables para el huésped” (FAO/WHO, 2002). Además, estos microorganismos tienen que sobrevivir al tracto gastrointestinal superior y llegar vivos al lugar de acción (Saarela et al., 2000). La eficacia de los probióticos ha sido demostrada para el tratamiento de enfermedades intestinales, infecciones respiratorias y síntomas alérgicos. Sin embargo, la eficacia mostrada para algunas cepas no tiene por qué darse en otras (Flores-Andrade et al., 2017; Wohlgemuth et al., 2010). Los alimentos probióticos deben contener un mínimo de 10^7 - 10^8 ufc g^{-1} para que produzcan efectos beneficiosos sobre la salud (Champagne et al., 2011), aunque estas concentraciones son difíciles de mantener a lo largo del tracto intestinal ya que las bacterias ácido lácticas son muy sensibles a las condiciones gastrointestinales humanas (Rivera-Espinoza y Gallardo-Navarro, 2010) y a los factores involucrados en la transformación del alimento (Huerta-Vera et al., 2017). Además, la viabilidad del probiótico en el alimento se puede ver afectada por el pH, la temperatura de almacenamiento, la presencia de microorganismos competitivos y sustancias inhibidoras (p.ej., NaCl) (Saarela et al., 2000).

Las frutas y hortalizas enriquecidas con bacterias probióticas son consideradas una alternativa prometedora a los productos probióticos lácteos ya que pueden cubrir las necesidades de ciertos grupos de la población como los vegetarianos o veganos, intolerantes a la lactosa o alérgicos a las proteínas animales (Gupta y Abu-Ghannam, 2012). Estas bacterias pueden ser añadidas a las frutas y hortalizas mediante inmersión o impregnación a vacío, o microencapsulación y posterior adición (Martins et al., 2013).

Numerosos estudios realizados estos últimos años han evaluado el efecto de las bacterias ácido lácticas sobre el crecimiento de microorganismos patógenos y alterantes en frutas MP. Por ejemplo, Iglesias et al. (2017a) demostraron el efecto antagonista del *Lactobacillus rhamnosus* GG frente a *Salmonella* spp. y *Listeria monocytogenes* en pera MP. Cabe destacar que existen muy pocos estudios donde se analice el efecto de estos microorganismos sobre la calidad física, química y nutricional de las frutas y hortalizas MP. Por ejemplo, Russo et al. (2014) y Russo et al. (2015) estudiaron el efecto de la adición de *Lactobacillus plantarum* B2 y *Lactobacillus fermentum* PBCC11.5 sobre parámetros físicos, químicos y nutricionales como el color o la actividad antioxidante de la piña MP y del melón cantalupo MP, respectivamente. Además, Rößle et al. (2010) observaron que las propiedades físico-químicas y la evaluación sensorial no fueron fuertemente influenciadas por la inmersión de manzanas MP en una solución probiótica que contenía *Lactobacillus rhamnosus* GG.

Es muy importante que estos microorganismos presenten características industriales deseables, como bajo coste, mantenimiento de la viabilidad durante el procesado y almacenamiento, facilidad de aplicación en los productos y resistencia al procesado físico-químico del alimento (Prado et al., 2008).

4.4 Combinación de métodos desinfectantes

La mayoría de los métodos químicos, físicos y biológicos descritos previamente tienen una baja efectividad antimicrobiana cuando se aplican por separado. Por tanto, estos métodos se deben combinar para aumentar su eficacia antimicrobiana. Además, si se combinan con cloro ayudan a reducir la cantidad de cloro utilizada (Meireles et al., 2016). La combinación de desinfectantes y/u otros métodos pueden tener un efecto aditivo, sinérgico o antagonista. El concepto de utilizar múltiples métodos de intervención es análogo a la tecnología de obstáculos/barreras (“hurdle technology”) donde dos o más tecnologías de conservación son utilizadas para prevenir el crecimiento de microorganismos y mantener la calidad sensorial en los alimentos (Parish et al., 2003). El objetivo de esta tecnología es “atacar” al microorganismo por diferentes vías, consiguiendo una gran reducción en la contaminación (Goodburn y Wallace, 2013). Las barreras más importantes habitualmente utilizadas en la conservación de alimentos están basadas en el control de temperatura, actividad de agua, acidez, potencial redox y el uso de conservantes, atmósfera modificada o microorganismos competitivos (Leistner, 1999). Un ejemplo de esta tecnología es el estudio realizado por Silveira et al. (2011), donde se analizó el efecto de la combinación de baños de agua caliente (60 °C, 60-120 s) con PAA (80 mg L⁻¹) sobre la actividad metabólica, calidad microbiológica y sensorial del melón Galia MP.

5. Bioaccesibilidad de compuestos bioactivos

La digestión es un proceso fisiológico el cual permite la extracción de macronutrientes (p. ej., carbohidratos, proteínas), sus respectivas bases unitarias (p. ej., monosacáridos, aminoácidos), micronutrientes (p. ej., vitaminas y minerales, como Zn, Fe y Na) y fitoquímicos (p. ej., polifenoles) de la matriz alimentaria, para su posterior absorción (Bouayed et al., 2012). Por tanto, a la hora de evaluar la actividad biológica de una fruta u hortaliza es mucho más importante conocer la fracción potencialmente disponible de esos compuestos para la futura absorción intestinal que la cuantificación de dichos compuestos en la matriz alimentaria (Carbonell-Capella et al., 2014; Fernández-Jalao et al., 2017).

Asimismo, la fracción de los compuestos que se libera de la matriz alimentaria durante la digestión y se vuelve disponible para la absorción en el intestino delgado se define como **fracción bioaccesible**; por otro lado, la fracción de los compuestos que es absorbida, distribuida por el sistema circulatorio y sometida al metabolismo y eliminación se refiere a la **fracción biodisponible** (Ribas-Agustí et al., 2017). La información disponible sobre el contenido de nutrientes y compuestos bioactivos de los alimentos en las bases de datos podría estar sobreestimada ya que no se tiene en cuenta la bioaccesibilidad ni la biodisponibilidad de los mismos (Barba et al., 2017).

La biodisponibilidad se suele estimar mediante un análisis *in vivo* de los metabolitos en sangre y/u orina, mientras que la bioaccesibilidad se evalúa mediante metodologías *in vitro* las cuales estiman la cantidad de compuestos disponibles para la absorción intestinal (Carbonell-Capella et al., 2014). En la investigación alimentaria es muy común el estudio de la bioaccesibilidad mediante la digestión *in vitro* simulada como estimación de la biodisponibilidad de los compuestos (Motilva et al., 2015). Los métodos *in vitro* son rápidos, seguros y no presentan restricciones como los métodos *in vivo*. El proceso de digestión es simulado bajo condiciones controladas utilizando enzimas digestivas comerciales (p.ej., amilasa, pepsina o pancreatina) mientras que el proceso de absorción final es habitualmente llevado a cabo mediante diálisis o el uso de células Caco-2 (Parada y Aguilera, 2007). El gran problema u obstáculo de hoy en día es la gran diversidad de modelos

existentes los cuales dificultan la comparación de resultados entre diferentes estudios, y aumenta la probabilidad de dar con resultados contradictorios (Alminger et al., 2014; Guerra et al., 2012).

Los métodos *in vitro* a su vez se dividen en estáticos y dinámicos. En el caso de los métodos **estáticos**, el producto de digestión permanece inmóvil y no se tienen en cuenta respuestas fisiológicas dinámicas a la introducción del bolo alimenticio, como el aumento de pH y su consecuente bajada en el estómago, y la secreción de enzimas (Alminger et al., 2014). Comparado con los métodos estáticos, los **dinámicos** tienen la ventaja de que pueden simular los continuos cambios de las condiciones físico-químicas incluyendo variación de pH desde la boca hasta el estómago e intestino, alterando las concentraciones de secreción de las enzimas, y las fuerzas peristálticas en el tracto gastrointestinal (Alminger et al., 2014; Parada y Aguilera, 2007).

Los compuestos alimentarios están constantemente expuestos a diferentes condiciones físicas (temperatura), químicas (pH) y bioquímicas (enzimas) durante la digestión y en consecuencia, la bioaccesibilidad de los compuestos se puede ver afectada (Hur et al., 2011). Además, otros factores externos a la digestión como la matriz alimentaria, la madurez del fruto, la naturaleza del compuesto o el procesado del alimento pueden afectar o modificar la bioaccesibilidad de dichos compuestos. La bioaccesibilidad de los compuestos se puede ver afectada no solo por el tipo de matriz alimentaria si no que dentro del mismo grupo de alimentos puede haber una gran variabilidad. Estudios como el de Chen et al. (2014) donde se analizó el efecto de la digestión *in vitro* sobre los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de 33 frutas o el de Bouayed et al. (2012) donde se estudió el efecto de la digestión sobre los polifenoles de cuatro variedades de manzana, demuestran que dentro del grupo de las frutas e incluso entre variedades puede haber una gran variabilidad. Al mismo tiempo, la madurez del fruto puede influir en el contenido de nutrientes y compuestos los cuales serán utilizados por el organismo. Por ejemplo, Schulz et al. (2017) estudiaron el efecto de diferentes estados de madurez de la fruta “juçara” sobre la bioaccesibilidad de minerales, compuestos bioactivos y capacidad antioxidantes y concluyeron que el estado de madurez tuvo una influencia directa sobre la bioaccesibilidad de dichos compuestos.

Los compuestos lipofílicos (carotenoides y vitaminas liposolubles) e hidrofílicos (polifenoles y vitaminas hidrosolubles) se absorben de manera diferente (Barba et al., 2017). Por ejemplo, una parte de los compuestos fenólicos (polifenoles polimerizados y glucosilados) presentes en los alimentos se absorben en el intestino delgado gracias a la hidrólisis enzimática y el resto se modifican y absorben en el colon (Crozier et al., 2010). Los compuestos fenólicos son muy sensibles a las condiciones alcalinas del intestino delgado y una gran parte de esos compuestos se pueden transformar antes de la absorción (Bermúdez-Soto et al., 2007). Sin embargo, estudios realizados en pacientes con ileostomía y en cerdos han demostrado que la gran mayoría de los polifenoles (>90 %) pasan inalterados al colon y ahí son sometidos a una metabolización por parte de la microbiota, produciendo metabolitos bioactivos los cuales pueden cruzar la mucosa del colon y ser liberados en el plasma (Dufour et al., 2018).

Los tratamientos poscosecha pueden afectar a la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de los compuestos fenólicos como por ejemplo los tratamientos térmicos, la refrigeración o tratamientos no térmicos como los ultrasonidos. Las altas temperaturas que se utilizan en los tratamientos térmicos pueden promover modificaciones que pueden ser positivas para la biodisponibilidad. Entre esas modificaciones se encuentran por ejemplo la degradación o modificación de los polisacáridos y proteínas de la pared celular aumentando la extracción de los compuestos durante la digestión (Barba et al., 2017; Parada y Aguilera, 2007). Por ejemplo, Oliveira et al. (2018) observaron que el cocinado de las alubias produjo alteraciones en la biodisponibilidad y bioaccesibilidad de aminoácidos, vitaminas y minerales. En los estudios en los cuales se ha

analizado el efecto de la aplicación de ultrasonidos en frutas o verduras sobre la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos, se ha visto que las muestras tratadas presentaban mayores valores (Buniowska et al., 2017; Fonteles et al., 2016).

Finalmente, es muy importante tener en cuenta los efectos beneficiosos de los compuestos bioactivos en el sistema digestivo. Por ejemplo, la capacidad antioxidante de los compuestos no-absorbidos en el estómago o intestinos, ya que estos órganos están constantemente expuestos a especies reactivas de oxígeno (ROS) provenientes del estallido respiratorio de las células inmunitarias en respuesta a su activación por bacterias o toxinas (Halliwell et al., 2005).

6. Referencias

- 21CFR173, 2017. Chemicals used in washing or to assist peeling of fruits and vegetables, Code of Federal Regulations Title 21, Part 173, Section 173.315. https://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-id.x?SID=008c430ab2a3e322231cf02648629616&mc=true&node=se21.3.173_1315&rgn=div8
- 5 al día, 2016. Guía de Comunicación sobre Salud y Consumo de Frutas y Hortalizas. http://www.5aldia.org/datos/60/1496741082_GUIA_DE_COMUNICACION__SOBRE_SALUD.pdf
- Abadias, M., Alegre, I., Usall, J., Torres, R., Viñas, I., 2011. Evaluation of alternative sanitizers to chlorine disinfection for reducing foodborne pathogens in fresh-cut apple. *Postharvest Biol. Technol.* 59, 289-297. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.09.014>
- Abadias, M., Altisent, R., Usall, J., Torres, R., Oliveira, M., Viñas, I., 2014. Biopreservation of fresh-cut melon using the strain *Pseudomonas graminis* CPA-7. *Postharvest Biol. Technol.* 96, 69-77. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.05.010>
- Abadias, M., Usall, J., Alegre, I., Torres, R., Viñas, I., 2009. Fate of *Escherichia coli* in apple and reduction of its growth using the postharvest biocontrol agent *Candida sake* CPA-1. *J. Sci. Food Agric.* 89, 1526-1533. <https://doi.org/10.1002/jfsa.3619>
- Abreu, M., Beirão-da-Costa, S., Gonçalves, E.M., Beirão-da-Costa, M.L., Moldão-Martins, M., 2003. Use of mild heat pre-treatments for quality retention of fresh-cut "Rocha" pear. *Postharvest Biol. Technol.* 30, 153-160. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(03\)00105-4](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(03)00105-4)
- AESAN, 2011. ¿Cuál es la legislación reguladora de los productos de IV Gama? <http://www.aecosan.msssi.gob.es/SIAC-WEB/pregunta.do?jsessionid=hNcPWRmby1R1cgqw7xpTqhJTsZcqNsQ4hKznnQTT518ktZpJyhxS!2003377714?reqCode=retrieve&bean.id=663>
- Aguayo, E., Escalona, V.H., Artés, F., 2008. Effect of hot water treatment and various calcium salts on quality of fresh-cut 'Amarillo' melon. *Postharvest Biol. Technol.* 47, 397-406. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.08.001>
- Ajlouni, S., Sibrani, H., Premier, R., Tomkins, B., 2006. Ultrasonication and fresh produce (Cos lettuce) preservation. *J. Food Sci.* 71, 62-M68. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.tb08909.x>
- Akbas, M., Ölmez, H., 2007. Effectiveness of organic acid, ozonated water and chlorine dippings on microbial reduction and storage quality of fresh-cut iceberg lettuce. *J. Sci. Food Agric.* 87,

2609-2616.

- Alandes, L., Hernando, I., Quiles, A., Pérez-Munuera, I., Lluch, M.A., 2006. Cell wall stability of fresh-cut fuji apples treated with calcium lactate. *J. Food Sci.* 71. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00180.x>
- Alandes, L., Pérez-Munuera, I., Llorca, E., Quiles, A., Hernando, I., 2009. Use of calcium lactate to improve structure of "Flor de Invierno" fresh-cut pears. *Postharvest Biol. Technol.* 53, 145-151. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.03.006>
- Alegre, I., Viñas, I., Usall, J., Anguera, M., Altisent, R., Abadias, M., 2013a. Antagonistic effect of *Pseudomonas graminis* CPA-7 against foodborne pathogens in fresh-cut apples under simulated commercial conditions. *Food Microbiol.* 33, 139-48. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.09.007>
- Alegre, I., Viñas, I., Usall, J., Teixidó, N., Figge, M.J., Abadias, M., 2013b. Control of foodborne pathogens on fresh-cut fruit by a novel strain of *Pseudomonas graminis*. *Food Microbiol.* 34, 390-9. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.01.013>
- Alegria, C., Pinheiro, J., Duthoit, M., Gonçalves, E.M., Moldão-Martins, M., Abreu, M., 2012. Fresh-cut carrot (cv. Nantes) quality as affected by abiotic stress (heat shock and UV-C irradiation) pre-treatments. *LWT - Food Sci. Technol.* 48, 197-203. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.03.013>
- Alegria, C., Pinheiro, J., Gonçalves, E.M., Fernandes, I., Moldão, M., Abreu, M., 2009. Quality attributes of shredded carrot (*Daucus carota* L. cv. Nantes) as affected by alternative decontamination processes to chlorine. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 10, 61-69. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2008.08.006>
- Ali, H.M., El-Gizawy, A.M., El-Bassiouny, R.E.I., Saleh, M.A., 2015. Browning inhibition mechanisms by cysteine, ascorbic acid and citric acid, and identifying PPO-catechol-cysteine reaction products. *J. Food Sci. Technol.* 52, 3651-3659. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1437-0>
- Ali, S., Khan, A.S., Malik, A.U., Shahid, M., 2016. Effect of controlled atmosphere storage on pericarp browning, bioactive compounds and antioxidant enzymes of litchi fruits. *Food Chem.* 206, 18-29. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.021>
- Allende, A., Aguayo, E., Artés, F., 2004. Microbial and sensory quality of commercial fresh processed red lettuce throughout the production chain and shelf life. *Int. J. Food Microbiol.* 91, 109-117. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00373-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00373-8)
- Allende, A., McEvoy, J., Tao, Y., Luo, Y., 2009. Antimicrobial effect of acidified sodium chlorite, sodium chlorite, sodium hypochlorite, and citric acid on *Escherichia coli* O157:H7 and natural microflora of fresh-cut cilantro. *Food Control* 20, 230-234. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.05.009>
- Allende, A., Tomás-Barberán, F.A., Gil, M.I., 2006. Minimal processing for healthy traditional foods. *Trends Food Sci. Technol.* 17, 513-519. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.04.005>
- Alminger, M., Aura, A.-M., Bohn, T., Dufour, C., El, S.N., Gomes, A., Karakaya, S., Martínez-Cuesta, M.C., McDougall, G.J., Requena, T., Santos, C.N., 2014. *In vitro* models for studying secondary plant metabolite digestion and bioaccessibility. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*

13, 413-436. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12081>

- Alzetta, C., 2014. Potential roles of polyphenol oxidase in apples tissues: effects on microbial growth and antioxidant capacity. Università degli Studi di Udine.
- Anino, S. V., Salvatori, D.M., Alzamora, S.M., 2006. Changes in calcium level and mechanical properties of apple tissue due to impregnation with calcium salts. *Food Res. Int.* 39, 154-164. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.07.003>
- Ansah, F.A., Amodio, M.L., Colelli, G., 2018. Quality of fresh-cut products as affected by harvest and postharvest operations. *J. Sci. Food Agric.* <https://doi.org/10.1002/jsfa.8885>
- Anurag, R.K., Manjunatha, M., Jha, S.N., Kumari, L., 2016. Storage quality of shelled green peas under modified atmosphere packaging at different storage conditions. *J. Food Sci. Technol.* 53, 1640-1648. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2066-y>
- Arias, E., González, J., López-Buesa, P., Oria, R., 2008. Optimization of processing of fresh-cut pear. *J. Sci. Food Agric.* 88. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3276>
- Arias, E., González, J., Oria, R., Lopez-Buesa, P., 2007. Ascorbic acid and 4-hexylresorcinol effects on pear PPO and PPO catalyzed browning reaction. *J. Food Sci.* 72. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00484.x>
- Artés-Hernández, F., Martínez-Hernández, G.B., Aguayo, E., Gómez, P.A., Artés, F., 2017. Fresh-cut fruit and vegetables: Emerging Eco-friendly techniques for sanitation and preserving safety, en: Kahramanoglu, I. (Ed.), *Postharvest Handling*. INTECH. <https://doi.org/10.5772/intechopen.69476>
- Artés, F., Allende, A., 2014. Minimal processing of fresh fruit, vegetables, and juices. *Emerg. Technol. Food Process.* 583-597. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411479-1.00031-0>
- Artés, F., Gómez, P., Aguayo, E., Escalona, V., Artés-Hernández, F., 2009. Sustainable sanitation techniques for keeping quality and safety of fresh-cut plant commodities. *Postharvest Biol. Technol.* 51, 287-296. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.10.003>
- Artés, F., Gómez, P., Artés-Hernández, F., Aguayo, E., Escalona, V., 2007. Improved strategies for keeping overall quality of fresh-cut produce. *Acta Hort.* 746, 245-258. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2007.746.27>
- Artés, F., Gómez, P., Tomás-Calleja, A., Artés-Hernández, F., 2011. Sanitation of fresh-cut fruit and vegetables: new trends, methods and impacts., en: McMann, J. (Ed.), *Potable Water and Sanitation*. NovaScience, New York, USA, pp. 1-36.
- Ashokkumar, M., Sunartio, D., Kentish, S., Mawson, R., Simons, L., Vilkh, K., Versteeg, C. (Kees), 2008. Modification of food ingredients by ultrasound to improve functionality: A preliminary study on a model system. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 9, 155-160. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.05.005>
- Bahram-Parvar, M., Lim, L.-T., 2018. Fresh-cut onion: A review on processing, health benefits, and shelf-life. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 0. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12331>
- Bai, J., Saftner, R.A., Watada, A.E., 2003. Characteristics of fresh-cut honeydew (*Cucumis x melo* L.)

- available to processors in winter and summer and its quality maintenance by modified atmosphere packaging. *Postharvest Biol. Technol.* 28, 349-359. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(02\)00209-0](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(02)00209-0)
- Baldwin, E.A., Scott, J.W., Shewmaker, C.K., Schuch, W., 2000. Flavor trivia and tomato aroma: Biochemistry and possible mechanisms for control of important aroma components. *HortScience* 35, 1013-1022. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199909\)79:12<1583::AID-JSFA405>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199909)79:12<1583::AID-JSFA405>3.0.CO;2-J)
- Bansal, V., Siddiqui, M.W., Rahman, M.S., 2015. Minimally processed foods: overview, en: Siddiqui, M.W., Rahman, M.S. (Eds.), *Minimally processed foods: Technologies for safety, quality and convenience*. Springer, Switzerland, pp. 1-16.
- Barba, F.J., Mariutti, L.R.B., Bragagnolo, N., Mercadante, A.Z., Barbosa-Cánovas, G. V., Orlie, V., 2017. Bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables after thermal and nonthermal processing. *Trends Food Sci. Technol.* 67, 195-206. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.07.006>
- Barrett, D.M., Beaulieu, J.C., Shewfelt, R., 2010. Color, flavor, texture, and nutritional quality of fresh-cut fruits and vegetables: Desirable levels, instrumental and sensory measurement, and the effects of processing. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 50, 369-389. <https://doi.org/10.1080/10408391003626322>
- Beaulieu, J.C., Gorny, J.R., 2016. Fresh-cut fruits, en: Gross, K.C., Wang, C.Y., Saltveit, M. (Eds.), *The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks*. Agricultural Research Service. USDA., Beltsville, MD, pp. 604-624.
- Beaulieu, J.C., Lancaster, V.A., 2007. Correlating volatile compounds, sensory attributes, and quality parameters in stored fresh-cut cantaloupe. *J. Agric. Food Chem.* 55, 9503-9513. <https://doi.org/10.1021/jf070282n>
- Beaulieu, J.C., Lea, J.M., 2003. Volatile and quality changes in fresh-cut mangos prepared from firm-ripe and soft-ripe fruit, stored in clamshell containers and passive MAP. *Postharvest Biol. Technol.* 30, 15-28. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(03\)00081-4](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(03)00081-4)
- BEDCA, 2007. Base de Datos Española de Composición de Alimentos. <http://www.bedca.net/bdpub/index.php>
- Bekele, E.A., Ampofo-Asiama, J., Alis, R.R., Hertog, M.L.A.T.M., Nicolai, B.M., Geeraerd, A.H., 2016. Dynamics of metabolic adaptation during initiation of controlled atmosphere storage of 'Jonagold' apple: Effects of storage gas concentrations and conditioning. *Postharvest Biol. Technol.* 117, 9-20. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.02.003>
- Belay, Z.A., Caleb, O.J., Opara, U.L., 2016. Modelling approaches for designing and evaluating the performance of modified atmosphere packaging (MAP) systems for fresh produce: A review. *Food Packag. Shelf Life* 10, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2016.08.001>
- Belge, B., Goulao, L.F., Comabella, E., Graell, J., Lara, I., 2017. Refrigerated storage and calcium dips of ripe 'Celeste' sweet cherry fruit: Combined effects on cell wall metabolism. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 219, 182-190. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.02.039>
- Beltrán, D., Selma, M. V., Tudela, J.A., Gil, M.I., 2005. Effect of different sanitizers on microbial and sensory quality of fresh-cut potato strips stored under modified atmosphere or vacuum

- packaging. Postharvest Biol. Technol. 37, 37-46.
<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.02.010>
- Benen, J.A.E., Visser, J., 2003. Polygalacturonases, en: Whitaker, J.R., Voragen, A.G.J., Wong, D.W. (Eds.), Handbook of food enzymology. Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 857-866.
- Bermúdez-Aguirre, D., Barbosa-Cánovas, G. V., 2013. Disinfection of selected vegetables under nonthermal treatments: Chlorine, acid citric, ultraviolet light and ozone. Food Control 29, 82-90. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.05.073>
- Bermúdez-Soto, M.-J., Tomás-Barberán, F.-A., García-Conesa, M.-T., 2007. Stability of polyphenols in chokeberry (*Aronia melanocarpa*) subjected to *in vitro* gastric and pancreatic digestion. Food Chem. 102, 865-874. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.025>
- Bernaert, N., De Clercq, H., Van Bockstaele, E., De Loose, M., Van Droogenbroeck, B., 2013. Antioxidant changes during postharvest processing and storage of leek (*Allium ampeloprasum* var. *porrum*). Postharvest Biol. Technol. 86, 8-16. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.06.010>
- Bett, K.L., Ingram, D.A., Grimm, C.C., Lloyd, S.W., Spanier, A.M., Miller, J.M., Gross, K.C., Baldwin, E.A., Vinyard, B.T., 2001. Flavor of fresh-cut Gala apples in barrier film packaging as affected by storage time. J. Food Qual. 24, 141-156.
- Beuchat, L., 2000. Use of sanitizers in raw fruit and vegetable processing, en: Alzamora, S.M., Tapia, M.S., Lopez-Malo, A. (Eds.), Minimally Processed Fruit and Vegetables. Springer, Aspen, Maryland, pp. 63-78.
- Bhagwat, A.A., Saftner, R.A., Abbott, J.A., 2004. Evaluation of wash treatments for survival of foodborne pathogens and maintenance of quality characteristics of fresh-cut apple slices. Food Microbiol. 21, 319-326. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2003.08.001>
- Bouayed, J., Deußer, H., Hoffmann, L., Bohn, T., 2012. Bioaccessible and dialysable polyphenols in selected apple varieties following *in vitro* digestion vs. their native patterns. Food Chem. 131, 1466-1472. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.030>
- Brahem, M., Renard, C.M.G.C., Eder, S., Loonis, M., Ouni, R., Mars, M., Le Bourvellec, C., 2017. Characterization and quantification of fruit phenolic compounds of European and Tunisian pear cultivars. Food Res. Int. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.03.002>
- Brilhante São José, J.F., Dantas Vanetti, M.C., 2012. Effect of ultrasound and commercial sanitizers in removing natural contaminants and *Salmonella enterica* Typhimurium on cherry tomatoes. Food Control 24, 95-99. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.09.008>
- Buniowska, M., Carbonell-Capella, J.M., Frigola, A., Esteve, M.J., 2017. Bioaccessibility of bioactive compounds after non-thermal processing of an exotic fruit juice blend sweetened with Stevia rebaudiana. Food Chem. 221, 1834-1842. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.093>
- Caleb, O.J., Fawole, O.A., Mphahlele, R.R., Opara, U.L., 2015. Impact of preharvest and postharvest factors on changes in volatile compounds of pomegranate fruit and minimally processed arils - Review. Sci. Hortic. (Amsterdam). 188, 106-114. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.03.025>

- Caleb, O.J., Mahajan, P. V., Al-Said, F.A.J., Opara, U.L., 2013. Modified atmosphere packaging technology of fresh and fresh-cut produce and the microbial consequences-A review. *Food Bioprocess Technol.* 6, 303-329. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0932-4>
- Campos-Vargas, R., Nonogaki, H., Suslow, T., Saltveit, M.E., 2005. Heat shock treatments delay the increase in wound-induced phenylalanine ammonia-lyase activity by altering its expression, not its induction in Romaine lettuce (*Lactuca sativa*) tissue. *Physiol. Plant.* 123, 82-91. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2005.00446.x>
- Cantos, E., Tudela, J.A., Gil, M.I., Espín, J.C., 2002. Phenolic compounds and related enzymes are not rate-limiting in browning development of fresh-cut potatoes. *J. Agric. Food Chem* 50, 3015-3023. <https://doi.org/10.1021/jf0116350>
- Cantwell, M., Rovelo, J., Nie, X., Rubatzkiy, V., 1996. Speciality salad greens: Postharvest physiology and shelf-life. *Acta Hortic.* 467, 371-378. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1998.467.42>
- Cantwell, M.I., Hong, G., Suslow, T. V., 2001. Heat treatments control extension growth and enhance microbial disinfection of minimally processed green onions. *HortScience* 36, 732-737.
- Cantwell, M.L., Suslow, T.V., 2002. Postharvest handling systems: Fresh-cut fruits and vegetables, en: Kader, A.A. (Ed.), *Postharvest technology of horticultural crops*. University of California, Agriculture and Natural Resources Publication, Richmond, pp. 445-465.
- Carbonell-Capella, J.M., Buniowska, M., Barba, F.J., Esteve, M.J., Frígola, A., 2014. Analytical methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables: A review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 13, 155-171. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12049>
- CECU. Los productos de IV gama. <http://cecu.es/campanas/alimentacion/4Gama.pdf>
- Chaisakdanugull, C., Theerakulkait, C., Wrolstad, R.E., 2007. Pineapple juice and its fractions in enzymatic browning inhibition of banana [*Musa* (AAA group) Gros Michel]. *J. Agric. Food Chem.* 55, 4252-4257. <https://doi.org/10.1021/jf0705724>
- Champagne, C.P., Ross, R.P., Saarela, M., Hansen, K.F., Charalampopoulos, D., 2011. Recommendations for the viability assessment of probiotics as concentrated cultures and in food matrices. *Int. J. Food Microbiol.* 149, 185-193. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.07.005>
- Chang, M.-S., Kim, G.-H., 2015. Combined effect of hot water dipping and vacuum packaging for maintaining the postharvest quality of peeled taro. *Hortic. Environ. Biotechnol.* 56, 662-668. <https://doi.org/10.1007/s13580-015-0018-0>
- Chemat, F., Zill-E-Huma, Khan, M.K., 2011. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrason. Sonochem.* 18, 813-835. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.11.023>
- Chen, G.-L., Chen, S.-G., Zhao, Y.-Y., Luo, C.-X., Li, J., Gao, Y.-Q., 2014. Total phenolic contents of 33 fruits and their antioxidant capacities before and after *in vitro* digestion. *Ind. Crops Prod.* 57, 150-157. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.03.018>

Introducción general

- Choi, J., Norwood, H., Seo, S., Sirsat, S.A., Neal, J., 2016. Evaluation of food safety related behaviors of retail and food service employees while handling fresh and fresh-cut leafy greens. *Food Control* 67, 199-208. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.02.044>
- Church, I.J., Parsons, A.L., 1995. Modified atmosphere packaging technology. *J. Sci. Food Agric.* 67, 143-153. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740670202>
- CNERNA-CNRS, 1996. Produits de la IV gamme, en: Jouve, J. (Ed.), *La qualité microbiologique des aliments (maîtrise et critères)*. Polytechnica, Paris, pp. 73-98.
- Cocci, E., Rocculi, P., Romani, S., Dalla Rosa, M., 2006. Changes in nutritional properties of minimally processed apples during storage. *Postharvest Biol. Technol.* 39, 265-271. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.12.001>
- Colás-Medà, P., Abadias, M., Alegre, I., Usall, J., Viñas, I., 2015. Effect of ripeness stage during processing on *Listeria monocytogenes* growth on fresh-cut "Conference" pears. *Food Microbiol.* 49, 116-122. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.01.019>
- Colás-Medà, P., Abadias, M., Altisent, R., Alegre, I., Plaza, L., Gilabert, V., Lacomba, R., Viñas, I., 2016. Development of a fresh-cut product based on pears and the subsequent evaluation of Its shelf life under commercial conditions and after a cold chain break. *J. Food Nutr. Res.* 4, 582-591. <https://doi.org/10.12691/jfmr-4-9-4>
- Collazo, C., Abadias, M., Aguiló-Aguayo, I., Alegre, I., Chenoll, E., Viñas, I., 2017a. Studies on the biocontrol mechanisms of *Pseudomonas graminis* strain CPA-7 against food-borne pathogens in vitro and on fresh-cut melon. *LWT - Food Sci. Technol.* 85, 301-308. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.02.029>
- Collazo, C., Abadias, M., Colás-Medà, P., Iglesias, M.B., Granado-Serrano, A.B., Serrano, J., Viñas, I., 2017b. Effect of *Pseudomonas graminis* strain CPA-7 on the ability of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* subsp. *enterica* to colonize Caco-2 cells after pre-incubation on fresh-cut pear. *Int. J. Food Microbiol.* 262, 55-62. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.09.003>
- Collazo, C., Giné-Bordonaba, J., Aguiló-Aguayo, I., Povedano, I., Bademunt, A., Viñas, I., 2018. *Pseudomonas graminis* strain CPA-7 differentially modulates the oxidative response in fresh-cut 'Golden delicious' apple depending on the storage conditions. *Postharvest Biol. Technol.* 138, 46-55. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.12.013>
- Contini, C., Romano, C., Scozzafava, G., Casini, L., 2016. Food habits and the increase in ready-to-eat and easy-to-prepare products, en: Kotzekidou, P. (Ed.), *Food Hygiene and Toxicology in Ready-to-Eat Foods*. Academic Press, London, UK, pp. 3-14.
- Cortellino, G., Gobbi, S., Bianchi, G., Rizzolo, A., 2015a. Modified atmosphere packaging for shelf life extension of fresh-cut apples. *Trends Food Sci. Technol.* 46, 320-330. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.06.002>
- Cortellino, G., Gobbi, S., Bianchi, G., Rizzolo, A., 2015b. Modified atmosphere packaging for shelf life extension of fresh-cut apples. *Trends Food Sci. Technol.* 46, 320-330. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.06.002>
- Cortellino, G., Piazza, L., Spinelli, L., Torricelli, A., Rizzolo, A., 2017. Influence of maturity degree, modified atmosphere and anti-browning dipping on texture changes kinetics of fresh-cut apples. *Postharvest Biol. Technol.* 124, 137-146.

<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.08.008>

- Cravotto, G., Binello, A., 2016. Low-frequency, high-power ultrasonic-assisted food component extraction, en: Knoerzer, K., Juliano, P., Smithers, G. (Eds.), Innovative food processing techniques. WoodHead Publishing Limited, Cambridge.
- Crozier, A., Del Rio, D., Clifford, M., 2010. Bioavailability of dietary flavonoids and phenolic compounds. *Mol. Aspects Med.* 31, 446-467.
- Cybulska, J., Zdunek, A., Konstankiewicz, K., 2011. Calcium effect on mechanical properties of model cell walls and apple tissue. *J. Food Eng.* 102, 217-223. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.08.019>
- da Silva, T.L., Aguiar-Oliveira, E., Mazalli, M.R., Kamimura, E.S., Maldonado, R.R., 2017. Comparison between titrimetric and spectrophotometric methods for quantification of vitamin C. *Food Chem.* 224, 92-96. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.12.052>
- DARPA, 2017a. Actualizació collita de poma y pera de Catalunya 2017. http://agricultura.gencat.cat/web/.content/de_departament/de02_estadistiques_observatori/s08_observatori_sectorials/03_observatori_de_la_fruta_fresca/a2/fitxers_estatics/A2_2017/2017.07-Prev-collita-i-produccio-poma-i-pera-Cat_.pdf
- DARPA, 2017b. Producció de calçots emparats per la IGP Calçot de Valls. http://agricultura.gencat.cat/ca/ambits/alimentacio/distintius-origen-qualitat-agroalimentaria/dar_igp/dar_productes_reconeixement_comunitari/dar_calcot_valls/
- Day, B., 2001. Modified atmosphere packaging of fresh fruit and vegetables - An overview. *Acta Hortic.* 553 IV Int. Conference Postharvest Sci. 585-590. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2001.553.138>
- de Queiroz, Y.S., Antunes, P.B., Vicente, S.J. V., Sampaio, G.R., Shibao, J., Bastos, D.H.M., Torres, E. a. F.D.S., 2014. Bioactive compounds, in vitro antioxidant capacity and Maillard reaction products of raw, boiled and fried garlic (*Allium sativum* L.). *Int. J. Food Sci. Technol.* 49, 1308-1314. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12428>
- Dea, S., Brecht, J.K., Nunes, M.C.N., Baldwin, E.A., 2010. Occurrence of chilling injury in fresh-cut 'Kent' mangoes. *Postharvest Biol. Technol.* 57, 61-71. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.02.005>
- Degl'Innocenti, E., Guidi, L., Paradossi, A., Tognoni, F., 2005. Biochemical study of leaf browning in minimally processed leaves of lettuce (*Lattuca sativa* L. Var. *Acephala*). *J. Agric. Food Chem* 52, 9980-9984.
- Del Nobile, M.A., Baiano, A., Benedetto, A., Massignan, L., 2006. Respiration rate of minimally processed lettuce as affected by packaging. *J. Food Eng.* 74, 60-69. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.02.013>
- Delaquis, P., Toivonen, P.M.A., Walsh, K., Neumann, K., Stanich, K., 2004. Chlorine depletion in sanitizing solutions used for apple slice disinfection. *Food Prot. Trends* 24, 35-39.
- Dell'Erba, A., Falsanisi, D., Liberti, L., Notarnicola, M., Santoro, D., 2007. Disinfection by-products formation during wastewater disinfection with peracetic acid. *Desalination* 215, 177-186.

<https://doi.org/10.1016/j.desal.2006.08.021>

Denoya, G.I., Vaudagna, S.R., Polenta, G., 2015. Effect of high pressure processing and vacuum packaging on the preservation of fresh-cut peaches. *LWT - Food Sci. Technol.* 62, 801-806. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.09.036>

Devlieghere, F., Debevere, J., 2000. Influence of dissolved carbon dioxide on the growth of spoilage bacteria. *LWT - Food Sci. Technol.* 33, 531-537. <https://doi.org/10.1006/fstl.2000.0705>

Dong, X., Wrolstad, R.E., Sugar, D., 2000. Extending shelf life of fresh-cut pears. *J. Food Sci.* 65, 181-186. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb15976.x>

Drewnowski, A., 1997. Taste preferences and food intake. *Annu. Rev. Nutr.* 17, 237-253. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.17.1.237>

Dufour, C., Loonis, M., Delosière, M., Buffière, C., Hafnaoui, N., Santé-Lhoutellier, V., Rémond, D., 2018. The matrix of fruit & vegetables modulates the gastrointestinal bioaccessibility of polyphenols and their impact on dietary protein digestibility. *Food Chem.* 240, 314-322. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.104>

EC No 905/2002. Commission Regulation (EC) No 905/2002 of 30 May 2002 supplementing the Annex to Regulation (EC) No 2400/96 on the entry of certain names in the 'Register of protected designations of origin and protected geographical indications' [2002] OJ L 142/27.

Echeverría, G., López, M.L., Soria, Y., 2013. Calidad en fruta fresca: Manzana, pera y melocotón, en: Viñas, I., Recasens, I., Usall, J., Graell, J. (Eds.), *Poscosecha de pera, manzana y melocotón*. Mundi-prensa, Madrid, pp. 11-40.

EFSA, 2015a. Foods of non-animal origin: what are the risks? [WWW Document]. Panel Biol. Hazards. URL <https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/150313>

EFSA, 2015b. Risks for public health related to the presence of chlorate in food. *EFSA J.* 13, 1-103. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4135>

El-hamamhy, M.A.M., ElSayed, A.I., Otero, D.C., 2017. Physiological effects of hot water dipping, chitosan coating and gibberellic acid on shelf-life and quality assurance of sugar snap peas (*Pisum sativum* L. var. *macrocarpon*). *Food Packag. Shelf Life* 11, 58-66. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2016.12.002>

Falagán, N., Terry, L.A., 2018. Recent advances in controlled and modified atmosphere of fresh produce. Postharvest technologies to reduce food waste and maintain fresh produce quality. *Johnson Matthey Technol. Rev.* 107-117. <https://doi.org/10.1595/205651318X696684>

Fallik, E., Tuvia-Alkalai, S., Copel, A., Polevaya, Y., 2002. A short hot water rinsing and brushing reduces chilling injury and enhances resistance against *Botrytis cinerea* in fresh harvested tomato. *Adv. Hortic. Sci.* 16, 3-6.

FAO/WHO, 2002. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Food Agric. Organ. United Nations World Heal. Organ. (Working Gr. Report).

Farber, J.N., Harris, L.J., Parish, M.E., Beuchat, L.R., Suslow, T. V, Gorney, J.R., Garrett, E.H., Busta, F.F., 2003. Microbiological safety of controlled and modified atmosphere packaging of fresh

- and fresh-cut produce. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2, 142-160. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2003.tb00032.x>
- FEPEX, 2017. El consumo de frutas y hortalizas frescas en los hogares en 2016 desciende un 0,9% y el gasto aumenta un 3,3%. <http://www.fepex.es/noticias/detalle/consumo-frutas-hortalizas-frescas-hogares-2016-desciende-0,9-gasto-aumenta>
- Fernández-Jalao, I., Sánchez-Moreno, C., De Ancos, B., 2017. Influence of food matrix and high-pressure processing on onion flavonols and antioxidant activity during gastrointestinal digestion. *J. Food Eng.* <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.02.015>
- Fernando Reyes, L., Emilio Villarreal, J., Cisneros-Zevallos, L., 2007. The increase in antioxidant capacity after wounding depends on the type of fruit or vegetable tissue. *Food Chem.* 101, 1254-1262. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.03.032>
- Fliiss, I., Hammami, R., Le Lay, C., 2011. Biological control of human digestive microbiota using antimicrobial cultures and bacteriocins, en: *Protective Cultures, Antimicrobial Metabolites and Bacteriophages for Food and Beverage Biopreservation*. Elsevier, pp. 240-263. <https://doi.org/10.1533/9780857090522.2.240>
- Flores-Andrade, E., Pascual-Pineda, L.A., Alarcón-Elvira, F.G., Rascón-Díaz, M.P., Pimentel-González, D.J., Beristain, C.I., 2017. Effect of vacuum on the impregnation of *Lactobacillus rhamnosus* microcapsules in apple slices using double emulsion. *J. Food Eng.* 202, 18-24. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.02.005>
- Fonteles, T., Leite, A., Silva, A., Carneiro, A., Miguel, E., Cavada, B., Fernandes, F., Rodrigues, S., 2016. Ultrasound processing to enhance drying of cashew apple bagasse puree: Influence on antioxidant properties and *in vitro* bioaccessibility of bioactive compounds. *Ultrason. Sonochem.* 31, 237-249. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.01.003>
- Forney, C.F., 2008. Flavour loss during postharvest handling and marketing of fresh-cut produce. *Stewart Postharvest Rev.* 4, 1-10. <https://doi.org/10.2212/spr.2008.3.5>
- Francis, G., Gallone, A., Nychas, G., Sofos, J., Colelli, G., Amodio, M.L., Spano, G., 2012. Factors affecting quality and safety of fresh-cut produce. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 52, 595-610. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.503685>
- Galvis-Sánchez, A.C., Fonseca, S.C., Morais, A.M.M.B., Malcata, F.X., 2004. Sensorial and physicochemical quality responses of pears (cv Rocha) to long-term storage under controlled atmospheres. *J. Sci. Food Agric.* 84, 1646-1656. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1798>
- García, E., Barrett, D.M., 2002. Preservative treatments for fresh-cut fruits and vegetables, en: Lamikanra, O. (Ed.), *Fresh-cut Fruits and Vegetables: Science, Technology, and Market*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 267-304.
- García Loredó, A.B., Guerrero, S.N., Alzamora, S.M., 2013. Impact of combined ascorbic acid/CaCl₂, hydrogen peroxide and ultraviolet light treatments on structure, rheological properties and texture of fresh-cut pear (William var.). *J. Food Eng.* 114, 164-173. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.08.017>
- Garrett, E.H., Gorny, J.R., Beuchat, L.R., Farber, J.N., Harris, L.J., Parish, M.E., Suslow, T.V., Busta, F.F., 2003. Microbiological safety of fresh and fresh-cut produce: Description of the situation and economic impact. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2, 13-37.

Introducción general

<https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2003.tb00029.x>

- Genta, M., Heluane, H., 2001. Biochemical identification of most frequently encountered bacteria that cause food spoilage, en: Spencer, J.F.T., de Spencer, A.L.R. (Eds.), *Food microbiology protocols* (Vol.1, p.11). Humana Press Inc., New Jersey, USA.
- Gil, M.I., Selma, M. V, López-Gálvez, F., Allende, A., 2009. Fresh-cut product sanitation and wash water disinfection: Problems and solutions. *Int. J. Food Microbiol.* <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.05.021>
- Giménez, M., Olarte, C., Sanz, S., Lomas, C., Echávarri, J.F., Ayala, F., 2003. Relation between spoilage and microbiological quality in minimally processed artichoke packaged with different films. *Food Microbiol.* 20, 231-242. [https://doi.org/10.1016/S0740-0020\(02\)00146-6](https://doi.org/10.1016/S0740-0020(02)00146-6)
- Giné Bordonaba, J., Cantin, C.M., Larrigaudière, C., López, L., López, R., Echeverria, G., 2014. Suitability of nectarine cultivars for minimal processing: The role of genotype, harvest season and maturity at harvest on quality and sensory attributes. *Postharvest Biol. Technol.* 93, 49-60. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.02.007>
- Gomes, M.H., Fundo, J.F., Poças, M.F., Almeida, D.P.F., 2012. Quality changes in fresh-cut "Rocha" pear as affected by oxygen levels in modified atmosphere packaging and the pH of antibrowning additive. *Postharvest Biol. Technol.* 74, 62-70. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.06.014>
- Gomes, M.H., Fundo, J.F., Santos, S., Amaro, A.L., Almeida, D.P.F., 2010. Hydrogen ion concentration affects quality retention and modifies the effect of calcium additives on fresh-cut "Rocha" pear. *Postharvest Biol. Technol.* 58, 239-246. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.07.004>
- González-Aguilar, G.A., Ayala-Zavala, J.F., Ruiz-Cruz, S., Acedo-Félix, E., Díaz-Cinco, M.E., 2004. Effect of temperature and modified atmosphere packaging on overall quality of fresh-cut bell peppers. *LWT - Food Sci. Technol.* 37, 817-826. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.03.007>
- Goodburn, C., Wallace, C.A., 2013. The microbiological efficacy of decontamination methodologies for fresh produce: A review. *Food Control* 32, 418-427. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.12.012>
- Gorny, J.R., 2005. Leveraging innovative fresh-cut technologies for competitive advantage. *Acta Hort.* 687, 141-147. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.687.16>
- Gorny, J.R., Cifuentes, R.A., Hess-Pierce, B., Kader, A.A., 2000. Quality changes in fresh-cut pear slices as affected by cultivar, ripeness stage, fruit size, and storage regime. *J. Food Sci.* 65, 541-544. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb16044.x>
- Gorny, J.R., Hess-Pierce, B., Cifuentes, R.A., Kader, A.A., 2002. Quality changes in fresh-cut pear slices as affected by controlled atmospheres and chemical preservatives. *Postharvest Biol. Technol.* 24, 271-278. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(01\)00139-9](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(01)00139-9)
- Gorny, J.R., Zagory, D., 2016. Food safety, en: Gross, K.C., Wang, C., Saltveit, M.E. (Eds.), *The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks*. Agricultural Research Service. USDA., Beltsville, MD, pp. 149-165.

- Gross, K.C., Wang, C.Y., Saltveit, M., 2016. The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks, Agriculture Handbook 66, U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. USDA, Washington, DC.
- Guerra, A., Etienne-Mesmin, L., Livrelli, V., Denis, S., Blanquet-Diot, S., Alric, M., 2012. Relevance and challenges in modeling human gastric and small intestinal digestion. Trends Biotechnol. 30, 591-600. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.08.001>
- Günes, G., Turan, D., 2017. New technologies and edible coatings for minimally processed and refrigerated (MPR) fruits and vegetables (fresh cuts and freshly squeezed juices), en: Yildiz, F., Wiley, R.C. (Eds.), Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables. Springer, New York.
- Gupta, S., Abu-Ghannam, N., 2012. Probiotic fermentation of plant based products: Possibilities and opportunities. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 52, 183-199. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.499779>
- Halliwell, B., Rafter, J., Jenner, A., 2005. Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidant or not? Am J Clin Nutr 81, 268S-276S. <https://doi.org/81/1/268S> [pii]
- Han, C., Ji, Y., Li, M., Li, X., Jin, P., Zheng, Y., 2016. Influence of wounding intensity and storage temperature on quality and antioxidant activity of fresh-cut Welsh onions. Sci. Hortic. (Amsterdam). 212, 203-209. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.10.004>
- Heard, G., 2002. Microbiology of fresh-cut produce, en: Lamikanra, O. (Ed.), Fresh-cut Fruits and Vegetables: Science, Technology, and Market. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 187-248.
- Heredia, J.B., Cisneros-Zevallos, L., 2009. The effect of exogenous ethylene and methyl jasmonate on pal activity, phenolic profiles and antioxidant capacity of carrots (*Daucus carota*) under different wounding intensities. Postharvest Biol. Technol. 51, 242-249. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.07.001>
- Hodges, D.M., Toivonen, P.M.A., 2008. Quality of fresh-cut fruits and vegetables as affected by exposure to abiotic stress. Postharvest Biol. Technol. 48, 155-162. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.10.016>
- Holah, J., Higgs, C., Robinson, S., Worthington, D., Spenceley, H., 1990. A conductance-based surface disinfection test for food hygiene. Lett. Appl. Microbiol. 11, 255-259. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1990.tb00175.x>
- Holb, I.J., Balla, B., Vámos, A., Gáll, J.M., 2012. Influence of preharvest calcium applications, fruit injury, and storage atmospheres on postharvest brown rot of apple. Postharvest Biol. Technol. 67, 29-36. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.12.008>
- Hong, G., Peiser, G., Cantwell, M.I., 2000. Use of controlled atmospheres and heat treatment to maintain quality of intact and minimally processed green onions. Postharvest Biol. Technol. 20, 53-61. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(00\)00112-5](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(00)00112-5)
- Hong, S.I., Kim, D., 2004. The effect of packaging treatment on the storage quality of minimally processed bunched onions. Int. J. Food Sci. Technol. 39, 1033-1041. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.00885.x>

Introducción general

- Hong, S.I., Kim, D.M., 2001. Influence of oxygen concentration and temperature on respiratory characteristics of fresh-cut green onion. *Int. J. Food Sci. Technol.* 36, 283-289. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2001.00456.x>
- Horev, B., Sela, S., Vinokur, Y., Gorbatshevich, E., Pinto, R., Rodov, V., 2012. The effects of active and passive modified atmosphere packaging on the survival of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium on washed romaine lettuce leaves. *Food Res. Int.* 45, 1129-1132. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.05.037>
- Hossain, M.I., Sadekuzzaman, M., Ha, S.-D., 2017. Probiotics as potential alternative biocontrol agents in the agriculture and food industries: A review. *Food Res. Int.* 100, 63-73. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.077>
- Huerta-Vera, K., Flores-Andrade, E., Pérez-Sato, J.A., Morales-Ramos, V., Pascual-Pineda, L.A., Contreras-Oliva, A., 2017. Enrichment of banana with *Lactobacillus rhamnosus* using souble emulsion and osmotic dehydration. *Food Bioprocess Technol.* 10, 1053-1062. <https://doi.org/10.1007/s11947-017-1879-2>
- Hur, S.J., Lim, B.O., Decker, E.A., McClements, D.J., 2011. *In vitro* human digestion models for food applications. *Food Chem.* 125, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.036>
- Iglesias, M.B., Abadias, M., Anguera, M., Sabata, J., Viñas, I., 2017a. Antagonistic effect of probiotic bacteria against foodborne pathogens on fresh-cut pear. *LWT - Food Sci. Technol.* 81, 243-249. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.03.057>
- Iglesias, M.B., Abadias, M., Anguera, M., Viñas, I., 2018. Efficacy of *Pseudomonas graminis* CPA-7 against *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* on fresh-cut pear and setting up of the conditions for its commercial application. *Food Microbiol.* 70, 103-112. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.09.010>
- Iglesias, M.B., Viñas, I., Colás-Medà, P., Collazo, C., Serrano, J.C.E., Abadias, M., 2017b. Adhesion and invasion of *Listeria monocytogenes* and interaction with *Lactobacillus rhamnosus* GG after habituation on fresh-cut pear. *J. Funct. Foods* 34, 453-460. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.05.011>
- James, J.B., Ngarmsak, T., 2011. Processing of fresh-cut tropical fruits and vegetables: A technical guide. <http://www.fao.org/docrep/014/i1909e/i1909e00.pdf>
- Jang, J.-H., Moon, K.-D., 2011. Inhibition of polyphenol oxidase and peroxidase activities on fresh-cut apple by simultaneous treatment of ultrasound and ascorbic acid. *Food Chem.* 124, 444-449. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.052>
- Janisiewicz, W., Korsten, L., 2002. Biological control of postharvest diseases of fruits. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40, 411-441. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.40.120401.130158>
- Järvenpää, E.P., Zhang, Z.Y., Huopalahti, R., King, J.W., 1998. Determination of fresh onion (*Allium cepa* L.) volatiles by solid phase microextraction combined with gas chromatography mass spectrometry. *Zeitschrift Fur Leb. Und-forsch. a-Food Res. Technol.* 207, 39-43. <https://doi.org/10.1007/s002170050292>
- Jideani, A.I.O., Anyasi, T.A., Mchau, G.R.A., Udoro, E.O., Onipe, O.O., 2017. Processing and preservation of fresh-cut fruit and vegetable products, en: Kahramanoglu, I. (Ed.), *Postharvest Handling*. INTECH. <https://doi.org/10.5772/intechopen.69763>

- Jolie, R.P., Christiaens, S., De Roeck, A., Fraeye, I., Houben, K., Van Buggenhout, S., Van Loey, A.M., Hendrickx, M.E., 2012. Pectin conversions under high pressure: Implications for the structure-related quality characteristics of plant-based foods. *Trends Food Sci. Technol.* 24, 103-118. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.11.003>
- Jolie, R.P., Duvetter, T., Van Loey, A.M., Hendrickx, M.E., 2010. Pectin methylesterase and its proteinaceous inhibitor: A review. *Carbohydr. Res.* 345, 2583-2595. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2010.10.002>
- Joshi, K., Mahendran, R., Alagusundaram, K., Norton, T., Tiwari, B.K., 2013. Novel disinfectants for fresh produce. *Trends Food Sci. Technol.* 34, 54-61. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.08.008>
- Kader, A., 2002. Quality parameters of fresh-cut fruit and vegetable products, en: Lamikanra, O. (Ed.), *Fresh-cut Fruits and Vegetables: Science, Technology, and Market*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Kader, A.A., 2016. Controlled atmosphere storage, en: Gross, K.C., Wang, C.Y., Saltveit, M. (Eds.), *The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks*. Agricultural Research Service. USDA., Beltsville, MD, pp. 22-25.
- Kelley, D.G., 2004. Chlorine disinfectants and ORP control, en: *Washington Tree Fruit Postharvest Conference*. Yakima, WA, pp. 1-7.
- Kitis, M., 2004. Disinfection of wastewater with peracetic acid: a review. *Environ. Int.* 30, 47-55. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(03\)00147-8](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(03)00147-8)
- Knorr, D., Zenker, M., Heinz, V., Lee, D.U., 2004. Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends Food Sci. Technol.* 15, 261-266. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.12.001>
- Koivunen, J., Heinonen-Tanski, H., 2005. Inactivation of enteric microorganisms with chemical disinfectants, UV irradiation and combined chemical/UV treatments. *Water Res.* 39, 1519-1526. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.01.021>
- Kou, X., Wu, M., Li, L., Wang, S., Xue, Z., Liu, B., Fei, Y., 2015. Effects of CaCl₂ dipping and pullulan coating on the development of brown spot on 'Huangguan' pears during cold storage. *Postharvest Biol. Technol.* 99, 63-72. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.08.001>
- Koukounaras, A., Siomos, A.S., Sfakiotakis, E., 2007. Postharvest CO₂ and ethylene production and quality of rocket (*Eruca sativa* Mill.) leaves as affected by leaf age and storage temperature. *Postharvest Biol. Technol.* 46, 167-173. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.04.007>
- Kubec, R., Hrbáčová, M., Musah, R.A., Velíšek, J., 2004. Allium discoloration: Precursors involved in onion pinking and garlic greening. *J. Agric. Food Chem.* 52, 5089-5094. <https://doi.org/10.1021/jf0497455>
- Kubo, M.T.K., Rojas, M.L., Curet, S., Boillereaux, L., Augusto, P.E.D., 2017. Peroxidase inactivation kinetics is affected by the addition of calcium chloride in fruit beverages. *LWT - Food Sci. Technol.* 89, 610-616. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.045>
- Kunigk, L., Almeida, M.C.B., 2001. Action of peracetic acid on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in suspension or settled on stainless steel surfaces. *Brazilian J. Microbiol.* 32, 38-41.

<https://doi.org/10.1590/S1517-83822001000100009>

- Lamikanra, O., Watson, M.A., 2007. Mild heat and calcium treatment effects on fresh-cut cantaloupe melon during storage. *Food Chem.* 102, 1383-1388. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.05.060>
- Lanzotti, V., 2006. The analysis of onion and garlic. *J. Chromatogr. A* 1112, 3-22. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.12.016>
- Larrigaudiere, C., Lenthalic, I., Pintó, E., Vendrell, M., 2001. Short-term effects of air and controlled atmosphere storage on antioxidant metabolism in conference pears. *J. Plant Physiol.* 158, 1015-1022. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-00114>
- Lee, S.K., Kader, A.A., 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biol. Technol.* 20, 207-220.
- Leistner, L., 1999. Combined methods for food preservation, en: Rahman, M.S. (Ed.), *Food preservation handbook*. Marcel Dekker, New York, pp. 457-485.
- Leistner, L., Gould, G., 2002. *Hurdle technologies: Combination treatments for food stability, safety and quality*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
- Leverentz, B., Conway, W.S., Janisiewicz, W., Abadias, M., Kurtzman, C.P., Camp, M.J., 2006. Biocontrol of the food-borne pathogens *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* serovar poona on fresh-cut apples with naturally occurring bacterial and yeast antagonists. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 1135-1140. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.2.1135-1140.2006>
- Lianou, A., Koutsoumanis, K., Sofos, J., 2012. Organic acids and other chemical treatments of microbial decontamination of food, en: Demirci, A., Ngadi, M. (Eds.), *Microbial Decontamination in the Food Industry. Novel Methods and Applications*. WoodHead Publishing Limited, pp. 592-664.
- Liu, H., Chen, F., Lai, S., Tao, J., Yang, H., Jiao, Z., 2017. Effects of calcium treatment and low temperature storage on cell wall polysaccharide nanostructures and quality of postharvest apricot (*Prunus armeniaca*). *Food Chem.* 225, 87-97. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.008>
- López-Gálvez, F., Allende, A., Selma, M. V., Gil, M.I., 2009. Prevention of *Escherichia coli* cross-contamination by different commercial sanitizers during washing of fresh-cut lettuce. *Int. J. Food Microbiol.* 133, 167-171. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.05.017>
- López-Gálvez, F., Allende, A., Truchado, P., Martínez-Sánchez, A., Tudela, J.A., Selma, M. V., Gil, M.I., 2010. Suitability of aqueous chlorine dioxide versus sodium hypochlorite as an effective sanitizer for preserving quality of fresh-cut lettuce while avoiding by-product formation. *Postharvest Biol. Technol.* 55, 53-60. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.08.001>
- López-López, M., Vega-Espinoza, A., Ayón-Reyna, L., López-Valenzuela, J., Vega-García, M., 2013. Combined effect of hot water dipping treatment, N-acetylcysteine and calcium on quality retention and enzymatic activity of fresh-cut apple. *J. Food, Agric. Environ.* 11, 243-248.
- Lu, S., Luo, Y., Turner, E., Feng, H., 2007. Efficacy of sodium chlorite as an inhibitor of enzymatic

- browning in apple slices. Food Chem. 104, 824-829. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.12.050>
- Luengwilai, K., Sukjamsai, K., Kader, A.A., 2007. Responses of 'Clemenules Clementine' and 'W. Murcott' mandarins to low oxygen atmospheres. Postharvest Biol. Technol. 44, 48-54. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.08.017>
- Luna-Guzmán, I., Barrett, D.M., 2000. Comparison of calcium chloride and calcium lactate effectiveness in maintaining shelf stability and quality of fresh-cut cantaloupes. Postharvest Biol. Technol. 19, 61-72. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(00\)00079-X](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(00)00079-X)
- Luo, Y., Lu, S., Zhou, B., Feng, H., 2011a. Dual effectiveness of sodium chlorite for enzymatic browning inhibition and microbial inactivation on fresh-cut apples. LWT - Food Sci. Technol. 44, 1621-1625. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.02.015>
- Luo, Y., Nou, X., Yang, Y., Alegre, I., Turner, E., Feng, H., Abadias, M., Conway, W., 2011b. Determination of free chlorine concentrations needed to prevent *Escherichia coli* O157:H7 cross-contamination during Fresh-cut produce wash. J. Food Prot. 74, 352-358. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-10-429>
- Lurie, S., Watkins, C.B., 2012. Superficial scald, its etiology and control. Postharvest Biol. Technol. 65, 44-60. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.11.001>
- Ma, L., Zhang, M., Bhandari, B., Gao, Z., 2017. Recent developments in novel shelf life extension technologies of fresh-cut fruits and vegetables. Trends Food Sci. Technol. 64, 23-38. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.03.005>
- Manganaris, G.A., Vasilakakis, M., Diamantidis, G., Mignani, I., 2007. The effect of postharvest calcium application on tissue calcium concentration, quality attributes, incidence of flesh browning and cell wall physicochemical aspects of peach fruits. Food Chem. 100, 1385-1392. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.036>
- Manganaris, G.A., Vasilakakis, M., Diamantidis, G., Mignani, I., 2005. Effect of post-harvest calcium treatments on the physicochemical properties of cell wall pectin in nectarine fruit during ripening after harvest or cold storage. J. Hortic. Sci. Biotechnol. 80, 611-617. <https://doi.org/10.1080/14620316.2005.11511986>
- Manohar, C.M., Xue, J., Murayyan, A., Neethirajan, S., Shi, J., 2017. Antioxidant activity of polyphenols from Ontario grown onion varieties using pressurized low polarity water technology. J. Funct. Foods 31, 52-62. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.01.037>
- MAPAMA, 2017a. Informe del consumo de alimentación en España 2016. http://www.mapama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/informe_del_consumo_de_alimentos_en_espana_2016_webvf_tcm7-460602.pdf
- MAPAMA, 2017b. Anuario de Estadística 2016. <http://www.mapama.gob.es/estadistica/pags/anuario/2015/AE15.pdf>
- Martínez, J.A., Chiesa, A., Tovar, F., Artés, F., 2005a. Respiration rate and ethylene production of fresh cut lettuce as affected by cutting grade. Agric. Food Sci. 14, 354-361. <https://doi.org/10.2137/145960605775897669>

Introducción general

- Martínez, J.A., Sgroppo, S.C., Sánchez-Moreno, C., De Ancos, B., Cano, M.P., 2005b. Effects of processing and storage of fresh-cut onion on quercetin. *Acta Hort.* 682 V Int. Postharvest Symp. 1889-1894. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.682.254>
- Martins, E.M.F., Ramos, A.M., Vanzela, E.S.L., Stringheta, P.C., de Oliveira Pinto, C.L., Martins, J.M., 2013. Products of vegetable origin: A new alternative for the consumption of probiotic bacteria. *Food Res. Int.* 51, 764-770. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.01.047>
- Meireles, A., Giaouris, E., Simões, M., 2016. Alternative disinfection methods to chlorine for use in the fresh-cut industry. *Food Res. Int.* 82, 71-85. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.01.021>
- Ministere de l'Economic des Finances et du Budget, 1988. Marché consommation, produits vegetaus prêts à l' emploi dits de la 'lVemme gamme': guide de bonnes pratique hygiéniques. J. Off. la République Française 1-29.
- Mir, N., Beaudry, R.M., 2016. Modified atmosphere packaging, en: Gross, K.C., Wang, C., Saltveit, M.E. (Eds.), *The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks*. Agricultural Research Service. USDA., Beltsville, MD, pp. 42-53.
- Montero-Calderón, M., Rojas-Graü, M.A., Martín-Belloso, O., 2008. Effect of packaging conditions on quality and shelf-life of fresh-cut pineapple (*Ananas comosus*). *Postharvest Biol. Technol.* 50, 182-189. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.03.014>
- Motilva, M.-J., Serra, A., Rubió, L., 2015. Nutrikinetic studies of food bioactive compounds: from *in vitro* to *in vivo* approaches. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 66.
- Muzaffar, S., Ahmad, M., Wani, S.M., Gani, A., Baba, W.N., Shah, U., Khan, A.A., Masoodi, F.A., Gani, A., Wani, T.A., 2016. Ultrasound treatment: effect on physicochemical, microbial and antioxidant properties of cherry (*Prunus avium*). *J. Food Sci. Technol.* 53, 2752-2759. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2247-3>
- Neo, S.Y., Lim, P.Y., Phua, L.K., Khoo, G.H., Kim, S.J., Lee, S.C., Yuk, H.G., 2013. Efficacy of chlorine and peroxyacetic acid on reduction of natural microflora, *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. on mung bean sprouts. *Food Microbiol.* 36, 475-480. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.05.001>
- Ngamchuachit, P., Sivertsen, H.K., Mitcham, E.J., Barrett, D.M., 2014. Effectiveness of calcium chloride and calcium lactate on maintenance of textural and sensory qualities of fresh-cut mangos. *J. Food Sci.* 79. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12446>
- Nguyen-the, C., Carlin, F., 1994. The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 34, 371-401. <https://doi.org/10.1080/10408399409527668>
- Oliveira, A.P. de, Mateo, B. dos S.O., Fioroto, A.M., Oliveira, P.V. de, Naozuka, J., 2018. Effect of cooking on the bioaccessibility of essential elements in different varieties of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Food Compos. Anal.* 67, 135-140. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.01.012>
- Oliveira, M., Abadias, M., Usall, J., Torres, R., Teixidó, N., Viñas, I., 2015. Application of modified atmosphere packaging as a safety approach to fresh-cut fruits and vegetables - A review. *Trends Food Sci. Technol.* 46, 13-26. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.07.017>
- Oliveira, M., Usall, J., Solsona, C., Alegre, I., Viñas, I., Abadias, M., 2010. Effects of packaging type

- and storage temperature on the growth of foodborne pathogens on shredded 'Romaine' lettuce. *Food Microbiol.* 27, 375-380. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.11.014>
- Ölmez, H., Kretzschmar, U., 2009. Potential alternative disinfection methods for organic fresh-cut industry for minimizing water consumption and environmental impact. *LWT - Food Sci. Technol.* <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.08.001>
- Oms-Oliu, G., Aguiló-Aguayo, I., Martí-Belloso, O., 2006. Inhibition of browning on fresh-cut pear wedges by natural compounds. *J. Food Sci.* 71, S216-S224.
- Oms-Oliu, G., Rojas-Graü, M.A., González, L.A., Varela, P., Soliva-Fortuny, R., Hernando, M.I.H., Munuera, I.P., Fiszman, S., Martín-Belloso, O., 2010. Recent approaches using chemical treatments to preserve quality of fresh-cut fruit: A review. *Postharvest Biol. Technol.* 57, 139-148. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.04.001>
- Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O., 2007. Respiratory rate and quality changes in fresh-cut pears as affected by superatmospheric oxygen. *J. Food Sci.* 72. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00509.x>
- Paillart, M.J.M., van der Vossen, J.M.B.M., Levin, E., Lommen, E., Otma, E.C., Snels, J.C.M.A., Woltering, E.J., 2017. Bacterial population dynamics and sensorial quality loss in modified atmosphere packed fresh-cut iceberg lettuce. *Postharvest Biol. Technol.* 124, 91-99. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.10.008>
- Parada, J., Aguilera, J.M., 2007. Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. *J. Food Sci.* 72, 21-32. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00274.x>
- Pareek, S., 2017. Technologies to preserve fresh-cut fruits and vegetables, en: Pareek, S. (Ed.), *Fresh-Cut Fruits and Vegetables: Technology, Physiology, and Safety*. CRC Press. Taylor & Francis Group, Boca Raton, Florida.
- Parish, M.E., Bechat, L.R., Suslow, T.V., Harris, L.J., Garrett, E.H., Farber, J.N., Busta, F.F., 2003. Methods to reduce/eliminate pathogens from fresh and fresh-cut produce. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2, 161-173. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2003.tb00033.x>
- Patist, A., Bates, D., 2008. Ultrasonic innovations in the food industry: From the laboratory to commercial production. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 9, 147-154. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.07.004>
- Pelloux, J., Rustérucchi, C., Mellerowicz, E.J., 2007. New insights into pectin methylesterase structure and function. *Trends Plant Sci.* 12, 267-277. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2007.04.001>
- Pérez-Gregorio, M.R., García-Falcón, M.S., Simal-Gándara, J., 2011. Flavonoids changes in fresh-cut onions during storage in different packaging systems. *Food Chem.* 124, 652-658. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.090>
- Pérez-Gregorio, R.M., García-Falcón, M.S., Simal-Gándara, J., Rodrigues, A.S., Almeida, D.P.F., 2010. Identification and quantification of flavonoids in traditional cultivars of red and white onions at harvest. *J. Food Compos. Anal.* 23, 592-598. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2009.08.013>
- Piyasena, P., Mohareb, E., McKellar, R.C., 2003. Inactivation of microbes using ultrasound: A

- review. *Int. J. Food Microbiol.* 87, 207-216. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00075-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00075-8)
- Plaza, L., Altisent, R., Alegre, I., Viñas, I., Abadias, M., 2016. Changes in the quality and antioxidant properties of fresh-cut melon treated with the biopreservative culture *Pseudomonas graminis* CPA-7 during refrigerated storage. *Postharvest Biol. Technol.* 111, 25-30. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.07.023>
- Prado, F.C., Parada, J.L., Pandey, A., Soccol, C.R., 2008. Trends in non-dairy probiotic beverages. *Food Res. Int.* 41, 111-123. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.10.010>
- Putnik, P., Bursać Kovačević, D., Herceg, K., Pavkov, I., Zorić, Z., Levaj, B., 2017a. Effects of modified atmosphere, anti-browning treatments and ultrasound on the polyphenolic stability, antioxidant capacity and microbial growth in fresh-cut apples. *J. Food Process Eng.* 40. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12539>
- Putnik, P., Roohinejad, S., Greiner, R., Granato, D., Bekhit, A.E.D.A., Bursać Kovačević, D., 2017b. Prediction and modeling of microbial growth in minimally processed fresh-cut apples packaged in a modified atmosphere: A review. *Food Control* 80, 411-419. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.05.018>
- Qadri, O.S., Yousuf, B., Srivastava, A.K., 2015. Fresh-cut fruits and vegetables: Critical factors influencing microbiology and novel approaches to prevent microbial risks - A review. *Cogent Food Agric.* 1, 1-11. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1121606>
- Quiles, A., Hernando, I., Pérez-Munuera, I., Lluch, M.Á., 2007. Effect of calcium propionate on the microstructure and pectin methylesterase activity in the parenchyma of fresh-cut Fuji apples. *J. Sci. Food Agric.* 87, 511-519. <https://doi.org/10.1002/jsfa>
- Ragaert, P., Devlieghere, F., Debevere, J., 2007. Role of microbiological and physiological spoilage mechanisms during storage of minimally processed vegetables. *Postharvest Biol. Technol.* 44, 185-194. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.01.001>
- Ragaert, P., Jaxsens, L., Vandekinderen, I., Baert, L., Devlieghere, F., 2011. Microbiological and safety aspects of fresh-cut fruits and vegetables, en: Martin-Belloso, O., Soliva-Fortuny, R.C. (Eds.), *Advances in fresh-cut fruits and vegetables processing*. CRC Press Taylor & Francis Group, Florida, USA, pp. 53-75.
- Ragaert, P., Verbeke, W., Devlieghere, F., Debevere, J., 2004. Consumer perception and choice of minimally processed vegetables and packaged fruits. *Food Qual. Prefer.* 15, 259-270. [https://doi.org/10.1016/S0950-3293\(03\)00066-1](https://doi.org/10.1016/S0950-3293(03)00066-1)
- Ramos, B., Miller, F.A., Brandão, T.R.S., Teixeira, P., Silva, C.L.M., 2013. Fresh fruits and vegetables - An overview on applied methodologies to improve its quality and safety. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 20, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.07.002>
- Regulation 2016/672. COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) 2016/672 of 29 April 2016 approving peracetic acid as an existing active substance for use in biocidal products for product- types 1, 2, 3, 4, 5 and 6. *Off. J. Eur. Union* 2016;L116/3-7. https://doi.org/http://eur-lex.europa.eu/pri/en/oj/dat/2003/l_285/l_28520031101en00330037.pdf
- Ribas-Agustí, A., Martín-Belloso, O., Soliva-Fortuny, R., Elez-Martínez, P., 2017. Food processing strategies to enhance phenolic compounds bioaccessibility and bioavailability in plant-based foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 1-18. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1331200>

- Rico, D., Martín-Diana, A.B., Barat, J.M., Barry-Ryan, C., 2007. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. *Trends Food Sci. Technol.* 18, 373-386. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.03.011>
- Rijswick, C. Van, 2015. The EU fresh-cut fruits and vegetables market, en: Fresh convenience conference. London.
- Rivera-Espinoza, Y., Gallardo-Navarro, Y., 2010. Non-dairy probiotic products. *Food Microbiol.* 27, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.06.008>
- Rocha, A., Coulon, E., Morais, A., 2003. Effects of vacuum packaging on the physical quality of minimally processed potatoes. *Food Serv. Technol.* 3, 81-88. <https://doi.org/10.1046/j.1471-5740.2003.00068.x>
- Rojas-Graü, M.A., Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O., 2009. The use of packaging techniques to maintain freshness in fresh-cut fruits and vegetables: A review. *Int. J. Food Sci. Technol.* 44, 875-889. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.01911.x>
- Rojas-Graü, M.A., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O., 2008. Effect of natural antibrowning agents on color and related enzymes in fresh-cut fuji apples as an alternative to the use of ascorbic acid. *J. Food Sci.* 73, 267-272. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00794.x>
- Röfle, C., Auty, M.A.E., Brunton, N., Gormley, R.T., Butler, F., 2010. Evaluation of fresh-cut apple slices enriched with probiotic bacteria. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 11, 203-209. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.08.016>
- Ruiz-Cruz, S., Acedo-Félix, E., Díaz-Cinco, M., Islas-Osuna, M.A., González-Aguilar, G.A., 2007. Efficacy of sanitizers in reducing *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* populations on fresh-cut carrots. *Food Control* 18, 1383-1390. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2006.09.008>
- Ruiz-Rodríguez, L., Bleckwedel, J., Eugenia Ortiz, M., Pescuma, M., Mozzi, F., 2017. Lactic acid bacteria, en: Wittmann, C., Liao, J. (Eds.), *Industrial Biotechnology: Microorganisms*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, KGaA, Weinheim, Germany. <https://doi.org/10.1002/9783527807796.ch11>
- Russell, R., 2005. The disinfection of raw vegetables and salads-focus on mixed oxidants or anolyte. Whasing and Decontamination of Fresh Produce Forum. Campden and Chorleywood Food Research Association Group, Chipping Campden, Gloucestershire, Newsletter Issue 6. June.
- Russo, P., de Chiara, M.L.V., Vernile, A., Amodio, M.L., Arena, M.P., Capozzi, V., Massa, S., Spano, G., 2014. Fresh-cut pineapple as a new carrier of probiotic lactic acid bacteria. *Biomed Res. Int.* 2014, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2014/309183>, [10.1155/2014/309183](https://doi.org/10.1155/2014/309183)
- Russo, P., Peña, N., de Chiara, M.L.V., Amodio, M.L., Colelli, G., Spano, G., 2015. Probiotic lactic acid bacteria for the production of multifunctional fresh-cut cantaloupe. *Food Res. Int.* 77, 762-772. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.033>
- Saarela, M., Mogensen, G., Fondén, R., Mättö, J., Mattila-Sandholm, T., 2000. Probiotic bacteria: Safety, functional and technological properties. *J. Biotechnol.* 84, 197-215. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(00\)00375-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(00)00375-8)

Introducción general

- Saltveit, M.E., 2003. A summary of CA requirements and recommendations for vegetables. VIII Int. Control. Atmos. Res. Conf. 723-727.
- Saltveit, M.E., 2000. Wound induced changes in phenolic metabolism and tissue browning are altered by heat shock. *Postharvest Biol. Technol.* 21, 61-69. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(00\)00165-4](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(00)00165-4)
- Sánchez-Mata, M.C., Cámara, M., Díez-Marqués, C., 2003. Extending shelf-life and nutritive value of green beans (*Phaseolus vulgaris* L.), by controlled atmosphere storage: Macronutrients. *Food Chem.* 80, 309-315. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00265-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00265-0)
- Sandhya, 2010. Modified atmosphere packaging of fresh produce: Current status and future needs. *LWT - Food Sci. Technol.* 43, 381-392. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.05.018>
- Santos, J.G., Fernandes, F.A.N., de Siqueira Oliveira, L., de Miranda, M.R.A., 2015. Influence of ultrasound on fresh-cut mango quality through evaluation of enzymatic and oxidative metabolism. *Food Bioprocess Technol.* 8, 1532-1542. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1518-8>
- Sargent, S.A., 1998. Handling and cooling techniques for maintaining postharvest quality, en: Hochmuth, G., Maynard, D. (Eds.), *Vegetable Production Guide for Florida*. University of Florida, Gainesville, pp. 1-13.
- Schillinger, U., Geisen, R., Holzapfel, W.H., 1996. Potential of antagonistic microorganisms and bacteriocins for the biological preservation of foods. *Trends Food Sci. Technol.* 7, 158-164. [https://doi.org/10.1016/0924-2244\(96\)81256-8](https://doi.org/10.1016/0924-2244(96)81256-8)
- Schulz, M., Biluca, F.C., Gonzaga, L.V., Borges, G. da S.C., Vitali, L., Micke, G.A., de Gois, J.S., de Almeida, T.S., Borges, D.L.G., Miller, P.R.M., Costa, A.C.O., Fett, R., 2017. Bioaccessibility of bioactive compounds and antioxidant potential of juçara fruits (*Euterpe edulis* Martius) subjected to *in vitro* gastrointestinal digestion. *Food Chem.* 228, 447-454. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.038>
- Selcuk, N., Erkan, M., 2015. The effects of modified and palliflex controlled atmosphere storage on postharvest quality and composition of 'Istanbul' medlar fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 99, 9-19. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.07.004>
- Serrano, M., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Guillén, F., Valero, D., 2004. Effect of preharvest sprays containing calcium, magnesium and titanium on the quality of peaches and nectarines at harvest and during postharvest storage. *J. Sci. Food Agric.* 84, 1270-1276. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1753>
- Seymour, I.J., Burfoot, D., Smith, R.L., Cox, L.A., Lockwood, A., 2002. Ultrasound decontamination of minimally processed fruits and vegetables. *Int. J. Food Sci. Technol.* 37, 547-557. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2002.00613.x>
- Sgroppo, S.C., Pereyra, M. V., 2009. Using mild heat treatment to improve the bioactive related compounds on fresh-cut green bell peppers. *Int. J. Food Sci. Technol.* 44, 1793-1801. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.01998.x>
- Sharma, R.R., Singh, D., Singh, R., 2009. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: A review. *Biol. Control* 50, 205-221. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.05.001>

- Siddiq, M., Roidoung, S., Sogi, D.S., Dolan, K.D., 2013. Total phenolics, antioxidant properties and quality of fresh-cut onions (*Allium cepa* L.) treated with mild-heat. *Food Chem.* 136, 803-806. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.023>
- Siddiq, M., Sogi, D.S., Dolan, K.D., 2013. Antioxidant properties, total phenolics, and quality of fresh-cut "Tommy Atkins" mangoes as affected by different pre-treatments. *LWT - Food Sci. Technol.* 53, 156-162. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.01.017>
- Silva, G.J., Medeiros Souza, T., Barbieri, R.L., Costa de Oliveira, A., 2014. Origin, domestication, and dispersing of pear (*Pyrus* spp.). *Adv. Agric.* 2014, ID article 541097. <https://doi.org/10.1155/2014/541097>
- Silveira, A.C., Aguayo, E., Artés, F., 2010. Emerging sanitizers and Clean Room packaging for improving the microbial quality of fresh-cut "Galia" melon. *Food Control* 21, 863-871. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.11.017>
- Silveira, A.C., Aguayo, E., Escalona, V.H., Artés, F., 2011. Hot water treatment and peracetic acid to maintain fresh-cut Galia melon quality. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 12, 569-576. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2011.02.010>
- Simó, J., 2013. Millora genética del calçot (*Allium cepa* L.). Desenvolupament d'eines de selecció i aplicació a l'obtenció de nous cultivars. Universitat Politècnica de Catalunya (PhD thesis).
- Simó, J., Valero, J., Plans, M., Romero del Castillo, R., Casañas, F., 2013. Breeding onions (*Allium cepa* L.) for consumption as "calçots" (second-year resprouts). *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 152, 74-79. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.01.011>
- Siroli, L., Patrignani, F., Serrazanetti, D.I., Gardini, F., Lanciotti, R., 2015a. Innovative strategies based on the use of bio-control agents to improve the safety, shelf-life and quality of minimally processed fruits and vegetables. *Trends Food Sci. Technol.* 46, 302-310. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.04.014>
- Siroli, L., Patrignani, F., Serrazanetti, D.I., Tabanelli, G., Montanari, C., Gardini, F., Lanciotti, R., 2015b. Lactic acid bacteria and natural antimicrobials to improve the safety and shelf-life of minimally processed sliced apples and lamb's lettuce. *Food Microbiol.* 47, 74-84. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.11.008>
- Siroli, L., Patrignani, F., Serrazanetti, D.I., Tabanelli, G., Montanari, C., Tappi, S., Rocculi, P., Gardini, F., Lanciotti, R., 2014. Efficacy of natural antimicrobials to prolong the shelf-life of minimally processed apples packaged in modified atmosphere. *Food Control* 46, 403-411. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.05.049>
- Soliva-Fortuny, R.C., Alos-Saiz, N., Espachs-Barroso, A., Martín-Belloso, O., 2004a. Influence of maturity at processing on quality attributes of fresh-cut conference pears. *J. Food Sci.* 69, S290-S294.
- Soliva-Fortuny, R.C., Elez-Martínez, P., Martín-Belloso, O., 2004b. Microbiological and biochemical stability of fresh-cut apples preserved by modified atmosphere packaging. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 5, 215-224. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2003.11.004>
- Soliva-Fortuny, R.C., Grigelmo-Miguel, N., Hernando, I., Lluch, M.Á., Martín-Belloso, O., 2002a. Effect of minimal processing on the textural and structural properties of fresh-cut pears. *J. Sci. Food Agric.* 82, 1682-1688. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1248>

Introducción general

- Soliva-Fortuny, R.C., Martín-Belloso, O., 2003a. New advances in extending the shelf-life of fresh-cut fruits: A review. *Trends Food Sci. Technol.* 14, 341-353. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(03\)00054-2](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(03)00054-2)
- Soliva-Fortuny, R.C., Martín-Belloso, O., 2003b. Microbiological and biochemical changes in minimally processed fresh-cut Conference pears. *Eur. Food Res. Technol.* 217, 4-9. <https://doi.org/10.1007/s00217-003-0701-8>
- Soliva-Fortuny, R.C., Oms-Oliu, G., Martín-Belloso, O., 2002b. Effects of ripeness stages on the storage atmosphere, color, and textural properties of minimally processed apple slices. *J. Food Sci.* 67, 1958-1963. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08752.x>
- Soliva-Fortuny, R.C., Ricart-Coll, M., Martín-Belloso, O., 2005. Sensory quality and internal atmosphere of fresh-cut Golden Delicious apples. *Int. J. Food Sci. Technol.* 40, 369-375. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.00934.x>
- Solomos, T., 2017. Aspects of the biology and physics underlying modified atmosphere packaging, en: Yildiz, F., Wiley, R.C. (Eds.), *Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables*. Springer, pp. 17-34.
- Son, S.M., Moon, K.D., Lee, C.Y., 2001. Inhibitory effects of various antibrowning agents on apple slices. *Food Chem.* 73, 23-30. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00274-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00274-0)
- Soria, A.C., Villamiel, M., 2010. Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: A review. *Trends Food Sci. Technol.* 21, 323-331. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.04.003>
- Spadoni, A., Guidarelli, M., Phillips, J., Mari, M., Wisniewski, M., 2015. Transcriptional profiling of apple fruit in response to heat treatment: Involvement of a defense response during *Penicillium expansum* infection. *Postharvest Biol. Technol.* 101, 37-48. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.10.009>
- Stringer, S.C., Plowman, J., Peck, M.W., 2007. The microbiological quality of hot water-washed broccoli florets and cut green beans. *J. Appl. Microbiol.* 102, 41-50. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03065.x>
- Suslow, T. V., 2004. Oxidation-reduction potential (ORP) for water disinfection monitoring, control, and documentation. *ANR Publ.* 8149, 1-5.
- Teixeira, G.H.A., Cunha Júnior, L.C., Ferraudo, A.S., Durigan, J.F., 2016. Quality of guava (*Psidium guajava* L. cv. Pedro Sato) fruit stored in low-O₂ controlled atmospheres is negatively affected by increasing levels of CO₂. *Postharvest Biol. Technol.* 111, 62-68. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.07.022>
- Teixeira, G.H.A., Durigan, J.F., Alves, R.E., O'Hare, T.J., 2007. Use of modified atmosphere to extend shelf life of fresh-cut carambola (*Averrhoa carambola* L. cv. Fwang Tung). *Acta Hort.* 44, 80-85. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.11.007>
- Toivonen, P.M.A., 2006. Fresh-cut apples: Challenges and opportunities for multi-disciplinary research. *Can. J. Plant Sci.* 86, 1361-1368.
- Toivonen, P.M.A., Brummell, D.A., 2008. Biochemical bases of appearance and texture changes in

- fresh-cut fruit and vegetables. *Postharvest Biol. Technol.* 48, 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.09.004>
- Toivonen, P.M.A., Delaquis, P., 2006. Low-volume sprays to treat fresh-sliced apples with anti-browning solution. *Horttechnology* 16, 257-261.
- Torres, E., Recasens, I., Lordan, J., Alegre, S., 2017. Combination of strategies to supply calcium and reduce bitter pit in "Golden Delicious" apples. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 217, 179-188. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.01.028>
- Tsouvaltzis, P., Siomos, A.S., Gerasopoulos, D., 2013. Effect of heat treatment on internal atmosphere and leaf extension of minimally processed leek stalks. *Int. J. Food Sci. Technol.* 48, 2105-2110. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12192>
- Tsouvaltzis, P., Siomos, A.S., Gerasopoulos, D., 2006. Effect of hot water treatment on leaf extension growth, fresh weight loss and color of stored minimally processed leeks. *Postharvest Biol. Technol.* 39, 56-60. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.06.009>
- Tsouvaltzis, P., Siomos, A.S., Gerasopoulos, D., Bosabalidis, A.M., 2010. Extension, anatomy and metabolic activity of leaves in minimally processed leek stalks. *Postharvest Biol. Technol.* 57, 149-154. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.04.004>
- Tudela, J.A., Cantos, E., Espín, J.C., Tomás-Barberán, F.-A., Gil, M.I., 2002. Induction of antioxidant flavonol biosynthesis in fresh-cut potatoes. Effect of domestic cooking. *J. Agric. Food Chem.* 50, 5925-5931. <https://doi.org/10.1021/jf020330y>
- Usall, J., Ippolito, A., Sisquella, M., Neri, F., 2016. Physical treatments to control postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. *Postharvest Biol. Technol.* 122, 30-40. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.05.002>
- Valencia, 2017. La IV gama de frutas y hortalizas espera crecer un 10 % hasta 2020 [WWW Document]. URL <http://valenciafruits.com/la-iv-gama-de-frutas-y-hortalizas-espera-crecer-un-10-hasta-2020/>
- Vandekinderen, I., Devlieghere, F., Van Camp, J., Denon, Q., Alarcon, S.S., Ragaert, P., De Meulenaer, B., 2009a. Impact of a decontamination step with peroxyacetic acid on the shelf-life, sensory quality and nutrient content of grated carrots packed under equilibrium modified atmosphere and stored at 7 °C. *Postharvest Biol. Technol.* 54, 141-152. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.06.007>
- Vandekinderen, I., Van Camp, J., De Meulenaer, B., Veramme, K., Denon, Q., Ragaert, P., Devlieghere, F., 2007. The effect of the decontamination process on the microbial and nutritional quality of fresh-cut vegetables. *Acta Hortic.* 746, 173-179. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2007.746.19>
- Vandekinderen, I., Van Camp, J., Devlieghere, F., Ragaert, P., Veramme, K., Bernaert, N., Denon, Q., De Meulenaer, B., 2009b. Evaluation of the use of decontamination agents during fresh-cut leek processing and quantification of their effect on its total quality by means of a multidisciplinary approach. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 10, 363-373. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.02.002>
- Vandekinderen, I., Van Camp, J., Devlieghere, F., Veramme, K., Bernaert, N., Denon, Q., Ragaert, P., De Meulenaer, B., 2009c. Effect of decontamination on the microbial load, the sensory

- quality and the nutrient retention of ready-to-eat white cabbage. *Eur. Food Res. Technol.* 229, 443-455. <https://doi.org/10.1007/s00217-009-1069-1>
- Viña, S.Z., Chaves, A.R., 2003. Texture changes in fresh cut celery during refrigerated storage. *J. Sci. Food Agric.* 83, 1308-1314. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1540>
- Viñas, I., 2013. Introducción a la poscosecha de las frutas, en: Viñas, I., Recasens, I., Usall, J., Graell, J. (Eds.), *Poscosecha de pera, manzana y melocotón*. Mundi-prensa, Madrid, pp. 1-9.
- Virto, R., Sanz, D., Álvarez, I., Condón, Raso, J., 2005. Inactivation kinetics of *Yersinia enterocolitica* by citric and lactic acid at different temperatures. *Int. J. Food Microbiol.* 103, 251-257. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.11.036>
- Wagner, M., Brumelis, D., Gehr, R., 2002. Disinfection of wastewater by hydrogen peroxide or peracetic acid: development of procedures for measurement of residual disinfectant and application to a physicochemically treated municipal effluent. *Water Environ. Res.* 74, 33-50. <https://doi.org/10.2175/106143002X139730>
- Wan, J., Mawson, R., Ashokkumar, M., Ronacher, K., Coventry, M., Roginski, H., 2005. Emerging processing technologies for functional foods. *Aust. J. Dairy Technol.* 60.
- Wang, H., Feng, H., Luo, Y., 2007. Control of browning and microbial growth on fresh-cut apples by sequential treatment of sanitizers and calcium ascorbate. *J. Food Sci.* 72, M001-7. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00210.x>
- Wang, W., Ma, X., Zou, M., Jiang, P., Hu, W., Li, J., Zhi, Z., Chen, J., Li, S., Ding, T., Ye, X., Liu, D., 2015. Effects of ultrasound on spoilage microorganisms, quality, and antioxidant capacity of postharvest cherry tomatoes. *J. Food Sci.* 80, C2117-C2126. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12955>
- Wechtersbach, L., Cigić, B., 2007. Reduction of dehydroascorbic acid at low pH. *J. Biochem. Biophys. Methods* 70, 767-772. <https://doi.org/10.1016/j.jbbm.2007.04.007>
- WHO, FAO, 2003. Diet, nutrition and the prevention of chronic disease. WHO Tech. Rep. Ser. 916, 23-25.
- Wiley, R.C., Yildiz, F., 2017. Introduction to minimally processed refrigerated (MPR) fruits and vegetables, en: Yildiz, F., Wiley, R.C. (Eds.), *Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables*. Springer, New York, NY, pp. 3-15.
- Wohlgemuth, S., Loh, G., Blaut, M., 2010. Recent developments and perspectives in the investigation of probiotic effects. *Int. J. Med. Microbiol.* 300, 3-10. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2009.08.003>
- Xiao, D., Pinto, J.T., Gundersen, G.G., Weinstein, I.B., 2005. Effects of a series of organosulfur compounds on mitotic arrest and induction of apoptosis in colon cancer cells. *Mol. Cancer Ther.* 4, 1388-1398. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-05-0152>
- Yan, S., Luo, Y., Zhou, B., Ingram, D.T., 2017. Dual effectiveness of ascorbic acid and ethanol combined treatment to inhibit browning and inactivate pathogens on fresh-cut apples. *LWT - Food Sci. Technol.* 80, 311-320. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.02.021>

- Yoruk, R., Marshall, M., 2003. Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: A review. *J. Food Biochem.* 27, 361-422. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2003.tb00289.x>
- Yu, H., Neal, J.A., Sirsat, S.A., 2018. Consumers' food safety risk perceptions and willingness to pay for fresh-cut produce with lower risk of foodborne illness. *Food Control* 86, 83-89. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.11.014>
- Zambrano-Zaragoza, M.L., Gutiérrez-Cortez, E., Del Real, A., González-Reza, R.M., Galindo-Pérez, M.J., Quintanar-Guerrero, D., 2014. Fresh-cut Red Delicious apples coating using tocopherol/mucilage nanoemulsion: Effect of coating on polyphenol oxidase and pectin methylesterase activities. *Food Res. Int.* 62, 974-983. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.05.011>
- Zang, J., Wang, D., Zhao, G., 2013. Mechanism of discoloration in processed garlic and onion. *Trends Food Sci. Technol.* 30, 162-173. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.01.008>
- Zawistowski, J., Biliaderis, C., Eskin, N., 1991. Polyphenol oxidases, en: Robinson, D., Eskin, N. (Eds.), *Oxidative enzymes in Foods*. Elsevier, London, UK, pp. 217-273.
- Zhang, M., Meng, X., Bhandari, B., Fang, Z., Chen, H., 2014. Recent application of modified atmosphere packaging (MAP) in fresh and fresh-cut foods. *Food Rev. Int.* 31, 172-193. <https://doi.org/10.1080/87559129.2014.981826>
- Zhao, Y., Wang, C., 2015. Effect of calcium chloride in combination with salicylic acid on post-harvest freshness of apples. *Food Sci. Biotechnol.* 24, 1139-1146. <https://doi.org/10.1007/s10068-015-0145-5>

OBJETIVOS

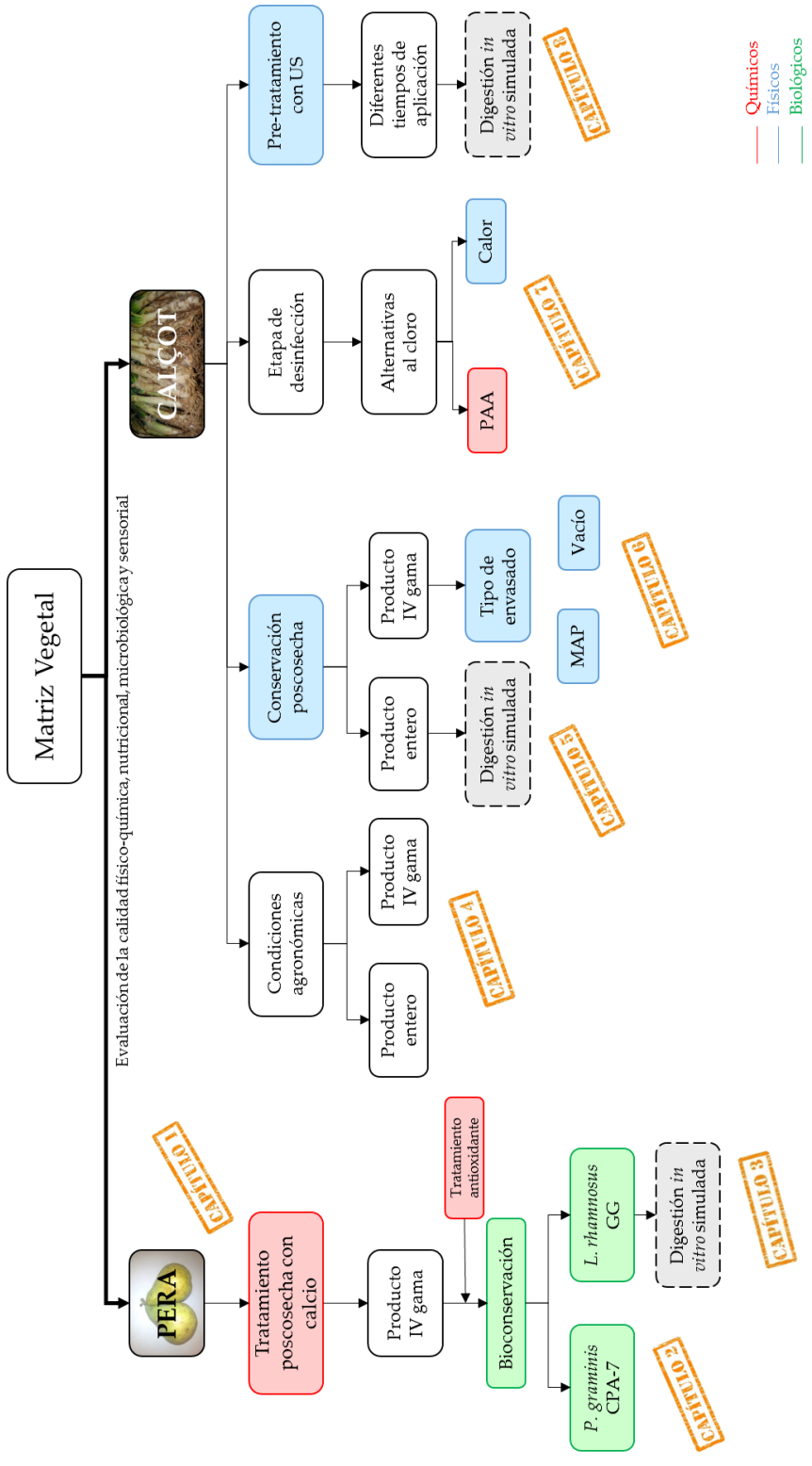
El objetivo principal de esta tesis doctoral fue evaluar el efecto de diferentes estrategias de poscosecha y procesado mínimo sobre la calidad de dos matrices alimentarias vegetales distintas (pera y calçot). Los objetivos específicos se detallan a continuación:

- 1. Evaluar el efecto del tratamiento poscosecha con sales de calcio, la conservación frigorífica y la aptitud al procesado mínimo en la calidad de pera “Conference”**
 - 1.1. Efecto del tratamiento poscosecha con sales de calcio en la calidad de pera durante la conservación en frío.
 - 1.2. Efecto del tratamiento poscosecha con calcio en la aptitud para el procesado y la vida útil de la pera mínimamente procesada.
- 2. Evaluar el efecto del agente de biocontrol *Pseudomonas graminis* CPA-7 sobre la calidad físico-química, nutricional y actividad enzimática de la pera mínimamente procesada tratada o no con CaCl₂ en poscosecha**
- 3. Evaluar el efecto del probiótico *Lactobacillus rhamnosus* GG sobre la calidad de la pera mínimamente procesada tratada o no con CaCl₂ en poscosecha**
 - 3.1. Efecto de *Lactobacillus rhamnosus* GG sobre la calidad físico-química, nutricional y actividad enzimática de la pera mínimamente procesada.
 - 3.2. Efecto de la digestión *in vitro* simulada sobre la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales de la pera mínimamente procesada tratada con *L. rhamnosus* GG.
- 4. Evaluar el efecto de diferentes condiciones agronómicas sobre la calidad del calçot entero y mínimamente procesado**
 - 4.1. Efecto de la variedad, lugar y tiempo de plantación sobre los parámetros morfológicos, calidad físico-química y nutricional del calçot fresco o asado.
 - 4.2. Efecto de la variedad, lugar y tiempo de plantación sobre la calidad del calçot mínimamente procesado.
- 5. Evaluar el efecto de la conservación poscosecha en atmósferas controladas o frío sobre la calidad del calçot entero y del tipo de envasado sobre la calidad del calçot mínimamente procesado**
 - 5.1. Establecer posibles estrategias poscosecha basadas en la conservación del calçot en diferentes atmósferas controladas que mejoren o eviten el deterioro de la calidad de la materia prima antes de su procesado mínimo.
 - 5.2. Efecto de la digestión *in vitro* simulada sobre la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales del calçot conservado en diferentes atmósferas y posteriormente asado.
 - 5.3. Evaluar la aptitud del calçot al procesado mínimo, conservado en atmósfera controlada para obtener dos tipos de productos, un calçot mínimamente procesado envasado en atmósfera modificada y otro al vacío.

