



# **UNIVERSIDAD DE MURCIA**

## **FACULTAD DE QUÍMICA**

**Nuevas Variedades y Transformados de  
Alcachofa en la Región de Murcia**

**Dña. Nuria García Martínez**

**2014**





UNIVERSIDAD DE MURCIA

Departamento de Química  
Agrícola, Geología y  
Edafología

---

# **NUEVAS VARIEDADES Y TRANSFORMADOS DE ALCACHOFA EN LA REGIÓN DE MURCIA**

---

**Nuria García  
Martínez**

**2014**





D. Luis Almela Ruiz, Catedrático de Universidad y D<sup>a</sup> Pilar Almela Rojo, Profesora Ayudante Doctor, de la Universidad de Murcia, AUTORIZAN:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada “Nuevas variedades y transformados de alcachofa en la Región de Murcia“, realizada por D<sup>a</sup>. Nuria García Martínez, bajo nuestra inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia, a 7 de mayo de 2014

Fdo. Luis Almela Ruiz

Fdo. Pilar Almela Rojo



## **AGRADECIMIENTOS**

*Cuando me embarqué en el proyecto para realizar la tesis doctoral, pensé que sería una tarea en solitario, pero me equivoqué de lleno. Son muchas las personas que me han ayudado directa o indirectamente en la consecución de este objetivo. Por ello, quiero expresar toda mi gratitud hacia aquellos sin los cuales no hubiese sido posible finalizar esta aventura.*

*En primer lugar deseo expresar mi más sincero agradecimiento a mis directores de tesis: Luis Almela Ruiz, Catedrático del Departamento de Química Agrícola, Geología y Edafología, no solo por su tiempo, esfuerzo y ayuda en esta tesis, sino por todos estos años de formación como investigadora en los que gracias a su confianza, consejos y enseñanzas he logrado todas las metas académicas que me he propuesto; y a la Doctora María del Pilar Almela Rojo, por su colaboración y dedicación prestada durante la realización de este proyecto.*

*Agradecer también al Doctor José Antonio Martínez Serna del Departamento de Horticultura del IMIDA su colaboración activa en este trabajo y sus conocimientos en materia de cultivo.*

*A los Profesores Alberto Barba y José Oliva del Departamento de Química Agrícola, Geología y Edafología, por el ánimo, ayuda y sugerencias que me han aportado durante el desarrollo de la tesis.*

*También me gustaría dar las gracias a mis compañeros de Departamento Cristina Veracruz y en especial a Pedro Andreo, por su apoyo, por escucharme cuando lo he necesitado y por esos momentos de “querer resolver los problemas del mundo” que tantos buenos ratos nos han dado. Y no puedo olvidarme de José Antonio Rodríguez “Rodri”, el técnico de laboratorio y capitán de barco más simpático de la UMU.*

*Por supuesto a mis amigos que siempre han estado ahí, dándome ánimos y ayudándome en todo. Mis compañeras de carrera y amigas María José y Cristina, mis*

*“cheerleaders” Ade, Fuen y Nieves, a mis tinerfeños Antonio y Javi, a Rocío, Blas, Javi, Jose, Jesús, Daniel, Juanito “el rancio”, Yésica, Dani, y a todos aquellos que me dejo en el tintero y que de un modo u otro han colaborado, dándome su apoyo. Os quiero muchísimo.*

*A Lorca y Vanesa, por estar en mi vida, por poder contar siempre con vosotros, y por compartir todos los momentos importantes. AMIGOS con mayúsculas.*

*Y por supuesto, quiero dar las gracias a las personas que más quiero y que me lo han dado todo, mi familia. A mis padres, Isidro y Soledad, gracias por vuestros esfuerzos por darme una educación y por hacerme sentir la persona más afortunada del mundo cuando estoy a vuestro lado. A mi hermana Sole, gracias por dejarme aprender de ti y por hacer que me sienta orgullosa. A mis suegros Antonio y Carmen, mis tíos Nuria y Ramón, cuñados/as Jose, Gloria, Víctor, Amador y Joselilla y a mi primer sobrino que me tiene loca.*

*Por último, quiero agradecer especialmente a mi marido Antonio todo su cariño, comprensión y apoyo. Gracias por soportarme durante los 11 años que hemos compartido juntos y por saber hacerme feliz.*

*Gracias a todos de corazón*

*El proyecto “Nuevas variedades y transformados de alcachofa en la Región de Murcia”, del que deriva la presente tesis doctoral, ha sido cofinanciado por el CDTI dentro del Fondo Tecnológico FT-CYNAMUR*

*Entre las empresas que figuran en dicho consorcio, Alimer, Greype y Coopbox han sido las que han financiado, a través de contratos de investigación y desarrollo con la UMU, facilitando además instalaciones, materiales y campos experimentales.*



---

## ÍNDICE DE CONTENIDO

1