Objetivos

6. **Evaluar y optimizar diferentes sistemas de limpieza y desinfección del calçot con el objetivo de reducir la carga microbiana y alargar la vida útil**
7. **Evaluar la aplicación de ultrasonidos como pre-tratamiento con el objetivo de mejorar la desinfección, calidad físico-química y nutricional del calçot mínimamente procesado fresco**
 - 7.1. Efecto del tratamiento con ultrasonidos a diferentes tiempos sobre la desinfección, calidad físico-química, actividad antioxidante y compuestos antioxidantes del calçot mínimamente procesado fresco o asado.
 - 7.2. Efecto de la digestión *in vitro* simulada sobre la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales del calçot mínimamente procesado tratado con ultrasonidos fresco o asado.

PLAN DE TRABAJO



METODOLOGÍA

1. Efecto del tratamiento poscosecha con sales de calcio, la conservación frigorífica y la aptitud al procesado mínimo en la calidad de pera "Conference"

↳ Ensayo preliminar para determinar el tratamiento con calcio (Capítulo 1)

Peras de la variedad "Conference" procedentes de central hortofrutícola de la zona de Lleida que no hubiesen recibido ningún tratamiento con calcio fueron utilizadas para el ensayo. A su recepción, se trataron mediante inmersión en un baño con distintas concentraciones de cloruro de calcio y lactato de calcio (0, 1, 2 y 4 %, p/v) durante 10 min. A continuación, se secaron a temperatura ambiente durante 1 hora y se almacenaron durante 21 días a $0,0 \pm 0,5$ °C. Al final del tiempo de almacenamiento, se determinó el potencial antioxidante (actividad antioxidante, contenido total de fenoles y vitamina C), contenido de calcio en pulpa y actividad enzimática de la pared celular (enzimas PME y PG) de la pera entera (Figura 1).

Paralelamente, las peras tratadas o no con las sales de calcio, se procesaron mínimamente (desinfección con hipoclorito de sodio, aclarado, secado, pelado y corte) después del almacenamiento. Las peras se maduraron mediante el almacenamiento a 20 °C hasta alcanzar la madurez óptima ($44 \pm 3,2$ N) para su procesado. Una vez procesadas, las peras MP se sumergieron en un baño con agua de red o en un baño que contenía una solución antioxidante (2 % ácido ascórbico, 2 % citrato de sodio y 1 % cloruro cálcico, p/v) durante 2 min. Las muestras (120 g) se envasaron en bandejas de polipropileno selladas con un film de polipropileno no despegable (permeabilidad al oxígeno de $110 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1} \text{ atm}^{-1}$) y se conservaron durante 11 días a 4 °C. A los 0, 6 y 11 días de conservación se evaluó la calidad físico-química (color y textura), concentración de O₂ y CO₂ en el interior de los envases, aspecto visual y calidad sensorial (Figura 1).

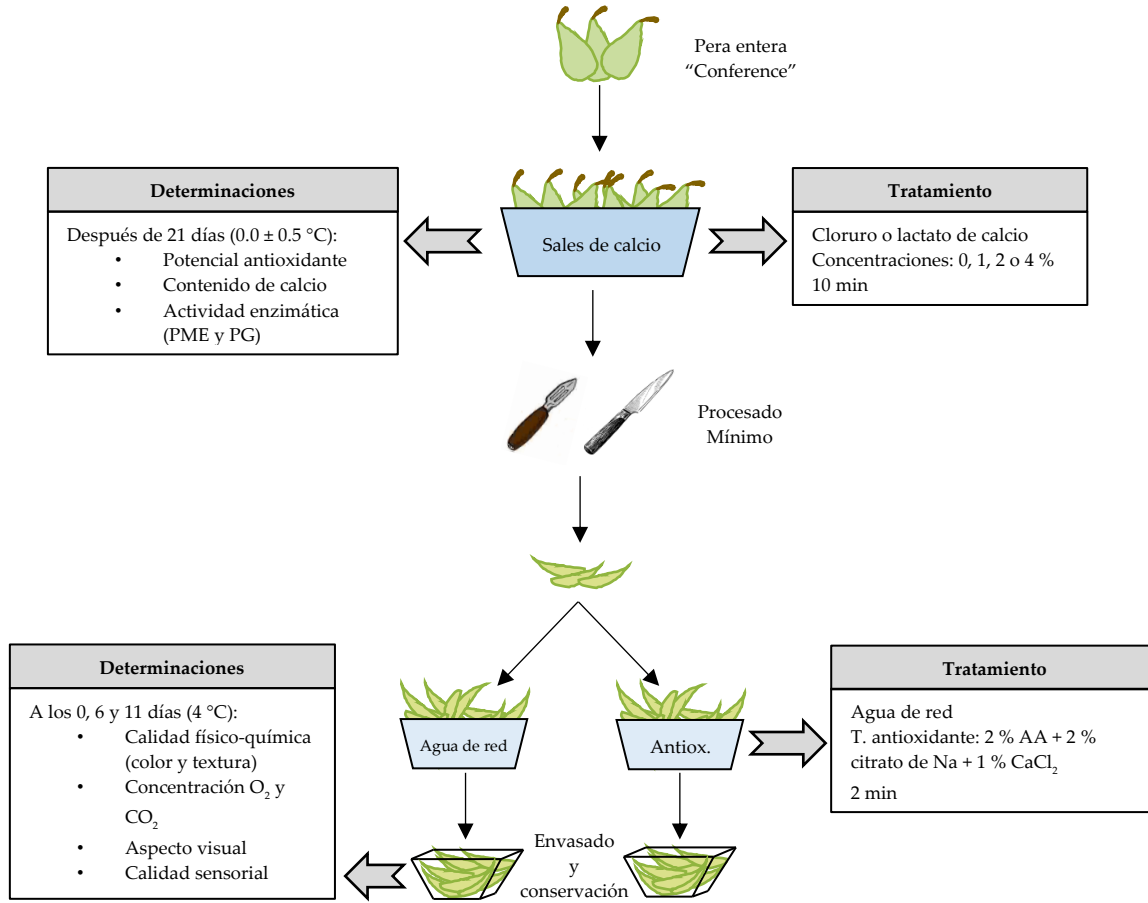


Figura 1. Efecto del tratamiento poscosecha con sales de calcio y el uso de una solución antioxidante sobre la calidad de las peras mínimamente procesadas (Capítulo 1).

↳ Efecto de la aplicación del agente de biocontrol *Pseudomonas graminis* CPA-7 sobre la calidad de la pera mínimamente procesada (Capítulo 2)

El objetivo fue determinar el efecto de la aplicación del agente de biocontrol *Pseudomonas graminis* CPA-7 y del probiótico *Lactobacillus rhamnosus* GG en la calidad físico-química, nutricional y su bioaccesibilidad. Este estudio se realizó en peras “Conference” procedentes de los tratamientos con (1 % CaCl₂) y sin calcio conservadas en atmosfera controlada (2 kPa O₂ y 1 kPa CO₂) durante 5 u 8 meses a 0,0 ± 0,5 °C. Las peras tratadas o no con cloruro de calcio, se procesaron mínimamente (desinfección con hipoclorito de sodio, aclarado, secado, pelado y corte) después del almacenamiento. Las peras se sometieron a un almacenamiento a 20 °C hasta alcanzar la madurez óptima (44 ± 3,2 N) para su procesado.

Las peras MP conservadas durante 5 meses se dividieron en 2 dos lotes, unas las que habían sido tratadas previamente con cloruro de calcio y otras las que no habían sido tratadas (Figura 2). Y a su vez, cada lote se dividió en 2 lotes, en los cuales las peras MP fueron sumergidas en la solución antioxidante previamente mencionada (Capítulo 1) con o sin el bioconservante *Pseudomonas graminis* CPA-7 (10⁷ ufc mL⁻¹). A continuación y después de un secado a temperatura ambiente, las peras MP (120 ± 5 g) se envasaron en barquetas (400 mL) de polietileno reciclado (rPET) selladas con un film despegable constituido por una película interna de poliéster biaxialmente orientado (OLAF) con propiedades antivaho y por una película externa de polipropileno orientado (OPP) con microperforaciones alineadas de 60-80 μm y 75 mm de separación entre ellas (permeabilidad al oxígeno de 180 cm³ m⁻² d⁻¹ atm⁻¹). Las peras MP envasadas se conservaron a 5 ± 1 °C durante 6 días. A los 0, 2 y 6 días de conservación se evaluó la calidad físico-química (color, firmeza, acidez y contenido de sólidos solubles) y visual, y además una porción de cada muestra se congeló con nitrógeno líquido, pulverizó y almacenó a -80 °C para los ensayos enzimáticos (PME, PG, PPO y POD), potencial antioxidante (actividad antioxidante, contenido total de fenoles y vitamina C) y contenido de calcio.

↳ Efecto de la aplicación del probiótico de *Lactobacillus rhamnosus* GG sobre la calidad de la pera mínimamente procesada (Capítulo 3)

Las peras MP conservadas durante 8 meses se dividieron en 2 dos lotes, las que habían sido tratadas previamente con cloruro de calcio y las que no habían sido tratadas (Figura 2). Y a su vez, cada lote se dividió en 2 lotes, en los cuales las peras MP fueron sumergidas en una solución antioxidante previamente mencionada (Capítulo 1) con o sin el probiótico *Lactobacillus rhamnosus* GG (10⁸ ufc mL⁻¹ en baño; 4 x 10⁷ ufc g⁻¹ en pera MP) y se secaron a temperatura ambiente. Las peras MP (120 ± 5 g) se envasaron en barquetas de polipropileno (375 mL) termoselladas con un film (PP-110) no despegable de polipropileno (permeabilidad al oxígeno de 110 cm³ m⁻² d⁻¹ atm⁻¹). Las muestras se almacenaron a 5 ± 1 °C durante 9 días. A los 0, 2, 6 y 9 días se evaluó la calidad físico-química (color, firmeza, acidez y contenido de sólidos solubles) y visual, y además una porción de cada muestra se congeló con nitrógeno líquido, pulverizó y almacenó a -80 °C para los ensayos enzimáticos (PPO, POD, PME y PG), potencial antioxidante (actividad antioxidante, contenido total de fenoles y vitamina C), contenido de calcio y digestión *in vitro* simulada.

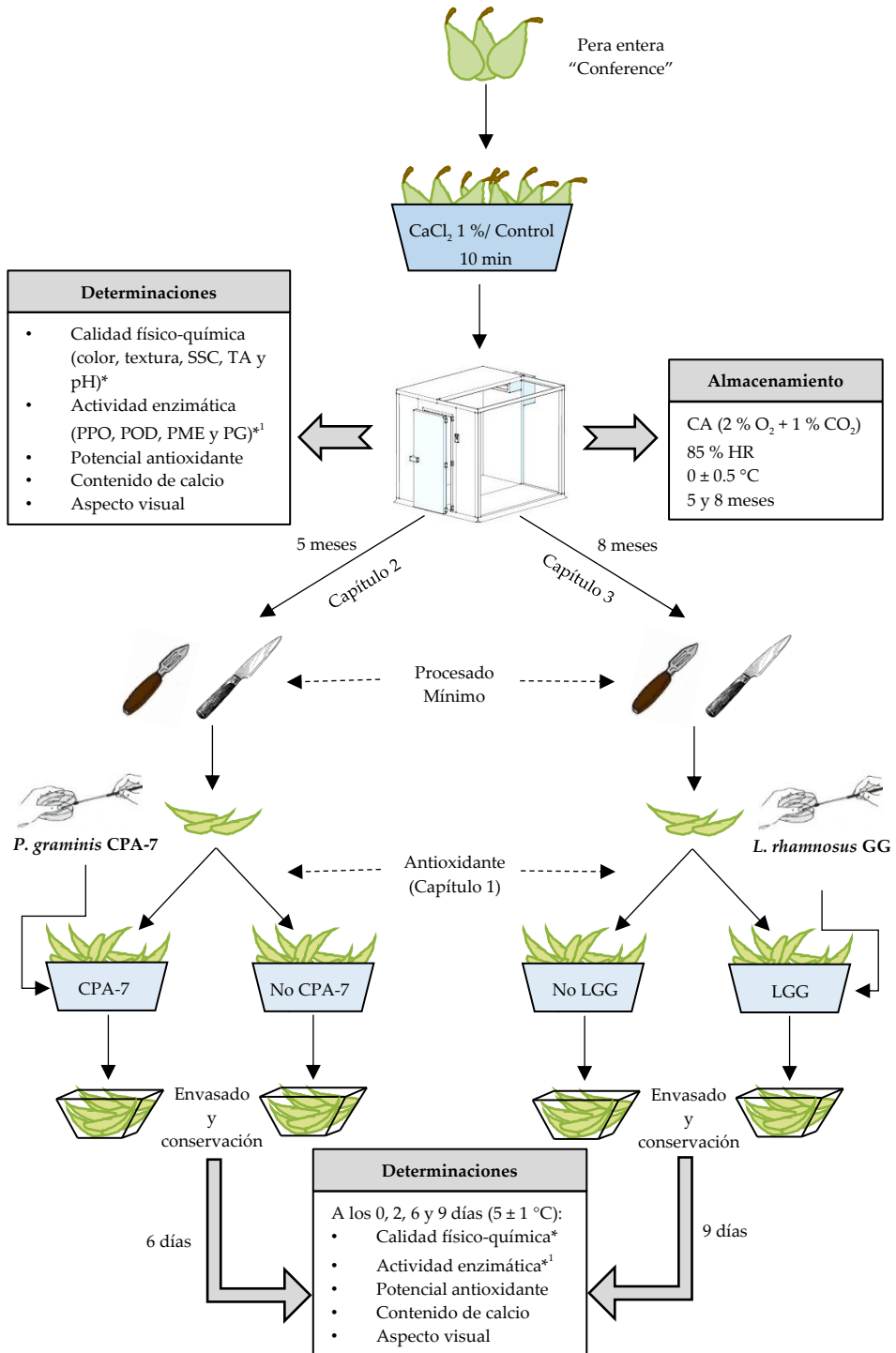


Figura 2. Efecto del tratamiento poscosecha con calcio y el uso de microorganismos bioconservantes sobre la calidad físico-química, nutricional y visual de las peras mínimamente procesadas (Capítulos 2 y 3).

↳ Estudio del efecto de la digestión *in vitro* simulada sobre el potencial antioxidante de las peras MP tratadas o no con *Lactobacillus rhamnosus* GG (Capítulos 3, 5 y 7)

La digestión *in vitro* simulada (método estático) de las peras MP del apartado anterior (día 0 y día 9) se realizó de acuerdo al método consensuado, estandarizado y publicado por Minekus et al. (2014) con pequeñas modificaciones (Figura 3). El método constaba de tres fases secuenciales: oral (pH 7, α -amilasa), gástrica (pH 3, pepsina) e intestinal (pH 7, pancreatina y bilis). El proceso está detallado en el *Capítulo 5*.

En resumen, 5 gramos de pera MP en polvo congelado (o calçot en el caso de los *Capítulos 5 y 7*) se mezclaron con 3,5 mL de flujo salivar simulado (SSF), 0,5 mL de α -amilasa en un Erlenmeyer y se incubaron bajo agitación (150 rpm) durante 2 min a 37,0 °C (estufa). A continuación, 10 mL de la fase oral se mezclaron con 7,5 mL de flujo gástrico simulado (SGF) y 1,6 mL de pepsina porcina. La mezcla se incubó bajo agitación (150 rpm) durante 2 horas a 37,0 °C. Por último, 10 mL de la mezcla gástrica se mezclaron con 5,5 mL del flujo intestinal simulado (SIF), 2,5 mL de pancreatina y 1,25 mL de bilis bovina. La mezcla se incubó bajo agitación (150 rpm) durante 2 horas a 37,0 °C. En todas las fases se utilizó una solución de CaCl₂ y agua como diluyentes. Además, se utilizaron NaOH y HCl con el objetivo de regular los pHs en cada fase. El pH se midió antes y después de cada fase. La composición de las soluciones está descrita en el artículo mencionado anteriormente.

Después de cada fase, se recogió una alícuota de cada muestra y se centrifugó a 13523 x g durante 15 min a 4 °C. El sobrenadante fue recuperado, congelado con nitrógeno líquido y almacenado en viales eppendorf a -80 °C para la determinación de actividad antioxidante y contenido total de fenoles.

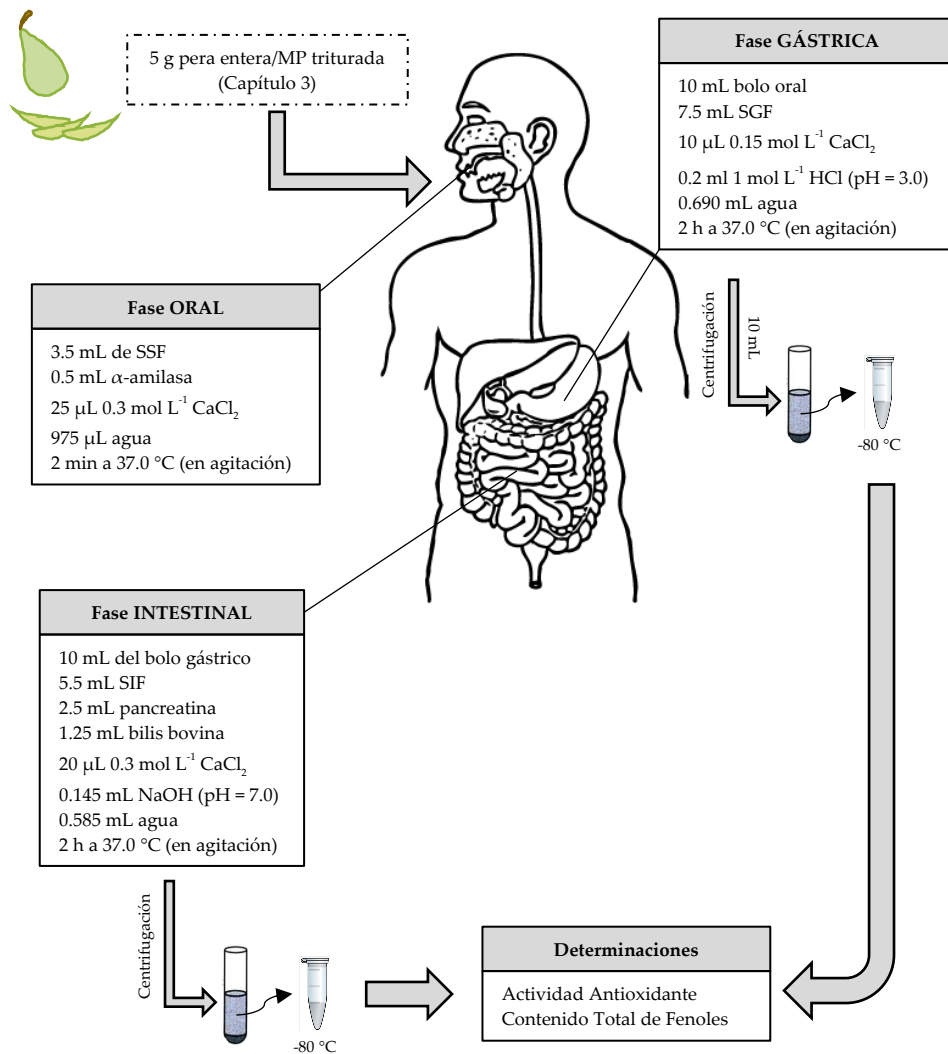


Figura 3. Efecto de la digestión *in vitro* simulada sobre el potencial antioxidante de peras y calçots (Capítulos 3, 5 y 7).

2. Efecto de diferentes condiciones agronómicas sobre la calidad del calçot entero y mínimamente procesado (Capítulo 4)

El experimento se llevó a cabo con dos variedades de cebolla blanca tardía de Lleida: tradicional y Montferri. Además, dichos cultivos se plantaron en dos localidades diferentes de Cataluña (Viladecans y La Juncosa del Montmell) durante los meses de agosto (temprana) y septiembre (tardía). Las muestras se clasificaron como V1, V2, V3 y V4 las cuales están descritas en la Figura 4.

Una vez los calçots fueron cosechados, se almacenaron en cámaras a presión atmosférica (1 °C, HR 85 %) durante 30 días. A los 0, 15 y 30 días se analizaron las características morfológicas (altura de la parte blanca, anchura de la parte blanca y peso), calidad físico-química (color, firmeza, sólidos solubles, acidez, pH), tasa respiratoria (concentración de CO₂) y además, una porción de cada muestra se congeló con nitrógeno líquido, pulverizo y almacenó a -80 °C para el análisis del potencial antioxidante (actividad antioxidante y contenido total de fenoles). Una parte de las muestras se sometió a un proceso térmico (270 °C, 8 min) para evaluar el efecto de la temperatura sobre el potencial antioxidante y realizar el análisis sensorial ya que los calçots se consumen habitualmente asados.

Además, los calçots almacenados durante 15 y 30 días se sometieron a un procesado mínimo que incluía la eliminación de la raíz, parte de las hojas verdes superiores y la primera capa externa con mayor suciedad, la desinfección con ácido peroxiacético (80 mg L⁻¹, 1 min) y centrifugación durante 95 s. Una vez desinfectados, se envasaron en bandejas de poliestireno con film retráctil a 4 °C durante 10 días. A los 0, 3, 7 y 10 días se analizó la calidad físico-química (color, firmeza, peso, sólidos solubles, acidez, pH), análisis sensorial (asados) y calidad microbiológica (bacterias mesófilas, mohos y levaduras) de los calçots MP.

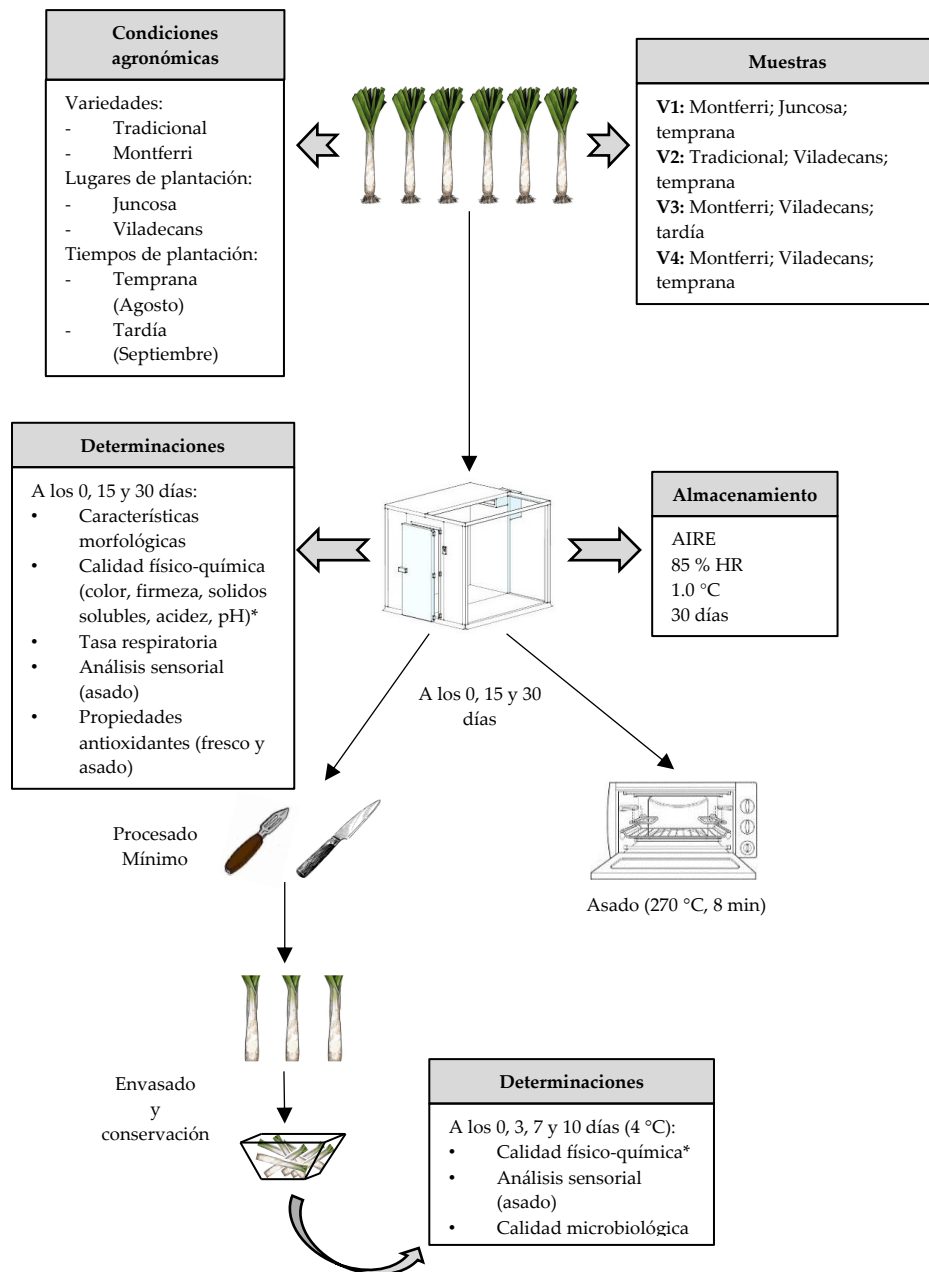


Figura 4. Efecto de la variedad, lugar y tiempo de plantación y almacenamiento sobre las características morfológicas, calidad físico-química, sensorial, microbiológica y potencial antioxidante del calçot (Capítulo 4).

3. Efecto de la conservación poscosecha en atmósferas controladas o frío sobre la calidad del calçot entero y del tipo de envasado sobre la calidad del calçot mínimamente procesado

↳ Efecto de la conservación en distintas atmósferas sobre la calidad físico-química y nutricional del calçot (Capítulo 5)

Los calçots proporcionados por la Cooperativa de Valls etiquetados bajo con Indicación Geográfica Protegida (IGP) “Calçot de Valls” se almacenaron durante 60 días bajo el sistema Palliflex400 (Van Amerongen, Biezenwei, Holanda) el cual es un sistema de conservación en palets. Cada unidad de Palliflex estaba compuesto por una funda y un palet de plástico especial en el que se colocaron las cajas de calçots. Este sistema permitió ajustar individualmente las condiciones de los gases en cada unidad. En dicho experimento se estudiaron tres tipos de atmósferas de conservación (1 °C, 85 % HR): control (aire), CA1: 2.0 kPa O₂ + 3.5 kPa CO₂ y CA2: 1.0 kPa O₂ + 2.0 kPa CO₂. A los 0, 30 y 60 días de almacenamiento se analizaron las características morfológicas (peso, diámetro superior, diámetro inferior, diámetro medio y longitud de la parte blanca), calidad físico-química (color, firmeza, pH, sólidos solubles, acidez), tasa respiratoria (concentración de CO₂) y además, una porción de cada muestra se congeló con nitrógeno líquido, pulverizó y almacenó a -80 °C para el análisis del potencial antioxidante (actividad antioxidante, contenido total de fenoles y flavonoides). Una parte de las muestras se sometió a un proceso térmico (270 °C, 8 min) para evaluar el efecto de la temperatura sobre el potencial antioxidante y realizar el análisis sensorial ya que los calçots se consumen habitualmente asados. Por último, los calçots almacenados en diferentes atmósferas y posteriormente asados, fueron sometidos a una digestión *in vitro* simulada (Capítulo 3).

↳ Efecto del tipo de envasado sobre la calidad físico-química y microbiológica del calçot mínimamente procesado (Capítulo 6)

En base a los resultados obtenidos en el *Capítulo 5*, los calçots utilizados para el procesado mínimo y envasado fueron aquellos almacenados en atmósfera controlada con una concentración de 1.0 kPa O₂ y 2.0 kPa CO₂ a 1 °C durante 30 y 60 días. El procesado mínimo se realizó tal y como se describe en el *Capítulo 4* pero se utilizó hipoclorito de sodio (100 mg L⁻¹, 1 min) en vez de ácido peroxiacético. Los calçots MP se envasaron utilizando dos tipos de envasado: atmósfera modificada (MAP) pasiva y vacío (VAC).

Las muestras pertenecientes al sistema MAP pasivo se almacenaron en bolsas Cryovac® BN3050W (200 mm x 310 mm) con una espesor de 48 µm y con una tasa de transmisión de oxígeno (OTR) de 5000 y de CO₂ de 22000 cm³ m⁻² d⁻¹ atm⁻¹. Las muestras de VAC se envasaron en bolsas de vacío (polipropileno, 150 x 300 mm) y fueron selladas utilizando una selladora (JOLLY LCD, Italia) con un vacío del 93 %. Las muestras tanto de MAP como de VAC fueron almacenadas durante 15 días a 4 °C. A los 0, 3, 6 y 15 días de almacenamiento, se analizó la concentración de gases en el espacio de cabeza (O₂ y CO₂) en el caso de MAP, calidad físico-química (sólidos solubles, acidez, pH, color, peso, firmeza) y calidad microbiológica (aerobios totales, mohos y levaduras).

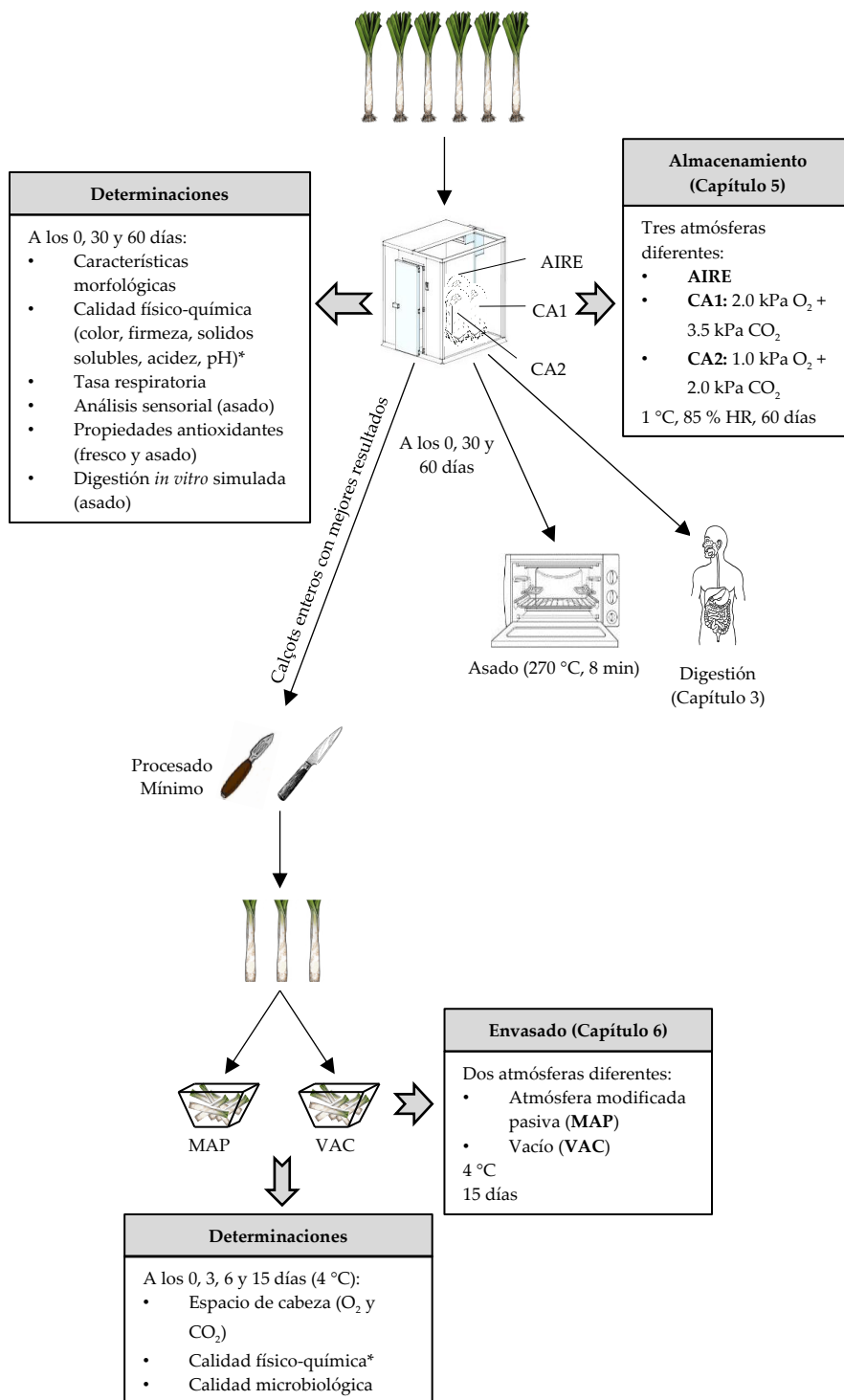


Figura 5. Efecto de diferentes atmósferas de conservación en poscosecha y el tipo de envasado sobre las características morfológicas, calidad físico-química, sensorial, microbiológica y potencial antioxidante del calçot (Capítulos 5 y 6).

4. Evaluación y optimización de diferentes sistemas de limpieza y desinfección del calçot mínimamente procesado (Capítulo 7)

Los calçots proporcionados por la Cooperativa de Valls etiquetados bajo la IGP “Calçot de Valls” fueron sometidos a un procesado mínimo que incluía la eliminación de la raíz, parte de las hojas verdes superiores y la primera capa externa con mayor suciedad. El lote de calçots MP se dividió en 4 lotes para aplicar cuatro tratamientos de desinfección diferentes: (1) control (sin desinfección), (2) 100 mg L⁻¹ hipoclorito de sodio (10 %, p/v), (3) 80 mg L⁻¹ ácido peroxiacético y (4) tratamiento térmico a 55 °C (Figura 6). Los tratamientos se aplicaron durante 1 min. En el caso de las soluciones químicas se midió el pH y el potencial de óxido-reducción (ORP) antes y después de los tratamientos. Además, en el caso del tratamiento con hipoclorito de sodio se midió el cloro libre.

Una vez los calçots MP fueron desinfectados, se centrifugaron a 210 rpm durante 95 segundos con el objetivo de eliminar el exceso de agua. En el caso de los calçots tratados con hipoclorito de sodio, se enjuagaron con agua durante 1 min antes de ser centrifugados. Por último, los calçots MP se envasaron en bandejas de poliestireno con film retráctil y se almacenaron durante 15 días a 4 °C. A los 0, 3, 6, 9 y 15 días se analizó la calidad microbiológica (bacterias mesófilas, mohos y levaduras), calidad físico-química (pH, sólidos solubles, acidez, peso, firmeza, color) y calidad visual.

5. Aplicación de ultrasonidos como pre-tratamiento con el objetivo de mejorar la calidad del calçot mínimamente procesado (Capítulo 8)

Los calçots proporcionados por la Cooperativa de Valls etiquetados bajo la IGP “Calçot de Valls” fueron almacenados en frío durante 15 días en condiciones frigoríficas antes de su procesado. Dichos calçots fueron sometidos a un procesado mínimo que incluía la eliminación de la raíz, parte de las hojas verdes superiores y la primera capa externa con mayor suciedad. A continuación, dichos calçots se desinfectaron con hipoclorito de sodio (100 mg L⁻¹) durante 1 min y se aclararon con agua de red durante 1 min. Una vez desinfectados, los calçots se secaron a temperatura ambiente. Una parte de estos calçots MP se guardó como Control.

El pre-tratamiento con ultrasonidos consistió en sumergir los calçots MP en un baño ultrasonidos que contenía agua de red durante 10, 25, 45 o 60 min con una frecuencia (40 kHz) y una potencia (250 W) constante (Figura 7). Además, se midió la temperatura antes y después de cada tiempo y repetición ya que el equipo no disponía de controlador de temperatura, siendo la temperatura inicial 17 ± 1 °C. Una vez se realizó el tratamiento, los calçots MP se secaron a temperatura ambiente. La mitad de las muestras se utilizó para la medida de firmeza, color y recuentos de aerobios totales, y la otra mitad se sometió a un tratamiento térmico (270 °C, 8 min). Una vez realizadas las determinaciones físico-químicas, microbiológicas y el proceso térmico, tanto las muestras frescas como las asadas se trituraron y congelaron con nitrógeno líquido y se almacenaron a -80 °C para la determinación del potencial antioxidante (actividad antioxidante y contenido total de fenoles) y la digestión *in vitro* simulada. La digestión *in vitro* se realizó tal y como se describe en el *Capítulo 3* con los calçots MP tratados durante 0, 10 y 25 min con ultrasonidos, tanto frescos como cocidos.

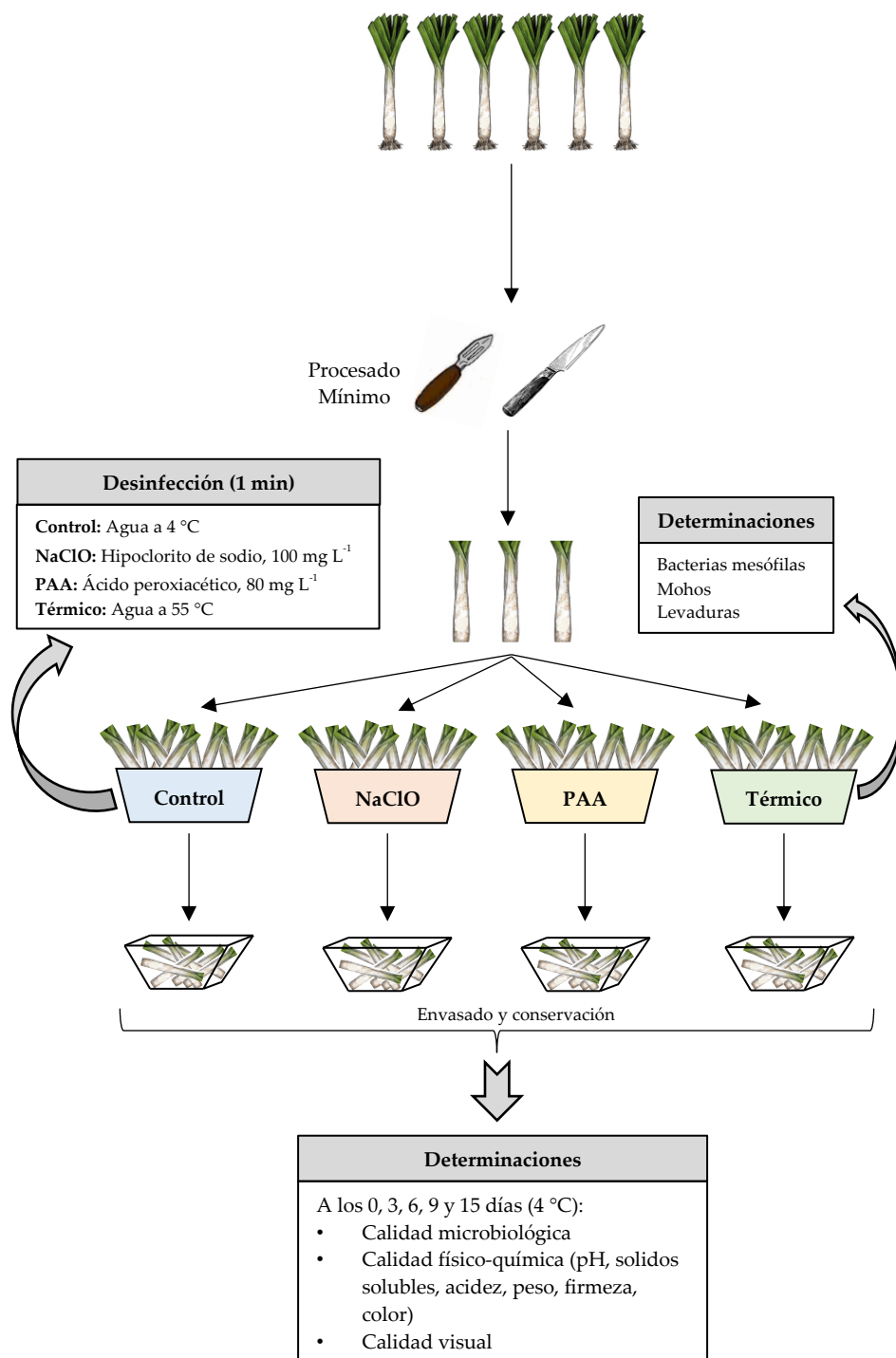


Figura 6. Efecto de diferentes tratamientos desinfectantes sobre la calidad microbiológica, físico-química y visual del calçot mínimamente procesado (Capítulo 7).

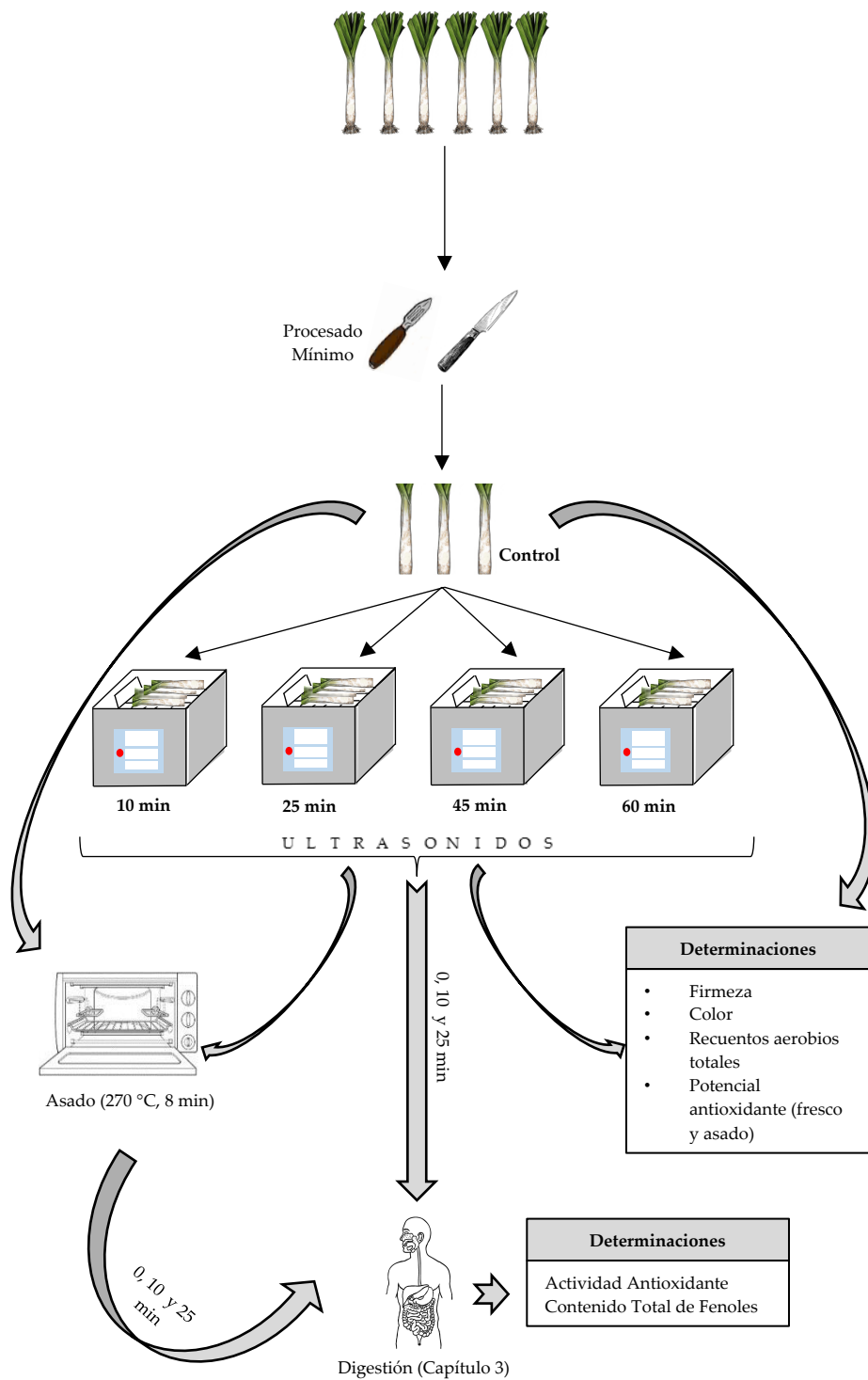


Figura 7. Efecto del pre-tratamiento con ultrasonidos sobre la calidad físico-química, microbiológica y potencial antioxidante del calçot mínimamente procesado (Capítulo 8).

RESULTADOS

CAPÍTULO 1

Effect of calcium salts and antioxidant treatments on the storage quality of fresh-cut pears

L. Zudaire, I. Viñas, T. Lafarga, L. Plaza, G. Echeverria, G. Bobo, R. Altisent,
I. Aguiló-Aguayo

Journal of Food Processing and Preservation (enviado)

ABSTRACT

This study evaluated the effects of calcium chloride or calcium lactate at different concentrations on the quality and nutritional parameters of whole 'Conference' pears. Moreover, the effect of calcium salts and an antioxidant solution on the quality and sensorial attributes of fresh-cut pears was also evaluated during 11 days of storage at 4 °C. The results showed that neither the application of calcium chloride nor calcium lactate had effect on parameters including antioxidant activity, vitamin C content, or total phenolic content. Postharvest treatment with calcium chloride at 1 % (w/v) followed by minimal processing and dipping in an antioxidant solution (2 % ascorbic acid, 2 % sodium citrate and 1 % calcium chloride) and storage at 4 °C could be the most suitable combination to maintain the quality of fresh-cut 'Conference' pears during a 6-day storage period.

Practical applications

The consumption trend of fruits and vegetables has changed mainly because nowadays consumers demand for not only freshness and healthiness but also for convenience. Processing of fruits can promote enzymatic browning, softening, and tissue degradation. Therefore, the use of novel consumer-friendly processing methodologies. The prevention of softening and enzymatic browning, the main problems affecting fresh-cut fruit's quality, is usually carried out by dipping the minimally processed fruit in ascorbic acid, which acts as a reducing agent, in combination with other organic acids or calcium salts. Results obtained in the current study would open novel commercial opportunities for improving the quality and shelf-life of minimally processed pears.

Keywords: fresh-cut pears, fruit processing, minimal processing, calcium salts, antioxidant activity

1. Introduction

The consumption trend of fruits and vegetables has changed mainly because nowadays consumers demand for not only freshness and healthiness but also for convenience (Qadri et al., 2015). Over the last decade, a large number of fresh-cut fruits and vegetables which satisfy those requirements have been developed and are currently being commercialized all around the world. The United Fresh Produce Association defines fresh-cut produce as any fruit or vegetable or any combination thereof that has been physically altered but remains in the fresh state (Oliveira et al., 2015). In Europe, fresh-cut fruits represent approximately 10 % of the total fresh-cut market volume and their market has grown over the last years especially in countries like Germany and Spain (Baselice et al., 2017). ‘Conference’ pear (*Pyrus communis* L cv. Conference) is a Spanish variety recognized as a Protected Denomination Origin fruit. Its production reached 355,410 tons in 2015, 39.5 % of which were produced in Lleida, Spain (MAGRAMA, 2017). The main characteristics of these pears are their low protein, lipid, and glucose content and high levels of other sugars such as fructose, sorbitol, and sucrose. Moreover, they are rich in vitamins, minerals, and antioxidant compounds (Colás-Medà et al., 2015) and several studies have suggested their potential for being used in the fresh-cut industry (Colás-Medà et al., 2017; Collazo et al., 2017; Iglesias et al., 2018, 2017).

Minimal processing includes operations such as cutting, dicing, washing, decontamination, and packaging (Graça et al., 2017). These operations can promote enzymatic browning, softening, tissue degradation (Colás-Medà et al., 2017), decreasing of nutrition value, presence of off-flavors, or microbiological spoilage (Ma et al., 2017). Calcium plays an important role in maintaining the quality of fruit (mainly firmness) and it is well known to protect the integrity of cell membranes by reducing membrane permeability (Kou et al., 2015), pectin solubilisation, and matrix glycan breakdown (Belge et al., 2017) and by delaying membrane lipid catabolism (Manganaris et al., 2007). Moreover, calcium treatment has been suggested to be one of the most effective treatment to reduce the activities of pectin methyl esterase (PME, EC 3.1.1.11) and polygalacturonase (PG, EC 3.2.2.67) (Kou et al., 2015). PME and PG have a coordinated action because PG acts on the demethylated substrate produced by the action of PME (Alandes et al., 2009). The effect of calcium on the firmness of fruit consists on the activation of PME by binding itself to the enzyme as a cofactor (Alandes et al., 2009) and with the interaction with pectin to produce calcium pectate (Ayón-Reyna et al., 2017). Calcium pectate increases the rigidity of the middle lamella and retards PG activity (Aguayo et al., 2008). Calcium chloride has been traditionally used in pre-harvest, post-harvest, and fresh-cut fruit, but nowadays other calcium salts such as calcium lactate and calcium propionate are also being evaluated as alternative calcium sources (Manganaris et al., 2005). One of the advantages of these salts is that they are more bioavailable than inorganic salts (Hernández-Muñoz et al., 2006) and previous studies suggested that calcium lactate can reduce bitterness and off-flavors (Rico et al., 2007). Besides firmness, browning is a limiting factor in the shelf-life of fresh-cut fruits. Enzymatic browning is caused mainly by the action of polyphenol oxidase (PPO, EC 1.10.3.2) and peroxidase (POD, EC 1.11.1.7) (García Loredó et al., 2013). The prevention of softening and enzymatic browning is usually carried out by dipping the minimally processed fruit or vegetable in ascorbic acid, which acts as a reducing agent, in combination with other organic acids or calcium salts (García Loredó et al., 2013; Giacalone and Chiabrando, 2013).

One of the aims of the present study was to assess the effect of different concentrations of calcium chloride and calcium lactate on the antioxidant potential and on the content of calcium, vitamin C (VCC), and total phenols (TPC) of ‘Conference’ pears. The effect of these salts on the activity of the PME and PG was also evaluated. Furthermore, the current paper also studied the combined effect of calcium salts and an antioxidant solution on key quality parameters such as color, firmness, sweetness, or visual appearance of minimally processed pears over an 11-day storage period.

2. Materials and methods

2.1 Chemicals and reagents

Methanol, iron (III) chloride 6-hydrate, sodium hypochlorite, citric acid, and sodium citrate were obtained from Panreac (Barcelona, Spain). 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), L-ascorbic acid, 2,4,6-Tri(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ), sodium carbonate, gallic acid, calcium chloride, polygalacturonic acid, boric acid, 2-cyano-acetamide, and tris(2-carboxyethyl) phosphine hydrochloride (TCEP) were purchased from Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany). Hydrochloric acid, potassium dihydrogen phosphate, and Folin-Ciocalteu's reagent were obtained from VWR (Llinars del Vallès, Spain). Ascorbic acid was purchased from Qemical (Barcelona, Spain). Calcium was obtained from Scharlab (Barcelona, Spain). All chemicals and reagents were of analytical grade.

2.2 Plant material: Post-harvest calcium treatment and storage conditions

'Conference' pears were purchased from local packinghouses in Lleida, Spain. After selection for uniformity of size, firmness, and colour (data not shown) and freedom from defects, the samples were divided into seven lots, one for each water or calcium treatment. All treatments included immersion of the whole fruit in either T0 (control, tap water), T1 (1 % w/v calcium chloride), T2 (2 % w/v calcium chloride), T3 (4 % w/v calcium chloride), T4 (1 % w/v calcium lactate), T5 (2 % w/v calcium lactate), or T6 (4 % w/v calcium lactate) at 25 °C during 10 min. The fruits were allowed to drain at room temperature for 1 h before storage at 0.0 ± 0.5 °C for 21 d. After storage, approximately half of the samples were frozen using liquid nitrogen, milled, and further stored at -80 °C until further use.

2.3 Assessment of antioxidant activity

Antioxidant activity was determined using two different methods, DPPH scavenging and FRAP assays. The extraction and the determination procedures were carried out following the method described by Plaza et al. (2016). Results were expressed as μmol of ascorbic acid equivalents per 100 g.

2.4 Determination of the total phenolic content (TPC)

The extraction and determination of TPC were determined by the Folin Ciocalteu method following the modifications described by Altisent et al. (2014). Results were expressed as mg of gallic acid equivalent per 100 g.

2.5 Determination of the vitamin C content (VCC)

Total vitamin C content (ascorbic acid and dehydroascorbic acid) was determined in triplicate by high performance liquid chromatography (HPLC) using a Waters 717 plus Autosampler HPLC system (Waters Corp., NJ, USA) coupled to an ultraviolet (UV) detector following the method previously described by Plaza et al. (2016). Results were expressed as mg of ascorbic acid per 100 g.

2.6 Enzymatic activity

2.6.1 Pectin methyl esterase (PME) activity assay

PME activity was determined according to the method of Plaza et al. (2003) with some modifications. Briefly, the enzyme was extracted by homogenization of 5 g of sample with 10 mL of 0.2 mol L⁻¹ sodium phosphate buffer (pH 7.5) containing 1 mol L⁻¹ sodium chloride. The resulting mixture was vigorously shaken for 10 min and centrifuged using a Sigma 3-18KS centrifuge (Osterode am Harz, Germany) at 13,523 × g during 20 min at 4 °C. PME activity was determined titrimetrically at 25 °C by mixing 2 mL of enzymatic extract with 40 mL of a pectin-salt substrate solution (0.35% w/v pectin containing 0.1 mol L⁻¹ sodium chloride). The pH of the solution was adjusted to 7.5 using 1 mol L⁻¹ sodium hydroxide. After pH adjustment, 0.1 mL of 0.05 mol L⁻¹ sodium hydroxide were added and the time needed to recover pH 7.5 was measured. A PME unit was defined on a fresh weight basis as the amount of enzyme required to release 1 μmol of carboxyl groups per second.

2.6.2 Polygalacturonase (PG) activity assay

PG activity was determined following the methodology described by Van linden et al. (2008) with some modifications. Briefly, 6 g of sample were homogenized with 9 mL of cold deionized water. The pH of the mixture was adjusted to pH 3.0 using hydrochloric acid, stirred for 5 min, and centrifuged using a Sigma 3-18KS centrifuge (Osterode am Harz, Germany) at 13,523 × g during 20 min at 4 °C. Reaction mixtures consisted of 350 μL of a 0.2 % (w/v) buffered polygalacturonic acid solution containing 0.04 mol L⁻¹ sodium acetate at pH 4.4, and 50 μL of the enzyme extract. Reaction mixtures were incubated at 40 °C for 10 min. The reaction was stopped by adding 2 mL of cold 0.1 mol L⁻¹ borate buffer (pH 9.0). Finally, 0.4 mL of 1 % (w/v) 2-cyano-acetamide solution were added to the reaction mixture which was further incubated at 100 °C for 10 min and immediately cooled in an ice bath. The absorbance was determined using a GENESYST™ 10S-UV Vis spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, MA, USA) at 276 nm and 22 °C. Enzyme activity was calculated on a fresh weight basis as the release of reducing groups per min.

2.7 Determination of calcium content

Determination of calcium was performed by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) using an ACTIVA-M CCD spectrometer (Horiba Ltd., Kyoto, Japan). The instrument was calibrated using a mono-elemental atomic absorption standard solution for calcium. Sample pretreatment was carried out on a MLS 1200 mega microwave (Milestone, Milan, Italy) with HNO₃ (700 mL L⁻¹), H₂O₂ (300 mL L⁻¹), and nano-pure water. The optic emission was measured at 393 nm and results were expressed as mg of calcium per kg on a fresh weight basis.

2.8 Fruit processing and storage

Samples T0-T6 were stored for 21 d as previously described. After this storage period, pears were cleaned and sanitized by immersion into 0.1 g L⁻¹ sodium hypochlorite (pH 6.5 adjusted using citric acid), rinsed, and dried prior to cutting operations. The pears were ripened by storage at 20 °C until the optimum ripeness stage for processing was reached (Iglesias et al., 2018). Pears were peeled and cut into 10 wedges each using a disinfected handheld apple corer and slicer. Slices of samples T0-T6 were divided into two batches each: one batch was used as a control and was dipped in tap water for 2 min and the other one was treated with an antioxidant solution consisting of 2 % (w/v)

ascorbic acid, 2 % (w/v) sodium citrate, and 1 % (w/v) calcium chloride for 2 min. All of the samples were allowed to dry at room conditions and approximately 120 g of the sliced pears were placed in polypropylene trays (120 × 120 × 55 mm) and heat-sealed with a non-peelable polypropylene PP-110 film (ILPRA, Barcelona, Spain) of 64 µm thickness with an oxygen permeability of 110 cm³ m² d⁻¹ atm⁻¹ at 23 °C and 90 % of relative humidity. Pear trays were stored at 4 °C for 11 d and samples were analyzed at days 0, 6, and 11.

2.9 Color and texture measurement

Ten color recordings were taken per sample at every sampling point using a Minolta CR-200 colorimeter (Minolta INC, Tokyo, Japan). CIE values were recorded in terms of L^* (lightness), a^* (redness, greenness), and b^* (yellowness/blueness). Calibration was carried out using a standard white tile (Y: 92.5, x: 0.3161, y: 0.3321) provided by the manufacturer and the D65 illuminant, which approximates to daylight. CIE values were used to calculate the browning index (BI) as previously described by Liu et al. (2016). In addition, firmness was determined following the methodology described by Plaza et al. (2016).

2.10 Respiration rate

The respiration rate of the minimally processed pears was measured in duplicate following the methodology described by Altisent et al. (2014) using the static method in a closed system with a gas analyzer (Checkmate 3, PBI Dansensor, Ringsted, Denmark). The gas analyser was equipped with a solid-state zirconia ion-selective electrode for oxygen determination. To measure carbon dioxide, the gas analyser used a full-scale temperature compensated IR sensor.

2.11 Visual appearance and sensory analysis of fresh-cut pears

The visual quality in each replicate was determined by an untrained panel of 10 people, following a previously described methodology (Altisent et al., 2014) based on the following hedonic scale: 9 excellent; 7 very good; 5 good (limit of marketability); 3 fair (limit of usability); and 1 poor (inedible). Based on visual quality results, only pears treated with the antioxidant solution were utilized for sensory evaluation. Consumer tests were carried out following the methodology described by (Giné-Bordonaba et al., 2016). Briefly, seven pear slices, one for each treatment (T0-T6) were placed on a white plate and presented to an untrained panel of 30 consumers after 6 and 11 days of cold storage at 4 °C. All the consumers were regular pear consumers and were the same for all the evaluations assessed. Each piece was identified by a random three-digit code and the order of presentation of the pieces was randomized for each tester. Mineral water was used as a palate cleaner between tastings. Each consumer assessed all the samples and was asked to indicate his or her opinion on the overall acceptability of the product using a 9-point hedonic scale (from 1: dislike extremely to 9: like extremely). Sweetness, crunchiness, and firmness were also evaluated with a 5-point hedonic scale (from 1: no perception to 5: strong perception) for each attribute considered. The samples could be re-tasted as often as desired.

2.11 Statistical analysis

Results were expressed as mean \pm standard error of the mean (SEM). All statistical analyses were performed using JMP 8 software (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Normality of the data and equality of variances were tested using the Shapiro-Wilk *W* and Levene tests, respectively. In case of non-normality or unequal variances, the non-parametric equivalents (Wilcoxon/Kruskal-Wallis Tests) were used. Significant differences were calculated using one-way analysis of variance (ANOVA) and post-hoc HSD Tukey and Student's *t*-test were used to check differences. The criterion for statistical significance was $p < 0.05$.

3. Results and discussion

3.1 Effect of calcium treatments and low temperature storage on fruit quality

The current study evaluated the effect of calcium treatment on the physical and nutritional quality of pears (Figure 1). The antioxidant potential was assessed using both, the FRAP and the DPPH radical scavenging activity. Calcium treatment of fruits resulted in increased antioxidant activity in other fruits including apples (Aguayo et al., 2015) and cherries (Aghdam et al., 2013) previously. Results obtained in the current study suggested that the use of calcium salts did not affect the antioxidant potential of the samples when compared to the control. However, the use of calcium chloride at a concentration of 1 % (w/v; T1) resulted in increased antioxidant activity of pears when compared to the same salt at a concentration of 2 % (w/v; T2) ($p < 0.05$). Although the effect of coating could be expected to be higher because of a much longer contact time with calcium, similar results were previously reported in a study carried out by Kou et al. (2014). The authors of this study observed a decrease in the antioxidant potential of the pulp and peel of pears after coating with calcium chloride (2 % w/v, 15 min, 20 °C). Edible coatings can also act as a selective barrier to moisture, oxygen, and carbon dioxide gas transfer (Xiao et al., 2011).

The current study also assessed the effects of different post-harvest calcium treatments on the VCC content of pears (Figure 1). Previous studies including a paper recently published by Aguayo et al. (2015) reported a 5-fold higher ascorbic acid content in apples after dipping of apples in calcium ascorbate at a concentration of 6% (w/v). Results obtained herein suggest that this trend can be also observed after treatment using calcium chloride and calcium lactate, although the differences observed herein were not statistically significant ($p < 0.05$).

In addition, results obtained in the current study suggested that postharvest application of calcium chloride and calcium lactate did not affect the TPC of the samples when compared to the control (Figure 1). However, a significant decrease in the TPC was observed in T2 when compared to T1 ($p < 0.05$). Sample T1 showed the highest TPC which was calculated as 6.99 ± 0.41 mg 100 g⁻¹ on a fresh weight basis. Some previously published studies suggested that calcium salts triggered the biosynthetic pathways of phenols and other antioxidant compounds and their utilization resulted in increased TPC in cherries (Aghdam et al., 2013). In addition, although the TPC was reduced after treatment, Kou et al. (2014) observed an improvement in the retention of phenolic compounds of pears after treatment with calcium chloride (2% w/v, 15 min, 20 °C) when compared to the untreated control. In the current study, the use of calcium chloride and calcium lactate, at the studied concentrations, and after a 21-day storage period did not significantly affect the TPC of pears.

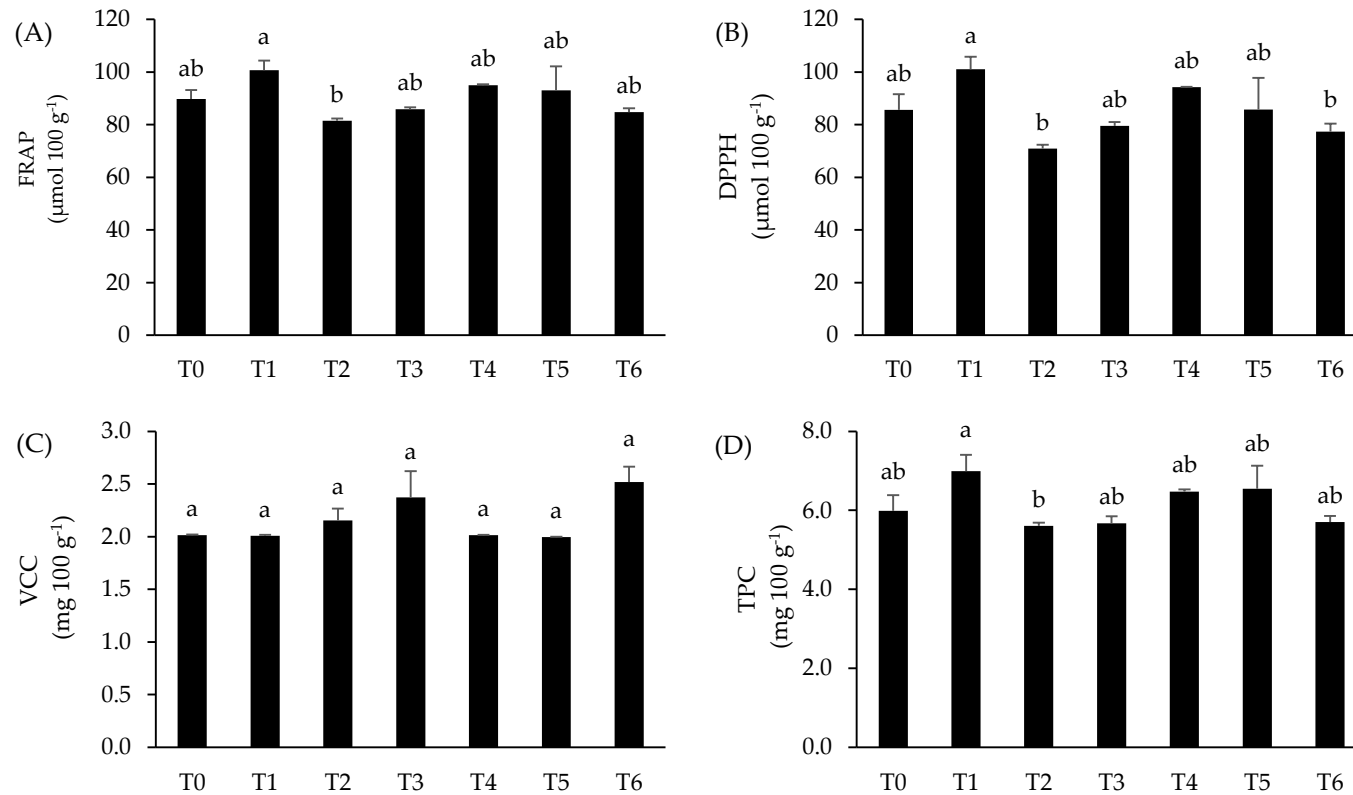


Figure 1. Antioxidant activity assessed using the (A) FRAP and (B) DPPH· scavenging assays, (C) VCC, (D) TPC, activity of the enzymes (E) PME and (F) PG, and (G) calcium content of 'Conference' pears (I). Values represent the means of three independent experiments ± SEM. Bars with different letters have mean values that are significantly different ($p < 0.05$).

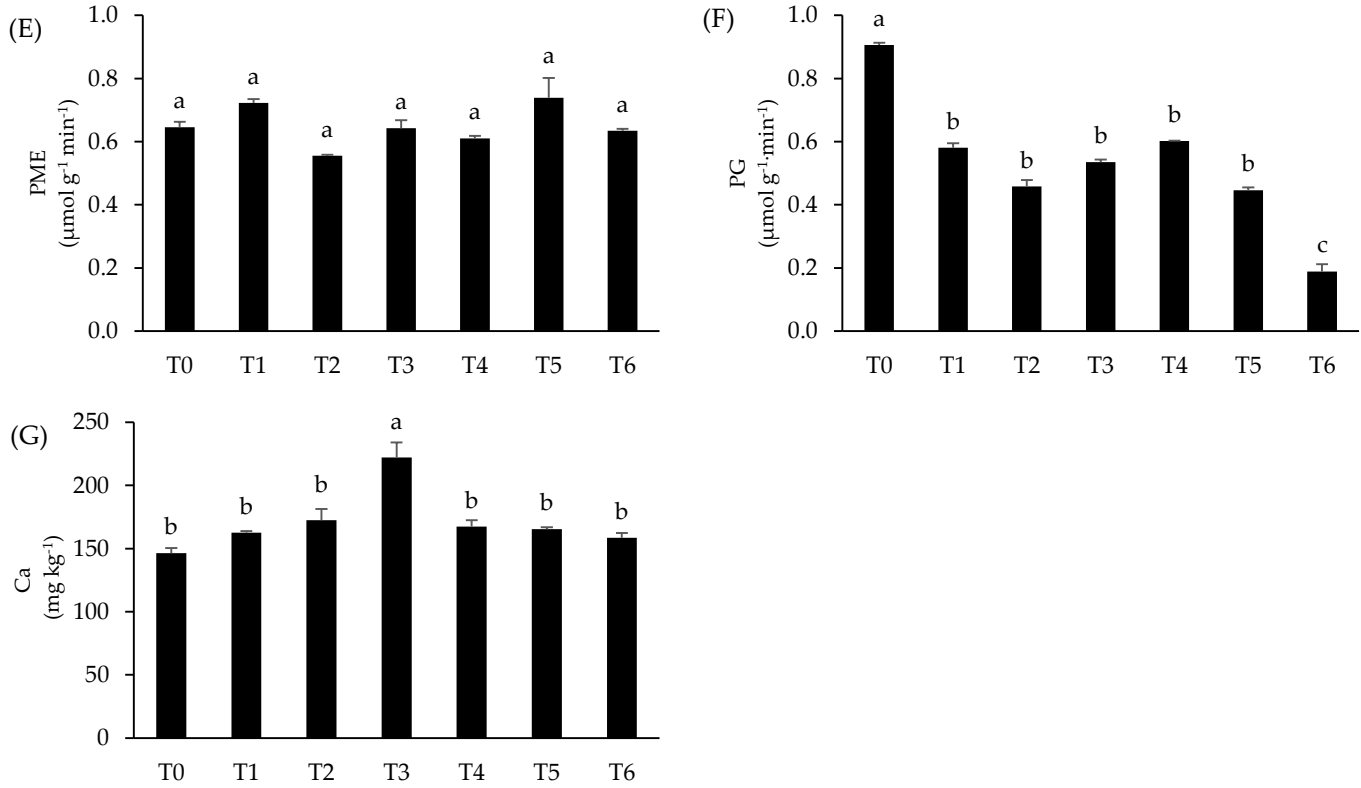


Figure 1. Antioxidant activity assessed using the (A) FRAP and (B) DPPH· scavenging assays, (C) VCC, (D) TPC, activity of the enzymes (E) PME and (F) PG, and (G) calcium content of 'Conference' pears (II). Values represent the means of three independent experiments ± SEM. Bars with different letters have mean values that are significantly different ($p < 0.05$).

Calcium was suggested to activate enzymes related to the degradation of cell wall components such as PME and PG (Alandes et al., 2009). These enzymes are responsible for fruit softening and their inhibition or control is important in order to increase the products' shelf-life. Texture is a crucial quality trait orienting consumer choice and, therefore, a key parameter to control. The effect of calcium salts on the activity of both enzymes was evaluated. Results, shown in Figure 1, suggested that none of the studied conditions affected the activity of PME. However, both calcium treatments were effective in reducing the activity of PG ($p < 0.05$). Recently, Fortes et al., (2017) suggested that calcium could inhibit PG activity *in vitro* and that the observed reduction in calcium concentration could be linked to an increased PG activity. The reduction in the activity of PG was especially high in T6 (4 % calcium lactate) ($p < 0.05$). Similar results were reported previously by Chuni et al. (2010) who observed that calcium treatment of dragon fruit caused a decrease in the activity of PG when treated at high concentrations. In that study, the authors also observed a decrease in the activity of PME. The same effects were observed after the postharvest calcium treatment of apricots (Wu et al., 2015).

Furthermore, the utilization of calcium salts did not affect the calcium content of the sample. Only the use of calcium chloride at a concentration of 4% (w/v; T3) resulted in increased calcium concentration ($p < 0.05$). Overall, none of the studied treatments affected the antioxidant potential, the VCC, or the TPC of the samples. Although the antioxidant activity and the TPC of pears treated using calcium chloride at a concentration of 1% (w/v; T1) was not significantly different to that of the control (T0), these were higher when compared to pears treated using calcium chloride at a concentration of 2 % (w/v; T2). T1 was also effective at reducing the activity of the enzyme PG ($p < 0.05$).

3.2 Effect of postharvest calcium treatments on fresh-cut 'Conference' pears

3.2.1 Respiration rate

Table 1 shows the respiration rate of samples T0-T6 treated with or without antioxidant during an 11-day storage period at 4 °C. Overall, respiration rate increased significantly after a 6-day of storage period at 4 °C and at day 11 all the oxygen was consumed. Values were higher in those samples with antioxidant treatment when compared to those untreated. There was no clear influence by calcium treatment on the respiration rate of fresh-cut pears. In addition, for those samples not treated with the antioxidant solution, the utilization of calcium salts significantly increased their respiration rate, with the exception of T2, where no differences were observed ($p < 0.05$). In turn, no differences were observed between the respirations rates of samples treated with the antioxidant solution. Results contrast with previous studies that suggested that postharvest calcium treatments can decrease the metabolic activity of fruit tissues as well as the respiration rate (Tappi et al., 2017).

Table 1. Concentration of oxygen and carbon dioxide in fresh-cut pears during storage.

Treatment	Antioxidant	O ₂ [kPa]			CO ₂ [kPa]		
		Day 0	Day 6	Day 11	Day 0	Day 6	Day 11
T0	No	21.0 ± 0.0 ^{Aa}	6.0 ± 0.3 ^{Aa}	0.0 ± 0.0 ^{Aa}	0.0 ± 0.0 ^{Aa}	9.7 ± 0.1 ^{Bd}	16.0 ± 0.4 ^{Bc}
	Yes	21.0 ± 0.0 ^{Aa}	2.1 ± 0.6 ^{Ba}	0.0 ± 0.0 ^{Aa}	0.0 ± 0.0 ^{Aa}	12.3 ± 0.4 ^{Abc}	18.8 ± 0.3 ^{Ad}
T1	No	21.0 ± 0.0 ^{Aa}	2.1 ± 0.4 ^{Ab}	0.0 ± 0.0 ^{Aa}	0.0 ± 0.0 ^{Aa}	12.5 ± 0.3 ^{Abc}	19.1 ± 0.4 ^{Ab}
	Yes	21.0 ± 0.0 ^{Aa}	1.4 ± 0.3 ^{Aa}	0.0 ± 0.0 ^{Aa}	0.0 ± 0.0 ^{Aa}	12.9 ± 0.2 ^{Ac}	20.1 ± 0.4 ^{Ac^d}
T2	No	21.0 ± 0.0 ^{Aa}	4.2 ± 0.3 ^{Aa}	0.0 ± 0.0 ^{Aa}	0.0 ± 0.0 ^{Aa}	11.0 ± 0.1 ^{Bd}	18.9 ± 0.2 ^{Bb}
	Yes	21.0 ± 0.0 ^{Aa}	0.8 ± 0.2 ^{Ba}	0.0 ± 0.0 ^{Aa}	0.0 ± 0.0 ^{Aa}	14.2 ± 0.6 ^{Aabc}	21.7 ± 0.8 ^{Abc}
T3	No	21.0 ± 0.0 ^{Aa}	0.7 ± 0.5 ^{Ab}	0.0 ± 0.1 ^{Aa}	0.1 ± 0.4 ^{Aa}	13.9 ± 0.4 ^{Bab}	20.4 ± 0.7 ^{Bb}
	Yes	21.0 ± 0.0 ^{Aa}	0.7 ± 0.1 ^{Aa}	0.0 ± 0.0 ^{Aa}	0.0 ± 0.0 ^{Aa}	15.5 ± 0.4 ^{Aab}	23.9 ± 0.1 ^{Ab}
T4	No	21.0 ± 0.0 ^{Aa}	1.4 ± 0.5 ^{Ab}	0.0 ± 0.0 ^{Aa}	0.0 ± 0.0 ^{Aa}	13.4 ± 0.3 ^{Bab}	19.8 ± 0.6 ^{Bb}
	Yes	21.0 ± 0.0 ^{Aa}	0.2 ± 0.1 ^{Ba}	0.0 ± 0.0 ^{Aa}	0.0 ± 0.0 ^{Aa}	14.6 ± 0.2 ^{Aabc}	21.7 ± 0.4 ^{Abc}
T5	No	21.0 ± 0.0 ^{Aa}	1.7 ± 0.3 ^{Ab}	0.0 ± 0.0 ^{Aa}	0.0 ± 0.0 ^{Aa}	13.2 ± 0.3 ^{Bab}	18.9 ± 0.2 ^{Bb}
	Yes	21.0 ± 0.0 ^{Aa}	0.3 ± 0.1 ^{Ba}	0.0 ± 0.0 ^{Aa}	0.0 ± 0.0 ^{Aa}	14.5 ± 0.1 ^{Aabc}	22.2 ± 0.5 ^{Abc}
T6	No	21.0 ± 0.0 ^{Aa}	1.3 ± 0.5 ^{Ab}	0.0 ± 0.0 ^{Aa}	0.0 ± 0.0 ^{Aa}	14.1 ± 0.7 ^{Ba}	24.5 ± 0.8 ^{Aa}
	Yes	21.0 ± 0.0 ^{Aa}	0.0 ± 0.0 ^{Ba}	0.0 ± 0.0 ^{Aa}	0.0 ± 0.0 ^{Aa}	17.8 ± 0.7 ^{Aa}	27.2 ± 1.1 ^{Aa}

Capital letters indicate significant differences between samples treated with or without antioxidant for each calcium treatment at each sampling point. Lower case letters indicate significant differences between calcium treatments at each sampling date ($p < 0.05$).

3.2.2 Color and texture

Table 2 lists the L^* , a^* , and b^* values as well as the BI and firmness for each sample. Overall, the BI was lower and firmness was higher in those samples treated with antioxidant solution when compared to those left untreated. For example, the BI at day 11 of sample T1 treated with the antioxidant solution was significantly lower when compared to that of the untreated sample ($p < 0.05$). The antioxidant solution contained 2 % (w/v) ascorbic acid, which is widely used to avoid enzymatic browning during storage of fruits. For example, Gorny et al. (2002) demonstrated that immersion of 'Barlett' fresh-cut pears in an antioxidant solution which contained 2 % (w/v) ascorbic acid, 1 % (w/v) calcium lactate, and 0.5 % (w/v) cysteine, completely inhibited the surface darkness up to 8 days at 0 °C. Moreover, the authors of that study suggested that a minimum concentration of 2 % (w/v) ascorbic acid and 1 % (w/v) calcium lactate were necessary to inhibit browning. There were no significant differences in the BI values between samples and a clear trend was not observed. T1 showed the lowest values for samples treated with antioxidant solution after 6 and 11-day of storage period at 4 °C. No differences were observed in the BI of T0 treated with or without antioxidant at days 0, 6, and 11. CIE values of all samples treated with the antioxidant solution remained in acceptable levels during the 11-day storage period at 4 °C considering the threshold values of L^* (>38), a^* (<2) and b^* (<17) proposed by Chen et al. (2010). Overall, the use of antioxidant resulted in a decrease of the a^* value at days 6 and 11 for all the studied calcium treatments as well as for the control ($p < 0.05$). In addition, dipping pear slices in the antioxidant solution resulted in increased L^* value at day 11 for all the samples treated with calcium ($p < 0.05$). However, although an increase in the L^* value of T0 was also observed at day 11 after usage of antioxidant, this was not statistically significant. Overall, different calcium treatments did not affect the color of fresh-cut pears and there were no significant differences between the firmness values of fresh-cut pears neither in non-treated nor in dipped in antioxidant solution (Table 2, $p > 0.05$). However, the use of antioxidant resulted in improved retention of firmness after 11 days of storage in samples T0, T1, T2, T3, and T5 ($p < 0.05$). The antioxidant solution utilized in the current study contained 1 % (w/v) calcium chloride which is usually used for the maintenance of firmness in fresh-cuts fruit and vegetables (Toivonen and Brummell, 2008). The observed increase in firmness at day 11 was not observed at day 6 for samples T0 and T2.

Table 2. Colour and texture changes during storage of minimally processed 'Conference' pears (I).

Treatment	Antioxidant	L*			a*		
		Day 0	Day 6	Day 11	Day 0	Day 6	Day 11
T0	No	76.75 ± 0.74 ^{Aa}	75.04 ± 0.56 ^{Aa}	72.83 ± 0.79 ^{Aa}	-2.61 ± 0.21 ^{Aab}	-2.28 ± 0.11 ^{Aab}	-2.12 ± 0.11 ^{Aa}
	Yes	76.59 ± 2.08 ^{Aa}	74.97 ± 2.93 ^{Aa}	74.91 ± 3.63 ^{Aab}	-3.60 ± 0.30 ^{Bb}	-3.05 ± 0.11 ^{Ba}	-2.73 ± 0.10 ^{Ba}
T1	No	75.88 ± 1.36 ^{Aa}	74.53 ± 0.64 ^{Aa}	69.60 ± 1.04 ^{Ba}	-2.52 ± 0.19 ^{Aa}	-2.29 ± 0.14 ^{Aab}	-1.84 ± 0.13 ^{Aa}
	Yes	76.28 ± 1.07 ^{Aa}	75.17 ± 0.58 ^{Aa}	75.17 ± 0.58 ^{Aa}	-2.66 ± 0.16 ^{Aab}	-3.31 ± 0.13 ^{Ba}	-2.97 ± 0.10 ^{Ba}
T2	No	76.39 ± 0.58 ^{Ba}	73.07 ± 0.89 ^{Aa}	72.38 ± 0.76 ^{Aa}	-2.46 ± 0.14 ^{Aa}	-2.30 ± 0.28 ^{Aab}	-1.99 ± 0.12 ^{Aa}
	Yes	79.49 ± 0.48 ^{Aa}	74.73 ± 0.64 ^{Aa}	74.28 ± 0.70 ^{Aab}	-2.53 ± 0.14 ^{Aa}	-2.95 ± 0.16 ^{Ba}	-2.69 ± 0.09 ^{Ba}
T3	No	78.45 ± 0.68 ^{Aa}	74.06 ± 0.61 ^{Aa}	69.47 ± 1.06 ^{Ba}	-3.41 ± 0.30 ^{Ab}	-2.28 ± 0.14 ^{Aab}	-1.60 ± 0.16 ^{Aa}
	Yes	75.62 ± 0.74 ^{Ba}	74.10 ± 0.76 ^{Aa}	73.57 ± 0.82 ^{Aab}	-3.17 ± 0.28 ^{Aab}	-2.96 ± 0.11 ^{Ba}	-2.59 ± 0.10 ^{Ba}
T4	No	77.02 ± 0.63 ^{Aa}	73.71 ± 0.63 ^{Ba}	70.94 ± 0.84 ^{Ba}	-2.71 ± 0.15 ^{Aab}	-2.71 ± 0.13 ^{Ab}	-1.99 ± 0.11 ^{Aa}
	Yes	75.66 ± 1.67 ^{Aa}	75.56 ± 0.65 ^{Aa}	74.61 ± 0.56 ^{Aab}	-2.76 ± 0.13 ^{Aab}	-3.09 ± 0.10 ^{Ba}	-2.82 ± 0.09 ^{Ba}
T5	No	76.23 ± 0.87 ^{Aa}	72.45 ± 0.71 ^{Ba}	70.83 ± 0.74 ^{Aa}	-2.38 ± 0.10 ^{Aa}	-1.82 ± 0.15 ^{Aa}	-2.05 ± 0.13 ^{Aa}
	Yes	76.48 ± 0.94 ^{Aa}	75.93 ± 0.66 ^{Aa}	72.61 ± 1.12 ^{Ab}	-3.20 ± 0.23 ^{Bab}	-3.11 ± 0.14 ^{Ba}	-2.97 ± 0.15 ^{Ba}
T6	No	77.49 ± 0.80 ^{Aa}	73.99 ± 0.71 ^{Aa}	71.55 ± 1.03 ^{Ba}	-2.85 ± 0.28 ^{Aab}	-2.16 ± 0.09 ^{Aab}	-2.20 ± 0.17 ^{Aa}
	Yes	76.97 ± 0.78 ^{Aa}	75.63 ± 0.52 ^{Aa}	74.51 ± 0.55 ^{Aab}	-2.65 ± 0.26 ^{Aab}	-2.79 ± 0.08 ^{Ba}	-2.76 ± 0.10 ^{Ba}

Capital letters indicate significant differences between antioxidant and control for each calcium treatment at each sampling date and lower case letter indicate significant differences between seven calcium treatments for antioxidant or control at each sampling date ($p < 0.05$).

Table 2. Colour and texture changes during storage of minimally processed 'Conference' pears (II).

Treatment	Antioxidant	b*			BI		
		Day 0	Day 6	Day 11	Day 0	Day 6	Day 11
T0	No	11.70 ± 0.58 ^{Ba}	14.27 ± 0.41 ^{Ba}	14.63 ± 0.41 ^{Ab}	13.53 ± 0.94 ^{Aa}	18.29 ± 0.78 ^{Aa}	19.81 ± 0.92 ^{Ab}
	Yes	14.03 ± 0.62 ^{Aa}	15.49 ± 0.43 ^{Aab}	14.79 ± 0.41 ^{Ab}	16.03 ± 0.80 ^{Aa}	19.43 ± 0.76 ^{Aab}	18.69 ± 0.75 ^{Abc}
T1	No	13.91 ± 0.58 ^{Aa}	15.72 ± 0.40 ^{Aa}	16.24 ± 0.37 ^{Aab}	17.06 ± 0.77 ^{Aa}	20.73 ± 0.75 ^{Aa}	24.12 ± 1.07 ^{Aab}
	Yes	11.66 ± 0.57 ^{Bab}	14.19 ± 0.46 ^{Ba}	14.40 ± 0.39 ^{Bb}	13.52 ± 0.90 ^{Bab}	17.01 ± 0.71 ^{Ba}	17.48 ± 0.68 ^{Bc}
T2	No	12.79 ± 0.83 ^{Aa}	16.59 ± 0.64 ^{Aa}	16.27 ± 0.36 ^{Aab}	15.35 ± 1.24 ^{Aa}	23.06 ± 1.46 ^{Ba}	22.78 ± 0.86 ^{Aab}
	Yes	11.73 ± 0.47 ^{Aab}	14.83 ± 0.42 ^{Aab}	15.44 ± 0.33 ^{Aab}	13.06 ± 0.71 ^{Aab}	18.58 ± 0.79 ^{Aab}	19.89 ± 0.61 ^{Bbc}
T3	No	14.23 ± 0.71 ^{Aa}	15.86 ± 0.48 ^{Aa}	17.60 ± 0.57 ^{Aa}	16.10 ± 1.09 ^{Aa}	21.18 ± 0.95 ^{Aa}	27.18 ± 1.47 ^{Aa}
	Yes	12.35 ± 0.62 ^{Aab}	16.01 ± 0.44 ^{Aa}	17.11 ± 0.43 ^{Aa}	14.10 ± 1.00 ^{Aab}	20.72 ± 0.82 ^{Aa}	23.17 ± 0.89 ^{Ba}
T4	No	11.65 ± 0.81 ^{Aa}	16.05 ± 0.34 ^{Aa}	15.38 ± 0.29 ^{Ab}	13.32 ± 1.16 ^{Aa}	21.15 ± 0.82 ^{Aa}	21.73 ± 0.74 ^{Ab}
	Yes	10.06 ± 0.73 ^{Ab}	14.33 ± 0.45 ^{Bab}	15.58 ± 0.39 ^{Aab}	10.95 ± 0.95 ^{Ab}	17.47 ± 0.85 ^{Bab}	19.94 ± 0.74 ^{Aabc}
T5	No	12.38 ± 0.46 ^{Aa}	15.91 ± 0.51 ^{Aa}	15.43 ± 0.42 ^{Ab}	14.82 ± 0.70 ^{Aa}	22.47 ± 1.21 ^{Aa}	21.76 ± 0.84 ^{Ab}
	Yes	13.04 ± 1.06 ^{Aab}	14.66 ± 0.46 ^{Aab}	16.01 ± 0.47 ^{Aab}	15.11 ± 1.55 ^{Aab}	17.88 ± 0.88 ^{Bab}	21.34 ± 0.93 ^{Aab}
T6	No	12.69 ± 0.72 ^{Aa}	15.08 ± 0.28 ^{Aa}	15.36 ± 0.48 ^{Ab}	14.62 ± 1.06 ^{Aa}	19.99 ± 0.63 ^{Aa}	21.64 ± 1.30 ^{Ab}
	Yes	12.10 ± 0.82 ^{Aab}	14.24 ± 0.32 ^{Aab}	15.72 ± 0.36 ^{Aab}	14.05 ± 1.14 ^{Aab}	17.48 ± 0.61 ^{Bab}	20.21 ± 0.66 ^{Aabc}

Capital letters indicate significant differences between antioxidant and control for each calcium treatment at each sampling date and lower case letter indicate significant differences between seven calcium treatments for antioxidant or control at each sampling date ($p < 0.05$).

Table 2. Colour and texture changes during storage of minimally processed 'Conference' pears (III).

Treatment	Antioxidant	Firmness (N)		
		Day 0	Day 6	Day 11
T0	No	13.95 ± 0.61 ^{Ba}	12.38 ± 0.80 ^{Aa}	11.24 ± 0.93 ^{Bab}
	Yes	16.75 ± 0.52 ^{Aa}	14.07 ± 0.88 ^{Aa}	17.25 ± 1.31 ^{Aa}
T1	No	16.16 ± 1.10 ^{Aa}	11.59 ± 1.11 ^{Ba}	8.58 ± 0.72 ^{Bb}
	Yes	17.15 ± 1.23 ^{Aa}	15.52 ± 1.12 ^{Aa}	16.27 ± 0.89 ^{Aa}
T2	No	16.03 ± 0.38 ^{Aa}	12.53 ± 0.87 ^{Aa}	10.24 ± 0.66 ^{Bb}
	Yes	15.62 ± 1.01 ^{Aa}	15.00 ± 1.55 ^{Aa}	13.45 ± 1.08 ^{Aab}
T3	No	14.83 ± 0.50 ^{Aa}	10.49 ± 0.76 ^{Ba}	9.81 ± 0.99 ^{Bb}
	Yes	16.16 ± 1.66 ^{Aa}	13.19 ± 0.65 ^{Aa}	14.57 ± 1.13 ^{Aab}
T4	No	16.31 ± 0.78 ^{Aa}	11.85 ± 1.09 ^{Aa}	9.39 ± 0.87 ^{Ab}
	Yes	16.08 ± 1.20 ^{Aa}	12.53 ± 0.80 ^{Aa}	11.62 ± 0.90 ^{Ab}
T5	No	16.47 ± 1.36 ^{Aa}	11.36 ± 0.80 ^{Ba}	14.67 ± 0.71 ^{Ba}
	Yes	18.78 ± 0.61 ^{Aa}	15.76 ± 0.76 ^{Aa}	16.94 ± 0.52 ^{Aa}
T6	No	16.21 ± 1.41 ^{Aa}	11.91 ± 1.31 ^{Aa}	11.90 ± 1.11 ^{Aab}
	Yes	16.21 ± 1.51 ^{Aa}	11.82 ± 1.23 ^{Aa}	14.21 ± 0.81 ^{Aab}

Capital letters indicate significant differences between antioxidant and control for each calcium treatment at each sampling date and lower case letter indicate significant differences between seven calcium treatments for antioxidant or control at each sampling date ($p < 0.05$).

3.2.3 Visual appearance

Despite previous studies suggesting that postharvest calcium treatments could reduce browning of minimally processed fruits, in the current study, the visual appearance of fresh-cut pears, not dipped into the antioxidant solution, was significantly affected (Figure 2). Results suggested that those samples that were not treated with the antioxidant solution were considered inedible by the untrained panel. The antioxidant solution utilized was chosen based on previous studies (data not shown) which suggested that a combination of 2 % (w/v) ascorbic acid, and 2 % (w/v) sodium citrate was the most efficient, from those studied, in maintaining the quality of minimally processed pears during an 11-day storage period at 4 °C. This antioxidant solution was efficiently used previously to maintain the quality of minimally processed pears during storage (Iglesias et al., 2017). No visual differences were detected by consumers between the control T0 and samples T1, T4, T5, and T6 after 6 days of storage. Although the use of 1 % (w/v) calcium chloride did not affect the visual quality of the pears when compared to the control, higher concentrations of this salt (T2 and T3) significantly affected the products visual appearance ($p < 0.05$). However, all of these samples exceeded the limit of marketability and could be therefore commercialized. Gorny et al. (2002) reported visual quality scores under the limit of marketability at day 4 for fresh-cut 'Barlett' pears dipped in either 2 % (w/v) ascorbic acid or 1 % (w/v) calcium lactate (Gorny et al., 2000). The effect of minimal processing on the visual quality of pears can be affected by cultivar (Gorny et al., 2000). Iglesias et al. (2018) also reported lower visual quality scores, but although the pears used in that study were 'Conference' pears, these were stored at higher temperatures.

3.2.4 Sensory analysis of fresh-cut pears

Calcium post-harvest treatments alone were not enough for maintaining quality of fresh-cut pears, which were evaluated as inedible by the panel. Therefore, samples that were not dipped into the antioxidant solution were not used for sensory analysis. Table 3 lists the acceptance, firmness, crunchiness, and sweetness scores assigned to each sample on days 0, 6, and 11. Overall, different calcium treatments did not affect firmness, crunchiness, sweetness, or acceptance of the samples when compared to the control at each sampling point. Sensorial properties scores were kept constant during storage. However, acceptance, firmness, and crunchiness scores for T3 and acceptance and sweetness scores for T4 decreased during storage ($p < 0.05$). Results compare well with previous studies which reported that participants of a test panel could not distinguish between pears treated with different calcium and antioxidants (Gorny et al., 2002). Sweetness or acceptance of other fruits such as papaya were not influenced by different calcium treatments either (Udomkun et al., 2014). The utilization of calcium salts namely calcium chloride and calcium lactate did not affect sensorial properties of 'Conference' pears including firmness, crunchiness, sweetness, or their overall acceptance.

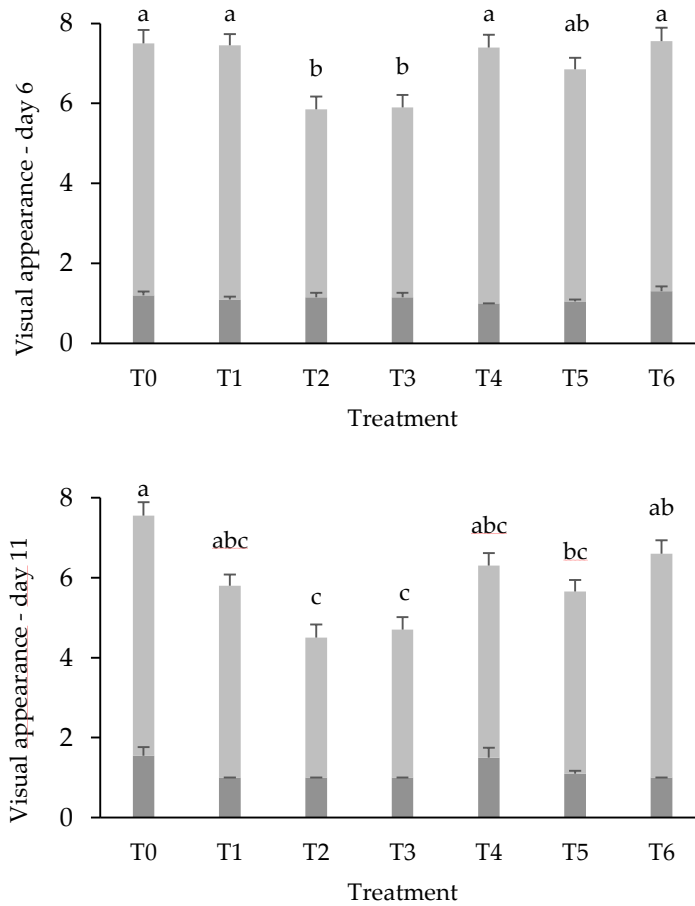


Figure 2. Visual appearance of fresh-cut pears with and without antioxidant treatment after 6 (A) and 11 days (B) of storage at 4 °C. Fruits were either untreated (dark grey bars) or treated with antioxidant solution (mid-grey bars). Values represent the means of three independent experiments \pm SEM. Bars with different letters have mean values that are significantly different ($p < 0.05$).

Table 3. Sensory evaluation of fresh-cut 'Conference' pears during refrigerated storage.

T.	Acceptance			Firmness			Crunchiness			Sweetness		
	Day 0	Day 6	Day 11	Day 0	Day 6	Day 11	Day 0	Day 6	Day 11	Day 0	Day 6	Day 11
T0	6.0 ± 0.3 ^{Aa}	5.4 ± 0.2 ^{Aa}	5.2 ± 0.3 ^{Aa}	3.7 ± 0.1 ^{Aa}	3.5 ± 0.1 ^{Aa}	3.5 ± 0.1 ^{Aa}	3.9 ± 0.2 ^{Aa}	3.7 ± 0.1 ^{Aa}	3.5 ± 0.2 ^{Aa}	2.7 ± 0.1 ^{Ba}	2.7 ± 0.1 ^{Aa}	2.7 ± 0.2 ^{Aa}
T1	6.0 ± 0.3 ^{Aa}	5.4 ± 0.3 ^{Aa}	5.2 ± 0.3 ^{Aa}	3.9 ± 0.1 ^{Aa}	3.7 ± 0.1 ^{Aa}	3.8 ± 0.1 ^{Aa}	3.9 ± 0.1 ^{Aa}	3.6 ± 0.1 ^{Aa}	3.6 ± 0.1 ^{Aa}	2.8 ± 0.2 ^{ABa}	3.0 ± 0.1 ^{Aa}	2.7 ± 0.1 ^{Aa}
T2	6.5 ± 0.3 ^{Aa}	4.9 ± 0.3 ^{Ab}	5.4 ± 0.3 ^{Ab}	3.7 ± 0.2 ^{Aa}	3.4 ± 0.1 ^{Aa}	3.6 ± 0.1 ^{Aa}	3.6 ± 0.2 ^{Aa}	3.1 ± 0.2 ^{ABa}	3.6 ± 0.1 ^{Aa}	2.8 ± 0.2 ^{ABa}	2.7 ± 0.2 ^{Aa}	2.7 ± 0.2 ^{Aa}
T3	6.8 ± 0.2 ^{Aa}	5.5 ± 0.3 ^{Ab}	5.7 ± 0.2 ^{Ab}	3.7 ± 0.1 ^{Aa}	3.1 ± 0.1 ^{Ab}	3.4 ± 0.1 ^{Aa}	3.4 ± 0.1 ^{Aa}	2.8 ± 0.2 ^{Bb}	3.2 ± 0.1 ^{Aab}	3.3 ± 0.1 ^{ABa}	3.1 ± 0.2 ^{Aa}	2.9 ± 0.1 ^{Aa}
T4	6.8 ± 0.3 ^{Aa}	5.2 ± 0.3 ^{Ab}	4.9 ± 0.3 ^{Ab}	3.7 ± 0.1 ^{Aa}	3.3 ± 0.1 ^{Aa}	3.3 ± 0.1 ^{Aa}	3.6 ± 0.1 ^{Aa}	3.1 ± 0.2 ^{ABa}	3.2 ± 0.1 ^{Aa}	3.5 ± 0.1 ^{Aa}	2.8 ± 0.1 ^{Ab}	3.1 ± 0.2 ^{Aab}
T5	6.1 ± 0.2 ^{Aa}	5.6 ± 0.2 ^{Aa}	5.2 ± 0.3 ^{Aa}	3.8 ± 0.1 ^{Aa}	3.4 ± 0.1 ^{Aa}	3.4 ± 0.1 ^{Aa}	3.7 ± 0.2 ^{Aa}	3.4 ± 0.1 ^{ABa}	3.4 ± 0.1 ^{Aa}	2.9 ± 0.2 ^{ABa}	2.9 ± 0.1 ^{Aa}	2.6 ± 0.1 ^{Aa}
T6	6.3 ± 0.2 ^{Aa}	5.5 ± 0.2 ^{Aa}	5.5 ± 0.3 ^{Aa}	3.6 ± 0.1 ^{Aa}	3.6 ± 0.1 ^{Aa}	3.5 ± 0.1 ^{Aa}	3.6 ± 0.1 ^{Aa}	3.5 ± 0.1 ^{ABa}	3.5 ± 0.1 ^{Aa}	3.1 ± 0.1 ^{ABa}	3.0 ± 0.1 ^{Aa}	3.0 ± 0.2 ^{Aa}

Capital letters indicate significant differences between treatments at each storage time and lower case letters indicate differences between sampling days for the same treatment ($p < 0.05$).

4. Conclusions

The effect of calcium chloride and calcium lactate on the quality and nutritional parameters of whole and fresh-cut 'Conference' pears was studied. Overall, the application of calcium salts (chloride or lactate) at different concentrations (1, 2 or 4 %) had no effect on antioxidant activity, vitamin C content, total phenolic content, PME and PG enzymes activities and calcium content of whole pears. Results obtained herein suggested that whole pears treated with calcium chloride at 1 % (w/v) may present higher values of antioxidant activity and total phenolic content when compared to those obtained using higher calcium concentrations. Moreover, the application of those calcium salts had no effect on the respiration rates, color parameters, firmness values, visual quality and sensorial characteristics of fresh-cut pears. Fresh-cut pears not dipped in antioxidant solution were not edible for consumers. It could be remarkable that the oxygen concentration values decreased until values close to 0 after 6 and 11-day of storage time at 4 °C. Therefore, postharvest treatment with calcium chloride at 1 %, dipping treatment with antioxidant solution (2 % ascorbic acid, 2 % sodium citrate and 1 % calcium chloride) in minimally processing and storage for 6 d at 4 °C could be the most suitable combination to maintain the quality of fresh-cut 'Conference' pears.

Acknowledgements

Authors thank the Spanish Ministry of Science and Innovation (AGL-2012-38671). This work was supported by the Secretaria d'Universitats i Recerca del Departament d'Economia i Coneixement (FI-DGR 2015) and CERCA Program of Generalitat de Catalunya. T. Lafarga is in receipt of *Juan de la Cierva* contract awarded by the Spanish Ministry of Economy, Industry, and Competitiveness (FJCI-2016-29541). I. Aguiló-Aguayo thanks the National Programme for the Promotion of Talent and Its Employability of the Spanish Ministry of Economy, Industry and Competitiveness and to the European Social Fund for the Postdoctoral Senior Grant *Ramon y Cajal* (RYC-2016-19949). L. Plaza thanks the National Institute for Agronomic Research for a DOC-INIA research contract.

References

- Aghdam, M.S., Dokhanieh, A.Y., Hassanpour, H., Rezapour Fard, J., 2013. Enhancement of antioxidant capacity of cornelian cherry (*Cornus mas*) fruit by postharvest calcium treatment. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 161, 160–164. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.07.006>
- Aguayo, E., Escalona, V.H., Artés, F., 2008. Effect of hot water treatment and various calcium salts on quality of fresh-cut ‘Amarillo’ melon. *Postharvest Biol. Technol.* 47, 397–406. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.08.001>
- Aguayo, E., Requejo-Jackman, C., Stanley, R., Woolf, A., 2015. Hot water treatment in combination with calcium ascorbate dips increases bioactive compounds and helps to maintain fresh-cut apple quality. *Postharvest Biol. Technol.* 110, 158–165. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.07.001>
- Alandes, L., Pérez-Munuera, I., Llorca, E., Quiles, A., Hernando, I., 2009. Use of calcium lactate to improve structure of ‘Flor de Invierno’ fresh-cut pears. *Postharvest Biol. Technol.* 53, 145–151. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.03.006>
- Altisent, R., Plaza, L., Alegre, I., Viñas, I., Abadias, M., 2014. Comparative study of improved vs. traditional apple cultivars and their aptitude to be minimally processed as ‘ready to eat’ apple wedges. *LWT - Food Sci. Technol.* 58, 541–549. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.03.019>
- Ayón-Reyna, L.E., González-Robles, A., Rendón-Maldonado, J.G., Báez-Flores, M.E., López-López, M.E., Vega-García, M.O., 2017. Application of a hydrothermal-calcium chloride treatment to inhibit postharvest anthracnose development in papaya. *Postharvest Biol. Technol.* 124, 85–90. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.10.009>
- Baselice, A., Colantuoni, F., Lass, D.A., Nardone, G., Stasi, A., 2017. Trends in EU consumers’ attitude towards fresh-cut fruit and vegetables. *Food Qual. Prefer.* 59, 87–96. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2017.01.008>
- Belge, B., Goulao, L.F., Comabella, E., Graell, J., Lara, I., 2017. Refrigerated storage and calcium dips of ripe ‘Celeste’ sweet cherry fruit: Combined effects on cell wall metabolism. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 219, 182–190. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.02.039>
- Chen, Z., Zhu, C., Zhang, Y., Niu, D., Du, J., 2010. Effects of aqueous chlorine dioxide treatment on enzymatic browning and shelf-life of fresh-cut asparagus lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Postharvest Biol. Technol.* 58, 232–238. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.06.004>
- Chuni, S.H., Awang, Y., Mohamed, M.T.M., 2010. Cell wall enzymes activities and quality of calcium treated fresh-cut red flesh dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *Int. J. Agric. Biol.* 12, 713–718.
- Colás-Medà, P., Abadias, M., Alegre, I., Usall, J., Viñas, I., 2015. Effect of ripeness stage during processing on *Listeria monocytogenes* growth on fresh-cut ‘Conference’ pears. *Food Microbiol.* 49, 116–122. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.01.019>
- Colás-Medà, P., Viñas, I., Alegre, I., Abadias, M., 2017. The impact of a cold chain break on the survival of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* on minimally processed ‘Conference’ pears during their shelf life. *J. Sci. Food Agric.* 97, 3077–3080.

<https://doi.org/10.1002/jsfa.8127>

- Collazo, C., Abadías, M., Colás-Medà, P., Iglesias, M.B., Granado-Serrano, A.B., Serrano, J., Viñas, I., 2017. Effect of *Pseudomonas graminis* strain CPA-7 on the ability of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* subsp. *enterica* to colonize Caco-2 cells after pre-incubation on fresh-cut pear. *Int. J. Food Microbiol.* 262, 55–62. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.09.003>
- Fortes, A., Granell, A., Pezzotti, M., Bouzayen, M., 2017. Molecular and metabolic mechanisms associated with fleshy fruit quality. *Frontiers Media SA, Lausanne, Switzerland.*
- García Loredó, A.B., Guerrero, S.N., Alzamora, S.M., 2013. Impact of combined ascorbic acid/CaCl₂, hydrogen peroxide and ultraviolet light treatments on structure, rheological properties and texture of fresh-cut pear (William var.). *J. Food Eng.* 114, 164–173. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.08.017>
- Giacalone, G., Chiabrandò, V., 2013. Effect of different treatments with calcium salts on sensory quality of fresh-cut apple. *J. Food Nutr. Res.* 52, 79–86.
- Giné-Bordonaba, J., Cantín, C.M., Echeverría, G., Ubach, D., Larrigaudière, C., 2016. The effect of chilling injury-inducing storage conditions on quality and consumer acceptance of different *Prunus persica* cultivars. *Postharvest Biol. Technol.* 115, 38–47. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.12.006>
- Gorny, J.R., Cifuentes, R.A., Hess-Pierce, B., Kader, A.A., 2000. Quality changes in fresh-cut pear slices as affected by cultivar, ripeness stage, fruit size, and storage regime. *J. Food Sci.* 65, 541–544. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb16044.x>
- Gorny, J.R., Hess-Pierce, B., Cifuentes, R.A., Kader, A.A., 2002. Quality changes in fresh-cut pear slices as affected by controlled atmospheres and chemical preservatives. *Postharvest Biol. Technol.* 24, 271–278. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(01\)00139-9](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(01)00139-9)
- Graça, A., Santo, D., Quintas, C., Nunes, C., 2017. Growth of *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* and *Listeria* spp., and their inactivation using ultraviolet energy and electrolyzed water, on ‘Rocha’ fresh-cut pears. *Food Control* 77, 41–49. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.01.017>
- Hernández-Muñoz, P., Almenar, E., Ocio, M.J., Gavara, R., 2006. Effect of calcium dips and chitosan coatings on postharvest life of strawberries (*Fragaria x ananassa*). *Postharvest Biol. Technol.* 39, 247–253. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.11.006>
- Iglesias, M.B., Abadías, M., Anguera, M., Sabata, J., Viñas, I., 2017. Antagonistic effect of probiotic bacteria against foodborne pathogens on fresh-cut pear. *LWT - Food Sci. Technol.* 81, 243–249. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.03.057>
- Iglesias, M.B., Abadías, M., Anguera, M., Viñas, I., 2018. Efficacy of *Pseudomonas graminis* CPA-7 against *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* on fresh-cut pear and setting up of the conditions for its commercial application. *Food Microbiol.* 70, 103–112. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.09.010>
- Kou, X.-H., Guo, W., Guo, R., Li, X., Xue, Z., 2014. Effects of Chitosan, Calcium Chloride, and Pullulan Coating Treatments on Antioxidant Activity in Pear cv. “Huang guan” During Storage. *Food Bioprocess Technol.* 7, 671–681. <https://doi.org/10.1007/s11947-013-1085-9>

- Kou, X., Wu, M., Li, L., Wang, S., Xue, Z., Liu, B., Fei, Y., 2015. Effects of CaCl₂ dipping and pullulan coating on the development of brown spot on 'Huangguan' pears during cold storage. *Postharvest Biol. Technol.* 99, 63–72. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.08.001>
- Liu, C., Ma, T., Hu, W., Tian, M., Sun, L., 2016. Effects of aqueous ozone treatments on microbial load reduction and shelf life extension of fresh-cut apple. *Int. J. Food Sci. Technol.* 51, 1099–1109. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13078>
- Ma, L., Zhang, M., Bhandari, B., Gao, Z., 2017. Recent developments in novel shelf life extension technologies of fresh-cut fruits and vegetables. *Trends Food Sci. Technol.* 64, 23–38. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.03.005>
- MAGRAMA, 2017. Anuario de Estadística Avance 2016. <http://www.mapama.gob.es/es/estadistica/temas/publicaciones/anuario-de-estadistica/> (accessed 7.21.17).
- Manganaris, G.A., Vasilakakis, M., Diamantidis, G., Mignani, I., 2007. The effect of postharvest calcium application on tissue calcium concentration, quality attributes, incidence of flesh browning and cell wall physicochemical aspects of peach fruits. *Food Chem.* 100, 1385–1392. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.036>
- Manganaris, G.A., Vasilakakis, M., Diamantidis, G., Mignani, I., 2005. Effect of post-harvest calcium treatments on the physicochemical properties of cell wall pectin in nectarine fruit during ripening after harvest or cold storage. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 80, 611–617. <https://doi.org/10.1080/14620316.2005.11511986>
- Oliveira, M., Abadias, M., Usall, J., Torres, R., Teixidó, N., Viñas, I., 2015. Application of modified atmosphere packaging as a safety approach to fresh-cut fruits and vegetables - A review. *Trends Food Sci. Technol.* 46, 13–26. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.07.017>
- Plaza, L., Altisent, R., Alegre, I., Viñas, I., Abadias, M., 2016. Changes in the quality and antioxidant properties of fresh-cut melon treated with the biopreservative culture *Pseudomonas graminis* CPA-7 during refrigerated storage. *Postharvest Biol. Technol.* 111, 25–30. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.07.023>
- Plaza, L., Muñoz, M., Ancos, B. de, Cano, M., 2003. Effect of combined treatments of high-pressure, citric acid and sodium chloride on quality parameters of tomato puree. *Eur. Food Res. Technol.* 216, 514–519. <https://doi.org/10.1007/s00217-003-0689-0>
- Qadri, O.S., Yousuf, B., Srivastava, A.K., 2015. Fresh-cut fruits and vegetables: Critical factors influencing microbiology and novel approaches to prevent microbial risks - A review. *Cogent Food Agric.* 1, 1–11. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1121606>
- Rico, D., Martín-Diana, A.B., Barat, J.M., Barry-Ryan, C., 2007. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. *Trends Food Sci. Technol.* 18, 373–386. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.03.011>
- Tappi, S., Mauro, M.A., Tylewicz, U., Dellarosa, N., Dalla Rosa, M., Rocculi, P., 2017. Effects of calcium lactate and ascorbic acid on osmotic dehydration kinetics and metabolic profile of apples. *Food Bioprod. Process.* 103, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2017.01.010>
- Toivonen, P.M.A., Brummell, D.A., 2008. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. *Postharvest Biol. Technol.* 48, 1–14.

<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.09.004>

Udomkun, P., Mahayothee, B., Nagle, M., Müller, J., 2014. Effects of calcium chloride and calcium lactate applications with osmotic pretreatment on physicochemical aspects and consumer acceptances of dried papaya. *Int. J. Food Sci. Technol.* 49, 1122–1131. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12408>

Van linden, V., Sila, D.N., Duvetter, T., De Baerdemaeker, J., Hendrickx, M., 2008. Effect of mechanical impact-bruising on polygalacturonase and pectinmethylesterase activity and pectic cell wall components in tomato fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 47, 98–106. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.06.006>

Wu, B., Guo, Q., Wang, G. xia, Peng, X. yuan, Wang, J. de, Che, F. bin, 2015. Effects of different postharvest treatments on the physiology and quality of 'Xiaobai' apricots at room temperature. *J. Food Sci. Technol.* 52, 2247–2255. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1288-8>

Xiao, Z., Luo, Y., Luo, Y., Wang, Q., 2011. Combined effects of sodium chlorite dip treatment and chitosan coatings on the quality of fresh-cut d'Anjou pears. *Postharvest Biol. Technol.* 62, 319–326. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.07.007>

CAPÍTULO 2

Evaluation of *Pseudomonas graminis* CPA-7 as a biopreservation method for fresh-cut pear. Physicochemical, enzymatic and nutritional quality.

L. Zudaire, I. Viñas, M. B. Iglesias, L. Plaza, M. Abadias, I. Aguiló-Aguayo

Food Science and Technology International (enviado)

ABSTRACT

Biological preservation methods with bacterial antagonists have emerged as alternatives to chemical sanitizers for extending shelf-lives and reducing the population of pathogenic microorganisms. In addition, calcium plays an important role in maintaining the quality of fruit, and postharvest calcium treatments might determine the potential of fruit for processing. The objective of this work was to evaluate the effect of the postharvest application of calcium and biopreservation with the CPA-7 of *P. graminis* on the quality parameters of fresh-cut pears. After harvest, whole pears were dipped in calcium chloride solution (1 %, w/v) or water (control) for 10 min at 25 °C and stored for 5 months at temperatures ranging from 0 to -0.5 °C. Both batches of fruit were minimally processed and dipped in a solution containing CPA-7 and an antioxidant solution or kept untreated, and both groups were stored at 4 °C for 6 d. The postharvest calcium treatment had no remarkable effect on the quality of the whole and fresh-cut pears. The enzymatic activities (PPO, PME and PG) related to browning and softening were constant in fresh-cut pears after storage, and the application of *P. graminis* CPA-7 had a positive effect on the activity of PPO. Finally, a combined effect of the biocontrol agent and calcium treatment was not demonstrated.

Keywords: Fresh-cut fruit and vegetables; antimicrobial agents; antioxidants; fruit postharvest; cold storage.

1. Introduction

Pears (*Pyrus communis* L.) have low protein, lipid and glucose contents and are rich in other sugars such as fructose, sorbitol, and sucrose. Pears also contain micronutrients, such as vitamins, minerals, and antioxidants (Colás-Medà et al., 2015). The consumption of pears in Spain, which is currently 5.49 kg/year per person, decreased by 11.9 % in 2015 (MAGRAMA, 2016). In 2014, 373,900 tons of pears were produced in Spain, 50.4 % of which were produced in Lleida (MAPAMA, 2017).

In recent years, the society's lifestyle changes have caused an increase in the consumption of minimally processed fruits and vegetables. These products have desirable attributes such as freshness, low calorie contents, desirable nutritional composition and convenience (Colás-Medà et al., 2015). The main problem with fresh-cut fruits and vegetables is their short shelf-life due to the damage caused during minimal processing by operations such as peeling, coring, slicing and shredding. These lead to an increase in respiration, water loss, biochemical changes and microbial spoilage (Ngamchuachit et al., 2014; Plaza et al., 2016). The acceptability of fresh-cut fruits and vegetables is determined by appearance and texture. Therefore, it is essential to understand which processes produce changes in the appearance and texture of these products to develop novel strategies for maintaining their quality (Toivonen and Brummell, 2008).

Surface treatments are necessary to delay physiological decay in fruit tissues, thus stabilizing the surface of the fruit and preventing degradative processes that limit the quality of the product (Soliva-Fortuny and Martín-Belloso, 2003). Currently, the main chemical compounds used for these treatments are calcium salts with calcium chloride being the most common. The application of calcium has been studied in postharvest for whole fruit (Ghafir et al., 2013; Kou et al., 2015; Manganaris et al., 2007; Sajid et al., 2014; Zhao and Wang, 2015) and fresh-cut fruit (Ngamchuachit et al., 2014; Silveira et al., 2010), which is usually applied by dipping. The objective of the postharvest application of calcium to whole fruit has been to reduce disorders such as brown spots in pears (Kou et al., 2015) or bitter pits in apples (Sajid et al., 2014). However, in fresh-cut fruit, calcium salts are usually used in combination with ascorbic acid or organic acids such as citric acid as antibrowning agents because they can inactivate enzymes such as polyphenol oxidase (PPO, EC 1.10.3.2) and peroxidase (POD, 11.1.1.x) and substrates from damaged cells (Gomes et al., 2010; Soliva-Fortuny et al., 2004). Moreover, those solutions have been effective in maintaining the firmness of the fruit during storage due to its indirect effect on the activity of polygalacturonase (PG, EC 3.2.1.67) and pectin methyl esterase (PME, EC 3.1.1.11) (Gomes et al., 2010; Ngamchuachit et al., 2014). In addition, the use of calcium salts increases the content of calcium in fresh-cut fruit (Manganaris et al., 2007).

Biological preservation has been presented as a promising alternative to chemical sanitizers to extend the shelf-lives of fresh-cut fruit and to reduce the population of pathogenic microorganisms (Plaza et al., 2016). Recently, the CPA-7 strain of *Pseudomonas graminis* has been isolated from apple and has been demonstrated to be effective for the reduction of the population of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* in fresh-cut apples, peaches and melon (Abadias et al., 2014; Alegre et al., 2013b, 2013a) and in the maintenance of the nutritional quality and enzymatic activity in fresh-cut melon (Plaza et al., 2016). Current studies using yeasts or bacterial antagonists are focused on pathogen control, and few of them focus on nutritional quality and enzymatic activity.

There have been few reports on the effect of postharvest calcium application to whole fruit and the effects of biological preservation on the quality, nutritional content and antioxidant properties of minimally processed fruit during refrigerated storage. The general objective of the present study was to investigate the effectiveness of postharvest calcium treatment and *Pseudomonas graminis*

CPA-7 against the main postharvest fruit and vegetable pathogens and maintenance of the quality of whole and fresh-cut pears. We have divided this objective into two parts. The first (Iglesias, 2017) addresses the effect of these treatments on foodborne pathogens and volatile compounds. The second involves their effects on physicochemical, enzymatic and nutritional qualities of the pears. Thus, the objective of second part was to evaluate the effect of postharvest treatment with calcium and the antagonistic CPA-7 strain of *P. graminis* on the physicochemical parameters, enzymatic activities (PPO, POD, PME and PG), vitamin C content, total phenolic content, antioxidant activity and calcium content of minimally processed pears throughout their shelf-life.

2. Material and methods

2.1 Plant materials and postharvest treatment

'Conference' pears were obtained from a local farmer (Grealó, Lleida) at commercial maturity (62.6 N; 12.6 % soluble solids; 2.46 g malic acid L⁻¹). Fruit free of visual defects and uniform in colour and size were selected and divided into two lots. The postharvest treatments consisted of dipping the fruit at 25 °C for 10 min in water (control) or 1 % CaCl₂. Then, the fruit were allowed to dry at room temperature before storage at temperatures ranging from 0 to -0.5 °C for 5 months under controlled atmospheric conditions (2 % O₂ and 1 % CO₂).

2.2 Bacterial strain

The CPA-7 strain of *P. graminis* (deposit number CBS 136973, Centraalbureau voor Schimmelcultures, CBS, Utrecht, The Netherlands), isolated in our lab from the surface of an apple (Alegre et al., 2013b), was used as antagonist. It was grown and inoculated as previously described (Iglesias, 2017).

2.3 Processing, packaging and storage

As previously described by Iglesias (2017), pears were cleaned, sanitized by immersion into a 0.1 g L⁻¹ NaOCl solution adjusted to pH 6.5 using citric acid, rinsed, and dried prior to cutting. Pears were peeled and cut into 10 wedges using a handheld apple corer and slicer. Then, the cut pieces of fruit were dipped into an ice bath. The pears treated postharvest with calcium (1 % CaCl₂), and those left untreated were divided into 2 batches each. Each batch was dipped (1:2 w/v) for 2 min at 150 rpm (horizontal shaker) in cold water and in an antioxidant solution (2 % ascorbic acid, 2 % sodium citrate and 1 % calcium chloride). Two of these batches were treated with *P. graminis* CPA-7 (10⁷ CFU mL⁻¹), and the results were compared to those of a negative control (without CPA-7 treatment). The treated fruit were allowed to dry open to air at room temperature. Approximately 110 g of cut pear samples was placed in recycled polyethylene (rPET) trays (120 × 120 × 55 mm, Plus Pack, Denmark) and heat-sealed with a film consisting of biaxially oriented polyester (OLAF) anti-fog inner layer and an oriented polypropylene (OPP) outer layer which contained lines of holes of 60-80 µm 75 mm apart from each other. Afterwards, the pear trays were stored at 5 ± 1 °C for 6 d. At days 0, 2 and 6, a portion of each sample was frozen with liquid nitrogen, pulverized and stored at -80 °C for enzymatic assays, vitamin C analysis, phenolic content analysis, antioxidant activity and calcium determination.

2.4 Physicochemical assays

Physical (colour and firmness) and chemical (titratable acidity and soluble solids content) assays were performed according to methods described by Abadias et al. (2014) with minor modifications as detailed by Plaza et al. (2016). Soluble solids contents were expressed as % and titratable acidity as g of malic acid L⁻¹. Three determinations were performed per treatment and sampling time. Firmness evaluation was carried out by determination of the maximal strength necessary for a cylindrical probe 4 mm in diameter and plane basis to penetrate 10 mm into a pear sample using a TA-TX2 Texture Analyser (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, England). Briefly, colour was measured with a CR-200 Minolta Chroma Meter (Minolta, INC., Tokyo, Japan) with illuminant D65 and a 10° observer angle. L* defines the lightness, and a* and b* define the red-greenness and blue-yellowness, respectively. These values were used to calculate the browning index (BI) described by Liu et al. (2016).

2.5 Assessment of overall visual quality

The assessment was carried out as described by Altisent et al. (2014). The visual quality was determined by an untrained panel based on the following hedonic scale: 9 = excellent; 7 = very good; 5 = good, limit of marketability; 3 = fair, limit of usability; and 1 = poor, inedible.

2.6 PPO and POD activity

The PPO and POD activities were measured as described by Plaza et al. (2016). A PPO unit was defined as 0.01 absorbance units per minute, and PPO activity was defined as the change in absorbance per second per kilogram on a fresh weight basis. A POD unit was defined as 0.01 absorbance units per minute, and POD activity was defined as the change in absorbance per second per kilogram on a fresh weight basis.

2.7 PME and PG activity

PME activity was determined according to the method of Plaza et al. (2003) with some modifications. Briefly, the enzyme was extracted by the homogenization of 5 g of frozen sample with 10 mL of an extraction solution (1 mol L⁻¹ NaCl in 0.2 mol L⁻¹ sodium phosphate buffer, pH 7.5). The resulting mixture was shaken for 10 min at 4 °C, centrifuged at 13523 × g for 20 min at 4 °C and then filtered. The supernatant was then collected and stored at -80 °C until the determination of enzyme activity. PME activity was measured titrimetrically at 25 °C. Briefly, 2 mL of the enzymatic extract were mixed with 40 mL of a pectin-salt substrate solution (0.35 % pectin and 0.1 mol L⁻¹ NaCl). The solution was adjusted to pH 7.5 with 1 mol L⁻¹ NaOH. After the pH reached 7.5, 0.1 mL of 0.05 mol L⁻¹ sodium hydroxide was added. The time elapsed until the pH of the solution regained pH 7.5 was measured. A PME unit was defined on a fresh weight basis as the amount of enzyme required to release 1 mol of carboxyl groups per second.

PG activity was determined according to the method of Van linden et al. (2008) with some modifications. Six grams of frozen sample were homogenized with 9 mL of cold deionized water. The mixture was adjusted to pH 3.0 using HCl, stirred for 5 min and centrifuged at 13523 × g for 20 min at 4 °C. The pellet was recovered and resuspended in 6 mL of cold 1.2 mol L⁻¹ NaCl, the solution was adjusted to pH 6.0 and stirred for 5 min and then centrifuged at 13523 × g for 20 min at 4 °C. Finally, the collected extract was stored at -80 °C until PG determination. Reaction mixtures consisted of 350 µL of a 0.2 % (w/v) buffered PGA solution containing 0.04 mol L⁻¹ Na acetate at

pH 4.4 and 50 μL of PG extract. The reaction mixtures were then incubated at 40 °C for 10 min. Two millilitres of cold borate buffer (pH 9.0, 0.1 mol L⁻¹) were added to each sample to stop the reaction, and 0.4 mL of a 1 % 2-cyano-acetamide solution were added. The mixture was incubated for 10 min at 100 °C and then immediately cooled in an ice bath. The absorbance was determined using a Genesys 10S UV-Vis spectrophotometer (Thermo Scientific™, Spain) at 276 nm and 22 °C. A standard calibration curve was generated at 276 nm using known concentrations of galacturonic acid (ranging from 0 to 3×10^{-3} mol L⁻¹ final volume). The enzyme activity was calculated on a fresh weight basis as the release of reducing groups per second.

2.8 Vitamin C analysis

The assay was carried out as described by Altisent et al. (2014). The reduction of dehydroascorbic acid to ascorbic acid using TCEP as the reducing agent was used to determine the total vitamin C content. Total vitamin C was determined using high-performance liquid chromatography (HPLC). The results were expressed on a fresh weight basis as g of ascorbic acid per kg.

2.9 Determination of the total phenolic content

The total phenolic content was determined by the Folin-Ciocalteu method (Singleton et al., 1999) employing the modifications described by Altisent et al. (2014). The results were expressed on a fresh weight basis as g of gallic acid equivalent per kg.

2.10 Determination of antioxidant activity

The antioxidant activity was determined by two different methods, namely, the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH^{*}) radical scavenging and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays. The extraction and assays were carried out according to the methods described by Plaza et al. (2016). The results were expressed on a fresh weight basis as moles of ascorbic acid equivalents per kg.

2.11 Determination of calcium

The determination of calcium was performed using a HORIBA Jobin Yvon ICP Spectrometer Model Activa inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) equipped with a Meinhard nebulizer. The instrument was calibrated using a single-element atomic absorption standard solution of calcium (1000 mg L⁻¹). The sample pretreatment (digestion procedure) was carried out using an MLS 1200 mega microwave (Milestone, Milan, Italy) with HNO₃ (700 mL L⁻¹), H₂O₂ (300 mL L⁻¹) and nanopure water. The optical emission was measured at 393 nm. The results were expressed on a fresh weight basis as g of calcium per kg.

2.12 Statistical analysis

The results were expressed as the means \pm standard deviation. Differences among treatments were evaluated by using one-way analysis of variance (ANOVA) and were considered to be significant at $P < 0.05$ (95 % confidence level). Tukey's test and t-tests methods were used to determine differences between means. JMP 8 software was used to conduct ANOVA statistical analyses (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

3. Results and Discussion

3.1 Physical and chemical parameters and overall visual quality

The results of the physical and physicochemical parameters of whole and fresh-cut pears are shown in Table 1 and Table 2, respectively. The postharvest application of 1 % CaCl₂ to whole pear did not affect the colour or soluble solids content (SSC) after a storage period of 5 months. However, the results showed that calcium treated whole pears presented higher acidity and lower firmness than non-treated samples probably due to long-storage time (5 months). Moreover, Trentham et al. (2008) suggested that the concentration of calcium needed in the tissues to exert an effect on the firmness of the fruit should be 0.8-1.0 g kg⁻¹. Sajid et al. (2014) observed that pears cv. Le-Conte treated with 3 % CaCl₂ for 5, 10 or 15 min did not present SSC values that were significantly different from those of a control. However, Zhao and Wang (2015) reported that apples (*Malus domestica* Borkh. cv. Shouhong) dipped in 5 % CaCl₂ for 10 min presented higher SSC and firmness values than the corresponding values of untreated apples. Similar results were obtained by Ghafir et al. (2013) who reported that 'Red Delicious' (*Malus domestica*) apples treated with 1 % CaCl₂ presented higher firmness and SSC values and lower total acidity than untreated apples.

Overall, neither calcium chloride nor *Pseudomonas graminis* CPA-7 affected the firmness of fresh-cut pears (Table 2). Moreover, there were no significant differences at any point in the storage period for either treatment. However, fresh-cut pears subjected to only a postharvest calcium treatment presented higher BI (26.01 ± 15.09) compared to un-treated samples (17.78 ± 5.85) after a 6-day storage period at 5 ± 1 °C. In samples treated with *P. graminis* CPA-7, postharvest treatment with calcium had no effect in their BI after a 6-day storage period at 5 ± 1 °C. In addition, the BI of fresh-cut pears increased during storage at 5 ± 1 °C in the case of all treatments. Oms-Oliu et al. (2010) suggested that formulations composed of calcium and ascorbic were not completely effective in controlling the enzymatic browning of fresh-cut fruits, since once the ascorbic acid is completely oxidized to dehydroascorbic acid, the o-quinones were no longer reduced and browning might appear.

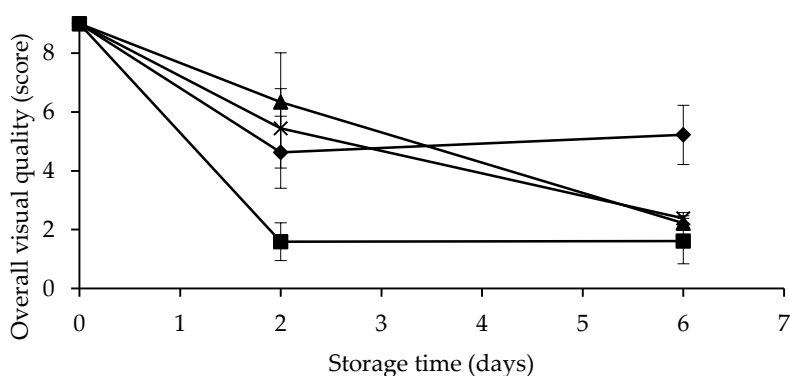


Figure 1. Effect of postharvest calcium chloride treatment and bioconservation using *Pseudomonas graminis* CPA-7 [NoCa/NoCPA7 (◆), NoCa/CPA7 (▲), Ca/NoCPA7 (■) and Ca/CPA7 (×)] on the overall visual quality of fresh-cut pears during 6 d of storage at 5 ± 1 °C. The error bars represent the standard deviation with a 95 % of confidence interval.

The results of visual quality analysis obtained for fresh-cut samples were indirectly related to their BI (Fig. 1). As the BI value increased, the visual quality score of the sample decreased. After 6 d of storage at 5 ± 1 °C, the highest visual value (5.2 ± 1.0) was obtained for fresh-cut pears that had not been treated with either calcium or CPA-7. This was the only sample that was still marketable after six days of storage, and that limited their shelf-life (6 d).

3.2 Enzymatic activity

3.2.1 Polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD) assays

The postharvest application of 1 % CaCl_2 had no effect on the PPO and POD activities in whole pear after 5 months of storage under CA (Table 1). Overall, in fresh-cut pears, the PPO activity decreased or remained constant during the 6-day storage period at 5 ± 1 °C regardless of the applied treatment (Table 2). In calcium-untreated fresh-cut pears, the presence of CPA-7 could reduce the PPO activity during the 6-d storage period. However, Collazo et al. (2018) reported that PPO activity of fresh-cut apples increased drastically in response to CPA-7 in MAP reaching almost 8-fold the activity showed by the non-inoculated control stored in the same conditions. Moreover, Plaza et al. (2016) showed that after 8 d of refrigerated storage at 5 °C, fresh-cut melons inoculated with CPA-7 and packaged under MAP did not present significant changes with regard initial values. The inactivation of PPO could be associated with the antioxidant solution used in this study, which contained 2 % ascorbic acid (Altunkaya and Gökmen, 2008) more than the action of the antagonistic microorganism. Indeed, Arias et al. (2007) demonstrated that ascorbic acid did not inactivate pear-derived PPO, but it did decrease the activity of PPO by reacting with the product of the PPO-catalysed reaction.

Overall, the POD activities of both treated and untreated samples increased during the 6 d of storage at 5 ± 1 °C (Table 2). The same trend was observed in other studies with different food matrices and conservation treatments. For example, Xu et al. (2015) studied the effect of high-pressure nitrogen treatments on the activity of POD in fresh-cut pear (*Pyrus nivalis*), and the results suggested that the activity increased during 14 d of storage at 4 °C. Plaza et al. (2016) reported that the POD activities in untreated fresh-cut melon (*C. melo* L.) and those treated with *P. graminis* CPA-7 increased after 8 d of storage at 5 °C. Moreover, Liu et al. (2016) observed that the POD activity increased during storage in fresh-cut apples treated with ozone. Rojas-Graü et al. (2008) did not observe any influence from the 1 % ascorbic acid antibrowning solution on the POD activity of fresh-cut 'Fuji' apple (*Malus domestica* Borkh.). The POD activity was significantly lower after storage in samples treated with *P. graminis* CPA-7 regardless of the calcium treatment. In the recent study carried out by Collazo et al. (2018), POD activity was inhibited immediately after *P. graminis* CPA-7 inoculation in fresh-cut 'Golden delicious' apples. However, in that study after 6 d of storage time in MAP, POD activity increased in the *P. graminis* CPA-7 inoculated samples (2.6-fold higher) respect to control.

Table 1. Quality parameters of whole pear after 5 months of storage at -0.5 °C.

Parameters	No Calcium	Calcium
Acidity (g malic acid L ⁻¹)	1.52 ± 0.04 b	1.79 ± 0.05 a
Soluble solid content (%)	14.17 ± 0.06 a	14.20 ± 0.00 a
Firmness (N)	16.79 ± 0.81 a	14.45 ± 1.28 b
<i>L</i> *	75.52 ± 2.53 a	76.34 ± 3.65 a
<i>a</i> *	-1.87 ± 0.39 a	-1.85 ± 0.51 a
<i>b</i> *	12.62 ± 1.56 a	14.08 ± 2.40 a
PPO (ΔOD s ⁻¹ kg ⁻¹) ^a	469.49 ± 90.71 a	587.93 ± 24.99 a
POD (ΔOD s ⁻¹ kg ⁻¹)	433.84 ± 44.60 a	629.19 ± 126.47 a
PME (mol s ⁻¹ kg ⁻¹) × 10 ⁻⁵	0.97 ± 0.03 a	0.72 ± 0.06 b
PG (mol s ⁻¹ kg ⁻¹) × 10 ⁻⁵	0.80 ± 0.08 a	1.25 ± 0.28 a
Vitamin C (g kg ⁻¹)	0.02 ± 0.00 a	0.02 ± 0.00 a
Phenols (g kg ⁻¹)	0.26 ± 0.03 a	0.23 ± 0.02 a
Antioxidant activity		
DPPH (mol kg ⁻¹) × 10 ⁻³	1.20 ± 0.07 a	0.91 ± 0.10 b
FRAP (mol kg ⁻¹) × 10 ⁻³	0.69 ± 0.04 b	0.81 ± 0.04 a
Calcium (g kg ⁻¹)	0.49 ± 0.01 a	0.50 ± 0.00 a

Values are the means of independent determinations ± standard deviation. Different letters in the same row indicate significant differences ($P < 0.05$). ^a OD, optical densitometry.

The increase in the BI of fresh-cut pears observed in the present study during storage at 4 °C could be related to the increase in the POD activity found during the same period. Browning in fresh-cut fruits and vegetables has been associated with the PPO activity; however, several studies suggested that POD could also play a key role (Toivonen and Brummell, 2008). The increase observed in BI could also be due to secondary browning, which is usually associated with the germination of fungal spores on the cut surface (Toivonen, 2006).

3.2.2 Pectin methyl esterase (PME) and Polygalacturonase (PG) assays

Postharvest treatment with CaCl₂ produced a significant decrease ($P < 0.05$) in the PME activity of whole pear, but no effect was observed in the PG activity (Table 1). However, some authors suggested that PME activity should increase in the presence of calcium salts (Alandes et al., 2009, 2006; Quiles et al., 2007). The results contradict those obtained by Manganaris et al. (2007) who reported that the PME activities of peach samples (*Prunus persica*, cv. 'Andross') dipped in calcium chloride, lactate, or propionate were higher than those of the control. Ortiz et al. (2011) suggested that postharvest dips in 2 % CaCl₂ for 5 min did not enhance the PME activity in 'Golden Reinders' apples (*Malus x domestica* Borkh., cv. Golden Reinders) perhaps due to less intense effects from ethylene production. Moreover, they suggested that the PME activity was not directly related to the softening of the fruit. Therefore, the reduction in the firmness values obtained for whole pear (Table 1) might be more related to the PG activity than the PME activity. However, the

demethylation of pectin (polymer of galacturonic acid) by PME is necessary for the depolymerization by PG in pear softening (Ortiz et al., 2011; Toivonen and Brummell, 2008).

In fresh-cut pears (Table 2), the lowest PME activities (0.84 ± 0.14 and $1.14 \pm 0.03 \times 10^{-5} \text{ mol s}^{-1} \text{ kg}^{-1}$) were observed in pears subjected to postharvest calcium treatments at sampling day 0. Although the PG activity was higher in fresh-cut pears treated with calcium and *P. graminis* CPA-7 ($1.91 \pm 0.42 \times 10^{-5} \text{ mol s}^{-1} \text{ kg}^{-1}$) than in untreated samples ($0.93 \pm 0.21 \times 10^{-5} \text{ mol s}^{-1} \text{ kg}^{-1}$), no significant differences were observed. The maintenance of the PME and PG activities in all fresh-cut samples throughout the storage period could be related to the preservation of their firmness values. The dipping treatment used in the fresh-cut experiment consisting of ascorbic acid, sodium citrate and calcium chloride might have had a strong effect on these results by rinsing enzymes and substrates away from injured cells at the cut surfaces (Soliva-Fortuny and Martín-Belloso, 2003; Toivonen and Brummell, 2008).

Table 2. Physical parameters and enzymatic activities of fresh-cut pears during storage at 5 ± 1 °C.

Treatments	S. time (days)	Firmness (N)	Browning Index	PPO ($\Delta OD \text{ s}^{-1} \text{ kg}^{-1}$) ^a	POD ($\Delta OD \text{ s}^{-1} \text{ kg}^{-1}$)	PME ($\text{mol s}^{-1} \text{ kg}^{-1}$) $\times 10^{-5}$	PG ($\text{mol s}^{-1} \text{ kg}^{-1}$) $\times 10^{-5}$
NO CALCIUM							
Control	0	14.03 \pm 3.70 Aa	12.90 \pm 3.42 Ba	390.01 \pm 44.50 Ab	329.76 \pm 11.70 Cab	1.21 \pm 0.16 Aab	1.21 \pm 0.32 Aa
	2	11.98 \pm 2.15 Ab	15.68 \pm 5.04 ABb	424.81 \pm 39.31 Aa	569.65 \pm 3.69 Ba	1.33 \pm 0.28 Aa	1.01 \pm 0.04 Ab
	6	14.09 \pm 1.51 Aa	17.78 \pm 5.85 Ab	359.59 \pm 8.83 Aa	673.89 \pm 36.42 Aa	1.28 \pm 0.07 Aa	0.93 \pm 0.21 Ab
CPA-7	0	11.61 \pm 1.15 Aa	13.96 \pm 3.31 Ba	523.06 \pm 9.35 Aa	389.69 \pm 54.65 Bab	1.58 \pm 0.20 Aa	0.88 \pm 0.14 Ba
	2	13.33 \pm 3.74 Aab	18.07 \pm 7.85 ABb	396.89 \pm 19.85 Ba	557.21 \pm 28.80 Aa	1.30 \pm 0.11 Aa	2.25 \pm 0.48 Aa
	6	12.54 \pm 3.15 Aa	20.55 \pm 7.00 Aab	252.88 \pm 13.78 Cc	566.79 \pm 64.38 Ab	1.34 \pm 0.15 Aa	1.35 \pm 0.14 Bab
CALCIUM							
Control	0	13.20 \pm 2.27 Aa	15.50 \pm 2.60 Ba	515.13 \pm 16.41 Aa	445.24 \pm 12.31 Ca	0.84 \pm 0.14 Ab	1.35 \pm 0.10 Aa
	2	16.14 \pm 2.64 Aa	23.39 \pm 11.39 ABa	372.11 \pm 58.55 Ba	527.29 \pm 33.02 Ba	1.29 \pm 0.29 Aa	1.58 \pm 0.23 Aab
	6	13.56 \pm 1.88 Aa	26.01 \pm 15.09 Aa	305.49 \pm 14.44 Bb	604.18 \pm 19.64 Aa	1.13 \pm 0.14 Aa	1.53 \pm 0.22 Aab
CPA-7	0	10.46 \pm 2.07 Aa	13.63 \pm 2.40 Ba	345.50 \pm 36.34 Ab	321.49 \pm 47.76 Bb	1.14 \pm 0.03 Ab	1.41 \pm 0.42 Aa
	2	15.42 \pm 2.94 Aab	19.59 \pm 5.01 Aab	391.74 \pm 50.21 Aa	515.65 \pm 33.49 Aa	1.38 \pm 0.26 Aa	1.74 \pm 0.27 Aab
	6	13.29 \pm 2.07 Aa	19.29 \pm 4.22 Ab	309.04 \pm 7.62 Ab	556.15 \pm 16.59 Ab	1.00 \pm 0.25 Aa	1.91 \pm 0.42 Aa

Values are the means of independent determinations \pm standard deviation. Different capital letters in the same treatment indicate significant differences between days ($P < 0.05$). Different lower-case letters in the same storage day indicate significant differences ($P < 0.05$) between treatments. a OD, optical density.

3.3 Vitamin C

The vitamin C content was not affected by postharvest calcium treatment in whole pear (Table 1). In fresh-cut pears (Table 3), the initial vitamin C contents were very high due to the dipping treatment with the antioxidant solution containing ascorbic acid. However, the vitamin C concentration dramatically decreased from day 0 to 2, and then it remained constant for the remainder of the storage period. Ascorbic acid is typically located in the vacuole of the cell and is protected from oxidation by low pH and phenolic flavonoids (Cocci et al., 2006; Hajilou and Fakhimrezaei, 2013). However, exogenous ascorbic acid is probably housed in a different location and is therefore more exposed to O₂ (Cocci et al., 2006), enzyme ascorbate oxidase or oxidizing enzymes such as POD (Martins et al., 2016). Fresh-cut pears treated with antagonist *P. graminis* CPA-7 presented the lowest vitamin C contents (0.12 ± 0.01 and 0.13 ± 0.01 g kg⁻¹) after 6 d of storage at 5 ± 1 °C. However, Collazo et al. (2018) recently reported that vitamin C contents remained constant along storage time (6 d, 5 °C) and there were no differences between *P. graminis* CPA-7 inoculated and non-inoculated fresh-cut apples at any of the analysed sampling points (0, 1, 3 and 6 d). Moreover, in the study carried out by Plaza et al. (2016), the application of *P. graminis* CPA-7 to fresh-cut melon had no effect on the vitamin C content. Therefore, *P. graminis* CPA-7 might use the ascorbic acid in pears as a nutrient.

3.4 The total phenolic content and antioxidant activity

Postharvest calcium treatment had no effect on the total phenolic content of whole pears (Table 1). Similar results were obtained by Zhao and Wang (2015) who observed that the phenolic content of apples (*Malus domestica* Borkh. cv. Shouhong) treated with 5 % CaCl₂ for 10 min and stored for 28 d were not different from those of the control. However, Kou et al. (2015) reported that 'Huangguan' pears (*P. pyrifolia* Nakai cv. Huangguan) dipped in 2 % CaCl₂ for 15 min and stored for 8 months showed a higher contents of individual phenolic compounds than untreated pears. Overall, the total phenolic contents of fresh-cut pears decreased ($P > 0.05$), and there were no significant differences between treatments after 6 d of storage at 5 ± 1 °C (Table 3). This might be due to progressive oxidation of the antioxidant solution (calcium chloride, ascorbic acid and sodium citrate). The cyclic structures of ascorbic acid and citric acid are very similar to the structure of phenolic compounds, and they could interfere in the spectrophotometric determination of the total phenolic content (Siddiq et al., 2013; Singleton et al., 1999).

For whole pears treated with calcium, after 5 months storage, the antioxidant activity decreased in the DPPH[•] assay and increased in the FRAP assay (Table 1). The differences observed could be attributed to the different principles of each assay. Both assays are redox-linked colorimetric methods, but the DPPH[•] assay is based on accepting hydrogen (H) atoms (Mishra et al., 2012), and the FRAP assay is indicative of taking electrons from antioxidants (Benzie and Strain, 1996). The antioxidant activity decreased in fresh-cut pears during 6 d of storage at 5 ± 1 °C (Table 3). Moreover, fresh-cut pears subjected to a postharvest calcium treatment presented the highest antioxidant activities for both assays ($P < 0.05$). Fresh-cut pears treated with *P. graminis* CPA-7 presented the lowest antioxidant potentials when measured using the FRAP method ($1.52 \pm 0.01 \times 10^{-3}$ and $1.89 \pm 0.02 \times 10^{-3}$ mol kg⁻¹) for those fresh-cut pears with or without postharvest calcium treatment, which is consistent with the vitamin C contents. However, in a previous study carried out by Plaza et al. (2016), no significant differences ($P > 0.05$) were observed between fresh-cut melons (*C. melo* L.) treated with *P. graminis* CPA-7 and the control after 8 d

Table 3 Vitamin C, phenol, and calcium contents and antioxidant activity of fresh-cut pears during storage at 5 ± 1 °C.

Treatments	S. time (days)	Vitamin C (g kg ⁻¹)	Phenols (g kg ⁻¹)	DPPH (mol kg ⁻¹) x 10 ⁻³	FRAP (mol kg ⁻¹) x 10 ⁻³	Calcium (g kg ⁻¹)
NO CALCIUM						
Control	0	1.53 ± 0.10 Aa	0.79 ± 0.11 Aa	5.34 ± 0.09 Aa	5.06 ± 0.16 Aa	2.14 ± 0.02 Bb
	2	0.18 ± 0.04 Bbc	0.61 ± 0.03 ABa	1.11 ± 0.16 Bb	2.27 ± 0.01 Ba	2.34 ± 0.03 Aa
	6	0.16 ± 0.01 Ba	0.57 ± 0.07 Ba	1.35 ± 0.02 Bb	1.85 ± 0.03 Cb	2.08 ± 0.00 Bab
CPA-7	0	1.26 ± 0.05 Aab	0.74 ± 0.05 Aa	3.93 ± 0.18 Ab	4.23 ± 0.32 Ab	2.37 ± 0.01 Aa
	2	0.22 ± 0.00 Bab	0.47 ± 0.03 Bb	1.58 ± 0.14 Ba	1.76 ± 0.10 Bb	2.02 ± 0.02 Cc
	6	0.12 ± 0.01 Cc	0.54 ± 0.05 Ba	1.04 ± 0.12 Cb	1.52 ± 0.01 Bc	2.09 ± 0.01 Ba
CALCIUM						
Control	0	1.30 ± 0.17 Aab	0.94 ± 0.10 Aa	5.18 ± 0.06 Aa	5.07 ± 0.44 Aa	2.08 ± 0.03 Bb
	2	0.24 ± 0.00 Ba	0.56 ± 0.04 Bab	1.35 ± 0.14 Bab	1.98 ± 0.04 Bb	2.18 ± 0.01 Ab
	6	0.15 ± 0.01 Bab	0.56 ± 0.06 Ba	1.51 ± 0.09 Bab	2.00 ± 0.07 Ba	2.05 ± 0.00 Bbc
CPA-7	0	1.04 ± 0.13 Ab	0.75 ± 0.08 Aa	3.91 ± 0.24 Ab	4.14 ± 0.12 Ab	2.10 ± 0.08 Ab
	2	0.16 ± 0.01 Bc	0.50 ± 0.05 Bb	1.58 ± 0.12 Ba	1.94 ± 0.07 Bb	2.00 ± 0.03 Ac
	6	0.13 ± 0.01 Bbc	0.60 ± 0.06 ABa	1.99 ± 0.38 Ba	1.89 ± 0.02 Bb	2.02 ± 0.01 Ac

Values are the means of independent determinations ± standard deviation. Different capital letters in the same treatment indicate significant differences between days ($P < 0.05$). Different lower-case letters in the same storage day indicate significant differences ($P < 0.05$) between treatments.

of storage at 5 °C. The results suggested that *P. graminis* CPA-7 could use antioxidant compounds such as ascorbic acid as nutrients. Further studies are needed to confirm this and to study the mode of action of this microorganism, including the competition for nutrients in different food matrices.

3.5 Calcium content

The calcium contents in whole pears are listed in Table 1. There were no significant differences ($P > 0.05$) between untreated and treated whole pears. The results contradict those obtained by Kou et al. (2015) who reported that the application of 2 % CaCl₂ to 'Huangguan' pears (*P. pyrifolia* Nakai cv. Huangguan) increased the concentration of calcium. Moreover, Manganaris et al. (2007) observed that the application of calcium salts increased the content of calcium in the peel and flesh of peach (*Prunus persica*, cv. 'Andross'). Chardonnet et al. (2003) suggested that 2 % calcium chloride dip was enough to achieve maximum calcium accumulation in the cell wall of apples. 'Conference' pears might have reached saturated levels of calcium in their cell walls during formation and ripening and the addition of external calcium had no effect in the total content of calcium.

The calcium content in fresh-cut pears was higher than in whole pears ($\approx 2 \text{ g kg}^{-1}$) due to the applied antioxidant treatment that contained 1 % CaCl₂. The content of calcium was maintained in fresh-cut pears after 6 d of storage at $5 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$, except for fresh-cut pears not subjected to postharvest calcium treatment and treated with *P. graminis* CPA-7 after cutting (Table 3). To the best of our knowledge, in the studies carried out with *P. graminis* and specifically with *P. graminis* CPA-7 (Abadias et al., 2014; Alegre et al., 2013a, 2013b; Oliveira et al., 2015; Plaza et al., 2016), there is no mention of the use of calcium as a nutrient. The lowest content of calcium was observed in fresh-cut pears subjected to a postharvest calcium treatment (2.05 ± 0.00 and $2.02 \pm 0.01 \text{ g kg}^{-1}$) after 6 d of storage at $5 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$. The postharvest calcium treatment had no influence on the calcium content of fresh-cut pears. The flesh and peel of pears, where calcium is normally most concentrated, were eliminated during processing, and thus the postharvest calcium treatment might have had no effect on the final calcium content in fresh-cut pears. However, a significant effect on the final calcium content was caused by the antioxidant solution, which contained calcium chloride.

4. Conclusions

The effects of postharvest calcium treatment and bioconservation using *Pseudomonas graminis* CPA-7 on the enzymatic activities and nutritional qualities of fresh-cut pears were evaluated. Postharvest calcium application had a minimal effect on the quality of whole 'Conference' pears. Fresh-cut pears could be the most suitable option for increasing the consumption of pears in Spain and throughout Europe. Consumers usually demand fresh-cut fruits or vegetables with no symptoms of browning or softening. In general, firmness values and PME, PG and PPO activity values were maintained in fresh-cut pears after 6 d of storage at $5 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$. It was shown that the application of *P. graminis* CPA-7 had a positive effect on maintaining the PPO activity, which is usually associated with the browning index and limited the shelf-life of fresh-cut products. In this study, a clear synergy between calcium chloride and *P. graminis* CPA-7 in fresh-cut pears was not observed. Future studies should include the application of *P. graminis* CPA-7 in extreme conditions (for example without a disinfection step) and the use of ascorbic acid and phenolic compounds as nutrients by bacteria. Moreover, descriptive tests involving a trained panel and emerging sensory methods with consumers are necessary.

Acknowledgements

Authors thank the Spanish Ministry of Science and Innovation (AGL-2012-38671). This work has been supported by the Secretaria d'Universitats i Recerca del Departament d'Economia i Coneixement (AGAUR fellowship 2017-FI-B200164 (Lorena Zudaire) and 2015-FI-B100156 (M. Belén Iglesias)) and the CERCA Program of Generalitat de Catalunya. Dr. Aguiló-Aguayo thanks the Ministry of Economy and Competitiveness from the Government of Spain for the 'Ayuda para contratos para la formación postdoctoral' (FPDI-2013-15583). L. Plaza thanks the National Institute for Agronomic Research (INIA) for a DOC-INIA research contract. The authors thank Daniel Martín and Silvia Villaró for their technical support.

References

- Abadias, M., Altisent, R., Usall, J., Torres, R., Oliveira, M., Viñas, I., 2014. Biopreservation of fresh-cut melon using the strain *Pseudomonas graminis* CPA-7. *Postharvest Biol. Technol.* 96, 69–77. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.05.010>
- Alandes, L., Hernando, I., Quiles, A., Pérez-Munuera, I., Lluch, M.A., 2006. Cell wall stability of fresh-cut fuji apples treated with calcium lactate. *J. Food Sci.* 71. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00180.x>
- Alandes, L., Pérez-Munuera, I., Llorca, E., Quiles, A., Hernando, I., 2009. Use of calcium lactate to improve structure of 'Flor de Invierno' fresh-cut pears. *Postharvest Biol. Technol.* 53, 145–151. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.03.006>
- Alegre, I., Viñas, I., Usall, J., Anguera, M., Altisent, R., Abadias, M., 2013a. Antagonistic effect of *Pseudomonas graminis* CPA-7 against foodborne pathogens in fresh-cut apples under simulated commercial conditions. *Food Microbiol.* 33, 139–48. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.09.007>
- Alegre, I., Viñas, I., Usall, J., Teixidó, N., Figge, M.J., Abadias, M., 2013b. Control of foodborne pathogens on fresh-cut fruit by a novel strain of *Pseudomonas graminis*. *Food Microbiol.* 34, 390–9. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.01.013>
- Altisent, R., Plaza, L., Alegre, I., Viñas, I., Abadias, M., 2014. Comparative study of improved vs. traditional apple cultivars and their aptitude to be minimally processed as 'ready to eat' apple wedges. *LWT - Food Sci. Technol.* 58, 541–549. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.03.019>
- Altunkaya, A., Gökmen, V., 2008. Effect of various inhibitors on enzymatic browning, antioxidant activity and total phenol content of fresh lettuce (*Lactuca sativa*). *Food Chem.* 107, 1173–1179. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.046>
- Arias, E., González, J., Oria, R., Lopez-Buesa, P., 2007. Ascorbic acid and 4-hexylresorcinol effects on pear PPO and PPO catalyzed browning reaction. *J. Food Sci.* 72. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00484.x>
- Benzie, I.F., Strain, J.J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'antioxidant power': the FRAP assay. *Anal. Biochem.* 239, 70–6. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>

- Chardonnet, C.O., Charron, C.S., Sams, C.E., Conway, W.S., 2003. Chemical changes in the cortical tissue and cell walls of calcium-infiltrated 'Golden Delicious' apples during storage. *Postharvest Biol. Technol.* 28, 97–111. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(02\)00139-4](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(02)00139-4)
- Cocci, E., Rocculi, P., Romani, S., Dalla Rosa, M., 2006. Changes in nutritional properties of minimally processed apples during storage. *Postharvest Biol. Technol.* 39, 265–271. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.12.001>
- Colás-Medà, P., Abadías, M., Alegre, I., Usall, J., Viñas, I., 2015. Effect of ripeness stage during processing on *Listeria monocytogenes* growth on fresh-cut 'Conference' pears. *Food Microbiol.* 49, 116–122. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.01.019>
- Collazo, C., Giné-Bordonaba, J., Aguiló-Aguayo, I., Povedano, I., Bademunt, A., Viñas, I., 2018. *Pseudomonas graminis* strain CPA-7 differentially modulates the oxidative response in fresh-cut 'Golden delicious' apple depending on the storage conditions. *Postharvest Biol. Technol.* 138, 46–55. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.12.013>
- Ghafir, S., Ghdalla, S., Khalifa, S., Al, O., 2013. Effect of packaging, waxing and calcium chloride treatments on storage of 'Golden Delicious' and 'Red Delicious' apples. *Acta Hortic.* 1012, 569–572.
- Gomes, M.H., Fundo, J.F., Santos, S., Amaro, A.L., Almeida, D.P.F., 2010. Hydrogen ion concentration affects quality retention and modifies the effect of calcium additives on fresh-cut 'Rocha' pear. *Postharvest Biol. Technol.* 58, 239–246. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.07.004>
- Hajilou, J., Fakhimrezaei, S., 2013. Effects of post-harvest calcium chloride or salicylic acid treatments on the shelf-life and quality of apricot fruit. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 88, 600–601. <https://doi.org/10.1080/14620316.2013.11513012>
- Iglesias, M.B., 2017. Bioconservación de pera mínimamente procesada mediante el uso de *Pseudomonas graminis* CPA-7 y *Lactobacillus rhamnosus* GG y su efecto en la calidad de la fruta y en la modificación del potencial patogénico de *Listeria monocytogenes*. Universitat de Lleida.
- Kou, X., Wu, M., Li, L., Wang, S., Xue, Z., Liu, B., Fei, Y., 2015. Effects of CaCl₂ dipping and pullulan coating on the development of brown spot on 'Huangguan' pears during cold storage. *Postharvest Biol. Technol.* 99, 63–72. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.08.001>
- Liu, C., Ma, T., Hu, W., Tian, M., Sun, L., 2016. Effects of aqueous ozone treatments on microbial load reduction and shelf life extension of fresh-cut apple. *Int. J. Food Sci. Technol.* 51, 1099–1109. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13078>
- MAGRAMA, 2016. Informe del consumo de alimentación en España 2015. http://www.magrama.gob.es/imagenes/es/informeconsumoalimentacion2015_tcm7-422016.pdf
- Manganaris, G.A., Vasilakakis, M., Diamantidis, G., Mignani, I., 2007. The effect of postharvest calcium application on tissue calcium concentration, quality attributes, incidence of flesh browning and cell wall physicochemical aspects of peach fruits. *Food Chem.* 100, 1385–1392. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.036>
- MAPAMA, 2017. Anuario de Estadística 2016.

<http://www.mapama.gob.es/estadistica/pags/anuario/2015/AE15.pdf>

- Martins, E.M.F., Ramos, A.M., Martins, M.L., Leite Júnior, B.R. de C., 2016. Fruit salad as a new vehicle for probiotic bacteria. *Food Sci. Technol.* 36, 540–548. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.03316>
- Mishra, K., Ojha, H., Chaudhury, N.K., 2012. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food Chem.* 130, 1036–1043. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.127>
- Ngamchuachit, P., Sivertsen, H.K., Mitcham, E.J., Barrett, D.M., 2014. Effectiveness of calcium chloride and calcium lactate on maintenance of textural and sensory qualities of fresh-cut mangos. *J. Food Sci.* 79. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12446>
- Oliveira, M., Abadias, M., Colás-Medà, P., Usall, J., Viñas, I., 2015. Biopreservative methods to control the growth of foodborne pathogens on fresh-cut lettuce. *Int. J. Food Microbiol.* 214, 4–11. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.07.015>
- Oms-Oliu, G., Rojas-Graü, M.A., González, L.A., Varela, P., Soliva-Fortuny, R., Hernando, M.I.H., Munuera, I.P., Fiszman, S., Martín-Belloso, O., 2010. Recent approaches using chemical treatments to preserve quality of fresh-cut fruit: A review. *Postharvest Biol. Technol.* 57, 139–148. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.04.001>
- Ortiz, A., Graell, J., Lara, I., 2011. Cell wall-modifying enzymes and firmness loss in ripening 'Golden Reinders' apples: A comparison between calcium dips and ULO storage. *Food Chem.* 128, 1072–1079. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.016>
- Plaza, L., Altisent, R., Alegre, I., Viñas, I., Abadias, M., 2016. Changes in the quality and antioxidant properties of fresh-cut melon treated with the biopreservative culture *Pseudomonas graminis* CPA-7 during refrigerated storage. *Postharvest Biol. Technol.* 111, 25–30. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.07.023>
- Plaza, L., Muñoz, M., Ancos, B. de, Cano, M., 2003. Effect of combined treatments of high-pressure, citric acid and sodium chloride on quality parameters of tomato puree. *Eur. Food Res. Technol.* 216, 514–519. <https://doi.org/10.1007/s00217-003-0689-0>
- Quiles, A., Hernando, I., Pérez-Munuera, I., Lluch, M.Á., 2007. Effect of calcium propionate on the microstructure and pectin methylesterase activity in the parenchyma of fresh-cut Fuji apples. *J. Sci. Food Agric.* 87, 511–519. <https://doi.org/10.1002/jsfa>
- Rojas-Graü, M.A., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O., 2008. Effect of natural antibrowning agents on color and related enzymes in fresh-cut fuji apples as an alternative to the use of ascorbic acid. *J. Food Sci.* 73, 267–272. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00794.x>
- Sajid, M., Mukhtiar, M., Rab, A., Shah, S.T., Jan, I., 2014. Influence of calcium chloride (CaCl₂) on fruit quality of pear (*Pyrus communis*) cv. Le Conte during storage. *Pakistan J. Agric. Sci.* 51, 113–121.
- Siddiq, M., Sogi, D.S., Dolan, K.D., 2013. Antioxidant properties, total phenolics, and quality of fresh-cut 'Tommy Atkins' mangoes as affected by different pre-treatments. *LWT - Food Sci. Technol.* 53, 156–162. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.01.017>

- Silveira, A.C., Aguayo, E., Artés, F., 2010. Emerging sanitizers and Clean Room packaging for improving the microbial quality of fresh-cut 'Galia' melon. *Food Control* 21, 863–871. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.11.017>
- Singleton, V., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *METHODS Enzimol.* 299, 152–178.
- Soliva-Fortuny, R.C., Elez-Martínez, P., Martín-Belloso, O., 2004. Microbiological and biochemical stability of fresh-cut apples preserved by modified atmosphere packaging. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 5, 215–224. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2003.11.004>
- Soliva-Fortuny, R.C., Martín-Belloso, O., 2003. New advances in extending the shelf-life of fresh-cut fruits: A review. *Trends Food Sci. Technol.* 14, 341–353. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(03\)00054-2](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(03)00054-2)
- Toivonen, P.M.A., 2006. Fresh-cut apples: Challenges and opportunities for multi-disciplinary research. *Can. J. Plant Sci.* 86, 1361–1368.
- Toivonen, P.M.A., Brummell, D.A., 2008. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. *Postharvest Biol. Technol.* 48, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.09.004>
- Trentham, W.R., Sams, C.E., Conway, W.S., 2008. Histological Effects of Calcium Chloride in Stored Apples. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 133, 487–491.
- Van linden, V., Sila, D.N., Duvetter, T., De Baerdemaeker, J., Hendrickx, M., 2008. Effect of mechanical impact-bruising on polygalacturonase and pectinmethylesterase activity and pectic cell wall components in tomato fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 47, 98–106. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.06.006>
- Xu, M., Liu, H., Huang, M., Zhou, D., Cao, Q., Ma, K., 2015. Effects of high pressure nitrogen treatments on the quality of fresh-cut pears at cold storage. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 32, 56–63. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.09.006>
- Zhao, Y., Wang, C., 2015. Effect of calcium chloride in combination with salicylic acid on post-harvest freshness of apples. *Food Sci. Biotechnol.* 24, 1139–1146. <https://doi.org/10.1007/s10068-015-0145-5>

CAPÍTULO 3

Evaluation of postharvest calcium treatment and biopreservation with *Lactobacillus rhamnosus* GG on the quality of fresh-cut 'Conference' pears

L. Zudaire, I. Viñas, L. Plaza, M. B. Iglesias, M. Abadias, I. Aguiló-Aguayo

Journal of the Science of Food and Agriculture (2018), doi: 10.1002/jsfa.9031

ABSTRACT

BACKGROUND: Biological preservation with probiotic bacteria has arisen as an alternative to control the growth of foodborne pathogens on food. The objective of this work was to evaluate the effect of postharvest calcium application and biopreservation with *Lactobacillus rhamnosus* GG on the quality and bioaccessibility of total phenolic content and antioxidant activity in fresh-cut pears.

RESULTS: The immersion of whole pears in a calcium chloride solution did not provide added value. Despite the increase in observed activity of PME and PPO enzymes in fresh-cut pears during storage, the browning index and firmness values were constant for all samples. The antioxidant properties, including antioxidant activity, total phenolic content and vitamin C content, were maintained during storage, but a significant decrease was observed after *in vitro* simulated digestion. Ca/LGG samples showed the lowest calcium content ($1.75 \pm 0.00 \text{ g kg}^{-1}$) after 9 d of storage at 4 °C. In general, the overall visual quality scores were higher in fresh-cut pears treated with *L. rhamnosus* GG than in non-treated pears, with the highest values in the NoCa/LGG (7.7 ± 0.2) samples after 9 d at 4 °C.

CONCLUSION: Fresh-cut pears with a postharvest treatment of calcium and immersed in a solution containing antioxidant agents and probiotic bacteria could be a suitable alternative to dairy products for maintaining the overall quality of fruit for up to 9 d of storage.

Keywords: probiotic; *Lactobacillus*; pear; quality; digestion.

1. Introduction

Pears (*Pyrus communis* L.) have a low protein, lipid and glucose content and are rich in other sugars such as fructose, sorbitol, and sucrose. Pears also contain micronutrients such as vitamins, minerals, and antioxidants (Colás-Medà et al., 2015). The annual consumption of pears in Spain, which is 5.44 kg per capita, decreased by 0.8 % in 2016 (MAGRAMA, 2017a). In 2015, 355,410 tons of pears were produced in Spain, 39.5 % of which were produced in Lleida (MAGRAMA, 2017b).

In recent years, the minimally processed food market has increased its presence in the food industry (Rößle et al., 2010a) due to societal changes in lifestyle. The principal attraction of fresh-cut fruit and vegetables is their convenience and quality (Rojas-Graü et al., 2006). In Europe, fresh-cut fruit constitutes approximately 10 % of the total fresh-cut market volume, and in countries such as Germany and Spain, the market has grown more than in other western countries (Baselice et al., 2017). Fresh-cut fruit can be defined as any fresh fruit that has been subjected to peeling, trimming, or washing and cutting (Rojas-Graü et al., 2010). Fresh-cut fruit are more perishable than fresh whole fruit because in minimal processing, the natural skin barrier is removed, and microbial invasion, respiration, ethylene production, water loss and microbial decay are promoted (Gross et al., 2016). These factors can reduce the visual quality (e.g., colour, texture, flavour) and nutritional properties, decreasing the shelf-life of fresh-cut fruit.

Calcium is an essential nutrient in fruit and vegetables. Calcium deficiency has been implicated in several disorders such as bitter pit in apples and pears (Gago et al., 2016; Torres et al., 2017), brown rot in apples (Holb et al., 2012) or brown spots in pears (Kou et al., 2015). Calcium plays an important role in the maintenance of firmness (Javed et al., 2016) due to its ability to activate pectin methyl esterase (PME, EC 3. 1. 1. 11) (Alandes et al., 2009) and at the same time to cross-link with the carboxyl groups of pectin found in the middle lamella (Beirão-da-Costa et al., 2008). In fresh-cut fruit, calcium is usually applied by dipping the fruit in a solution that contains ascorbic acid, calcium salt and an organic acid (López-López et al., 2013).

Natural preservation using biological agents, such as probiotics, has been singled out as an emerging technology (Troyo and Acedo, 2015a). A probiotic has been defined as containing 'live microorganisms which when administered in adequate amounts confer a health benefit on the host' (FAO/WHO, 2002). Probiotics should not only survive in the food product but should also be able to reach the small intestine alive (Alegre et al., 2011a). Most common probiotics belong to the heterogeneous group of lactic acid bacteria (e.g., *Lactobacillus*, *Enterococcus*) and to the genus *Bifidobacterium* (Saad et al., 2013; Soccol et al., 2010). *Lactobacillus rhamnosus* GG is an extensively studied strain with well-documented probiotic properties (Alegre et al., 2011a). Iglesias et al. (Iglesias et al., 2017b) reported that the presence of *L. rhamnosus* GG in fresh-cut pears significantly reduced the growth of *L. monocytogenes* and its adhesive properties and ability to invade Caco-2 cells.

Moreover, fresh-cut fruit and vegetables enriched with probiotic bacteria could be an alternative for people who are allergic to animal proteins or are lactose intolerant, hypercholesterolaemic or vegetarian (Iglesias et al., 2017a, 2017b; Russo et al., 2015). In previous studies, the use of microorganisms from the genus *Lactobacillus* as a probiotic in fresh-cut jackfruit (Troyo and Acedo, 2015a), pineapple (Russo et al., 2014; Troyo and Acedo, 2015b) and apples (Alegre et al., 2011b; Rößle et al., 2010a) had no notable adverse effects on the physicochemical and sensory qualities of those products.

It has been demonstrated that *L. rhamnosus* GG on fresh-cut pears was able to survive under *in vitro* simulated gastrointestinal conditions (Iglesias et al., 2017b). Nevertheless, it is essential to know how digestion affects the bioactive compounds and their stability and consequently their bioaccessibility (Carbonell-Capella et al., 2015). Bioaccessibility is defined as the quantity of compounds that are released from the food matrix and presented to the intestinal brush border for transport into the cell (Attri et al., 2017; Schulz et al., 2017). *In vitro* digestion is often used to simulate gastrointestinal conditions due to the safety and ethical restrictions of *in vivo* models (Soriano Sancho et al., 2015; Zudaire et al., 2017).

As previously reported by Iglesias et al. (Iglesias et al., 2018), the postharvest calcium treatment and application of *L. rhamnosus* GG had no effect on either the respiration rate, soluble solids content, titratable acidity or the ethanol and acetaldehyde concentration of fresh-cut pears. The *L. rhamnosus* GG population was positively correlated with higher emissions of certain esters and alcohols. Moreover, the population of *L. monocytogenes* inoculated with *L. rhamnosus* GG decreased 1.8-log units after 9 d of storage.

The objective of the present study was to evaluate the effect of postharvest treatment with calcium and the probiotic bacteria *L. rhamnosus* GG on parameters of physical and chemical quality, enzymatic activities (polyphenol oxidase [PPO, EC 1. 10. 3. 1], peroxidase [POD, EC 1. 11. 1. x], polygalacturonase [PG, EC 3. 2. 1. 15], and pectin methyl esterase), vitamin C content, antioxidant activity and calcium content of minimally processed pears during their shelf-life. A study of simulated *in vitro* gastrointestinal digestion was also conducted to evaluate the bioaccessibility of total phenolic content and antioxidant activity after gastric and intestinal digestion.

2. Experimental methods

2.1 Plant material and postharvest treatment

'Conference' pears were obtained from a local farmer (Grealó, Lleida) at commercial maturity (62.6 N, 12.6 % soluble solids, 2.46 g malic acid L⁻¹). Fruits free of visual defects and uniform in colour and size were selected and divided into two lots. Postharvest treatments consisted of fruit dips at 25 °C for 10 min in the following solutions: water (control) and 1 % CaCl₂. Fruits were then allowed to dry at room temperature before storage at temperatures ranging from 0 to -0.5 °C over 8 months under controlled atmospheric conditions (2 % O₂ and 1 % CO₂) and 85 % RH.

2.2 Bacterial strain

The antagonist used in this study was the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG (obtained from Ashtown Food Research Centre, Teagasc, Ashtown, Dublin, Ireland). The growth conditions and final concentration on fresh-cut pears were previously reported by Iglesias et al. (2018), and the viability of the probiotic strain on fresh-cut pears was monitored during storage (0, 2, 6 and 9 d) in that study.

2.3 Processing, packaging and storage

Pears were cleaned, sanitized by immersion into a 0.1 g L⁻¹ NaOCl solution adjusted to pH 6.5 using citric acid, rinsed and dried prior to cutting operations. Pears were peeled and cut into 10 wedges using a handheld apple corer and slicer. The cut fruit were then dipped into an ice bath. Untreated pears and pears treated postharvest with calcium (1 % CaCl₂) were divided into 2 batches each.

Each batch was dipped (1:2 w/v) for 2 min at 150 rpm (horizontal shaker) in a cold water and antioxidant solution (2 % ascorbic acid, 2 % sodium citrate and 1 % calcium chloride). Two of these batches were treated with *L. rhamnosus* GG (10^8 CFU mL⁻¹ in bath; 4×10^7 CFU g⁻¹ on fresh-cut fruit) and the results were compared to a negative control (without the *Lactobacillus* treatment). Treated fruit were allowed to dry under ambient conditions. Approximately 120 g of cut pears were placed on 375 mL polypropylene trays (Anguera, Spain) and heat-sealed with a non-peelable polypropylene plastic film (PP-110, ILPRA, Italy) of 64 μ m thickness with an O₂ permeability of 110 cm³ m⁻² d⁻¹ atm⁻¹ at 23 °C and 90 % RH (Iglesias et al., 2018). Afterwards, the pear trays were stored at 4 °C for 9 d. At days 0, 2, 6, and 9, a portion of each sample was frozen with liquid nitrogen, pulverized and stored at -80 °C for enzymatic assays, vitamin C analysis, phenolic content analysis, and antioxidant activity and calcium determination.

2.4 Physical and chemical assays

Physical (colour and firmness) and chemical (titratable acidity and soluble solids content) assays were performed according to methods described by Plaza et al. (2016). The soluble solids content (SSC) was expressed as a percent and the titratable acidity (TA) was expressed as grams of malic acid L⁻¹. Those determinations were performed on whole pears. Three determinations were performed for each treatment. The firmness evaluation was conducted by determining the maximum strength necessary for a cylindrical probe of 4 mm in diameter to penetrate 10 mm into a pear sample using a TA-TX2 Texture Analyser (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, England). Colour was measured on the peel of the whole pear and the flesh of fresh-cut pears with a CR-200 Minolta Chroma Meter (Minolta, Inc., Tokyo, Japan) with a D65 illuminant and a 10° observer angle. The values a*, b* and L* were used to calculate the browning index (BI), as previously described by Liu et al. (2016).

2.5 Assessment of overall visual quality

The assessment was conducted as described by Altisent et al. (2014). The visual quality was assessed by an untrained panel based on the following hedonic scale: 9 = excellent; 7 = very good; 5 = good, at the limit of marketability; 3 = fair, at the limit of usability; and 1 = poor, inedible.

2.6 Enzymatic assays

2.6.1 PPO and POD activity

The PPO and POD activities were measured as described by Plaza et al. (2016). A PPO unit was defined as 0.01 absorbance units per minute, and PPO activity was defined as the change in absorbance per second per kilogram on a fresh weight basis. A POD unit was defined as 0.01 absorbance units per minute, and POD activity was defined as the change in absorbance per second per kilogram on a fresh weight basis.

2.6.2 PME and PG activity

PME activity was determined according to the method of Plaza et al. (2003) with some modifications. Briefly, the enzyme was extracted by the homogenization of 5 g of frozen sample with 10 mL of an extraction solution (1 mol L⁻¹ NaCl in 0.2 mol L⁻¹ sodium phosphate buffer, pH 7.5). The resulting mixture was shaken for 10 min at 4 °C, centrifuged at $13523 \times g$ for 20 min at 4 °C and then filtered. The supernatant was then collected and stored at -80 °C until the

determination of enzyme activity. PME activity was measured titrimetrically at 25 °C. Briefly, 2 mL of the enzymatic extract were mixed with 40 mL of a pectin-salt substrate solution (0.35 % pectin and 0.1 mol L⁻¹ NaCl). The solution was adjusted to pH 7.5 with 1 mol L⁻¹ NaOH. After the pH reached 7.5, 0.1 mL of 0.05 mol L⁻¹ sodium hydroxide was added. The time elapsed until the pH of the solution regained pH 7.5 was measured. A PME unit was defined on a fresh weight basis as the amount of enzyme required to release 1 mol of carboxyl groups per second.

PG activity was determined according to the method of Van linden et al. (2008) with some modifications. Six grams of frozen sample were homogenized with 9 mL of cold deionized water. The mixture was adjusted to pH 3.0 using HCl, stirred for 5 min and centrifuged at 13523 x g for 20 min at 4 °C. The pellet was recovered and resuspended in 6 mL of cold 1.2 mol L⁻¹ NaCl, the solution was adjusted to pH 6.0 and stirred for 5 min and then centrifuged at 13523 x g for 20 min at 4 °C. Finally, the collected extract was stored at -80 °C until PG determination. Reaction mixtures consisted of 350 µL of a 0.2 % (w/v) buffered PGA solution containing 0.04 mol L⁻¹ Na acetate at pH 4.4 and 50 µL of PG extract. The reaction mixtures were then incubated at 40 °C for 10 min. Two millilitres of cold borate buffer (pH 9.0, 0.1 mol L⁻¹) were added to each sample to stop the reaction, and 0.4 mL of a 1 % 2-cyano-acetamide solution were added. The mixture was incubated for 10 min at 100 °C and then immediately cooled in an ice bath. The absorbance was determined using a Genesys 10S UV-Vis spectrophotometer (Thermo Scientific™, Spain) at 276 nm and 22 °C. A standard calibration curve was generated at 276 nm using known concentrations of galacturonic acid (ranging from 0 to 3 × 10⁻³ mol L⁻¹ final volume). The enzyme activity was calculated on a fresh weight basis as the release of reducing groups per second.

2.7 Vitamin C analysis

The assay was carried out as described by Altisent et al. (2014). The reduction of dehydroascorbic acid to ascorbic acid was employed to determine the total vitamin C content using TCEP as the reducing agent. The total vitamin C content was determined using high-performance liquid chromatography (HPLC). The results were expressed on a fresh weight basis as grams of ascorbic acid per kilogram.

2.8 Determination of total phenolic content

The total phenolic content was determined using the Folin Ciocalteu method (Singleton et al., 1999), according to the modifications described by Altisent et al. (2014). The results were expressed on a fresh weight basis as grams of gallic acid equivalent per kilogram.

2.9 Determination of antioxidant activity

Antioxidant activity (AA) was determined by two different methods: a 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) radical scavenging assay and a ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay. The extraction and assays were conducted according to the methods described by Plaza et al. (2016). The results were expressed on a fresh weight basis as moles of ascorbic acid equivalents per kilogram.

2.10 Determination of calcium

The determination of calcium was performed using a HORIBA Jobin Yvon inductively coupled plasma optical emission spectrometer (ICP-OES), Model Activa, equipped with a Meinhard nebulizer. The instrument was calibrated using a mono-elemental atomic absorption standard solution for calcium (1000 mg L⁻¹). The sample pretreatment (digestion procedure) was conducted in an MLS 1200 mega microwave (Milestone, Milan, Italy) with HNO₃ (700 mL L⁻¹), H₂O₂ (300 mL L⁻¹) and nanopure water. The optic emission was measured at 393 nm. The results were expressed on a fresh weight basis as grams of calcium per kilogram.

2.11 In vitro simulated gastrointestinal digestion

In vitro simulated gastrointestinal digestion was performed according to the method described by Minekus et al. (2014) with minor modifications (Zudaire et al., 2017). The digestion was performed in triplicate for each sample at each sampling time. A blank was prepared using only distilled water in place of the sample following the same procedure. The results were compared with undigested samples. Antioxidant activity (FRAP and DPPH) and total phenolic content were determined after the gastric and intestinal phases. The percentage of loss was calculated using Eq. (1).

$$\text{Loss (\%)} = \frac{\text{undigested values} - \text{intestinal values}}{\text{undigested values}} \times 100 \quad (1)$$

2.12 Statistical analysis

The results were expressed as the mean ± standard deviation of three independent determinations. Differences among treatments were evaluated by using a one-way analysis of variance (ANOVA) and were considered to be significant at P<0.05 (95 % confidence level). A Tukey's test and *t*-tests were used to determine the differences between means. JMP 8 software was used to conduct the statistical analyses (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

3. Results and discussion

3.1 Physical and chemical quality parameters and overall visual quality

The quality parameters of whole pears after 8 months of storage are shown in Table 1. In general, the postharvest calcium treatment did not affect overall quality, with the exception of acidity. Untreated pears showed higher acidity (2.20 ± 0.12 g malic acid L⁻¹) than treated pears (1.73 ± 0.18 g malic acid L⁻¹). In contrast, Zhao and Wang (2015) demonstrated that dipping apples in a solution of 5 % CaCl₂ for 10 min moderated the decrease in titratable acidity values. Liu et al. (2017) showed that apricots treated with 1 % or 3 % CaCl₂ for 2 min and stored at 5 °C had a higher TA than the control, and the decrease in TA was slowed. They suggested that low temperature storage combined with calcium treatment could reduce acid oxidation.

The results of the physicochemical parameters of fresh-cut pears are shown in Table 2. Overall, neither calcium chloride nor *L. rhamnosus* GG affected the firmness of fresh-cut pears, and there were no significant differences (P>0.05) over the storage period for each treatment. In general, BI values were maintained during the storage period for all samples except for samples with

postharvest calcium treatment but without probiotic bacteria. There were no significant differences ($P>0.05$) between samples until day 6 of storage at 4 °C.

Overall, samples treated with *L. rhamnosus* GG had higher visual quality scores than non-treated samples (Fig. 1), and only the NoCa/LGG samples were still marketable (7.7 ± 0.2) after 9 d of storage at 4 °C.

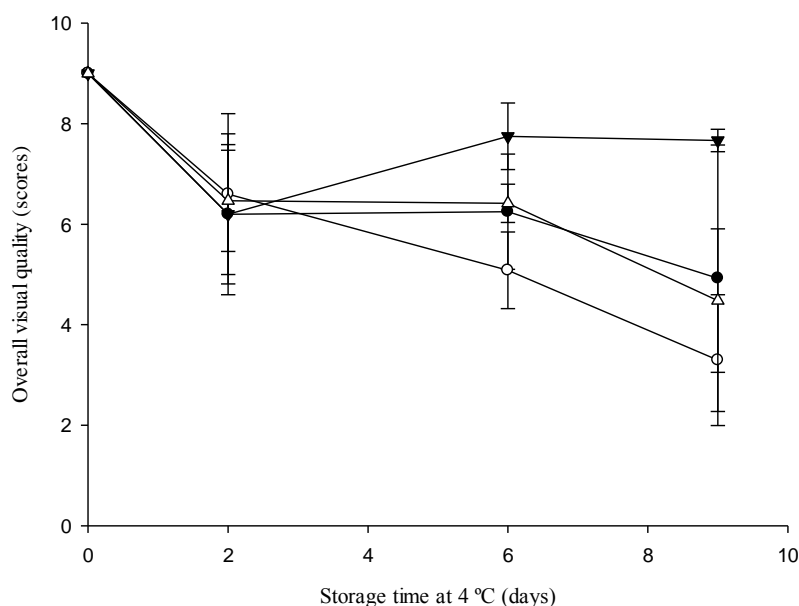


Figure 1. Effect of postharvest calcium chloride treatment and biopreservation using *Lactobacillus rhamnosus* GG [NoCa/NoLGG (●), NoCa/LGG (▼), Ca/NoLGG (○) and Ca/LGG (Δ)] on the overall visual quality of fresh-cut pears during a 9-day storage period at 4 °C. The error bars represent the standard deviation of the three replicates with a 95 % confidence interval.

3.2 Enzymatic activity

3.2.1 PPO and POD activity

The postharvest application of 1% CaCl₂ resulted in an increase in PPO and POD activities in whole pears (Table 1). In general, PPO activity increased in fresh-cut pears with postharvest calcium treatment after 9-day of storage at 4 °C (Table 2). Despite the increase in PPO activity, a non-significant change in BI was observed. Koushesh Saba and Sogvar (2016) reported that PPO enzyme activity increased in all fresh-cut apples during the storage period irrespective of the treatment applied (T₁: control, T₂: CMC + 0.5 % CaCl₂, T₃: CMC + 0.5 % CaCl₂ + Ascorbic Acid). López-López et al. (2013) demonstrated a rapid increase in PPO activity during the first 15 d of storage for apple slices treated with NAC (0.05 mol L⁻¹), CaCl₂ (0.5 %), or a combination of NAC-CaCl₂. PPO has been considered the primary enzyme involved in the loss of quality in fresh-cut fruit because its activity is related to enzymatic browning (Sanchís et al., 2016).

The effect of PPO activity on fresh-cut pear browning is a controversial issue. Gomes et al. (2014) reported that PPO activity was not the best predictor of tissue browning in fresh-cut ‘Rocha’ pears, either in the presence or in the absence of inhibitors. However, Soliva-Fortuny et al. (2002) reported that the browning of fresh-cut ‘Conference’ pears could be correlated with PPO values, and they suggested that browning reactions are not only influenced by the presence of PPO but also by the availability of oxygen and the presence of phenolic substrates. In the present study, fresh-cut pears were immersed in an antioxidant solution (2 % ascorbic acid, 2 % sodium citrate and 1 % calcium chloride) to avoid browning and softening. Overall, the browning index remained constant over the storage period, whereas PPO activity increased. Oms-Oliu et al. (2006) suggested that a high concentration of ascorbic acid could diffuse into fresh-cut pear tissue and lead to cell disruption and the subsequent decompartmentalisation of enzymes.

In general, POD activity was maintained after 9 d of storage at 4 °C for samples treated with *L. rhammosus* GG (Table 2). No significant differences ($P>0.05$) in POD activity were observed for different samples at the end of the storage period. In contrast, Xu et al. (2016) reported that POD activity increased more in whole litchi fruit treated with *Lactobacillus plantarum* (10^8 - 10^9 CFU mL⁻¹ for 2 min) than in untreated samples after storage. Consistent with these observations, Konappa et al. (2016) observed that tomato seedlings treated with lactic acid bacteria (10^8 CFU mL⁻¹) also showed higher POD activity than the untreated samples.

Table 1. Quality parameters of whole pears after 8 months of storage at 0-0.5 °C under controlled atmospheric conditions (2 % O₂ and 1 % CO₂) and 85 % RH.

Parameters	No Calcium	Calcium (1 %)
Acidity (g malic acid L ⁻¹)	2.20 ± 0.12 a	1.73 ± 0.18 b
Soluble Solid Content (%)	14.13 ± 0.88 a	13.50 ± 0.38 a
Firmness (N)	44.12 ± 7.61 a	40.50 ± 7.92 a
<i>L</i> *	64.49 ± 4.72 a	63.37 ± 5.44 a
<i>a</i> *	-13.40 ± 2.46 a	-12.47 ± 2.71 a
<i>b</i> *	38.77 ± 3.51 a	37.79 ± 3.60 a
PPO (ΔOD s ⁻¹ kg ⁻¹) ^a	270.93 ± 28.34 b	447.30 ± 21.80 a
POD (ΔOD s ⁻¹ kg ⁻¹)	170.12 ± 20.72 b	234.96 ± 14.99 a
PME (mol s ⁻¹ kg ⁻¹) x 10 ⁻⁵	1.02 ± 0.05 a	0.85 ± 0.10 a
PG (mol s ⁻¹ kg ⁻¹) x 10 ⁻⁵	1.70 ± 0.34 b	2.34 ± 0.15 a
Vitamin C (g kg ⁻¹) x 10 ⁻²	0.23 ± 0.04 a	0.23 ± 0.04 a
Phenols (g kg ⁻¹)	0.29 ± 0.03 a	0.33 ± 0.01 a
Antioxidant activity		
DPPH (mol kg ⁻¹) x 10 ⁻³	0.51 ± 0.04 a	0.48 ± 0.05 a
FRAP (mol kg ⁻¹) x 10 ⁻³	0.37 ± 0.01 a	0.37 ± 0.03 a
Calcium (g kg ⁻¹)	0.58 ± 0.00 a	0.58 ± 0.01 a

Values are the mean of independent determinations ± standard deviation. Different letters in the same row indicate significant differences ($P<0.05$). ^aOD, optical densitometry.

3.2.2 PME and PG activity

The postharvest treatment with CaCl₂ produced a significant increase ($P < 0.05$) in the PG activity of whole pears, whereas no effect was observed on PME activity (Table 1). Despite the observed increase in PG activity, no changes in the firmness of the samples were detected. Belge et al. (2017) demonstrated that PG activity increases in sweet cherries treated with 1.5 and 3 % CaCl₂ after a 15-day storage period with no apparent relationship to firmness. Similarly, Manganaris et al. (2007) indicated that PG activity was higher in peaches treated with calcium chloride (62.5 and 187.5 mmol L⁻¹) compared with untreated fruit after 21 d under cold storage (5 °C). Manganaris et al. (2005) detected an increase in exo-PG and endo-PG activities in nectarines treated with calcium lactate or calcium propionate at a high concentration (7.5 g L⁻¹), and they suggested that this might be due to surface injury. The action of PG is modified by the presence of calcium in the cell wall (Abeles et al., 1992). PG activity is greatly inhibited by high calcium concentrations, and in calcium-deficient tissues, PG activity is increased (Marschner, 1995). Recently, Fortes et al. (2017) suggested that exogenous calcium inhibits PG activity and that a reduction in calcium concentration could be linked to an increase in PG activity.

In general, PME activity increased in fresh-cut fruits after 9 d of storage at 4 °C (Table 2). However, there were no significant differences ($P > 0.05$) in PME activity among samples at the end of the storage period (9 d). Similarly, PG activity was maintained during the storage period for all fresh-cut samples without a significant observed effect ($P > 0.05$) of the addition of *L. rhamnosus* GG (Table 2). The maintenance of PG activity could be related to the preservation of firmness that was observed in all samples. The dipping treatment used in the fresh-cut processing contained calcium chloride, and it is known that calcium can have inhibitory effects on PG activity by solubilizing PG-mediated hydrolysis products (Gomes et al., 2010).

3.3 Vitamin C

There were no significant differences ($P > 0.05$) in the vitamin C values of whole pears regardless of the postharvest calcium treatment (Table 1). In fresh-cut pears (Table 3), the initial values of vitamin C were very high in response to the antioxidant dipping treatment containing 2 % ascorbic acid. Moreover, the vitamin C content significantly decreased during shelf-life, resulting in values of approximately 0.01 g kg⁻¹ after 9 d of storage. This behaviour is consistent with other studies on fresh-cut fruits. For instance, Martíns et al. (2016) observed that fruit salads immersed in 1 % ascorbic acid and *Lactobacillus rhamnosus* HN001 showed high initial values of vitamin C followed by a marked reduction after a 5-day storage period. Similarly, Cocci et al. (2006) reported that fresh-cut apples dipped in 1 % ascorbic acid and 1 % citric acid showed initial values that were higher than non-treated fruit due to the anti-browning treatment. However, they observed a decrease of up to 80 % after 1 d of storage with residual levels maintained until day 6. Ascorbic acid is typically located in the vacuole of the cell and is protected from oxidation by low pH and phenolic flavonoids (Cocci et al., 2006; Hajilou and Fakhimrezaei, 2013). However, exogenous ascorbic acid is probably housed in a different location and is therefore more exposed to O₂ (Cocci et al., 2006), enzyme ascorbate oxidase or oxidizing enzymes such as POD (Martíns et al., 2016).

Table 2. Physical parameters and enzymatic activity of fresh-cut pears during storage at 4 °C.

Treatments	Storage time (days)	Firmness (N)	Browning Index	PPO ($\Delta OD \text{ s}^{-1} \text{ kg}^{-1}$) ^a	POD ($\Delta OD \text{ s}^{-1} \text{ kg}^{-1}$)	PME ($\text{mol s}^{-1} \text{ kg}^{-1}$) $\times 10^{-5}$	PG ($\text{mol s}^{-1} \text{ kg}^{-1}$) $\times 10^{-5}$
NO CALCIUM							
Control	0	10.18 ± 2.02 Aa	17.02 ± 3.71 Aa	728.93 ± 64.17 Aa	114.99 ± 23.46 Bb	1.11 ± 0.19 Aa	1.94 ± 0.20 Bb
	2	15.95 ± 3.17 Aa	18.43 ± 5.12 Aa	315.11 ± 59.06 Bc	292.04 ± 31.53 Ab	1.75 ± 0.40 Aa	2.58 ± 0.40 ABa
	6	13.51 ± 1.98 Aa	17.66 ± 3.60 Ab	322.69 ± 24.47 Bbc	260.81 ± 28.84 Aab	1.88 ± 0.32 Aa	3.01 ± 0.46 Aa
	9	15.13 ± 3.42 Aa	19.30 ± 3.80 Ab	294.82 ± 35.68 Bc	253.23 ± 28.46 Aa	1.31 ± 0.27 Aa	1.86 ± 0.36 Ba
LGG	0	10.06 ± 4.25 Aa	17.83 ± 4.94 Aa	764.01 ± 14.07 Aa	213.42 ± 6.92 Ba	0.71 ± 0.15 Bb	3.96 ± 0.40 Aa
	2	13.87 ± 2.70 Aab	15.86 ± 4.08 Aa	611.63 ± 18.75 Ba	367.25 ± 29.87 Aa	1.65 ± 0.13 Aa	2.07 ± 0.15 Bab
	6	13.21 ± 2.18 Aa	17.61 ± 4.80 Ab	394.10 ± 87.23 Cab	431.61 ± 47.93 Aa	1.87 ± 0.28 Aa	1.44 ± 0.40 Bb
	9	14.27 ± 2.61 Aa	17.86 ± 3.96 Ab	401.27 ± 11.93 Cb	335.53 ± 74.83 ABa	2.01 ± 0.28 Aa	1.72 ± 0.20 Ba
CALCIUM							
Control	0	10.44 ± 1.75 Aa	15.68 ± 3.48 Ca	354.50 ± 19.89 Bb	189.93 ± 22.92 Ba	0.79 ± 0.11 Bab	1.77 ± 0.24 Ab
	2	13.99 ± 2.04 Aab	17.86 ± 4.64 BCa	445.49 ± 51.06 Ab	301.74 ± 25.49 Aab	2.32 ± 0.61 Aa	2.29 ± 0.26 Aab
	6	12.63 ± 1.87 Aa	21.94 ± 7.62 ABa	256.44 ± 22.19 Cc	248.77 ± 25.58 ABb	1.96 ± 0.13 Aa	1.58 ± 0.38 Ab
	9	12.35 ± 4.02 Aa	24.11 ± 7.55 Aa	507.63 ± 3.38 Aa	280.01 ± 36.85 Aa	1.53 ± 0.19 ABa	1.67 ± 0.46 Aa
LGG	0	11.67 ± 2.90 Aa	19.47 ± 6.00 Aa	336.12 ± 54.85 Bb	203.72 ± 37.76 Ba	0.73 ± 0.05 Cb	1.83 ± 0.16 Ab
	2	12.66 ± 1.45 Ab	18.14 ± 4.66 Aa	405.91 ± 18.93 Bbc	286.01 ± 21.64 ABb	1.35 ± 0.28 BCa	1.65 ± 0.23 Ab
	6	13.40 ± 2.57 Aa	19.37 ± 5.33 Aab	511.62 ± 18.83 Aa	409.98 ± 81.16 Aa	2.19 ± 0.40 Aa	2.09 ± 0.26 Aab
	9	12.76 ± 1.07 Aa	19.88 ± 6.28 Ab	521.77 ± 29.58 Aa	242.58 ± 41.43 Ba	1.54 ± 0.32 ABa	1.56 ± 0.39 Aa

Values are the mean of independent determinations ± standard deviation. Different capital letters in the same treatment indicate significant differences between days ($P < 0.05$). Different lower-case letters for the same storage day indicate significant differences ($P < 0.05$) between treatments. ^aOD, optical density.

No clear influence of *L. rhamnosus* GG on vitamin C content was observed (Table 3). The control samples (NoCa/NoLGG) showed the lowest vitamin C content ($0.99 \pm 0.07 \times 10^{-2} \text{ g kg}^{-1}$) after 9 d of storage at 4 °C, and there were no significant differences ($P > 0.05$) between the other samples. Russo et al. (2014) also observed that there were no significant differences ($P > 0.05$) in vitamin C content between fresh-cut pineapples treated with probiotic bacteria (*Lactobacillus plantarum* B2 or *Lactobacillus fermentum* PBCC11.5) and the control after an 8-day storage period. However, Russo et al. (2015) reported that the treatment with *Lactobacillus plantarum* B2 ($5 \times 10^9 \text{ CFU mL}^{-1}$) resulted in a decrease in ascorbic acid content in fresh-cut melon.

3.4 Total phenolic content and antioxidant activity

There were no significant differences ($P > 0.05$) in TPC or AA of whole pears after 8 months of storage (Table 1). Zhao and Wang (2015) also reported that there were no significant differences ($P > 0.05$) in TPC between whole apples dipped in a solution containing 5 % CaCl_2 and untreated samples after 28 d of storage (20 °C). Nevertheless, Kou et al. (2015) observed that ‘Huangguan’ pears treated with 2 % CaCl_2 showed higher values of phenolic compounds than untreated samples after 8 months of storage at 0 °C. Ayón-Reyna et al. (2017) showed that the TPC was significantly higher in papayas with a hydrothermal-calcium chloride treatment (1 % w/v) than in the control after 20 d at 12 °C. Moreover, Javed et al. (2016) indicated that guava fruit dipped in an aqueous solution of calcium lactate (1-3 % w/v) for 5 min showed a higher TPC and AA than the control samples after 24 d at 10 ± 1 °C. As Kou et al. (2015) have suggested, the high values of TPC could be linked to the inhibition of PPO activity. PPO is a copper-containing enzyme and could be activated with the help of Cu^{2+} . Hence, the inhibition of PPO by a calcium application might be due to an impact on Cu^{2+} .

Neither the postharvest calcium treatment nor the probiotic application was observed to influence the TPC or AA of fresh-cut pears during storage (Table 3). Russo et al. (2015) reported that probiotic bacteria had no effect on the TPC and AA of fresh-cut cantaloupe, and those parameters remained stable during storage. Rößle et al. (2010b) reported that apples slices treated with probiotics showed a loss of TPC after 5 d, suggesting that treatment with a probiotic solution had little effect on the loss of polyphenols. Consistent with this, Russo et al. (2014) showed that treatment with a probiotic solution did not significantly affect the TPC or AA values of fresh-cut pineapples.

In general, the TPC remained unchanged during 9 d of storage, whereas a decrease in the AA was observed in all samples irrespective of the treatment applied. This trend could be related to the addition of calcium chloride and ascorbic acid during the fresh-cut process. Koushesh Saba and Sogvar (2016) reported that the TPC decreased and the AA was maintained in fresh-cut apples coated with CMC containing calcium chloride (0.5 %) after 12 d of storage at 4 °C. Aguayo et al. (2015) showed that the TPC and AA (DPPH and FRAP) decreased after 28 d of storage at 4 °C in fresh-cut apples treated with a 6 % calcium ascorbate solution. Bico et al. (2009) observed that the TPC of fresh-cut bananas dipped in a 1 % (w/v) calcium chloride solution for 3 min decreased after 5 d of storage at 5 °C. In the study conducted by Aguayo et al. (2010), the TPC decreased and AA was maintained in fresh-cut apples treated with a 2 % calcium ascorbate and stored for 7 d at 4 °C. The absence of changes in TPC values relative to AA values suggests that the level of phenolics could be controlled by mechanisms other than ascorbic acid (Aguayo et al., 2010).

Table 3. Vitamin C, phenolic, and calcium content and antioxidant activity of fresh-cut pears during storage at 4 °C.

Treatments	Storage time (days)	Vitamin C (g kg ⁻¹) x 10 ⁻²	Phenols (g kg ⁻¹)	DPPH: (mol kg ⁻¹) x 10 ⁻³	FRAP (mol kg ⁻¹) x 10 ⁻³	Calcium (g kg ⁻¹)
NO CALCIUM						
Control	0	10.30 ± 0.69 Ab	0.75 ± 0.01 ABa	3.29 ± 0.09 Aa	2.69 ± 0.07 Aa	1.94 ± 0.04 Cb
	2	4.18 ± 0.32 Bab	0.84 ± 0.13 Aa	1.00 ± 0.04 Ba	1.36 ± 0.05 Ba	2.13 ± 0.02 Aa
	6	1.31 ± 0.12 Cb	0.63 ± 0.14 ABa	0.73 ± 0.06 Cbc	1.10 ± 0.06 Ca	1.81 ± 0.01 Dc
	9	0.99 ± 0.07 Cb	0.39 ± 0.02 Ba	0.79 ± 0.03 Ca	1.21 ± 0.05 BCb	2.00 ± 0.02 Ba
LGG	0	8.89 ± 0.04 Ab	0.74 ± 0.03 ABa	2.78 ± 0.12 Abc	2.35 ± 0.08 Ab	1.66 ± 0.01 Cc
	2	4.50 ± 0.15 Ba	0.80 ± 0.05 Aa	0.91 ± 0.06 Ba	1.19 ± 0.01 Bb	1.88 ± 0.01 Bbc
	6	1.40 ± 0.09 Cb	0.63 ± 0.08 ABa	0.64 ± 0.04 Cc	1.16 ± 0.08 Ba	2.00 ± 0.04 Aa
	9	1.31 ± 0.17 Ca	0.61 ± 0.09 Ba	0.65 ± 0.03 Cb	1.20 ± 0.05 Bb	1.96 ± 0.00 Aa
CALCIUM						
Control	0	13.20 ± 0.68 Aa	0.68 ± 0.03 Ba	2.74 ± 0.13 Ac	2.42 ± 0.04 Ab	2.18 ± 0.00 Aa
	2	4.22 ± 0.41 Bab	0.88 ± 0.03 Aa	0.91 ± 0.05 Ba	1.14 ± 0.07 Bb	2.01 ± 0.02 Bb
	6	1.38 ± 0.04 Cb	0.64 ± 0.13 BCa	0.84 ± 0.03 Ba	1.16 ± 0.16 Ba	1.95 ± 0.01 Cb
	9	1.37 ± 0.07 Ca	0.46 ± 0.05 Ca	0.78 ± 0.03 Ba	1.35 ± 0.01 Ba	1.97 ± 0.01 BCa
LGG	0	10.10 ± 0.74 Ab	0.73 ± 0.00 ABa	3.04 ± 0.06 Aab	2.51 ± 0.09 Aab	2.03 ± 0.02 Ab
	2	3.71 ± 0.22 Bb	0.88 ± 0.07 Aa	0.88 ± 0.11 Ba	1.33 ± 0.03 Ba	1.77 ± 0.16 BCc
	6	1.66 ± 0.10 Ca	0.70 ± 0.07 ABa	0.78 ± 0.03 Bab	1.35 ± 0.04 Ba	1.80 ± 0.00 Bc
	9	1.11 ± 0.05 Cab	0.58 ± 0.09 Ba	0.78 ± 0.02 Ba	1.26 ± 0.05 Bab	1.75 ± 0.00 Cb

Values are the mean of independent determinations ± standard deviation. Different capital letters for the same treatment indicate significant differences between days ($P < 0.05$). Different lower-case letters for the same storage day indicate significant differences ($P < 0.05$) between treatments.

3.5 Calcium content

The postharvest calcium application did not induce a change in the calcium levels in comparison with non-treated whole pears after 8 months of storage (Table 1). However, Kou et al. (2015) showed that the postharvest application of 2 % CaCl₂ increased the concentration of calcium in peeled 'Huangguan' pears after 8 months of storage. Similarly, Gago et al. (2016) reported that 'Golden Delicious' apples treated with CaCl₂ (1.5 % w/v) and 1-MCP showed higher calcium concentrations than the control fruit after 180 d of storage. Moreover, in the studies conducted by Manganaris et al. (2007, 2005), peaches and nectarines treated with three different calcium solutions (chloride, lactate or propionate) showed a higher calcium content than the control after 28 and 42 d of cold storage, respectively. Beirão-da-Costa et al. (2008) reported that the application of calcium to kiwifruit by immersion of the whole fruit in solutions of three different calcium chloride concentrations (1 %, 2 % and 3 %, w/v) combined with heat treatment (45 °C) prevented the diffusion of calcium into the fruit and instead lead to some loss of calcium ions.

In general, the calcium content of fresh-cut pears was higher than on whole pears due to treatment with the antioxidant solution, which contained 1 % CaCl₂ (Table 3). Moreover, calcium levels were maintained until the end of the storage period. Samples treated with calcium and *L. rhamnosus* GG showed the lowest values (1.75 ± 0.00 g kg⁻¹) after 9 d of storage at 4 °C. Different studies that have focused on the application of probiotic bacteria (Hossain et al., 2017; Russo et al., 2015, 2014; Saad et al., 2013; Socol et al., 2010), particularly *L. rhamnosus* (Alegre et al., 2011b; De Oliveira et al., 2014; Iglesias et al., 2017b, 2017a; Martins et al., 2016; Moreira et al., 2017; Rößle et al., 2010a, 2010b), to fruit did not study the possible use of calcium by probiotic bacteria as a nutrient or as a mechanism of action against pathogenic bacteria.

3.6 In vitro simulated gastrointestinal (GI) digestion

The GI simulation of whole and fresh-cut pears was conducted at two sampling times: 0 and 9 d of storage. Iglesias et al. (2017b) conducted an experiment where the viability of *L. rhamnosus* GG in fresh-cut pears was studied under similar gastrointestinal conditions. It was observed that *L. rhamnosus* GG (inoculum of 10¹⁰ CFU mL⁻¹) was able to survive the GI phase, and viability was maintained up to 10⁸ CFU g⁻¹ in pear wedges. Moreover, high adhesion (80 %) of *L. rhamnosus* GG was observed. In general, in the present study, the AA and TPC of fresh-cut pears decreased dramatically after GI digestion.

3.6.1 Antioxidant activity

The DPPH and FRAP values of digested whole and fresh-cut pears are shown in Fig. 2. Total AA in both gastric and intestinal digests were lower than those obtained from chemical extraction (undigested). Zudaire et al. (2017) suggested that the antioxidant components present in fruit and vegetables could be potentially unstable due to pH changes and enzymatic degradation.

The decrease in AA was approximately 86-90 % in whole pears and 61-96 % in fresh-cut pears in comparison with the undigested samples. Schulz et al. (2017) suggested that this decrease could be due to a decrease in the TPC and/or transformation into different structural forms with other chemical properties. In fresh-cut pears, the decrease in AA was greater at day 0 (approximately 95 %) than at day 9 (approximately 80 %) due to differences in the initial values. However, several studies reported that the DPPH values of some fruit and fruit and vegetable juices decreased

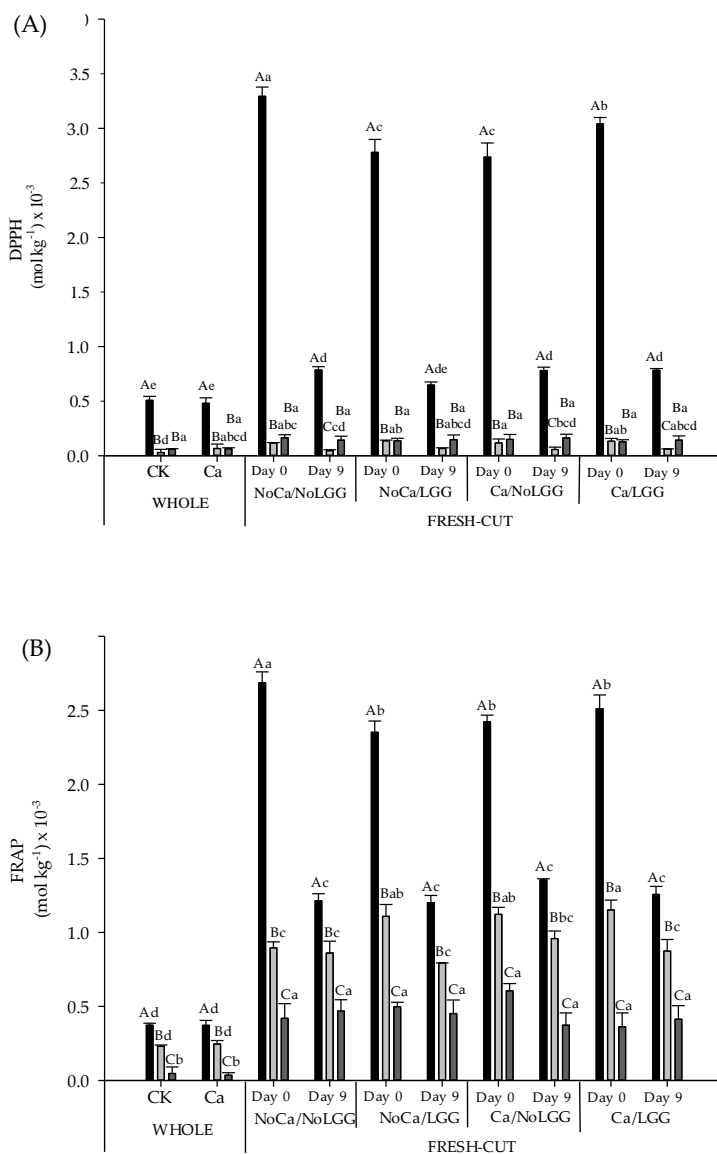


Figure 2. Antioxidant activity (A: DPPH assay, B: FRAP assay) of whole and fresh-cut pears after *in vitro* simulated gastrointestinal (GI) digestion. Whole pears were harvested and treated (Ca) or not treated (CK) with CaCl₂ after harvest and stored at 0-0.5 °C for 8 months. After this storage period, they were processed and treated or not treated with 10⁸ CFU mL⁻¹ of *L. rhamnosus* GG. The *in vitro* simulated gastrointestinal digestion was performed with whole (day 0) and fresh-cut pears (day 0 and 9). Antioxidant activity was measured in non-treated (black bars), gastric digested (light grey bars) and gastrointestinal digested (dark grey bars) samples. Values are expressed as the mean ± standard deviation. Capital letters indicate significant differences (P<0.05) between the phases of *in vitro* simulated gastrointestinal (GI) digestion. Lower case letters indicate significant differences (P<0.05) between storage treatments at same storage time and digestion phase.

after the intestinal phase of digestion (Chen et al., 2014; Rodríguez-Roque et al., 2013; Stanisavljevic et al., 2015; Wootton-Beard et al., 2011). (Bouayed et al. (2011) also observed that FRAP antioxidant activity decreased in 4 apple varieties after gastrointestinal digestion. However, Wootton-Beard et al. (2011) reported that the FRAP values of 23 vegetable juices increased after gastrointestinal digestion.

The total antioxidant activity in both the gastric and intestinal digesta was lower than in the chemical extracts. This could be due to the lower TPC as suggested by Bouayed et al. (2011). The DPPH assay has been reported to underestimate AA due to the possible reactions of DPPH and free radical scavengers, which are also influenced by the structural conformation of antioxidants. DPPH is very sensitive to low pH, and digestion could alter the structure of the antioxidant compounds, which may affect their reactivity with the less biologically relevant nitrogen radical formed in the DPPH assay (Attri et al., 2017; Wootton-Beard et al., 2011). In addition, the FRAP assay is more useful to study changes in AA as related to the changes in phenolic concentration without interference because of the pH-dependent variation in the polyphenol structure (Tagliazucchi et al., 2012, 2010).

3.6.2 Total phenolic content

The impact of *in vitro* simulated GI digestion on the TPC is shown in Fig. 3. Mosele et al. (2016) suggested that the decrease in TPC observed after the gastric phase could be due to the instability of molecules under low pH as well as their tendency for entrapment in the pectin gel. However, Friedman and Jürgens (2000) and Bermúdez-Soto et al. (2007) suggested that the decrease in TPC after gastrointestinal digestion could be associated with the instability of phenolic compounds under high pH. They indicated that the small molecules formed due to hydrolysis are less stable than the larger molecules resulting in different chemical properties, bioaccessibility, bioavailability and biological activity. However, it should be noted that the Folin-Ciocalteu reagent could be reduced by other nonphenolic compounds such as sugars, amines, organic acids, proteins, and ascorbic acid, leading to an overestimation of the TPC (Bouayed et al., 2012; Rodríguez-Roque et al., 2013).

The greatest decrease in TPC was observed after the gastric phase followed by a smaller decrease after the intestinal phase. The decrease was approximately 80-84 % in whole fruit and 65-85 % in fresh-cut pears. The losses were lower in fresh-cut pears at day 9 (65-77 %) than at day 0 (76-85 %), as was observed for the DPPH and FRAP antioxidant activity values. Pavan et al. (2014) reported that the TPC of araticum and papaya extracts decreased after *in vitro* digestion. However, Attri et al. (2017) observed an increase in the TPC of some fruit juices, and Chen et al. (2014) also reported an increase in the TPC of 25 fruits after gastrointestinal digestion.

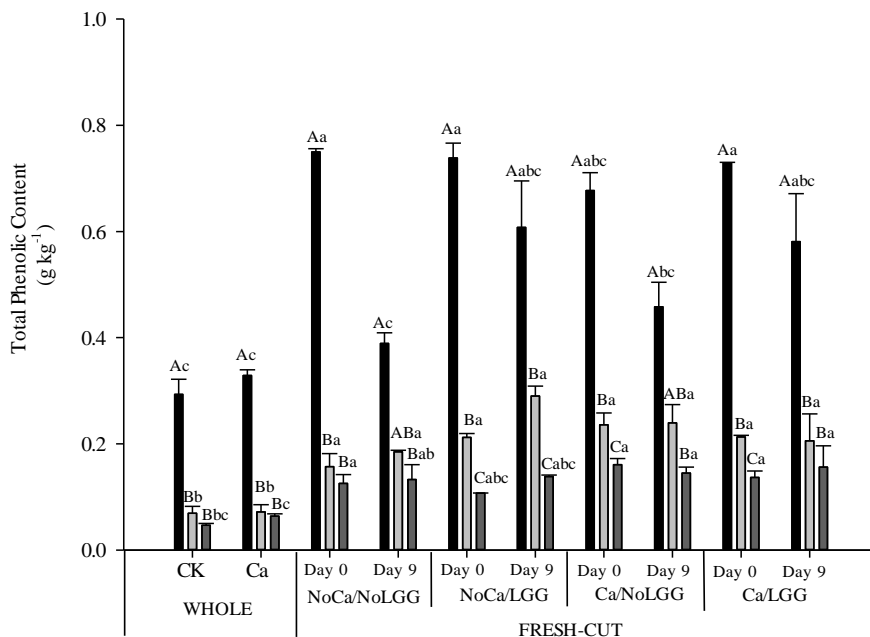


Figure 3. Total phenolic content of whole and fresh-cut pears after *in vitro* simulated gastrointestinal (GI) digestion. Whole pears were harvested and treated (Ca) or not treated (CK) with CaCl₂ after harvest and stored at 0-0.5 °C for 8 months. After this storage period, they were processed and treated or not treated with 108 CFU mL⁻¹ of *L. rhamnosus* GG. *In vitro* simulated gastrointestinal digestion was performed with whole (day 0) and fresh-cut pears (day 0 and 9). Total phenolic content was measured in non-treated (black bars), gastric digested (light grey bars) and gastrointestinal digested (dark grey bars) samples. Values are expressed as the mean ± standard deviation. Capital letters indicate significant differences ($P < 0.05$) between the phases of *in vitro* simulated gastrointestinal (GI) digestion. Lower case letters indicate significant differences ($P < 0.05$) between storage treatments at same storage time and digestion phase.

4. Conclusions

The effect of postharvest calcium treatment and biopreservation using the probiotic bacteria *L. rhamnosus* GG on the enzymatic activity, nutritional quality and bioaccessibility of the total phenolic content and antioxidant activity of whole and fresh-cut pears was evaluated. The postharvest calcium treatment had no effect on the nutritional quality of fruit compared with untreated whole pears. Moreover, no synergy between calcium chloride and *L. rhamnosus* GG was observed on the fresh-cut samples. The application of *L. rhamnosus* GG maintained the quality and the antioxidant potential of the fresh-cut product. Hence, taking into account the results obtained in this study and the reported benefits of *L. rhamnosus* GG on the microbial quality of fresh-cut pears, this treatment of fresh-cut product could be a possible alternative to the use of dairy products. Future studies should include a complementary step with Caco-2 cells in the *in vitro* gastrointestinal digestion to estimate the bioavailability of antioxidant activity and total phenolic content.

Acknowledgments

The authors thank the Spanish Ministry of Science and Innovation (AGL-2012-38671). This work has been supported by the Secretaria d'Universitats i Recerca del Departament d'Economia i Coneixement (AGAUR fellowship 2017-FI-B200164 to Lorena Zudaire and 2015-FI-B100156 to M. Belén Iglesias) and the CERCA Programme of Generalitat de Catalunya. L. Plaza thanks the National Institute for Agronomic Research (INIA) for a DOC-INIA research contract. I. Aguiló-Aguayo thanks the National Programme for the Promotion of Talent and Its Employability of the 'Ministerio de Economía, Industria y Competitividad' of the Spanish Government and the European Social Fund for her Postdoctoral Senior Grant 'Ramon y Cajal' (RYC-2016-19949). The researchers also thank Daniel Martín, Silvia Villaró and Jordi Sabata for their technical support.

References

- Abeles, F., Morgan, P., Saltveit, M.E., 1992. Ethylene in plant biology. Academic Press, London.
- Aguayo, E., Requejo-Jackman, C., Stanley, R., Woolf, A., 2015. Hot water treatment in combination with calcium ascorbate dips increases bioactive compounds and helps to maintain fresh-cut apple quality. *Postharvest Biol. Technol.* 110, 158–165. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.07.001>
- Aguayo, E., Requejo-Jackman, C., Stanley, R., Woolf, A., 2010. Effects of calcium ascorbate treatments and storage atmosphere on antioxidant activity and quality of fresh-cut apple slices. *Postharvest Biol. Technol.* 57, 52–60. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.03.001>
- Alandes, L., Pérez-Munuera, I., Llorca, E., Quiles, A., Hernando, I., 2009. Use of calcium lactate to improve structure of 'Flor de Invierno' fresh-cut pears. *Postharvest Biol. Technol.* 53, 145–151. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.03.006>
- Alegre, I., Viñas, I., Usall, J., Anguera, M., Abadias, M., 2011a. Microbiological and physicochemical quality of fresh-cut apple enriched with the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Food Microbiol.* 28, 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.08.006>
- Alegre, I., Viñas, I., Usall, J., Anguera, M., Abadias, M., 2011b. Microbiological and physicochemical quality of fresh-cut apple enriched with the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Food Microbiol.* 28, 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.08.006>
- Altisent, R., Plaza, L., Alegre, I., Viñas, I., Abadias, M., 2014. Comparative study of improved vs. traditional apple cultivars and their aptitude to be minimally processed as 'ready to eat' apple wedges. *LWT - Food Sci. Technol.* 58, 541–549. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.03.019>
- Attri, S., Singh, N., Singh, T.R., Goel, G., 2017. Effect of *in vitro* gastric and pancreatic digestion on antioxidant potential of fruit juices. *Food Biosci.* 17, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2016.10.003>
- Ayón-Reyna, L.E., González-Robles, A., Rendón-Maldonado, J.G., Báez-Flores, M.E., López-López, M.E., Vega-García, M.O., 2017. Application of a hydrothermal-calcium chloride treatment to inhibit postharvest anthracnose development in papaya. *Postharvest Biol. Technol.* 124, 85–90. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.10.009>

- Baselice, A., Colantuoni, F., Lass, D.A., Nardone, G., Stasi, A., 2017. Trends in EU consumers' attitude towards fresh-cut fruit and vegetables. *Food Qual. Prefer.* 59, 87–96. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2017.01.008>
- Beirão-da-Costa, S., Cardoso, A., Martins, L.L., Empis, J., Moldão-Martins, M., 2008. The effect of calcium dips combined with mild heating of whole kiwifruit for fruit slices quality maintenance. *Food Chem.* 108, 191–197. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.075>
- Belge, B., Goulao, L.F., Comabella, E., Graell, J., Lara, I., 2017. Refrigerated storage and calcium dips of ripe 'Celeste' sweet cherry fruit: Combined effects on cell wall metabolism. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 219, 182–190. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.02.039>
- Bermúdez-Soto, M.-J., Tomás-Barberán, F.-A., García-Conesa, M.-T., 2007. Stability of polyphenols in chokeberry (*Aronia melanocarpa*) subjected to *in vitro* gastric and pancreatic digestion. *Food Chem.* 102, 865–874. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.025>
- Bico, S.L.S., Raposo, M.F.J., Morais, R.M.S.C., Morais, A.M.M.B., 2009. Combined effects of chemical dip and/or carrageenan coating and/or controlled atmosphere on quality of fresh-cut banana. *Food Control* 20, 508–514. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.07.017>
- Bouayed, J., Deußer, H., Hoffmann, L., Bohn, T., 2012. Bioaccessible and dialysable polyphenols in selected apple varieties following *in vitro* digestion vs. their native patterns. *Food Chem.* 131, 1466–1472. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.030>
- Bouayed, J., Hoffmann, L., Bohn, T., 2011. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food Chem.* 128, 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.052>
- Carbonell-Capella, J.M., Buniowska, M., Esteve, M.J., Frígola, A., 2015. Effect of *Stevia rebaudiana* addition on bioaccessibility of bioactive compounds and antioxidant activity of beverages based on exotic fruit mixed with oat following simulated human digestion. *Food Chem.* 184, 122–30. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.095>
- Chen, G.-L., Chen, S.-G., Zhao, Y.-Y., Luo, C.-X., Li, J., Gao, Y.-Q., 2014. Total phenolic contents of 33 fruits and their antioxidant capacities before and after *in vitro* digestion. *Ind. Crops Prod.* 57, 150–157. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.03.018>
- Cocci, E., Rocculi, P., Romani, S., Dalla Rosa, M., 2006. Changes in nutritional properties of minimally processed apples during storage. *Postharvest Biol. Technol.* 39, 265–271. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.12.001>
- Colás-Medà, P., Abadías, M., Alegre, I., Usall, J., Viñas, I., 2015. Effect of ripeness stage during processing on *Listeria monocytogenes* growth on fresh-cut 'Conference' pears. *Food Microbiol.* 49, 116–122. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.01.019>
- De Oliveira, P.M., Leite Junior, B.R., Martins, M.L., Furtado Martins, E.M., Ramos, A.M., 2014. Minimally processed yellow melon enriched with probiotic bacteria. *Semin. Agrar.* 35, 2415–2426. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2014v35n5p2415>
- FAO/WHO, 2002. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. *Food Agric. Organ. United Nations World Heal. Organ. (Working Gr. Report)*.

- Fortes, A., Granel, A., Pezzotti, M., Bouzayen, M., 2017. Molecular and metabolic mechanisms associated with fleshy fruit quality. *Frontiers Media SA, Lausanne, Switzerland*.
- Friedman, M., Jürgens, H.S., 2000. Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 48, 2101–2110. <https://doi.org/10.1021/jf990489j>
- Gago, C.M.L., Guerreiro, A.C., Miguel, G., Panagopoulos, T., da Silva, M.M., Antunes, M.D.C., 2016. Effect of Calcium chloride and 1-MCP (Smartfresh™) postharvest treatment on ‘Golden Delicious’ apple cold storage physiological disorders. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 211, 440–448. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.09.017>
- Gomes, M.H., Fundo, J.F., Santos, S., Amaro, A.L., Almeida, D.P.F., 2010. Hydrogen ion concentration affects quality retention and modifies the effect of calcium additives on fresh-cut ‘Rocha’ pear. *Postharvest Biol. Technol.* 58, 239–246. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.07.004>
- Gomes, M.H., Vieira, T., Fundo, J.F., Almeida, D.P.F., 2014. Polyphenoloxidase activity and browning in fresh-cut ‘Rocha’ pear as affected by pH, phenolic substrates, and antibrowning additives. *Postharvest Biol. Technol.* 91, 32–38. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.12.013>
- Gross, K.C., Wang, C.Y., Saltveit, M., 2016. The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks, *Agriculture Handbook 66*, U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. USDA, Washington, DC.
- Hajilou, J., Fakhimrezaei, S., 2013. Effects of post-harvest calcium chloride or salicylic acid treatments on the shelf-life and quality of apricot fruit. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 88, 600–601. <https://doi.org/10.1080/14620316.2013.11513012>
- Holb, I.J., Balla, B., Vámos, A., Gáll, J.M., 2012. Influence of preharvest calcium applications, fruit injury, and storage atmospheres on postharvest brown rot of apple. *Postharvest Biol. Technol.* 67, 29–36. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.12.008>
- Hossain, M.I., Sadekuzzaman, M., Ha, S.-D., 2017. Probiotics as potential alternative biocontrol agents in the agriculture and food industries: A review. *Food Res. Int.* 100, 63–73. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.077>
- Iglesias, M.B., Abadias, M., Anguera, M., Sabata, J., Viñas, I., 2017a. Antagonistic effect of probiotic bacteria against foodborne pathogens on fresh-cut pear. *LWT - Food Sci. Technol.* 81, 243–249. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.03.057>
- Iglesias, M.B., Echeverría, G., Viñas, I., López, M.L., Abadias, M., 2018. Biopreservation of fresh-cut pear using *Lactobacillus rhamnosus* GG and effect on quality and volatile compounds. *LWT - Food Sci. Technol.* 87, 581–588. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.025>
- Iglesias, M.B., Viñas, I., Colás-Medà, P., Collazo, C., Serrano, J.C.E., Abadias, M., 2017b. Adhesion and invasion of *Listeria monocytogenes* and interaction with *Lactobacillus rhamnosus* GG after habituation on fresh-cut pear. *J. Funct. Foods* 34, 453–460. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.05.011>
- Javed, M.S., Randhawa, M.A., Butt, M.S., Nawaz, H., 2016. Effect of calcium lactate and modified atmosphere storage on biochemical characteristics of guava fruit. *J. Food Process. Preserv.* 40, 657–666. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12645>

- Konappa, N.M., Maria, M., Uzma, F., Krishnamurthy, S., Nayaka, S.C., Niranjana, S.R., Chowdappa, S., 2016. Lactic acid bacteria mediated induction of defense enzymes to enhance the resistance in tomato against *Ralstonia solanacearum* causing bacterial wilt. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 207, 183–192. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.05.029>
- Kou, X., Wu, M., Li, L., Wang, S., Xue, Z., Liu, B., Fei, Y., 2015. Effects of CaCl₂ dipping and pullulan coating on the development of brown spot on 'Huangguan' pears during cold storage. *Postharvest Biol. Technol.* 99, 63–72. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.08.001>
- Koushesh Saba, M., Sogvar, O.B., 2016. Combination of carboxymethyl cellulose-based coatings with calcium and ascorbic acid impacts in browning and quality of fresh-cut apples. *LWT - Food Sci. Technol.* 66, 165–171. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.022>
- Liu, C., Ma, T., Hu, W., Tian, M., Sun, L., 2016. Effects of aqueous ozone treatments on microbial load reduction and shelf life extension of fresh-cut apple. *Int. J. Food Sci. Technol.* 51, 1099–1109. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13078>
- Liu, H., Chen, F., Lai, S., Tao, J., Yang, H., Jiao, Z., 2017. Effects of calcium treatment and low temperature storage on cell wall polysaccharide nanostructures and quality of postharvest apricot (*Prunus armeniaca*). *Food Chem.* 225, 87–97. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.008>
- López-López, M., Vega-Espinoza, A., Ayón-Reyna, L., López-Valenzuela, J., Vega-García, M., 2013. Combined effect of hot water dipping treatment, N-acetylcysteine and calcium on quality retention and enzymatic activity of fresh-cut apple. *J. Food, Agric. Environ.* 11, 243–248.
- MAGRAMA, 2017a. Informe del consumo de alimentación en España 2016. <http://www.mapama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/panel-de-consumo-alimentario/ultimos-datos/> (accessed 7.21.17).
- MAGRAMA, 2017b. Anuario de Estadística Avance 2016. <http://www.mapama.gob.es/es/estadistica/temas/publicaciones/anuario-de-estadistica/> (accessed 7.21.17).
- Manganaris, G.A., Vasilakakis, M., Diamantidis, G., Mignani, I., 2007. The effect of postharvest calcium application on tissue calcium concentration, quality attributes, incidence of flesh browning and cell wall physicochemical aspects of peach fruits. *Food Chem.* 100, 1385–1392. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.036>
- Manganaris, G.A., Vasilakakis, M., Diamantidis, G., Mignani, I., 2005. Effect of post-harvest calcium treatments on the physicochemical properties of cell wall pectin in nectarine fruit during ripening after harvest or cold storage. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 80, 611–617. <https://doi.org/10.1080/14620316.2005.11511986>
- Marschner, H., 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants, Second. ed. Academic Press, London.
- Martins, E.M.F., Ramos, A.M., Martins, M.L., Leite Júnior, B.R. de C., 2016. Fruit salad as a new vehicle for probiotic bacteria. *Food Sci. Technol.* 36, 540–548. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.03316>
- Minekus, M., Almingier, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., Marze, S., McClements, D.J., Ménard,

- O., Recio, I., Santos, C.N., Singh, R.P., Vegarud, G.E., Wickham, M.S.J., Weitschies, W., Brodtkorb, A., 2014. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food - an international consensus. *Food Funct.* 5, 1113–24. <https://doi.org/10.1039/c3fo60702j>
- Moreira, R.M., Martins, M.L., Leite Júnior, B.R. de C., Martins, E.M.F., Ramos, A.M., Cristianini, M., Campos, A.N. da R., Stringheta, P.C., Silva, V.R.O., Canuto, J.W., Oliveira, D.C. de, Pereira, D.C. de S., 2017. Development of a juçara and Ubá mango juice mixture with added *Lactobacillus rhamnosus* GG processed by high pressure. *LWT - Food Sci. Technol.* 77, 259–268. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.049>
- Mosele, J.I., Macià, A., Romero, M.-P., Motilva, M.-J., 2016. Stability and metabolism of *Arbutus unedo* bioactive compounds (phenolics and antioxidants) under *in vitro* digestion and colonic fermentation. *Food Chem.* 201, 120–130. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.076>
- Oms-Oliu, G., Aguiló-Aguayo, I., Martí-Belloso, O., 2006. Inhibition of browning on fresh-cut pear wedges by natural compounds. *J. Food Sci.* 71, S216–S224.
- Pavan, V., Sancho, R.A.S., Pastore, G.M., 2014. The effect of *in vitro* digestion on the antioxidant activity of fruit extracts (*Carica papaya*, *Artocarpus heterophyllus* and *Annona marcgravii*). *LWT - Food Sci. Technol.* 59, 1247–1251. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.05.040>
- Plaza, L., Altisent, R., Alegre, I., Viñas, I., Abadias, M., 2016. Changes in the quality and antioxidant properties of fresh-cut melon treated with the biopreservative culture *Pseudomonas graminis* CPA-7 during refrigerated storage. *Postharvest Biol. Technol.* 111, 25–30. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.07.023>
- Plaza, L., Muñoz, M., Ancos, B. de, Cano, M., 2003. Effect of combined treatments of high-pressure, citric acid and sodium chloride on quality parameters of tomato puree. *Eur. Food Res. Technol.* 216, 514–519. <https://doi.org/10.1007/s00217-003-0689-0>
- Rodríguez-Roque, M.J., Rojas-Graü, M.A., Elez-Martínez, P., Martín-Belloso, O., 2013. Changes in vitamin C, phenolic, and carotenoid profiles throughout *in vitro* gastrointestinal digestion of a blended fruit juice. *J. Agric. Food Chem.* 61, 1859–1867. <https://doi.org/10.1021/jf3044204>
- Rojas-Graü, M.A., Garner, E., Martín-Belloso, O., 2010. The fresh-cut fruit and vegetables industry. Current situation and market trends, in: Martín-Belloso, O., Soliva-Fortuny, R.C. (Eds.), *Advances in Fresh-Cut Fruits and Vegetables Processing*. CRC Press, Boca Raton, pp. 1–13.
- Rojas-Graü, M.A., Sobrino-López, A., Tapia, M.S., Martín-Belloso, O., 2006. Browning inhibition in fresh-cut 'Fuji' apple slices by natural antibrowning agents. *J. Food Sci.* 71, 59–65.
- Rößle, C., Auty, M.A.E., Brunton, N., Gormley, R.T., Butler, F., 2010a. Evaluation of fresh-cut apple slices enriched with probiotic bacteria. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 11, 203–209. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.08.016>
- Rößle, C., Brunton, N., Gormley, R.T., Ross, P.R., Butler, F., 2010b. Development of potentially synbiotic fresh-cut apple slices. *J. Funct. Foods* 2, 245–254. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2010.09.001>
- Russo, P., de Chiara, M.L.V., Vernile, A., Amodio, M.L., Arena, M.P., Capozzi, V., Massa, S., Spano, G., 2014. Fresh-cut pineapple as a new carrier of probiotic lactic acid bacteria. *Biomed Res. Int.* 2014, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2014/309183>, [10.1155/2014/309183](https://doi.org/10.1155/2014/309183)

- Russo, P., Peña, N., de Chiara, M.L.V., Amodio, M.L., Colelli, G., Spano, G., 2015. Probiotic lactic acid bacteria for the production of multifunctional fresh-cut cantaloupe. *Food Res. Int.* 77, 762–772. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.033>
- Saad, N., Delattre, C., Urdaci, M., Schmitter, J.M., Bressollier, P., 2013. An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *LWT - Food Sci. Technol.* 50, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.05.014>
- Sanchís, E., González, S., Ghidelli, C., Sheth, C.C., Mateos, M., Palou, L., Pérez-Gago, M.B., 2016. Browning inhibition and microbial control in fresh-cut persimmon (*Diospyros kaki* cv. Rojo Brillante) by apple pectin-based edible coatings. *Postharvest Biol. Technol.* 12, 186–193. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.09.024>
- Schulz, M., Biluca, F.C., Gonzaga, L.V., da Silva Campelo Borges, G., Vitali, L., Mücke, G.A., de Gois, J.S., de Almeida, T.S., Borges, D.L.G., Miller, P.R.M., Costa, A.C.O., Fett, R., 2017. Bioaccessibility of bioactive compounds and antioxidant potential of juçara fruits (*Euterpe edulis* Martius) subjected to *in vitro* gastrointestinal digestion. *Food Chem.* <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.038>
- Singleton, V., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *METHODS Enzimol.* 299, 152–178.
- Soccol, C.R., Porto, L., Vandenberghe, D.S., Spier, M.R., Bianchi, A., Medeiros, P., Yamaguishi, C.T., 2010. The Potential of Probiotics : A Review. *Food Technol. Biotechnol.* 48, 413–434.
- Soliva-Fortuny, R.C., Biosca-Biosca, M., Grigelmo-Miguel, N., Martín-Belloso, O., 2002. Browning, polyphenol oxidase activity and headspace gas composition during storage of minimally processed pears using modified atmosphere packaging. *J. Sci. Food Agric.* 82, 1490–1496. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1209>
- Soriano Sancho, R.A., Pavan, V., Pastore, G.M., 2015. Effect of *in vitro* digestion on bioactive compounds and antioxidant activity of common bean seed coats. *Food Res. Int.* 76, 74–78. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.11.042>
- Stanisavljevic, N., Samardzic, J., Jankovic, T., Savikin, K., Mojsin, M., Topalovic, V., Stevanovic, M., 2015. Antioxidant and antiproliferative activity of chokeberry juice phenolics during *in vitro* simulated digestion in the presence of food matrix. *Food Chem.* 175, 516–522. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.009>
- Tagliacuzzi, D., Verzelloni, E., Bertolini, D., Conte, A., 2010. In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chem.* 120, 599–606. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.030>
- Tagliacuzzi, D., Verzelloni, E., Conte, A., 2012. The first tract of alimentary canal as an extractor. release of phytochemicals from solid food matrices during simulated digestion. *J. Food Biochem.* 36, 555–568. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2011.00569.x>
- Torres, E., Recasens, I., Lordan, J., Alegre, S., 2017. Combination of strategies to supply calcium and reduce bitter pit in ‘Golden Delicious’ apples. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 217, 179–188. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.01.028>
- Troyo, R.D., Acedo, A.L., 2015a. Optimizing the application of probiotic lactic acid bacteria for

- increased antimicrobial efficacy on freshcut jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*). *Acta Hort.* 1088, 419–424.
- Troyo, R.D., Acedo, A.L., 2015b. Antimicrobial potential of lactic acid bacteria on freshcut pineapple (*Ananas comosus*). *Acta Hort.* 1088, 413–418.
- Van linden, V., Sila, D.N., Duvetter, T., De Baerdemaeker, J., Hendrickx, M., 2008. Effect of mechanical impact-bruising on polygalacturonase and pectinmethylesterase activity and pectic cell wall components in tomato fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 47, 98–106. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.06.006>
- Wootton-Beard, P.C., Moran, A., Ryan, L., 2011. Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after *in vitro* digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin-Ciocalteu methods. *Food Res. Int.* 44, 217–224. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.033>
- Xu, C., Hu, W., Luo, S., Luo, H., Ma, K., Li, Y., 2016. Effect of composite biological preservative containing *Lactobacillus plantarum* on postharvest litchi quality. *Food Sci. Biotechnol.* 25, 1639–1643. <https://doi.org/10.1007/s10068-016-0252-y>
- Zhao, Y., Wang, C., 2015. Effect of calcium chloride in combination with salicylic acid on post-harvest freshness of apples. *Food Sci. Biotechnol.* 24, 1139–1146. <https://doi.org/10.1007/s10068-015-0145-5>
- Zudaire, L., Viñas, I., Abadias, M., Simó, J., Echeverria, G., Plaza, L., Aguiló-Aguayo, I., 2017. Quality and bioaccessibility of total phenols and antioxidant activity of calçots (*Allium cepa* L.) stored under controlled atmosphere conditions. *Postharvest Biol. Technol.* 129, 118–128. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.03.013>

CAPÍTULO 4

Effect of pre-harvest conditions and postharvest storage time on the quality of whole and fresh-cut *calçots* (*Allium cepa* L.)

L. Zudaire, I. Viñas, J. Simó, S. Sans, M. Abadias, I. Aguiló-Aguayo

Scientia Horticulturae (enviado)

ABSTRACT

Pre-harvest conditions such as cultivar, cultivation site and planting time could affect the storability, quality and shelf-life of fruit and vegetables. The influence of onion cultivar, cultivation site and planting time on the storability and quality of whole fresh and roasted *calçots* (*Allium cepa* L.) was investigated. Moreover, the suitability for fresh-cut processing of four different *calçots* was studied. Samples from 'Montferri' onion cultivar presented the best storability. Overall, postharvest storage time had no remarkable effect on the quality of whole *calçots* but produced an increase on the antioxidant properties of all samples. In relation to the aptitude to minimal processing, 'Montferri' early onion cultivar cultivated in Viladecans showed the best results in terms of quality throughout their postharvest storage time. Therefore, cultivar and postharvest storage time could have more effect than cultivation site and planting time on the quality of whole and fresh-cut *calçots*.

Keywords: *Allium*; storage; cultivation; planting; fresh-cut; quality.

1. Introduction

Calçots (*Allium cepa* L.) are the immature floral stems of second-year onion resprouts of the 'Ceba Blanca Tardana de Lleida' onion landrace. The singularity of the production of this product has helped to confer protected status from the European Union and 'Calçot de Valls' being awarded with the Protected Geographical Indication (EC No 905/2002; Simó et al., 2013; Zudaire et al., 2017).

In the last years, the consumption of fresh-cut vegetables has increased in Europe since consumers demand fresh, healthy and convenient product (Rico et al., 2007). The quality and safety of fresh-cut vegetables rely on many factors including those affecting the quality of whole fruit and vegetables (cultivar and pre-harvest practices and conditions) as well as specific factors such as handling procedures, conditioning, minimal processing, and following storage conditions (Gil and Allende, 2012; Kader, 2002).

However, *calçots* are subjected to the limit of seasonality and there is a need to find an adequate combination of pre-harvest and postharvest factors to prolong their storability. The first step to increase storage potential of *calçots* is the selection of the proper onion cultivar (Petropoulos et al., 2016b). Cultivar choice is the main factor in the quality as the genetic nature of the plant determines the structural and chemical attributes of the product (Cliffe-Byrnes and O'Beirne, 2005), final product quality and acceptability by consumers (Echeverría et al., 2013). Moreover, the interaction of cultivar with environmental, agronomic and processing conditions could also have influence on the level and bioavailability of antioxidant compounds in the final product (Tiwari and Cummins, 2013). Not all varieties of vegetables are suitable for minimal processing. The correct choice of variety is particularly relevant for vegetables such as potato or onion (Laurila and Ahvenainen, 2002). For example, Silveira et al. (2017) demonstrated that cultivar had effect on the final total phenolic content of fresh-cut potato. 'Montferri' is a new late *calçot* (*Allium cepa* L.) cultivar, which considerably increase the mean number of commercial *calçots* obtained for each plant while maintaining the sensory characteristics (Simó et al., 2012).

Similar cultivars grown in two different locations under comparable growing conditions could also have differences in phytochemical content as a result of variations in prevailing environmental conditions (Tiwari and Cummins, 2013). For example, Giannino et al. (2018) reported that growth site variation caused the major differences in the content of flavonols, flavonoids and chlorophylls of fresh-cut endives and escaroles. Moreover, planting time might have a significant impact on the characteristics of plants and could affect the mean weight and marketable yield (Sekara et al., 2017). In the case of onions, the productivity is significantly affected by both the selection of the cultivar and the planting time (Caruso et al., 2014).

Postharvest storage time of raw material is also important because many biochemical characteristics change during storage (Chope et al., 2006; Tiwari and Cummins, 2013). Overall, bunched green onions which are similar to *calçot*, could be stored 3 to 4 weeks at 0 °C with 95-98 % of RH and in most European countries, onions are stored in regular storage, using cool and ambient air (Adamicki, 2016). In recent years, the number of studies focused on the effect of long-term storage on the overall quality of onions has increased (Petropoulos et al., 2016b). For example, Petropoulos et al. (2016a) reported that overall quality of 'Vatikiotiko' onion bulbs was maintained after 210 d of storage at 5 ± 1 °C. Nevertheless, minimally processed fruit and vegetables have a short shelf-life principally due to mechanical stresses (Watada et al., 1996). The minimal processing could also rise microbial spoilage of minimally processed vegetables due to transmission of microflora from surface or decontamination water to the flesh (Qadri et al., 2015). Indeed, the following refrigerated storage is essential to ensure acceptable shelf-life (Garcia and Barrett, 2002).

The objective of this study was to evaluate the effect of cultivar, cultivation site, planting time and postharvest storage time of raw material on the morphological, physicochemical and sensorial quality and antioxidant potential of whole *calçots*. Moreover, their aptitude to be minimally processed as 'ready to eat' or 'ready to cook' products was evaluated through physicochemical, microbiological and sensorial analysis.

2. Materials and Methods

2.1 Effect of pre-harvest conditions and postharvest storage time on whole *calçots*

Calçots (*Allium cepa* L.) grown in the northeast of Spain were provided by 'Fundació Miquel Agustí' (Sabadell, Spain) at commercial size. They were cultivated during the crop growing season of 2015 and 2016. The experiment was carried out with two different cultivars: Traditional and Montferri (Simó et al., 2012). Those cultivars were grown in two areas of northeast of Spain: Viladecans (41°17'19.3"N, 2°02'42.5", Barcelona province) and La Juncosa del Montmell (41°18'59.4"N, 1°27'07.5"E, Tarragona province). Moreover, onion bulbs were planted at the end of August (early) or September (late). Table 1 shows the combinations tested.

Table 1. The combinations tested.

Samples	Cultivar	Cultivation site	Planting time
V1	Montferri	Juncosa	Early
V2	Traditional	Viladecans	Early
V3	Montferri	Viladecans	Late
V4	Montferri	Viladecans	Early

The *calçots* were harvested at commercial conditions, transported to the laboratory and immediately cooled to 1 °C at arrival. The time between harvesting and cooling was around 3 h. *Calçots* were then stored under air at 1 °C with 85 % of relative humidity (RH) for 30 d. The morphological, physicochemical and nutritional quality of samples was evaluated at day 0, 15 and 30. In addition, *calçots* were roasted as Zudaire et al. (2017) described. Briefly, *calçots* were roasted at 270 °C for 8 min and then, cooled into a blast chiller until they reached 3 °C. After conducting physicochemical assays, both fresh and roasted samples were crushed, powered and frozen with liquid nitrogen and stored at -80 °C for nutritional analysis.

2.1.1 Morphological and physicochemical quality

The measurements of morphological and quality parameters of raw *calçots* (whole samples) were made as Zudaire et al. (2017) described. The length and width of edible part (white shaft) and weight of the *calçots* were measured. Color, firmness, soluble solids content (SSC), titratable acidity (TA), pH and respiration rate were measured. SSC were expressed as percentage and TA as g of malic acid per liter. Respiration rate was expressed on a fresh weigh basis as mL of CO₂ per kg and h. Furthermore, color difference (ΔE^*) of external white shaft was calculated using the values a^* , b^* and L^* and following the methodology described by Wibowo et al. (2015).

2.1.2 Consumer assessment

A portion of 3 cm of roasted *calçot* of each sample and at each storage time was presented to an untrained panel of 40 consumers immediately after they were heated for 10 s in the microwave at a 900 W. The assessment was carried out following the same methodology previously described by Altisent et al. (2014). Briefly, each consumer assessed all samples and was asked to indicate his/her degree of liking/disliking using a 9-point hedonic scale (1-dislike extremely to 9-like extremely). A score equal or superior to seven was used as the threshold to analyze the results. Moreover, the percentage of consumers who evaluated equal or greater than 7 was calculated.

2.1.3 Antioxidant potential

Antioxidant activity and total phenolic content of raw and roasted *calçots* were measured as Zudaire et al. (2017) described. Antioxidant activity was determined by two different methods: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay. Results were expressed on a fresh weight basis as a mol of ascorbic acid equivalents per kg. Total phenolic content was determined following the Folin-Ciocalteu method (Singleton et al., 1999) and results were expressed on a fresh weight basis as g of gallic acid equivalent per kg.

2.2 Effect of pre-harvest conditions and postharvest storage time on fresh-cut *calçots*

Minimal processing of *calçots* stored for 15 and 30 d was conducted according to the study of Aguiló-Aguayo et al. (2015) which consisted of cutting roots and external leaves from the edible part as well as removing the outer peel. Fresh-cut *calçots* were immersed in a 10 L bath which contained 80 mg L⁻¹ peroxyacetic acid (39 %, Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) at room temperature under continuous agitation for 60 s. All samples were centrifuged at 210 rpm in a pilot plant centrifuge (Marrodán, Navarra, Spain) for 95 s. Fresh-cut *calçots* were packaged in polystyrene trays with retractable film and stored at 4 °C for 10 d. The microbiological and quality determinations (color, firmness, SSC, TA and pH) were carried out at day 0, 3, 7, and 10 d of shelf-life at 4 °C. Moreover, consumer assessment of fresh-cut and roasted *calçots* was carried out at day 0 and 6 of shelf-life at 4 °C.

2.2.1 Microbiological quality

The population of total aerobic mesophilic bacteria (TMB) and yeast and moulds (Y&M) was determined in triplicate (three different trays) at each sampling date. Two fresh-cut *calçots* from each tray were randomly selected, cut in small pieces and 25 g were weighed in a homogenizer sterile filter bag, diluted in 225 ml of buffered peptone water (BPW, Oxoid) and homogenized in a blender (IUL, Masticator, Spain) at 250 impact s⁻¹ for 90 s. Serial dilutions of the suspension were conducted in sterile buffer saline peptone (8.5 g L⁻¹ NaCl and 1 g L⁻¹ peptone). Aliquots of duplicate serial dilutions were spread onto plates with PCA (Plate Count Agar, Biokar) and DRBC (Dichloran Rose Bengal Chlorotetracycline agar, Biokar) for mesophilic aerobic microorganisms and yeasts and moulds enumeration, respectively. PCA plates were incubated at 30 ± 1 °C for 3 d and DRBC plates were incubated at 25 ± 1 °C for 5 d. The results were reported as log colony forming units (cfu) per gram of fresh weight.

2.3 Statistical analysis

Results were expressed as mean \pm standard deviation. All data was firstly evaluated for normality (Shapiro-Wilk W Test) and homogeneity of variance (Levene's Test) of residues. Significant differences between results were calculated by using one-way analysis of variance (ANOVA). In case of non-normality or unequal variances the non-parametric equivalents (Wilcoxon/Kruskal-Wallis Tests) were used. Differences were considered to be significant at $P < 0.05$ (95 % confidence level). In case of significant differences, multiple comparison of means was established with the Post Hoc Tukey-Kramer HSD or Student's test. All statistical analyses were performed with JMP 8 software (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

3. Results and discussion

3.1 Effect of pre-harvest conditions and postharvest storage time on whole calçots

3.1.1 Changes on morphological and quality parameters

Morphological parameters (width, length and weight) of whole *calçots* are shown in Table 2. Overall, morphological parameters of all samples were kept constant along postharvest storage time (30 d). V3 *calçots* presented the highest morphological values resulting in a more production yield due to their size. Both V3 and V4 *calçots* came from 'Montferri' onion cultivar produced in the same place but with different planting time, late and early, respectively, demonstrating that planting time could have influence on the morphological parameters of *calçots*. The planting time is very important inside the *calçot's* cultivation cycle. However, Simó et al. (2015) reported that different planting times (August and September) had no effect on the length and diameter of *calçots*, and they reach the commercial size indicated by PGI.

Browning index and firmness values are shown in Table 3. In general, browning index of white shaft increased up to 15 d of postharvest storage and remained stable until day 30 except for sample V4. However, Zudaire et al. (2017) reported that BI of *calçots* stored under air increased along storage time (60 d). Praeger et al. (2003) reported that during storage time (6 months) the onion cv. 'Sherpa' (type 'Rijnsburger') skin became slightly darker in all atmospheres (controlled atmosphere and air) being more notable in those stored under air. Moreover, in the study carried out by Fernández-León et al. (2013) a decrease in green color and an increase in yellow color of broccoli 'Parthenon' plants stored under air was observed after 21 d of storage and those color changes were more remarkable in those samples stored under air than under controlled atmosphere.

Overall, firmness values were kept constant along storage time (Table 3) except for *calçots* V3, since the firmness of those samples decreased as well as they showed a weight lost (Table 2). Those results were in agreement with those reported by Zudaire et al. (2017) who showed that firmness of *calçots* stored under air was maintained during the first 30 d of storage. In concordance, Melo et al. (2012) reported that the firmness of onion cv. 'Beta Cristal' stored under air remained constant up to 60 d of storage. However, Chope et al. (2007) showed that firmness of onion cv. SS1 stored under air decreased after 21 d of storage.

Table 2. Morphologic parameters of *calçots* at harvest and after 15 and 30 d of postharvest storage at 1 °C.

Samples	Time (days)	Width (mm)	Length (cm)	Weight (g)
V1	0	26.9 ± 6.3 A	8.2 ± 0.9 B	82.5 ± 22.9 A
	15	25.8 ± 5.8 A	8.6 ± 0.7 AB	77.6 ± 21.8 A
	30	26.2 ± 5.2 A	8.9 ± 0.7 A	69.7 ± 19.1 A
V2	0	23.5 ± 6.1 A	10.1 ± 1.3 A	86.6 ± 33.6 A
	15	22.7 ± 5.8 A	10.9 ± 1.1 A	82.4 ± 32.8 A
	30	22.6 ± 5.7 A	10.4 ± 0.6 A	72.1 ± 29.0 A
V3	0	30.0 ± 3.9 A	12.7 ± 1.9 A	122.5 ± 16.7 A
	15	29.6 ± 2.7 A	12.8 ± 0.9 A	116.8 ± 15.5 AB
	30	29.2 ± 2.7 A	12.7 ± 0.7 A	104.0 ± 13.3 B
V4	0	22.3 ± 4.0 A	11.5 ± 1.0 B	85.2 ± 28.1 A
	15	22.1 ± 3.7 A	12.7 ± 0.9 A	82.1 ± 23.3 A
	30	22.5 ± 3.8 A	11.6 ± 0.8 B	74.4 ± 21.3 A

For each sample, different capital letters in the same column indicate significant differences between postharvest storage times ($P < 0.05$) for each sample.

Soluble solid content (SSC), titratable acidity (TA) and pH values of all samples increased along storage time (Table 3). However, Zudaire et al. (2017) observed an increase in the TA and a decrease in both pH and SSC values of *calçots* stored under air up to 60 d of storage. Rodrigues et al. (2012) reported that SSC was maintained and pH decreased in 'Branca da Póvoa' and 'Vermelha da Póvoa' onion cultivars after 6 months of storage time under refrigeration conditions. However, Chope et al. (2007) reported that the total SSC of onions stored under air or controlled atmospheres depended on the cultivar. The observed increase in SSC could be associated by the metabolization of carbohydrates during the storage, due to high respiratory activity (Fernández-León et al., 2013) or caused by the low temperature hydrolysis of fructans which are the major oligosaccharides in onion bulbs (Benkeblia and Shiomi, 2004).

Respiration rate is usually a good index for the storage life of fresh vegetables; hence, the higher the rate, the shorter the life and vice versa (Özden and Bayindirli, 2002). Respiration rate of V1-V3 *calçots* increased along storage time but without significant differences ($P > 0.05$) respect to day 0, and a maximum respiration rate occurred during the first 15 d of storage (Table 3). However, respiration rate of V4 sample increased along storage time with a maximum value at day 30. Moreover, respiration rate tendency observed in those V3 and V4 *calçots* could be related with the changes observed in SSC along storage time (30 d) because soluble sugars are used in respiration (Rodrigues et al., 2012). Those results were in agreement with those reported by Zudaire et al. (2017) where respiration rate of *calçots* stored under air conditions increased along storage time (60 d). The respiration rate results obtained in the present study could be analyzed either by cultivar (V4 vs V2) or by planting time (V4 vs V3). On the one hand, the increase in the respiration rate observed could be cultivar-dependent because V2 (Traditional) and V4 ('Montferri') planted at the same place and time presented different tendency. In concordance, Chope et al. (2007) reported that the respiration rates for onion cvs. 'Carlos' and 'Renate' were significantly ($P < 0.001$) greater than for SS1 cultivated at the same place and time. On the other hand, respiration rate could be planting time-dependent because V3 (late) and V4 (early) came from the same onion cultivar and they were planted at the same place. However, there is a lack of literature discussing the effect of planting or sowing date on the postharvest respiration rate of vegetables.

Table 3. Quality parameters of calçots at harvest and after 15 and 30 d of postharvest storage at 1 °C.

Samples	Time (days)	BI	Firmness (N)	SSC (%)	TA (g malic acid L ⁻¹)	pH	Respiration rate (mL CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹)
V1	0	6.3 ± 1.8 B	123.4 ± 24.6 A	12.5 ± 0.3 B	2.7 ± 0.0 B	5.7 ± 0.0 C	16.4 ± 2.4 A
	15	7.9 ± 3.5 A	109.9 ± 34.3 A	12.1 ± 0.0 C	2.5 ± 0.2 B	5.9 ± 0.0 B	29.0 ± 0.2 A
	30	8.4 ± 1.6 A	89.1 ± 28.2 A	16.0 ± 0.1 A	3.8 ± 0.2 A	6.1 ± 0.0 A	25.5 ± 5.2 A
V2	0	6.2 ± 1.6 B	98.3 ± 17.1 A	10.6 ± 0.2 B	1.5 ± 0.2 B	5.7 ± 0.0 C	11.9 ± 1.4 B
	15	7.6 ± 2.5 A	76.6 ± 29.3 A	10.6 ± 0.1 B	1.7 ± 0.1 B	5.8 ± 0.0 B	24.7 ± 4.2 A
	30	7.4 ± 2.0 A	86.3 ± 20.0 A	15.9 ± 0.1 A	2.2 ± 0.1 A	6.1 ± 0.0 A	17.4 ± 1.4 AB
V3	0	4.8 ± 0.9 B	127.3 ± 25.3 A	12.6 ± 0.4 B	1.5 ± 0.1 B	5.6 ± 0.0 C	10.1 ± 1.4 B
	15	6.1 ± 2.5 A	90.6 ± 21.3 B	11.4 ± 0.0 C	1.8 ± 0.2 AB	5.8 ± 0.0 B	27.4 ± 4.2 A
	30	6.9 ± 1.7 A	80.9 ± 15.6 B	16.0 ± 0.1 A	1.9 ± 0.1 A	6.0 ± 0.0 A	18.3 ± 2.4 B
V4	0	8.3 ± 3.6 A	107.8 ± 22.8 A	10.6 ± 0.0 C	1.9 ± 0.1 B	5.7 ± 0.0 C	11.9 ± 1.4 B
	15	5.8 ± 2.1 B	116.3 ± 40.5 A	11.1 ± 0.1 B	1.9 ± 0.1 B	5.8 ± 0.0 B	13.6 ± 1.4 AB
	30	6.4 ± 5.6 AB	86.4 ± 20.1 A	15.9 ± 0.1 A	2.2 ± 0.0 A	5.9 ± 0.0 A	25.6 ± 5.0 A

Values are expressed as mean ± standard deviation. For each sample, different capital letters in the same column indicate significant differences between postharvest storage times ($P < 0.05$).

3.1.2 Consumer assessment

The percentage of consumers who evaluated above 7 points decreased along postharvest storage time for V1 and V2 samples, from 77.8 % to 57.0 % and from 63.0 % to 57.0 %, respectively (data not shown). However, opposite tendency was observed for V3 and V4 samples, where percentage increased from 55.6 % to 82.1 % and from 70.4 % to 92.0 %, respectively. *Calçots* which came from 'Montferri' onion cultivar and planted at the same place (Viladecans) presented the best scores, indicating that planting time had no effect on the sensorial quality of those *calçots*. Zudaire et al. (2017) reported that higher liking degree value was observed in *calçots* stored under air during 60 d than 30 d. Besides the differences observed in the tendency and consumer percentage of traditional and 'Montferri' cultivars, Simó et al. (2012) reported that there were no differences between *calçots* from the base population, 'Babosa' and 'Nerja' cultivars and those from the two new cultivars ('Montferri' and 'Roquerola') in the sensory analysis (sweetness, fiber and off-flavors).

3.1.3 Antioxidant activity

In the current study, two methods, DPPH and FRAP, were used to investigate the changes in total antioxidant activity of *calçots* after 30 d of postharvest storage (Figure 1A and 1B). Moreover, the effect of thermal processing (roasting) was assessed. Overall, antioxidant activity values of whole raw *calçots* by DPPH method decreased along postharvest storage time with a maximum value at day 15 and increased by FRAP method. There was no observed a similar tendency in those samples that came from the same onion cultivar, planted at the same place or time. Petropoulos et al. (2016a) reported that antioxidant activity as expressed by DPPH reduced during postharvest storage (139-210 d) under refrigeration conditions for all onion genotypes. However, Gunes et al. (2002) showed that the AA of cranberry fruit stored under air increased around 45 %.

Furthermore, antioxidant activity values were maintained by DPPH method except at day 30 of postharvest storage and increased by FRAP method after thermal processing (270 °C, 8 min). It was not observed a clear tendency in those samples that came from the same onion cultivar, planted at the same place or time. However, Zudaire et al. (2017) reported that AA (DPPH and FRAP) of all *calçots* increased after roasting (270 °C, 8 min) regardless of postharvest storage regime and time. Moreover, Sharma et al. (2015) reported that the DPPH and FRAP values for all studied onion cultivars were increased after 30 min at 120 °C or 150 °C.

3.1.4 Total Phenolic Content

The total phenolic content (TPC) of raw and roasted *calçots* is shown in Figure 1C. The TPC of raw samples V1 and V2 increased and samples V3 and V4 was maintained after 30 d of postharvest storage. Caruso et al. (2014) reported that polyphenol content of cured 'Ramata di Montoro' onion bulbs was not significantly affected by the transplanting time. In concordance with the results obtained in the present study, Zudaire et al. (2017) reported that the TPC of raw *calçots* increased after 60 d of postharvest storage at 1 °C without a relation between the AA and TPC. However, Petropoulos et al. (2016a) showed that the TPC of 'Sivan F1', 'Vatikiotiko' and 'Creamgold' onion cultivars decreased after 139-210 d at 5 °C. The effects of storage time under air depend on the vegetable matrix. For example, Singh and Singh (2013) reported that the concentration of total phenolic of Japanese plums stored under air (0-1 °C) declined after 8 weeks. Nevertheless, Li et al. (2015) showed that the TPC of kiwifruit increased along storage time (2 ± 2 °C) with a maximum value at day 15, and then decreased drastically by 30 d.

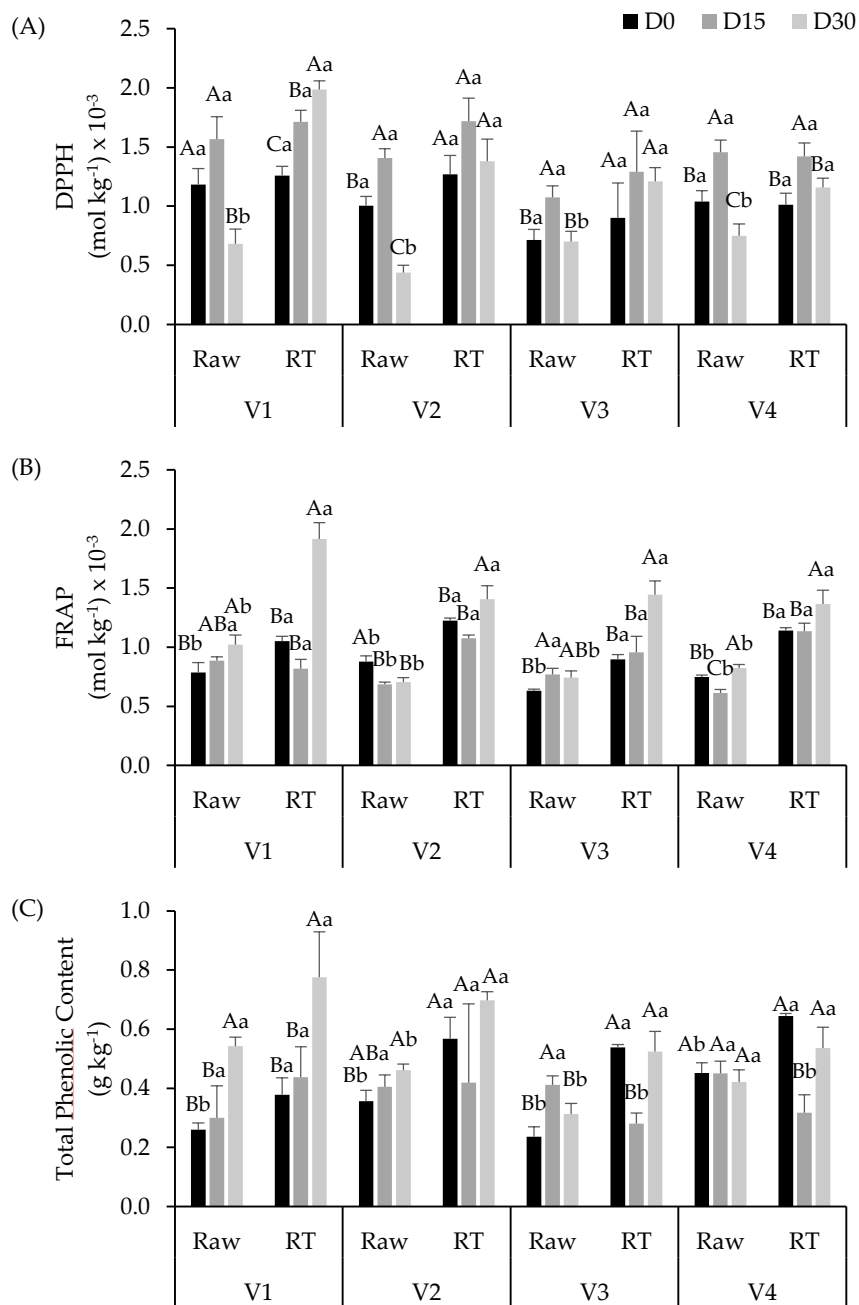


Figure 1. Antioxidant activity (DPPH and FRAP methods) (A and B) and total phenolic content (C) of whole calçots after 30 d of postharvest storage time and after thermal processing (270 °C; 8 min). Different capital letters in the sample and state (raw or roasted) indicate significant differences between postharvest storage times ($P < 0.05$). Different lower case letters indicate significant differences between raw and roasted samples at the same postharvest storage time ($P < 0.05$).

On the other hand, the impact of thermal processing on the TPC of *calçots* relied on the sample and postharvest storage date with an overall tendency to increase. The increase observed in TPC after roasting could be to the liberation by cleaving of the esterified and glycosylated bond or by the formation of Maillard reaction products (Sharma et al., 2015). In concordance, Zudaire et al. (2017) reported that the TPC of raw *calçots* stored under air increased after thermal processing. However, other authors reported that occurrence of Maillard reactions in roasting process could contribute to the reduction of polyphenol levels (Palermo et al., 2014). For example, Hwang et al. (2012) showed that roasting (190 °C; 5, 10 or 15 min) produced a decrease on the TPC of peppers. Moreover, Rawson et al. (2013) observed that roasting (160 °C; 15 min) produced a decrease on the TPC of fennel bulbs.

3.2 Effect of pre-harvest conditions and postharvest storage time on fresh-cut *calçots*

3.2.1 Changes on quality parameters

Overall, color differences (ΔE^*) and firmness retention (%) values of fresh-cut *calçots* were higher in those samples stored for 30 d than for 15 d, but without significant differences ($P > 0.05$) between them (Supplementary Figures 1 and 2). Moreover, those values and weight values (data not shown) were kept constant in all samples along refrigerated storage time (10 d) at 4 °C. However, Zudaire et al. (unpublished data) reported that browning index values of fresh-cut *calçots* packaged under MAP system were higher in those previously stored under controlled atmosphere for 60 d than for 30 d, but firmness and weight values were not been affected. Odriozola-Serrano et al. (2008) reported that differences in CIELab parameters among six fresh-cut tomato cultivars appeared to be significant, but those parameters did not vary significantly during storage time (21 d) at 4 ± 1 °C. In concordance, Simon (2008) showed that cultivar had effect on the quality parameters of minimally processed cauliflower. For example, 'Lorien' cultivar presented very dark cuts or 'Caprio' and 'Cristallo' cultivars suffered an important toughness during storage (13 d) at 5 °C. Moreover, Blanco-Díaz et al. (2016) reported that b^* values of fresh-cut zucchinis at day 0 were different among cultivars and those differences were maintained along storage time (10 d) at 6 °C. However, the cultivar had no effect on the firmness of those vegetables. Furthermore, Muratore et al. (2015) showed that browning values of minimally processed artichoke heads were significantly influenced by cultivar and storage time (16 d). There is a lack in the literature discussing the effect of planting or sowing date and cultivation site on the overall quality of minimally processed vegetables.

SSC, TA and pH values were similar or higher in those samples previously stored for 30 d than for 15 d (Table 4). After 15 d of postharvest storage, the SSC and TA values of V2 (Traditional) and V4 (Montferri) samples which were planted at the same place and time, presented the same tendency in the following refrigerated storage (4 °C). However, Blanco-Díaz et al. (2016) reported that SSC values of fresh-cut zucchinis were primarily affected by cultivar. In concordance, Nogales-Delgado et al. (2014) showed that SSC of fresh-cut nectarines depended on the cultivar.

Table 4. Quality parameters of fresh-cut calçots after refrigerated storage (10 d) at 4 °C. Values are expressed as mean \pm standard deviation.

P. Storage	Samples	Time (d)	SSC (%)	TA (g L ⁻¹)	pH
15 days	V1	0	14.5 \pm 0.0 Aa	3.9 \pm 0.2 Aa	5.9 \pm 0.0 Ab
		3	14.6 \pm 0.1 Aa	3.1 \pm 0.2 Bb	5.9 \pm 0.0 Aa
		7	14.2 \pm 0.1 Ab	2.7 \pm 0.1 Cb	5.7 \pm 0.0 Bb
		10	14.6 \pm 0.4 Aa	3.4 \pm 0.1 Ba	5.8 \pm 0.0 Ab
	V2	0	9.9 \pm 0.1 Bb	2.7 \pm 0.0 Aa	5.9 \pm 0.0 Ab
		3	9.8 \pm 0.0 Bb	2.0 \pm 0.0 Cb	5.8 \pm 0.0 Cb
		7	9.8 \pm 0.0 Bb	1.9 \pm 0.2 Ca	5.8 \pm 0.0 Db
		10	11.7 \pm 0.1 Aa	2.3 \pm 0.1 Ba	5.9 \pm 0.0 Bb
	V3	0	12.3 \pm 0.0 Ab	1.6 \pm 0.1 Ab	5.8 \pm 0.0 ABb
		3	11.9 \pm 0.1 Bb	1.6 \pm 0.0 Ab	5.8 \pm 0.0 Bb
		7	11.2 \pm 0.0 Cb	1.7 \pm 0.2 Aa	5.7 \pm 0.0 Bb
		10	10.7 \pm 0.2 Db	1.8 \pm 0.0 Ab	5.8 \pm 0.0 Ab
	V4	0	10.9 \pm 0.1 Bb	2.3 \pm 0.1 Aa	5.8 \pm 0.0 Bb
		3	10.9 \pm 0.0 Bb	2.1 \pm 0.2 Aa	5.8 \pm 0.0 Ba
		7	10.0 \pm 0.0 Cb	1.6 \pm 0.2 Bb	5.8 \pm 0.0 Cb
		10	11.6 \pm 0.1 Aa	2.0 \pm 0.2 ABb	6.0 \pm 0.0 Aa
30 days	V1	0	13.9 \pm 0.0 Bb	4.0 \pm 0.2 ABa	6.0 \pm 0.0 Aa
		3	13.3 \pm 0.1 Cb	3.7 \pm 0.3 Ba	5.8 \pm 0.0 Db
		7	14.4 \pm 0.1 Aa	4.3 \pm 0.1 Aa	5.9 \pm 0.0 Ca
		10	13.4 \pm 0.0 Cb	3.6 \pm 0.1 Ba	5.9 \pm 0.0 Ba
	V2	0	10.1 \pm 0.1 Ca	2.4 \pm 0.3 Aa	6.0 \pm 0.0 Aa
		3	11.3 \pm 0.1 Aa	2.4 \pm 0.2 Aa	5.9 \pm 0.0 Ba
		7	10.4 \pm 0.1 Ba	2.1 \pm 0.1 Aa	5.9 \pm 0.0 Ba
		10	10.4 \pm 0.0 Cb	2.4 \pm 0.2 Aa	6.0 \pm 0.0 Ba
	V3	0	11.3 \pm 0.1 Da	1.9 \pm 0.1 Ba	5.9 \pm 0.0 ABa
		3	12.4 \pm 0.0 Aa	2.0 \pm 0.1 Ba	5.8 \pm 0.0 Ca
		7	11.8 \pm 0.1 Ca	1.9 \pm 0.1 Ba	5.8 \pm 0.0 BCa
		10	12.2 \pm 0.0 Ba	2.3 \pm 0.0 Aa	5.9 \pm 0.0 Aa
	V4	0	11.8 \pm 0.1 Aa	2.0 \pm 0.0 Ab	6.0 \pm 0.0 Aa
		3	11.2 \pm 0.1 Ba	2.5 \pm 0.4 Aa	5.9 \pm 0.0 Ba
		7	10.4 \pm 0.0 Ca	2.3 \pm 0.3 Aa	5.9 \pm 0.0 Ba
		10	11.1 \pm 0.1 Bb	2.5 \pm 0.2 Aa	5.9 \pm 0.0 Bb

Different capital letters in the same column and sample indicate significant differences between refrigerated storage times ($P < 0.05$) for each sample. Different lower case letters in the same refrigerated storage day indicate significant differences between postharvest storage times ($P < 0.05$) for each sample.

Moreover, Giné Bordonaba et al. (2014) reported that SSC values in fresh-cut nectarines were different among cultivars and values of all samples were remained stable during storage time (12 d) at 5 °C. They also showed that TA was different among the cultivars and decreased during cold storage. In the current study, after 30 d of postharvest storage and 10 d of refrigerated storage (4 °C), despite V1 fresh-cut *calçots* presented the highest SSC and TA values due to their high initial values, V3 samples were identified as the best fresh-cut *calçots* in preserving those chemical parameters.

3.2.2 Consumer assessment

Overall, the percentage of consumers who evaluated above 7 decreased from day 0 to day 6 in those samples stored previously for 15 d, except for V3 fresh-cut *calçots* (increased 1.5 %; final value of 65.5 %) (Data not shown). Despite of the high initial percentage observed in V3 and V4 samples (82.1 % and 92.9 %) after 30 d of postharvest storage time, the values were similar in all fresh-cut *calçots* at day 6 (around 50 %). Han et al. (2016) reported that fresh-cut Welsh onions (*Allium fistulosum* L. cv. Jin) stored at 4 °C presented a slight decrease of sensory quality in the first 3 d and a moderate reduction was observed from day 3 to 5, but all samples remained over the limit of usability (score 5) after 5 d of storage.

3.2.3 Microbial quality

The overall shelf life of a fresh-cut vegetable is decided by its physical and chemical quality as well as its microbial quality (Vandekinderen et al., 2008). Overall, the postharvest storage time of the raw material (15 or 30 d) had no effect on the total mesophilic bacteria (TMB), yeast and molds population of fresh-cut *calçots* (Figures 2-4). Moreover, the population of TMB was kept constant along refrigerated storage time (10 d) at 4 °C (Figure 2). The results have shown that disinfection treatment with peroxyacetic acid (80 mg L⁻¹) for 60 s was effective in reducing initial microbial load and maintaining those values along refrigerated storage time (10 d) at 4 °C. Only slight differences were observed in V3 and V4 fresh-cut *calçots* previously stored for 15 d, but without significant differences ($P>0.05$) among sampling days. In concordance, Licciardello et al. (2017) reported that TMB population of three different fresh-cut globe artichoke cultivars was remained constant along storage time (12 d) at 4 ± 0.5 °C. However, Muratore et al. (2015) reported that TMB of 'Tema 2000' fresh-cut globe artichoke heads increased rapidly while in 'Violet de Provence' the increase was more gradual during 13-16 d of storage time at 4 °C. Moreover, Cliffe-Byrnes and O'Beirne (2005) observed that using OPP film, TMB counts of coleslaw mix were lower up to day 7 for Marathon than for Lennox cultivar and those values increased along storage time (9 d) at 4 or 8 °C. TMB counts of all studied fresh-cut *calçots* not exceeded the recommended limit of 8 log cfu g⁻¹ proposed by CNERNA-CNRS (1996) and the maximum acceptable contamination value at the end of the microbiological shelf life fixed by the French regulation (7.7 log cfu g⁻¹) (Ministere de l'Economic des Finances et du Budget, 1988).

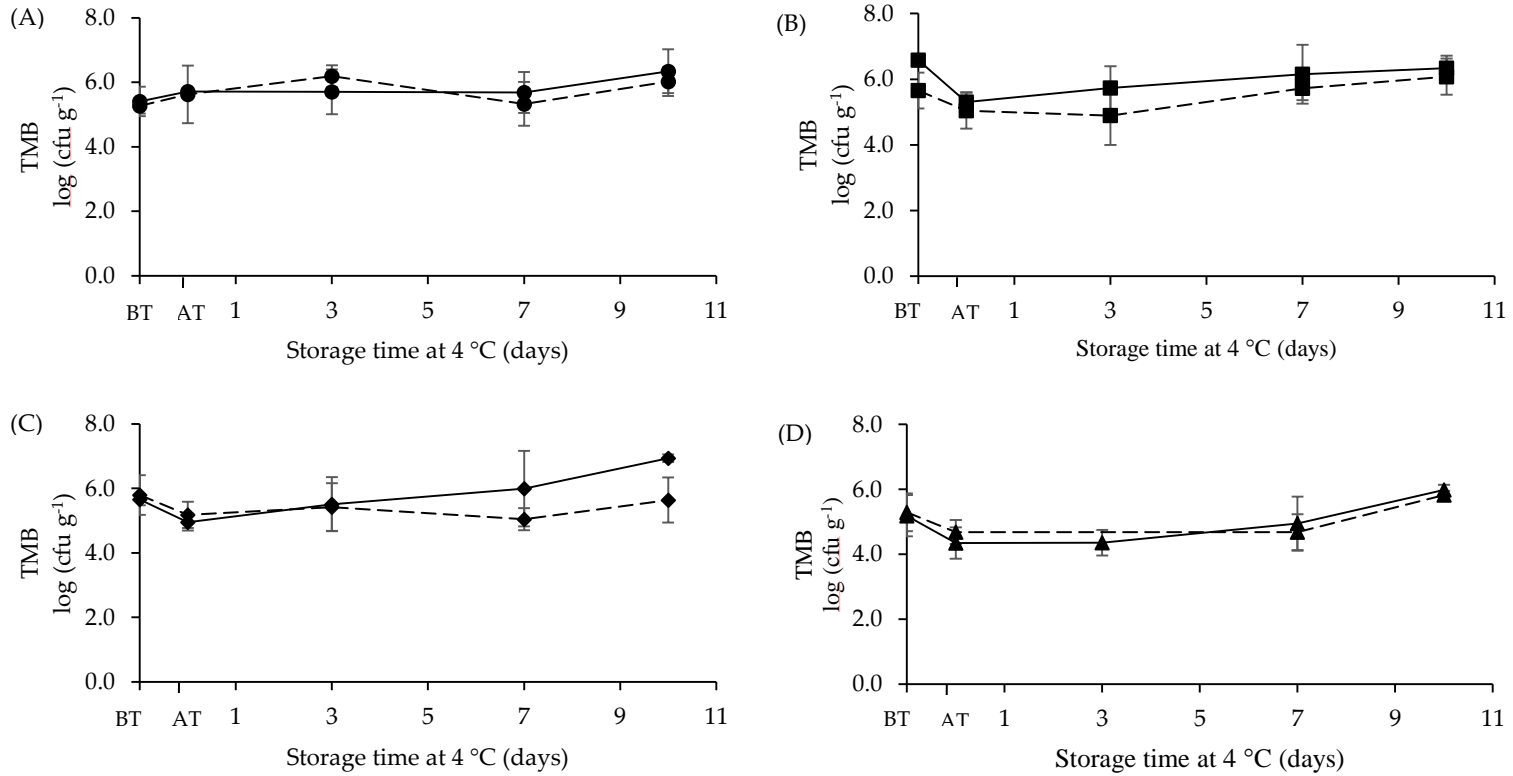


Figure 2. Total mesophilic bacteria (TMB) counts of fresh-cut calçots along refrigerated storage time at 4 °C. A: V1 (●), B: V2 (■), C: V3 (◆) and D: V4 (▲). The continuous line is for samples stored for 15 d and the dotted line for those stored for 30 d. BT: Before disinfection treatment. AT: After disinfection treatment.

In general, the population of yeast and molds remained constant along refrigerated storage time (10 d) at 4 °C (Figures 3 and 4). Only slight differences were observed in the population of yeasts in V3 fresh-cut *calçots* stored previously for 15 d and V2 and V4 samples stored previously for 30 d. In those cases a significant decrease was observed after disinfection, but the counts were kept constant along refrigerated storage time. Silveira et al. (2017) reported that postharvest storage length, cut type and variety did not affected the mold growth of fresh-cut potatoes and yeast growth was only affected by the variety and cut type in those stored previously for 4 months. Muratore et al. (2015) observed that yeast and mold population of two minimally processed globe artichoke head cultivars increased progressively along storage time (13-16 d) at 4 °C. It is noteworthy that any of the studied fresh-cut *calçots* presented yeast and mold counts more than 5 log cfu g⁻¹ at the end of the refrigerated storage time, which is the limit proposed by CNERNA-CNRS (1996).

4. Conclusions

Cultivar, cultivation site and planting time could define the storability and shelf-life of whole and fresh-cut *calçots*. On the one hand, postharvest storage time (30 d) had no effect on the morphological characteristics, color and firmness, but produced an increase in respiration rate, physicochemical characteristics and antioxidant properties of whole *calçots*. The obtained results may explain that *calçots* came from 'Montferri' onion cultivar and planted in Viladecans in September had higher postharvest storage capacity than the other samples due to their morphological values (high production yield), low color difference, acceptable respiration rate and high consumer assessment scores. Hence, 'Montferri' improved onion cultivar for *calçots* production could have higher postharvest storage capacity than Traditional cultivar. It was not observed a clear influence by cultivation site or planting time regard to the postharvest storage capacity. Thermal processing (270 °C; 8 min) produced an increase in antioxidant properties of whole *calçots* irrespective of the cultivar, cultivation site and planting time. On the other hand, postharvest storage time (30 d) had effect on the colour and firmness of fresh-cut *calçots*, but it was not observed influence on the chemical, sensory and microbiological quality. *Calçots* came from 'Montferri' onion cultivar and planted in Viladecans in September maintained the best physicochemical and sensorial qualities after 30 d of postharvest storage time and 10 d of refrigerated storage (4 °C). It is noteworthy that total mesophilic bacteria and yeast and molds counts of all fresh-cut *calçots* were maintained below 7.7 log cfu g⁻¹ and 5 log cfu g⁻¹, respectively, due to the effectiveness of peroxyacetic acid. Therefore, taking into account obtained results 'Montferri' improved onion cultivar could be a good alternative to Traditional cultivar in order to improve postharvest storability of whole *calçots* and shelf-life of fresh-cut *calçots* maintaining the best quality.

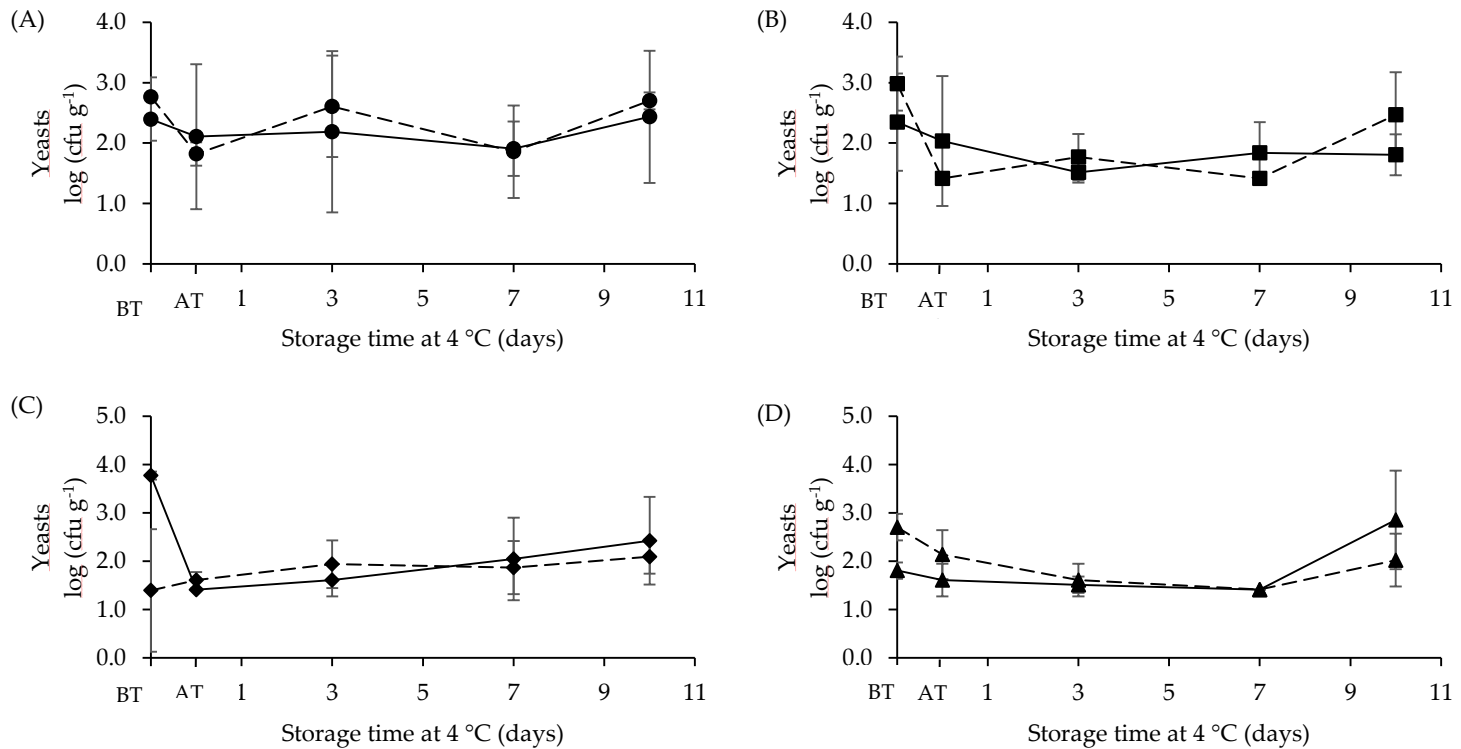


Figure 3. Yeast counts of fresh-cut calçots along refrigerated storage time at 4 °C. A: V1 (●), B: V2 (■), C: V3 (◆) and D: V4 (▲). The continuous line is for samples stored for 15 d and the dotted line for those stored for 30 d. BT: Before disinfection treatment. AT: After disinfection treatment.

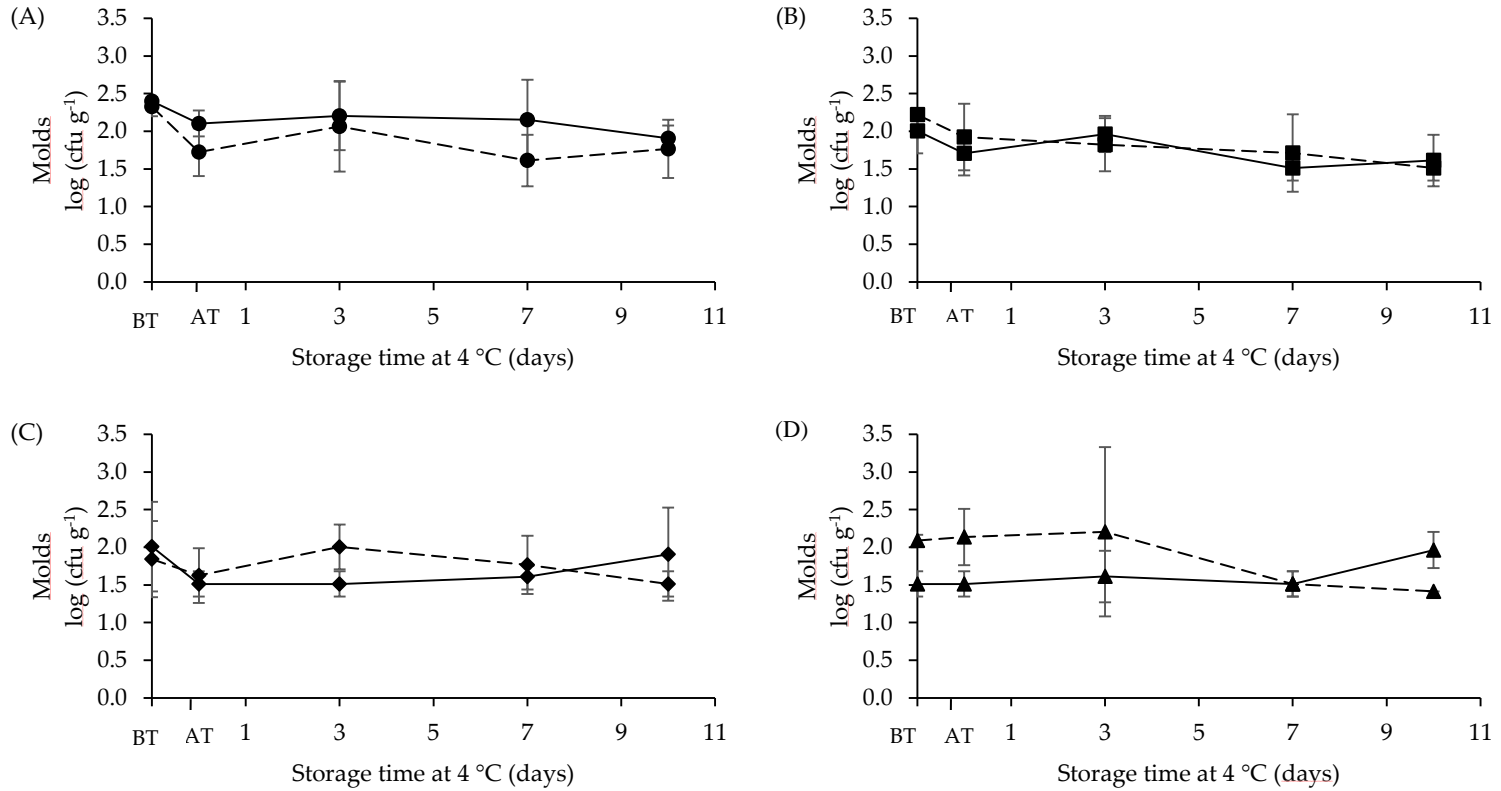


Figure 4. Molds counts of fresh-cut calçots along refrigerated storage time at 4 °C. A: V1 (●), B: V2 (■), C: V3 (◆) and D: V4 (▲). The continuous line is for samples stored for 15 d and the dotted line for those stored for 30 d. BT: Before disinfection treatment. AT: After disinfection treatment.

Acknowledgments

This work was supported by ACCIÓ (Generalitat of Catalonia, RD14-1-004), Sociedad Agrícola I Secció de Crèdit de Valls S.C.C.L., Cooperativa of Cambrils, and PGI 'Calçot de Valls'. This work was also supported by the 'Secretaria d'Universitats I Recerca del Departament d'Economia I Coneixement' (FI-2017-B2-00164, L. Zudaire) and CERCA Programme of Generalitat de Catalunya. I. Aguiló-Aguayo thanks to the National Programme for the Promotion of Talent and its Employability of the 'Ministerio de Economía, Industria y Competitividad' of the Spanish Government and to the European Social Fund for the Postdoctoral Senior Grant 'Ramon y Cajal' (RYC-2016-19949).

References

- Adamicki, F., 2016. Onion, in: Gross, K.C., Wang, C., Saltveit, M.E. (Eds.), *The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks*. Agricultural Research Service. USDA., Beltsville, MD, pp. 436–440.
- Aguiló-Aguayo, I., Simó, J., Ivars, N., Villaró, S., Zudaire, L., Echeverria, G., Plaza, L., Abadias, M., Viñas, I., 2015. Suitability of the 'calçots' (*Allium cepa* L.) for minimal processing, in: 2nd Euro-Mediterranean Symposium on Fruit and Vegetable Processing. Avignon, France.
- Altisent, R., Plaza, L., Alegre, I., Viñas, I., Abadias, M., 2014. Comparative study of improved vs. traditional apple cultivars and their aptitude to be minimally processed as 'ready to eat' apple wedges. *LWT - Food Sci. Technol.* 58, 541–549. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.03.019>
- Benkeblia, N., Shiomi, N., 2004. Chilling Effect on Soluble Sugars, Respiration Rate, Total Phenolics, Peroxidase Activity and Dormancy of onion bulbs 281–285.
- Blanco-Díaz, M.T., Pérez-Vicente, A., Font, R., 2016. Quality of fresh cut zucchini as affected by cultivar, maturity at processing and packaging. *Packag. Technol. Sci.* 29, 365–382. <https://doi.org/10.1002/pts.2214>
- Caruso, G., Conti, S., Villari, G., Borrelli, C., Melchionna, G., Minutolo, M., Russo, G., Amalfitano, C., 2014. Effects of transplanting time and plant density on yield, quality and antioxidant content of onion (*Allium cepa* L.) in southern Italy. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 166, 111–120. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.12.019>
- Chope, G.A., Terry, L.A., White, P.J., 2007. The effect of the transition between controlled atmosphere and regular atmosphere storage on bulbs of onion cultivars SS1, Carlos and Renate. *Postharvest Biol. Technol.* 44, 228–239. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.12.018>
- Chope, G.A., Terry, L.A., White, P.J., 2006. Effect of controlled atmosphere storage on abscisic acid concentration and other biochemical attributes of onion bulbs. *Postharvest Biol. Technol.* 39, 233–242. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.10.010>
- Cliffe-Byrnes, V., O'Beirne, D., 2005. The effects of cultivar and physiological age on quality and shelf-life of coleslaw mix packaged in modified atmospheres. *Int. J. Food Sci. Technol.* 40, 165–175. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.00927.x>

- CNERNA-CNRS, 1996. Produits de la IV gamme, in: Jouve, J. (Ed.), La Qualité Microbiologique Des Aliments (Maîtrise et Critères). Polytechnica, Paris, pp. 73–98.
- EC No 905/2002. Commission Regulation (EC) No 905/2002 of 30 May 2002 supplementing the Annex to Regulation (EC) No 2400/96 on the entry of certain names in the 'Register of protected designations of origin and protected geographical indications' [2002] OJ L 142/27.
- Echeverría, G., López, M.L., Soria, Y., 2013. Calidad en fruta fresca: Manzana, pera y melocotón, in: Viñas, I., Recasens, I., Usall, J., Graell, J. (Eds.), Poscosecha de Pera, Manzana y Melocotón. Mundi-prensa, Madrid, pp. 11–40.
- Fernández-León, M.F., Fernández-León, A.M., Lozano, M., Ayuso, M.C., González-gómez, D., 2013. Altered commercial controlled atmosphere storage conditions for 'Parhenon' broccoli plants (*Brassica oleracea* L. var. *italica*). Influence on the outer quality parameters and on the health-promoting compounds. LWT - Food Sci. Technol. 50, 665–672. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.07.028>
- García, E., Barrett, D.M., 2002. Preservative treatments for fresh-cut fruits and vegetables, in: Lamikanra, O. (Ed.), Fresh-Cut Fruits and Vegetables: Science, Technology, and Market. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 267–304.
- Giannino, D., Gonnella, M., Russo, R., Pucci, L., Testone, G., Ciardi, M., Arnesi, G., Biancari, T., Longo, V., 2018. Antioxidant properties of minimally processed endives and escaroles vary as influenced by the cultivation site, cultivar and storage time. Postharvest Biol. Technol. 138, 82–90. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.12.004>
- Gil, M.I., Allende, A., 2012. Minimal processing, in: Gómez-López, V.M. (Ed.), Decontamination of Fresh and Minimally Processed Produce. Wiley-Blackwell, Oxford, UK.
- Giné Bordonaba, J., Cantin, C.M., Larrigaudière, C., López, L., López, R., Echeverria, G., 2014. Suitability of nectarine cultivars for minimal processing: The role of genotype, harvest season and maturity at harvest on quality and sensory attributes. Postharvest Biol. Technol. 93, 49–60. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.02.007>
- Gunes, G., Liu, R.H., Watkins, C.B., 2002. Controlled-atmosphere effects on postharvest quality and antioxidant activity of cranberry fruits. J. Agric. Food Chem 50, 5932–5938. <https://doi.org/10.1021/jf025572c>
- Han, C., Ji, Y., Li, M., Li, X., Jin, P., Zheng, Y., 2016. Influence of wounding intensity and storage temperature on quality and antioxidant activity of fresh-cut Welsh onions. Sci. Hortic. (Amsterdam). 212, 203–209. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.10.004>
- Hwang, I.G., Shin, Y.J., Lee, S., Lee, J., Yoo, S.M., 2012. Effects of different cooking methods on the antioxidant properties of red pepper (*Capsicum annuum* L.). Prev. Nutr. Food Sci. 17, 286–292. <https://doi.org/10.3746/pnf.2012.17.4.286>
- Kader, A., 2002. Quality parameters of fresh-cut fruit and vegetable products, in: Lamikanra, O. (Ed.), Fresh-Cut Fruits and Vegetables: Science, Technology, and Market. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Laurila, E., Ahvenainen, R., 2002. Minimal processing of fresh fruits and vegetables, in: Jongen, W. (Ed.), Fruit and Vegetable Processing. Improving Quality. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 288–309.

- Li, H., Zhu, Y., Luo, F., He, H., Yuan, H., Gao, J., Zeng, X., Huang, C., 2015. Use of controlled atmospheres to maintain postharvest quality and improve storage stability of a novel red-fleshed kiwifruit (*Actinidia chinensis* Planch. var. *rufopulpa* [C.F. Liang et R.H. Huang] C.F. Liang et A.R. Ferguson). *J. Food Process. Preserv.* 39, 907–914. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12303>
- Licciardello, F., Pandino, G., Barbagallo, R.N., Lombardo, S., Restuccia, C., Muratore, G., Mazzaglia, A., Strano, M.G., Mauromicale, G., 2017. Quality traits of ready-to-use globe artichoke slices as affected by genotype, harvest time and storage time. Part II: Physiological, microbiological and sensory aspects. *LWT - Food Sci. Technol.* 79, 554–560. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.003>
- Melo, C.O., Moretti, C.L., Machado, C.M.M., Mattos, L.M., Muniz, L.B., 2012. Alterações físicas e químicas em cebolas armazenadas sob refrigeração. *Ciência Rural* 42, 2078–2084. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782012001100027>
- Ministere de l'Economic des Finances et du Budget, 1988. Marché consommation, produits vegetaux prêts à l'emploi dits de la 'l'emme gamme': guide de bonnes pratique hygiéniques. *J. Off. la République Française* 1–29.
- Muratore, G., Restuccia, C., Licciardello, F., Lombardo, S., Pandino, G., Mauromicale, G., 2015. Effect of packaging film and antibrowning solution on quality maintenance of minimally processed globe artichoke heads. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 31, 97–104. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.06.010>
- Nogales-Delgado, S., Fuentes-Pérez, M. del C., Ayuso-Yuste, C., Bohoyo-Gil, D., 2014. Study of different nectarine cultivars and their suitability for fresh-cut processing. *Int. J. Food Sci. Technol.* 49, 114–120. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12282>
- Odrizola-Serrano, I., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O., 2008. Effect of minimal processing on bioactive compounds and color attributes of fresh-cut tomatoes. *LWT - Food Sci. Technol.* 41, 217–226. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.03.002>
- Özden, Ç., Bayindirli, L., 2002. Effects of combinational use of controlled atmosphere, cold storage and edible coating applications on shelf life and quality attributes of green peppers. *Eur. Food Res. Technol.* 214, 320–326. <https://doi.org/10.1007/s00217-001-0448-z>
- Palermo, M., Pellegrini, N., Fogliano, V., 2014. The effect of cooking on the phytochemical content of vegetables. *J. Sci. Food Agric.* 94, 1057–1070. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6478>
- Petropoulos, S.A., Ntatsi, G., Fernandes, Barros, L., Barreira, J.C.M., Ferreira, I.C.F.R., Antoniadis, V., 2016a. Long-term storage effect on chemical composition, nutritional value and quality of Greek onion landrace 'vatikiotiko'. *Food Chem.* 201, 168–176. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.095>
- Petropoulos, S.A., Ntatsi, G., Ferreira, I.C.F.R., 2016b. Long-term storage of onion and the factors that affect its quality: A critical review. *Food Rev. Int.* 33, 62–83. <https://doi.org/10.1080/87559129.2015.1137312>
- Praeger, U., Ernst, M., Weichmann, J., 2003. Effects of ultra low oxygen storage on postharvest quality of onion bulbs (*Allium cepa* L. var. *cepa*). *Eur. J. Hortic. Sci.* 68, 14–19.
- Qadri, O.S., Yousuf, B., Srivastava, A.K., 2015. Fresh-cut fruits and vegetables: Critical factors

- influencing microbiology and novel approaches to prevent microbial risks - A review. *Cogent Food Agric.* 1, 1–11. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1121606>
- Rawson, A., Hossain, M.B., Patras, A., Tuohy, M., Brunton, N., 2013. Effect of boiling and roasting on the polyacetylene and polyphenol content of fennel (*Foeniculum vulgare*) bulb. *Food Res. Int.* 50, 513–518. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.01.009>
- Rico, D., Martín-Diana, A.B., Barat, J.M., Barry-Ryan, C., 2007. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. *Trends Food Sci. Technol.* 18, 373–386. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.03.011>
- Rodrigues, A.S., Almeida, D.P.F., García-Falcón, M.S., Simal-Gándara, J., Pérez-Gregorio, M.R., 2012. Postharvest storage systems affect phytochemical content and quality of traditional portuguese onion cultivars. *Acta Hort.* 934, 1327–1334.
- Sekara, A., Pokluda, R., Del Vacchio, L., Somma, S., Caruso, G., 2017. Interactions among genotype, environment and agronomic practices on production and quality of storage onion (*Allium cepa* L.) - A review. *Hortic. Sci.* 44, 21–42. <https://doi.org/10.17221/92/2015-HORTSCI>
- Sharma, K., Ko, E.Y., Assefa, A.D., Ha, S., Nile, S.H., Lee, E.T., Park, S.W., 2015. Temperature-dependent studies on the total phenolics, flavonoids, antioxidant activities, and sugar content in six onion varieties. *J. Food Drug Anal.* 23, 243–252. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2014.10.005>
- Silveira, A.C., Oyarzún, D., Sepúlveda, A., Escalona, V., 2017. Effect of genotype, raw-material storage time and cut type on native potato suitability for fresh-cut elaboration. *Postharvest Biol. Technol.* 128, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.01.011>
- Simó, J., Casañas, F., Muñoz, P., 2015. Els calçots i el seu cultiu [WWW Document]. Doss. Tècnic número 75, “Varietats Veg. Tradic. catalanes Els calçots”. URL <http://ruralcat.gencat.cat/documents/20181/160840/DLFE-33260.pdf/3168f13a-490d-44d7-8432-a3935998cf8b>
- Simó, J., del Castillo, R., Almirall, A., Casanas, F., 2012. ‘Roquerola’ and ‘Montferri’, First Improved Onion (*Allium cepa* L.) Cultivars for ‘Calcots’ Production. *Hortscience* 47, 801–802.
- Simó, J., Valero, J., Plans, M., Romero del Castillo, R., Casañas, F., 2013. Breeding onions (*Allium cepa* L.) for consumption as ‘calçots’ (second-year resprouts). *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 152, 74–79. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.01.011>
- Simon, A., 2008. Quality characteristics of cauliflower cultivars for minimal processing. *ITEA-INFORMACION Tec. Econ. Agrar.* 104, 31–41.
- Singh, S.P., Singh, Z., 2013. Controlled and modified atmospheres influence chilling injury, fruit quality and antioxidative system of Japanese plums (*Prunus salicina* Lindell). *Int. J. Food Sci. Technol.* 48, 363–374. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03196.x>
- Singleton, V., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *METHODS Enzimol.* 299, 152–178.
- Tiwari, U., Cummins, E., 2013. Factors influencing levels of phytochemicals in selected fruit and

- vegetables during pre- and post-harvest food processing operations. *Food Res. Int.* 50, 497–506. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.09.007>
- Vandekinderen, I., Devlieghere, F., De Meulenaer, B., Veramme, K., Ragaert, P., Van Camp, J., 2008. Impact of decontamination agents and a packaging delay on the respiration rate of fresh-cut produce. *Postharvest Biol. Technol.* 49, 277–282. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.01.011>
- Watada, A.E., Ko, N.P., Minott, D.A., 1996. Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products 9, 115–125.
- Wibowo, S., Vervoort, L., Tomic, J., Santiago, J.S., Lemmens, L., Panozzo, A., Grauwet, T., Hendrickx, M., Van Loey, A., 2015. Colour and carotenoid changes of pasteurised orange juice during storage. *Food Chem.* 171, 330–340. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.007>
- Zudaire, L., Viñas, I., Abadias, M., Simó, J., Echeverria, G., Plaza, L., Aguiló-Aguayo, I., 2017. Quality and bioaccessibility of total phenols and antioxidant activity of *calçots* (*Allium cepa* L.) stored under controlled atmosphere conditions. *Postharvest Biol. Technol.* 129, 118–128. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.03.013>

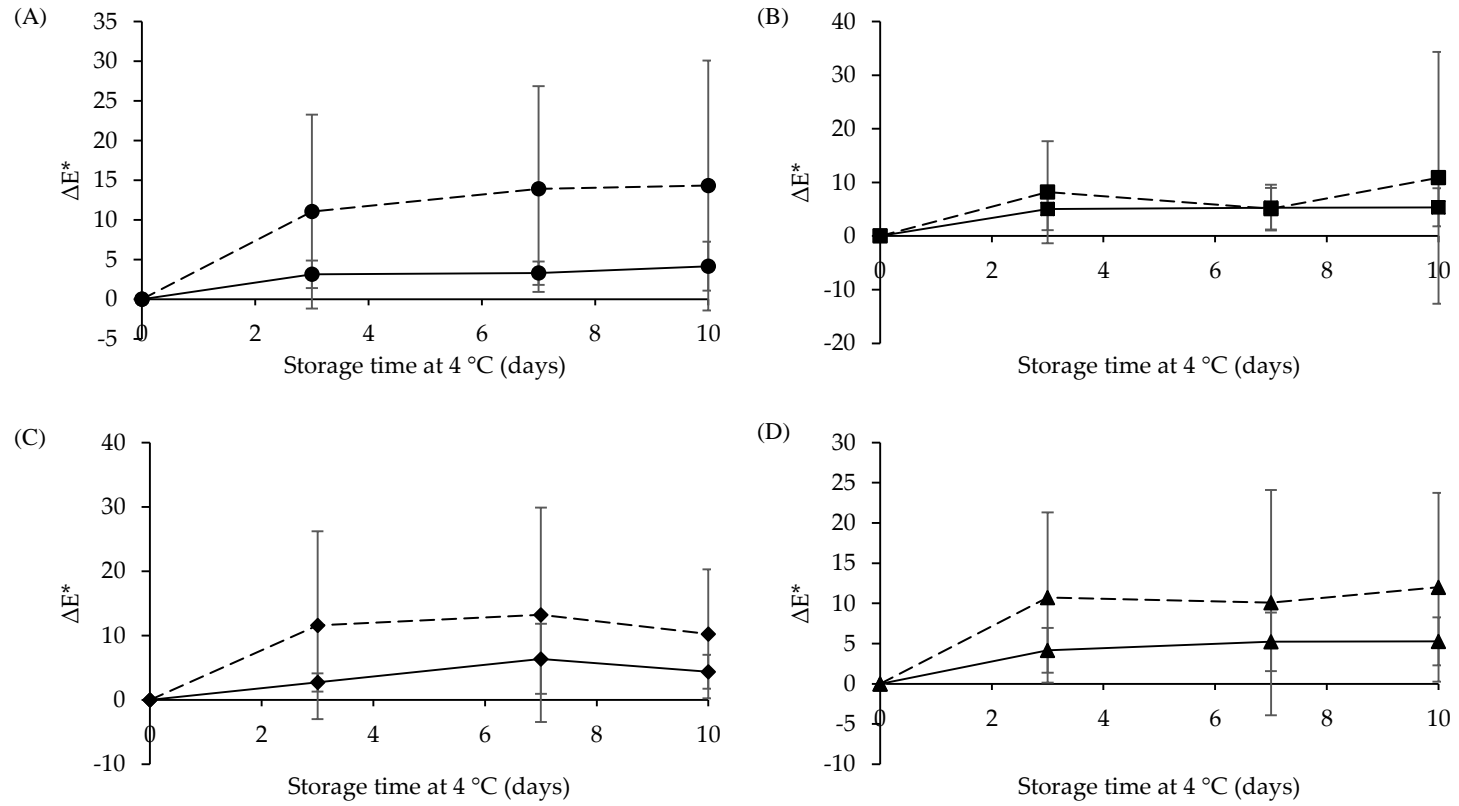


Figure 1 (Sup). Color difference (ΔE^*) of fresh-cut calçots along refrigerated storage time at 4 °C. A: V1 (●), B: V2 (■), C: V3 (◆) and D: V4 (▲). The continuous line is for samples stored for 15 d and the dotted line for those stored for 30 d.

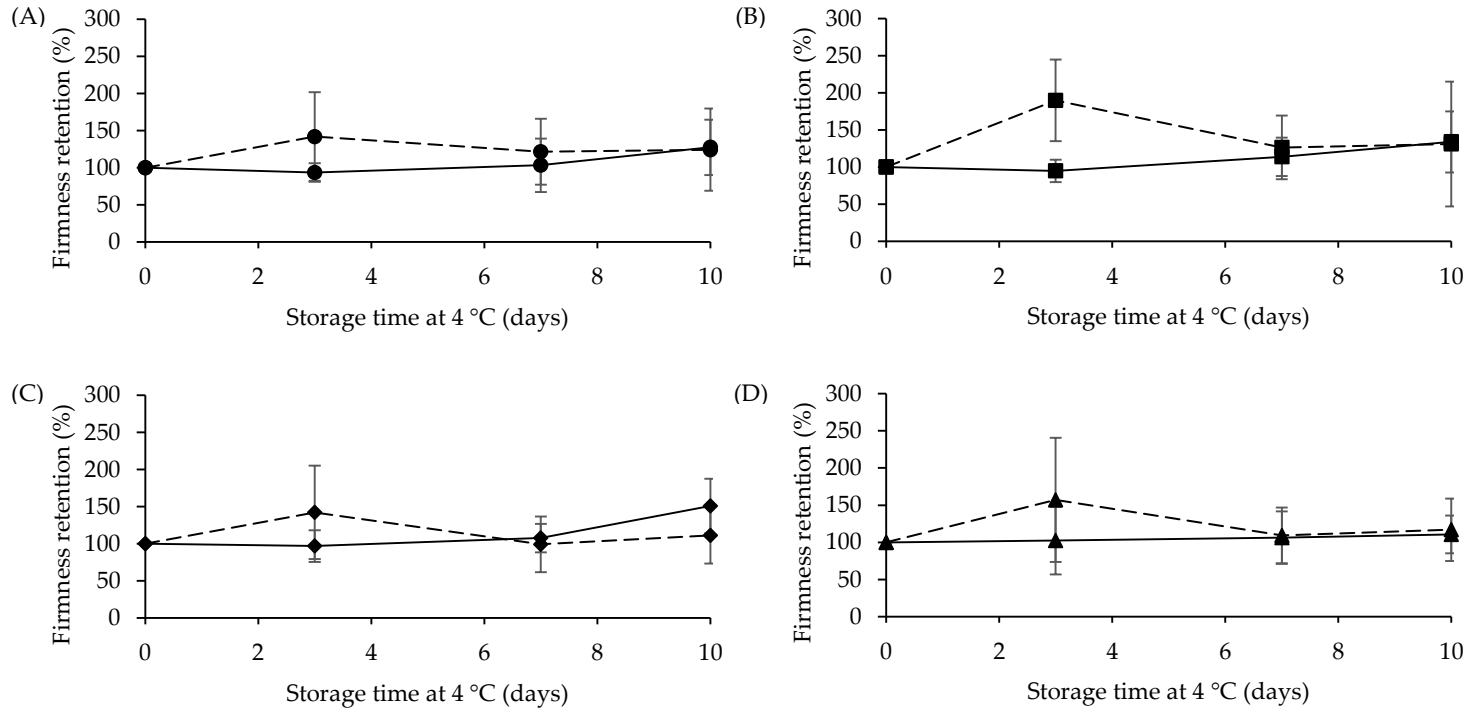


Figure 2 (Sup). Firmness retention (%) of fresh-cut calçots along refrigerated storage time at 4 °C. A: V1 (●), B: V2 (■), C: V3 (◆) and D: V4 (▲). The continuous line is for samples stored for 15 d and the dotted line for those stored for 30 d.

CAPÍTULO 5

Quality and bioaccessibility of total phenols and antioxidant activity of *calçots* (*Allium cepa* L.) stored under controlled atmosphere conditions

L. Zudaire, I. Viñas, M. Abadias, J. Simó, G. Echeverria, L. Plaza,
I. Aguiló-Aguayo

Postharvest Biology and Technology 129 (2017) 118-128

ABSTRACT

Calçots are the floral stems of the second-year onion (*Allium cepa* L.) resprouts with economic importance in Spain, where they are usually consumed roasted. The effect of two controlled atmospheres (CA) of 2.0 % O₂ + 3.5 % CO₂ (CA1), 1.0 % O₂ + 2.0 % CO₂ (CA2) and air at 1 °C for 60 d on the physicochemical, nutritional and sensory quality of *calçots* were studied. In addition, the total phenolic content (TPC) and the antioxidant activity (AA) of roasted *calçots* were evaluated after an *in vitro* gastrointestinal (GI) digestion. Both CA regimes reduced the respiration rate of the stored product without causing physiological disorders. The TPC and AA of *calçots* increased during storage. Storage for 60 d in CA2 resulted in the highest AA by DPPH assay, whereas *calçots* stored in air for 60 d showed the highest TPC and AA by FRAP assay. *Calçots* stored in air for 30 d and fresh harvested sample presented the highest total flavonoids values. After 30 d of storage, *calçots* stored in CA had a higher liking degree than *calçots* stored in air. The AA of digested *calçots* decreased drastically after *in vitro* GI digestion in comparison to the non-digested samples. However, TPC increased after digestion. Roasted *calçots* stored in CA1 for 30 d showed the highest TPC and AA retention in the intestinal phase. CA could be a postharvest strategy for the storage of *calçots*.

Keywords: *Allium*; Controlled atmosphere; Roasting; Antioxidant activity; Total Phenolic Content; *in vitro* digestion.

1. Introduction

Calçots (*Allium cepa* L.) are the floral stems of second-year onion resprouts of the 'Blanca Tardana de Lleida' landrace with an economical importance in Catalonia (northeast Spain), where they are usually consumed roasted. 'Calçot de Valls' was awarded with a Protected Geographical Indication (PGI) (EC No 905/2002) by the European Union (Simó et al., 2013). The demand and interest in *calçots* worldwide has motivated producers to explore postharvest techniques to extend the storage life of this seasonal crop while maintaining their nutritional and organoleptic characteristics. Controlled atmosphere (CA) is used to prolong the quality of fresh fruit and vegetables by modifying the atmospheric composition different from air while supplementing proper temperature and relative humidity management during storage (Kader, 1996). However, no data are currently available regarding the effect of CA storage conditions in the nutritional, morphologic and quality parameters of fresh *calçots*. According to the commercial storage recommendations by U.S. Department of Agriculture (Gross et al., 2016), bunched green onions can be stored for 6 to 8 weeks in 2.0 % of O₂ and 5.0 % CO₂ at 0 °C, tolerating storage conditions up to 1.0 % of O₂ and 5.0 % of CO₂.

Epidemiological studies have stand out that routine consumption of fruit and vegetables provides benefits to the organism and those could be due to the content of antioxidant compounds such as phenols (Akhmadiyeva et al., 1993; Hertog et al., 1995). *Allium* genus vegetables such as leek, onions or garlic are good sources of nutrients beneficial to human health (Santas et al., 2008; Vandekinderen et al., 2009). For example, onions contain high amount of compounds without nutritional value but with high antioxidant capacity, which could have protective effect against different types of diseases based on oxidative stress (Pérez-Gregorio et al., 2010). Culinary treatments such as frying, boiling and roasting, and length of exposure, could be important factors in the reduction of total flavonoid content (Rodrigues et al., 2009).

The vast majority of available studies are focus on TPC and AA of non-digested samples. However, in practice, fruit and vegetables are subjected to simulated digestion to measure antioxidant potentially available for absorption in intestine (Ryan and Prescott, 2010; Wootton-Beard et al., 2011). This is referred to as bioaccessibility, which is the amount of antioxidants or nutrients available in the intestinal brush border for transport into the cell (Garrett et al., 1999). *In vitro* digestion has been often used to simulate gastrointestinal conditions because *in vivo* models have some disadvantages such as safety and ethical restrictions (Soriano Sancho et al., 2015). Previous studies have confirmed that an *in vitro* model system simulating human digestion could support reliable prediction of bioaccessibility of bioactive compounds and total antioxidant capacity in plant products (Carbonell-Capella et al., 2015). In recent years the interest in *in vitro* digestion studies with analysis of antioxidant capacity and bioactive compounds (phenols and flavonoids) has increased in beverages (Carbonell-Capella et al., 2015), juices (Gil-izquierdo et al., 2001; Rodríguez-Roque et al., 2015, 2013; Stanisavljevic et al., 2015; Wootton-Beard et al., 2011), coffee (Campos-Vega et al., 2015), apple (Bouayed et al., 2012, 2011), fruit extracts (Pavan et al., 2014), cooked cauliflower (Girgin and El, 2015), grape (Tagliazucchi et al., 2010), chokeberry (Bermúdez-Soto et al., 2007), strawberry (Kosińska-Cagnazzo et al., 2015) and broccoli (Vallejo et al., 2004). However, no studies are available regarding the effect of digestion on the bioaccessibility of antioxidant compounds of roasted *calçots*.

Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of CA storage on the physicochemical, nutritional and sensory quality of *calçots* at different reduced O₂ and elevated CO₂ concentrations. Study of simulated *in vitro* digestion (gastric and intestinal phase) of the roasted samples was

carried out to evaluate the bioaccessibility of total phenols and the antioxidant activity at different phases.

2. Materials and methods

2.1 Plant material

Calçots (*Allium cepa* L.) were provided by 'Cooperativa de Valls' (Tarragona, Spain) at commercial size. Those *calçots* had the European quality label PGI 'Calçot de Valls'. They were cultivated in northeast of Spain (41°13'47"N, 01°13'12"E), during the crop growing season of 2014 and 2015. In August 2014, the bulbs of 'Blanca Tardana de Lleida' onion were transplanted at a density of 8,000 plants per hectare. The resprouts arising in the autumn were covered with soil three times to increase the length of the edible white part. The plants were manually harvested in February.

2.2 Reagent and chemicals

Sodium hydroxide, methanol, sodium acetate trihydrate pure, acetic acid glacial pure, ethanol, iron (III) chloride 6-hydrate, potassium chloride, sodium chloride and magnesium chloride hexahydrate were obtained from Panreac (Barcelona, Spain). 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), L-ascorbic acid, 2,4,6-Tri(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ), sodium carbonate, gallic acid, aluminium chloride hexahydrate, potassium acetate, quercetin, sodium bicarbonate, ammonium carbonate, calcium chloride dehydrate, sodium hydroxide (ACS reagent), as well as the enzymes for digestion [α -amylase from *Bacillus* sp. (≥ 400 U mg⁻¹ protein), pepsin from porcine gastric mucosa (≥ 400 U mg⁻¹ protein), pancreatic from porcine pancreas (4 x USP spc) and bile bovine], were purchased from Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany). Hydrochloric acid (35 %), potassium dihydrogen phosphate and Folin-Ciocalteu's reagent were obtained from VWR (Llinars del Vallès, Spain). All chemicals and reagents were of analytical grade.

2.3 Controlled Atmosphere storage conditions and processing

The *calçots* were immediately cooled to 1 °C at arrival and kept at these conditions until they were completely cooled. The time between harvesting and cooling was around 3 hours. *Calçots* were then stored in Paliflex400 pallet storage system (Van Amerongen, Biezenwei, Netherlands) (volume of 2 m³) under controlled atmosphere (CA) system or air at 1 °C with 85 % of relative humidity (RH) for 60 d. The Palliflex unit comprised a cover and a special plastic pallet on which the *calçot* packing cases were placed. Bunches of 50 *calçots* each were placed in vertical position. A gastight, transparent cover was pulled over the product. The study was comprised by three treatments: control (air), CA1: 2.0 % O₂ + 3.5 % CO₂ and CA2: 1.0 % O₂ + 2.0 % CO₂. The system measured the gas conditions in the cover and automatically corrected them when was necessary with either CO₂, N₂ or air, several times a day.

190 *calçots* were randomly removed from each storage regime (air, CA1 or CA2) at each storage time (30 or 60 d) of which 70 were used for roasting. The physicochemical, nutritional and sensory quality of samples were evaluated. In addition, *calçots* were roasted at 270 °C for 8 min using a Self Cooking Center (Mod SCC WE 101, Rational AG, Landsberg am Lech, Germany) and then, cooled into a blast chiller (Infrico, Cordoba, Spain) until they reached 3 °C. The nutritional and sensory quality of roasted samples was also assessed. After conducting the physicochemical and sensory

Capítulo 5

assays, both fresh and roasted samples were crushed, powered and frozen with liquid nitrogen and stored at -80 °C for nutritional analysis. *2.4 Morphological analysis*

The largest, smallest and medium diameter of the samples, measured 5 cm from the beginning of the root, and the length of the white shaft were determined in fifteen *calçots* randomly selected from each treatment at each storage period. Fresh weight was also measured and data was expressed as percentage of fresh weight loss (FWL).

2.5 Colour

The colour of the white shaft was measured as described by Altisent et al. (2014). Nine random individual *calçots* per treatment at each sampling time were evaluated. The values a^* , b^* and L^* were used to calculate the browning index (BI) (Eq. (1)) according to Liu et al. (2016):

$$BI = \frac{100(x-0.31)}{0.172} \quad (1)$$

where $x = (a^* + 1.75 \times L^*) / (5.645 \times L^*) + (a^* - (3.012 \times b^*))$.

2.6 Firmness

To assess changes on texture, firmness (N) was measured at 5 cm from the roots set in transversal position using the TA.TX2 Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, England) attached with Warner-Blatzler blade (HDP/BSK: Blade set with knife). Samples were placed into the press holder, and then the blade moved down at different rates: pre-test rate: 5 mm s⁻¹; test rate: 1 mm s⁻¹; post-test rate: 10 mm s⁻¹ to 60 mm below the bottom of the holder. Data acquisition rate was 200 pulses per s. Eight random individual *calçots* per treatment at each sampling time were evaluated.

2.7 pH, soluble solids content (SSC) and titratable acidity

pH, SSC and titratable acidity were measured in the juice of ten random individual *calçots* per treatment at each sampling time, extracted by grinding *calçots* pieces in a blender and were determined as described by Plaza et al. (2016). Soluble solids were expressed as % and titratable acidity as g of malic acid L⁻¹. Three determinations were performed per each treatment at each sampling time.

2.8 Respiration rate

The respiration rate of *calçots* was measured using the static method in a closed system with an O₂/CO₂ gas analyzer (Checkmate 3, PBI Dansensor, Ringsted, Denmark). The gas analyzer was equipped with a solid-state zirconia ion-selective electrode for O₂ determination. To measure CO₂, the gas analyzer used a full-scale temperature compensated IR sensor. The determination of 12 individual fresh-cut *calçots* (500 g) per treatment at each sampling time was carried out according to the method described by Altisent et al. (2014) at 4 °C for 4 h. The respiration rate of samples was measured in duplicate and expressed in mg CO₂ kg⁻¹ s⁻¹.

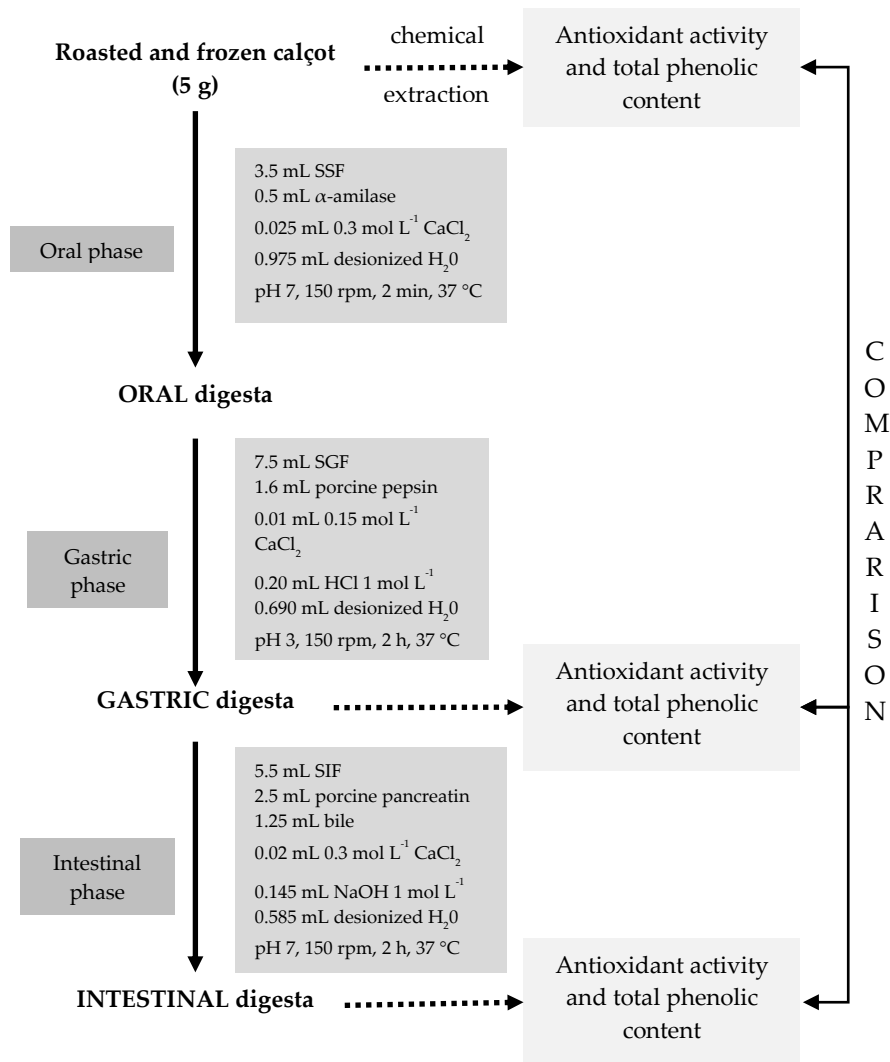


Figure 1. Diagram of in vitro simulated gastrointestinal digestion of roasted calçots. SSF: Simulated Salivary Fluid; SGF: Simulated Gastric Fluid; SIF: Simulated Intestinal Fluid.

2.9 Sensory assessment

Forty calçots per treatment at each sampling time were used. A portion of 3 cm of roasted calçot of each sample was presented to an untrained panel of 40 consumers immediately after they were heated for 10 s in the microwave at a 900 W. The assessment was carried out following the same methodology previously described by Altisent et al. (2014).

2.10 Determination of antioxidant activity

Antioxidant activity was determined using two different methods: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) radical scavenging assay and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay. The extraction and assays were carried out according to the methods described by Plaza et al. (2016). Results were expressed on a weight basis as mol of ascorbic acid equivalents per kg.

2.11 Determination of total phenolic content

The extraction and determination of total phenolic content were determined by the Folin Ciocalteu method (Singleton et al., 1999), following the modifications described by Altisent et al. (2014). Results were expressed on a weight basis as g of gallic acid equivalent per kg.

2.12 Determination of total flavonoids

The extraction and determination were performed according to the method described by Santas et al. (2008) with some modifications as described below.

The flavonoids were extracted by homogenization of 5 g of frozen powdered samples with 10 mL of ethanol (80 %, v/v). The resulting mixture was centrifuged at $13,523 \times g$ for 20 min at 4 °C and filtered. The supernatant was collected and the precipitate was mixed with 5 mL of ethanol (80 %, v/v). The process was repeated twice. Finally, the supernatants were combined and diluted up to 25 mL with ethanol (80 %, v/v).

The aluminium chloride method was used for the determination of the total flavonoid content of the sample extracts. Aliquots of extract solutions (1.5 mL) were mixed with ethanol (95%, v/v) to a final volume of 2 mL. Then, 0.1 mL of $AlCl_3$ (10 %), 0.1 mL of potassium acetate (1 mol L^{-1}) and 2.8 mL of distilled water were added sequentially. The test solution was vigorously shaken and its absorbance at 415 nm was recorded after 30 min of incubation at room temperature in darkness. A standard calibration plot was generated at 415 nm using known concentrations of quercetin (ranging from 10 to 100 mg L^{-1} final volume). The results were expressed on a weight basis as g quercetin equivalent per kg.

2.13 In vitro simulated gastrointestinal (GI) digestion of roasted calçot

In vitro simulated gastrointestinal digestion was performed according to the method described by Minekus et al. (2014) with some modifications. That method is an international consensus which consists of three sequential stages (Figure 1): oral (pH 7, containing α -amylase), gastric (pH 3, containing pepsin) and intestinal (pH 7, containing pancreatin and fresh bile). The digestion was performed in triplicate for each storage regime at each storage period. A blank was prepared using only distilled water instead of sample following the same procedure. Results were compared with non-digested roasted calçots.

2.13.1. Oral phase

Five g of frozen roasted calçots were mixed with 3.5 mL of simulated salivary fluid (SSF) and minced together. Then, 0.5 mL of salivary α -amylase solution of 1500 U (enzymatic activity unit) mL^{-1} were added followed by 25 μL of 0.3 mol L^{-1} $CaCl_2$ and 975 μL of water. The mixture was thoroughly mixed (150 rpm) and incubated at 37.0 °C for 2 min.

Table 1. Morphologic parameters of calçots at harvest and after 30- and 60-day of storage at 1 °C.

Storage time	Storage atmospheres	FWL (%)	Largest diameter (cm)	Lowest diameter (cm)	Medium diameter (cm)	Length of white shaft (cm)
Harvest			2.11 ± 0.30	1.78 ± 0.17	1.61 ± 0.21	15.13 ± 1.73
30 d	AIR	0.0 ± 0.0 c	2.10 ± 0.28 a	1.76 ± 0.24 b	1.88 ± 0.26 a	14.83 ± 1.99 b
	CA1 (2.0 % O ₂ + 3.5 % CO ₂)	6.3 ± 0.0 b	2.16 ± 0.29 a	1.98 ± 0.28 ab	1.98 ± 0.27 a	15.30 ± 2.08 b
	CA2 (1.0 % O ₂ + 2.0 % CO ₂)	9.3 ± 0.3 a	2.42 ± 0.51 a	2.05 ± 0.39 a	2.08 ± 0.34 a	17.17 ± 1.40 a
60 d	AIR	23.0 ± 8.2 a	2.20 ± 0.30 a	1.98 ± 0.24 a	2.20 ± 0.66 a	17.20 ± 2.09 a
	CA1 (2.0 % O ₂ + 3.5 % CO ₂)	23.4 ± 2.2 a	2.24 ± 0.26 a	1.98 ± 0.23 a	2.07 ± 0.27 a	14.47 ± 1.89 b
	CA2 (1.0 % O ₂ + 2.0 % CO ₂)	9.3 ± 0.3 b	2.13 ± 0.46 a	1.82 ± 0.39 a	1.95 ± 0.37 a	14.60 ± 2.20 b

Values are the mean of independent determinations ± standard deviation. Different lower case letters in the same column indicate significant differences between storage conditions ($P < 0.05$) for each storage time. CA: Controlled atmosphere; FWL: Fresh weight loss.

2.13.2 Gastric phase

Ten mL of oral bolus were mixed with 7.5 mL of simulated gastric fluid (SGF), 1.6 mL porcine pepsin stock solution of 25000 U mL⁻¹, 10 µL of 0.15 mol L⁻¹ CaCl₂, 0.2 mL of 1 mol L⁻¹ HCl to reach pH 3.0 and 0.690 mL of water. The mixture was incubated with gentle shaking (150 rpm) at 37.0 °C for 2 h. After 1 h of gastric phase, 10 µL of NaOH (1 mol L⁻¹) were added to maintain the pH. The pH was measured before and after the gastric phase. After the gastric phase, 10 mL of mixture were collected and centrifuged at 13,523 × g for 15 min at 4 °C. The supernatant was frozen with liquid nitrogen and stored at -80 °C for further analyses.

2.13.3 Intestinal phase

Ten mL of gastric chyme were mixed with 5.5 mL of simulated intestinal fluid (SIF), 2.5 mL of a pancreatin solution 800 U mL⁻¹ based on trypsin activity, 1.25 mL bile bovine (160 mmol L⁻¹ in bile bovine), 20 µL of 0.3 mol L⁻¹ CaCl₂, 0.145 mL of 1 mol L⁻¹ NaOH to reach pH 7.0 and 0.585 mL of water. The mixture was incubated with gentle shaking (150 rpm) at 37 °C for 2 h. Every 30 min of intestinal phase, 25 µL of HCl (1 mol L⁻¹) were added to maintain the pH. The pH was measured before and after the intestinal phase. After the intestinal phase, the mixture was collected and centrifuged at 13,523 × g for 15 min at 4 °C. The supernatants were collected, frozen and stored at -80 °C for further analyses.

Determinations of antioxidant activity (FRAP and DPPH) and total phenolic content using previously described methods were performed after gastric and intestinal phases. The percentage of retention was calculated as:

$$\text{Retention (\%)} = \frac{\text{values of gastric or intestinal digesta}}{\text{values of non-digested}} \times 100$$

2.14 Statistical analysis

All data were tested by analysis of variance (ANOVA) with JMP 8 software (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Means were separated by t-test and Tukey's test at $P \leq 0.05$. Samples were characterised by the average measurement (instrumental analyses) or by the average score over judges (sensory analyses) and standard deviation for each storage regime at each storage period.

3. Results and discussion

3.1 Changes on morphological and quality parameters

The morphological parameters of *calçot* samples were affected by the storage treatment and time in comparison with the harvested samples without visual impact (Table 1). The morphological parameters were in the same range than those established by the PGI 'Calçot de Valls', which establish that diameter of *calçots* must be between 1.7 and 2.5 cm and the white shaft around 15 cm (D.A.R.P., 2009).

The lowest percentage of FWL was observed in samples stored under air after 30 d of storage at 1 °C (Table 1). However, the FWL decreased by 23 % in those samples after 60 d of storage. In contrast, *calçots* stored under the CA2 showed a FWL that did not exceed a 9.3 % throughout storage. These results are in line with those observed previously in other vegetables stored under

Table 2. Quality parameters of calçots at harvest and after 30- and 60-day of storage at 1 °C.

Storage time	Storage atmospheres	Firmness (N)	Respiration rate (mg CO ₂ kg ⁻¹ s ⁻¹)	Total acidity (g malic acid L ⁻¹)	Soluble Solids (%)	pH
Harvest		61.84 ± 10.45	6.70 ± 0.05	1.99 ± 0.01	10.0 ± 0.2	5.9 ± 0.0
30 d	AIR	79.00 ± 22.20 b	17.54 ± 0.41 a	1.36 ± 0.19 a	10.3 ± 0.2 a	5.8 ± 0.0 b
	CA1 (2.0 % O ₂ + 3.5 % CO ₂)	103.51 ± 15.35 a	16.27 ± 1.10 a	2.00 ± 0.52 a	8.4 ± 0.2 b	6.0 ± 0.0 a
	CA2 (1.0 % O ₂ + 2.0 % CO ₂)	73.37 ± 17.99 b	12.00 ± 0.39 b	1.88 ± 0.17 a	8.5 ± 0.1 b	6.0 ± 0.0 a
60 d	AIR	83.09 ± 19.23 a	26.79 ± 0.74 a	3.53 ± 0.04 a	9.5 ± 0.0 a	5.8 ± 0.0 b
	CA1 (2.0 % O ₂ + 3.5 % CO ₂)	93.53 ± 20.30 a	21.69 ± 0.00 b	2.19 ± 0.07 c	7.1 ± 0.0 c	5.9 ± 0.0 a
	CA2 (1.0 % O ₂ + 2.0 % CO ₂)	94.06 ± 15.62 a	18.04 ± 0.00 c	2.45 ± 0.08 b	7.7 ± 0.0 b	5.9 ± 0.0 a

Values are expressed as mean ± standard deviation. Different lower case letters in the same column indicate significant differences between storage conditions ($P < 0.05$) for each storage time. CA: Controlled atmosphere.

CA. For example, Praeger et al. (2003) and Özden and Bayindirli (2002) reported that onion bulbs and peppers stored in CA, respectively, retained weight compared with samples stored in air. *Calçots* stored in lower O₂ atmospheres (CA2) lost less weight than those stored in higher O₂ atmospheres (CA1). This might be due to their lower respiration rate (Table 2).

Firmness of *calçots* was maintained during the first 30 d of storage except in those stored under CA1 (Table 2). Chope et al. (2006) reported that in three cultivars of onion (cvs. Renate, Ailsa Craig and SS1) the greatest softening occurred between the beginning of CA (3.03 % CO₂ and 5.05 % O₂; 2 ± 1 °C) storage and the first sampling date (40 d, 26 d and 14 d, respectively). Yamashita et al. (2010) reported that the firmness of 'Super-Kitamomiji' onion bulbs during CA storage (1 % O₂ and 1 % CO₂; -0.5 °C, 80 % RH; 92, 135 and 196 d) was greater than that of bulbs stored under air. The application of CA decreased the activity of cell wall degrading enzymes involved in softening and enzymes involved in lignification, leading to toughening of vegetables (Gross et al., 2016).

Respiration rate of all stored *calçots* increased compared with those samples studied at harvest (Table 2). Physical stress might stimulate the respiration rate of fresh vegetables (Kader and Saltveit, 2003). *Calçots* stored under 1 % O₂ and 2 % CO₂ (CA2) had the lowest respiration rates (18.04 mg CO₂ kg⁻¹ s⁻¹) after 60 d of storage. This suggests that CA postharvest strategy could represent an alternative to extend storage life of *calçots*. Results obtained in this study differed from those reported by Praeger et al. (2003), who observed CO₂-production values in onions (*Allium cepa* L. var. *cepa*) around 8.3 10⁻⁴ mg CO₂ kg⁻¹ s⁻¹ after stored under 1.0 % O₂ and <3.0 % CO₂ for 60 d at 2 °C, suggesting the strongly effect of onion cultivar to CA postharvest treatment.

In addition, an increase in the titratable acidity of all samples and a decrease in both pH and SSC was observed at the end of the 60-day storage period. Chope et al. (2006) reported that SSC changed during storage in onion bulbs (cvs. Renate, Ailsa Craig and SS1) with a maximum concentration after 40 d followed by a decrease until the end of the storage period (230, 129 and 81 d, respectively) under CA storage (3.0 % CO₂/5.0 % O₂; 2 °C).

Browning index (BI) of *calçots* stored under air was higher compared with the fresh harvested samples after 30 d of storage (Table 3). However, *calçots* stored under both CA1 and CA2 strategies had similar BI as those obtained at harvest. Onion (*Allium cepa* L. var. *cepa*) skin became darker under all atmospheres (0.5, 1 and 21 % O₂ and <0.3 % CO₂) after 252 d of storage at 2 °C but without treatment effects among them (Praeger et al., 2003). The maintenance of the BI in CA storage could be due to the inhibition of PPO (Galvis-Sánchez et al., 2004), delay of chlorophyll loss (green colour) or biosynthesis and oxidation of phenolic compounds (brown colour) (Gross et al., 2016) caused by the low O₂ and high CO₂ concentrations.

3.2 Sensory assessment

After 30 d of storage, *calçots* stored in CA1 obtained higher liking degree than *calçots* stored under air (Figure 2), but not with *calçots* stored in CA2. However, after 60 d of storage at 1 °C, *calçots* stored in air obtained the highest liking degree average, although not different of that obtained for *calçots* stored under CA1 conditions. There were no liking degree differences in *calçots* stored in CA, but a higher liking degree value was observed in samples stored under air during 60 d when compared to those stored during 30 d under the same conditions. It is important to highlight that the score obtained in all cases was higher than 6 and *calçots* stored in air for 60 d

Table 3. Color parameters of calçots at harvest and after 30- and 60-day of storage at 1 °C.

Storage time	Storage Atmospheres	L*	a*	b*	Browning Index
Harvest		80.08 ± 2.69	-0.91 ± 0.46	5.18 ± 1.24	5.7 ± 1.4
30 d	AIR	81.67 ± 4.09 a	-1.94 ± 0.91 b	7.11 ± 2.48 a	7.2 ± 2.8 a
	CA1 (2.0 % O ₂ + 3.5 % CO ₂)	80.10 ± 5.67 a	-1.52 ± 0.29 a	4.87 ± 0.96 b	4.7 ± 1.1 b
	CA2 (1.0 % O ₂ + 2.0 % CO ₂)	76.57 ± 6.11 b	-1.27 ± 0.36 a	5.12 ± 0.94 b	5.5 ± 1.1 b
60 d	AIR	80.07 ± 3.41 a	-2.66 ± 1.48 a	9.29 ± 3.85 a	9.6 ± 4.2 a
	CA1 (2.0 % O ₂ + 3.5 % CO ₂)	80.84 ± 2.92 a	-2.62 ± 1.18 a	8.26 ± 3.26 a	8.2 ± 3.6 a
	CA2 (1.0 % O ₂ + 2.0 % CO ₂)	80.70 ± 3.05 a	-2.24 ± 1.07 a	7.71 ± 2.38 a	7.7 ± 2.5 a

Values are expressed as mean ± standard deviation. Different lower case letters in the same column indicate significant differences between storage conditions ($P < 0.05$) for each storage time. CA: Controlled atmosphere.

obtained the highest score (around 7.5). These results suggest that CA storage treatment is a good storage strategy to maintain characteristic taste of *calçots*.

There is no information about the most relevant sensory characteristics of *calçots*. These products are eaten cooked, and Simó (2013) remarked that the importance of pungency disappear and that the most important sensory aspects of onions are sweetness.

3.3 Antioxidant activity

Figure 3 shows the antioxidant activity values obtained by the DPPH[•] (Figure 3.A) and FRAP (Figure 3.B) methods in the studied fresh and roasted (270 °C for 8 min) *calçots*. Among treatments, fresh samples stored under CA1 conditions had the lowest values along the 60 d of storage. Antioxidant capacity of fruit is believed to be caused by phenolic compounds. Therefore, higher DPPH values in CA-stored fruit may be due to suppressed oxidation of phenolic compounds (Ali et al., 2016).

Antioxidant activity of all the samples increased after cooking (Figure 3). This response was particular important in roasted harvested *calçots* with antioxidant activity values up to 1.26 and 1.33 10⁻³ mol kg⁻¹ for DPPH[•] and FRAP methods, respectively. *Calçots* stored under air also showed the same trend after 30 and 60 d of storage at 1 °C. These results were in agreement with those reported by Juárez et al. (2016), where DPPH tended to be higher in cooked onions, especially in grilled onions (150 °C for 10 min + 110 °C for 5 min). Increase of the antioxidant activity observed in *calçot* samples after cooking treatment might be attributed to the liberation of antioxidant compounds from insoluble portions, or to the formation of novel compounds such as Maillard reaction products (MRPs) which possess antioxidant capacities (Hwang et al., 2012; Manzocco et al., 2001; Martins et al., 2001).

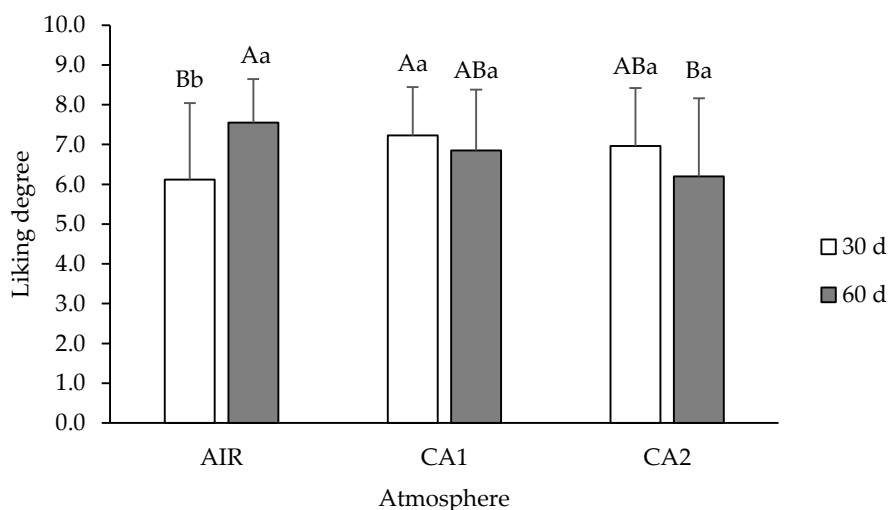


Figure 2. Liking degree of cooked *calçots* at harvest and after 30- and 60-day of storage at 1 °C. Values are expressed as mean ± standard deviation. Capital letters indicate significant differences between storage conditions ($P<0.05$). Lower case letters indicate significant differences ($P<0.05$) between storage time. CA: Controlled atmosphere; CA1: 2.0 % O₂ + 3.5 % CO₂; CA2: 1.0 % O₂+ 2.0 % CO₂.

3.4 Total phenolic content

The TPC after cooking increased in fresh harvest samples ($0.15 \pm 0.01 \text{ g kg}^{-1}$) and *calçots* stored under air conditions (0.24 ± 0.01 and $0.26 \pm 0.01 \text{ g kg}^{-1}$) (Figure 4). This increase was also observed after 60 d of storage at 1°C in *calçots* stored at CA1 ($0.22 \pm 0.01 \text{ g kg}^{-1}$). Rawson et al. (2013) reported a reduction in the levels of antioxidant activity and phenols in roasted (160°C , 15 min) fennel (*Foeniculum vulgare*) bulbs. Gorinstein et al. (2005) also observed that cooked garlic (100°C , 40 or 60 min) had lower values of total polyphenols than fresh garlic. In the case of roasting as mentioned previously, the production of redox-active secondary metabolites (Maillard reaction and Amadori rearrangement products) or breakdown compounds at a very high temperature (160°C) might affect the polyphenol levels and their structure (Dini et al., 2013; Palermo et al., 2014).

In general, the total phenolic content of stored fresh *calçots* increased respect to the harvest sample. Results showed an unclear relation between AA or TPC and the storage conditions. Nevertheless, Juárez et al. (2016) reported that the increment of phenolic compounds in stored onions corresponded with an increase in antioxidant capacity measured by DPPH assay. Furthermore, in the study carried out by Fernández-León et al. (2013) high values of AA were strongly associated (Pearson's correlation coefficient $r = 0.65$, $p < 0.01$) with high TPC in 'Parhenon' broccoli after storage under $10\% \text{ O}_2 + 5\% \text{ CO}_2$ at $1\text{-}2^\circ\text{C}$ for 21 d. Li et al. (2015) reported that the variation in total phenol content of kiwifruit during storage at $2\% \text{ O}_2/3\% \text{ CO}_2$, $2\% \text{ O}_2/6\% \text{ CO}_2$, $5\% \text{ O}_2/3\% \text{ CO}_2$, $5\% \text{ O}_2/6\% \text{ CO}_2$ at 2°C had a strong negative correlation with PPO activity. Low O_2 atmospheres can delay the decrease in TPC perhaps due to inhibition of PPO activity.

3.7 Total flavonoids

In general, the total content of flavonoids in *calçots* was higher in fresh than in cooked samples because of their heat susceptibility, although in some cases there were no significant differences (Figure 5). In the study performed by Rodrigues et al. (2009) using two Portuguese onion cultivars ('branca da Póvoa' and 'vermelha da Póvoa'), oven roasting without water (180°C for 15 min or 200°C for 30 min) did not modify the total levels of some flavonoids (quercetin 3,4'-glucoside and quercetin 4'-glucoside). However, Sharma et al. (2015) reported that after heating onions at certain temperature (80°C , 100°C , 120°C or 150°C for 30 min), the total flavonoid content decreases, which indicates that some flavonoids were probably destroyed.

Fresh harvested and stored *calçots* under air had the highest total flavonoid values between 0.44 ± 0.02 and $0.58 \pm 0.10 \text{ g kg}^{-1}$. The values were higher in fresh harvest samples and samples stored under air than in CA.

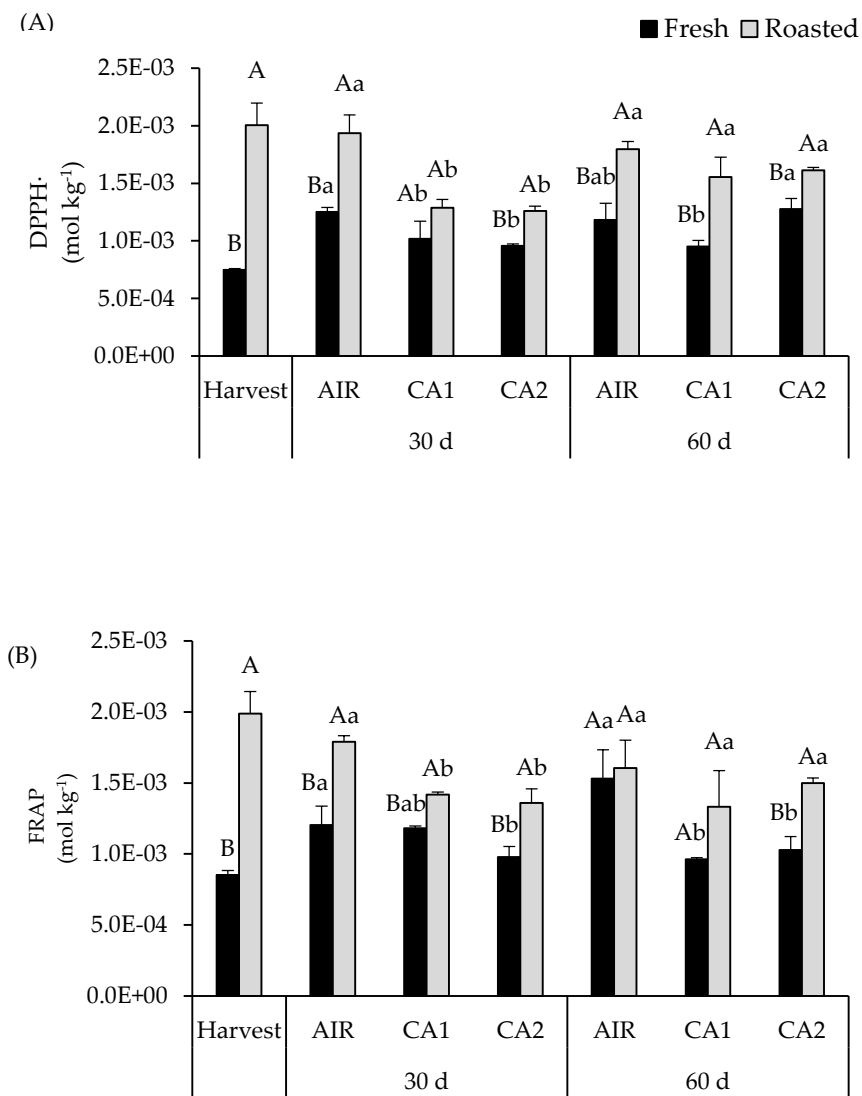


Figure 3. Antioxidant activity (A: DPPH assay, B: FRAP Assay) of fresh and roasted calçots at harvest and after 30- and 60-day of storage at 1 °C. Values are expressed as mean ± standard deviation. Capital letters indicate significant differences ($P < 0.05$) between fresh and roasted samples. Lower case letters indicate significant differences ($P < 0.05$) between storage treatments at same storage time. CA: Controlled atmosphere; CA1: 2.0 % O₂ + 3.5 % CO₂; CA2: 1.0 % O₂ + 2.0 % CO₂.

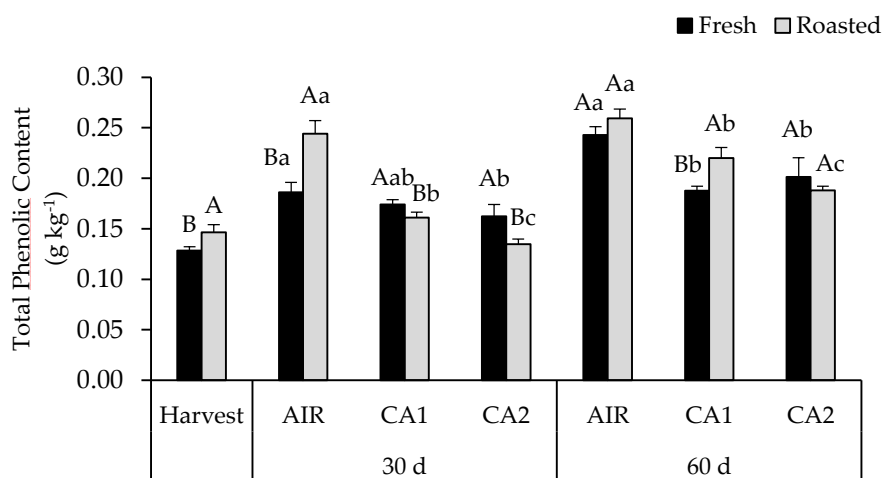


Figure 4. Total phenolic content of fresh and roasted calçots at harvest and after 30- and 60-day of storage at 1 °C. Values are expressed as mean ± standard deviation. Capital letters indicate significant differences ($P<0.05$) between fresh and roasted samples. Lower case letters indicate significant differences ($P<0.05$) between storage treatments at same storage time. CA: Controlled atmosphere; CA1: 2.0 % O₂+ 3.5 % CO₂; CA2: 1.0 % O₂+ 2.0 % CO₂.

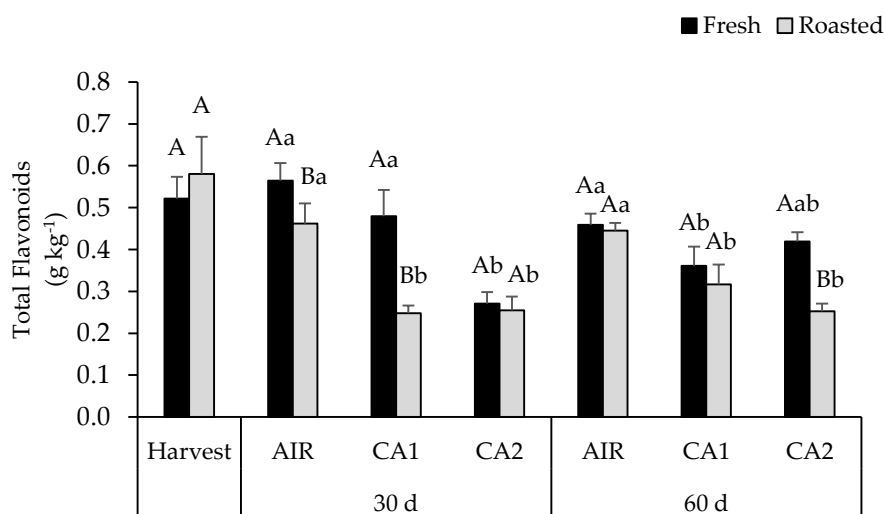


Figure 5. Total flavonoids of fresh and roasted calçots at harvest and after 30- and 60-day of storage at 1 °C. Values are expressed as mean ± standard deviation. Capital letters indicate significant differences ($P<0.05$) between fresh and roasted samples. Lower case letters indicate significant differences ($P<0.05$) between storage treatments at same storage time. CA: Controlled atmosphere; CA1: 2.0 % O₂+ 3.5 % CO₂; CA2: 1.0 % O₂+ 2.0 % CO₂.

3.8 *In vitro* simulated gastrointestinal (GI) digestion of roasted calçot

3.8.1 Antioxidant activity

The DPPH and FRAP values of digested *calçots* are shown in Figure 6. Total AA in both gastric and intestinal digest were lower than those obtained by chemical extraction (non-digested). This suggests that the antioxidant components present in roasted *calçots* are potentially unstable to the pH change and enzymatic degradation.

A reduction in the antioxidant activity by the DPPH assay was observed in all samples after both gastric and intestinal phases. Chen et al. (2014) analysed antioxidant capacity of 33 fruit, where after the gastric phase of digestion, the DPPH values of some fruits were increased and after intestinal phase decreased. In our study the highest antioxidant retention was observed in samples stored under CA1 with concentration values of $5.60 \cdot 10^{-4} \pm 5.41 \cdot 10^{-6} \text{ mol kg}^{-1}$ (representing 43.6 % respect to the non-digested). Moreover, *calçots* stored under CA2 for 30 d and air for 60 d showed values of AA retention of 27.0 % and 29.4 %, respectively, respect to the non-digested. Those results indicated after 60 d the retention in the intestinal phase of AA by the DPPH assay was lower in *calçots* stored in CA at 1 °C for 60 d than for 30 d. Therefore, the storage time might have influenced in that retention.

The values of FRAP after gastric and intestinal phase were lower than in non-digested as showed in DPPH. The retention of AA by the FRAP assay after intestinal phase was similar to DPPH assay, being between 21 and 40 %. The highest antioxidant retention was observed in samples stored under CA1 for 30 d (representing 36.1 % respect to the non-digested) and air for 60 d (representing 38.7 % respect to the non-digested) as was showed in DPPH assay. Wootton-Beard et al. (2011) observed that the FRAP values of 23 commercially available vegetable juices increased after gastric phase with a subsequent decrease after the intestinal phase, although remaining higher than non-digested. They also studied the correlation between DPPH and FRAP results and they were poorly correlated ($r^2 = 0.53$). Therefore, results can depend on the type of fruit or vegetable studied.

The observed differences between the AA obtained after intestinal phase in the DPPH and FRAP assays could be attributed to the different principle of each assay. Both assays are redox-linked colorimetric methods, but the DPPH assay is based on accept a hydrogen atom (Mishra et al., 2012) and the FRAP assay is based on the acceptance of electrons from antioxidants (Benzie and Strain, 1996). The differences in the results obtained in DPPH assay might be associated with pH changes along the digestion (Bouayed and Bohn, 2010) because the radical scavenger activity of polyphenols is strongly pH-dependent (Tagliazucchi et al., 2010). According to Bouayed et al. (2011), the transition from acidic medium to basic or neutral medium increase the AA of phenolic compounds by causing deprotonation of the hydroxyl moieties present on their aromatic rings. Moreover, alterations in the structure of antioxidants following digestion may affect their reactivity with the less biologically relevant nitrogen radical formed in the DPPH assay (Wootton-Beard et al., 2011). Finally, the simulated fluids contained different electrolytes which could release electrons during the digestion and produce interferences in the FRAP assay.

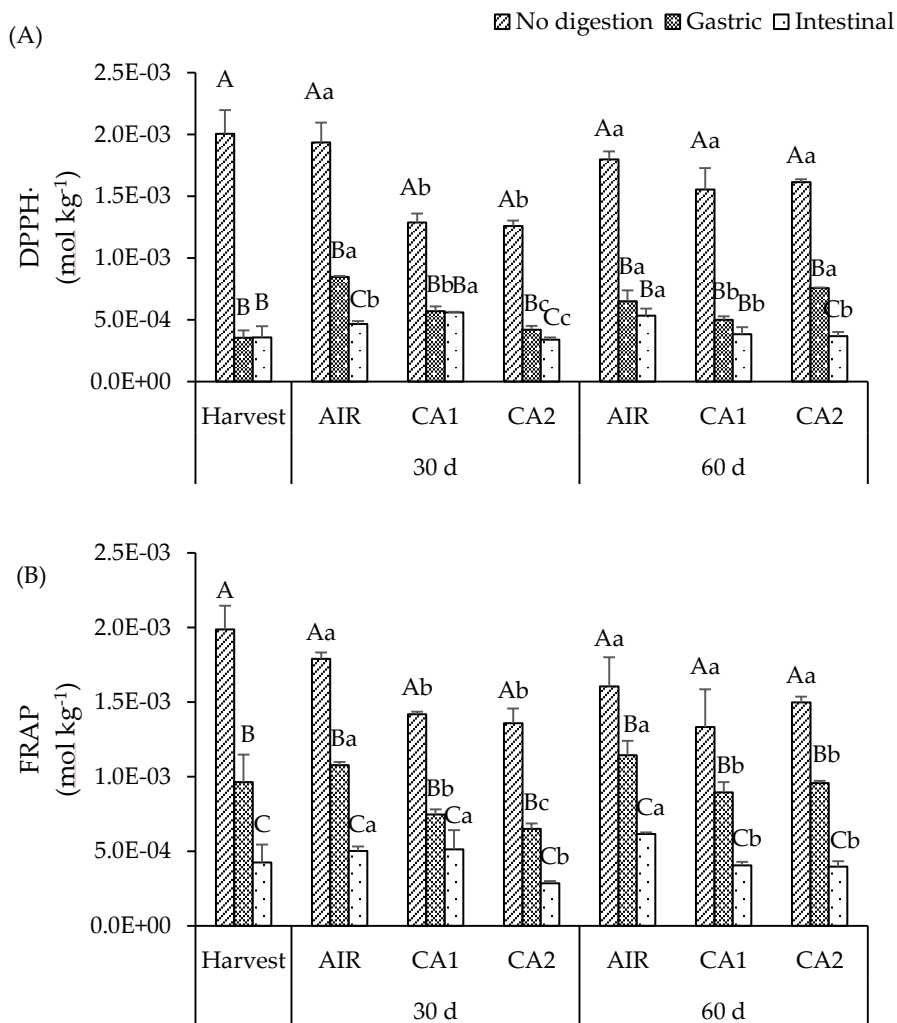


Figure 6. Antioxidant activity (A: DPPH assay, B: FRAP Assay) of roasted calçots after *In vitro* simulated gastrointestinal (GI) digestion of samples stored under air and two different controlled atmosphere (CA1 and CA2) after 30- and 60-day of storage at 1 °C. Values are expressed as mean ± standard deviation. Capital letters indicate significant differences (P<0.05) between phases of *in vitro* simulated gastrointestinal (GI) digestion. Lower case letters indicate significant differences (P<0.05) between storage treatments at same storage time and digestion phase. CA: Controlled atmosphere; CA1: 2.0 % O₂+ 3.5 % CO₂; CA2: 1.0 % O₂+ 2.0 % CO₂.

3.8.2 Total phenolic content

The impact of *in vitro* simulated GI digestion in TPC is shown in Figure 7. The total content increased after digestion for all samples. Polyphenols release was mainly achieved during the gastric phase. Subsequently, a similar increase was obtained after the intestinal phase. In other matrices such as vegetable juices (Wootton-Beard et al., 2011) and some fruit (Chen et al., 2014) after the gastric phase of digestion a significant increase in TPC as well as after intestinal phase was observed. Nevertheless, Rodríguez-Roque et al. (2013) reported that after gastric digestion the TPC increased and after small intestinal digestion, decreased. Regarding to the increment of TPC after intestinal phase, the highest increase was observed in samples stored under CA1 with concentration values of $0.31 \pm 0.01 \text{ g kg}^{-1}$ (representing 47.5 % respect to the non-digested), CA2 with concentration values of $0.21 \pm 0.01 \text{ g kg}^{-1}$ (representing 36.7 % respect to the non-digested) after 30 d at 1 °C and fresh harvested sample with concentration values of $0.25 \pm 0.05 \text{ g kg}^{-1}$ (representing 38.9 % respect to the non-digested). This increment observed in the TPC may be due to the additional time of extraction ($13,523 \times \text{g}$, 15 min, 4 °C) along with the effect of gastric or intestinal enzyme on the complex food matrix, which facilitates the release of phenolic bound to the matrix (Carbonell-Capella et al., 2014).

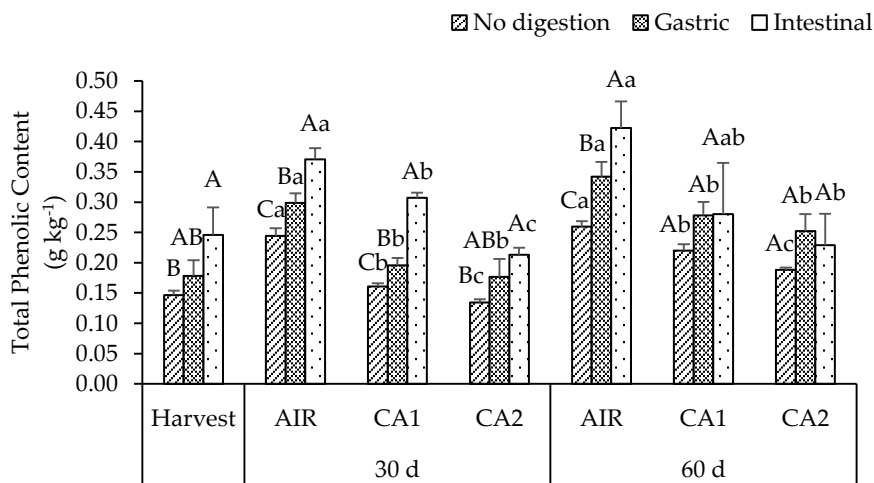


Figure 7. Total phenolic content of roasted calçots after *In vitro* simulated gastrointestinal (GI) digestion of samples stored under air and two different controlled atmosphere (CA1 and CA2) after 30- and 60-day of storage at 1 °C. Values are expressed as mean \pm standard deviation. Capital letters indicate significant differences ($P < 0.05$) between phases of *in vitro* simulated gastrointestinal (GI) digestion. Lower case letters indicate significant differences ($P < 0.05$) between storage treatments at same storage time and digestion phase. CA: Controlled atmosphere; CA1: 2.0 % O₂ + 3.5 % CO₂; CA2: 1.0 % O₂ + 2.0 % CO₂.

4. Conclusions

The quality and bioaccessibility of total phenolic content and antioxidant activity of *calçots* was studied. Overall, the storage conditions did not affect the morphological parameters of *calçots* obtained at harvest. Storage conditions of 1.0 % O₂ and 2.0 % CO₂ at 1 °C were the most suitable to maintain weight, and lower respiration rate and browning index of the *calçots* during storage. These conditions also resulted in a higher consumer acceptance and showed potential for commercial use of *calçots* for a longer period.

Roasting *calçots* (270 °C for 8 min) led to an increase in their antioxidant activity and total phenolic content. However, AA values obtained after the *in vitro* simulated GI digestion of roasted *calçot* were lower when compared with the non-digested sample. This reduction in the AA did not depend on the CA used. In this way, around 30 % of the FRAP and DPPH antioxidant activity was maintained in roasted *calçots* after GI simulated digestion. Nevertheless, TPC of roasted *calçots* increased between 15 and 47 % after *in vitro* simulated GI digestion perhaps due to the liberation of phenolic compounds from the matrix.

Acknowledgments

This research was carried out with the financial support of ACCIÓ (Generalitat of Catalonia, RD14-1-004), 'Cooperativa de Valls', 'Cooperativa de Cambrils' and PGI 'Calçot de Valls'. This work has been supported by the Secretaria d'Universitats i Recerca del Departament d'Economia i Coneixement (FI-DGR 2015) and CERCA Programme of Generalitat de Catalunya. Dr. Aguiló-Aguayo thanks to the Ministry of Economy and Competitiveness from the Spanish Government for the FPDI-2013-15583. Dr. Plaza thanks the National Institute for Agronomic Research (INIA) for a DOC-INIA research contract.

References

- Akhmadieva, Ak., Zaichkina, S., Ruzieva, Rk., Ganassi, E., 1993. The protective action of a natural preparation of anthocyan (pelargonidin-3,5-diglucoside). *Radiobiologia* 33, 433–435.
- Ali, S., Khan, A.S., Malik, A.U., Shahid, M., 2016. Effect of controlled atmosphere storage on pericarp browning, bioactive compounds and antioxidant enzymes of litchi fruit. *Food Chem.* 206, 18–29. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.021>
- Altisent, R., Plaza, L., Alegre, I., Viñas, I., Abadías, M., 2014. Comparative study of improved vs. traditional apple cultivars and their aptitude to be minimally processed as 'ready to eat' apple wedges. *LWT - Food Sci. Technol.* 58, 541–549. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.03.019>
- Benzie, I.F., Strain, J.J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'antioxidant power': the FRAP assay. *Anal. Biochem.* 239, 70–6. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Bermúdez-Soto, M.-J., Tomás-Barberán, F.-A., García-Conesa, M.-T., 2007. Stability of polyphenols in chokeberry (*Aronia melanocarpa*) subjected to *in vitro* gastric and pancreatic digestion. *Food Chem.* 102, 865–874. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.025>
- Bouayed, J., Bohn, T., 2010. Exogenous antioxidants—Double-edged swords in cellular redox state:

- Health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 3, 228–237. <https://doi.org/10.4161/oxim.3.4.12858>
- Bouayed, J., Deußer, H., Hoffmann, L., Bohn, T., 2012. Bioaccessible and dialysable polyphenols in selected apple varieties following *in vitro* digestion vs. their native patterns. *Food Chem.* 131, 1466–1472. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.030>
- Bouayed, J., Hoffmann, L., Bohn, T., 2011. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food Chem.* 128, 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.052>
- Campos-Vega, R., Vázquez-Sánchez, K., López-Barrera, D., Loarca-Piña, G., Mendoza-Díaz, S., Dave Oomah, B., 2015. Simulated gastrointestinal digestion and *in vitro* colonic fermentation of spent coffee (*Coffea arabica* L.): Bioaccessibility and intestinal permeability. *Food Res. Int.* 77, 156–161. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.024>
- Carbonell-Capella, J.M., Buniowska, M., Barba, F.J., Esteve, M.J., Frígola, A., 2014. Analytical methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables: A review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 13, 155–171. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12049>
- Carbonell-Capella, J.M., Buniowska, M., Esteve, M.J., Frígola, A., 2015. Effect of *Stevia rebaudiana* addition on bioaccessibility of bioactive compounds and antioxidant activity of beverages based on exotic fruit mixed with oat following simulated human digestion. *Food Chem.* 184, 122–30. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.095>
- Chen, G.-L., Chen, S.-G., Zhao, Y.-Y., Luo, C.-X., Li, J., Gao, Y.-Q., 2014. Total phenolic contents of 33 fruits and their antioxidant capacities before and after *in vitro* digestion. *Ind. Crops Prod.* 57, 150–157. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.03.018>
- Chope, G.A., Terry, L.A., White, P.J., 2006. Effect of controlled atmosphere storage on abscisic acid concentration and other biochemical attributes of onion bulbs. *Postharvest Biol. Technol.* 39, 233–242. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.10.010>
- D.A.R.P., 2009. ORDRE AAR/414/2009, de 21 de setembre, per la qual s'aprova el Reglament de la Indicació Geogràfica Protegida Calçot de Valls [WWW Document]. URL http://portaljuridic.gencat.cat/ca/pjur_ocults/pjur_resultats_fitxa/?documentId=503886&language=ca_ES&action=fitxa
- Dini, I., Tenore, G.C., Dini, A., 2013. Effect of industrial and domestic processing on antioxidant properties of pumpkin pulp. *LWT - Food Sci. Technol.* 53, 382–385. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.01.005>
- EC No 905/2002, n.d. Commission Regulation (EC) No 905/2002 of 30 May 2002 supplementing the Annex to Regulation (EC) No 2400/96 on the entry of certain names in the 'Register of protected designations of origin and protected geographical indications' [2002] OJ L 142/27.
- Fernández-León, M.F., Fernández-León, A.M., Lozano, M., Ayuso, M.C., González-gómez, D., 2013. Altered commercial controlled atmosphere storage conditions for 'Parhenon' broccoli plants (*Brassica oleracea* L. var. *italica*). Influence on the outer quality parameters and on the health-promoting compounds. *LWT - Food Sci. Technol.* 50, 665–672. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.07.028>

- Galvis-Sánchez, A.C., Fonseca, S.C., Morais, A.M.M.B., Malcata, F.X., 2004. Sensorial and physicochemical quality responses of pears (cv Rocha) to long-term storage under controlled atmospheres. *J. Sci. Food Agric.* 84, 1646–1656. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1798>
- Garrett, D., Failla, M.L., Sarama, R.J., 1999. Development of an *in vitro* digestion method to assess carotenoid bioavailability from meals. *J. Agric. Food Chem.* 47, 4301–4309.
- Gil-izquierdo, A., Gil, I., Ferreres, F., Toma, F.A., 2001. In vitro availability of flavonoids and other phenolics in orange juice. *J. Agric. Food Chem.* 49, 1035–1041. <https://doi.org/10.1021/jf0000528>
- Girgin, N., El, S.N., 2015. Effects of cooking on *in vitro* sinigrin bioaccessibility, total phenols, antioxidant and antimutagenic activity of cauliflower (*Brassica oleraceae* L. var. *Botrytis*). *J. Food Compos. Anal.* 37, 119–127. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.04.013>
- Gorinstein, S., Drzewiecki, J., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Najman, K., Jastrzebski, Z., Zachwieja, Z., Barton, H., Shtabsky, B., Katrich, E., Trakhtenberg, S., 2005. Comparison of the bioactive compounds and antioxidant potentials of fresh and cooked Polish, Ukrainian, and Israeli garlic. *J. Agric. Food Chem.* 53, 2726–2732. <https://doi.org/10.1021/jf0404593>
- Gross, K.C., Wang, C.Y., Saltveit, M., 2016. The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks, Agriculture Handbook 66, U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. USDA, Washington, DC.
- Hertog, M.G., Kromhout, D., Aravanis, C., Blackburn, H., Buzina, R., Fidanza, F., Giampaoli, S., Jansen, A., Menotti, A., Nedeljkovic, S., Pekkarinen, M., 1995. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Arch. Intern. Med.* 155, 381–386.
- Hwang, I.G., Shin, Y.J., Lee, S., Lee, J., Yoo, S.M., 2012. Effects of different cooking methods on the antioxidant properties of red pepper (*Capsicum annuum* L.). *Prev. Nutr. Food Sci.* 17, 286–292. <https://doi.org/10.3746/pnf.2012.17.4.286>
- Juániz, I., Ludwig, I.A., Huarte, E., Pereira-Caro, G., Moreno-Rojas, J.M., Cid, C., De Peña, M.P., 2016. Influence of heat treatment on antioxidant capacity and (poly)phenolic compounds of selected vegetables. *Food Chem.* 197, 466–473. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.139>
- Kader, A.A., 1996. Controlled atmosphere storage. *Cold Chill. Storage Technol.* 53–92. <https://doi.org/10.1007/978-1-4613-1127-0>
- Kader, A.A., Saltveit, M.E., 2003. Respiration and Gas Exchange, in: Bartz, J.A., Brecht, J.K. (Eds.), *Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables*. Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 7–29.
- Kosińska-Cagnazzo, A., Diering, S., Prim, D., Andlauer, W., 2015. Identification of bioaccessible and uptaken phenolic compounds from strawberry fruits in *in vitro* digestion/Caco-2 absorption model. *Food Chem.* 170, 288–94. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.070>
- Li, H., Zhu, Y., Luo, F., He, H., Yuan, H., Gao, J., Zeng, X., Huang, C., 2015. Use of controlled atmospheres to maintain postharvest quality and improve storage stability of a novel red-fleshed kiwifruit (*Actinidia chinensis* Planch. var. *rufopulpa* [C.F. Liang et R.H. Huang] C.F. Liang et A.R. Ferguson). *J. Food Process. Preserv.* 39, 907–914.

<https://doi.org/10.1111/jfpp.12303>

- Liu, C., Ma, T., Hu, W., Tian, M., Sun, L., 2016. Effects of aqueous ozone treatments on microbial load reduction and shelf life extension of fresh-cut apple. *Int. J. Food Sci. Technol.* 51, 1099–1109. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13078>
- Manzocco, L., Calligaris, S., Mastrocola, D., Nicoli, M.C., Lerici, C.R., 2001. Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends Food Sci. Technol.* 11, 340–346. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(01\)00014-0](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(01)00014-0)
- Martins, S.I.F.S., Jongen, W.M.F., Van Boekel, M.A.J.S., 2001. A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling. *Trends Food Sci. Technol.* 11, 364–373. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(01\)00022-X](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(01)00022-X)
- Minekus, M., Almingier, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., Marze, S., McClements, D.J., Ménard, O., Recio, I., Santos, C.N., Singh, R.P., Vegarud, G.E., Wickham, M.S.J., Weitschies, W., Brodkorb, A., 2014. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food - an international consensus. *Food Funct.* 5, 1113–24. <https://doi.org/10.1039/c3fo60702j>
- Mishra, K., Ojha, H., Chaudhury, N.K., 2012. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH· assay: A critical review and results. *Food Chem.* 130, 1036–1043. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.127>
- Özden, Ç., Bayindirli, L., 2002. Effects of combinational use of controlled atmosphere, cold storage and edible coating applications on shelf life and quality attributes of green peppers. *Eur. Food Res. Technol.* 214, 320–326. <https://doi.org/10.1007/s00217-001-0448-z>
- Palermo, M., Pellegrini, N., Fogliano, V., 2014. The effect of cooking on the phytochemical content of vegetables. *J. Sci. Food Agric.* 94, 1057–1070. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6478>
- Pavan, V., Sancho, R.A.S., Pastore, G.M., 2014. The effect of *in vitro* digestion on the antioxidant activity of fruit extracts (*Carica papaya*, *Artocarpus heterophyllus* and *Ammona marcgravii*). *LWT - Food Sci. Technol.* 59, 1247–1251. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.05.040>
- Pérez-Gregorio, R.M., García-Falcón, M.S., Simal-Gándara, J., Rodrigues, A.S., Almeida, D.P.F., 2010. Identification and quantification of flavonoids in traditional cultivars of red and white onions at harvest. *J. Food Compos. Anal.* 23, 592–598. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2009.08.013>
- Plaza, L., Altisent, R., Alegre, I., Viñas, I., Abadias, M., 2016. Changes in the quality and antioxidant properties of fresh-cut melon treated with the biopreservative culture *Pseudomonas graminis* CPA-7 during refrigerated storage. *Postharvest Biol. Technol.* 111, 25–30. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.07.023>
- Praeger, U., Ernst, M., Weichmann, J., 2003. Effects of ultra low oxygen storage on postharvest quality of onion bulbs (*Allium cepa* L. var. *cepa*). *Eur. J. Hortic. Sci.* 68, 14–19.
- Rawson, A., Hossain, M.B., Patras, A., Tuohy, M., Brunton, N., 2013. Effect of boiling and roasting on the polyacetylene and polyphenol content of fennel (*Foeniculum vulgare*) bulb. *Food Res. Int.* 50, 513–518. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.01.009>

- Rodrigues, A.S., Pérez-Gregorio, M.R., García-Falcón, M.S., Simal-Gándara, J., 2009. Effect of curing and cooking on flavonols and anthocyanins in traditional varieties of onion bulbs. *Food Res. Int.* 42, 1331–1336. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.04.005>
- Rodríguez-Roque, M.J., de Ancos, B., Sánchez-Moreno, C., Cano, M.P., Elez-Martínez, P., Martín-Belloso, O., 2015. Impact of food matrix and processing on the *in vitro* bioaccessibility of vitamin C, phenolic compounds, and hydrophilic antioxidant activity from fruit juice-based beverages. *J. Funct. Foods* 14, 33–43. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.020>
- Rodríguez-Roque, M.J., Rojas-Graü, M.A., Elez-Martínez, P., Martín-Belloso, O., 2013. Changes in vitamin C, phenolic, and carotenoid profiles throughout *in vitro* gastrointestinal digestion of a blended fruit juice. *J. Agric. Food Chem.* 61, 1859–1867. <https://doi.org/10.1021/jf3044204>
- Ryan, L., Prescott, S.L., 2010. Stability of the antioxidant capacity of twenty-five commercially available fruit juices subjected to an *in vitro* digestion. *Int. J. Food Sci. Technol.* 45, 1191–1197. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02254.x>
- Santas, J., Carbó, R., Gordon, M.H., Almajano, M.P., 2008. Comparison of the antioxidant activity of two Spanish onion varieties. *Food Chem.* 107, 1210–1216. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.056>
- Sharma, K., Ko, E.Y., Assefa, A.D., Ha, S., Nile, S.H., Lee, E.T., Park, S.W., 2015. Temperature-dependent studies on the total phenolics, flavonoids, antioxidant activities, and sugar content in six onion varieties. *J. Food Drug Anal.* 23, 243–252. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2014.10.005>
- Simó, J., 2013. Millora genètica del calçot (*Allium cepa* L.). Desenvolupament d'eines de selecció i aplicació a l'obtenció de nous cultivars. Universitat Politècnica de Catalunya (PhD thesis).
- Simó, J., Valero, J., Plans, M., Romero del Castillo, R., Casañas, F., 2013. Breeding onions (*Allium cepa* L.) for consumption as 'calçots' (second-year resprouts). *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 152, 74–79. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.01.011>
- Singleton, V., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *METHODS Enzimol.* 299, 152–178.
- Soriano Sancho, R.A., Pavan, V., Pastore, G.M., 2015. Effect of *in vitro* digestion on bioactive compounds and antioxidant activity of common bean seed coats. *Food Res. Int.* 76, 74–78. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.11.042>
- Stanisavljevic, N., Samardzic, J., Jankovic, T., Savikin, K., Mojsin, M., Topalovic, V., Stevanovic, M., 2015. Antioxidant and antiproliferative activity of chokeberry juice phenolics during *in vitro* simulated digestion in the presence of food matrix. *Food Chem.* 175, 516–522. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.009>
- Tagliazucchi, D., Verzelloni, E., Bertolini, D., Conte, A., 2010. *In vitro* bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chem.* 120, 599–606. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.030>
- Vallejo, F., Gil-Izquierdo, A., Perez-Vicente, A., Garcia-Viguera, C., 2004. *In vitro* gastrointestinal digestion study of broccoli inflorescence phenolic compounds, glucosinolates, and vitamin C. *J. Agric. Food Chem.* 52, 135–138. <https://doi.org/10.1021/jf0305128>

- Vandekinderen, I., Van Camp, J., Devlieghere, F., Ragaert, P., Veramme, K., Bernaert, N., Denon, Q., De Meulenaer, B., 2009. Evaluation of the use of decontamination agents during fresh-cut leek processing and quantification of their effect on its total quality by means of a multidisciplinary approach. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 10, 363–373. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.02.002>
- Wootton-Beard, P.C., Moran, A., Ryan, L., 2011. Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after *in vitro* digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin-Ciocalteu methods. *Food Res. Int.* 44, 217–224. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.033>
- Yamashita, K., Sasaki, W., Haga, H., Fujisaki, K., 2010. Effects of controlled atmosphere storage on storage life and shelf life of the Japanese onion cultivar 'Super-Kitamomiji'. *Acta Hort.* 876, 91–94. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.876.10>

CAPÍTULO 6

Microbiological and physicochemical quality of fresh-cut *calçots* (*Allium cepa* L.) stored under modified atmosphere or vacuum packaging

L. Zudaire, I. Viñas, M. Abadias, T. Lafarga, G. Bobo, J. Simó, I. Aguiló-Aguayo

Journal of the Science of Food and Agriculture (enviado)

ABSTRACT

BACKGROUND: *Calçots* are the immature floral stems of the second-year onion (*Allium cepa* L.) resprouts. Modified atmosphere (MAP) or vacuum (VAC) packaging are a suitable alternative to preserve fresh-cut vegetables. The objective of the present study was to evaluate the effect of postharvest storage time of raw vegetable stored under controlled atmosphere (CA) and used packaging system after minimal processing on the quality of fresh-cut *calçots* along their shelf-life.

RESULTS: *Calçots* stored under CA for 30 d presented better retention of quality than those stored for 60 d and in turn, being more suitable for being minimally processed. Fresh-cut *calçots* packaged under MAP presented higher values of browning index, soluble solids content and acidity than those packaged under VAC. Vacuum packaging preserved the physicochemical quality of fresh-cut *calçots* better after 15 d of storage at 4 °C. Moreover, mesophilic aerobic counts were also higher in those fresh-cut *calçots* stored under MAP than in VAC, but all counts were below the recommended limits during and at the end of their shelf-life (15 d).

CONCLUSION: The most suitable conservation strategy could be to store whole *calçots* under CA (1.0 kPa O₂ + 2.0 kPa CO₂) for 30 d and after minimally processing, packaged under vacuum in order to extend the shelf-life maintaining physicochemical and microbiological quality of fresh-cut *calçots*.

Keywords: fresh-cut; *Allium*; packaging; MAP; vacuum; quality.

1. Introduction

Calçots (*Allium cepa* L.) are the immature floral stems of second-year onion resprouts of the 'Ceba Blanca Tardana de Lleida' (BTL) onion landrace with an economic importance in Catalonia (northeast Spain). Although they are usually consumed grilled or roasted, there is currently an increasing trend toward consuming raw *calçots* in, for example, salads (Simó et al., 2013; Zudaire et al., 2017).

United Fresh Produce Association defines fresh-cut produce as any fresh-cut fruit or vegetable or any combination of them that has been physically altered but remains in the fresh state (UFPA, 2001). Fresh-cut produce is increasing due to the modern consumption trends which include health concerns (Son et al., 2015) and time and effort saving (Denoya et al., 2015). Moreover, fresh-cut fruit and vegetables have high vitamin and low calorie content with accurate sensory quality as suitable components of any healthy diet (Artés and Allende, 2014). Minimal processing include operations such as peeling and cutting which cause wounding that significantly reduce the shelf-life of fresh-cut products. Those operations make the fresh-cut fruit and vegetables more susceptible to microbial attack compared to intact produce, but also causes damage to tissues and cellular structure, leading to leakage of nutrients and cellular fluids (Heard, 2002). In order to extend the shelf-life of whole and fresh-cut products, physical preservative treatments such as MAP or vacuum packaging (VAC) have been developed (Zhang et al., 2014).

A large number of fresh-cut fruits and vegetables are stored and marketed in MAP in combination with chilled storage or other preservation procedures (Hodges and Toivonen, 2008). MAP refer to the technique of sealing actively respiring produce in polymeric film packages to modify the O₂ and CO₂ levels within the package atmosphere (Mir and Beaudry, 2016), those levels are reached by the natural interaction between the respiration rate of the product and the transfer of gases through the packaging material (Oliveira et al., 2015). There are two types of MAP, namely active and passive. In active packaging, introduction of a gas barrier system is used while in passive packaging, effects are resulting from respiration rate of fruit and vegetables and gas permeability of the film (Helland et al., 2016; Zhang et al., 2014). One of the primary effects of MAP is a lower respiration rate, which reduces the rate of substrate depletion (Sandhya, 2010) and oxidation reactions (Sothornvit and Kiatchanapaibul, 2009). MAP has been successfully used to maintain the quality of fresh-cut fruit and vegetables (Oliveira et al., 2010; Son et al., 2015) such as lettuce (Oliveira et al., 2010; Paillart et al., 2017) or onion (Hong and Kim, 2004; Martínez et al., 2005).

VAC, which removes the air from the package, is now commonly used to extend the shelf-life of whole and fresh-cut fruit and vegetables. The use of VAC inhibits the advance of oxidative reactions and inhibits the growth of aerobic microorganism, which generally trigger deterioration of fruit and vegetables during storage (Rocha et al., 2003). The disadvantage of this method is the extremely low oxygen level that could increase the growth of anaerobic pathogens (Lee et al., 2011), fermentative metabolism and accumulation of ethanol and acetaldehyde (Denoya et al., 2015). VAC packaging systems have been investigated for example in onion (Hong and Kim, 2004; Pérez-Gregorio et al., 2011) or pepper (González-Aguilar et al., 2004).

The objective of the present study was to develop a novel ready-to-eat product as ingredient for salads or other dishes or ready-to-cook product (through roasting process) based on fresh-cut *calçot*. In order to achieve this goal, the influence of controlled atmosphere storage's time and packaging type (MAP or VAC) on the microbial load and quality attributes of fresh-cut *calçots* was studied.

2. Materials and methods

2.1 Plant material

Calçots (*Allium cepa* L.) were kindly provided by 'Cooperativa Agrícola Valls' (Tarragona, Spain) at commercial size. The *calçots* had the European quality label PGI 'Calçot de Valls' (D.A.R.P., 2009). They were cultivated in northeast Spain (41°13'47"N, 01°13'12"E), during the crop growing season of 2014 and 2015. In August 2014, the bulbs of 'Blanca Tardana de Lleida' onion were transplanted at a density of 8,000 plants per ha. The resprouts arising in the autumn were covered with soil three times to increase the length of the edible white part and harvested in February.

Based on previous results (Zudaire et al., 2017), *calçots* used for minimal processing and storage were those stored under controlled atmosphere (CA) with 1.0 kPa O₂ + 2.0 kPa CO₂ at 1 °C with 85 % of RH for 30 and 60 days which resulted effective to keep quality and nutritional parameters. Pre-conditioning was conducted according to the methodology previously described by Aguiló-Aguayo et al. (2015).

2.2 Storage conditions

Fresh-cut *calçots* were packaged using two different packaging methods: passive MAP without initial gas injection and VAC. MAP storage conditions were established following results obtained in a previous study carried out by Aguiló-Aguayo et al. (2015). Samples were stored in Cryovac® BN3050W bags (200 mm x 310 mm) with 48 µm of thickness (Sealed Air Global Headquarters, USA) and O₂ and CO₂ transfer rate of 5000 and 22000 cm³ m⁻² d⁻¹ atm⁻¹ at 23 °C and 0 % RH, respectively. In VAC conditions, vacuum bags (polypropylene, 150 x 300 mm) were sealed using JOLLY LCD vacuum-sealing machine (Lavezzini, Italy) with 93 % of vacuum (one cycle of Step Vac and Soft Vac). In both MAP and VAC, 5 fresh-cut *calçots* were stored per bag and all experiments were conducted in triplicate. Finally, bags were stored at 4 °C for 15 d and analysed at days 0, 3, 6 and 15 d for microbial and physicochemical quality and visual evaluation.

2.3 Headspace atmosphere

Headspace gas composition was measured according to the methodology previously described by Iglesias et al. (2018). The results were expressed as kPa.

2.4 Soluble solids content, titratable acidity and pH

Soluble solids content (SSC), titratable acidity (TA), and pH were measured as previously described by Zudaire et al. (2017). SSC were expressed as % and TA as g of malic acid L⁻¹. Three determinations were performed per each packaging treatment at each sampling time.

2.5 Colour

Colour was measured as previously described by Zudaire et al. (2017). The colour of the white shaft was measured with a CR-200 Minolta Chroma Meter (Minolta, INC., Tokyo, Japan). Colour was measured using CIE L*, a*, b* coordinates with illuminant D65 which approximates to daylight and 10° observer angle. L* defines the lightness, and a* and b* define the red-greenness and blue-

yellowness, respectively. These values were used to calculate the browning index (BI) described by Liu et al. (2016):

$$BI = \frac{100(x - 0.31)}{0.172}$$

where $x = (a^* + 1.75 \times L^*) / (5.645 \times L^*) + (a^* - (3.012 \times b^*))$.

2.6 Fresh weight loss

Weight of individual fresh-cut *calçots* was recorded at each sampling date. Fresh weight loss (FWL) was calculated as Son et al. (2015) described.

2.7 Firmness

To assess changes on texture, firmness (N) was measured as previously described by Zudaire et al. (2017). A total number of eight samples were evaluated per replicate and sampling date.

2.8 Microbiological quality

The microbial quality of fresh-cut *calçots* was analysed as described by Alegre et al. (2011) and Colás-Medà et al. (2016). The results were represented as log colony forming units (cfu) per gram basis on fresh weight. Three determinations (in three bags) were performed per each replicate at each sampling date.

2.9 Statistical analysis

Results were expressed as mean \pm standard deviation. All data was firstly evaluated for normality (Shapiro-Wilk W Test) and homogeneity of variance (Levene's Test) of residues. Significant differences between results were calculated by using one-way analysis of variance (ANOVA). In case of non-normality or unequal variances the non-parametric equivalents (Wilcoxon/Kruskal-Wallis Tests) were used. Differences were considered to be significant at $P < 0.05$ (95 % confidence level). In case of significant differences, multiple comparison of means was established with the Post Hoc Tukey-Kramer HSD or Student's test. All statistical analyses were performed with JMP 8 software (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

3. Results and discussion

3.1 Changes of gas composition within the packages

Fresh-cut vegetables are living tissues, and consequently O_2 and CO_2 levels continue changing in the package headspace (Bahram-Parvar and Lim, 2018). The headspace gas composition (CO_2 and O_2) of MAP-packaged fresh-cut *calçots* during two postharvest storage times (30 and 60 d) was evaluated (Figure 1). The gas composition in VAC packages was not measured because the film was completely fixed around the samples without free headspace. No significant differences ($P > 0.05$) were observed between the O_2 and CO_2 levels of fresh-cut *calçots* with a previous storage period of 30 or 60 d indicating that postharvest storage time had no influence on the respiration rate of the fresh-cut product. In general, the CO_2 levels in MAP-packaged samples increased to

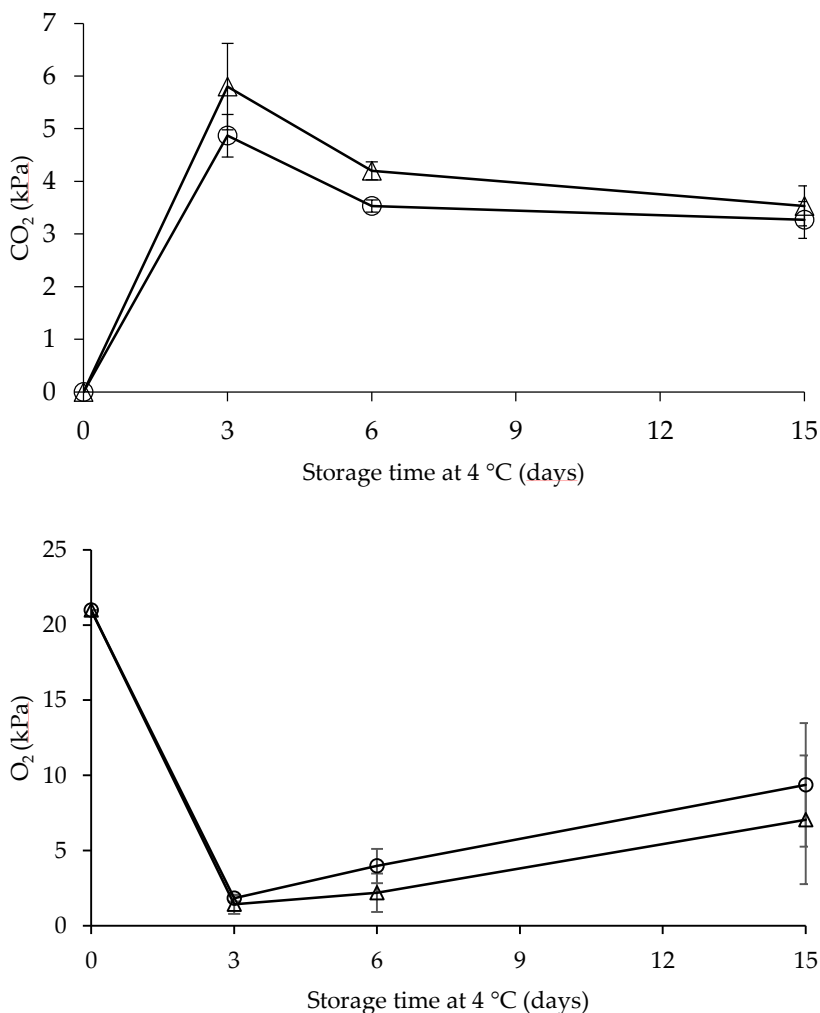


Figure 1. CO₂ and O₂ headspace concentration (kPa) inside fresh-cut calçots trays (passive MAP) throughout storage time at 4 °C and previously stored under CA for 30 d (○) or 60 d (△). The error bars represent the standard deviation with a 95 % of confidence interval.

4.9-5.8 kPa after 3 d of storage, while O₂ levels decreased drastically up to 1.4-1.8 kPa after the same period. This observed respiration increase could be associated with a more active metabolism of samples producing a possible loss of sugars and other soluble substrates (Cantwell and Suslow, 2002). Moreover, the induction of wounding stresses in the cut tissues as a result of mechanical injury led to an increase in the respiration rate (Watada et al., 1996). However, the permeability used for fresh-cut calçots was adapted to the respiration of the product reaching a sustainable equilibrium of gas concentrations after 15 d of storage at 4 °C. The final conditions allowed to avoid the trigger of anaerobic fermentative processes and control browning and firmness decay during storage (Soliva-Fortuny and Martín-Belloso, 2003).

Passive MAP has been proven to effectively control enzymatic browning, firmness and decay during the shelf life of fresh-cut vegetables as long as an appropriate combination of package

dimensions and permeability is adapted to the respiration of the product (Rojas-Graü et al., 2009). Tomás-Callejas et al. (2011) reported that O₂ levels of passive MAP-packaged fresh-cut red chard baby leaves decreased from 20.9 kPa to 15.8 kPa and CO₂ levels increased from 0.03 kPa to 4.8 kPa after 8 d of storage at 5 °C. In concordance, Oliveira et al. (2010) showed that O₂ and CO₂ concentrations of passive MAP-packaged shredded 'Romaine' lettuce decreased until 8.0 kPa and increased until 6.0 kPa after 10 d of storage at 5 °C, respectively.

3.2 Soluble solid content, titratable acidity and pH

Values of SSC, titratable acidity, and pH of fresh-cut *calçots* packaged under MAP or VAC are showed in Figure 2. SSC values increased in samples with a postharvest storage of 30 d and decreased in those stored during 60 d after 15 d at 4 °C (Figure 2A). Moreover, those samples packaged under MAP presented higher SSC values than those packaged under VAC at the same CA storage time (P<0.05). Rocha et al. (2003) reported that SSC values of VAC-packaged 'Desirée' fresh-cut potatoes were maintained after 7 d of storage. Pinela et al. (2016) observed that SSC values of fresh-cut watercress packaged under VAC decreased after 7 d at 4 °C. SSC is usually associated with soluble sugars and small amounts of organic acids, vitamins and proteins (Pinela et al., 2016). Waghmare and Annature (2013) suggested that the increase of SSC might be caused by the solubilisation and synthesis of those sugars.

TA values of fresh-cut *calçots* decreased after 15 d at 4 °C, except for those stored previously under CA for 30 d and after packaged under MAP (Figure 2B). Overall, samples packaged under MAP presented higher TA values than those packaged under VAC at the same CA storage time (P<0.05). TA values were higher in samples stored previously under CA for 60 d than those stored for 30 d due to the initial values (P<0.05). Moreover, this trend could be a response of the long postharvest storage time increasing the respiratory activity and the overall metabolic activities of whole *calçots* (Özden and Bayindirli, 2002). Montero-Calderón et al. (2008) reported that TA values of fresh-cut pineapple packaged under active MAP presented little changes along storage time (20 d) at 5 °C. However, Cefola et al. (2014) showed that the TA values of fresh-cut nectarines packaged under active MAP or AIR decreased after 12 d of storage time at 4 °C.

Calçots, similar to other fresh-cut vegetables, belongs to low-acid foods (pH 5.0-6.0) (Roldán-Marín et al., 2009). Overall, pH values of fresh-cut *calçots* packaged under MAP decreased up to 5.8, whereas under VAC increased up to 7.0 after 15 d of storage at 4 °C (Figure 2C). In both MAP and VAC, pH values were significantly higher (P<0.05) in fresh-cut *calçots* with postharvest storage of 30 d than those stored for 60 d. In general, an inverse relationship was observed between total acidity and pH values of fresh-cut *calçots*. Oliveira et al. (2010) reported that there were no significant effects of passive MAP on pH values of fresh-cut lettuce stored at 5 °C. In concordance, Soliva-Fortuny et al. (2004) related that pH of fresh-cut apples packaged under MAP did not change after 30 d of storage at 4 °C.

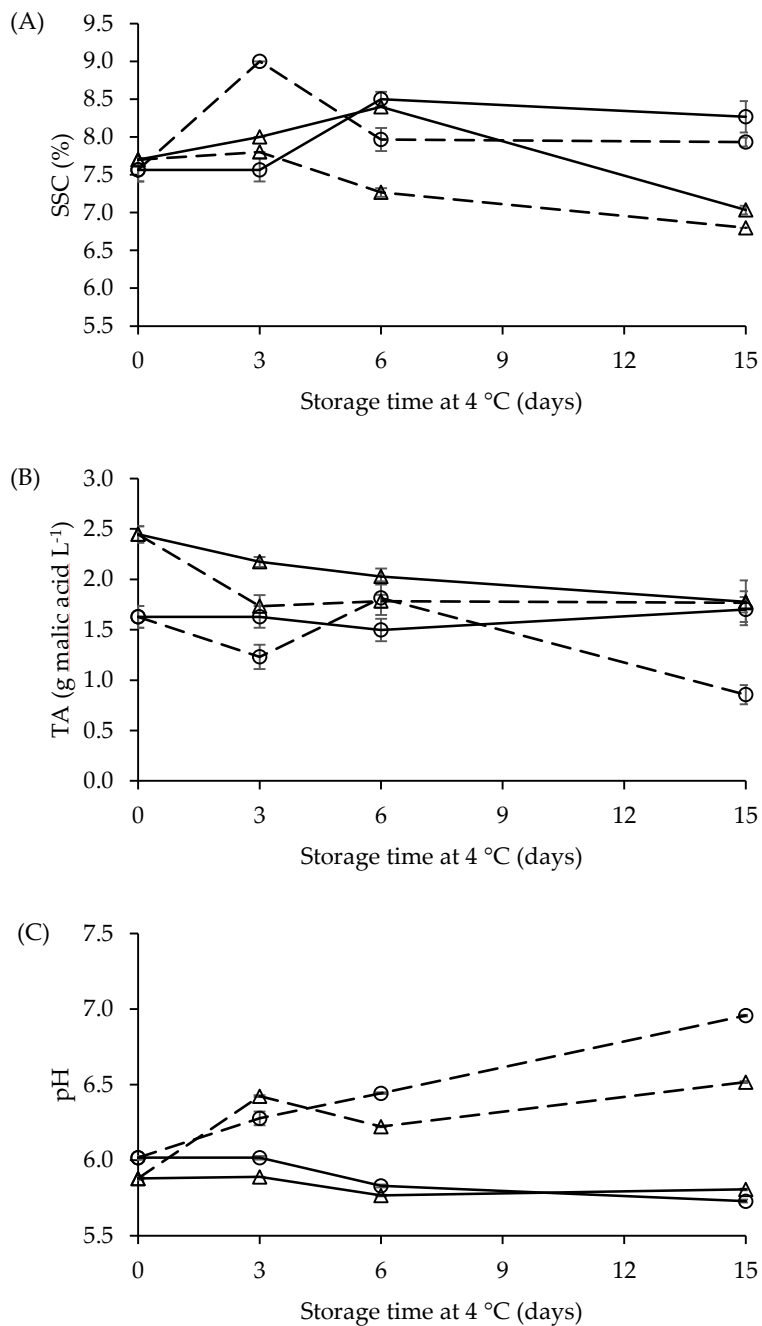


Figure 2. Solid Soluble Content (A), Titratable Acidity (B) and pH (C) of fresh-cut calçots packaged under passive MAP (—) or VAC (- - -) during 15-d storage time at 4 °C and previously stored under CA for 30 d (○) or 60 d (Δ). The error bars represent the standard deviation with a 95 % of confidence interval.

3.3 Colour, firmness and weight loss

Colour is usually the most important parameter used by consumers (Krasaekoopt and Bhandari, 2011; Rico et al., 2007). The effects of different packaging systems on the browning index (BI), firmness and weight loss of fresh-cut *calçots* are shown in Tables 1 and 2. Overall, BI index values increased in fresh-cut *calçots* packaged under MAP and kept constant under VAC packaging conditions with the increase of storage time. BI values of MAP-packaged *calçots* were higher in those previously stored under CA for 60 d than for 30 d due to high initial values ($P < 0.05$). Hong and Kim (2004) reported that colour of fresh-cut bunched onions was not significantly influenced by MAP (active or passive) or VAC. The maintenance of BI in fresh-cut *calçots* packaged under VAC (extremely low O₂ level) could be due to the suppression or the inhibition of enzymatic browning reactions because oxygen is a substrate of those enzymatic reactions (Denoya et al., 2015; Gorny et al., 2002). Denoya et al. (2015) reported that the browning of fresh-cut peaches packed under VAC was maintained after 21 d of refrigerated storage.

Table 1. Changes in browning index, firmness and FWL of fresh-cut *calçots* packaged under passive MAP for 15-d storage period at 4 °C and previously stored in CA for 30 d or 60 d.

CA storage time	Sampling time (d)	Browning Index (BI)	Firmness (N)	FWL (%)
30 d	0	5.49 ± 1.11 Cb	73.37 ± 17.99 Bb	0.00 ± 0.00 Aa
	3	7.83 ± 1.59 Bb	114.95 ± 26.09 Aa	0.00 ± 0.00 Aa
	6	8.18 ± 1.93 Bb	92.23 ± 22.95 ABa	0.00 ± 0.00 Aa
	15	9.47 ± 2.50 Aa	99.58 ± 35.92 ABa	0.00 ± 0.00 Aa
60 d	0	7.74 ± 2.46 Ba	94.06 ± 15.62 Aa	0.00 ± 0.00 Aa
	3	8.97 ± 1.89 ABa	72.33 ± 17.04 Ab	0.00 ± 0.00 Aa
	6	9.17 ± 2.18 Aa	95.73 ± 24.40 Aa	0.00 ± 0.00 Aa
	15	9.27 ± 1.49 Aa	88.41 ± 8.72 Aa	0.07 ± 0.14 Aa

Values are expressed as the mean ± standard deviation. Different capital letters in the same column indicate significant differences between sampling times ($P < 0.05$) for each CA storage time. Different lower case letters indicate significant differences between CA storage times ($P < 0.05$) for each sampling date. FWL: Fresh Weight Loss.

Firmness is another parameter that consumers use to evaluate freshness (Liu and Li, 2006). In general, firmness and FWL of fresh-cut *calçots* under two packaging treatments and postharvest storage times were maintained after 15 d of storage at 4 °C. Those results were in agreement with the visual appearance (data not shown). Two of the major factors involved in the loss of texture are water loss and osmotic changes (Saladié et al., 2007) and hence, FWL could be affected (Bico et al., 2009). However, Hong and Kim (2004) reported that FWL of fresh-cut bunched onions stored under MAP (active or passive) or VAC increased until 1.50-3.0 % along storage at 10 °C for 14 d. Similar results were obtained by González-Aguilar et al. (2004) who reported that texture of fresh-cut peppers decreased continuously along storage time (21 d) in passive MAP or VAC. The maintenance of firmness during storage of VAC samples could be because moist did not dry out due to the absence of air which usually absorbs the moisture from the product (Rocha et al., 2003).

Table 2. Changes in browning index, firmness and FWL of fresh-cut calçots packaged under VAC for 15-d storage period at 4 °C and previously stored in CA for 30 d or 60 d.

CA storage time	Sampling time (d)	Browning Index (BI)	Firmness (N)	FWL (%)
30 d	0	5.49 ± 1.11 Ba	73.37 ± 17.99 Ab	0.00 ± 0.00 Aa
	3	9.10 ± 5.78 Aa	102.32 ± 18.28 Aa	0.00 ± 0.00 Aa
	6	6.22 ± 1.46 Bb	100.44 ± 39.96 Aa	0.00 ± 0.00 Aa
	15	6.16 ± 1.42 Ba	85.04 ± 19.03 Aa	0.00 ± 0.00 Aa
60 d	0	7.74 ± 2.46 ABb	94.06 ± 15.62 Aa	0.00 ± 0.00 Aa
	3	9.05 ± 4.14 Aa	77.36 ± 24.50 Ab	0.07 ± 0.02 Aa
	6	8.49 ± 2.41 ABa	74.68 ± 20.52 Aa	0.00 ± 0.09 Aa
	15	6.76 ± 1.93 Ba	68.15 ± 17.95 Aa	0.05 ± 0.01 Aa

Values are expressed as the mean ± standard deviation. Different capital letters in the same column indicate significant differences between sampling times ($P < 0.05$) for each CA storage time. Different lower case letters indicate significant differences between CA storage times ($P < 0.05$) for each sampling date. FWL: Fresh Weight Loss.

3.4 Microbiological analysis

The overall shelf life of a fresh-cut vegetable is decided by its physical and chemical quality as well as its microbial quality (Vandekinderen et al., 2008). The initial mesophilic aerobic bacteria counts of fresh-cut calçots were 4.5 ± 0.4 and 4.3 ± 0.2 log cfu g⁻¹ for 30 and 60 d, respectively (Figure 3A and 3C). In general, no-significant differences ($P > 0.05$) were observed between the microbial population of fresh-cut samples with a previous postharvest storage of 30 d or 60 d, irrespective of the packaging method applied. Counts were higher in those samples packaged under MAP than under VAC ($P < 0.05$). Hong and Kim (2004) also observed slightly lower microbial populations (around 6 log cfu g⁻¹) in cut bunched onions stored under VAC than in MAP up to 28 d at 10 °C. This trend was directly related with the limitation of O₂ inside the package because low O₂ concentrations could inhibit the growth of the aerobic microbiota (Farber, 1991). Nevertheless, the counts at the end of storage in both MAP- and VAC-packaged samples were kept below 6 log cfu g⁻¹ indicating that the levels of O₂ in the packages were effective in controlling the growth of mesophilic aerobic bacteria. Mesophilic aerobic bacteria counts of all studied fresh-cut calçots not exceeded the recommended limit of 8 log cfu g⁻¹ proposed by CNERNA-CNRS (1996) and the maximum acceptable contamination value at the end of the microbiological shelf life fixed by the French regulation (7.7 log cfu g⁻¹) (Ministere de l'Economic des Finances et du Budget, 1988).

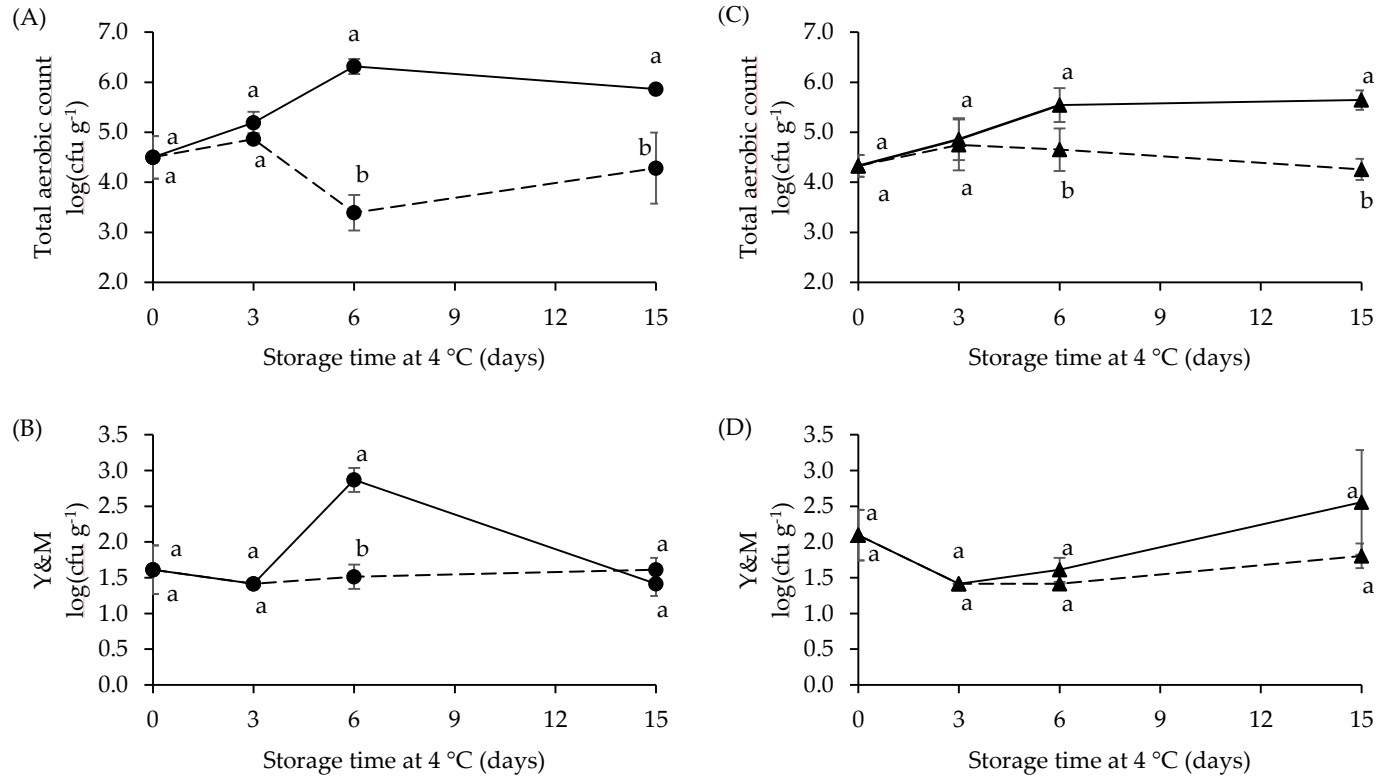


Figure 3. Development of total aerobic counts (A and C) and yeast and mould (B and D) in fresh-cut calçot packaged under passive MAP (—) or VAC (- - -) during 15-d of storage time at 4 °C and previously stored under CA for 30 d (●) and 60 d (▲). Different letters indicate significant differences (P<0.05) between MAP and VAC-packaged samples for each sampling date. The error bars represent the standard deviation with a 95 % of confidence interval.

Regarding the yeast and mould load, the initial counts were 1.6 ± 0.3 and 2.1 ± 0.4 log cfu g⁻¹ for 30 and 60 d, respectively (Figure 3B and 3D). Overall, there were no significant differences ($P > 0.05$) between counts of MAP- and VAC-packaged *calçot* except at day 6 in those with a postharvest storage of 30 d. The population of fresh-cut *calçots* packaged under VAC was maintained along storage time and there were no significant differences ($P > 0.05$) between samples. The highest values (2.55 ± 0.73 log cfu g⁻¹) at the end of the storage were observed in *calçots* packaged under MAP with a postharvest storage of 60 d. It is noteworthy that any of the studied fresh-cut *calçots* presented yeast and mould counts more than 5 log cfu g⁻¹ at the end of the refrigerated storage time, which is the limit proposed by CNERNA-CNRS (1996). González-Aguilar et al. (2004) reported that the most affected microbial growth by storing fresh-cut peppers under passive MAP were yeasts and lactic acid bacteria. However, the MAP created inside the packages did not induce any increase of acetaldehyde and ethanol which are usually originated by anaerobic respiration.

4. Conclusions

Packaged fresh-cut *calçots* is a new product that could satisfy the consumer's ready-to-eat demands. The physicochemical and microbiological quality of fresh-cut *calçots* after packaging under passive modified atmosphere or vacuum were evaluated. Overall, titratable acidity and BI values were higher and SSC and pH values were lower in fresh-cut *calçots* previously stored under CA for 60 d than 30 d. The mesophilic population of fresh-cut *calçots* packaged under both passive modified atmosphere and vacuum packaging was lower than the maximum acceptable contamination value after 15 d of storage at 4 °C. Fresh-cut *calçots* packaged under vacuum presented better retention of quality attributes than those packaged under passive modified atmosphere packaging. Hence, the most suitable conservation strategy could be to store whole *calçots* under CA (1.0 kPa O₂ + 2.0 kPa CO₂) for 30 d and after minimally processing, packaged under vacuum in order to extend the shelf-life maintaining physicochemical and microbiological quality.

Acknowledgments

This work was supported by ACCIÓ (Generalitat of Catalonia, RD14-1-004), Sociedad Agrícola i Secció de Crèdit de Valls S.C.C.L., Cooperativa of Cambrils and PGI 'Calçot de Valls'. This work has been supported by AGAUR (2015-FI-B-00284) and CERCA Programme of Generalitat de Catalunya. Ingrid Aguiló-Aguayo thanks to the 'Ministerio de Economía, Industria y Competitividad' of the Spanish Government for the Postdoctoral Senior Grant 'Ramon y Cajal' (RYC-2016-19949) and T. Lafarga for the *Juan de la Cierva* contract (FJCI-2016-29541). Researchers thank Jorge R Sanchez Gonzalez for his statistical support.

References

- Aguiló-Aguayo, I., Simó, J., Ivars, N., Villaró, S., Zudaire, L., Echeverria, G., Plaza, L., Abadias, M., Viñas, I., 2015. Suitability of the 'calçots' (*Allium cepa* L.) for minimal processing, in: 2nd Euro-Mediterranean Symposium on Fruit and Vegetable Processing. Avignon, France.
- Alegre, I., Viñas, I., Usall, J., Anguera, M., Abadias, M., 2011. Microbiological and physicochemical quality of fresh-cut apple enriched with the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG. Food Microbiol. 28, 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.08.006>
- Artés, F., Allende, A., 2014. Minimal processing of fresh fruit, vegetables, and juices. Emerg. Technol. Food Process. 583–597. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411479-1.00031-0>
- Bahram-Parvar, M., Lim, L.-T., 2018. Fresh-cut onion: A review on processing, health benefits, and shelf-life. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 0. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12331>
- Bico, S.L.S., Raposo, M.F.J., Morais, R.M.S.C., Morais, A.M.M.B., 2009. Combined effects of chemical dip and/or carrageenan coating and/or controlled atmosphere on quality of fresh-cut banana. Food Control 20, 508–514. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.07.017>
- Cantwell, M.L., Suslow, T.V., 2002. Postharvest handling systems: Fresh-cut fruits and vegetables, in: Kader, A.A. (Ed.), Postharvest Technology of Horticultural Crops. University of California, Agriculture and Natural Resources Publication, Richmond, pp. 445–465.
- Cefola, M., Pace, B., Sergio, L., Baruzzi, F., Gatto, M.A., Carito, A., Linsalata, V., Cascarano, N.A., Di Venere, D., 2014. Postharvest performance of fresh-cut 'Big Top' nectarine as affected by dipping in chemical preservatives and packaging in modified atmosphere. Int. J. Food Sci. Technol. 49, 1184–1195. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12415>
- CNERNA-CNRS, 1996. Produits de la IV gamme, in: Jouve, J. (Ed.), La Qualité Microbiologique Des Aliments (Maîtrise et Critères). Polytechnica, Paris, pp. 73–98.
- Colás-Medà, P., Abadias, M., Altisent, R., Alegre, I., Plaza, L., Gilibert, V., Lacombe, R., Viñas, I., 2016. Development of a fresh-cut product based on pears and the subsequent evaluation of its shelf life under commercial conditions and after a cold chain break. J. Food Nutr. Res. 4, 582–591. <https://doi.org/10.12691/jfnr-4-9-4>
- D.A.R.P., 2009. ORDRE AAR/414/2009, de 21 de setembre, per la qual s'aprova el Reglament de la Indicació Geogràfica Protegida Calçot de Valls. http://portaljuridic.gencat.cat/ca/pjur_ocults/pjur_resultats_fitxa/?documentId=503886&language=ca_ES&action=fitxa
- Denoya, G.I., Vaudagna, S.R., Polenta, G., 2015. Effect of high pressure processing and vacuum packaging on the preservation of fresh-cut peaches. LWT - Food Sci. Technol. 62, 801–806. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.09.036>
- Farber, J.M., 1991. Microbiological Aspects of Modified-Atmosphere Packaging Technology - A Review. J. Food Prot. 54, 58–70. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-54.1.58>
- González-Aguilar, G.A., Ayala-Zavala, J.F., Ruiz-Cruz, S., Acedo-Félix, E., Díaz-Cinco, M.E., 2004. Effect of temperature and modified atmosphere packaging on overall quality of fresh-cut bell peppers. LWT - Food Sci. Technol. 37, 817–826. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.03.007>

- Gorny, J.R., Hess-Pierce, B., Cifuentes, R.A., Kader, A.A., 2002. Quality changes in fresh-cut pear slices as affected by controlled atmospheres and chemical preservatives. *Postharvest Biol. Technol.* 24, 271–278. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(01\)00139-9](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(01)00139-9)
- Heard, G., 2002. Microbiology of fresh-cut produce, in: Lamikanra, O. (Ed.), *Fresh-Cut Fruits and Vegetables: Science, Technology, and Market*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 187–248.
- Helland, H.S., Leufvén, A., Bengtsson, G.B., Skaret, J., Lea, P., Wold, A.B., 2016. Storage of fresh-cut swede and turnip in modified atmosphere: Effects on vitamin C, sugars, glucosinolates and sensory attributes. *Postharvest Biol. Technol.* 111, 150–160. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.07.028>
- Hodges, D.M., Toivonen, P.M.A., 2008. Quality of fresh-cut fruits and vegetables as affected by exposure to abiotic stress. *Postharvest Biol. Technol.* 48, 155–162. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.10.016>
- Hong, S.I., Kim, D., 2004. The effect of packaging treatment on the storage quality of minimally processed bunched onions. *Int. J. Food Sci. Technol.* 39, 1033–1041. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.00885.x>
- Iglesias, M.B., Echeverría, G., Viñas, I., López, M.L., Abadias, M., 2018. Biopreservation of fresh-cut pear using *Lactobacillus rhamnosus* GG and effect on quality and volatile compounds. *LWT - Food Sci. Technol.* 87, 581–588. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.025>
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B., 2011. Fresh-cut vegetables, in: Sinha, N., Hui, Y., Siddiq, M., Ahmed, J. (Eds.), *Handbook of Vegetables and Vegetable Processing*. John Wiley & Sons Ltd publication, Iowa, pp. 221–243.
- Lee, H.H., Hong, S.I., Kim, D., 2011. Microbiological and visual quality of fresh-cut cabbage as affected by packaging treatments. *Food Sci. Biotechnol.* 20, 229–235. <https://doi.org/10.1007/s10068-011-0031-8>
- Liu, C., Ma, T., Hu, W., Tian, M., Sun, L., 2016. Effects of aqueous ozone treatments on microbial load reduction and shelf life extension of fresh-cut apple. *Int. J. Food Sci. Technol.* 51, 1099–1109. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13078>
- Liu, F., Li, Y., 2006. Storage characteristics and relationships between microbial growth parameters and shelf life of MAP sliced onions. *Postharvest Biol. Technol.* 40, 262–268. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.01.012>
- Martínez, J.A., Sgroppo, S., Ancos, B. De, Cano, M.P., 2005. Effects of Processing and Storage of Fresh-Cut Onion on Quercetin. *Acta Hort.* 682, 1889–1894.
- Ministere de l'Economic des Finances et du Budget, 1988. *Marché consommation, produits vegetaus prêts à l'emploi dits de la 'l'Vemme gamme': guide de bonnes pratique hygiéniques*. J. Off. la République Française 1–29.
- Mir, N., Beaudry, R.M., 2016. Modified atmosphere packaging, in: Gross, K.C., Wang, C., Saltveit, M.E. (Eds.), *The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks*. Agricultural Research Service. USDA., Beltsville, MD, pp. 42–53.
- Montero-Calderón, M., Rojas-Graü, M.A., Martín-Belloso, O., 2008. Effect of packaging conditions

- on quality and shelf-life of fresh-cut pineapple (*Ananas comosus*). *Postharvest Biol. Technol.* 50, 182–189. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.03.014>
- Oliveira, M., Abadias, M., Usall, J., Torres, R., Teixidó, N., Viñas, I., 2015. Application of modified atmosphere packaging as a safety approach to fresh-cut fruits and vegetables - A review. *Trends Food Sci. Technol.* 46, 13–26. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.07.017>
- Oliveira, M., Usall, J., Solsona, C., Alegre, I., Viñas, I., Abadias, M., 2010. Effects of packaging type and storage temperature on the growth of foodborne pathogens on shredded 'Romaine' lettuce. *Food Microbiol.* 27, 375–380. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.11.014>
- Özden, Ç., Bayindirli, L., 2002. Effects of combinational use of controlled atmosphere, cold storage and edible coating applications on shelf life and quality attributes of green peppers. *Eur. Food Res. Technol.* 214, 320–326. <https://doi.org/10.1007/s00217-001-0448-z>
- Pailart, M.J.M., van der Vossen, J.M.B.M., Levin, E., Lommen, E., Otma, E.C., Snels, J.C.M.A., Woltering, E.J., 2017. Bacterial population dynamics and sensorial quality loss in modified atmosphere packed fresh-cut iceberg lettuce. *Postharvest Biol. Technol.* 124, 91–99. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.10.008>
- Pérez-Gregorio, M.R., García-Falcón, M.S., Simal-Gándara, J., 2011. Flavonoids changes in fresh-cut onions during storage in different packaging systems. *Food Chem.* 124, 652–658. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.090>
- Pinela, J., Barreira, J.C.M., Barros, L., Antonio, A.L., Carvalho, A.M., Oliveira, M.B.P.P., Ferreira, I.C.F.R., 2016. Postharvest quality changes in fresh-cut watercress stored under conventional and inert gas-enriched modified atmosphere packaging. *Postharvest Biol. Technol.* 112, 55–63. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.10.004>
- Rico, D., Martín-Diana, A.B., Barat, J.M., Barry-Ryan, C., 2007. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. *Trends Food Sci. Technol.* 18, 373–386. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.03.011>
- Rocha, A., Coulon, E., Morais, A., 2003. Effects of vacuum packaging on the physical quality of minimally processed potatoes. *Food Serv. Technol.* 3, 81–88. <https://doi.org/10.1046/j.1471-5740.2003.00068.x>
- Rojas-Graü, M.A., Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O., 2009. The use of packaging techniques to maintain freshness in fresh-cut fruits and vegetables: A review. *Int. J. Food Sci. Technol.* 44, 875–889. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.01911.x>
- Roldán-Marín, E., Sánchez-Moreno, C., Lloria, R., de Ancos, B., Cano, M.P., 2009. Onion high-pressure processing: Flavonol content and antioxidant activity. *LWT - Food Sci. Technol.* 42, 835–841. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.11.013>
- Saladié, M., Matas, A.J., Isaacson, T., Jenks, M.A., Goodwin, S.M., Niklas, K.J., Xiaolin, R., Labavitch, J.M., Shackel, K.A., Fernie, A.R., Lytovchenko, A., O'Neill, M.A., Watkins, C.B., Rose, J.K.C., 2007. A Reevaluation of the Key Factors That Influence Tomato Fruit Softening and Integrity. *Plant Physiol.* 144, 1012–1028. <https://doi.org/10.1104/pp.107.097477>
- Sandhya, 2010. Modified atmosphere packaging of fresh produce: Current status and future needs. *LWT - Food Sci. Technol.* 43, 381–392. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.05.018>

- Simó, J., Valero, J., Plans, M., Romero del Castillo, R., Casañas, F., 2013. Breeding onions (*Allium cepa* L.) for consumption as 'calçots' (second-year resprouts). *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 152, 74–79. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.01.011>
- Soliva-Fortuny, R.C., Elez-Martínez, P., Martín-Belloso, O., 2004. Microbiological and biochemical stability of fresh-cut apples preserved by modified atmosphere packaging. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 5, 215–224. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2003.11.004>
- Soliva-Fortuny, R.C., Martín-Belloso, O., 2003. New advances in extending the shelf-life of fresh-cut fruits: A review. *Trends Food Sci. Technol.* 14, 341–353. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(03\)00054-2](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(03)00054-2)
- Son, J., Hyun, J.E., Lee, J.W., Lee, S.Y., Moon, B., 2015. Combined application of antibrowning, heat treatment and modified-atmosphere packaging to extend the shelf life of fresh-cut lotus root. *J. Food Sci.* 80, C1178–C1187. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12894>
- Sothornvit, R., Kiatchanapaibul, P., 2009. Quality and shelf-life of washed fresh-cut asparagus in modified atmosphere packaging. *LWT - Food Sci. Technol.* 42, 1484–1490. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.05.012>
- Tomás-Callejas, A., Boluda, M., Robles, P.A., Artés, F., Artés-Hernández, F., 2011. Innovative active modified atmosphere packaging improves overall quality of fresh-cut red chard baby leaves. *LWT - Food Sci. Technol.* 44, 1422–1428. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.01.020>
- UFPA, 2001. Fresh-cut produce: get the facts! www.fresh-cut.org (accessed 7.2.18).
- Vandekinderen, I., Devlieghere, F., De Meulenaer, B., Veramme, K., Ragaert, P., Van Camp, J., 2008. Impact of decontamination agents and a packaging delay on the respiration rate of fresh-cut produce. *Postharvest Biol. Technol.* 49, 277–282. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.01.011>
- Waghmare, R.B., Annapure, U.S., 2013. Combined effect of chemical treatment and/or modified atmosphere packaging (MAP) on quality of fresh-cut papaya. *Postharvest Biol. Technol.* 85, 147–153. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.05.010>
- Watada, A.E., Ko, N.P., Minott, D.A., 1996. Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products 9, 115–125.
- Zhang, M., Meng, X., Bhandari, B., Fang, Z., Chen, H., 2014. Recent application of modified atmosphere packaging (MAP) in fresh and fresh-cut foods. *Food Rev. Int.* 31, 172–193. <https://doi.org/10.1080/87559129.2014.981826>
- Zudaire, L., Viñas, I., Abadias, M., Simó, J., Echeverria, G., Plaza, L., Aguiló-Aguayo, I., 2017. Quality and bioaccessibility of total phenols and antioxidant activity of *calçots* (*Allium cepa* L.) stored under controlled atmosphere conditions. *Postharvest Biol. Technol.* 129, 118–128. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.03.013>

CAPÍTULO 7

Efficacy of chlorine, peroxyacetic acid and mild-heat treatment on the reduction of natural microflora and maintenance of quality of fresh-cut *calçots* (*Allium cepa* L.)

L. Zudaire, I. Viñas, M. Abadías, J. Simó, I. Aguiló-Aguayo

LWT-Food Science and Technology 95 (2018) 339-345

ABSTRACT

Calçots are the immature floral stems of the second-year onion (*Allium cepa* L.) resprouts with economic importance in Spain. The effect of sodium hypochlorite, peroxyacetic acid and mild heat treatment on the microbiological, physicochemical and visual quality of *calçots* after disinfection and for 15-day storage period at 4 °C was studied. Previous minimal processing operations for the disinfection helped to reduce the population of aerobic mesophilic bacteria and yeast and moulds compared to the harvest product. *Calçots* subjected to a mild-heat treatment (55 °C for 60 s) presented the highest reduction of aerobic mesophilic bacteria. Despite being mildly thermally-treated they showed higher fresh weight loss (around 3 %) than the rest of the disinfected *calçots* during storage and they obtained the highest quality visual scores after 15 days of storage with a good acceptance of the product. Microbial reductions obtained after peroxyacetic acid treatment were in the same range as those obtained after the sodium hypochlorite treatment. In addition, the quality of both treated samples was maintained with no differences during refrigerated storage. The results indicate that mild-heat or peroxyacetic acid decontamination treatments resulted in a good strategy for obtaining a clean and high quality fresh-cut *calçot* product.

Keywords: minimally processed; disinfection; thermal; peroxyacetic acid; *Allium*

1. Introduction

Calçots (*Allium cepa* L.) are the immature floral stems of second-year onion resprouts of the 'Ceba Blanca Tardana de Lleida' (BTL) onion landrace with an economic importance in Catalonia (northeast Spain). They usually consumed as grilled or roasted. The singularity of the production of this product has helped confer protected status from the European Union and 'Calçot de Valls' has been awarded Protected Geographical Indication (PGI) (EC No 905/2002) (Simó et al., 2013). The demand and interest in *calçots* worldwide has motivated the food industry to explore postharvest techniques such as minimal processing, thus maintaining their nutritional and organoleptic characteristics and extending shelf-life.

Minimal processing is a critical step where the contamination probability and subsequent survival of microorganisms is very high (Vandekinderen et al., 2009c). Decontamination agents such as sodium hypochlorite and peroxyacetic acid could be added to the wash water to reduce the microbial load of fresh-cut *calçot* without affecting sensorial and nutritional quality. However, the minimally processed vegetables of *Allium* genus have an additional problem called 'telescoping' which is an extension growth of the white inner leaf bases and it can be avoided by the heat treatment, for example, in green onions (Cantwell et al., 2001; Hong et al., 2000) or leek (Tsouvaltzis et al., 2013). In addition, it is generally accepted that an ideal sanitizing agent should have two important properties: a sufficient level of antimicrobial activity and a negligible effect on the sensory quality of the product (Allende et al., 2008).

Chlorine (Cl_2), or hypochlorite (OCl^-) in solution, are the most commonly employed aqueous sanitizers in the food industry and for drinking water disinfection due to their efficacy against pathogens. For commercial disinfection purposes, chlorine gas, sodium hypochlorite (NaOCl) solutions, or calcium hypochlorite ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$) are used to make aqueous hypochlorite solutions (Feliziani et al., 2016). However, the increasing public health concerns about the possible formation of chlorinated organic compounds and the emergence of new and more tolerant pathogens, have raised doubts in relation to the use of chlorine by the fresh-cut industry (Allende et al., 2008). Chlorate is formed as a by-product when using chlorine, chlorine dioxide or hypochlorite for disinfection purposes in food production. In the European Union, the washing of plant-derived food with chlorine disinfected water can be permitted under national regulations (EFSA, 2015). Taking into account these concerns, new chemical-based and physical-based disinfection methods are being investigated with the objective of ensuring the production of safe products.

Among commercial alternatives to chlorine, peroxyacetic or peracetic acid (PAA) is effective in killing pathogenic microorganisms in suspension at lower concentrations than would be required with chlorine (Ölmez and Kretzschmar, 2009). PAA is gaining an increase in interest with the claim that only harmless disinfection by-products have been identified thus far, such as acetic acid, water and oxygen that are formed from its spontaneous decomposition (Ölmez and Kretzschmar, 2009). However, PAA is a strong oxidant which could oxidized/affected the phytochemicals, nutritional compounds, as well as quality parameters of fruit and vegetables (Van de Velde et al., 2016). For example, Van de Velde et al. (2013) reported that disinfection with PAA at 80 mg L^{-1} for 120 s produced a reduction of approximately 30 % on the total content of anthocyanins, ascorbic acid and vitamin C of fresh-cut strawberries. Moreover, PAA could be able to interfere with activity of enzymes related to the colour changes, such as polyphenol oxidase (Silveira et al., 2008). However, in a study carried out with fresh-cut melon the disinfection with PAA had no effect on the physicochemical and sensorial quality (Botondi et al., 2016). On the other hand, mild heat treatment (MHT) is a thermal process that might reduce microbial load based on the use of water at temperatures between 45 and 60 °C, for durations ranging from a few seconds to 20 min. This

technique is completely safe for humans and the environment (being residue-free and environmentally friendly) and of feasible use without registration rules. Hot water immersion treatment (HWT) is usually applied by a complete submersion or in the form of hot water rinsing and brushing (HWRB) in decay control (Usall et al., 2016).

In this study, the effect of conventional and alternative decontamination techniques on the native microbial load of fresh-cut *calçot* were studied. In order to estimate the effect of decontamination on the quality of *calçots*, visual quality, weight loss, colour, firmness, pH, soluble solids and acidity were also studied.

2. Material and methods

2.1 Plant material

Calçots (*Allium cepa* L.) were provided by the 'Cooperativa Agrícola Valls' (Tarragona, Spain) at commercial size. The *calçots* had the European quality label PGI 'Calçot de Valls' establishing that their diameter must be between 1.7 and 2.5 cm and the white shaft between 15-25 cm (D.A.R.P., 2009). They were cultivated in northeast Spain (41°13'47''N, 01°13'12''E), during the crop growing season of 2014 and 2015. In August 2014, the bulbs of 'Blanca Tardana de Lleida' onion were transplanted at a density of 8,000 plants per ha. The resprouts arising in the autumn were covered with soil three times to increase the length of the edible white part. The plants were manually harvested in February.

The minimal processing was carried out by a first manual step, including the cut of 4 cm over the last ligula of the *calçot* (white leaf which covered green leaves), the elimination of the first layer of sheath which contained the greatest amount of soil and the cut of the roots.

2.2 Decontamination: equipment, experimental set-up and procedures

The batch of 365 units of minimally processed *calçots* were divided into 4 batches for 4 different disinfection treatments: (1) control (no disinfection), (2) 100 mg L⁻¹ sodium hypochlorite (10 % [w/v], Panreac, Barcelona, Spain), (3) 80 mg L⁻¹ peroxyacetic acid (39 %, Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) and (4) mild heat treatment (MHT) at 55 °C. At each disinfection treatment, minimally processed *calçots* were immersed in 10 L disinfectant solution at room temperature under continuous agitation for 60 s. For all washing solutions, pH and oxidation reduction potential (ORP) or REDOX were determined before and after the *calçot* treatment (Table 1). Free chlorine was determined using a free and total chlorine photometer (HI 93734, Hanna Instruments, Eibar, Spain). ORP and pH were determined using a pH/ion/conductivity meter (Model GLP-22, Crison), with a pH electrode (Crison, 52-01) or an ORP electrode (Crison, platinum Ag/AgCl electrode 52-61), respectively. In addition, the microbial load of each washing solution after treatment was evaluated. To carry out such determinations, 1 mL of each washing solution was added to 9 mL of Dey-Engley neutralizing broth (Fluka, Sigma-Aldrich, St. Louis, US) and plated as described below. Afterwards, only samples treated with sodium hypochlorite were rinsed with water for 1 min. All samples were centrifuged at 210 rpm in centrifuge (Marrodán, Navarra, Spain) for 95 s, packaged in polystyrene trays with retractable film and stored at 4 °C for 15 d. The microbiological and quality determinations were carried out at the beginning of the experiment, after the treatments and after 3, 6, 9 and 15 d of shelf-life at 4 °C.

Table 1. Determination of pH, ORP (mV) and free Cl or PAA concentration of tested disinfectant water solutions before and after disinfection (60 s).

Treatment	pH		ORP (mV)		Free chlorine/PAA (mg L ⁻¹)	
	BT	AT	BT	AT	BT	AT
NaOCl 100 mg L ⁻¹	6.61	6.20	916	899	111.0	64.0
PAA 80 mg L ⁻¹	3.48	3.44	646	621	79.8	72.2

ORP: oxidation-reduction potential. BT: Before treatment; AT: After treatment.

2.3 Enumeration of bacterial concentration on *calçots*

The enumeration of mesophilic microorganisms and yeast and moulds was performed in the manner described by Alegre et al. (2011). Briefly, 10 g of the edible part of *calçots* were diluted in 90 g of buffered peptone water (BPW, Oxoid LTD, Basingstoke, Hampshire, England) in a sterile bag and homogenized in a masticator (IUL Masticator Basic 400 ml, IUL Instruments, Barcelona, Spain) for 90 s. Further ten-fold dilutions were made with saline peptone (SP; 8.5 g L⁻¹ NaCl and 1 g L⁻¹ peptone) and plated in duplicate in Plate Count Agar (PCA, Biokar Diagnostics, Beauvais, France) and in Dichloran Rose Bengale Chloramphenicol Agar (DRBC, Biokar Diagnostics, Beauvais, France) and incubated at 30 ± 1 °C or 25 ± 1 °C for 3 and 5 days, respectively). Three determinations (in three trays) were performed at each sampling time. The results were represented in log₁₀ cfu g⁻¹.

2.4 pH, soluble solids content and titratable acidity

pH, soluble solids content (SSC) and titratable acidity (TA) were measured in the juice extracted by crushing *calçots* pieces in a blender. pH was determined using a penetration electrode in a pH-meter model GLP22 (Crison Instruments SA, Barcelona, Spain). Soluble solids were measured at 20 °C with a hand-held refractometer (Atago Co. Ltd., Tokyo, Japan) and the results were expressed as °Brix. To measure titratable acidity, 10 mL of *calçots* juice was diluted with 10 mL distilled water and it was titrated with 0.1 mol L⁻¹ NaOH (Panreac, Barcelona, Spain) up to pH 8.2. Results of titratable acidity were expressed as g of malic acid L⁻¹. Three determinations were performed per each treatment at each sampling time.

2.5 Fresh weight loss

The fresh weight of *calçots* was recorded in 15 samples that were randomly selected from each treatment at each period of storage. Data were expressed as percentage of fresh weight loss (FWL).

2.6 Firmness

To assess changes in texture, firmness (N) was measured at 5 cm from the roots set in transversal position using the TA.TX2 Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, England) attached with a Warner-Blatzler blade (HDP/BSK: Blade set with knife). The sample was placed into the press holder, and then the blade was moved downwards at different rates: pre-test rate: 5 mm s⁻¹; test rate: 1 mm s⁻¹; post-test rate: 10 mm s⁻¹ to 60 mm below the bottom of the holder. Data acquisition rate was 200 pulses per sec. Eight individual and randomly chosen *calçots* per treatment at each sampling time were evaluated.

2.7 Colour

The colour of the white shaft was measured with a CR-200 Minolta Chroma Meter (Minolta, INC., Tokyo, Japan). Colour was measured using CIE L*, a*, b* coordinates with illuminant D65 and 10° observer angle. L* defines the lightness, and a* and b* define the red-greenness and blue-yellowness, respectively. Measurements were made in 17 randomly selected *calçots* per treatment and sampling time. CIE L* (lightness), a* (red-green) and b* (yellow-blue) parameters were measured through reflectance values. These values were used to calculate the browning index (BI) (Eq. (1)) and Total Colour Difference (TCD) (Eq. (2)). Changes in BI parameter have previously been shown to be effective in monitoring browning of fresh-cut apples (Liu et al., 2016):

$$BI = \frac{100(x-0.31)}{0.172} \quad (1)$$

where $x = (a^* + 1.75 \times L^*) / (5.645 \times L^*) + (a^* - (3.012 \times b^*))$.

TCD was calculated in accordance with Martín-Diana et al. (2007):

$$TCD = [(L_f^* - L_i^*)^2 + (a_f^* - a_i^*)^2 + (b_f^* - b_i^*)^2]^{1/2} \quad (2)$$

where i = initial (without disinfection) and f = final.

2.8 Assessment of overall visual quality

The assessment was carried out in the manner described by Altisent et al. (2014). The visual quality was determined by an untrained panel based on the following hedonic scale: 9 = excellent; 7 = very good; 5 = good, limit of marketability; 3 = fair, limit of usability; and 1 = poor, inedible.

2.9 Statistical analysis

Results were expressed as mean ± standard deviation. Significant differences between results were calculated by using one-way analysis of variance (ANOVA). Differences were considered to be significant at $P < 0.05$ (95 % confidence level). Significance of differences between means was determined by using Tukey's test and Student's *t*-test. All statistical analyses were performed with JMP 8 software (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

3. Results and discussion

3.1 Effect of decontamination treatments on microbial load

3.1.1 Effectiveness of sanitizers after decontamination

Reductions of microbial populations on fresh-cut *calçots* before and after washing are shown in Fig. 1. Mesophilic population of fresh harvested *calçots* ($7.33 \pm 0.19 \log_{10} \text{ cfu g}^{-1}$) significantly decreased after the minimal processing operation (control) which included cutting and peeling operations. Hence, pre-processing steps helped to reduce natural microflora present in harvest *calçots* (Fig. 1A). Moreover, disinfection treatments also reduced mesophilic population and that reduction was more drastic with MHT (1.7-log units with regard to the control and 3.0-log units with regard to the harvested sample). Stringer et al. (2007) report that hot water washing (52 °C, 90 s) reduced the initial population of aerobic mesophylls by $< 1.2 \log \text{ cfu g}^{-1}$ on broccoli and green beans.

No significant differences ($P > 0.05$) on the mesophilic counts obtained in *calçots* disinfected by 100 mg L⁻¹ NaOCl or 80 mg L⁻¹ PAA treatments were observed, reducing 2.3-log units with regard to harvested sample and 0.8-log units with regard to control. According to other studies, the effectiveness of PAA is dependent on the type of the vegetable product. Vandekinderen et al. (2009c) observed a reduction of 1-log units of natural microbiota (between 5.58 and 7.29 log cfu g⁻¹) after washing fresh-cut leeks (*Allium porrum* L.) with 80 mg L⁻¹ PAA for 60 s. Dai et al. (2012) showed that the population of total aerobic bacteria of fresh-cut Chinese chives significantly decreased after disinfected with 150 mg L⁻¹ PAA for 2 min or 100 mg L⁻¹ PAA for 5 min (2.16-log units and 2.20-log units, respectively). Van de Velde et al. (2014) reported that total microbial count of fresh-cut strawberries decreased 2.6-log units of initial microbiota after disinfecting with 100 mg L⁻¹ PAA for 120 s (40 °C).

PAA is known to be an oxidising agent that is in general effective against a wide spectrum of microorganisms (Kyanko et al., 2010). PAA disinfects by oxidizing of the outer cell membrane of bacteria, yeast and moulds, and that oxidation consist on the transfer of electrons (Joshi et al., 2013). It has been suggested that PAA acts primarily on lipoproteins in the cell membrane, and could be equally effective against outer-membrane lipoproteins, facilitating its action against Gram-negative cells (Botondi et al., 2016). The action on the membranes could be due different mechanisms: (1) Denaturation of proteins and enzymes and the increase of cell wall permeability by oxidizing sulphhydryl and disulphide bonds; (2) Disruption of cell membranes and the blockage of enzymatic and transport systems in microorganisms. PAA could also damage DNA and lipids through the production of reactive oxygen species (Vandekinderen et al., 2009a).

The population of yeast and moulds (Fig. 1B) of fresh harvested *calçots* ($3.94 \pm 0.31 \log_{10} \text{ cfu g}^{-1}$) decreased after minimal processing and after washing with all tested decontamination treatments. There were no significant differences ($P > 0.05$) between disinfection treatments, achieving reductions of around 0.8-log units with respect to the control and about 2.5-log units with respect to the harvested sample. Stringer et al. (2007) observed that hot water washing (52 °C, 90 s) reduced the initial yeast population (2.0 log cfu g⁻¹) and mould population (1.1 log cfu g⁻¹) on broccoli. Similar results were obtained in the study carried out by López-Gálvez et al. (2010), where washing with NaOCl (100 mg L⁻¹, 60 s) produced a reduction of 1.2 ± 0.1 -log units on fresh-cut iceberg lettuce (*Lactuca sativa* L.) in contrast to the unwashed lettuce ($3.2 \pm 1.4 \log \text{ cfu g}^{-1}$).

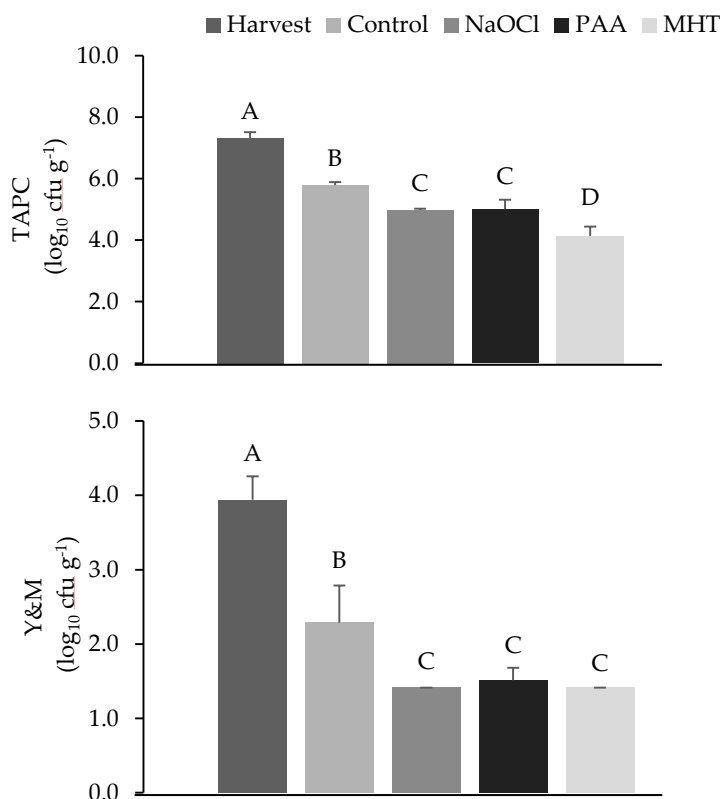


Figure 1. Reductions of total mesophilic aerobic (A) and yeast and moulds (B) of fresh-cut calçots before and after disinfection (60 s). Values are expressed as the mean \pm standard deviation ($n = 3$). Different capital letters indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$). Control: minimally processed calçot; PAA: peroxyacetic acid; MHT: Mild heat treatment.

3.1.2 Effect of sanitizers on microbial stability

Effect of disinfectant treatments on the microbial population of fresh-cut calçot stored for 15 d at 4 °C are shown in Table 2. TAPC was maintained in all samples except samples treated with MHT during the storage time and there were no significant differences between them at the end (15 days). The initial population of MHT-treated samples was lower than other samples. Those results were in agreement with those reported by Kim et al. (2005) where TPAC of fresh-cut green onions (*Allium fistulosum* L.) treated at 50 °C for 20 s increased during the 14-day storage period at 4 °C from 4.2 to 7.5 log cfu g⁻¹.

Furthermore, Silveira et al. (2011) showed that the mesophilic population of fresh-cut 'Galia' melons (*Cucumis melo* var. *cantalupensis* Naud) treated by HWD at 60 °C for 60 s increased after 10 d at 5 °C, from 3.7 to 7.8 log₁₀ cfu g⁻¹. Thermal treatment would disrupt physical barrier membranes liberating nutrients from the cells which facilitated access to nutrients leading to the greater proliferation of microorganisms (Goyeneche et al., 2015). MHT might alter the ability of the vegetable tissue to support growth of microorganism as it can inactivate plant defences and damage cell membranes which may release nutrients (Stringer et al., 2007).

Table 2. Effect of disinfectant treatments (60 s) on the microbial population (total mesophilic aerobic count – TAPC and yeast and moulds count –Y&M) of fresh-cut calçots stored for 15 d at 4 °C.

Parameter	Day	Control	NaOCl 100 mg L ⁻¹	PAA 80 mg L ⁻¹	MHT 55 °C
TAPC (Log ₁₀ [cfu g ⁻¹])	0	5.79 ± 0.10 Aa	4.98 ± 0.04 Ab	5.00 ± 0.32 Ab	4.14 ± 0.30 BCc
	3	4.86 ± 0.47 Aa	4.66 ± 0.90 Aab	4.72 ± 0.19 Aa	3.29 ± 0.37 Cb
	6	5.12 ± 0.07 Aa	4.58 ± 0.89 Aa	4.26 ± 0.35 Aa	4.36 ± 0.36 Ba
	9	5.13 ± 0.05 Aa	4.86 ± 0.40 Aa	4.87 ± 0.19 Aa	4.89 ± 0.47 ABa
	15	4.89 ± 0.50 Aa	5.28 ± 0.90 Aa	4.88 ± 0.49 Aa	5.35 ± 0.18 Aa
Y&M (Log ₁₀ [cfu g ⁻¹])	0	2.29 ± 0.50 Aa	1.41 ± 0.00 Ab	1.51 ± 0.17 Ab	1.41 ± 0.00 Ab
	3	2.26 ± 0.31 Aa	2.07 ± 0.68 Aa	2.11 ± 0.69 Aa	1.51 ± 0.17 Aa
	6	2.40 ± 0.00 Aa	1.61 ± 0.17 Ab	1.51 ± 0.17 Ab	1.41 ± 0.00 Ab
	9	2.02 ± 0.55 Aa	1.41 ± 0.00 Aa	1.67 ± 0.44 Aa	1.41 ± 0.00 Aa
	15	1.61 ± 0.17 Aa	1.41 ± 0.00 Aa	1.61 ± 0.34 Aa	1.71 ± 0.29 Aa

Values are expressed as the mean ± standard deviation (n = 3). Different capital letters in the same column indicate significant differences between storage time (P<0.05) for each disinfectant treatment. Different lower case letters in the same row indicate significant differences between disinfectant treatments (P<0.05) for each storage time. Control: minimally processed calçot; PAA: peroxyacetic acid; MHT: Mild heat treatment.

The populations of yeast and moulds were maintained during storage, regardless of disinfectant treatment applied (Table 2). Moreover, there were no significant differences between samples disinfected with different treatments after 15 days of storage at 4 °C. According to our results, in the study carried out by Silveira et al. (2008) there were no differences between fresh-cut melons treated with 80 mg L⁻¹ PAA or 150 mg L⁻¹ NaOCl for 60 s. However, Page et al. (2016) reported that fresh-cut onions (*Allium cepa* L.) treated with 80 mg L⁻¹ NaOCl had significantly lower mesophilic and yeast and mould counts than those treated with 80 mg L⁻¹ PAA for 120 s throughout storage (14 d).

To the best of our knowledge, there is no previous microbiological study with this crop. *Calçots* are usually eaten roasted but nowadays are being introduced into some fresh salads. Then, the low microbial counts obtained from the experiment demonstrated that *calçots* are suitable to eat as a raw vegetables.

3.2 Effect of decontamination treatments on quality

3.2.1 Soluble solids content, titratable acidity, pH and fresh weight loss

Physicochemical characteristics of *calçots* at harvest are shown in Table 3. Changes in SSC, TA, pH and weight on non-disinfected samples (control) and disinfected samples during 15 d of storage at 4 °C are shown in Table 3. In general, disinfection treatments had no remarkable effect on physicochemical characteristics of *calçots*. Despite the pH of the PAA, where disinfection treatment was around 3.4 before and after washing the *calçots* (Table 1), the acidic pH conditions did not affect their initial quality. These results contrasted with those observed by Vandekinderen et al. (2009b), who reported a reduction by 0.6 pH-units after disinfecting fresh-cut carrots (*Daucus carota* L.) with 80 mg L⁻¹ PAA for 5 min. They suggested that this pH-decrease was caused by the acidic pH of the PAA solutions used for disinfection. In addition, there were no significant differences ($P > 0.05$) between disinfected samples and control after a 15-d storage period at 4 °C with regard to TA (ranging from 1.67 to 2.09 g malic acid L⁻¹). Only values of SSC and pH presented barely detectable statistically significant differences among treatments, being the highest values in the control sample (8.8 °Brix and pH 5.9) after 15 d of storage. In a study carried out with fresh-cut melon the disinfection with 100 mg L⁻¹ Tsumani 100™ solution (composed of 15.2 % peracetic acid and 11.2 % hydrogen peroxide) for 3 min (20 ± 1 °C) had no effect on the SSC (Botondi et al., 2016).

Table 3. Physicochemical characteristics of *calçots* at harvest.

Quality measurements	
SSC (°Brix)	10.03 ± 0.21
TA (g malic acid L ⁻¹)	1.99 ± 0.01
pH	5.92 ± 0.03
Firmness (N)	61.84 ± 10.45
Colour parameters	
L*	80.08 ± 2.69
a*	-0.91 ± 0.46
b*	5.18 ± 1.24

Values are expressed as the mean ± standard deviation.

Table 4. Changes in SSC, TA, pH and weight on non-disinfected samples (control) and disinfected samples during 15 d of storage at 4 °C.

Parameter	Day	Control	NaOCl 100 mg L ⁻¹	PAA 80 mg L ⁻¹	MHT 55 °C
SSC (°Brix)	0	7.8 ± 0.1 Cc	8.2 ± 0.0 Aa	7.9 ± 0.0 Ab	7.1 ± 0.1 Cd
	3	7.7 ± 0.1 CDa	7.2 ± 0.1 Db	7.2 ± 0.2 Bb	7.7 ± 0.2 ABa
	6	8.1 ± 0.1 Ba	6.9 ± 0.1 Ec	7.5 ± 0.1 Bb	7.4 ± 0.0 Bb
	9	7.5 ± 0.1 Da	7.5 ± 0.0 Ca	7.6 ± 0.1 ABa	6.5 ± 0.1 Db
	15	8.8 ± 0.1 Aa	7.7 ± 0.1 Bb	7.3 ± 0.2 Bc	7.8 ± 0.1 Ab
TA (g malic acid L ⁻¹)	0	1.90 ± 0.04 BCa	1.84 ± 0.13 BCa	1.70 ± 0.10 Ca	2.01 ± 0.20 BCa
	3	4.13 ± 0.32 Aa	2.95 ± 0.18 Ab	2.64 ± 0.28 Bb	3.60 ± 0.70 Aab
	6	1.77 ± 0.06 BCb	1.98 ± 0.17 BCab	2.19 ± 0.09 Ba	2.31 ± 0.17 BCa
	9	2.37 ± 0.34 Ba	1.67 ± 0.10 Cb	1.82 ± 0.09 BCb	2.72 ± 0.04 ABa
	15	1.75 ± 0.18 Ca	2.09 ± 0.07 Ba	1.67 ± 0.16 Ca	1.78 ± 0.23 Ca
pH	0	6.0 ± 0.0 Aa	5.9 ± 0.0 Ab	6.0 ± 0.0 Aa	5.8 ± 0.0 Ac
	3	5.7 ± 0.0 Db	5.8 ± 0.0 Ba	5.8 ± 0.0 Ca	5.8 ± 0.0 Aa
	6	5.9 ± 0.0 Ba	5.9 ± 0.0 Aa	5.9 ± 0.0 Ba	5.8 ± 0.0 Ab
	9	5.8 ± 0.0 Ca	5.8 ± 0.0 Ba	5.8 ± 0.0 Ca	5.8 ± 0.0 Aa
	15	5.9 ± 0.0 Ba	5.9 ± 0.0 Aa	5.9 ± 0.0 Ba	5.8 ± 0.0 Ab
FWL (%)	0	0.00 ± 0.00 Ba	0.00 ± 0.00 Ca	0.00 ± 0.00 Ca	0.00 ± 0.00 Aa
	3	0.56 ± 0.40 Ba	0.51 ± 0.75 Ca	0.85 ± 0.21 BCa	3.02 ± 4.85 Aa
	6	0.96 ± 0.75 Ba	0.33 ± 0.29 Ca	1.05 ± 1.06 BCa	3.21 ± 4.71 Aa
	9	1.18 ± 1.15 Ba	1.47 ± 0.31 Ba	2.04 ± 0.69 Ba	3.75 ± 5.15 Aa
	15	4.82 ± 1.19 Aa	3.42 ± 0.30 Aa	5.47 ± 0.69 Aa	3.31 ± 7.99 Aa

Values are expressed as the mean ± standard deviation (n = 3). Different capital letters in the same column indicate significant differences between storage time (P<0.05) for each disinfectant treatment. Different lower case letters in the same row indicate significant differences between disinfectant treatments (P<0.05) for each storage time. Control: minimally processed calçot; SSC: Soluble Solids Content; TA: Titratable Acidity; FWL: Fresh Weight Loss; PAA: peroxyacetic acid; MHT: Mild heat treatment.

Regarding the MHT, fresh-cut *calçots* maintained similar quality levels as the rest of the disinfected samples. FWL values increased in control and disinfected *calçots* after 15 days of storage, ranging from 3.31 to 5.47 %. However, there were no significant differences between control and disinfected samples. Siddiq et al. (2013) observed the lowest weight loss in 50 °C-treated (60 s) fresh-cut yellow onions (*Allium cepa*) after 21-d of storage, which was significantly different from the other two heat treatments (60 °C and 70 °C) and they suggested that heat treatment beyond 50 °C affected the tissue structure, causing some shrinkage.

3.2.2 Firmness, colour and visual quality

A general increment in the firmness values was observed in all the samples during the 15-d storage period at 4 °C (Fig. 2A). Moreover, a direct possible relationship between FWL and firmness was observed and it was more pronounced from day 6 of storage. The firmness increase might be associated with a possible water loss during storage.

Despite the increment in TCD and BI values of samples during storage, disinfection conditions of MHT at 50 °C for 60 s led to the lowest browning index in *calçots* throughout storage (Fig. 2B and 2C). This behaviour might be explained through the possible inactivation of PPO (Polyphenol oxidase) and POD (peroxidase) which play an important role in skin colour changes and a mild-heat level of temperature might have more effect than acidic medium in the inactivation of those enzymes.

The results obtained in visual overall quality (Fig. 2D) demonstrated that all disinfected samples maintained excellent and very good scores until day 6 of storage at 4 °C. Those results were in agreement with those reported by Alvaro et al. (2009), where no differences were found by a trained panel in whole tomatoes, peppers and cucumber washed with any applied treatment including PAA. Although all samples were above the limit of marketability, only *calçots* treated with MHT presented scores above 7 (very good) at the end of the 15-d storage period. Despite the weight loss, overall quality was not affected. Furthermore, visual quality decreased drastically for *calçots* treated with NaOCl and PAA, 4 and 3.3 points after the 15-d storage period, respectively. Hong et al. (2000) suggested that mild-heat level of treatment at 55 °C for 120 s was one of several heat treatments that was effective enough to control 'telescoping' of cut green onions (*Allium cepa* x *A. fistulosum*).

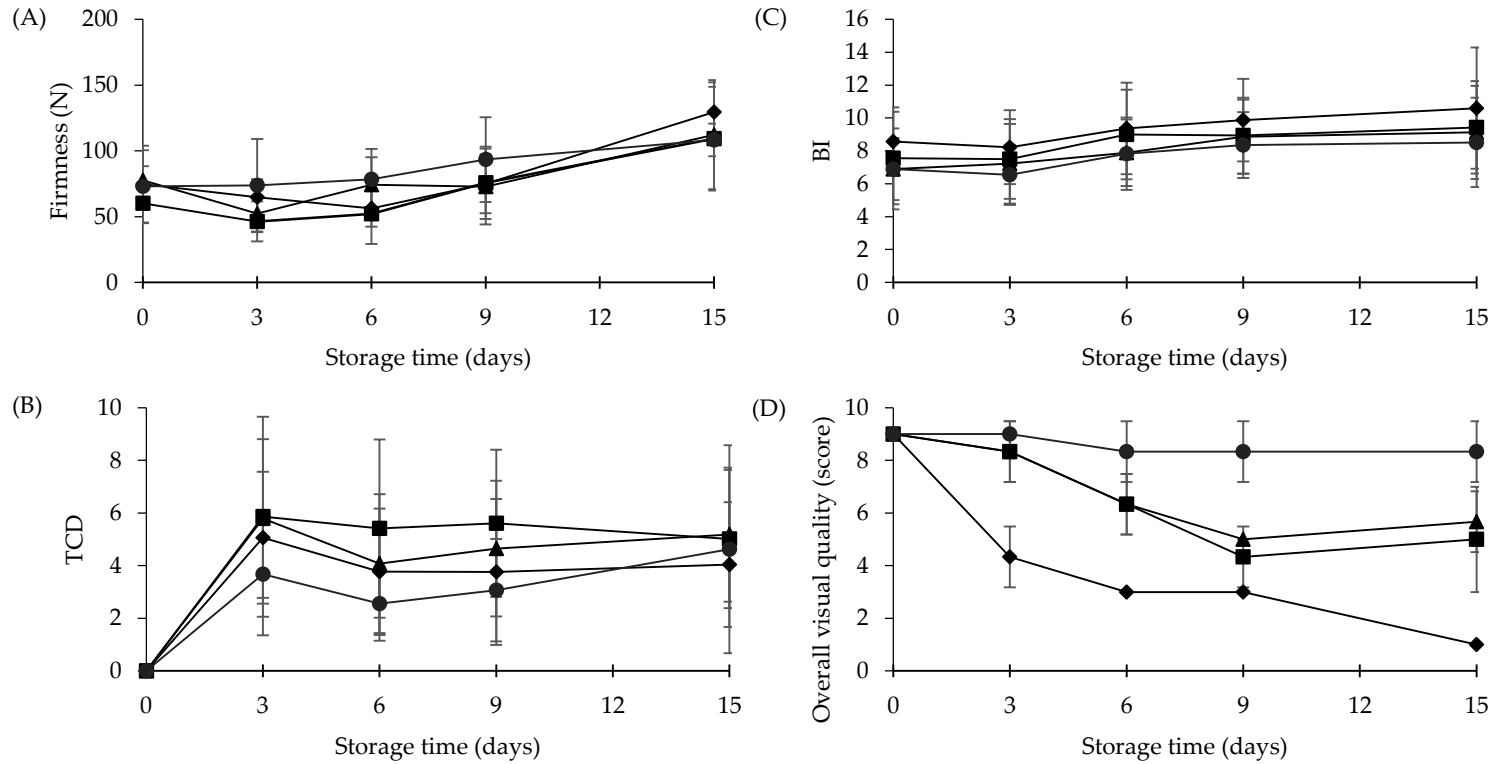


Figure 2. Effect of disinfectant treatments [control (◆), NaOCl (■), PAA (▲) and MHT (●)] after 60 s of treatment on firmness (A), TCD (B), BI (C) and overall visual quality (D) of fresh-cut calçots stored for 15 d at 4 °C. TCD: Total Colour Difference; BI: Browning Index. Replications: n = 8 (firmness) and n = 36 (colour). PAA: peroxyacetic acid; MHT: Mild heat treatment.

4. Conclusions

The physical and microbiological quality of fresh-cut *calçots* after disinfecting with NaOCl, PAA and MHT were studied. In general, although all samples presented physicochemical changes after disinfection and a 15-d storage period at 4 °C, *calçots* treated with MHT at 55 °C for 60 s retained those characteristics better than other samples. However, the population of aerobic mesophilic bacteria in mildly heated *calçots* increased during the 15-d storage period. It is remarkable that there were no significant differences with regard to the results of *calçots* treated with NaOCl and PAA. Therefore, our results have shown that sanitization treatment with PAA (80 mg L⁻¹) for 60 s could be an alternative to chemical methods based on chlorine, maintaining physicochemical and microbiological quality and consumer acceptance. Furthermore, this treatment could be a suitable disinfection treatment for other fresh-cut vegetables, such as leafy vegetables which usually have high initial microbial loads compared to other vegetables.

Acknowledgments

This work was supported by ACCIÓ (Generalitat of Catalonia, RD14-1-004), Sociedad Agrícola i Secció de Crèdit de Valls S.C.C.L., Cooperativa of Cambrils and PGI 'Calçot de Valls'. This work has been supported by the Secretaria d'Universitats i Recerca del Departament d'Economia i Coneixement (FI-DGR 2015) and CERCA Programme of Generalitat de Catalunya. Dr. Aguiló-Aguayo gives thanks to the Ministry of Economy and Competitiveness from the Spanish Government for the FPDI-2013-15583.

References

- Alegre, I., Viñas, I., Usall, J., Anguera, M., Abadias, M., 2011. Microbiological and physicochemical quality of fresh-cut apple enriched with the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG. Food Microbiol. 28, 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.08.006>
- Allende, A., Selma, M. V., López-Gálvez, F., Villaescusa, R., Gil, M.I., 2008. Role of commercial sanitizers and washing systems on epiphytic microorganisms and sensory quality of fresh-cut escarole and lettuce. Postharvest Biol. Technol. 49, 155–163. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.12.010>
- Altisent, R., Plaza, L., Alegre, I., Viñas, I., Abadias, M., 2014. Comparative study of improved vs. traditional apple cultivars and their aptitude to be minimally processed as 'ready to eat' apple wedges. LWT - Food Sci. Technol. 58, 541–549. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.03.019>
- Alvaro, J.E., Moreno, S., Diane, F., Santos, M., Carrasco, G., Urrestarazu, M., 2009. Effects of peracetic acid disinfectant on the postharvest of some fresh vegetables. J. Food Eng. 95, 11–15. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.05.003>
- Botondi, R., Moscetti, R., Massantini, R., 2016. A comparative study on the effectiveness of ozonated water and peracetic acid in the storability of packaged fresh-cut melon. J. Food Sci. Technol. 53, 2352–2360. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2207-y>
- Cantwell, M.I., Hong, G., Suslow, T. V., 2001. Heat treatments control extension growth and enhance microbial disinfection of minimally processed green onions. HortScience 36, 732–737.

- D.A.R.P., 2009. ORDRE AAR/414/2009, de 21 de setembre, per la qual s'aprova el Reglament de la Indicació Geogràfica Protegida Calçot de Valls. http://portaljuridic.gencat.cat/ca/pjur_ocults/pjur_resultats_fitxa/?documentId=503886&language=ca_ES&action=fitxa
- Dai, X., Luo, H., Jiang, L., Ling, L., Xue, Y., Yu, Z., 2012. Efficacy of different sanitizing agents and their combination on microbe population and quality of fresh-cut chinese chives. *J. Food Sci.* 77, 348–353. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02770.x>
- EC No 905/2002. Commission Regulation (EC) No 905/2002 of 30 May 2002 supplementing the Annex to Regulation (EC) No 2400/96 on the entry of certain names in the 'Register of protected designations of origin and protected geographical indications' [2002] OJ L 142/27.
- EFSA, 2015. Risks for public health related to the presence of chlorate in food. *EFSA J.* 13, 1–103. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4135>
- Feliziani, E., Lichter, A., Smilanick, J.L., Ippolito, A., 2016. Disinfecting agents for controlling fruit and vegetable diseases after harvest. *Postharvest Biol. Technol.* 122, 53–59. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.04.016>
- Goyeneche, R., Di Scala, K., Goñi, M.G., Vega-Gálvez, A., Quispe-Fuentes, I., Roura, S.I., 2015. Application of ascorbic acid and mild heat shock to improve shelf life and ensure microbial safety of sliced radish (*Raphanus sativus* L.). *J. Food Process. Preserv.* 39, 3022–3031. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12567>
- Hong, G., Peiser, G., Cantwell, M.I., 2000. Use of controlled atmospheres and heat treatment to maintain quality of intact and minimally processed green onions. *Postharvest Biol. Technol.* 20, 53–61. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(00\)00112-5](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(00)00112-5)
- Joshi, K., Mahendran, R., Alagusundaram, K., Norton, T., Tiwari, B.K., 2013. Novel disinfectants for fresh produce. *Trends Food Sci. Technol.* 34, 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.08.008>
- Kim, H.J., Feng, H., Toshkov, S., Fan, X., 2005. Effect of sequential treatment of warm water dip and low-dose gamma irradiation on the quality of fresh-cut green onions. *Food Microbiol. Saf.* 70, 179–185.
- Kyanko, M. V., Russo, M.L., Fernández, M., Pose, G., 2010. Efectividad del ácido peracético sobre la reducción de la carga de esporas de mohos causantes de pudrición poscosecha de frutas y hortalizas. *Inf. Tecnol.* 21, 125–130. <https://doi.org/10.1612/inf.tecnol.4299it.09>
- Liu, C., Ma, T., Hu, W., Tian, M., Sun, L., 2016. Effects of aqueous ozone treatments on microbial load reduction and shelf life extension of fresh-cut apple. *Int. J. Food Sci. Technol.* 51, 1099–1109. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13078>
- López-Gálvez, F., Allende, A., Truchado, P., Martínez-Sánchez, A., Tudela, J.A., Selma, M. V., Gil, M.I., 2010. Suitability of aqueous chlorine dioxide versus sodium hypochlorite as an effective sanitizer for preserving quality of fresh-cut lettuce while avoiding by-product formation. *Postharvest Biol. Technol.* 55, 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.08.001>
- Martín-Diana, A.B., Rico, D., Barry-Ryan, C., Frías, J.M., Henehan, G.T.M., Barat, J.M., 2007. Efficacy of steamer jet-injection as alternative to chlorine in fresh-cut lettuce. *Postharvest*

- Biol. Technol. 45, 97–107. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.01.013>
- Ölmez, H., Kretzschmar, U., 2009. Potential alternative disinfection methods for organic fresh-cut industry for minimizing water consumption and environmental impact. LWT - Food Sci. Technol. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.08.001>
- Page, N., González-Buesa, J., Ryser, E.T., Harte, J., Almenar, E., 2016. Interactions between sanitizers and packaging gas compositions and their effects on the safety and quality of fresh-cut onions (*Allium cepa* L.). Int. J. Food Microbiol. 218, 105–113. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.11.017>
- Siddiq, M., Roidoung, S., Sogi, D.S., Dolan, K.D., 2013. Total phenolics, antioxidant properties and quality of fresh-cut onions (*Allium cepa* L.) treated with mild-heat. Food Chem. 136, 803–806. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.023>
- Silveira, A.C., Aguayo, E., Escalona, V.H., Artés, F., 2011. Hot water treatment and peracetic acid to maintain fresh-cut Galia melon quality. Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 12, 569–576. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2011.02.010>
- Silveira, A.C., Conesa, A., Aguayo, E., Artes, F., 2008. Alternative sanitizers to chlorine for use on fresh-cut 'galia' (*cucumis melo* var. *catalupensis*) melon. J. Food Sci. 73, 405–411. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00939.x>
- Simó, J., Valero, J., Plans, M., Romero del Castillo, R., Casañas, F., 2013. Breeding onions (*Allium cepa* L.) for consumption as 'calçots' (second-year resprouts). Sci. Hortic. (Amsterdam). 152, 74–79. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.01.011>
- Stringer, S.C., Plowman, J., Peck, M.W., 2007. The microbiological quality of hot water-washed broccoli florets and cut green beans. J. Appl. Microbiol. 102, 41–50. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03065.x>
- Tsouvaltzis, P., Siomos, A.S., Gerasopoulos, D., 2013. Effect of heat treatment on internal atmosphere and leaf extension of minimally processed leek stalks. Int. J. Food Sci. Technol. 48, 2105–2110. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12192>
- Usall, J., Ippolito, A., Sisquella, M., Neri, F., 2016. Physical treatments to control postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. Postharvest Biol. Technol. 122, 30–40. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.05.002>
- Van de Velde, F., Grace, M.H., Pirovani, M.É., Lila, M.A., 2016. Impact of a new postharvest disinfection method based on peracetic acid fogging on the phenolic profile of strawberries. Postharvest Biol. Technol. 117, 197–205. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.03.005>
- Van de Velde, F., Güemes, D.R., Pirovani, M.E., 2014. Optimisation of the peracetic acid washing disinfection of fresh-cut strawberries based on microbial load reduction and bioactive compounds retention. Int. J. Food Sci. Technol. 49, 634–640. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12346>
- Van de Velde, F., Piagentini, A.M., Güemes, D.R., Pirovani, M.E., 2013. Modelling changes in anthocyanins, total vitamin C and colour as a consequence of peracetic acid washing disinfection of two cultivars of strawberries for fresh-cut processing. Int. J. Food Sci. Technol. 48, 954–961. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12047>

- Vandekinderen, I., Devlieghere, F., De Meulenaer, B., Ragaert, P., Van Camp, J., 2009a. Optimization and evaluation of a decontamination step with peroxyacetic acid for fresh-cut produce. *Food Microbiol.* 26, 882–888. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.06.004>
- Vandekinderen, I., Devlieghere, F., Van Camp, J., Denon, Q., Alarcon, S.S., Ragaert, P., De Meulenaer, B., 2009b. Impact of a decontamination step with peroxyacetic acid on the shelf-life, sensory quality and nutrient content of grated carrots packed under equilibrium modified atmosphere and stored at 7 °C. *Postharvest Biol. Technol.* 54, 141–152. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.06.007>
- Vandekinderen, I., Van Camp, J., Devlieghere, F., Ragaert, P., Veramme, K., Bernaert, N., Denon, Q., De Meulenaer, B., 2009c. Evaluation of the use of decontamination agents during fresh-cut leek processing and quantification of their effect on its total quality by means of a multidisciplinary approach. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 10, 363–373. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.02.002>

CAPÍTULO 8

Effect of ultrasound pre-treatment on the physical, microbiological, and antioxidant properties of fresh-cut *calçots* (*Allium cepa* L.)

L. Zudaire, T. Lafarga, I. Viñas, M. Abadias, N. Brunton, I. Aguiló-Aguayo

Food and Bioprocess Technology (enviado)

ABSTRACT

The effect of ultrasound (US) treatment (40 kHz, 250 W) for 0, 10, 25 and 45 min on the physical and microbiological quality, antioxidant activity (AA) and total phenolic content (TPC) of fresh-cut *calçots* (*Allium cepa* L.) was evaluated. Moreover, the effect of roasting (270 °C, 8 min) and *in vitro* simulated digestion on the antioxidant properties was studied. Overall, US treatment had no effect on the physical quality and antioxidant properties of fresh-cut *calçots* regardless the treatment time, while thermal processing produced an increase on the AA and maintenance in TPC. Furthermore, the digestion process caused a remarkable decrease on the AA and TPC but that decrease was higher in roasted than in fresh samples. The microbial load of all US-treated fresh samples was below 6 log (cfu g⁻¹) and a notable decrease (1-log reduction) was observed after treating for 45 min. Those results indicated that US pre-treatment had no negative effects on the quality of fresh-cut *calçot* while produced a decrease on the microbial load at high processing times.

Keywords: *Allium*; ultrasound; thermal processing; gastrointestinal digestion; antioxidant activity; novel technologies

1. Introduction

Calçots (*Allium cepa* L.) are the immature floral stems of second-year onion resprouts of the 'Ceba Blanca Tardana de Lleida' onion landrace. The singularity of the production of this product has helped to confer protected status from the European Union and 'Calçot de Valls' being awarded with the Protected Geographical Indication (EC No 905/2002) (Simó et al., 2013; Zudaire et al., 2017). An increased demand and interest for *calçots* has motivated researches to explore new postharvest techniques such as minimal processing or ultrasound (US) treatment, thus maintaining their physical, microbiological, and nutritional quality.

Thermal pasteurization and sterilization are two common techniques used for the inactivation of microorganisms in food products. However, the effectiveness of those methods is based on long exposure time and high temperatures, which generally results in a deterioration in functional properties, sensory characteristics, and nutritional value (Piyasena et al., 2003). In recent years, emerging non-thermal technologies, such as high pressure, pulsed electric fields, ultraviolet light, intense pulsed light, and US treatments, have been widely studied for application in food industry (de São José et al., 2014). High energy (high power, high-intensity) US are usually applied in the food industry with frequencies ranging between 20 and 100 kHz. This technology has become an attractive option for food processors because the acoustic waves are generally considered safe, non-toxic, and environmentally friendly (Wang et al., 2015).

Previous studies suggested US processing as a promising technology if it used as an auxiliary pre-treatment to sanitizers in reducing initial microbial populations of foods (Ding et al., 2015). However, the effect of US on the antioxidant activity (AA) of food is a controversial issue. On the one hand, the generation of reactive oxygen species such as hydroxyl radicals could affect the quality of some foods by reducing the AA (Kentish and Ashokkumar, 2011). On the other hand, those species could impose oxidative stress to fresh products and hence, induce the AA of fruits and vegetables (de São José et al., 2014). For example, the application of US (20 kHz, 400 W) for 10 min had no remarkable effect on the AA and total phenolic content (TPC) of mushrooms (Lagnika et al., 2013). However, TPC of minimally processed pineapples increased after US treatment (37 kHz) at 25 or 29 W for 10-15 min (Yeoh and Ali, 2017).

Many vegetables including *calçots*, onion, or carrots can be either eaten raw or after cooking. *Calçot* are usually eaten after roasting process. Culinary processes produce significant changes such as degradation of thermolabile compounds and formation others due to heat-induced chemical reactions. Roasting could affect phenolic compounds and, consequently the AA of foods (Juániz et al., 2016). Furthermore, the TPC and AA of fruit and vegetables could also be affected by the human digestion process. During gastrointestinal digestion, polyphenols could suffer changes due to their interaction with other food components, degradation or metabolization. These structural changes could affect both their uptake and bioactivity and hence, the AA (Bouayed et al., 2012).

The objective of this study was to evaluate the effects of US processing for either 10, 25, or 45 min on the physical and microbiological quality, TPC, and AA of raw and roasted *calçots*. Moreover, an *in vitro* simulated gastrointestinal digestion of both raw and roasted samples was carried out to evaluate the resistance of the AA and TPC to gastrointestinal digestion.

2. Material and Methods

2.1 Plant Material

Calçots were provided by the 'Cooperativa Agrícola Valls' (Tarragona, Spain) at commercial size. The *calçots* had the European quality label PGI 'Calçot de Valls' establishing that their diameter and size are within the legal ranges (D.A.R.P., 2009). Samples cultivated in northeast Spain (41°13'47"N, 01°13'12"E) during the crop growing seasons of 2016 and 2017. Pre-conditioning was conducted according to the study of Aguiló-Aguayo et al. (2015) which consisted of cutting roots and external leaves from the edible part as well as removing the outer peel. Fresh *calçots* were immersed in a 10 L bath which contained 100 mg L⁻¹ of sodium hypochlorite at room temperature under continuous agitation for 60 s. Samples were further rinsed with tap water for 1 min, dried at room temperature, and labelled as Control.

2.2 Sonication

Eight *calçots* for each time and repetition were directly immersed in a sonicator bath (Frequency 40 kHz, Power 250 W, JP SELECTA S.A., Barcelona, Spain) and the treatment time (0, 10, 25, 45) was varied for each batch. The surface of water (tap water) in the bath was kept at the same level during each experiment but without temperature controller (initial temperature 17 ± 1 °C). All samples were weighed before and after US treatment. All samples were dried at room temperature. On each treatment time and repetition half of fresh-cut *calçots* were taken to firmness, colour and total aerobic count measurements. The rest were roasted as Zudaire et al. (2017) described. After conducting those assays, both fresh and roasted samples were crushed, powered and frozen with liquid nitrogen and stored at -80 °C for nutritional analysis and gastrointestinal digestion.

2.3 Colour

The colour of the white shaft was measured with a CR-200 Minolta Chroma Meter (Minolta, INC., Tokyo, Japan). Colour was measured using CIE L*, a*, b* coordinates with illuminant D65 which approximates to daylight and 10° observer angle. L* defines the lightness, and a* and b* define the red-greenness and blue-yellowness, respectively. These values were used to calculate the browning index (BI) and hue angle (h°) as previously described by Liu et al. (2016) and Colás-Medà et al., (2016), respectively. Furthermore, difference from the control (ΔE^*) was calculated following the methodology described by Wibowo et al. (2015).

2.4 Firmness

To assess changes on texture, firmness was measured at 5 cm from the roots set in transversal position using the TA.TX2 Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, England) attached with a Warner-Blatzler blade (HDP/BSK: Blade set with knife). The sample was placed into the press holder, and then the blade was moved downwards at different rates: pre-test rate: 5 mm s⁻¹; test rate: 1 mm s⁻¹; post-test rate: 10 mm s⁻¹ to 60 mm below the bottom of the holder. Data acquisition rate was 200 pulses per sec.

2.5 Dry matter determination

Due to differences in water content between fresh and roasted samples, antioxidant activity and total phenolic content calculations were made on a dry matter (DM) basis. For determination of DM content, 4-5 g of fresh or roasted sample (as triplicate) were dried in a convection oven at 105 °C for at least 40 h until reaching a constant weight.

2.6 Determination of AA

AA was determined using two different methods: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH^{*}) radical scavenging assay and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay. The extraction and assays were carried out according to the methods described by Plaza et al. (2016). Results were expressed on a dry weight (dw) basis as mol of ascorbic acid equivalents per kg.

2.7 Determination of TPC

The extraction and determination of TPC were determined by the Folin-Ciocalteu method (Singleton et al., 1999), following the modifications described by Altisent et al. (2014). Results were expressed on a dry weight basis as g of gallic acid equivalent per kg.

2.8 Microbial quality

The total aerobic count of fresh-cut *calçots* was analysed in triplicate as described by Alegre et al. (2011). Briefly, the edible part of two *calçots* per treatment were cut and 10 g of were diluted in 90 mL of buffered peptone water (Oxoid LTD, Basingstoke, Hampshire, England) in a sterile bag and homogenized in a masticator paddle blender (IUL Masticator Basic 400 ml, IUL Instruments, Barcelona, Spain) at 250 impact s⁻¹ for 90 s in triplicate. Further ten-fold dilutions were made with saline peptone (SP; 8.5 g L⁻¹ NaCl and 1 g L⁻¹ peptone). Aliquots of serial dilutions were spread in duplicate onto plates with Plate Count Agar (Biokar Diagnostics, Beauvais, France) and were incubated at 30 ± 1 °C for 3 d. The results were represented as log colony forming units (cfu) per gram basis on fresh weight. Microbiological analyses were performed in triplicate.

2.9 *In vitro* gastrointestinal digestion

In vitro gastrointestinal digestion was performed according to the method described by Minekus et al. (2014) with minors modifications (Zudaire et al., 2017). The simulated digestion was performed in triplicate for each treatment for raw and roasted samples. A blank was prepared using only distilled water instead of sample following the same procedure. Results were compared with non-digested samples. Determinations of AA using both the FRAP and DPPH^{*} methods and TPC were performed after digestion.

2.10 Statistical analysis

All data were firstly evaluated for normal distribution (Shapiro-Wilk W Test) and homogeneity of variance (Levene's Test) of residues. Significant differences between results were calculated by using one-way analysis of variance (ANOVA). In case of non-normality or unequal variances the non-parametric equivalents (Wilcoxon/Kruskal-Wallis Tests) were used. Differences were considered to be significant at $p < 0.05$ (95 % confidence level). In case of significant differences, multiple comparison of means was established with the Post Hoc Tukey-Kramer HSD or Student's test. All statistical analyses were performed with JMP 8 software (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

3. Results and Discussion

3.1 Effect of US processing on physicochemical and antioxidant parameters

The colour of a food is an important freshness-related attribute for consumers and colour changes in a food product may affect their overall acceptability (Pingret et al., 2013). Previous studies suggested that US processing could affect the colour attributes of fruit and vegetables (Alexandre et al., 2012; Fava et al., 2011). However, in the current study, no significant differences were observed in calçot samples after sonication (Table 1). Birmpa, Sfika, & Vantarakis (2013) reported significant colour changes in lettuce leaves after US processing (37 kHz, 30 W L⁻¹) for 30, 45, or 60 min. The authors of that study suggested that a significant non-enzymatic browning could be responsible for the observed colour changes. The ΔE^* combines the change in L^* , a^* , and b^* values to quantify the colour deviation from a standard reference sample. Those samples with $\Delta E^* > 3$ display a visible colour deviation (Wibowo et al., 2015). As expected and shown in Table 1, US-treated *calçots* showed a $\Delta E^* < 3$. Similar results were obtained previously after US processing (40 kHz, 500 W) of strawberries (do Rosário et al., 2017).

In addition, appearance and texture changes are two key characteristics determining the acceptability of fresh-cut fruit and vegetables (Toivonen and Brummell, 2008). The texture of a food treated by US can be determined by the structure changes of proteins and enzymes during sonication (de São José et al., 2014). In the current study, as shown in Table 1, no significant difference were observed between the firmness and weight of the control and US-treated samples ($p < 0.05$). Results were comparable to those previously reported by Ding et al. (2015), who observed that the firmness of strawberries after US (40 kHz, 240 W) treatment for 10 min did not change significantly. In addition, Alexandre et al. (2012) observed a higher firmness retention (16 %) in US-treated (2 min, 15 ± 2 °C, 35 kHz, 120 W) strawberries when compared to water-washed strawberries.

Table 1. Colour parameters, firmness, and weight of untreated and US-treated calçots (fresh).

Sample	h°	BI	ΔE^*	Firmness (N)	Weight (g)
0 min (control)	104.54 \pm 3.31 ^{ab}	7.50 \pm 1.87 ^a	-	138.00 \pm 36.94 ^a	52.89 \pm 14.04 ^a
10 min	103.46 \pm 2.28 ^b	7.41 \pm 2.20 ^a	4.70 \pm 3.08 ^a	123.08 \pm 41.80 ^a	54.73 \pm 13.91 ^a
25 min	105.79 \pm 3.19 ^a	6.41 \pm 1.65 ^a	5.93 \pm 4.86 ^a	102.08 \pm 33.73 ^a	51.23 \pm 16.56 ^a
45 min	105.00 \pm 2.78 ^{ab}	7.28 \pm 1.77 ^a	4.04 \pm 2.48 ^a	121.95 \pm 30.93 ^a	56.27 \pm 15.17 ^a

Values represent the means of independent experiments \pm standard deviation. Different letters in the same column indicate significant differences between samples ($p < 0.05$).

Besides physical attributes of foods such as colour or firmness, US treatment could affect minor components associated with AA and phytochemical content. In the current study, two methods, DPPH and FRAP, were used to investigate the changes in total AA of fresh-cut *calçots* after US treatment. Antioxidant capacity of *calçots* before and after processing are shown in Figure 1. Although higher treatment times resulted in a significant decrease in the AA of the samples (data not shown), US processing for either 10, 25, or 45 min had no effect on the AA of fresh-cut *calçots* ($p < 0.05$). Results obtained using the FRAP were in line with those obtained using the DPPH method. Results obtained herein were in agreement with those reported by Wang et al. (2015) who showed that US treatment (8 min, 25 °C, 20 kHz, 106.19 W L⁻¹) had no effect on the AA of cherry tomatoes. Similar results were also reported after processing of eggplant (Colucci et al., 2018). However, Muzaffar et al. (2016) and Gani et al. (2016) recently reported an increase of AA in US-treated (25 °C, 33 kHz, 60 W) cherries and strawberries when compared to the untreated samples.

The TPC of the control and US-treated *calçots* is shown in Figure 1. In the current study, processing for either 10, 25, or 45 min did not affect the TPC of the samples when compared to the untreated control ($p < 0.05$). Results were in agreement with those obtained by Santos et al. (2015) who reported that both AA and TPC of fresh-cut mango were maintained after US processing (25 °C, 25 kHz, 55 W L⁻¹) for 30 min. Previous authors observed a decrease in the TPC of US-treated fruit and vegetables caused by a oxidation due to hydroxyl radicals formed by cavitation (de São José et al., 2014; Rawson et al., 2011). However, Yeoh & Ali (2017) showed that the TPC of fresh-cut pineapple was increased after processing at 25 and 29 W for 10-15 min. The calculated TPC of the untreated and US-treated *calçots* correlates well with the observed AA before and after processing.

3.2 Effect of thermal processing on the nutritional quality of *calçots*

Calçots are generally eaten cooked after roasting. However, vitamins, phenolic compounds, and other health-promoting compounds have been shown to be heavily lost during thermal processing (Kapusta-Duch et al., 2016; Soares et al., 2017). The effects of thermal processing on the AA and TPC of fresh-cut *calçots* are shown in Figure 1. Overall, AA of all samples increased after roasting ($p < 0.05$). In the same way, Juárez et al. (2016) reported that AA of chopped onions increased after cooking (150 °C for 10 min + 110 °C for 5 min). Jiménez-Monreal et al. (2009) suggested that increase in AA after cooking could be due different reasons such as the liberation of high amounts of antioxidant components due to the thermal destruction of cell walls or the formation of novel compounds such as Maillard reaction products with AA. Moreover, there were no significant differences ($p > 0.05$) between TPC of fresh and roasted *calçots* at each processing time. However, Sharma et al. (2015) reported that heating at 80 °C, 100 °C, and 120 °C for 30 min increased and at 150 °C for 30 min decreased the total phenolic content for all studied onion varieties. Furthermore, Guillén et al. (2017) showed that cooking (90-100 °C) reduced the initial phenolic content in broccoli, green beans, artichokes and carrots. Notwithstanding, Rawson et al. (2013) reported that the decrease observed in total phenolic content was higher in boiled (30 min) than in roasted (160 °C, 15 min) fennel slices.

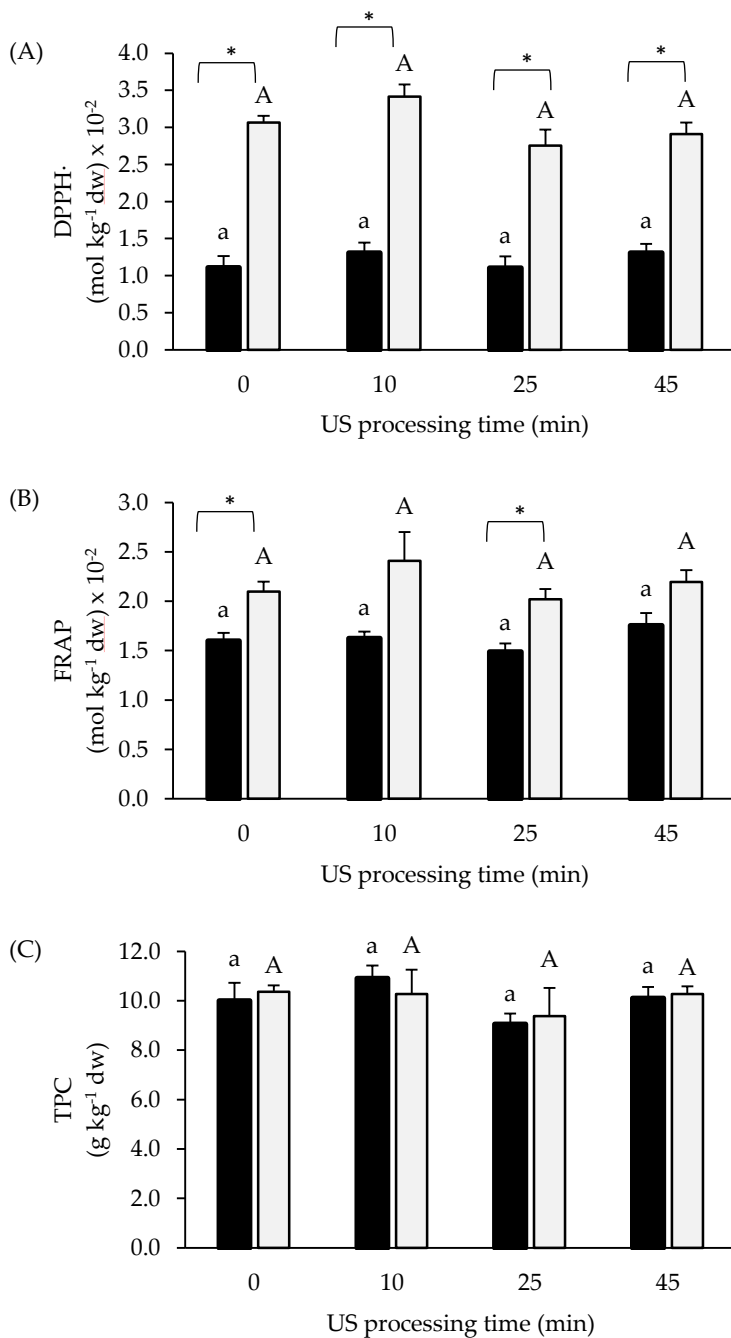


Figure 1. Effect of US and thermal processing on the AA measured using the DPPH (A) and FRAP (B) methods and on the TPC (C) of US- and thermally-treated calçots. Lower case letters indicate significant differences between fresh samples (black bars) and capital letters indicate significant differences between roasted samples (grey bars). * indicates significant differences between fresh and roasted samples. The criterion for statistical significance was $p < 0.05$. The error bars represent the standard errors of the mean of three independent measurements.

3.3 Effect of US processing on the microbiological quality of calçots

There are indications that suggest that US can be used in the food industry, alone or associated with chemical sanitizers, to remove dirt and food residues as well as to inactivate microorganisms from the surfaces of fruit and vegetables (de São José et al., 2014). Microbial inactivation occurs because of cavitation. In the current study, processing for 10 min did not significantly reduce the total aerobic count in the US-treated calçots when compared to the untreated samples (Figure 2). However, US processing for 45 min significantly reduced the microbial load (around 1.0-log) of the samples ($p < 0.05$). Significant reductions were also observed after longer processing times (data not shown). In all cases, the microbial load was not higher than 6 log (cfu g⁻¹). Bilek & Turantaş (2013) recently suggested that US processing for 10 min, alone or in combination with other strategy, is generally enough to decontaminate fruit and vegetables. Indeed, Ding et al. (2015) reported that US treatment (40 kHz, 240 W) for 10 min removed 0.71 log cfu g⁻¹ for total aerobic bacteria on cherry tomatoes. In the same way, Cao et al. (2010) observed that numbers of aerobic microorganism of strawberries decreased from 2.15 ± 0.02 to 1.49 ± 0.01 log₁₀ cfu g⁻¹ after US treatment (20 °C, 40 kHz, 350 W) for 10 min.

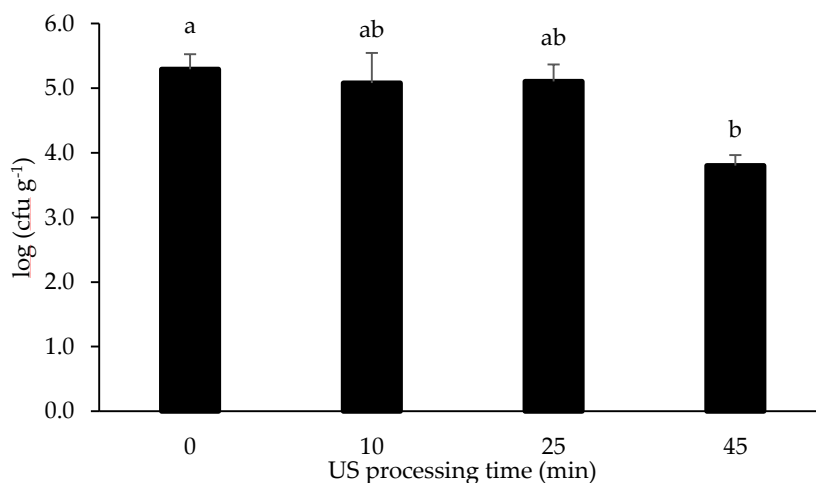


Figure 2. Effect of US processing on the total aerobic count of fresh-cut calçots. Lower case letters indicate significant differences between samples. The criterion for statistical significance was $p < 0.05$. The error bars represent standard errors of the mean of independent measurements.

3.4 Resistance of AA and TPC to a simulated gastrointestinal digestion

In reference to evaluation the biological activity of calçots is much more relevant to know AA and TPC potentially available for further intestinal absorption and/or protection than the quantification in the food matrix (Carbonell-Capella et al., 2014). Results obtained herein suggested that the AA and TPC was statistically lower after gastrointestinal digestion when compared to the control ($p < 0.05$; Figure 3). Despite the high decrease observed in AA values, control (0 min) and US-treated samples (10 and 25 min) presented lower decrease (around 60 %) than roasted samples (70-90 %). The same tendency was observed in TPC values and fresh-cut calçots (raw or roasted) treated for 10 min presented the lowest values (around 70 %). The vast majority of research on roasting and subsequent digestion has been carried out with cereals or coffee/cacao beans (Ribas-Agustí et al. 2017).

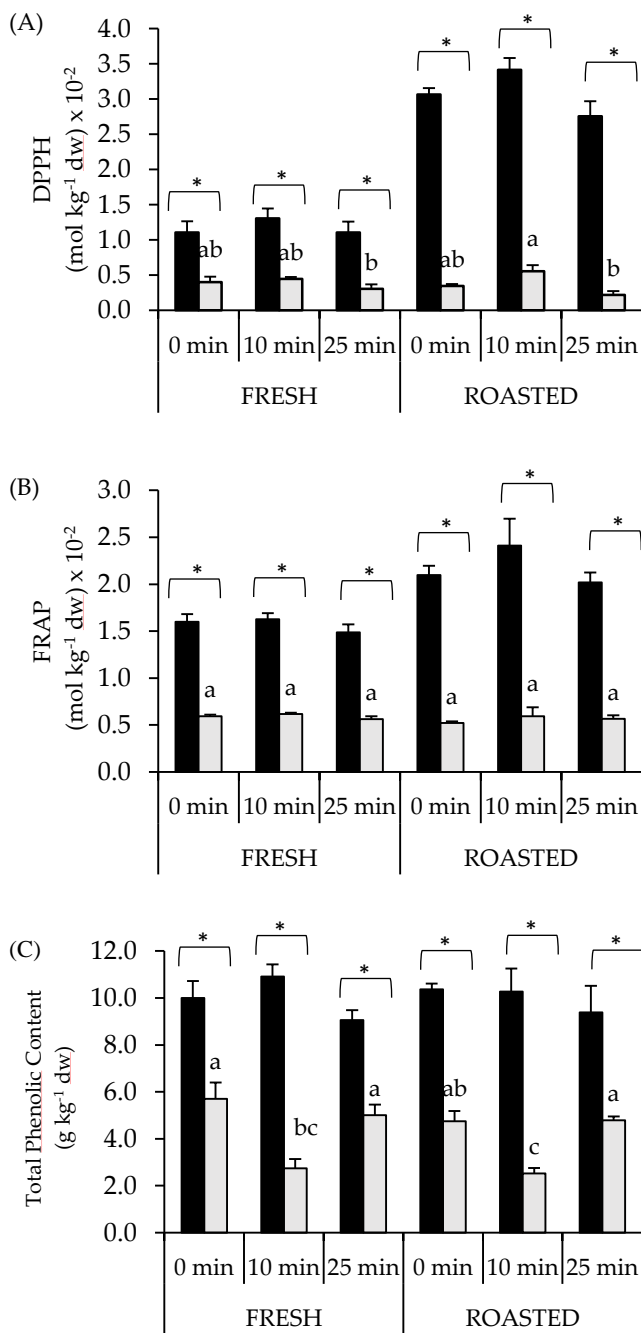


Figure 3. Resistance of AA assessed using the DPPH (A) and FRAP (B) method and TPC (C) of US- and thermally-treated calçots to a simulated gastrointestinal digestion. Lower case letters indicate significant differences between samples (grey bars) after *in vitro* simulated digestion. * indicates significant differences between undigested (black bars) and digested samples (grey bars). The criterion for statistical significance was $p < 0.05$. The error bars represent the standard errors of the mean of three independent measurements.

Furthermore, there are few literature reports concerning the US treatment effect on the digestion decrease or increase of AA and TPC. For example, Fonteles et al. (2016) reported that bioaccessibility of TPC of US-treated (2-10 min, 20 kHz, 75 W cm⁻²) and digested cashew apple bagasse decreased around 2 %.

4. Conclusions

Ultrasound is a promising non-thermal and innovative technology for the inactivation of microorganisms and enhancing the antioxidant activity of whole and fresh-cut fruit and vegetables. The physical and microbiological quality and antioxidant capacity of fresh-cut *calçots* after ultrasound treatment was measured and those samples were also roasted and digested. Fresh-cut *calçot* pre-treated with US (40 kHz, 250 W) for either 10, 25 or 45 min retained colour, firmness and weight after processing. Moreover, US treatment had no effect on the antioxidant activity and total phenolic content of fresh-cut *calçots*, but thermal processing produced a considerable increase. Although microbial load of all samples was lower than 6 log (cfu g⁻¹), only a decrease could be observed in those samples treated for 45 min. The digestion process usually trigger different reactions with effects on the structure and biochemistry of fruit and vegetables and one of them is the decrease of the AA and TPC which was herein more remarkable in roasted than in fresh samples. Therefore, ultrasound treatment could be used as a complementary treatment for different purposes such as assisting process of freezing without negative effects on the physical and antioxidant properties of fresh-cut *calçots*. Additional studies into the effect of ultrasound on the enzymatic activity in this type of fresh-cut vegetables should be undertaken in future works.

Acknowledgments

This work was supported by ACCIÓ (Generalitat of Catalonia, RD14-1-004), Sociedad Agrícola i Secció de Crèdit de Valls S.C.C.L., Cooperativa of Cambrils, and PGI 'Calçot de Valls'. This work was also supported by the 'Secretaria d'Universitats i Recerca del Departament d'Economia i Coneixement' (FI-2017-B2-00164, L. Zudaire) and CERCA Programme of Generalitat de Catalunya. T. Lafarga is in receipt of a 'Juan de la Cierva' contract awarded by the Spanish Ministry of Economy, Industry, and Competitiveness (FJCI-2016-29541). I. Aguiló-Aguayo thanks to the National Programme for the Promotion of Talent and Its Employability of the 'Ministerio de Economía, Industria y Competitividad' of the Spanish Government and to the European Social Fund for the Postdoctoral Senior Grant 'Ramon y Cajal' (RYC-2016-19949).

References

- Aguiló-Aguayo, I., Simó, J., Ivars, N., Villaró, S., Zudaire, L., Echeverria, G., Plaza, L., Abadias, M., Viñas, I., 2015. Suitability of the 'calçots' (*Allium cepa* L.) for minimal processing, in: 2nd Euro-Mediterranean Symposium on Fruit and Vegetable Processing. Avignon, France.
- Alegre, I., Viñas, I., Usall, J., Anguera, M., Abadias, M., 2011. Microbiological and physicochemical quality of fresh-cut apple enriched with the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG. Food Microbiol. 28, 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.08.006>
- Alexandre, E.M.C., Brandão, T.R.S., Silva, C.L.M., 2012. Efficacy of non-thermal technologies and sanitizer solutions on microbial load reduction and quality retention of strawberries. J. Food Eng. 108, 417–426. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.09.002>
- Altisent, R., Plaza, L., Alegre, I., Viñas, I., Abadias, M., 2014. Comparative study of improved vs.

- traditional apple cultivars and their aptitude to be minimally processed as 'ready to eat' apple wedges. *LWT - Food Sci. Technol.* 58, 541–549. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.03.019>
- Bilek, S.E., Turantaş, F., 2013. Decontamination efficiency of high power ultrasound in the fruit and vegetable industry, a review. *Int. J. Food Microbiol.* <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.06.028>
- Birmipa, A., Sfika, V., Vantarakis, A., 2013. Ultraviolet light and Ultrasound as non-thermal treatments for the inactivation of microorganisms in fresh ready-to-eat foods. *Int. J. Food Microbiol.* 167, 96–102. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.06.005>
- Bouayed, J., Deußer, H., Hoffmann, L., Bohn, T., 2012. Bioaccessible and dialysable polyphenols in selected apple varieties following *in vitro* digestion vs. their native patterns. *Food Chem.* 131, 1466–1472. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.030>
- Cao, S., Hu, Z., Pang, B., Wang, H., Xie, H., Wu, F., 2010. Effect of ultrasound treatment on fruit decay and quality maintenance in strawberry after harvest. *Food Control* 21, 529–532. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.08.002>
- Carbonell-Capella, J.M., Buniowska, M., Barba, F.J., Esteve, M.J., Frígola, A., 2014. Analytical methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables: A review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 13, 155–171. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12049>
- Colás-Medà, P., Abadias, M., Altisent, R., Alegre, I., Plaza, L., Gilibert, V., Lacomba, R., Viñas, I., 2016. Development of a fresh-cut product based on pears and the subsequent evaluation of its shelf life under commercial conditions and after a cold chain break. *J. Food Nutr. Res.* 4, 582–591. <https://doi.org/10.12691/jfnr-4-9-4>
- Colucci, D., Fissore, D., Rossello, C., Carcel, J.A., 2018. On the effect of ultrasound-assisted atmospheric freeze-drying on the antioxidant properties of eggplant. *Food Res. Int.* <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.022>
- D.A.R.P., 2009. ORDRE AAR/414/2009, de 21 de setembre, per la qual s'aprova el Reglament de la Indicació Geogràfica Protegida Calçot de Valls. http://portaljuridic.gencat.cat/ca/pjur_ocults/pjur_resultats_fitxa/?documentId=503886&language=ca_ES&action=fitxa
- de São José, J., de Andrade, N.J., Ramos, A.M., Vanetti, M., Stringheta, P., Chaves, J., 2014. Decontamination by ultrasound application in fresh fruits and vegetables. *Food Control* 45, 36–50. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.04.015>
- Ding, T., Ge, Z., Shi, J., Xu, Y.T., Jones, C.L., Liu, D.H., 2015. Impact of slightly acidic electrolyzed water (SAEW) and ultrasound on microbial loads and quality of fresh fruits. *LWT - Food Sci. Technol.* 60, 1195–1199. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.09.012>
- do Rosário, D.K.A., da Silva Mutz, Y., Peixoto, J.M.C., Oliveira, S.B.S., de Carvalho, R.V., Carneiro, J.C.S., de São José, J.F.B., Bernardes, P.C., 2017. Ultrasound improves chemical reduction of natural contaminant microbiota and *Salmonella enterica* subsp. *enterica* on strawberries. *Int. J. Food Microbiol.* 241, 23–29. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.10.009>
- EC No 905/2002, n.d. Commission Regulation (EC) No 905/2002 of 30 May 2002 supplementing the

- Annex to Regulation (EC) No 2400/96 on the entry of certain names in the 'Register of protected designations of origin and protected geographical indications' [2002] OJ L 142/27.
- Fava, J., Hodara, K., Nieto, A., Guerrero, S., Alzamora, S.M., Castro, M.A., 2011. Structure (micro, ultra, nano), color and mechanical properties of *Vitis labrusca* L. (grape berry) fruits treated by hydrogen peroxide, UV-C irradiation and ultrasound. *Food Res. Int.* 44, 2938–2948. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.053>
- Fonteles, T., Leite, A., Silva, A., Carneiro, A., Miguel, E., Cavada, B., Fernandes, F., Rodrigues, S., 2016. Ultrasound processing to enhance drying of cashew apple bagasse puree: Influence on antioxidant properties and *in vitro* bioaccessibility of bioactive compounds. *Ultrason. Sonochem.* 31, 237–249. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.01.003>
- Gani, A., Baba, W.N., Ahmad, M., Shah, U., Khan, A.A., Wani, I.A., Masoodi, F.A., Gani, A., 2016. Effect of ultrasound treatment on physico-chemical, nutraceutical and microbial quality of strawberry. *LWT - Food Sci. Technol.* 66, 496–502. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.067>
- Guillén, S., Mir-Bel, J., Oria, R., Salvador, M.L., 2017. Influence of cooking conditions on organoleptic and health-related properties of artichokes, green beans, broccoli and carrots. *Food Chem.* 217, 209–216. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.067>
- Jiménez-Monreal, A.M., García-Diz, L., Martínez-Tomé, M., Mariscal, M., Murcia, M.A., 2009. Influence of cooking methods on antioxidant activity of vegetables. *J. Food Sci.* 74, 97–103. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01091.x>
- Juániz, I., Ludwig, I.A., Huarte, E., Pereira-Caro, G., Moreno-Rojas, J.M., Cid, C., De Peña, M.P., 2016. Influence of heat treatment on antioxidant capacity and (poly)phenolic compounds of selected vegetables. *Food Chem.* 197, 466–473. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.139>
- Kapusta-Duch, J., Kusznerewicz, B., Leszczyńska, T., Borczak, B., 2016. Effect of cooking on the contents of glucosinolates and their degradation products in selected Brassica vegetables. *J. Funct. Foods* 23, 412–422. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.03.006>
- Kentish, S., Ashokkumar, M., 2011. The Physical and Chemical effects of Ultrasound, in: Feng, H., Barbosa-Cánovas, G. V., Weiss, J. (Eds.), *Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing*. Springer, New York, pp. 1–12.
- Lagnika, C., Zhang, M., Mothibe, K.J., 2013. Effects of ultrasound and high pressure argon on physico-chemical properties of white mushrooms (*Agaricus bisporus*) during postharvest storage. *Postharvest Biol. Technol.* 82, 87–94. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.03.006>
- Liu, C., Ma, T., Hu, W., Tian, M., Sun, L., 2016. Effects of aqueous ozone treatments on microbial load reduction and shelf life extension of fresh-cut apple. *Int. J. Food Sci. Technol.* 51, 1099–1109. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13078>
- Minekus, M., Almingier, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., Marze, S., McClements, D.J., Ménard, O., Recio, I., Santos, C.N., Singh, R.P., Vegarud, G.E., Wickham, M.S.J., Weitschies, W., Brodtkorb, A., 2014. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food - an international consensus. *Food Funct.* 5, 1113–24. <https://doi.org/10.1039/c3fo60702j>

- Muzaffar, S., Ahmad, M., Wani, S.M., Gani, A., Baba, W.N., Shah, U., Khan, A.A., Masoodi, F.A., Gani, A., Wani, T.A., 2016. Ultrasound treatment: effect on physicochemical, microbial and antioxidant properties of cherry (*Prunus avium*). J. Food Sci. Technol. 53, 2752–2759. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2247-3>
- Pingret, D., Fabiano-Tixier, A.S., Chemat, F., 2013. Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. Food Control 31, 593–606. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.11.039>
- Piyasena, P., Mohareb, E., McKellar, R.C., 2003. Inactivation of microbes using ultrasound: A review. Int. J. Food Microbiol. 87, 207–216. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00075-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00075-8)
- Plaza, L., Altisent, R., Alegre, I., Viñas, I., Abadias, M., 2016. Changes in the quality and antioxidant properties of fresh-cut melon treated with the biopreservative culture *Pseudomonas graminis* CPA-7 during refrigerated storage. Postharvest Biol. Technol. 111, 25–30. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.07.023>
- Rawson, A., Hossain, M.B., Patras, A., Tuohy, M., Brunton, N., 2013. Effect of boiling and roasting on the polyacetylene and polyphenol content of fennel (*Foeniculum vulgare*) bulb. Food Res. Int. 50, 513–518. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.01.009>
- Rawson, A., Tiwari, B.K., Patras, A., Brunton, N., Brennan, C., Cullen, P.J., O'Donnell, C., 2011. Effect of thermosonication on bioactive compounds in watermelon juice. Food Res. Int. 44, 1168–1173. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.07.005>
- Ribas-Agustí, A., Martín-Belloso, O., Soliva-Fortuny, R., Elez-Martínez, P., 2017. Food processing strategies to enhance phenolic compounds bioaccessibility and bioavailability in plant-based foods. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 1–18. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1331200>
- Santos, J.G., Fernandes, F.A.N., de Siqueira Oliveira, L., de Miranda, M.R.A., 2015. Influence of ultrasound on fresh-cut mango quality through evaluation of enzymatic and oxidative metabolism. Food Bioprocess Technol. 8, 1532–1542. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1518-8>
- Sharma, K., Ko, E.Y., Assefa, A.D., Ha, S., Nile, S.H., Lee, E.T., Park, S.W., 2015. Temperature-dependent studies on the total phenolics, flavonoids, antioxidant activities, and sugar content in six onion varieties. J. Food Drug Anal. 23, 243–252. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2014.10.005>
- Simó, J., Valero, J., Plans, M., Romero del Castillo, R., Casañas, F., 2013. Breeding onions (*Allium cepa* L.) for consumption as ‘calçots’ (second-year resprouts). Sci. Hortic. (Amsterdam). 152, 74–79. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.01.011>
- Singleton, V., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. METHODS Enzimol. 299, 152–178.
- Soares, A., Carrascosa, C., Raposo, A., 2017. Influence of different cooking methods on the concentration of glucosinolates and vitamin C in broccoli. Food Bioprocess Technol. 10, 1387–1411. <https://doi.org/10.1007/s11947-017-1930-3>
- Toivonen, P.M.A., Brummell, D.A., 2008. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. Postharvest Biol. Technol. 48, 1–14.

<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.09.004>

- Wang, W., Ma, X., Zou, M., Jiang, P., Hu, W., Li, J., Zhi, Z., Chen, J., Li, S., Ding, T., Ye, X., Liu, D., 2015. Effects of ultrasound on spoilage microorganisms, quality, and antioxidant capacity of postharvest cherry tomatoes. *J. Food Sci.* 80, C2117–C2126. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12955>
- Wibowo, S., Vervoort, L., Tomic, J., Santiago, J.S., Lemmens, L., Panozzo, A., Grauwet, T., Hendrickx, M., Van Loey, A., 2015. Colour and carotenoid changes of pasteurised orange juice during storage. *Food Chem.* 171, 330–340. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.007>
- Yeoh, W.K., Ali, A., 2017. Ultrasound treatment on phenolic metabolism and antioxidant capacity of fresh-cut pineapple during cold storage. *Food Chem.* 216, 247–253. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.074>
- Zudaire, L., Viñas, I., Abadias, M., Simó, J., Echeverria, G., Plaza, L., Aguiló-Aguayo, I., 2017. Quality and bioaccessibility of total phenols and antioxidant activity of *calçots* (*Allium cepa* L.) stored under controlled atmosphere conditions. *Postharvest Biol. Technol.* 129, 118–128. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.03.013>

DISCUSIÓN GENERAL

1. Efecto del tratamiento poscosecha con sales de calcio, la conservación frigorífica y la aptitud al procesado mínimo en la calidad de pera "Conference"

1.1 Efecto del tratamiento poscosecha con sales de calcio en la calidad de pera durante la conservación en frío

El calcio es un mineral esencial para la mayoría de los procesos fisiológicos clave relacionados con el fenómeno de maduración, incluyendo aquellos relacionados con la estructura y funcionalidad de las paredes y membranas celulares, o la actividad de algunas enzimas. La retención de la firmeza es el mayor efecto de la aplicación de calcio en fruta (Belge et al., 2017). El calcio mantiene la estructura de la pared celular mediante la interacción con la pectina formando complejos de pectato de calcio, los cuales pueden ayudar a mantener la firmeza de la fruta (Ayón-Reyna et al., 2017). Las sales de calcio han sido ampliamente utilizadas como agentes conservantes y texturizantes en la industria de frutas y hortalizas enteras y MP (Javed et al., 2016), siendo el cloruro de calcio la sal más utilizada (Manganaris et al., 2005a). En los últimos años, también ha sido propuesto el lactato de calcio como una alternativa al cloruro de calcio, ya que este no deja un gusto residual en el producto, previene el pardeamiento y actúa como regulador de la acidez (Manganaris et al., 2005b).

En el *Capítulo 1* de la presente tesis se comparó el efecto de la inmersión de pera entera en una solución de cloruro de calcio o lactato de calcio a diferentes concentraciones (1, 2 y 4 %; p/v) sobre el potencial antioxidante (actividad antioxidante, contenido total de fenoles y vitamina C), actividad de enzimas relacionadas con la textura (PME y PG) y el contenido en calcio. En primer lugar, la inmersión en una solución de cloruro o lactato de calcio no tuvo un efecto significativo sobre el potencial antioxidante de la pera. Otros autores como Madani et al. (2014) sí que demostraron que altas concentraciones de calcio citosólico inducían mecanismos endógenos de resistencia como la síntesis de compuestos fenólicos.

La pérdida de firmeza está relacionada con la degradación enzimática de la pectina catalizada por las enzimas PME y PG (Barbagallo et al., 2012) y la aplicación de sales de calcio podría retrasar la acción enzimática de la PG debido a la estabilización de la membrana y la formación de pectato de calcio (Aguayo et al., 2010). En el presente estudio se observó que las sales de calcio no tuvieron un efecto significativo sobre la actividad de la PME, sin embargo produjeron una disminución en la actividad de PG especialmente en aquellas peras tratadas con lactato de calcio al 4 %. En el estudio realizado por Ortiz et al. (2011) se observaron resultados similares, ya que la inmersión de manzanas 'Golden Reinders' en una solución de cloruro de calcio al 2 % (p/v) no aumentó la actividad de la enzima PME y la actividad de PG fue reprimida. Además, Manganaris et al. (2007) observaron que la inmersión de melocotón en una solución de cloruro o lactato de calcio a una concentración de 62.5 mM mantuvo la actividad de PME y produjo una disminución en la actividad de PG. Sin embargo, los autores de dicho estudio observaron que a medida que el tiempo de almacenamiento en frío (0, 2 y 4 semanas) incrementaba, la actividad de PME y PG aumentaba siendo superior al control al final de la conservación. A pesar del mantenimiento observado en la actividad de PME, tanto en el presente estudio, como en los estudios mencionados, hay autores que sugieren que la actividad de PME debería incrementar al añadir sales de calcio. Unos sugieren que la activación de PME por parte del ion calcio se debe a la unión a la enzima como cofactor en vez de ofrecer un efecto directo sobre el producto de la reacción (Alandes et al., 2009, 2006). Sin embargo, hay otros que sugieren que la activación de la PME por parte de los iones de calcio se

puede explicar asumiendo que los iones interactúan con el sustrato en vez de con la enzima (Quiles et al., 2007).

Por último, la inmersión de pera entera en soluciones de cloruro o lactato de calcio no tuvo efecto significativo en general sobre la concentración de calcio en la pulpa de las peras a excepción de un ligero incremento observado en aquellas peras tratadas con dosis de cloruro de calcio al 4 % (p/v). Sin embargo, Manganaris et al. (2007, 2005a) indicaron que el calcio de la pared celular era significativamente superior en los melocotones (2,3-2,7 veces superior en piel y 50-74 % en pulpa) y nectarinas (240 % superior en piel y 31 % en pulpa) tratadas con cloruro o lactato de calcio a una concentración de 62,5 o 18,5 mM (5 min) en comparación con el control y sin haber diferencias entre las diferentes sales de calcio. Además, Manganaris et al. (2005a) sugirieron que concentraciones inferiores a 62,5 mM serían suficientes para alcanzar altas concentraciones de calcio en la fracción de pectina insoluble. Resultados similares se obtuvieron en el estudio realizado por Kou et al. (2015), donde el contenido de calcio en la piel fue superior en aquellas peras “Huangguan” tratadas con cloruro de calcio al 2 % (p/v) durante 15 min que respecto al control, alcanzando concentraciones de hasta un 89,3 % después de 8 meses de conservación. Las propiedades superficiales de la fruta, particularmente aquellas de la cutícula, afectan a la absorción y distribución de los agentes químicos aplicados como el CaCl_2 (Roy et al., 1999; Trentham et al., 2008). En el caso de las manzanas, durante los tratamientos con calcio en poscosecha, el calcio probablemente se introduce en la fruta primeramente a través de las lenticelas, pero las fisuras (“cracks”) en la cutícula y epidermis podrían ser una importante vía metabólica (Roy et al., 1999). Además, Lara et al. (2014) destacan que las fisuras se vuelven más anchas y profundas a medida que aumenta el periodo de almacenamiento, intensificando la absorción de Ca^{2+} por parte de la fruta.

1.2 Efecto del tratamiento poscosecha con calcio en la aptitud para el procesado y la vida útil de la pera mínimamente procesada

El procesado mínimo de las frutas incluye etapas de pelado, descorazonado y corte, entre otras, las cuales son críticas a la hora de delimitar la vida útil de las frutas MP (Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2003a). Los tratamientos de inmersión de piezas de frutas en soluciones acuosas que contienen agentes antimicrobianos, antioxidantes, sales de calcio o ingredientes funcionales (minerales o vitaminas) se utilizan ampliamente para mejorar la calidad de las frutas MP (Oms-Oliu et al., 2010). En el segundo apartado del *Capítulo 1* de la presente tesis se evaluó el efecto del tratamiento poscosecha con los diferentes tratamientos de calcio estudiados, procesado mínimo e inmersión en solución antioxidante (2 % ácido ascórbico, 2 % citrato de sodio y 1 % cloruro cálcico; p/v) sobre la calidad de la pera MP.

Los daños mecánicos y las heridas producidas por el procesado mínimo pueden inducir un incremento en la respiración y producción de etileno a los pocos minutos u horas (Toivonen y Brummell, 2008) ya que las frutas MP continúan respirando incluso después del tratamiento (Rico et al., 2007). En el presente estudio, el procesado mínimo indujo un aumento en la tasa de respiración del producto alcanzando concentraciones de oxígeno cercanas a 0% al final del tiempo de almacenamiento (11 días). Cabe destacar, que ninguno de los tratamientos aplicados (calcio en poscosecha, envasado en MAP pasiva y tratamiento antioxidante) pudo mitigar el efecto del procesado mínimo sobre la respiración del producto teniendo en cuenta que el grado de madurez óptimo para el procesado mínimo y el film utilizado han sido previamente optimizados en estudios anteriores realizados dentro del mismo grupo de investigación (Colás-Medà et al., 2016, 2015; Iglesias, 2017). Resultados similares se observaron en estudios realizados en pera (Soliva-Fortuny

et al., 2002), manzana (Giacalone y Chiabrando, 2013), piña (Montero-Calderón et al., 2008) y papaya (Waghmare y Annature, 2013) mínimamente procesada.

El pardeamiento post-corte es un problema particular de las frutas de pulpa blanca como las manzanas y peras, aunque se puede dar en otras frutas y hortalizas de IV gama (Toivonen y Brummell, 2008). En general, las peras MP tratadas con la solución antioxidante presentaron menores valores de pardeamiento y mayores valores de firmeza que aquellas tratadas solo con agua a lo largo de su conservación refrigerada. No se observó un claro efecto del tratamiento poscosecha con calcio sobre dichos parámetros. Resultados similares se observaron en el estudio realizado por Gorny et al. (2002), donde el tratamiento de las peras "Bartlett" MP con una solución que contenía 2 % ácido ascórbico, 1 % lactato de calcio y 0,5 % (p/v) de cisteína consiguió inhibir por completo el pardeamiento hasta los 8 días de almacenamiento a 0 °C. Además, Dong et al. (2000) demostraron que la combinación de 1,0 % lactato de calcio, 0,5 % ácido ascórbico y 0,005 % (p/v) 4-hexilresorcinol (4-HR) inhibió el pardeamiento de las peras "Bartlett" y "Bosc" MP hasta los 20 días de almacenamiento.

Las muestras no tratadas con la solución antioxidante presentaron puntuaciones de calidad visual cercanas a 1 y por tanto, se descartaron para la evaluación sensorial. Las peras MP previamente tratadas con 2 % o 4 % de cloruro de calcio fueron las que presentaron menores puntuaciones de calidad visual, aunque todas las muestras se mantuvieron por encima del límite de comercialización a lo largo del almacenamiento (11 días). Cabe destacar, que no hubo diferencias significativas entre las muestras en cuanto a los aspectos sensoriales (firmeza, crocancia y dulzura) y aceptación global, y además, dichos parámetros se mantuvieron constantes a lo largo del tiempo de almacenamiento. En otras matrices vegetales, como el caso de los caquis "Rojo Brillante", se reportó que las muestras MP tratadas con una solución que contenía 10 g L⁻¹ ácido cítrico y 10 g L⁻¹ cloruro de calcio, se mantenían por encima del límite de comercialización hasta los 7 días de almacenamiento (Sanchis et al., 2016).

2. Evaluación del efecto del agente de biocontrol *Pseudomonas graminis* CPA-7 sobre la calidad físico-química, nutricional y actividad enzimática de la pera mínimamente procesada tratada o no con CaCl₂ en poscosecha

En este primer apartado del *Capítulo 2* de la presente tesis, se estudió el efecto del tratamiento con cloruro de calcio (CaCl₂) al 1 % (p/v) en poscosecha y el almacenamiento en atmósfera controlada durante 5 meses sobre la calidad físico-química, nutricional y actividad enzimática de la pera entera. El tratamiento con cloruro de calcio al 1 % (p/v) fue seleccionado en base a los resultados obtenidos en el *Capítulo 1*, es decir, dado que entre las sales de calcio estudiadas no hubo diferencias significativas en la mayoría de los parámetros estudiados y teniendo en cuenta que el cloruro de calcio es la sal más ampliamente estudiada y empleada en la industria alimentaria.

El tratamiento con CaCl₂ previo al almacenamiento, ha sido ampliamente utilizado como agente conservante y estabilizante de la textura en las frutas con posibles efectos beneficiosos sobre la calidad nutricional de las mismas (Ortiz et al., 2009). En general, el tratamiento con CaCl₂ al 1% y el almacenamiento no tuvieron un efecto significativo sobre el contenido total de sólidos solubles, color, enzimas relacionadas con el color (PPO, POD), contenido de vitamina C, calcio y fenoles. Se pudo observar un efecto significativo sobre la acidez y la firmeza de la pera entera pero

probablemente debido a largo tiempo de almacenamiento. Trentham et al. (2008) sugieren que la concentración de calcio necesaria en los tejidos para que ejerza un efecto sobre la firmeza de la fruta debe estar entre 0,8 y 1,0 g kg⁻¹, es decir, el doble de los resultados obtenidos en el presente estudio (0,5 g kg⁻¹). Sin embargo, Ortiz et al. (2010) observaron que el tratamiento con CaCl₂ al 2 % (p/v) resultó útil para mejorar la firmeza de las manzanas “Golden Reinders” después de un largo periodo de almacenamiento (19 o 31 semanas) en atmósfera controlada (3 kPa O₂ + 2 kPa CO₂; 1 °C). A pesar del mantenimiento observado en el contenido total de fenoles, se registró una disminución en la actividad antioxidante medida a través del método de DPPH que contrastó con el incremento de la actividad antioxidante medida mediante el método FRAP. Esta diferencia podría ser atribuida a los diferentes principios de cada ensayo [indicar brevemente qué mide un ensayo y que mide otro]. En cambio, Kou et al. (2014) observaron un descenso en el contenido total de fenoles y actividad antioxidante (DPPH y FRAP) de las peras “Huang guan” tratadas con CaCl₂ al 2 % (p/v) y almacenadas durante 210 días en aire a 0 ± 1 °C.

En el presente estudio se observó que el tratamiento con calcio en poscosecha (CaCl₂ al 1%) y el tiempo de almacenamiento (5 meses; 2 kPa O₂ y 1 kPa CO₂) produjeron una disminución en la actividad de la PME, sin embargo la actividad de la enzima PG se mantuvo constante. Por tanto, el tiempo y tipo de almacenamiento podrían influir en el efecto del calcio sobre la actividad de dichas enzimas dado que en el *Capítulo 1* utilizando la misma concentración de cloruro de calcio (1 %) pudieron observarse diferencias en la actividad de las enzimas PME y PG. Las atmósferas controladas disminuyen la actividad de las enzimas degradadoras de la pared celular relacionadas con el reblandecimiento (Kader, 2016). Asimismo, Galvis Sánchez y Morais (2002) demostraron que las peras de la variedad “Rocha” almacenadas durante 9 meses en AC (2 kPa O₂ + 1,5 kPa CO₂; 0-0,5 °C) más 2 días a temperatura ambiente (19-20 °C) presentaron menores valores de actividad enzimática PME que aquellas almacenadas en aire.

La bioconservación ha sido propuesta como una alternativa a la conservación de las frutas y hortalizas MP mediante agentes químicos. La bioconservación se basa en la utilización de microorganismos antagonistas o sus productos metabólicos con el objetivo de inhibir o destruir los microorganismos no deseados de los alimentos (Iglesias et al., 2017). Sin embargo, la mayoría de los estudios disponibles se centran en los aspectos microbiológicos y muy pocos en el efecto sobre la calidad fisicoquímica, nutricional y enzimática de las frutas MP (Plaza et al., 2016). En el segundo apartado del *Capítulo 2* se estudió el efecto del tratamiento con calcio en poscosecha, el procesado mínimo y la aplicación del agente de biocontrol *Pseudomonas graminis* CPA-7 sobre los parámetros de calidad de la pera MP mencionados en la primera parte. En general, el tratamiento con CaCl₂ en poscosecha (1 %) no tuvo un efecto claro sobre los parámetros de calidad de las peras MP. Sin embargo, en el estudio realizado simultáneamente y expuesto en la tesis doctoral de Iglesias (2017), se observó que el crecimiento de *Pseudomonas graminis* CPA-7 fue mayor en las peras MP tratadas con CaCl₂ en poscosecha. Además, los resultados sugieren que los microorganismos necesitan calcio para su desarrollo, supervivencia y procesos fisiológicos.

El tratamiento antioxidante aplicado durante el procesado mínimo (2 % ácido ascórbico, 2 % citrato de sodio y 1 % cloruro cálcico; p/v) pudo enmascarar el efecto del tratamiento con calcio aplicado en poscosecha. El efecto del tratamiento antioxidante fue evaluado en diferentes parámetros de calidad. La reducción de la actividad de la enzima PPO en las muestras de pera mínimamente procesada pudo ser debida a la acción del ácido ascórbico sobre dicha enzima, mientras que la acción del cloruro de calcio pudo relacionarse con el mantenimiento en la firmeza y la tendencia en las actividades enzimática de PME y PG observadas. Además, también pudo observarse un incremento significativo en el contenido de calcio de las peras mínimamente procesadas, de 0,5 a 2,0 g kg⁻¹. Alandes et al. (2009) observaron que los valores de firmeza se mantuvieron durante 15

días y la actividad de la enzima PME disminuyó durante la primera semana de almacenamiento en las peras “Flor de Invierno” MP tratadas con lactato de calcio (5 g L^{-1}), benzoato de sodio (300 mg L^{-1}) y sorbato de potasio (300 mg L^{-1}) durante 1 min. Dichos autores sugirieron que la disminución en la actividad de PME pudo ser debida a la insolubilización del Ca^{2+} mediante la formación de pectatos de calcio. Además, en el presente estudio se pudo observar un incremento inicial en el contenido de vitamina C debido al tratamiento antioxidante, el cual contenía un 2 % de ácido ascórbico. Sin embargo, dicho contenido disminuyó drásticamente del día 0 al día 2 y esto pudo ser debido a que el ácido ascórbico exógeno probablemente se depositó en un lugar diferente al ácido ascórbico propio de la fruta y por tanto, estuvo más expuesto al oxígeno, la enzima ascorbato oxidasa o enzimas oxidativas como la POD (Cocci et al., 2006; Martíns et al., 2016). Esta misma tendencia se pudo observar en el estudio realizado por Soliva-Fortuny y Martín-Belloso (2003b), donde el tratamiento con ácido ascórbico (5 g L^{-1}) y CaCl_2 (10 g L^{-1}) produjo un aumento del 60 % en el contenido de ácido ascórbico de la pulpa de las peras “Conference” MP.

Sin embargo, el índice de pardeamiento fue aumentando a lo largo del almacenamiento (6 días) afectando así negativamente, a la calidad visual de las muestras. Este tipo de pardeamiento observado pudo ser un tipo de pardeamiento secundario. En este contexto, Oms-Oliu et al. (2010) destacaron que las formulaciones compuestas por calcio y ácido ascórbico no son completamente efectivas en el control del pardeamiento enzimático de las frutas MP, ya que una vez que el ácido ascórbico se oxida completamente a ácido dehidroascórbico, las o-quinonas no se reducen más y puede aparecer un pardeamiento. Además, Oms-Oliu et al. (2006) observaron que el baño post-corte compuesto por 2 % ácido ascórbico + 1 % lactato de calcio + 0.5 % cisteína ajustado a pH 7 previno el pardeamiento superficial de las peras MP debido al ataque nucleofilo de las quinonas por parte de la cisteína. Cabe destacar una reducción generalizada del contenido total de fenoles y actividad antioxidante a lo largo del almacenamiento probablemente debido a las heridas producidas en el procesado mínimo. En el estudio realizado por Cocci et al. (2006), el contenido total de fenoles de las manzanas MP tratadas con 1 % ácido ascórbico y 1 % ácido cítrico disminuyó más del 50 % durante el primer día de almacenamiento y se mantuvo constante a lo largo del almacenamiento (8 días). Además, se observó una disminución destacable de la actividad antioxidante DPPH durante el primer día y dicha actividad se mantuvo estable hasta el final del almacenamiento (8 días).

El efecto del bioconservante CPA-7 se pudo evaluar en diferentes parámetros de calidad. En primer lugar, las peras MP con un tratamiento previo con calcio en poscosecha y tratadas con CPA-7 presentaron un menor índice de pardeamiento que aquellas no tratadas con CPA-7. Abadias et al. (2014) observaron que el valor L^* de los melones MP tratados con *Pseudomonas graminis* CPA-7, envasados en aire y almacenados a 10 °C disminuyó a lo largo del almacenamiento en refrigeración (8 días). En cambio, en ese mismo estudio se observó que los valores L^* se mantuvieron constantes en los melones MP almacenados a 5 °C , excepto para aquellos tratados con CPA-7 y envasados en aire. En el presente estudio, a pesar del aumento generalizado observado en la actividad enzimática POD, las peras MP tratadas con CPA-7 fueron aquellas que presentaron menores valores de actividad y aquellas sin tratamiento con calcio en poscosecha y tratadas con CPA-7 presentaron menores valores de actividad enzimática PPO después de 6 días. La inducción de la actividad POD en condiciones de MAP, podría ser dependiente del tratamiento antioxidante aplicado (Collazo et al., 2018; Larrigaudière et al., 2008). Por otro lado, la pera utilizada en este estudio estuvo almacenada previamente durante 5 meses por lo que la conservación del producto pudo influenciar en el efecto del CPA-7. Al igual que en el presente estudio, Plaza et al. (2016) observaron que la actividad de la enzima POD aumentó significativamente después de 8 días a 5 °C . Además, en dicho estudio los melones MP tratados con CPA-7 y envasados en aire presentaron la mayor actividad POD seguidos de aquellos tratados con CPA-7 y envasados en MAP. Sin embargo, en el

Discusión General

reciente estudio realizado por Collazo et al. (2018), la actividad PPO de las manzanas MP aumentó drásticamente en respuesta a la inoculación de CPA-7, alcanzando valores ocho veces superiores a los observados en las no inoculadas. Además, en dicho estudio la actividad de POD aumentó en aquellas manzanas MP inoculadas con CPA-7 y envasadas en MAP después de 6 días de almacenamiento en refrigeración (5 °C).

Por otro lado, la actividad antioxidante medida mediante FRAP fue menor en aquellas peras MP tratadas con CPA-7. Collazo et al. (2018) observaron que la actividad antioxidante medida por este mismo método disminuyó en aquellas manzanas MP tratadas con CPA-7 y envasadas en MAP después de 6 días a 5 °C. Sin embargo, Plaza et al. (2016) observaron que la actividad antioxidante FRAP de los melones MP tratados con CPA-7 y envasados en aire o MAP se mantuvo después de 8 días a 10 °C.

3. Evaluación del efecto del probiótico *Lactobacillus rhamnosus* GG sobre la calidad de la pera mínimamente procesada tratada o no con CaCl₂ en poscosecha

3.1 Efecto de *Lactobacillus rhamnosus* GG sobre la calidad físico-química, nutricional y actividad enzimática de la pera mínimamente procesada

En primer lugar, en el primer apartado del *Capítulo 3* de la presente tesis, se estudió el efecto del tratamiento con cloruro de calcio (CaCl₂) al 1 % (p/v) en poscosecha y el almacenamiento en atmósfera controlada durante 8 meses sobre la calidad físico-química, nutricional y actividad enzimática de la pera entera. El tratamiento con cloruro de calcio al 1 % (p/v) fue seleccionado en base a los resultados obtenidos en el *Capítulo 1*. En general, el tratamiento con calcio en poscosecha no tuvo efecto significativo sobre la calidad físico-química, vitamina C, contenido total de fenoles, actividad antioxidante y contenido en calcio. Efectos similares se observaron en aquellas peras almacenadas durante 5 meses (*Capítulo 2*). El mantenimiento podría ser debido al efecto que ejerce la baja concentración de O₂ y CO₂ sobre el metabolismo de la pera, es decir, puede que haya una supresión de diferentes vías metabólicas.

Sin embargo, el aumento en el tiempo de almacenamiento de 5 a 8 meses produjo una drástica disminución en el contenido de vitamina C (10 veces inferior) y actividad antioxidante (2-3 veces inferior) de las peras. Además, se observó un pequeño aumento en el contenido total de fenoles y calcio, independientemente de si las muestras estaban tratadas con calcio o no. Resultados similares se observaron en el estudio realizado por Ortiz et al. (2009), donde el contenido de calcio fue superior en aquellas manzanas tratadas con 2 % (p/v) CaCl₂ y almacenadas durante 7 meses en comparación con aquellas almacenadas durante 4 meses. Dichos autores concluyeron que la extensión del tiempo de almacenamiento podría permitir una incorporación más fácil y rápida del calcio desde la epidermis hasta la pulpa de la fruta.

Los resultados del presente estudio y en comparación con los resultados obtenidos en el *Capítulo 2*, indican que a pesar de la disminución observada en la actividad enzimática PPO y POD a lo largo del almacenamiento poscosecha, los cambios en los valores *L**, *a** y *b** indican que el color de la piel de las peras perdió luminosidad y el color pasó de verde a amarillento]. En el caso de la firmeza, a pesar del aumento observado en la actividad de la enzima PG (2 veces superior) y el mantenimiento en la actividad de la PME, los valores de firmeza aumentaron al extender el tiempo de almacenamiento en poscosecha (4 veces superior). Sin embargo, Dong et al. (2018) observaron que a pesar del aumento en la actividad de la enzima PG y la disminución en la actividad de la enzima PME de las peras “Comice” (no tratadas) después de 8 meses de almacenamiento en comparación con los resultados obtenidos a los 5 meses, la firmeza disminuyó de 49 N a 5 N.

El uso de cultivos protectores ha sido propuesto debido a sus beneficios potenciales sobre las frutas y hortalizas MP. En los últimos años se han desarrollado cultivos protectores de bacterias ácido-lácticas con el objetivo de aumentar la seguridad y la vida útil de dichos productos (Siroli et al., 2015). Además, dichos cultivos conocidos como probióticos, tienen un potencial prometedor como suplementos funcionales en frutas debido a su gran tolerancia a los medios ácidos (Rivera-Espinoza y Gallardo-Navarro, 2010). *L. rhamnosus* GG es uno de los probióticos más estudiados en matrices vegetales y aunque se ha demostrado su capacidad bacteriostática frente a *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* en manzanas y peras MP, poco se sabe de su efecto sobre la calidad de las frutas MP (Iglesias et al., 2018). Además, este microorganismo está incluido en la lista QPS (Qualified

Presumption of Safety) elaborada por la EFSA (Iglesias, 2017). En el segundo apartado del *Capítulo 3* se estudió el efecto del tratamiento con calcio en poscosecha, el procesado mínimo y la aplicación del microorganismo probiótico *L. rhamnosus* GG sobre los parámetros de calidad de la pera MP mencionados en la primera parte. En general, el tratamiento en poscosecha con calcio (CaCl_2 1 %) no tuvo efecto significativo sobre los parámetros de calidad de la pera MP durante su vida útil tal y como se pudo observar en los resultados obtenidos en el *Capítulo 2* a pesar de la diferencia en el tiempo de almacenamiento poscosecha. El único efecto visible fue que la actividad de la enzima PPO era superior en aquellas muestras tratadas previamente con CaCl_2 en poscosecha. Asimismo, en el estudio realizado simultáneamente y expuesto en la tesis doctoral de Iglesias (2017), se observó que el CaCl_2 no tuvo efecto significativo sobre el contenido de sólidos solubles, acidez titulable y crecimiento de la población de *L. rhamnosus* GG en las peras MP.

El tratamiento antioxidante aplicado (2 % ácido ascórbico, 2 % citrato de sodio y 1 % cloruro cálcico; p/v) pudo enmascarar el efecto del tratamiento con calcio en poscosecha de igual forma que en el *Capítulo 2*. El efecto del tratamiento antioxidante se pudo observar en diferentes parámetros de calidad. Por un lado, el ácido ascórbico pudo ser el responsable del mantenimiento del índice de pardeamiento durante el almacenamiento en refrigeración de las peras MP, además de la alta concentración inicial de vitamina C en dichas muestras. Sin embargo, Rojas-Graü et al. (2008) observaron que la mayor disminución de los valores L^* después de 7 días de almacenamiento en refrigeración fue en aquellas muestras tratadas con una solución que contenía ácido ascórbico al 1 % (p/v) alcanzando valores de 64.13 después de 14 días y observándose un color marrón en los tejidos de las manzanas “Fuji” MP. El ácido ascórbico en combinación con otros agentes químicos puede mantener e incluso aumentar su efectividad. Por ejemplo, Yan et al. (2017) demostraron que el tratamiento con 1 % ácido ascórbico (p/v) solo, y su combinación con etanol (20-40 %, v/v) mantuvo estables los valores L^* y b^* de las manzanas MP durante los 14 días de almacenamiento en frío.

Por otro lado, la utilización del CaCl_2 en el tratamiento antioxidante durante el procesado de la pera previno el ablandamiento del producto y contribuyó a un mantenimiento de la firmeza durante su conservación. Además, los resultados sugieren su interacción con las actividades enzimáticas de PME y PG observadas. En el caso de la PME, se observó un incremento de actividad que podría ser debido a la unión de los iones de calcio a la enzima PME promoviendo la desmetil-esterificación de los ácidos galacturónicos y a su vez la formación de pectatos de calcio evitando la entrada de la enzima PG tal y como se detalla en la discusión del *Capítulo 1*. En el reciente estudio realizado por Mirshekari et al. (2017) en bananas MP, las muestras tratadas con propionato de calcio al 1 % (p/v) junto con quitosano al 1 % (p/v) mantuvieron mejor la firmeza a lo largo del almacenamiento en frío (5 días, 5 °C) que aquellas tratadas solamente con propionato de calcio. Sin embargo, las actividades de PME y PG disminuyeron en aquellas bananas MP tratadas con propionato de calcio o la combinación con quitosano, mientras que el quitosano no tuvo efecto significativo sobre la actividad de dichas enzimas.

Además, en el presente estudio se produjo un aumento en el contenido inicial de calcio en las peras MP probablemente debido a la inmersión en la solución antioxidante y este mismo efecto se pudo observar en los resultados obtenidos en el *Capítulo 2*. Resultados similares se observaron en el estudio realizado por Ngamchuachit et al. (2014). En dicho estudio todos los tratamientos de calcio aplicados (cloruro o lactato de calcio; 0,068-0,204 mol L^{-1} ; 1-5 min) produjeron un aumento de más del doble en el contenido de calcio de los mangos “Kent” MP. Cabe destacar que el aumento en el contenido de calcio de las frutas MP tratadas con sales de calcio podría depender del tipo de sal de calcio aplicada. Asimismo, Silveira et al. (2011) observaron que inicialmente los melones MP sumergidos en agua, citrato, tartrato, silicato y acetato de calcio fueron aquellos que presentaron

menor nivel de calcio libre y los sumergidos en CaCl_2 fueron aquellos que presentaron los mayores niveles. Al final del ensayo los melones MP tratados con CaCl_2 , ascorbato y lactato de calcio presentaron los mayores valores de calcio libre.

La calidad visual del producto mínimamente procesado, así como la actividad de la enzima POD se vieron influenciados por el tratamiento con el probiótico *L. rhamnosus* GG. En general, las puntuaciones de calidad visual de las peras MP tratadas con el probiótico fueron superiores en comparación con las no tratadas. Además, únicamente aquellas muestras a las que no se habían aplicado un tratamiento con calcio en poscosecha pero que sí habían sido tratadas con el probiótico estuvieron por encima del límite de comercialización ($7,7 \pm 0,2$) al final de la vida útil del producto (9 días). En cuanto a la actividad de la enzima POD, los primeros días de vida útil la actividad se mantuvo en aquellas muestras tratadas con *L. rhamnosus* GG, aunque no hubo diferencias significativas ($P > 0,05$) con el resto de muestras a los 9 días de almacenamiento. No se pudo observar una clara influencia de la aplicación del probiótico sobre el resto de parámetros estudiados. Asimismo, en el estudio realizado simultáneamente y expuesto en la tesis doctoral de Iglesias (2017), se observó que la aplicación del probiótico no afectó al contenido de sólidos solubles y acidez en las peras MP después de 9 días de almacenamiento a 5 °C tal y como también pudo observar en el estudio realizado por Alegre et al. (2011) con manzanas MP. Además, se confirmó que *L. rhamnosus* GG fue capaz de controlar el crecimiento de *Listeria monocytogenes* y sobrevivir a 5 °C en MAP manteniendo una población constante superior a 10^7 ufc g^{-1} . Resultados similares se obtuvieron en los estudios realizados por Rößle et al. (2010a, 2010b), donde la aplicación de *L. rhamnosus* GG (10^{10} ufc mL^{-1}) no tuvo un efecto negativo sobre las propiedades físico-químicas y sensoriales y la concentración de compuestos polifenólicos individuales de las manzanas MP almacenadas a 2-4 °C durante 10 o 14 días, respectivamente. En dichos estudios, la población del probiótico se mantuvo por encima de 10^7 - 10^8 ufc g^{-1} a lo largo de toda la vida útil del producto.

Diversos estudios han demostrado que la aplicación de otras bacterias probióticas no afecta a las características físico-químicas, sensoriales y antioxidantes del melón MP (Russo et al., 2015), ensalada de frutas (Martín et al., 2016) o piña MP (Russo et al., 2014; Troyo y Acedo, 2015). Por ejemplo, en el reciente estudio realizado por de Oliveira et al. (2017) se observó que la aplicación de *Lactobacillus acidophilus* LA-3 ($1,4 \times 10^{10}$ ufc mL^{-1}) no tuvo un efecto negativo sobre el pH, acidez y contenido de sólidos solubles de los melones MP, independientemente del método de aplicación utilizado (vacío o impregnación a presión atmosférica) y del tiempo de almacenamiento (0, 2, 4, 6 u 8 días) a 5 °C. Además, la población del probiótico se mantuvo por encima de 10^7 ufc g^{-1} pudiendo considerándose un producto probiótico.

3.2. Efecto de la digestión *in vitro* simulada sobre la actividad antioxidante y el contenido total de fenoles de la pera mínimamente procesada tratada con *L. rhamnosus* GG

En primer lugar, es muy importante examinar la estabilidad de los compuestos antioxidantes bajo las condiciones gastrointestinales a lo largo de la digestión con el objetivo de entender los efectos potencialmente beneficiosos de los antioxidantes procedentes de la dieta. Asimismo, las técnicas de digestión *in vitro* han sido descritas como modelos aceptables para predecir la bioaccesibilidad de dichos compuestos (Gayoso et al., 2018). En el tercer apartado del Capítulo 3 de la presente tesis, se estudió el efecto de la digestión *in vitro* simulada (estática) sobre la actividad antioxidante (DPPH y FRAP) y el contenido total de fenoles de las peras enteras y MP procedentes de la sección 3.1.

En general, se produce un descenso drástico de la actividad antioxidante tanto en las peras enteras (86-90 %) como en las MP (61-96 %). Un efecto similar se pudo observar en el estudio realizado por Bouayed et al. (2011), donde la actividad antioxidante (método FRAP) de tres variedades diferentes de manzanas enteras era significativamente superior a los resultados obtenidos en la extracción química que en la fase gástrica e intestinal. Del mismo modo, Tagliacruzchi et al. (2010) observaron que la actividad antioxidante (método FRAP) de la uva negra disminuyó al inicio de la fase pancreática como consecuencia de la reducción en la cantidad de los compuestos fenólicos y la reducción final fue de un 44.5 % en comparación con los datos obtenidos en la extracción química. Sin embargo, el efecto de la digestión *in vitro* sobre la actividad antioxidante podría depender del tipo de fruta y variedad utilizada tal y como se especifica en el estudio realizado por Chen et al. (2014). Cabe destacar, que en el presente estudio no se ha observado un efecto claro del tratamiento con CaCl₂ en poscosecha y del tratamiento con *L. rhamnosus* GG sobre el efecto que ejerce la digestión gastrointestinal en la actividad antioxidante de las peras MP. Además, no se observó ningún efecto significativo del tiempo de almacenamiento (0 o 9 días) sobre este parámetro estudiado.

El efecto de la transición del bolo alimenticio desde la fase gástrica (pH ácido) a la intestinal (pH alcalino o neutro) sobre la actividad antioxidante fue diferente dependiendo del método de análisis empleado. La actividad antioxidante analizada a través del método FRAP continuó descendiendo de forma generalizada después de la fase gástrica. Sin embargo, la actividad antioxidante mediante el método DPPH se mantuvo e incluso en algunos casos (peras MP almacenadas durante 9 días) aumentó durante la fase intestinal. Se cree que la transición de medio ácido a alcalino podría aumentar el poder antioxidante de los polifenoles mediante la deprotonación de los hidroxilos presentes en sus anillos aromáticos (Bouayed et al., 2011; Tagliacruzchi et al., 2010). Las diferencias observadas podrían deberse tanto a los cambios producidos durante la digestión como a la base científica de cada método. Por un lado, durante el proceso de digestión se pueden producir alteraciones en la estructura de los compuestos antioxidantes las cuales podrían afectar a su reactividad con los radicales de nitrógeno biológicamente menos relevantes formados en el ensayo de DPPH, dando lugar a una subestimación de la actividad antioxidante. Además, el DPPH es muy sensible a los bajos pHs, por lo que el pH ácido de la fase gástrica (pH 2-3) podría interferir en la medida de la actividad antioxidante (Attri et al., 2017; Wootton-Beard et al., 2011). Por otro lado, el método FRAP es útil para el estudio de los cambios en la actividad antioxidante relacionados con los cambios en la concentración de los polifenoles sin ninguna interferencia debida a la variación pH-dependiente en la estructura de los polifenoles (Tagliacruzchi et al., 2012). Bouayed et al (2011) sugieren que el método FRAP podría ser más apropiado para evaluar la actividad antioxidante en la fase gástrica que en la intestinal.

En el caso de los compuestos fenólicos, es mucho más importante centrar la atención en la cantidad presente después de la digestión gastrointestinal en vez de en la cantidad original ya que los fenoles son sometidos a diferentes reacciones de oxidación y polimerización debido al cambio de pH, dando lugar a la formación de otros compuestos fenólicos de alto peso molecular o baja solubilidad los cuales no pueden ser absorbidos (Mosele et al., 2016). En general, en el presente estudio se produjo un descenso generalizado del contenido total de fenoles de las peras enteras (80-84 %) y de las MP (65-85 %) tal y como se pudo observar en los resultados obtenidos en la actividad antioxidante. Los tratamientos poscosecha y post-corte, además del tiempo de almacenamiento en refrigeración, no ejercieron ningún efecto sobre el contenido total de fenoles durante el proceso de digestión así como no se observó ningún efecto sobre la actividad antioxidante del producto.

Los resultados obtenidos en diversos estudios en frutas y zumos de frutas demuestran que el contenido total de fenoles puede aumentar (Attri et al., 2017; Chen et al., 2014; Wootton-Beard

et al., 2011) o disminuir (Pavan et al., 2014; Schulz et al., 2017; Stanisavljevic et al., 2015; Tagliacruzchi et al., 2012) después de la digestión gastrointestinal. Es necesario remarcar que los métodos utilizados para medir compuestos antioxidantes específicos solo detectan formas estructurales específicas. Por esta razón algunos estudios podrían estar subestimando la cantidad de compuestos antioxidantes presentes al final de la digestión *in vitro* (Ryan y Prescott, 2010). Sin embargo, el reactivo Folin-Ciocalteu puede ser reducido por otras sustancias no fenólicas como azúcares, aminos, ácidos orgánicos, proteínas, y ácido ascórbico, dando lugar a una sobreestimación del contenido total de fenoles en las muestras (Rodríguez-Roque et al., 2013).

Es muy importante remarcar que a pesar de que el aumento de la bioaccesibilidad de los fenoles podría tener efectos beneficiosos para la salud, a su vez podría tener efectos adversos. En efecto, la unión de los polifenoles a las proteínas podría disminuir la digestibilidad de las mismas, mediante la interacción con las enzimas digestivas o protegiendo las proteínas de la dieta de la degradación enzimática (Dufour et al., 2018).

Por último, un producto es considerado probiótico por la industria alimentaria cuando la población viable del microorganismo probiótico es igual o superior a 10^6 ufc mL⁻¹ en el momento de consumo (Tripathi y Giri, 2014) y es capaz de sobrevivir al jugo gástrico en el estómago y llegar al intestino delgado y colon (Rivera-Espinoza y Gallardo-Navarro, 2010). De esta manera, Iglesias et al. (2017) demostraron que bajo las mismas condiciones de digestión que en el presente estudio, *L. rhamnosus* GG inoculado en pera MP (10^{10} ufc g⁻¹) sobrevivió al proceso gastrointestinal y a pesar del descenso observado en la población, la tasa de supervivencia del probiótico se mantuvo en todo proceso por encima del 97 %. Además, se observó una alta capacidad de adhesión a las células Caco-2 (aproximadamente del 80 %).

4. Evaluación del efecto de diferentes condiciones agronómicas sobre la calidad del calçot entero y mínimamente procesado

4.1. Efecto de la variedad, lugar y tiempo de plantación sobre los parámetros morfológicos, calidad físico-química y nutricional del calçot fresco o asado

La capacidad de almacenamiento y la calidad final de los calçots al igual que las cebollas, depende de varios factores como la variedad, y las condiciones pre y poscosecha (Chávez-Mendoza et al., 2016). Es necesario remarcar que el cultivo del calçot es bianual: el primer año es análogo al cultivo convencional de la cebolla y es a partir de la recolección del bulbo cuando es diferente. De hecho, un punto muy importante dentro del ciclo del cultivo del calçot es la fecha de plantación (Simó et al., 2015). Además, las condiciones poscosecha y sobre todo las condiciones de almacenamiento (temperatura, humedad relativa y composición del aire), son factores esenciales para controlar y minimizar la pérdida de agua, y en consecuencia, permitir alargar el tiempo de almacenamiento (Petropoulos et al., 2016b).

En el primer apartado del *Capítulo 4* de la presente tesis se evaluó el efecto de diferentes condiciones de precosecha (variedad, lugar y tiempo de plantación) y el tiempo de almacenamiento en poscosecha (0, 15 y 30 días) sobre las características morfológicas, parámetros de calidad, propiedades antioxidantes y calidad sensorial de los calçots enteros. Además, se estudió el efecto del tratamiento térmico (270 °C, 8 min) sobre las propiedades antioxidantes del calçot. En general, las características morfológicas de los calçots estudiados se mantuvieron constantes a lo largo del tiempo de almacenamiento (30 días) en poscosecha. Los calçots procedentes de la variedad de cebolla "Montferri" (variedad mejorada) y cultivados en Viladecans presentaron diferencias dependiendo de la fecha de plantación, es decir, agosto o septiembre. La fecha de plantación es muy importante en el ciclo del calçot tal y como se ha mencionado previamente. Tradicionalmente la plantación se ha realizado a lo largo de la primera semana de septiembre, pero actualmente es muy común adelantar a la segunda quincena de agosto, y en algunos casos, a la primera. En el estudio realizado durante cuatro campañas por Simó et al. (2015), se observó que el número de calçots fue superior en la plantación de agosto que en la de septiembre, pero la fecha de plantación no tuvo efecto significativo sobre los parámetros morfológicos de los calçots. Cabe destacar que los calçots V3 (Montferri; Viladecans; tardía) presentaron mayores valores de diámetro y longitud de la parte comestible (parte blanca) y peso, dando lugar a un posible mayor rendimiento de producción.

En cuanto a los parámetros de calidad (color, firmeza, sólidos solubles, acidez y pH), todas las muestras presentaron un patrón similar, indicando que la variedad, lugar y tiempo de plantación no tuvieron un efecto significativo. Sin embargo, los valores de firmeza y peso de los calçots V3 disminuyeron a lo largo de los 30 días de almacenamiento en poscosecha bajo condiciones de atmósfera regular. La razón de esta disminución pudo ser la pérdida de agua ya que en tamaño fueron superiores al resto de muestras y por tanto, a mayor superficie de evaporación disponible, mayor pérdida de agua. La pérdida de peso suele ser la combinación de la pérdida de agua y la reducción de materia seca debido a la consumición de las reservas energéticas (Petropoulos et al., 2016a). Sin embargo, en el presente estudio no se pudo observar una clara relación entre la pérdida de firmeza y peso de las muestras V3 con el contenido de sólidos solubles ya que la concentración y la tendencia a lo largo del almacenamiento era similar en todas las muestras estudiadas.

La tasa de respiración de las muestras V1-V3 aumentó durante los primeros 15 días de almacenamiento y luego sufrió un pequeño descenso, pero dichos valores finales no fueron significativamente mayores que los del día 0 ($P > 0.05$). En cambio, la tasa de respiración de las muestras V4 sufrió un continuo aumento hasta el día 30 de almacenamiento. En la mayoría de los países de Europa y de Estados Unidos, las cebollas (similares a los calçots) se almacenan en un almacenamiento común, utilizando frío, aire ambiental para mantener la temperatura y humedad relativa óptima (Adamicki, 2016) tal y como se llevó a cabo el presente estudio. Sin embargo, este tipo de almacenamiento no suprime o reduce la respiración de las frutas y hortalizas tal y como suele ocurrir en las atmósferas controladas. A pesar de ser una tendencia generalizada, en el estudio realizado por Chope et al. (2007), las cebollas de la variedad SS1 almacenadas durante 21 días en atmósfera controlada (5 kPa CO₂ + 3 kPa O₂) presentaron mayor tasa de respiración que aquellas almacenadas en aire (0.003 kPa CO₂ + 21 kPa O₂). La tendencia de los resultados obtenidos en el presente estudio se podría analizar por variedad (V2 frente a V4) o por fecha de plantación (V3 frente a V4). Diversos estudios han demostrado que no solo la variedad o la fecha de plantación puede tener efecto sobre la tasa de respiración de las frutas y vegetales. Por ejemplo, en el estudio realizado por Jaime et al. (2001) observaron que había diferencias significativas entre la tasa de respiración de las variedades tempranas y tardías de cereza. Las cerezas "Burlatt" presentaron una mayor tasa de respiración que las "Suburst" y "Sweetheart". Además, Kim et al. (2010) observaron que la tasa de respiración de la variedad temprana de caqui dulce "Nishimurawase" era significativamente superior a la de la variedad tardía "Fuyu". En el caso de los calçots estudiados en el presente estudio, la variedad "Montferri" (V1, V3 y V4) es una variedad de cosecha tardía y esto podría tener influencia sobre la tasa de respiración durante su almacenamiento en poscosecha.

La variedad, las condiciones climáticas, el lugar de crecimiento, los factores agronómicos y los factores de cosecha y poscosecha pueden influir significativamente en el nivel de compuestos antioxidantes de las frutas y hortalizas (Tiwari y Cummins, 2013). Los resultados obtenidos en el presente estudio demostraron que la variedad, lugar de cultivo y tiempo de plantación no tuvieron un claro efecto sobre la actividad antioxidante de los calçots almacenados en aire durante 30 días. En cambio, los cambios observados en el contenido total de fenoles a lo largo del almacenamiento en poscosecha se podrían agrupar en dos grupos, por un lado V1 y V2 (aumentan su contenido inicial) y por otro lado, V3 y V4 (mantienen su contenido inicial). Sin embargo, no se pudo establecer un efecto claro de la variedad, lugar de cultivo o tiempo de plantación. Además, en general, los calçots almacenados en frío durante 30 días mantuvieron o mejoraron sus propiedades antioxidantes. En contraste, en el estudio realizado por Petropoulos et al. (2016) las propiedades antioxidantes variaron en función de la variedad de cebolla. Los autores indicaron en su estudio que la actividad antioxidante (métodos DPPH y FRAP) disminuyó a lo largo del almacenamiento (139-210 días, 5 °C) en aire en todas las variedades de cebolla excepto en "Red Cross F1". También remarcaron que el contenido total de fenoles disminuyó significativamente en el caso de las variedades "Sivan F1", "Vatikiotiko" y "Creamngold", mientras que un aumento fue observado en la variedad "Red Cross F1".

Los calçots se suelen consumir habitualmente asados. Los procesos culinarios producen cambios significativos en los alimentos como la degradación de compuestos termolábiles, y la formación de otros debido a las reacciones químicas inducidas por las altas temperaturas. Además, los compuestos fenólicos se pueden ver afectados y, consecuentemente la actividad antioxidante de los vegetales consumidos (Juániz et al., 2016). En general, el tratamiento térmico (270 °C, 8 min) produjo un aumento o mantenimiento en la actividad antioxidante y contenido total de fenoles de los calçots estudiados. En el asado, el desencadenamiento de las reacciones de Maillard a altas temperaturas (160 °C) pueden contribuir a la reducción de los niveles de polifenoles (Palermo et al.,

2014), pero a su vez, los productos formados en dichas reacciones podrían ser los responsables del aumento en el contenido total de fenoles y actividad antioxidante (Sharma et al., 2015).

Por último, los participantes del panel no entrenado valoraron con mayor puntuación a los calçots V3 y V4 y dicha puntuación fue aumentando a lo largo del tiempo de almacenamiento en poscosecha indicando una buena aceptación del producto. Por tanto, los calçots provenientes de la variedad de cebolla "Montferri" y plantados en Viladecans presentaron las mayores puntuaciones, indicando que el tiempo de plantación no tuvo efecto significativo sobre la calidad sensorial de dichos calçots.

4.2. Efecto de la variedad, lugar y tiempo de plantación sobre la calidad del calçot mínimamente procesado

La calidad de los productos MP puede verse generalmente afectada por factores precosecha como el lugar de cultivo o la variedad empleada y poscosecha como las condiciones de almacenamiento del material fresco o las operaciones llevadas a cabo durante la elaboración del producto de IV gama (Aguayo et al., 2004; Cabezas-Serrano et al., 2009; Silveira et al., 2013). Además, una de las características de la industria de IV gama es la constante necesidad de introducir nuevas variedades de producto fresco, ya que la innovación es un factor fundamental a la hora de satisfacer las expectativas de los consumidores (Blanco-Díaz et al., 2016; Putnik et al., 2017; Silveira et al., 2017).

En el segundo apartado del *Capítulo 4* de la presente tesis se evaluó el efecto de diferentes condiciones de precosecha (variedad, lugar y tiempo de plantación) y el tiempo de almacenamiento en poscosecha (0, 15 y 30 días) sobre la calidad fisicoquímica, microbiológica y sensorial del calçot MP. En primer lugar, no se observó un efecto claro de la variedad, lugar y tiempo de plantación sobre los parámetros de calidad (color, firmeza, peso, sólidos solubles, acidez y pH) de los calçots MP a lo largo del estudio de vida útil (10 días, 4 °C). A los 15 días de almacenamiento en poscosecha más 10 días de almacenamiento en refrigeración, los calçots MP procedentes de la variedad tradicional y Montferri plantados en el mismo lugar y al mismo tiempo (V2 y V4), presentaron una tendencia similar en los valores de sólidos solubles y acidez. Diversos estudios han demostrado que la variedad tiene un gran efecto sobre la calidad de las hortalizas MP. En el estudio realizado por Blanco-Díaz et al. (2016) en calabacín MP envasado en MAP, se observó que la variedad tuvo un efecto significativo sobre el color y los sólidos solubles durante los 10 días de almacenamiento en refrigeración. Muratore et al. (2015) observaron que el color de las cabezas de alcachofa MP dependía de la variedad y las de la variedad "Violet de Provence" mantuvieron mayores valores en comparación con las de "Tema 2000" a lo largo del periodo de almacenamiento en refrigeración (16 días). Además, Odriozola-Serrano et al. (2008) estudiaron el efecto de la variedad de tomate en diferentes parámetros de calidad de los tomates MP y observaron que hubo diferencias significativas entre variedades respecto a los parámetros de color CIELab. En el presente estudio, el tiempo de almacenamiento en poscosecha tuvo un efecto significativo sobre los parámetros mencionados anteriormente, siendo generalmente superiores a los valores obtenido en aquellos calçots almacenados durante 30 días. Por tanto, el factor poscosecha pudo tener mayor efecto que los factores precosecha sobre la calidad fisicoquímica de los calçots MP. Entre todas las muestras estudiadas, los calçots MP de la variedad V3 fueron aquellos que conservaron en mayor medida la calidad inicial a lo largo de la vida útil.

En general, ni los factores precosecha ni el tiempo de almacenamiento en poscosecha tuvieron efecto sobre la calidad microbiológica de los calçots MP y además, la población de aerobios mesófilos, levaduras y mohos se mantuvo constante a lo largo del tiempo de almacenamiento en

refrigeración. Los resultados obtenidos demostraron que el tratamiento de desinfección con ácido peroxiacético (80 mg L^{-1}) en el procesado mínimo de los calçots fue efectivo tanto en la reducción de la población inicial como en el mantenimiento de los recuentos de dichos microorganismos a lo largo de los 10 días de almacenamiento en refrigeración. Este tratamiento de desinfección fue escogido de acuerdo a los resultados obtenidos en el *Capítulo 7* de la presente tesis. Asimismo, Silveira et al. (2017) observaron que el tiempo de almacenamiento en poscosecha, el tipo de corte y la variedad no tuvieron efecto sobre el crecimiento de los mohos en las patatas MP. Además, el crecimiento de las levaduras se vio solo afectado por el tipo de corte y la variedad en aquellas patatas almacenadas en poscosecha durante 4 meses. Sin embargo, en el estudio realizado por Licciardello et al. (2017), el genotipo, el tiempo de cosecha y el almacenamiento afectaron a la calidad microbiológica de las cabezas de alcachofa MP. En dicho estudio las cabezas de alcachofa MP se desinfectaron con hipoclorito de sodio (cloro activo 0.23 g L^{-1}) durante 5 min, se envasaron en MAP y se almacenaron a $4 \pm 0.5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 12 días. Los recuentos de todos los microorganismos estudiados aumentaron a lo largo del tiempo de almacenamiento en refrigeración, excepto los de los aerobios mesófilos, los cuales se mantuvieron constantes.

Los recuentos de aerobios mesófilos y de mohos y levaduras de los calçots MP durante y al final de la vida útil no excedieron los límites de 8 log ufc g^{-1} y 5 log ufc g^{-1} propuestos por CNERNA-CNRS (1996), respectivamente. Se tienen en cuenta estas recomendaciones ya que actualmente, la legislación española no contempla el recuento máximo tanto de microorganismos aerobios mesófilos como de levaduras y mohos en frutas y hortalizas MP en la producción y al final de la vida útil de las mismas. El Real Decreto 3484/2000 del 29 de diciembre, por el que se establecían las normas de higiene para la elaboración, distribución y comercio de comidas preparadas fue derogado.

Por último, en general, los calçots MP estudiados en el presente capítulo presentaron altas puntuaciones de calidad sensorial por parte del panel no entrenado. Cabe destacar que dichas puntuaciones disminuyeron entre el día 0 y día 6 de almacenamiento en refrigeración, pero siempre presentando altos porcentajes ($> 50 \%$) de panelistas que puntuaron por encima del valor 7. Los calçots MP procedentes de la variedad "Montferri" plantados en Viladecans durante el mes de septiembre (V3) obtuvieron las mayores puntuaciones. En el estudio realizado por Licciardello et al. (2017) observaron que la calidad general de las cabezas de alcachofa MP percibida por los panelistas no era significativamente diferente entre los tres genotipos de alcachofa cosechada en abril.

5. Evaluación del efecto de la conservación poscosecha en atmósferas controladas o frío sobre la calidad del calçot entero y del tipo de envasado sobre la calidad del calçot mínimamente procesado

5.1. Efecto del tipo de la atmósfera y tiempo de almacenamiento en poscosecha sobre la calidad del calçot entero y asado

El objetivo del almacenamiento de los calçots en aire o atmósferas controladas no es solo alargar su disponibilidad durante más tiempo ya que estos vegetales están sujetos al límite de la estacionalidad, sino que además es mantener la máxima calidad y limitar las pérdidas por factores bióticos y abióticos (Petropoulos et al., 2016b). Los calçots se almacenan habitualmente en un almacenamiento común, utilizando frío, aire ambiental para mantener la temperatura y humedad relativa óptima. Sin embargo, diversos estudios han demostrado que el almacenamiento en atmósferas con baja concentración de O₂ y CO₂ (atmósferas controladas) puede alargar el tiempo de almacenamiento de frutas y hortalizas, manteniendo la calidad de las mismas. En el estudio presentado en el *Capítulo 5* de la presente tesis, el sistema de pallets Palliflex400 (Van Amerongen, Biezenwei, Holanda) permitió establecer tres atmósferas diferentes dentro de una misma cámara de conservación.

En general, los calçots proporcionados por la Cooperativa de Valls y almacenados en diferentes atmósferas durante 30 o 60 días no sufrieron grandes cambios en cuanto a las características morfológicas y además, se mantuvieron dentro de los límites morfológicos establecidos por la Indicación Geográfica Protegida (IGP) "Calçot de Valls". El mayor efecto del tipo de atmósfera de conservación utilizada y el tiempo de almacenamiento se pudo observar en el peso, tasa de respiración e índice de pardeamiento de los calçots. En primer lugar, los calçots almacenados en CA2 (1,0 kPa O₂ + 2,0 kPa CO₂) no sufrieron una pérdida de peso tan grande como aquellos almacenados en CA1 (2,0 kPa O₂ + 3,5 kPa CO₂) o aire después de 60 días de almacenamiento a 1 °C. Esto pudo ser debido a la baja tasa de respiración presentada por los calçots almacenados en la atmósfera con menor concentración de O₂ (CA2). La exposición de las frutas u hortalizas frescas a atmósferas con baja concentración de oxígeno hace que se reduzcan las tasas de respiración y producción de etileno (Kader, 2016) tal y como se ha podido observar en el presente estudio. A su vez, la tasa de respiración tiene efecto sobre la pérdida de masa, ya que hay pérdidas de carbón. Sin embargo, la mayor parte de la pérdida de masa es en función de la pérdida de vapor de agua (Brackmann et al., 2014). Asimismo, Praeger et al. (2003) observaron que durante el almacenamiento en aire (21,0 kPa O₂) las cebollas perdían un 1 % de su peso cada 9 semanas y el almacenamiento en 1,0 kPa O₂ retrasó la pérdida de peso, alcanzando una pérdida del 2.8 % después de 36 semanas de almacenamiento. Además, la reducción de la concentración de O₂ a 0,5 kPa o 1,0 kPa redujo significativamente la producción de CO₂ después de todos los periodos de almacenamiento (9, 18, 27 o 36 semanas). Resultados similares se observaron en el estudio realizado Özden y Bayindirli (2002), donde los pimientos almacenados en CA (3,0 kPa O₂ + 3,0 kPa CO₂) presentaron una mayor retención de peso en comparación con aquellos almacenados en aire. Al mismo tiempo, el uso de una baja concentración de O₂ y elevada de CO₂ fue muy eficiente en la reducción de la tasa de respiración y permitió alargar la vida útil de los pimientos. Existen muy pocos estudios donde se analice la relación directa entre la pérdida de peso y la tasa de respiración y uno de ellos es el realizado por Brackmann et al. (2014). En dicho estudio se pudo verificar que la respiración tuvo un efecto significativo sobre la pérdida de masa de los caquis "Fuyu", siendo responsable del 24 % de la pérdida de masa total.

Las composiciones atmosféricas óptimas retrasan la pérdida de la clorofila (color verde) y la biosíntesis y oxidación de los compuestos fenólicos (color marrón) (Kader, 2016). Sin embargo, en el presente estudio a pesar de que a los 30 días el índice de pardeamiento de la zona blanca era superior en aquellos calçots almacenados en aire, el incremento en el tiempo de almacenamiento de 30 a 60 días produjo un incremento en el índice de todas las muestras, igualándose los valores. Sin embargo, Fernández-León et al. (2013) observaron que la disminución del color verde y el aumento del color amarillo fue mayor en aquellos brócolis almacenados en aire que en CA (10,0 kPa O₂ + 5,0 kPa CO₂) después de 21 días a 1-2 °C. Existen muy pocos estudios donde se utilice el sistema Palliflex y uno de ellos es el realizado por Sahin et al. (2015). En dicho estudio las uvas se almacenaron en cinco composiciones atmosféricas diferentes en el sistema de almacenamiento Palliflex a 0 °C durante 90 días. Los mayores valores de croma se obtuvieron en aquellas uvas almacenadas en PL-1 (aire) y los menores en PL-4 (2,0 kPa O₂ + 5,0 kPa CO₂). Además, los valores más altos del ángulo de tono (Hue) se obtuvieron en aquellas uvas almacenadas en PL-4 y los más bajos en PL-5 (1,0 kPa O₂ + 2,5 kPa CO₂).

Las atmósferas con baja concentración de O₂ pueden reducir la disminución del contenido total de fenoles y esto podría ser debido a la inhibición de la actividad de PPO y la oxidación (Li et al., 2015). Además, normalmente los vegetales presentan mayor tasa de respiración cuando se almacenan en aire y esto conlleva a un aumento en el metabolismo con su consecuente degradación de compuestos fenólicos (Fernández-León et al., 2013). Sin embargo, en el presente estudio, el contenido total de fenoles era superior en las muestras almacenadas en aire que en CA, así como la actividad antioxidante y el contenido de flavonoides. No obstante, no se pudo observar una tendencia clara sobre el efecto del tiempo de almacenamiento en las diferentes atmósferas sobre las propiedades antioxidantes del calçot. En el estudio realizado con el sistema Palliflex por Selcuk y Erkan (2015), se observó que los nísperos almacenados en CA (2,0 kPa O₂ + 5,0 kPa CO₂) presentaron un contenido total de fenoles superior a aquellos almacenados en aire después de 60 días a 0 ± 0,5 °C. Sin embargo, no hubo diferencias respecto al contenido de flavonoides. En diversos estudios el contenido total de fenoles aumenta a medida que aumenta el tiempo de almacenamiento probablemente debido a la activación del metabolismo fenilpropanoide en respuesta al estrés por frío (Singh y Singh, 2013). Por ejemplo, Díaz-Mula et al. (2009) observaron que el contenido total de fenoles de diferentes variedades de ciruela aumentó significativamente durante el tiempo de almacenamiento (35 días) en CA (no específica concentraciones) a 2 °C. Sin embargo, dichos autores destacan que el patrón del cambio del contenido total de fenoles durante el almacenamiento en poscosecha puede variar entre especies (e incluso variedades) y puede verse afectado por diversos tratamientos poscosecha.

En el presente estudio, el efecto del tratamiento térmico (270 °C, 8 min) sobre las propiedades antioxidantes del calçot en general fue similar al observado en el *Capítulo 4*, es decir, se observó un aumento de la actividad antioxidante y una disminución del contenido de flavonoides. Los tratamientos térmicos a altas temperaturas como por ejemplo el asado, promueven la formación de melanoidinas con capacidad antioxidante que puede conllevar a un aumento en la actividad antioxidante de las hortalizas (Manzocco et al., 2001). Sin embargo, el contenido total de fenoles no presentó un patrón claro, ya que dependiendo de la atmósfera y tiempo de almacenamiento el contenido se mantuvo, aumentó o disminuyó. En los casos en los que se observó un aumento en el contenido total de fenoles, ese efecto pudo ser debido a la producción de metabolitos redox-activos secundarios (productos de la reacción de Maillard) o la ruptura de compuestos, dando lugar a una variación en el contenido de fenoles (Dini et al., 2013). No obstante, Hwang et al. (2012) observaron que el asado (190 °C, 5, 10 o 15 min) no afectó significativamente ($P < 0.05$) al contenido total de fenoles de los pimientos rojos en comparación con los frescos, aunque la actividad antioxidante a través del método DPPH se redujo en un 11,6-15,4 %.

La calidad sensorial de los calçots (asados) estuvo marcada por el tipo de atmósfera y el tiempo de almacenamiento. A los 30 días de almacenamiento, los calçots almacenados en CA presentaron mayores puntuaciones que aquellos almacenados en aire. Sin embargo, a los 60 días de almacenamiento, las muestras almacenadas en aire o CA1 presentaron mayores valores que aquellas almacenadas en CA2. El tiempo de almacenamiento solo tuvo efecto sobre la calidad sensorial de los calçots almacenados en aire. Cabe destacar que en todos los casos, la puntuación fue superior a 6 y que la puntuación máxima ($7,5 \pm 1,1$) se alcanzó en aquellos calçots almacenados en aire durante 60 días. Ali et al. (2016) estudiaron el efecto de diferentes CA y tiempos de almacenamiento sobre la calidad sensorial de los lichis. Las frutas almacenadas en CA presentaron mayores valores de gusto, aroma, y aceptación general que aquellas que habían sido conservadas en aire durante 28 días a 5 ± 1 °C. Entre las diferentes combinaciones de CA, las frutas almacenadas en 1 kPa O₂ + 5 kPa CO₂ presentaron mayores valores en los parámetros mencionados después de un periodo de 35 días.

5.2. Efecto de la digestión *in vitro* simulada sobre la actividad antioxidante y el contenido total de fenoles del calçot conservado en diferentes atmósferas y posteriormente asado

La digestión es un proceso complejo en el cual numerosos factores están involucrados y esto ha provocado el interés de la industria alimentaria ya que hay una creciente relación entre el alimento y la salud y a su vez, la reducción del desarrollo de ciertas enfermedades crónicas (Bornhorst et al., 2016). La estabilidad de los compuestos bioactivos durante la digestión gastrointestinal depende de su estructura y de la matriz alimentaria (Lucas-González et al., 2018). Por ende, los resultados obtenidos en el *Capítulo 3* y *Capítulo 5* podrían presentar variaciones debido a la diferencia en la matriz alimentaria (pera y calçot) y su estado (fresco y asado).

En el segundo apartado del *Capítulo 5*, en general, la digestión *in vitro* simulada (estática) produjo una disminución severa en la actividad antioxidante (DPPH: 56-81 %; FRAP: 41-62 %), independientemente de la atmósfera y tiempo de almacenamiento. Resultados similares se observaron en el *Capítulo 3* de la presente tesis con peras enteras y MP. En el presente estudio el contenido total de fenoles aumentó a lo largo de la digestión en comparación con la extracción química, a diferencia de los resultados obtenidos en el *Capítulo 3*. Las altas temperaturas inducen cambios que pueden ser positivos para la biodisponibilidad de los compuestos fenólicos, como la degradación o modificación de la pared celular de los polisacáridos, proteínas y otros factores dando lugar a un aumento en la extractabilidad de los compuestos durante la digestión. Además, la biodisponibilidad en los alimentos tratados térmicamente en comparación con los frescos es el balance entre los compuestos que han sido destruidos durante el procesado y aquellos que permanecen, los cuales pueden ser liberados y absorbidos gracias a los cambios en la matriz inducidos por el tratamiento térmico (Ribas-Agustí et al., 2017).

La liberación de los compuestos fenólicos de la matriz después de la fase gástrica podría ser debida a la ruptura de la unión de esos compuestos con las proteínas, fibra o residuos azucarados. Dicho hecho podría ser atribuido al pH ácido y a la actividad enzimática, la cual aumenta la extractabilidad de los compuestos fenólicos de la matriz (Lucas-Gonzalez et al., 2016). Además, el aumento del contenido total de fenoles en la fase gástrica podría ser debido a la hidrólisis ácida de los glucósidos fenólicos a sus agliconas (Bouayed et al., 2011). El pequeño aumento observado tras la fase intestinal podría ser debido al tiempo adicional de extracción (centrifugación en este caso) a través del efecto de las enzimas intestinales sobre la matriz alimentaria, facilitando la liberación de los fenoles unidos a la matriz (Carbonell-Capella et al., 2014).

No obstante, en la mayoría de los estudios en los que se observa un aumento tras la fase gástrica, ese aumento viene seguido de una disminución tras la fase intestinal. Fawole et al. (2015) observaron que el contenido total de fenoles de la piel, pulpa y zumo de granada aumentó significativamente ($P > 0.05$) tras la fase gástrica y el contenido disminuyó significativamente tras la fase duodenal en comparación con la fase gástrica. Asimismo, Rodríguez-Roque et al. (2013) indicaron que el contenido total de fenoles de zumo multifrutas (naranja, kiwi y piña) aumentó tras la fase gástrica seguida de una disminución tras la fase intestinal. Resultados similares se obtuvieron en el estudio realizado por Lucas-Gonzalez et al. (2016) con un tipo de baya llamado maqui. Existen diferentes teorías acerca del descenso del contenido total de fenoles tras la fase intestinal. Por un lado, las condiciones neutras o alcalinas alcanzadas durante la fase intestinal, junto con la posible interacción entre los polifenoles y otros componentes como las enzimas, podría explicar el descenso observado en dichos estudios (Carbonell-Capella et al., 2015). Por otro lado, una proporción de los compuestos fenólicos son transformados en diferentes formas estructurales con diferentes propiedades químicas y diferente biodisponibilidad y actividad biológica (Bermúdez-Soto et al., 2007).

5.3. Evaluación de la aptitud del calçot al procesado mínimo, conservado en atmósfera controlada para obtener dos tipos de productos, un calçot mínimamente procesado envasado en atmósfera modificada y otro al vacío

Generalmente, la calidad de las frutas y hortalizas MP es evaluada desde el punto de vista nutricional, sensorial y de seguridad alimentaria. El deterioro de la apariencia, color, sabor y textura podría influir en la vida útil y en la aceptación del producto (Ma et al., 2017). Asimismo, las bajas temperaturas y el envasado en MAP son habitualmente utilizados con el objetivo de retrasar los procesos metabólicos y extender la vida útil de los productos MP (López-Gálvez et al., 2015). El envasado en MAP ha sido extensamente utilizado como técnica de conservación en alimentos ya que afecta mínimamente a las características del producto y es percibido por parte de los consumidores como una técnica natural y libre de aditivos (Cortellino et al., 2015). Sin embargo, diversos estudios similares al que se presenta en el *Capítulo 6* de la presente tesis, realizan una comparación entre el envasado en MAP y el envasado al vacío (VAC) ya que este último inhibe el progreso de las reacciones oxidativas y el crecimiento de los microorganismos aerobios (Rocha et al., 2003). El estudio presentado en el *Capítulo 6* es la continuación del *Capítulo 5*, es decir, los calçots que presentaron mejores características morfológicas, fisicoquímicas y nutricionales fueron los seleccionados para realizar el estudio de procesado mínimo y envasado. Asimismo, los calçots almacenados en CA2 (1,0 kPa O₂ + 2,0 kPa CO₂) durante 30 o 60 días se procesaron mínimamente, envasaron en MAP pasiva o VAC y almacenaron a 4 °C durante 15 días.

Las heridas causadas en el procesado mínimo podrían inducir a una serie de eventos complejos diseñados para reparar el daño causado en los tejidos. Una de las respuesta más comunes al daño causado es el aumento de la tasa de respiración (Surjadinata y Cisneros-Zevallos, 2003). El rápido descenso observado en el contenido de O₂ en todos los envases MAP después de 3 días de almacenamiento refleja la alta tasa de respiración debida al estrés producido por el procesado mínimo (Akbas y Ölmez, 2007). Sin embargo, la elección adecuada del film en base al estudio previo realizado dentro del mismo grupo de investigación (Aguiló-Aguayo et al., 2015), permitió llegar a un equilibrio entre la concentración de O₂ y CO₂ en el espacio de cabeza y mantener unos niveles estables hasta el día 15 del almacenamiento en refrigeración. Cabe destacar que no se pudo medir la concentración de gases dentro de los envases de VAC ya que el envase estaba completamente fijado a los calçots, sin espacio alguno. Resultados similares se observaron en el estudio realizado por Tomás-Callejas et al. (2011), donde la presión parcial de O₂ y CO₂ de las

acelgas MP envasadas en MAP pasiva disminuyó hasta 15,8 kPa y aumentó hasta 4,8 kPa después de 8 días a 5 °C, respectivamente. No obstante, Lee et al. (2011) observaron que el nivel de O₂ del repollo MP envasado en MAP pasiva disminuyó hasta 12,0-13,0 kPa después de 10 días a 5 °C, pero el gas CO₂ no se acumuló por encima de 2,0 kPa debido al film utilizado. Por ende, la composición gaseosa dentro de un envase MAP depende principalmente de la temperatura, peso del producto, tasa de respiración, tasa de transmisión de O₂ y CO₂ del film, y área total de respiración (Oliveira et al., 2010). En el caso de las cebollas MP, la tasa de respiración depende de muchos factores y unos de los más importantes son la temperatura de almacenamiento y el tipo de corte (Bahram-Parvar y Lim, 2018).

El contenido total de sólidos solubles en los tejidos vegetales está principalmente relacionado con la presencia de azúcares solubles y, ácidos orgánicos, vitaminas y proteínas en menor cantidad (Pinela et al., 2016). En general, en el presente estudio los valores de sólidos solubles y acidez fueron superiores en los calçots MP envasados en MAP que en VAC. A pesar de los cambios observados en el contenido de sólidos solubles a lo largo del tiempo, las diferencias entre los valores de los calçots MP envasados en MAP y VAC previamente almacenados tanto durante 30 como 60 días eran menores que 1 % (1 °Brix), es decir, es el límite a partir del cual un panelista entrenado medio podría percibir diferencias entre ambos productos (Harker et al., 2002).

El pH de las cebollas puede verse afectado por las condiciones de procesado y almacenamiento como la temperatura o el tipo de corte. El tipo de corte es muy importante ya que por ejemplo el corte en dados da lugar a una mayor acidez y menor pH que el corte en rodajas (Berno et al., 2014). En el presente estudio los valores del pH fueron disminuyendo en aquellos calçots MP envasados en MAP (hasta 5,8) y aumentando en los envasados en VAC (hasta 7,0) a lo largo del almacenamiento en refrigeración (15 días). En ambos casos, los valores eran inferiores en aquellos almacenados previamente durante 60 días en CA, al contrario que en los valores de acidez. Los cambios observados en los valores de pH de los calçots MP envasados en VAC durante el periodo de almacenamiento en refrigeración podrían estar asociados a un crecimiento microbiano y una posterior producción de ácido orgánicos (Heard, 2002). El aumento de pH es típico de los vegetales en los cuales los microorganismos Gram-negativos juegan un papel muy importante en la alteración microbiológica (Jacxsens et al., 2003). En el estudio realizado por Simón y Gonzalez-Fandos (2011) en espárragos frescos pelados, se observó que la temperatura, el tipo de film y el tiempo de almacenamiento tuvo un efecto significativo sobre el pH de las muestras. Además, encontraron una correlación negativa ($P \leq 0,001$) entre el pH y la acidez ($R = -0,905$). No obstante, Oliveira et al. (2010) observaron que el envasado en MAP no tuvo efecto significativo sobre el pH de la lechuga MP en todas las condiciones estudiadas y se mantuvo alrededor de 6,0-6,6 a 25 °C y 6,3-6,5 a 5 °C. Asimismo, Giménez et al. (2003) observaron que el pH de las alcachofas MP envasadas en MAP con diferentes tipos de films, se mantuvo alrededor de 6,3-6,9 durante los 15 días de almacenamiento a 4 °C. Además, Rocha et al. (2003) observaron que el pH de las patatas MP envasadas al vacío disminuyó después de 7 días a 4-6 °C, el cual se correlacionó con el incremento observado en la acidez. Sin embargo, esos cambios no fueron significativos así como los cambios observados en los valores de sólidos solubles.

El color es uno de los parámetros utilizados por los consumidores para juzgar la calidad de las cebollas MP (similar a los calçots), y el color podría incluso afectar a los umbrales de gusto y percepción (Bahram-Parvar y Lim, 2018). En el presente estudio el envasado al vacío permitió mantener el índice de pardeamiento similar al inicial en los calçots MP, a pesar del pequeño pico observado en el día 3 de almacenamiento en refrigeración. En cambio, el índice de pardeamiento de los calçots MP envasados en MAP aumentó progresivamente a lo largo del almacenamiento alcanzando valores muy superiores (alrededor de 9,0) a los obtenidos con VAC (alrededor de 6,0)

después de 15 días a 4 °C. Sin embargo, Hong y Kim (2004) observaron que el color de las cebollas MP no se vio afectado por el tipo de envasado (MAP pasiva o VAC), pero sí por el tiempo de almacenamiento. A los 28 días se desarrolló un color amarillento en las hojas verdes que no se pudo observar a los 21 días de almacenamiento. Asimismo, Pinela et al. (2016) observaron que ninguno de los tipos de envasado (MAP pasiva y VAC) estudiados indujo el amarillamiento de los berros MP. Tomás-Callejas et al. (2011) observaron un ligero aumento en el valor L^* de las acelgas MP envasadas en MAP durante su vida útil (8 días). Sin embargo, ese aumento no fue percibido por los consumidores ya que diferencias de L^* menores a 3 unidades no son detectables para el ojo humano. Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que el envasado en VAC es más eficiente a la hora de mantener el color de los calçots MP. Las muestras envasadas en VAC están expuestas a un ambiente bajo en oxígeno y, por ende, el pardeamiento enzimático es probablemente inhibido debido a la exclusión de ese gas necesario para la reacción de pardeamiento (Denoya et al., 2015).

Las frutas y hortalizas MP son particularmente susceptibles al ataque microbiano debido a los procesos que se llevan a cabo durante su elaboración (p.ej., pelado o corte) (Ma et al., 2017). Asimismo, el envasado bajo condiciones atmosféricas apropiadas puede ser efectivo para el control del crecimiento de microorganismos en la superficie de las frutas y hortalizas MP (Rojas-Grau et al., 2009). En el presente estudio, el tipo de envasado tuvo un efecto significativo sobre los recuentos de aerobios mesófilos totales, siendo superiores en aquellos calçots MP envasados en MAP sin un claro efecto del tiempo de almacenamiento previo en poscosecha. Sin embargo, en el estudio realizado por Hong y Kim (2004) los recuentos de los microorganismos aerobios mesófilos de las cebollas MP envasadas en MAP activa, pasiva y VAC eran similares, siendo algo menores en aquellas envasadas en VAC después de 28 días a 10 °C. El tipo de film utilizado para el envasado puede afectar al crecimiento de los microorganismos en la superficie de las frutas y hortalizas MP tal y como se pudo observar en el estudio realizado por Giménez et al. (2003). En dicho estudio se estudió el efecto de diferentes films y se observó que el crecimiento de los microorganismos mesófilos estaba correlacionado con la composición atmosférica dentro del envase, particularmente con los niveles de CO_2 . Además, la población de microorganismos mesófilos de las alcachofas MP envasadas en envases con films de PVC aumentó a lo largo del tiempo almacenamiento en refrigeración (15 días), mientras que la de las envasadas en envases con films P-Plus se mantuvo constante. Es necesario remarcar que los recuentos tanto de los calçots MP envasados en MAP como en VAC se mantuvieron por debajo del límite de $8,0 \log \text{ufc g}^{-1}$ propuesto por CNERNA-CNRS (1996) a lo largo de todo el tiempo de almacenamiento en refrigeración y al final de su vida útil (15 días). Farber (1991) sugiere varias teorías para explicar el efecto antimicrobiano del dióxido de carbono en los productos envasados en MAP e incluye la inhibición directa de los sistemas enzimáticos o disminución de la tasa de las reacciones enzimáticas; alteración de la función de la membrana celular incluyendo la absorción de nutrientes; la penetración gaseosa a través de las membranas bacterianas dando lugar a una disminución del pH intracelular; cambios directos en las propiedades físicas y químicas de las proteínas. Sin embargo, Caleb et al. (2013) destaca que el efecto inhibitorio del CO_2 no es universal y depende de la microbiota nativa presente y las características del producto.

El tipo de envasado y tiempo de almacenamiento en poscosecha no tuvieron un claro efecto sobre el crecimiento de mohos y levaduras. Solo se pudo observar que a los 6 días de vida útil, los calçots MP envasados en MAP y previamente almacenados en poscosecha durante 30 días presentaron mayores recuentos que aquellos envasados al vacío. En general, los recuentos de los calçots MP se mantuvieron constantes a lo largo de la vida útil (15 días). González-Aguilar et al. (2004) observaron que la población microbiana más afectada debido al envasado de pimientos MP en MAP fue la de las levaduras y bacterias lácticas. Además, el efecto del envasado al vacío sobre la

población microbiana fue ensombrecido por el efecto de la temperatura. El tipo de film utilizado puede afectar a la población de mohos y levaduras tal y como se pudo observar en el estudio realizado por (Simón et al., 2008) en coliflor MP envasadas en MAP. En dicho estudio los mayores recuentos de mohos se observaron en las coliflores MP envasadas con film perforado de PVC, seguido del film de prolipropileno, donde unos pequeños puntos negros fueron observados tras 20 días de almacenamiento a 4 u 8 °C. Mientras que con el film no perforado de PVC no se observaron ni mohos ni puntos negros. Es necesario remarcar que los recuentos de mohos y levaduras tanto de los calçots MP envasados en MAP como en VAC se mantuvieron por debajo del límite de 5,0 log ufc g⁻¹ propuesto por CNERNA-CNRS (1996) a lo largo de todo el tiempo de almacenamiento en refrigeración y al final de su vida útil (15 días). Por encima de ese número, se puede producir un efecto negativo sobre las propiedades sensoriales, caracterizada por la producción de gas, desarrollo de malos olores y formación de colonias visibles (Jacxsens et al., 2003).

6. Evaluación y optimización de diferentes sistemas de limpieza y desinfección del calçot

La etapa de lavado y desinfección es una etapa esencial en el procesado mínimo ya que se elimina la materia extraña, los microorganismos de la superficie del producto vegetal y del agua de lavado, y los exudados celulares producidos por el corte (Pirovani et al., 2004). Los sistemas de lavado basados en cloro han sido ampliamente utilizados por la mayoría de las empresas de IV gama con el objetivo de reducir la contaminación microbiológica de los vegetales MP con una alta eficiencia (Botondi et al., 2016). Sin embargo, los productos basados en cloro tienen efectos negativos como la formación de subproductos carcinógenos. Asimismo, los investigadores y la industria alimentaria están intentado reemplazar el cloro en la operación de desinfección e incorporar desinfectantes alternativos como el ácido peroxiacético o tratamientos con calor suave con el objetivo de mejorar la calidad visual, vida útil y seguridad de los productos MP (Van de Velde et al., 2013). En el *Capítulo 7* de la presente se comparó el efecto del hipoclorito de sodio (NaClO) con el del ácido peroxiacético (PAA) y el tratamiento con calor sobre la calidad microbiológica, fisicoquímica y visual de los calçots MP.

Los productos MP son susceptibles a la contaminación y consecuente supervivencia y/o crecimiento de microorganismos dando lugar a preocupaciones de seguridad y una vida útil relativamente corta (Vandekinderen et al., 2009b). En los productos MP los microorganismos alterantes proliferan rápidamente debido a su fácil accesibilidad a los nutrientes resultantes del procesado (Page et al., 2016). Por tanto, la elección de un desinfectante adecuado es esencial para reducir la carga microbiana durante la etapa de lavado y desinfección del producto MP y evitar así la proliferación de los microorganismos a lo largo de su vida útil. En primer lugar, en el presente estudio, las operaciones de pre-acondicionamiento del producto (procesado mínimo) que incluían la eliminación de la raíz, la capa exterior y gran parte de las hojas verdes hizo que la población tanto de mesófilos aerobios como de mohos y levaduras se redujese considerablemente. Estas operaciones previas han sido previamente optimizadas en estudios anteriores realizados dentro del mismo grupo de investigación (Aguiló-Aguayo et al., 2015), ya que el calçot es un producto proveniente de la tierra con una alta carga de suciedad. Entre los tratamientos de desinfección estudiados en la presente tesis, el tratamiento con agua caliente (55 °C, 1 min) produjo una mayor reducción de la población de mesófilos aerobios en comparación con NaClO (100 mg L⁻¹, 1 min) y PAA (80 mg L⁻¹, 1 min). Sin embargo, la población de los calçots MP tratados con calor aumentó a lo largo del tiempo de almacenamiento en refrigeración (15 días, 4 °C). Además, cabe destacar que el cloro libre presente en el agua de lavado disminuyó considerablemente tras la desinfección,

indicando que parte del cloro libre se pudo quedar en la superficie del calçot MP. En cambio, la medida de peracético se mantuvo constante y eso puede dar lugar a una reutilización de la solución desinfectante y a su vez, a un ahorro de agua y económico. Resultados similares se observaron en el estudio realizado por Ansorena et al. (2011), donde los recuentos de aerobios mesófilos de los brócolis MP tratados con calor (1,5 min, 50 °C) aumentaron a lo largo del almacenamiento en refrigeración (5°C), alcanzando valores de 7 log ufc g⁻¹ en el día 11 de almacenamiento. Asimismo, Sgroppo and Pereyra (2009) no observaron diferencias en los recuentos de aerobios mesófilos totales entre el control y los pimientos MP tratados con calor (55 °C y 60 °C; 180 s), y al final del almacenamiento (10 días), los recuentos de bacterias mesófilas y mohos y levaduras estaban por encima del límite de tolerancia de 8 log ufc g⁻¹ a las dos temperaturas de almacenamiento (4 °C y 10 °C). Lamikanra et al. (2005) afirman que la ventaja del tratamiento con calor se limita a una reducción inicial del crecimiento bacteriano durante los primeros días de almacenamiento. Vandekinderen et al. (2009b) observaron que entre todos los tratamientos de desinfección estudiados (PAA: 80 y 250 mg L⁻¹; NaClO: 20 y 200 mg L⁻¹) en puerro MP, el PAA con una concentración de 250 mg L⁻¹ fue el único que consiguió mayores reducciones que el lavado con agua potable. El mismo grupo de investigación (Vandekinderen et al., 2009c) estudió el efecto de dichos tratamientos desinfectantes sobre la microbiota del repollo MP y observaron que los tratamientos con 200 mg L⁻¹ NaClO y 80 y 250 mg L⁻¹ PAA redujeron la población entre 3 y 5 veces más que el tratamiento con agua potable. En el estudio realizado con zanahoria MP almacenada a 7 °C (Vandekinderen et al., 2009a), los recuentos de aerobios llegaron a valores inaceptables (8 log ufc g⁻¹) a los 3-4 días en aquellas no tratadas y a los 5 días en aquellas tratadas con agua o con 80 mg L⁻¹ PAA. Sin embargo, las bacterias aerobias no crecieron significativamente (P<0.05) en las zanahorias MP tratadas con 250 mg L⁻¹ PAA. Las diferencias observadas en el presente estudio y los estudios mencionados podrían relacionarse con la diferencia en los recuentos iniciales, tiempo de tratamiento, la proporción de producto-desinfectante, temperatura y la concentración utilizada. Además, se debe tener en cuenta que aunque el PAA a 250 mg L⁻¹ suele ser más efectivo, en países como EEUU se recomienda utilizar una concentración máxima de 80 mg L⁻¹ en las aguas de lavado de frutas y hortalizas (Van de Velde et al., 2013). Es necesario remarcar que los recuentos de todos los calçots MP se mantuvieron muy por debajo del límite de 8,0 log ufc g⁻¹ propuesto por CNERNA-CNRS (1996) a lo largo de todo el tiempo de almacenamiento en refrigeración y al final de su vida útil (15 días).

En el caso de los mohos y levaduras, los tres tratamientos estudiados produjeron una mayor reducción que el lavado con agua. Además, los recuentos se mantuvieron estables en todos los calçots MP durante el tiempo de almacenamiento en refrigeración, independientemente del tratamiento de desinfección aplicado. En el estudio realizado por Page et al. (2016) el tipo de desinfectante tuvo efecto sobre la población de mohos y levaduras de las cebollas MP. Las cebollas MP tratadas durante 2 min con cloro (80 mg L⁻¹ cloro libre) presentaron significativamente menores recuentos que aquellas tratadas con PAA (80 mg L⁻¹) a lo largo del tiempo de almacenamiento (14 días, 7 °C) independientemente del tipo de envasado utilizado. En el estudio realizado por Vandekinderen et al. (2009a) en zanahoria MP, las levaduras proliferaron rápidamente en aquellas tratadas con agua llegando a valores inaceptables a los 4 días de almacenamiento a 7 °C. En las zanahorias MP tratadas con 80 mg L⁻¹ PAA las levaduras empezaron a crecer a los 3 días, llegando a 5 log ufc g⁻¹ a los 5 días. Sin embargo, no se observaron levaduras en las muestras tratadas con 250 mg L⁻¹ PAA. En el estudio realizado por Allende et al. (2008) se observó que el lavado con agua y el tratamiento con NaClO 100 mg L⁻¹ consiguieron una mayor reducción de la población inicial de mohos y levaduras de la escarola MP en comparación con 80 µL L⁻¹ de Tsunami™ (compuesto por ácido peroxiacético y peróxido de hidrógeno). Es necesario remarcar que los recuentos de mohos y levaduras de todos los calçots MP se mantuvieron muy por debajo del límite de 5,0 log ufc g⁻¹

propuesto por CNERNA-CNRS (1996) a lo largo de todo el tiempo de almacenamiento en refrigeración y al final de su vida útil (15 días).

El nivel de pH es indicativo del sabor de los vegetales; las condiciones de procesado y almacenamiento pueden afectar al pH de las muestras (Ayub et al., 2013). Los valores de acidez y pH de los calçots MP se mantuvieron constantes a lo largo del almacenamiento, con un pequeño pico de acidez en el día 3 de almacenamiento. Además, no hubo diferencias entre los tratamientos de desinfección aplicados. Del mismo modo, Sgroppo y Pereyra (2009) observaron que los valores de acidez de los pimientos MP tratados con calor (55 °C y 60 °C; 180 s) y almacenados a 4 °C fueron constantes (15 días). Además, Alegria et al. (2009) mostraron que las diferencias entre los valores de pH de todas las zanahorias MP tratadas (cloro, ozono, US o calor) y las no tratadas no excedieron de 0,2 unidades de pH. Sin embargo, en el estudio realizado por Vandekinderen et al. (2009a), el pH de las zanahorias MP en el día 0 disminuyó significativamente después del lavado con agua o utilizando PAA (80 mg L⁻¹ o 250 mg L⁻¹) y esta disminución fue causada por el pH ácido de la solución de PAA utilizada para la desinfección de las zanahorias. El cambio del pH a lo largo del almacenamiento en las zanahorias no tratadas y en aquellas tratadas con 80 mg L⁻¹ PAA fue diferente: un ligero descenso los primeros 3 días, seguido de un descenso marcado en la segunda mitad del periodo de almacenamiento (7 días). Asimismo, Page et al. (2016) observaron que las cebollas MP tratadas con cloro (80 mg L⁻¹ cloro libre) tuvieron un mayor pH que aquellas tratadas con PAA (80 mg L⁻¹). Diversos autores sugieren que los cambios en el pH de las frutas y hortalizas tratadas con desinfectantes podrían ser debidos al crecimiento microbiano a lo largo del almacenamiento en refrigeración (Forney et al., 2012; Vandekinderen et al., 2009a). En el presente estudio dicha relación se podría confirmar ya que los recuentos tanto de bacterias aerobias mesófilas, mohos y levaduras como los valores de pH se mantuvieron constantes a lo largo del almacenamiento en refrigeración (15 días, 4 °C). En el caso del contenido de sólidos solubles, el contenido aumentó en los calçots MP control y tratados con calor y disminuyó en aquellos tratados con los desinfectantes químicos a lo largo del almacenamiento en refrigeración. No obstante, Silveira et al. (2008) observaron que los pequeños cambios detectados en el contenido de sólidos solubles no mostraron diferencias significativas (P>0.05) entre los tratamientos desinfectantes estudiados (80 mg L⁻¹ PAA y 150 mg L⁻¹ NaClO; 1 min) y además, las piezas de melón mantuvieron la acidez a lo largo del almacenamiento (10 días, 5 °C). De igual forma, Botondi et al. (2016) demostraron que el tratamiento desinfectante (100 mg L⁻¹ Tsunami™ y 50 mg L⁻¹ NaClO; 3 min) no tuvo un efecto significativo sobre el contenido de sólidos solubles del melón MP. Sin embargo, Alegria et al. (2009) observaron que las zanahorias MP tratadas con calor (100 °C, 45 s) presentaron menores valores de sólidos solubles que aquellas tratadas con cloro (200 mg L⁻¹ cloro libre, 1 min, 5 °C).

El peso es un parámetro de calidad crucial, ya que la pérdida de peso conlleva una pérdida económica. Además, la pérdida de peso tiene un gran impacto sobre la apariencia, debido al encogimiento (Ansorena et al., 2011). Los valores de pérdida de peso y firmeza de todos los calçots MP se mantuvieron relativamente constantes hasta el día 6 de almacenamiento en refrigeración, a partir del cual se produjo un gran aumento tanto en los valores de pérdida de peso como de firmeza. Asimismo, no hubo diferencias entre los diferentes tratamientos desinfectantes aplicados. Un efecto similar se pudo observar en el estudio realizado por Kim et al. (2005), donde la firmeza de las cebollas MP tratadas con calor (50 °C, 20 s) no exhibieron un cambio consistente durante los primeros 8 días de almacenamiento (14 días, 4 °C), pero a partir de ese día hubo un descenso pronunciado de la firmeza. Sin embargo, Page et al. (2016) observaron que el tipo de desinfectante aplicado tuvo efecto sobre la pérdida de peso de las cebollas MP y aquellas tratadas con PAA presentaron menores valores de pérdida de peso que las tratadas con cloro. Siddiq et al. (2013) estudiaron el efecto de diferentes temperaturas (50, 60 y 70 °C; 1 min) sobre la pérdida de peso de

las cebollas MP. En dicho estudio, después de 21 días de almacenamiento en refrigeración, se observó que las cebollas MP tratadas a 50 °C presentaron menor pérdida de peso y plantearon la hipótesis de que el tratamiento con calor por encima de 50 °C podría afectar a la estructura de los tejidos causando algunos encogimientos. Además, todas las muestras exhibieron una pérdida de peso significativa a lo largo del almacenamiento en refrigeración (4 ± 1 °C). Según Ohta et al. (2002) las pérdidas de peso superiores a un 5 % pueden limitar la comercialización y distribución de los productos enteros. Teniendo en cuenta este criterio, los calçots MP de todos los tratamientos serían comercializables hasta el día 9 de almacenamiento ya que a partir de ese día las pérdidas superaron el 5 %, excepto en las muestras tratadas con NaClO 100 mg L⁻¹.

El color y la apariencia atraen a los consumidores al producto y pueden ayudar a impulsar su compra. A la hora de la compra los consumidores utilizan los factores de apariencia para aportar una indicación de frescura y sabor (Barrett et al., 2010). El tratamiento desinfectante no tuvo un efecto significativo sobre el color de la zona blanca de los calçots MP. En general, el color de la parte blanca del calçot MP se mantuvo constante a lo largo del almacenamiento en refrigeración en todas las muestras estudiadas. Se observó un ligero incremento en el día 6 pero sin diferencias significativas ($P > 0,05$) respecto al día inicial. Asimismo, Page et al. (2016) indicaron que ninguno de los tratamientos estudiados afectó al pardeamiento y amarillamiento de las cebollas MP. Ese mismo efecto se pudo observar en repollos MP tratados con agua, PAA o NaClO (Vandekinderen et al., 2009c) y en cebollas MP y puerros MP tratados a diferentes temperaturas (Siddiq et al., 2013; Tsouvaltzis et al., 2006). Sin embargo, Vandekinderen et al. (2009b) destacaron que el efecto del PAA sobre el color de la zona blanca de los puerros MP era dependiente de la concentración utilizada.

Por último, la calidad visual de los calçots MP tratados con desinfectantes químicos y el control fue disminuyendo a lo largo del almacenamiento en refrigeración. Sin embargo, la calidad visual de los calçots MP tratados con calor se mantuvo con una puntuación cercana a 9 a lo largo de todo el tiempo de almacenamiento en refrigeración. Cabe destacar que los calçots MP tratados con NaClO y PAA presentaron el mismo patrón con una puntuación cercana a 5 (límite de comercialización) al final del tiempo de almacenamiento en refrigeración (15 días), pudiendo ser el PAA una alternativa al uso de cloro.

7. Evaluación de la aplicación de ultrasonidos como pre-tratamiento con el objetivo de mejorar la desinfección, calidad físico-química y nutricional del calçot mínimamente procesado fresco

7.1. Efecto del tratamiento con ultrasonidos a diferentes tiempos sobre la desinfección, calidad físico-química, actividad antioxidante y compuestos antioxidantes del calçot mínimamente procesado fresco o asado

La aplicación de ultrasonidos como pre-tratamiento en los productos frescos es un método relativamente nuevo. El tratamiento con ultrasonidos es capaz de inactivar algunos microorganismos, y ha sido recomendado como una etapa de desinfección alternativa en la industria de productos frescos (Cao et al., 2010). Los ultrasonidos podrían ser prometedores si se utilizasen como un pre-tratamiento auxiliar a los desinfectantes en la reducción de la población inicial de microorganismos (Ding et al., 2015). En los estudios en los que se utilizan los ultrasonidos (US) con el objetivo de descontaminar, las lechugas, espinacas, zanahorias rayadas, tomates cherry, y fresas han sido utilizadas como materiales vegetales de estudio (Bilek y Turantaş, 2013). En el estudio presentado en el *Capítulo 8* de la presente tesis, el objetivo fue aplicar los ultrasonidos (40 kHz, 250 W) como un tratamiento auxiliar a la desinfección de calçot MP con NaClO.

La reducción microbiana debida a los US es muy importante desde el punto de vista de la descontaminación verde y del concepto de métodos de inhibición o eliminación barrera/obstáculo (Bilek y Turantaş, 2013). El daño o disrupción de los microorganismos debido a los US es extensamente atribuido a la cavitación acústica, la cual es, la ruptura de los líquidos cuando se aplican US de alta intensidad y los efectos producidos por el movimiento de las cavidades generadas (Alzamora et al., 2011). En el presente estudio los calçots MP primero fueron sometidos a un baño con NaClO 100 mg L⁻¹ durante 1 min y posteriormente se les aplicó el tratamiento US a diferentes tiempos (0, 10, 25 y 45 min). A pesar de que el objetivo era establecer un sistema de barreras u obstáculos, este efecto solo se pudo conseguir en los calçots MP tratados con US durante 45 min, logrando una reducción de 1,0 unidad logarítmica respecto a los calçots MP tratados solo con NaClO. Cabe destacar que todos los recuentos estaban por debajo de 6,0 log ufc g⁻¹. Sin embargo, Ding et al., (2015) observaron que el tratamiento con US durante 10 min en las mismas condiciones que en el presente estudio, produjo una reducción de 0,71 y 0,52 log ufc g⁻¹ en bacterias aerobias totales de los tomates cherry y fresas, respectivamente. do Rosário et al. (2017) observaron que el tratamiento con US (40 kHz, 50 W) durante 5 min redujo la población de aerobios mesófilos de las fresas en 1,0 unidad logarítmica. Además, en dicho estudio el tratamiento solo con US no difirió estadísticamente ($P > 0.05$) del tratamiento de US con ácido ascórbico. Igualmente, Susana Rivera et al. (2011) observaron que el tratamiento con US (35 kHz, 10 min) promovió la eliminación de 1,0 log ufc g⁻¹ de microorganismos mesófilos en *Tuber aestivum* trufas. Asimismo, Brillhante São José y Dantas Vanetti (2012) mostraron que el tratamiento con US (45 kHz, 10 min) dio lugar a una reducción de 1,0 log ufc g⁻¹ de microorganismos aerobios mesófilos de los tomates cherry. En dicho estudio la combinación de US con dióxido de cloro produjo el doble de reducción, concluyendo que dicho valor era mayor que la suma de las reducciones promovidas por cada tratamiento individual. Las diferencias observadas entre los diferentes estudios podrían ser atribuidas a las diferentes propiedades superficiales de los alimentos como la hidrofobia, carga eléctrica, y aspereza/rugosidad los cuales pueden influir en la adhesión y distribución de las células bacterianas en la superficie del alimento (Araújo et al., 2010).

En general, el pre-tratamiento con ultrasonidos no tuvo un efecto significativo sobre el color (índice de pardeamiento, ángulo de tono (Hue) y diferencia de color (ΔE^*)), firmeza y peso de los calçots MP y además, no hubo diferencias significativas ($P>0.05$) entre los diferentes tiempos (0, 10, 25 y 45 min) aplicados. Según Zhang et al. (2013) los ultrasonidos tienen la capacidad de promover la degradación de la pectina y así, causar una disminución de la firmeza. En los alimentos sólidos, los ultrasonidos podrían dañar la estructura de la pared celular de los vegetales, de este modo induciendo cambios en la textura (Gabaldón-Leyva et al., 2007). Además, Aday et al. (2013) sugieren que la disminución de la firmeza con potencias superiores a 90 W puede atribuirse al efecto de los US sobre la estabilidad de la pared celular, la cual conlleva a una pérdida de agua. Sin embargo, dichos efectos no se pudieron observar en el presente estudio. Ding et al. (2015) observaron que la firmeza de los tomates cherry tratados con ultrasonidos (40 kHz, 240 W, 10 min) era significativamente menor ($P<0.05$) que la firmeza de las muestras control. No obstante, bajo las mismas condiciones la firmeza de las fresas después del tratamiento de ultrasonidos no cambió significativamente. Además, Birmpa et al. (2013) observaron que el tratamiento con US (37 kHz, 30 W L⁻¹) durante <45 min no afectó significativamente a la apariencia y textura de las lechugas y fresas. Asimismo, en el mismo estudio el tratamiento con US solo afectó al color de las lechugas y fresas cuando se aplicaron tiempos superiores a 30 min. Resultados similares se observaron en el estudio realizado por Sagong et al. (2011), donde el tratamiento con US (40 kHz, 30 W L⁻¹, 5 min) no cambió significativamente ($P>0.05$) la textura y el color de la lechuga el mismo día del tratamiento y durante los 7 días de almacenamiento a 4 °C.

Durante la cavitación, se forman radicales hidroxilos y dichos radicales pueden reaccionar con compuestos alimenticios fácilmente oxidables. Depende del proceso y de la matriz, los efectos químicos de la cavitación acústica podrían ser o beneficiosos o perjudiciales (Soria y Villamiel, 2010). La actividad antioxidante de los alimentos depende de multitud de factores, incluyendo el grado de hidroxilación, y los radicales que se generan durante la sonicación pueden ser utilizados para aumentar dicho grado de hidroxilación (Ashokkumar et al., 2008; de São José et al., 2014). Sin embargo, la formación de radicales se considera una desventaja para la conservación de la bioactividad de los componentes alimenticios como por ejemplo los compuestos fenólicos (de São José et al., 2014). En el presente estudio, el tratamiento con US no tuvo efecto significativo sobre la actividad antioxidante (métodos DPPH y FRAP) y el contenido total de fenoles de los calçots MP, independientemente del tiempo aplicado. Asimismo, Santos et al. (2015) mostraron que el tratamiento con US (25 kHz, 55 W L⁻¹) durante 30 min no tuvo efecto significativo sobre la actividad antioxidante (ABTS⁺) y el contenido total de fenoles de los mangos MP. Resultados similares se pudieron observar en los estudios realizados por Lagnika et al. (2014, 2013) en champiñones. Sin embargo, Yeoh y Ali (2017) observaron que la actividad antioxidante (DPPH y FRAP) y el contenido total de fenoles de las piñas MP aumentó después del tratamiento con US (37 kHz) a diferentes potencias (25 y 29 W) y tiempos (10 y 15 min). Asimismo, Muzaffar et al. (2016) y Gani et al. (2016) mostraron que el tratamiento con US (33 kHz, 60 W) a diferentes tiempos (0, 10, 20, 30, 40 o 60 min) produjo un aumento en la actividad antioxidante (DPPH) y contenido total de fenoles de las cerezas y fresas. El aumento de contenido total de fenoles observado en dichos estudios podría ser debido a una mejor extracción de los polifenoles debido a una mejor disrupción del material de la pared celular (Muzaffar et al., 2016). Además, ese aumento se puede atribuir a la hidroxilación de los flavonoles los cuales podrían tener un efecto positivo en la actividad antioxidante (Soria y Villamiel, 2010).

Los calçots como se ha ido mencionando a lo largo de la discusión de la presente tesis, se consumen habitualmente asados. En el presente estudio el tratamiento térmico (270 °C, 8 min) aplicado produjo un aumento generalizado en la actividad antioxidante (métodos DPPH y FRAP) y no tuvo efecto significativo sobre el contenido total de fenoles de los calçots MP, independientemente del

tiempo aplicado durante el tratamiento con US. Resultados similares se obtuvieron en los estudios presentados en los *Capítulos 4 y 5* de la presente tesis. En resumen, el aumento de la actividad antioxidante tras el proceso térmico pudo ser debido a: (1) la liberación de una gran cantidad de compuestos antioxidantes debido a la destrucción térmica de las células y de los compartimentos subcelulares; (2) la producción de antioxidantes con gran capacidad de secuestro de radicales; (3) supresión de la capacidad de oxidación de los antioxidantes debida a la inactivación térmica de las enzimas oxidativas; (4) producción de nuevos no-nutrientes antioxidantes o la formación de nuevos compuestos como los compuestos de la reacción de Maillard los cuales tienen actividad antioxidante (Jiménez-Monreal et al., 2009; Morales y Babel, 2002).

7.2. Efecto de la digestión *in vitro* simulada sobre la actividad antioxidante y el contenido total de fenoles del calçot mínimamente procesado tratado con ultrasonidos fresco o asado

La estimación del valor nutricional de los alimentos esta habitualmente basada en la concentración nativa de los nutrientes y fotoquímicos. Sin embargo, esos datos son obtenidos mediante la extracción directa con disolventes acuosos orgánicos, siendo sustancialmente diferente de las condiciones de extracción del tracto digestivo (Bouayed et al., 2012). En general, en el presente estudio la actividad antioxidante y el contenido total de fenoles de los calçots MP disminuyeron drásticamente tras el proceso de digestión *in vitro*, independientemente del tiempo aplicado en el tratamiento con US (0, 10 y 25 min) y de su estado (fresco o asado). Resultados similares se pudieron observar en el estudio presentado en el *Capítulo 3* de la presente tesis. El tratamiento con US se suele utilizar como un sistema extractor para la obtención de compuestos bioactivos. Sin embargo, en el presente estudio no se pudo observar un claro efecto del tratamiento con US sobre la bioaccesibilidad de la actividad antioxidante y el contenido total de fenoles de los calçots MP. Resultados similares se pudieron observar en el estudio realizado por Ramírez-Moreno et al. (2018), donde tanto el contenido total de fenoles como la actividad antioxidante de los zumos de moras tratados con US (20 kHz, 1500 W) a diferentes tiempos (0, 15 y 25 min) y amplitudes (60 y 80 %) disminuyeron drásticamente tras la digestión *in vitro*. En el estudio realizado por Buniowska et al. (2017) el zumo de fruta exótica tratado con US (24 kHz, 400 W) presentó una mayor pérdida del contenido total de fenoles tras la digestión *in vitro* que aquel tratado con pulsos eléctricos. Recientes estudios han evaluado el efecto del tratamiento con US sobre la bioaccesibilidad de otros compuestos como el licopeno. Por ejemplo, Anese et al. (2015, 2013) estudiaron el efecto el tratamiento con US sobre la bioaccesibilidad del licopeno de la pulpa de tomate.

El tratamiento térmico de los vegetales podría tener influencia sobre la abundancia fitoquímica y la formación de compuestos de degradación, y también ejercer un efecto sobre la bioaccesibilidad de los compuestos bioactivos afectando la matriz alimentaria y su microestructura (Barba et al., 2017). En el presente estudio, la disminución fue más severa en aquellos calçots MP asados que en los frescos. La razón pudo haber sido que los compuestos antioxidantes formados durante el proceso térmico fueran más sensibles e inestables a los cambios de pH. En el reciente estudio publicado por de Lima et al. (2017), se estudió el efecto de tres tratamientos térmicos diferentes (hervir, vapor y microondas) sobre la bioaccesibilidad de los fenoles totales y la actividad antioxidante de la yuca. En dicho estudio se produjo un descenso drástico en el contenido total de fenoles y actividad antioxidante tras la digestión *in vitro* y la bioaccesibilidad fue similar en todas las muestras estudiadas. En el estudio realizado por Rodríguez-Roque et al. (2015) observaron que el procesado (pulsos eléctricos, altas presiones hidrostáticas o tratamiento térmico) tuvo una influencia variable sobre la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos en los zumos estudiados. Recientes estudios han evaluado el efecto de diferentes tratamientos térmicos sobre la

bioaccesibilidad de otros compuestos. Por ejemplo, Palmero et al. (2014) estudiaron el efecto del tratamiento térmico sobre la bioaccesibilidad del β -caroteno de las zanahorias naranjas y el licopeno de las zanahorias rojas y tomates rojos.

Para completar el presente estudio y como perspectiva de futuro, se podría estudiar el efecto de la termosonicación dado que los resultados con temperaturas suaves y el impacto no negativo de los US en la calidad del producto hace que sea una tecnología prometedora. Además, se podría comparar con la combinación de soluciones antioxidantes o soluciones desinfectantes con ultrasonidos.

Referencias

- Abadias, M., Altisent, R., Usall, J., Torres, R., Oliveira, M., Viñas, I., 2014. Biopreservation of fresh-cut melon using the strain *Pseudomonas graminis* CPA-7. *Postharvest Biol. Technol.* 96, 69-77. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.05.010>
- Adamicki, F., 2016. Onion, en: Gross, K.C., Wang, C., Saltveit, M.E. (Eds.), *The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks*. Agricultural Research Service. USDA., Beltsville, MD, pp. 436-440.
- Aday, M.S., Temizkan, R., Büyükcan, M.B., Caner, C., 2013. An innovative technique for extending shelf life of strawberry: Ultrasound. *LWT - Food Sci. Technol.* 52, 93-101. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.09.013>
- Aguayo, E., Escalona, V.H., Artés, F., 2004. Metabolic Behavior and Quality Changes of Whole and Fresh Processed Melon. *J. Food Sci.* 69, 148-155. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb06356.x>
- Aguayo, E., Requejo-Jackman, C., Stanley, R., Woolf, A., 2010. Effects of calcium ascorbate treatments and storage atmosphere on antioxidant activity and quality of fresh-cut apple slices. *Postharvest Biol. Technol.* 57, 52-60. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.03.001>
- Aguiló-Aguayo, I., Simó, J., Ivars, N., Villaró, S., Zudaire, L., Echeverria, G., Plaza, L., Abadias, M., Viñas, I., 2015. Suitability of the 'calçots' (*Allium cepa* L.) for minimal processing, en: 2nd Euro-Mediterranean Symposium on Fruit and Vegetable Processing. Avignon, France.
- Akbas, M., Ölmez, H., 2007. Effectiveness of organic acid, ozonated water and chlorine dippings on microbial reduction and storage quality of fresh-cut iceberg lettuce. *J. Sci. Food Agric.* 87, 2609-2616.
- Alandes, L., Hernando, I., Quiles, A., Pérez-Munuera, I., Lluch, M.A., 2006. Cell wall stability of fresh-cut fuji apples treated with calcium lactate. *J. Food Sci.* 71. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00180.x>
- Alandes, L., Pérez-Munuera, I., Llorca, E., Quiles, A., Hernando, I., 2009. Use of calcium lactate to improve structure of 'Flor de Invierno' fresh-cut pears. *Postharvest Biol. Technol.* 53, 145-151. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.03.006>
- Alegre, I., Viñas, I., Usall, J., Anguera, M., Abadias, M., 2011. Microbiological and physicochemical quality of fresh-cut apple enriched with the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Food Microbiol.* 28, 59-66. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.08.006>
- Alegria, C., Pinheiro, J., Gonçalves, E.M., Fernandes, I., Moldão, M., Abreu, M., 2009. Quality attributes of shredded carrot (*Daucus carota* L. cv. Nantes) as affected by alternative decontamination processes to chlorine. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 10, 61-69. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2008.08.006>
- Ali, S., Khan, A.S., Malik, A.U., Shahid, M., 2016. Effect of controlled atmosphere storage on pericarp browning, bioactive compounds and antioxidant enzymes of litchi fruits. *Food Chem.* 206, 18-29. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.021>
- Allende, A., Selma, M. V., López-Gálvez, F., Villaescusa, R., Gil, M.I., 2008. Role of commercial sanitizers and washing systems on epiphytic microorganisms and sensory quality of fresh-cut

escarole and lettuce. *Postharvest Biol. Technol.* 49, 155-163. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.12.010>

Alzamora, S.M., Guerrero, S.N., Schenk, M.L., Raffellini, S., López-Malo, A., 2011. Inactivation of microorganisms, en: Feng, H., Barbosa-Cánovas, G. V, Weiss, J. (Eds.), *Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing*. New York, USA, pp. 321-344. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7472-3>

Anese, M., Bot, F., Panozzo, A., Mirolo, G., Lippe, G., 2015. Effect of ultrasound treatment, oil addition and storage time on lycopene stability and *in vitro* bioaccessibility of tomato pulp. *Food Chem.* 172, 685-691. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.140>

Anese, M., Mirolo, G., Beraldo, P., Lippe, G., 2013. Effect of ultrasound treatments of tomato pulp on microstructure and lycopene *in vitro* bioaccessibility. *Food Chem.* 136, 458-463. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.013>

Ansorena, M.R., Marcovich, N.E., Roura, S.I., 2011. Impact of edible coatings and mild heat shocks on quality of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea* L.) during refrigerated storage. *Postharvest Biol. Technol.* 59, 53-63. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.08.011>

Araújo, E.A., de Andrade, N.J., da Silva, L.H.M., de Carvalho, A.F., de Silva, C.A.S., Ramos, A.M., 2010. Control of microbial adhesion as a strategy for food and bioprocess technology. *Food Bioprocess Technol.* 3, 321-332. <https://doi.org/10.1007/s11947-009-0290-z>

Ashokkumar, M., Sunartio, D., Kentish, S., Mawson, R., Simons, L., Vilku, K., Versteeg, C. (Kees), 2008. Modification of food ingredients by ultrasound to improve functionality: A preliminary study on a model system. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 9, 155-160. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.05.005>

Attri, S., Singh, N., Singh, T.R., Goel, G., 2017. Effect of *in vitro* gastric and pancreatic digestion on antioxidant potential of fruit juices. *Food Biosci.* 17, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2016.10.003>

Ayón-Reyna, L.E., González-Robles, A., Rendón-Maldonado, J.G., Báez-Flores, M.E., López-López, M.E., Vega-García, M.O., 2017. Application of a hydrothermal-calcium chloride treatment to inhibit postharvest anthracnose development in papaya. *Postharvest Biol. Technol.* 124, 85-90. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.10.009>

Ayub, R.A., Spinardi, B., Gioppo, M., 2013. Storage and fresh cut radish. *Acta Sci. Agron.* 35, 241-245. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v35i2.15461>

Bahram-Parvar, M., Lim, L.-T., 2018. Fresh-cut onion: A review on processing, health benefits, and shelf-life. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 0. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12331>

Barba, F.J., Mariutti, L.R.B., Bragagnolo, N., Mercadante, A.Z., Barbosa-Cánovas, G. V., Orlie, V., 2017. Bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables after thermal and nonthermal processing. *Trends Food Sci. Technol.* 67, 195-206. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.07.006>

Barbagallo, R.N., Chisari, M., Caputa, G., 2012. Effects of calcium citrate and ascorbate as inhibitors of browning and softening in minimally processed 'Birgah' eggplants. *Postharvest Biol. Technol.* 73, 107-114. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.06.006>

Barrett, D.M., Beaulieu, J.C., Shewfelt, R., 2010. Color, flavor, texture, and nutritional quality of fresh-cut fruits and vegetables: Desirable levels, instrumental and sensory measurement, and the effects of processing. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 50, 369-389. <https://doi.org/10.1080/10408391003626322>

Belge, B., Goulao, L.F., Comabella, E., Graell, J., Lara, I., 2017. Refrigerated storage and calcium dips of ripe 'Celeste' sweet cherry fruit: Combined effects on cell wall metabolism. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 219, 182-190. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.02.039>

Bermúdez-Soto, M.-J., Tomás-Barberán, F.-A., García-Conesa, M.-T., 2007. Stability of polyphenols in chokeberry (*Aronia melanocarpa*) subjected to *in vitro* gastric and pancreatic digestion. *Food Chem.* 102, 865-874. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.025>

Berno, N.D., Tezotto-Uliana, J.V., dos Santos Dias, C.T., Kluge, R.A., 2014. Storage temperature and type of cut affect the biochemical and physiological characteristics of fresh-cut purple onions. *Postharvest Biol. Technol.* 93, 91-96. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.02.012>

Bilek, S.E., Turantaş, F., 2013. Decontamination efficiency of high power ultrasound in the fruit and vegetable industry, a review. *Int. J. Food Microbiol.* <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.06.028>

Birmpa, A., Sfika, V., Vantarakis, A., 2013. Ultraviolet light and Ultrasound as non-thermal treatments for the inactivation of microorganisms in fresh ready-to-eat foods. *Int. J. Food Microbiol.* 167, 96-102. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.06.005>

Blanco-Díaz, M.T., Pérez-Vicente, A., Font, R., 2016. Quality of fresh cut zucchini as affected by cultivar, maturity at processing and packaging. *Packag. Technol. Sci.* 29, 365-382. <https://doi.org/10.1002/pts.2214>

Bornhorst, G.M., Gouseti, O., Wickham, M.S.J., Bakalis, S., 2016. Engineering Digestion: Multiscale Processes of Food Digestion. *J. Food Sci.* 81, R534-R543. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13216>

Botondi, R., Moscetti, R., Massantini, R., 2016. A comparative study on the effectiveness of ozonated water and peracetic acid in the storability of packaged fresh-cut melon. *J. Food Sci. Technol.* 53, 2352-2360. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2207-y>

Bouayed, J., Deußer, H., Hoffmann, L., Bohn, T., 2012. Bioaccessible and dialysable polyphenols in selected apple varieties following *in vitro* digestion vs. their native patterns. *Food Chem.* 131, 1466-1472. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.030>

Bouayed, J., Hoffmann, L., Bohn, T., 2011. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food Chem.* 128, 14-21. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.052>

Brackmann, A., Thewes, F.R., Anese, R.O., Both, V., de Gasperin, A.R., 2014. Respiration rate and its effect on mass loss and chemical qualities of 'Fuyu' persimmon fruit stored in controlled atmosphere. *Cienc. Rural* 44, 612-615. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782014000400006>

Brilhante São José, J.F., Dantas Vanetti, M.C., 2012. Effect of ultrasound and commercial sanitizers in removing natural contaminants and *Salmonella enterica* Typhimurium on cherry tomatoes. *Food Control* 24, 95-99. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.09.008>

Buniowska, M., Carbonell-Capella, J.M., Frigola, A., Esteve, M.J., 2017. Bioaccessibility of bioactive compounds after non-thermal processing of an exotic fruit juice blend sweetened with *Stevia rebaudiana*. *Food Chem.* 221, 1834-1842. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.093>

Cabezas-Serrano, A.B., Amodio, M.L., Cornacchia, R., Rinaldi, R., Colelli, G., 2009. Suitability of five different potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.) to be processed as fresh-cut products. *Postharvest Biol. Technol.* 53, 138-144. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.03.009>

Caleb, O.J., Mahajan, P. V., Al-Said, F.A.J., Opara, U.L., 2013. Modified atmosphere packaging technology of fresh and fresh-cut produce and the microbial consequences-A review. *Food Bioprocess Technol.* 6, 303-329. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0932-4>

Cao, S., Hu, Z., Pang, B., Wang, H., Xie, H., Wu, F., 2010. Effect of ultrasound treatment on fruit decay and quality maintenance in strawberry after harvest. *Food Control* 21, 529-532. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.08.002>

Carbonell-Capella, J.M., Buniowska, M., Barba, F.J., Esteve, M.J., Frigola, A., 2014. Analytical methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables: A review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 13, 155-171. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12049>

Carbonell-Capella, J.M., Buniowska, M., Esteve, M.J., Frigola, A., 2015. Effect of *Stevia rebaudiana* addition on bioaccessibility of bioactive compounds and antioxidant activity of beverages based on exotic fruit mixed with oat following simulated human digestion. *Food Chem.* 184, 122-30. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.095>

Chávez-Mendoza, C., Vega-García, M.O., Guevara-Aguilar, A., Sánchez, E., Alvarado-González, M., Flores-Córdova, M.A., 2016. Effect of prolonged storage in controlled atmospheres on the conservation of the onion (*Allium cepa* L.) quality. *Emirates J. Food Agric.* 28, 842-852. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2016-06-643>

Chen, G.-L., Chen, S.-G., Zhao, Y.-Y., Luo, C.-X., Li, J., Gao, Y.-Q., 2014. Total phenolic contents of 33 fruits and their antioxidant capacities before and after *in vitro* digestion. *Ind. Crops Prod.* 57, 150-157. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.03.018>

Chope, G.A., Terry, L.A., White, P.J., 2007. The effect of the transition between controlled atmosphere and regular atmosphere storage on bulbs of onion cultivars SS1, Carlos and Renate. *Postharvest Biol. Technol.* 44, 228-239. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.12.018>

CNERNA-CNRS, 1996. Produits de la IV gamme, en: Jouve, J. (Ed.), La qualité microbiologique des aliments (maîtrise et critères). Polytechnica, Paris, pp. 73-98.

Cocci, E., Rocculi, P., Romani, S., Dalla Rosa, M., 2006. Changes in nutritional properties of minimally processed apples during storage. *Postharvest Biol. Technol.* 39, 265-271. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.12.001>

Colás-Medà, P., Abadias, M., Alegre, I., Usall, J., Viñas, I., 2015. Effect of ripeness stage during processing on *Listeria monocytogenes* growth on fresh-cut 'Conference' pears. *Food Microbiol.* 49, 116-122. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.01.019>

Colás-Medà, P., Abadias, M., Altisent, R., Alegre, I., Plaza, L., Gilibert, V., Lacomba, R., Viñas, I., 2016. Development of a fresh-cut product based on pears and the subsequent evaluation of Its shelf life under commercial conditions and after a cold chain break. *J. Food Nutr. Res.* 4, 582-591.

<https://doi.org/10.12691/jfnr-4-9-4>

Collazo, C., Giné-Bordonaba, J., Aguiló-Aguayo, I., Povedano, I., Bademunt, A., Viñas, I., 2018. *Pseudomonas graminis* strain CPA-7 differentially modulates the oxidative response in fresh-cut 'Golden delicious' apple depending on the storage conditions. *Postharvest Biol. Technol.* 138, 46-55. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.12.013>

Cortellino, G., Gobbi, S., Bianchi, G., Rizzolo, A., 2015. Modified atmosphere packaging for shelf life extension of fresh-cut apples. *Trends Food Sci. Technol.* 46, 320-330. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.06.002>

de Lima, A.C.S., da Rocha Viana, J.D., de Sousa Sabino, L.B., da Silva, L.M.R., da Silva, N.K.V., de Sousa, P.H.M., 2017. Processing of three different cooking methods of cassava: Effects on in vitro bioaccessibility of phenolic compounds and antioxidant activity. *LWT - Food Sci. Technol.* 76, 253-258. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.07.023>

de Oliveira, P.M., Ramos, A.M., Martins, E.M.F., Vieira, É.N.R., Soares, A. de S., de Noronha, M.C., 2017. Comparison of vacuum impregnation and soaking techniques for addition of the probiotic *Lactobacillus acidophilus* to minimally processed melon. *Int. J. Food Sci. Technol.* 52, 2547-2554. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13540>

de São José, J., de Andrade, N.J., Ramos, A.M., Vanetti, M., Stringheta, P., Chaves, J., 2014. Decontamination by ultrasound application in fresh fruits and vegetables. *Food Control* 45, 36-50. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.04.015>

Denoya, G.I., Vaudagna, S.R., Polenta, G., 2015. Effect of high pressure processing and vacuum packaging on the preservation of fresh-cut peaches. *LWT - Food Sci. Technol.* 62, 801-806. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.09.036>

Díaz-Mula, H.M., Zapata, P.J., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Serrano, M., Valero, D., 2009. Changes in hydrophilic and lipophilic antioxidant activity and related bioactive compounds during postharvest storage of yellow and purple plum cultivars. *Postharvest Biol. Technol.* 51, 354-363. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.09.007>

Ding, T., Ge, Z., Shi, J., Xu, Y.T., Jones, C.L., Liu, D.H., 2015. Impact of slightly acidic electrolyzed water (SAEW) and ultrasound on microbial loads and quality of fresh fruits. *LWT - Food Sci. Technol.* 60, 1195-1199. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.09.012>

Dini, I., Tenore, G.C., Dini, A., 2013. Effect of industrial and domestic processing on antioxidant properties of pumpkin pulp. *LWT - Food Sci. Technol.* 53, 382-385. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.01.005>

do Rosário, D.K.A., da Silva Mutz, Y., Peixoto, J.M.C., Oliveira, S.B.S., de Carvalho, R.V., Carneiro, J.C.S., de São José, J.F.B., Bernardes, P.C., 2017. Ultrasound improves chemical reduction of natural contaminant microbiota and *Salmonella enterica* subsp. *enterica* on strawberries. *Int. J. Food Microbiol.* 241, 23-29. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.10.009>

Dong, X., Wrolstad, R.E., Sugar, D., 2000. Extending shelf life of fresh-cut pears. *J. Food Sci.* 65, 181-186. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb15976.x>

Dong, Y., Zhang, S., Wang, Y., 2018. Compositional changes in cell wall polyuronides and enzyme activities associated with melting/mealy textural property during ripening following long-term storage of 'Comice' and 'd'Anjou' pears. *Postharvest Biol. Technol.* 135, 131-140.

<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.09.010>

Dufour, C., Loonis, M., Delosière, M., Buffière, C., Hafnaoui, N., Santé-Lhoutellier, V., Rémond, D., 2018. The matrix of fruit & vegetables modulates the gastrointestinal bioaccessibility of polyphenols and their impact on dietary protein digestibility. *Food Chem.* 240, 314-322. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.104>

Farber, J.M., 1991. Microbiological Aspects of Modified-Atmosphere Packaging Technology - A Review. *J. Food Prot.* 54, 58-70. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-54.1.58>

Fawole, O.A., Opara, U.L., Chen, L., 2015. Bioaccessibility of Total Phenolic Concentration and Antioxidant Capacity of Pomegranate Fruit Juice and Marc after In Vitro Digestion. *Acta Hort.* 1079, 285-290. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1079.34>

Fernández-León, M.F., Fernández-León, A.M., Lozano, M., Ayuso, M.C., González-gómez, D., 2013. Altered commercial controlled atmosphere storage conditions for 'Parhenon' broccoli plants (*Brassica oleracea* L. var. *italica*). Influence on the outer quality parameters and on the health-promoting compounds. *LWT - Food Sci. Technol.* 50, 665-672. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.07.028>

Forney, C.F., Jordan, M.A., Doucette, C., Grant, R., 2012. Influence of packaging on loss of aroma and quality of diced red onions. *Acta Hort.* 934, 523-530. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.934.69>

Gabaldón-Leyva, C.A., Quintero-Ramos, A., Barnard, J., Balandrán-Quintana, R.R., Talamás-Abbud, R., Jiménez-Castro, J., 2007. Effect of ultrasound on the mass transfer and physical changes in brine bell pepper at different temperatures. *J. Food Eng.* 81, 374-379. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.11.011>

Galvis Sánchez, A.C., Morais, A.M.M.B., 2002. Effects of controlled atmosphere (CA) storage on pectinmethylesterase (PME) activity and texture of 'Rocha' pears. *J. Sci. Food Agric.* 82, 143-145. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1014>

Gani, A., Baba, W.N., Ahmad, M., Shah, U., Khan, A.A., Wani, I.A., Masoodi, F.A., Gani, A., 2016. Effect of ultrasound treatment on physico-chemical, nutraceutical and microbial quality of strawberry. *LWT - Food Sci. Technol.* 66, 496-502. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.067>

Gayoso, L., Roxo, M., Cavero, R.Y., Calvo, M.I., Ansorena, D., Astiasarán, I., Wink, M., 2018. Bioaccessibility and biological activity of *Melissa officinalis*, *Lavandula latifolia* and *Origanum vulgare* extracts: Influence of an *in vitro* gastrointestinal digestion. *J. Funct. Foods* 44, 146-154. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.03.003>

Giacalone, G., Chiabrando, V., 2013. Effect of different treatments with calcium salts on sensory quality of fresh-cut apple. *J. Food Nutr. Res.* 52, 79-86.

Giménez, M., Olarte, C., Sanz, S., Lomas, C., Echávarri, J.F., Ayala, F., 2003. Relation between spoilage and microbiological quality in minimally processed artichoke packaged with different films. *Food Microbiol.* 20, 231-242. [https://doi.org/10.1016/S0740-0020\(02\)00146-6](https://doi.org/10.1016/S0740-0020(02)00146-6)

González-Aguilar, G.A., Ayala-Zavala, J.F., Ruiz-Cruz, S., Acedo-Félix, E., Díaz-Cinco, M.E., 2004. Effect of temperature and modified atmosphere packaging on overall quality of fresh-cut bell peppers. *LWT - Food Sci. Technol.* 37, 817-826. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.03.007>

Gorny, J.R., Hess-Pierce, B., Cifuentes, R.A., Kader, A.A., 2002. Quality changes in fresh-cut pear slices as affected by controlled atmospheres and chemical preservatives. *Postharvest Biol. Technol.* 24, 271-278. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(01\)00139-9](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(01)00139-9)

Harker, F.R., Marsh, K.B., Young, H., Murray, S.H., Gunson, F.A., Walker, S.B., 2002. Sensory interpretation of instrumental measurements 2: sweet and acid taste of apple fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 24, 241-250. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(01\)00157-0](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(01)00157-0)

Heard, G., 2002. Microbiology of fresh-cut produce, en: Lamikanra, O. (Ed.), *Fresh-cut Fruits and Vegetables: Science, Technology, and Market*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 187-248.

Hong, S.I., Kim, D., 2004. The effect of packaging treatment on the storage quality of minimally processed bunched onions. *Int. J. Food Sci. Technol.* 39, 1033-1041. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.00885.x>

Hwang, I.G., Shin, Y.J., Lee, S., Lee, J., Yoo, S.M., 2012. Effects of different cooking methods on the antioxidant properties of red pepper (*Capsicum annuum* L.). *Prev. Nutr. Food Sci.* 17, 286-292. <https://doi.org/10.3746/pnf.2012.17.4.286>

Iglesias, M.B., 2017. Bioconservación de pera mínimamente procesada mediante el uso de *Pseudomonas graminis* CPA-7 y *Lactobacillus rhamnosus* GG y su efecto en la calidad de la fruta y en la modificación del potencial patogénico de *Listeria monocytogenes*. Universitat de Lleida.

Iglesias, M.B., Echeverría, G., Viñas, I., López, M.L., Abadías, M., 2018. Biopreservation of fresh-cut pear using *Lactobacillus rhamnosus* GG and effect on quality and volatile compounds. *LWT - Food Sci. Technol.* 87, 581-588. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.025>

Iglesias, M.B., Viñas, I., Colás-Medà, P., Collazo, C., Serrano, J.C.E., Abadías, M., 2017. Adhesion and invasion of *Listeria monocytogenes* and interaction with *Lactobacillus rhamnosus* GG after habituation on fresh-cut pear. *J. Funct. Foods* 34, 453-460. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.05.011>

Jacxsens, L., Devlieghere, F., Ragaert, P., Vanneste, E., Debevere, J., 2003. Relation between microbiological quality, metabolite production and sensory quality of equilibrium modified atmosphere packaged fresh-cut produce. *Int. J. Food Microbiol.* 83, 263-280. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00376-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00376-8)

Jaime, P., Salvador, M.L., Oria, R., 2001. Respiration rate of sweet cherries: 'Burlat', 'Sunburst' and 'Sweetheart' cultivars. *J. Food Sci.* 66, 43-47. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb15579.x>

Javed, M.S., Randhawa, M.A., Butt, M.S., Nawaz, H., 2016. Effect of calcium lactate and modified atmosphere storage on biochemical characteristics of guava fruit. *J. Food Process. Preserv.* 40, 657-666. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12645>

Jiménez-Monreal, A.M., García-Diz, L., Martínez-Tomé, M., Mariscal, M., Murcia, M.A., 2009. Influence of cooking methods on antioxidant activity of vegetables. *J. Food Sci.* 74, 97-103. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01091.x>

Juániz, I., Ludwig, I.A., Huarte, E., Pereira-Caro, G., Moreno-Rojas, J.M., Cid, C., De Pe??a, M.P., 2016. Influence of heat treatment on antioxidant capacity and (poly)phenolic compounds of selected vegetables. *Food Chem.* 197, 466-473. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.139>

Kader, A.A., 2016. Controlled atmosphere storage, en: Gross, K.C., Wang, C.Y., Saltveit, M. (Eds.),

- The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks. Agricultural Research Service. USDA., Beltsville, MD, pp. 22-25.
- Kim, H.J., An, D.S., Ahn, G.H., Lee, D.S., 2010. Respiration rate of sweet persimmon fruit depending on cultivar, harvest date and temperature. *J. Food, Agric. Environ.* 8, 74-76.
- Kim, H.J., Feng, H., Toshkov, S., Fan, X., 2005. Effect of sequential treatment of warm water dip and low-dose gamma irradiation on the quality of fresh-cut green onions. *Food Microbiol. Saf.* 70, 179-185.
- Kou, X.-H., Guo, W., Guo, R., Li, X., Xue, Z., 2014. Effects of Chitosan, Calcium Chloride, and Pullulan Coating Treatments on Antioxidant Activity in Pear cv. "Huang guan" During Storage. *Food Bioprocess Technol.* 7, 671-681. <https://doi.org/10.1007/s11947-013-1085-9>
- Kou, X., Wu, M., Li, L., Wang, S., Xue, Z., Liu, B., Fei, Y., 2015. Effects of CaCl₂ dipping and pullulan coating on the development of brown spot on 'Huangguan' pears during cold storage. *Postharvest Biol. Technol.* 99, 63-72. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.08.001>
- Lagnika, C., Zhang, M., Mothibe, K.J., 2013. Effects of ultrasound and high pressure argon on physico-chemical properties of white mushrooms (*Agaricus bisporus*) during postharvest storage. *Postharvest Biol. Technol.* 82, 87-94. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.03.006>
- Lagnika, C., Zhang, M., Nsor-Atindana, J., Bashari, M., 2014. Effects of ultrasound and chemical treatments on white mushroom (*Agaricus bisporus*) prior to modified atmosphere packaging in extending shelf-life. *J. Food Sci. Technol.* 51, 3749-3757. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0904-8>
- Lamikanra, O., Bett-Garber, K.L., Ingram, D.A., Watson, M.A., 2005. Use of mild heat pre-treatment for quality retention of fresh-cut cantaloupe melon. *J. Food Sci.* 70, 53-57. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb09020.x>
- Lara, I., Belge, B., Goulao, L.F., 2014. The fruit cuticle as a modulator of postharvest quality. *Postharvest Biol. Technol.* 87, 103-112. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.08.012>
- Larrigaudière, C., Ubach, D., Soria, Y., Rojas-Graü, M.A., Martín-Belloso, O., 2008. Oxidative behaviour of fresh-cut 'Fuji' apples treated with stabilising substances Christian. *J. Sci. Food Agric.* 88, 1770-1776. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3279>
- Lee, H.H., Hong, S.I., Kim, D., 2011. Microbiological and visual quality of fresh-cut cabbage as affected by packaging treatments. *Food Sci. Biotechnol.* 20, 229-235. <https://doi.org/10.1007/s10068-011-0031-8>
- Li, H., Zhu, Y., Luo, F., He, H., Yuan, H., Gao, J., Zeng, X., Huang, C., 2015. Use of controlled atmospheres to maintain postharvest quality and improve storage stability of a novel red-fleshed kiwifruit (*Actinidia chinensis* Planch. var. *rufopulpa* [C.F. Liang et R.H. Huang] C.F. Liang et A.R. Ferguson). *J. Food Process. Preserv.* 39, 907-914. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12303>
- Licciardello, F., Pandino, G., Barbagallo, R.N., Lombardo, S., Restuccia, C., Muratore, G., Mazzaglia, A., Strano, M.G., Mauromicale, G., 2017. Quality traits of ready-to-use globe artichoke slices as affected by genotype, harvest time and storage time. Part II: Physiological, microbiological and sensory aspects. *LWT - Food Sci. Technol.* 79, 554-560. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.003>
- López-Gálvez, F., Ragaert, P., Haque, M.A., Eriksson, M., van Labeke, M.C., Devlieghere, F., 2015.

High oxygen atmospheres can induce russet spotting development in minimally processed iceberg lettuce. *Postharvest Biol. Technol.* 100, 168-175. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.10.001>

Lucas-Gonzalez, R., Navarro-Coves, S., Pérez-Álvarez, J.A., Fernández-López, J., Muñoz, L.A., Viuda-Martos, M., 2016. Assessment of polyphenolic profile stability and changes in the antioxidant potential of maqui berry (*Aristotelia chilensis* (Molina) Stuntz) during in vitro gastrointestinal digestion. *Ind. Crops Prod.* 94, 774-782. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.09.057>

Lucas-González, R., Viuda-Martos, M., Pérez-Alvarez, J.A., Fernández-López, J., 2018. In vitro digestion models suitable for foods: Opportunities for new fields of application and challenges. *Food Res. Int.* 107, 423-436. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.055>

Ma, L., Zhang, M., Bhandari, B., Gao, Z., 2017. Recent developments in novel shelf life extension technologies of fresh-cut fruits and vegetables. *Trends Food Sci. Technol.* 64, 23-38. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.03.005>

Madani, B., Muda Mohamed, M.T., Biggs, A.R., Kadir, J., Awang, Y., Tayebimeigooni, A., Shojaei, T.R., 2014. Effect of pre-harvest calcium chloride applications on fruit calcium level and post-harvest anthracnose disease of papaya. *Crop Prot.* 55, 55-60. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.10.009>

Manganaris, G.A., Vasilakakis, M., Diamantidis, G., Mignani, I., 2007. The effect of postharvest calcium application on tissue calcium concentration, quality attributes, incidence of flesh browning and cell wall physicochemical aspects of peach fruits. *Food Chem.* 100, 1385-1392. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.036>

Manganaris, G.A., Vasilakakis, M., Diamantidis, G., Mignani, I., 2005a. Effect of post-harvest calcium treatments on the physicochemical properties of cell wall pectin in nectarine fruit during ripening after harvest or cold storage. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 80, 611-617. <https://doi.org/10.1080/14620316.2005.11511986>

Manganaris, G.A., Vasilakakis, M., Diamantidis, G., Mignani, I., 2005b. Effect of calcium additives on physicochemical aspects of cell wall pectin and sensory attributes of canned peach (*Prunus persica* (L) Batsch cv Andross). *J. Sci. Food Agric.* 85, 1773-1778. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2182>

Manzocco, L., Calligaris, S., Mastrocola, D., Nicoli, M.C., Lerici, C.R., 2001. Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends Food Sci. Technol.* 11, 340-346. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(01\)00014-0](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(01)00014-0)

Martins, E.M.F., Ramos, A.M., Martins, M.L., Leite Júnior, B.R. de C., 2016. Fruit salad as a new vehicle for probiotic bacteria. *Food Sci. Technol.* 36, 540-548. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.03316>

Mirshekari, A., Madani, B., Golding, J.B., 2017. Suitability of combination of calcium propionate and chitosan for preserving minimally processed banana quality. *J. Sci. Food Agric.* 97, 3706-3711. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8231>

Montero-Calderón, M., Rojas-Graü, M.A., Martín-Belloso, O., 2008. Effect of packaging conditions on quality and shelf-life of fresh-cut pineapple (*Ananas comosus*). *Postharvest Biol. Technol.* 50, 182-189. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.03.014>

Morales, F.J., Babbel, M.-B., 2002. Antiradical efficiency of Maillard reaction mixtures in a

- hydrophilic media. *J. Agric. Food Chem.* 50, 2788-2792. <https://doi.org/10.1021/jf011449u>
- Mosele, J.I., Macià, A., Romero, M.-P., Motilva, M.-J., 2016. Stability and metabolism of *Arbutus unedo* bioactive compounds (phenolics and antioxidants) under *in vitro* digestion and colonic fermentation. *Food Chem.* 201, 120-130. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.076>
- Muratore, G., Restuccia, C., Licciardello, F., Lombardo, S., Pandino, G., Mauromicale, G., 2015. Effect of packaging film and antibrowning solution on quality maintenance of minimally processed globe artichoke heads. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 31, 97-104. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.06.010>
- Muzaffar, S., Ahmad, M., Wani, S.M., Gani, A., Baba, W.N., Shah, U., Khan, A.A., Masoodi, F.A., Gani, A., Wani, T.A., 2016. Ultrasound treatment: effect on physicochemical, microbial and antioxidant properties of cherry (*Prunus avium*). *J. Food Sci. Technol.* 53, 2752-2759. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2247-3>
- Ngamchuachit, P., Sivertsen, H.K., Mitcham, E.J., Barrett, D.M., 2014. Effectiveness of calcium chloride and calcium lactate on maintenance of textural and sensory qualities of fresh-cut mangos. *J. Food Sci.* 79. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12446>
- Odriozola-Serrano, I., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O., 2008. Effect of minimal processing on bioactive compounds and color attributes of fresh-cut tomatoes. *LWT - Food Sci. Technol.* 41, 217-226. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.03.002>
- Ohta, H., Shiina, T., Sasaki, K., 2002. Dictionary of freshness and shelf life of food. Science Forum Co. Ltd., Tokyo.
- Oliveira, M., Usall, J., Solsona, C., Alegre, I., Viñas, I., Abadias, M., 2010. Effects of packaging type and storage temperature on the growth of foodborne pathogens on shredded 'Romaine' lettuce. *Food Microbiol.* 27, 375-380. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.11.014>
- Oms-Oliu, G., Aguiló-Aguayo, I., Martí-Belloso, O., 2006. Inhibition of browning on fresh-cut pear wedges by natural compounds. *J. Food Sci.* 71, S216-S224.
- Oms-Oliu, G., Rojas-Graü, M.A., González, L.A., Varela, P., Soliva-Fortuny, R., Hernando, M.I.H., Munuera, I.P., Fiszman, S., Martín-Belloso, O., 2010. Recent approaches using chemical treatments to preserve quality of fresh-cut fruit: A review. *Postharvest Biol. Technol.* 57, 139-148. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.04.001>
- Ortiz, A., Echeverría, G., Graell, J., Lara, I., 2010. The emission of flavour-contributing volatile esters by 'Golden Reinders' apples is improved after mid-term storage by postharvest calcium treatment. *Postharvest Biol. Technol.* 57, 114-123. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.03.006>
- Ortiz, A., Echeverría, G., Graell, J., Lara, I., 2009. Calcium dips enhance volatile emission of cold-stored 'Fuji Kiku-8' apples. *J. Agric. Food Chem.* 57, 4931-4938. <https://doi.org/10.1021/jf9003576>
- Ortiz, A., Graell, J., Lara, I., 2011. Cell wall-modifying enzymes and firmness loss in ripening 'Golden Reinders' apples: A comparison between calcium dips and ULO storage. *Food Chem.* 128, 1072-1079. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.016>
- Özden, Ç., Bayindirli, L., 2002. Effects of combinational use of controlled atmosphere, cold storage and edible coating applications on shelf life and quality attributes of green peppers. *Eur. Food Res.*

Technol. 214, 320-326. <https://doi.org/10.1007/s00217-001-0448-z>

Page, N., González-Buesa, J., Ryser, E.T., Harte, J., Almenar, E., 2016. Interactions between sanitizers and packaging gas compositions and their effects on the safety and quality of fresh-cut onions (*Allium cepa* L.). Int. J. Food Microbiol. 218, 105-113. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.11.017>

Palermo, M., Pellegrini, N., Fogliano, V., 2014. The effect of cooking on the phytochemical content of vegetables. J. Sci. Food Agric. 94, 1057-1070. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6478>

Palmero, P., Lemmens, L., Hendrickx, M., Van Loey, A., 2014. Role of carotenoid type on the effect of thermal processing on bioaccessibility. Food Chem. 157, 275-282. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.055>

Pavan, V., Sancho, R.A.S., Pastore, G.M., 2014. The effect of *in vitro* digestion on the antioxidant activity of fruit extracts (*Carica papaya*, *Artocarpus heterophyllus* and *Annona marcgravii*). LWT - Food Sci. Technol. 59, 1247-1251. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.05.040>

Petropoulos, S.A., Ntatsi, G., Fernandes, Barros, L., Barreira, J.C.M., Ferreira, I.C.F.R., Antoniadis, V., 2016a. Long-term storage effect on chemical composition, nutritional value and quality of Greek onion landrace 'vatikiotiko'. Food Chem. 201, 168-176. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.095>

Petropoulos, S.A., Ntatsi, G., Ferreira, I.C.F.R., 2016b. Long-term storage of onion and the factors that affect its quality: A critical review. Food Rev. Int. 33, 62-83. <https://doi.org/10.1080/87559129.2015.1137312>

Pinela, J., Barreira, J.C.M., Barros, L., Antonio, A.L., Carvalho, A.M., Oliveira, M.B.P.P., Ferreira, I.C.F.R., 2016. Postharvest quality changes in fresh-cut watercress stored under conventional and inert gas-enriched modified atmosphere packaging. Postharvest Biol. Technol. 112, 55-63. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.10.004>

Pirovani, M., Piagentini, A., Güemes, D., Arkwright, S., 2004. Reduction of chlorine concentration and microbial load during washing-disinfection of shredded lettuce. Int. J. Food Sci. Technol. 39, 341-347. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.00791.x>

Plaza, L., Altisent, R., Alegre, I., Viñas, I., Abadias, M., 2016. Changes in the quality and antioxidant properties of fresh-cut melon treated with the biopreservative culture *Pseudomonas graminis* CPA-7 during refrigerated storage. Postharvest Biol. Technol. 111, 25-30. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.07.023>

Praeger, U., Ernst, M., Weichmann, J., 2003. Effects of ultra low oxygen storage on postharvest quality of onion bulbs (*Allium cepa* L. var. *cepa*). Eur. J. Hortic. Sci. 68, 14-19.

Putnik, P., Bursać Kovačević, D., Herceg, K., Levaj, B., 2017. Influence of Cultivar, Anti-Browning Solutions, Packaging Gasses, and Advanced Technology on Browning in Fresh-Cut Apples During Storage. J. Food Process Eng. 40, 1-11. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12400>

Quiles, A., Hernando, I., Pérez-Munuera, I., Lluch, M.Á., 2007. Effect of calcium propionate on the microstructure and pectin methyl-esterase activity in the parenchyma of fresh-cut Fuji apples. J. Sci. Food Agric. 87, 511-519. <https://doi.org/10.1002/jsfa>

- Ramírez-Moreno, E., Zafra-Rojas, Q.Y., Arias-Rico, J., Ariza-Ortega, J.A., Alanís-García, E., Cruz-Cansino, N., 2018. Effect of ultrasound on microbiological load and antioxidant properties of blackberry juice. *J. Food Process. Preserv.* 42, 1-6. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13489>
- Ribas-Agustí, A., Martín-Belloso, O., Soliva-Fortuny, R., Elez-Martínez, P., 2017. Food processing strategies to enhance phenolic compounds bioaccessibility and bioavailability in plant-based foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 1-18. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1331200>
- Rico, D., Martín-Diana, A.B., Barat, J.M., Barry-Ryan, C., 2007. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. *Trends Food Sci. Technol.* 18, 373-386. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.03.011>
- Rivera-Espinoza, Y., Gallardo-Navarro, Y., 2010. Non-dairy probiotic products. *Food Microbiol.* 27, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.06.008>
- Rocha, A., Coulon, E., Morais, A., 2003. Effects of vacuum packaging on the physical quality of minimally processed potatoes. *Food Serv. Technol.* 3, 81-88. <https://doi.org/10.1046/j.1471-5740.2003.00068.x>
- Rodríguez-Roque, M.J., de Ancos, B., Sánchez-Moreno, C., Cano, M.P., Elez-Martínez, P., Martín-Belloso, O., 2015. Impact of food matrix and processing on the *in vitro* bioaccessibility of vitamin C, phenolic compounds, and hydrophilic antioxidant activity from fruit juice-based beverages. *J. Funct. Foods* 14, 33-43. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.020>
- Rodríguez-Roque, M.J., Rojas-Graü, M.A., Elez-Martínez, P., Martín-Belloso, O., 2013. Changes in vitamin C, phenolic, and carotenoid profiles throughout *in vitro* gastrointestinal digestion of a blended fruit juice. *J. Agric. Food Chem.* 61, 1859-1867. <https://doi.org/10.1021/jf3044204>
- Rojas-Graü, M.A., Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O., 2009. The use of packaging techniques to maintain freshness in fresh-cut fruits and vegetables: A review. *Int. J. Food Sci. Technol.* 44, 875-889. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.01911.x>
- Rojas-Graü, M.A., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O., 2008. Effect of natural antibrowning agents on color and related enzymes in fresh-cut fuji apples as an alternative to the use of ascorbic acid. *J. Food Sci.* 73, 267-272. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00794.x>
- Rößle, C., Auty, M.A.E., Brunton, N., Gormley, R.T., Butler, F., 2010a. Evaluation of fresh-cut apple slices enriched with probiotic bacteria. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 11, 203-209. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.08.016>
- Rößle, C., Brunton, N., Gormley, R.T., Ross, P.R., Butler, F., 2010b. Development of potentially synbiotic fresh-cut apple slices. *J. Funct. Foods* 2, 245-254. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2010.09.001>
- Roy, S., Conway, W.S., Watada, A.E., Sams, C.E., Erbe, E.F., Wergin, W.P., 1999. Changes in the ultrastructure of the epicuticular wax and postharvest calcium uptake in apples. *HortScience* 34, 121-124.
- Russo, P., de Chiara, M.L.V., Vernile, A., Amodio, M.L., Arena, M.P., Capozzi, V., Massa, S., Spano, G., 2014. Fresh-cut pineapple as a new carrier of probiotic lactic acid bacteria. *Biomed Res. Int.* 2014, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2014/309183>, [10.1155/2014/309183](https://doi.org/10.1155/2014/309183)
- Russo, P., Peña, N., de Chiara, M.L.V., Amodio, M.L., Colelli, G., Spano, G., 2015. Probiotic lactic

acid bacteria for the production of multifunctional fresh-cut cantaloupe. *Food Res. Int.* 77, 762-772. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.033>

Ryan, L., Prescott, S.L., 2010. Stability of the antioxidant capacity of twenty-five commercially available fruit juices subjected to an in vitro digestion. *Int. J. Food Sci. Technol.* 45, 1191-1197. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02254.x>

Sagong, H.G., Lee, S.Y., Chang, P.S., Heu, S., Ryu, S., Choi, Y.J., Kang, D.H., 2011. Combined effect of ultrasound and organic acids to reduce *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* on organic fresh lettuce. *Int. J. Food Microbiol.* 145, 287-292. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.01.010>

Sahin, G., Kurubas, M.S., Erkan, M., 2015. Effects of modified atmosphere imposed with the Palliflex system on postharvest fruit quality of 'Red Globe' table grapes. *Acta Hort.* 1071, 149-156. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1071.15>

Sanchis, E., Mateos, M., Perez-Gago, M.B., 2016. Physicochemical, sensory, and nutritional quality of fresh-cut 'Rojo Brillante' persimmon affected by maturity stage and antibrowning agents. *Food Sci. Technol. Int.* 22, 574-586. <https://doi.org/10.1177/1082013216629262>

Santos, J.G., Fernandes, F.A.N., de Siqueira Oliveira, L., de Miranda, M.R.A., 2015. Influence of ultrasound on fresh-cut mango quality through evaluation of enzymatic and oxidative metabolism. *Food Bioprocess Technol.* 8, 1532-1542. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1518-8>

Schulz, M., Biluca, F.C., Gonzaga, L.V., Borges, G. da S.C., Vitali, L., Micke, G.A., de Gois, J.S., de Almeida, T.S., Borges, D.L.G., Miller, P.R.M., Costa, A.C.O., Fett, R., 2017. Bioaccessibility of bioactive compounds and antioxidant potential of juçara fruits (*Euterpe edulis* Martius) subjected to *in vitro* gastrointestinal digestion. *Food Chem.* 228, 447-454. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.038>

Selcuk, N., Erkan, M., 2015. The effects of modified and palliflex controlled atmosphere storage on postharvest quality and composition of 'Istanbul' medlar fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 99, 9-19. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.07.004>

Sgroppo, S.C., Pereyra, M. V., 2009. Using mild heat treatment to improve the bioactive related compounds on fresh-cut green bell peppers. *Int. J. Food Sci. Technol.* 44, 1793-1801. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.01998.x>

Sharma, K., Ko, E.Y., Assefa, A.D., Ha, S., Nile, S.H., Lee, E.T., Park, S.W., 2015. Temperature-dependent studies on the total phenolics, flavonoids, antioxidant activities, and sugar content in six onion varieties. *J. Food Drug Anal.* 23, 243-252. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2014.10.005>

Siddiq, M., Roidoung, S., Sogi, D.S., Dolan, K.D., 2013. Total phenolics, antioxidant properties and quality of fresh-cut onions (*Allium cepa* L.) treated with mild-heat. *Food Chem.* 136, 803-806. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.023>

Silveira, A.C., Aguayo, E., Artés, F., 2013. The suitability of three Galia melon cultivars and different types of cuts for the fresh-cut industry. *J. Sci. Food Agric.* 93, 3826-3831. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6306>

Silveira, A.C., Aguayo, E., Chisari, M., Artés, F., 2011. Calcium salts and heat treatment for quality retention of fresh-cut 'Galia' melon. *Postharvest Biol. Technol.* 62, 77-84. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.04.009>

Silveira, A.C., Conesa, A., Aguayo, E., Artes, F., 2008. Alternative sanitizers to chlorine for use on fresh-cut 'galia' (*cucumis melo* var. *catalupensis*) melon. *J. Food Sci.* 73, 405-411. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00939.x>

Silveira, A.C., Oyarzún, D., Sepúlveda, A., Escalona, V., 2017. Effect of genotype, raw-material storage time and cut type on native potato suitability for fresh-cut elaboration. *Postharvest Biol. Technol.* 128, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.01.011>

Simó, J., Casañas, F., Muñoz, P., 2015. Els calçots i el seu cultiu [WWW Document]. Doss. Tècnic número 75, "Varietats Veg. Tradic. catalanes Els calçots". URL <http://ruralcat.gencat.cat/documents/20181/160840/DLFE-33260.pdf/3168f13a-490d-44d7-8432-a3935998cf8b>

Simón, A., Gonzalez-Fandos, E., 2011. Influence of modified atmosphere packaging and storage temperature on the sensory and microbiological quality of fresh peeled white asparagus. *Food Control* 22, 369-374. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.09.002>

Simón, A., González-Fandos, E., Rodríguez, D., 2008. Effect of film and temperature on the sensory, microbiological and nutritional quality of minimally processed cauliflower. *Int. J. Food Sci. Technol.* 43, 1628-1636. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2007.01672.x>

Singh, S.P., Singh, Z., 2013. Controlled and modified atmospheres influence chilling injury, fruit quality and antioxidative system of Japanese plums (*Prunus salicina* Lindell). *Int. J. Food Sci. Technol.* 48, 363-374. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03196.x>

Siroli, L., Patrignani, F., Serrazanetti, D.I., Tabanelli, G., Montanari, C., Gardini, F., Lanciotti, R., 2015. Lactic acid bacteria and natural antimicrobials to improve the safety and shelf-life of minimally processed sliced apples and lamb's lettuce. *Food Microbiol.* 47, 74-84. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.11.008>

Soliva-Fortuny, R.C., Biosca-Biosca, M., Grigelmo-Miguel, N., Martín-Belloso, O., 2002. Browning, polyphenol oxidase activity and headspace gas composition during storage of minimally processed pears using modified atmosphere packaging. *J. Sci. Food Agric.* 82, 1490-1496. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1209>

Soliva-Fortuny, R.C., Martín-Belloso, O., 2003a. New advances in extending the shelf-life of fresh-cut fruits: A review. *Trends Food Sci. Technol.* 14, 341-353. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(03\)00054-2](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(03)00054-2)

Soliva-Fortuny, R.C., Martín-Belloso, O., 2003b. Microbiological and biochemical changes in minimally processed fresh-cut Conference pears. *Eur. Food Res. Technol.* 217, 4-9. <https://doi.org/10.1007/s00217-003-0701-8>

Soria, A.C., Villamiel, M., 2010. Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: A review. *Trends Food Sci. Technol.* 21, 323-331. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.04.003>

Stanisavljevic, N., Samardzic, J., Jankovic, T., Savikin, K., Mojsin, M., Topalovic, V., Stevanovic, M., 2015. Antioxidant and antiproliferative activity of chokeberry juice phenolics during *in vitro* simulated digestion in the presence of food matrix. *Food Chem.* 175, 516-522. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.009>

Surjadinata, B.B., Cisneros-Zevallos, L., 2003. Modeling wound-induced respiration of fresh-cut carrots (*Daucus carota* L.). *J. Food Sci.* 68, 2735-2740. <https://doi.org/10.1111/j.1365->

2621.2003.tb05797.x

Susana Rivera, C., Venturini, M.E., Oria, R., Blanco, D., 2011. Selection of a decontamination treatment for fresh *Tuber aestivum* and *Tuber melanosporum* truffles packaged in modified atmospheres. *Food Control* 22, 626-632. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.10.015>

Tagliacruzchi, D., Verzelloni, E., Bertolini, D., Conte, A., 2010. In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chem.* 120, 599-606. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.030>

Tagliacruzchi, D., Verzelloni, E., Conte, A., 2012. The first tract of alimentary canal as an extractor. release of phytochemicals from solid food matrices during simulated digestion. *J. Food Biochem.* 36, 555-568. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2011.00569.x>

Tiwari, U., Cummins, E., 2013. Factors influencing levels of phytochemicals in selected fruit and vegetables during pre- and post-harvest food processing operations. *Food Res. Int.* 50, 497-506. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.09.007>

Toivonen, P.M.A., Brummell, D.A., 2008. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. *Postharvest Biol. Technol.* 48, 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.09.004>

Tomás-Callejas, A., Boluda, M., Robles, P.A., Artés, F., Artés-Hernández, F., 2011. Innovative active modified atmosphere packaging improves overall quality of fresh-cut red chard baby leaves. *LWT - Food Sci. Technol.* 44, 1422-1428. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.01.020>

Trentham, W.R., Sams, C.E., Conway, W.S., 2008. Histological Effects of Calcium Chloride in Stored Apples. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 133, 487-491.

Tripathi, M.K., Giri, S.K., 2014. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *J. Funct. Foods* 9, 225-241. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.030>

Troyo, R.D., Acedo, A.L., 2015. Antimicrobial potential of lactic acid bacteria on freshcut pineapple (*Ananas comosus*). *Acta Hort.* 1088, 413-418.

Tsouvaltzi, P., Siomos, A.S., Gerasopoulos, D., 2006. Effect of hot water treatment on leaf extension growth, fresh weight loss and color of stored minimally processed leeks. *Postharvest Biol. Technol.* 39, 56-60. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.06.009>

Van de Velde, F., Piagentini, A.M., Güemes, D.R., Pirovani, M.E., 2013. Modelling changes in anthocyanins, total vitamin C and colour as a consequence of peracetic acid washing disinfection of two cultivars of strawberries for fresh-cut processing. *Int. J. Food Sci. Technol.* 48, 954-961. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12047>

Vandekinderen, I., Devlieghere, F., Van Camp, J., Denon, Q., Alarcon, S.S., Ragaert, P., De Meulenaer, B., 2009a. Impact of a decontamination step with peroxyacetic acid on the shelf-life, sensory quality and nutrient content of grated carrots packed under equilibrium modified atmosphere and stored at 7 °C. *Postharvest Biol. Technol.* 54, 141-152. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.06.007>

Vandekinderen, I., Van Camp, J., Devlieghere, F., Ragaert, P., Veramme, K., Bernaert, N., Denon, Q., De Meulenaer, B., 2009b. Evaluation of the use of decontamination agents during fresh-cut leek

processing and quantification of their effect on its total quality by means of a multidisciplinary approach. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 10, 363-373. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.02.002>

Vandekinderen, I., Van Camp, J., Devlieghere, F., Veramme, K., Bernaert, N., Denon, Q., Ragaert, P., De Meulenaer, B., 2009c. Effect of decontamination on the microbial load, the sensory quality and the nutrient retention of ready-to-eat white cabbage. *Eur. Food Res. Technol.* 229, 443-455. <https://doi.org/10.1007/s00217-009-1069-1>

Waghmare, R.B., Annapure, U.S., 2013. Combined effect of chemical treatment and/or modified atmosphere packaging (MAP) on quality of fresh-cut papaya. *Postharvest Biol. Technol.* 85, 147-153. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.05.010>

Wootton-Beard, P.C., Moran, A., Ryan, L., 2011. Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after *in vitro* digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin-Ciocalteu methods. *Food Res. Int.* 44, 217-224. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.033>

Yan, S., Luo, Y., Zhou, B., Ingram, D.T., 2017. Dual effectiveness of ascorbic acid and ethanol combined treatment to inhibit browning and inactivate pathogens on fresh-cut apples. *LWT - Food Sci. Technol.* 80, 311-320. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.02.021>

Yeoh, W.K., Ali, A., 2017. Ultrasound treatment on phenolic metabolism and antioxidant capacity of fresh-cut pineapple during cold storage. *Food Chem.* 216, 247-253. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.074>

Zhang, L., Ye, X., Ding, T., Sun, X., Xu, Y., Liu, D., 2013. Ultrasound effects on the degradation kinetics, structure and rheological properties of apple pectin. *Ultrason. Sonochem.* 20, 222-231. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.07.021>

CONCLUSIONES

En general, las estrategias químicas, físicas y biológicas estudiadas en la presente tesis permitieron obtener dos productos mínimamente procesados de gran calidad y aumentar su vida útil. Además, los tratamientos aplicados en pera entera y mínimamente procesada permitieron obtener las siguientes conclusiones:

- El tratamiento con cloruro de calcio al 1 % en poscosecha junto con el almacenamiento en atmosfera controlada (2,0 kPa O₂ y 1,0 kPa CO₂) durante 5 u 8 meses permitió mantener la calidad de la pera “Conference” entera.
- El incremento del tiempo de almacenamiento de 5 a 8 meses en atmosfera controlada indujo una disminución en el contenido de vitamina C, actividad antioxidante y actividad enzimática PPO y POD, mientras que provocó un aumento en el contenido total de fenoles.
- La aplicación del agente de biocontrol *Pseudomonas graminis* CPA-7 junto con un tratamiento antioxidante compuesto por 2 % ácido ascórbico, 2 % citrato de sodio y 1 % cloruro de calcio dio lugar a la obtención de un producto mínimamente procesado de calidad comercial durante 6 días de conservación refrigerada a 4 °C.
- La aplicación del probiótico *Lactobacillus rhamnosus* GG junto con el tratamiento antioxidante mencionado anteriormente resultó una estrategia viable en la conservación de pera mínimamente procesada para obtener un producto microbiológicamente estable y de calidad comercial durante 9 días de conservación refrigerada a 4 °C. Además, los resultados obtenidos en este estudio sugieren que alrededor del 5-20 % del contenido total de fenoles en las muestras son bioaccesibles en la digestión *in vitro* realizada quedando disponibles para su absorción y su posible efecto biológico beneficioso.

Por último, los estudios realizados en calçots permitieron obtener las siguientes conclusiones:

- La variedad mejorada “Montferri” presenta una buena conservación en condiciones de frio normal y además, presenta una gran aptitud al procesado mínimo.
- El almacenamiento en condiciones controladas es una alternativa prometedora a las condiciones estándar de conservación, permitiendo almacenar el producto entero durante más tiempo y manteniendo la calidad del mismo.
- Una estrategia para alargar la vida útil del producto de IV gama podría ser el envasado al vacío permitiendo obtener un producto de IV gama de calidad durante una vida útil de 15 días a 4 °C.
- El tratamiento con agua templada (55 °C, 1 min) o el uso del agente químico ácido peroxiacético (80 mg L⁻¹, 1 min) podrían ser una alternativa al uso de hipoclorito de sodio (100 mg L⁻¹, 1 min) en la etapa de desinfección del calçot de IV gama.
- El tratamiento de cocción aplicado (270 °C, 8 min) al calçot entero o mínimamente procesado permitió obtener un producto listo para consumo (ready-to-eat) con mayor actividad antioxidante en comparación con un producto sin tratar térmicamente.

Conclusiones

- ↳ Los ensayos de digestión *in vitro* realizados indican que el contenido en fenoles totales obtenido en la fase intestinal tanto de un producto tratado térmicamente como en uno fresco fue similar (alrededor del 50 %), quedando accesibles para su posterior absorción y ejerciendo de esta manera las propiedades antioxidantes y beneficiosas asociadas al consumo de este producto.
- ↳ El pre-tratamiento con ultrasonidos ayuda a conseguir una mayor desinfección de producto con tiempos de hasta 45 min sin afectar a la calidad inicial del producto.

AGRADECIMIENTOS

El 1 de Marzo de 2015 decidí emprender un nuevo camino en mi vida, el cual me ha permitido conocer y vivir en una nueva ciudad (la cual echaré mucho de menos), conocer gente maravillosa tanto en el IRTA como fuera y además poder disfrutar y conocer lugares y experiencias nuevas. Y como es de bien nacidos ser agradecidos, me gustaría agradecer a todas las personas que han pasado por mi vida durante estos tres años o que ya estaban presente en ella.

Antes de nada me gustaría dar las gracias a Unai Iriarte y a Emilio Cepeda (profesores de la Universidad del País Vasco) porque gracias a ellos conocí por primera vez el mundo de la investigación y fueron los primeros en confiar en mí.

En primer lugar, a mis padres y a mis dos hermanas porque me han apoyado en todo momento. A pesar de la distancia siempre han estado ahí, tanto en lo bueno como en lo malo. Además, las visitas recibidas me han dado mucha fuerza para seguir en esta a veces difícil etapa.

A mis directoras Ingrid Aguiló e Inmaculada Viñas por su apoyo profesional y personal durante estos tres años. Además, me gustaría dar las gracias a Lucia Plaza por su labor como directora durante el primer año de tesis.

Me gustaría dar las gracias a Nigel Brunton por darme la oportunidad de hacer la estancia en la UCD de Dublín. Además, quiero agradecer el trato recibido por parte de Paula, Santiago, Selene, Marco, Cristina y Elisa. Mis días en Dublín no fueron los mejores de mi vida pero ellos hicieron que todo fuera un poco más agradable.

A todos mis compañeros del grupo de Procesado y en especial a Dani, Silvia, Gloria y Tomás. No me olvido de todos los estudiantes que han pasado por el laboratorio como Nuria, Gisela, Laura, Alex, Ferran etc. Además, quería dar las gracias a los compañeros del laboratorio de Microbiología, en especial a Jordi, Patricia, Pilar, Marina y Maribel.

A mis chicas de la sala, empezando por las de la primera etapa Marcia, Pilar, Maria, Amparo, Belén y siguiendo por las de la segunda etapa Anna, Cyrelys, Nuria, Marta, Violeta, Laia, Dani y Jordi. Además, quería dar las gracias a todas las personas del grupo de Patología y en especial a Nuria, Andrea y Xesca, por hacerme más agradable la estancia en el IRTA.

Me gustaría hacer una mención especial a Belén y Oana, sin ellas mi estancia en Lleida no hubiese sido lo mismo. No olvidaré las cañas de los viernes donde nos desahogábamos de todo lo acontecido durante la semana, de las cenas y noches locas en el Loch Ness, excursiones, viajes, lloros y risas. A Billy y David, ya que compartieron con nosotras muchos momentos y locuras. Además, me gustaría dar las gracias a Violeta porque este último año ha sido un gran apoyo en Lleida y hemos pasado muy buenos momentos juntas. Y a toda la gente de Lleida y alrededores con la que he podido compartir momentos.

A mi cuadrilla porque a pesar de la distancia, siempre han estado ahí. Ellas han sabido entender el sacrificio que supone hacer una tesis a 350 km de casa y me han apoyado en todo momento. Eskerrik asko, benetan.

A mi familia y en el especial a mi abuela, ella este último año me ha enseñado que en la vida hay que tener fuerza y coraje para seguir adelante sin mirar atrás.

A Isabel Vidaña por su ayuda y apoyo durante el último año de tesis.

A todas las personas que en mayor o menor medida han formado parte de mi vida durante estos tres años y han aportado su granito de arena.

Y por último, aunque esta tesis ha requerido un gran esfuerzo y sacrificio, me ha regalado personas y buenos momentos.

...ta zaila da esplikatzen
guztia eman ondoren
geratzen den sentimendu hori...

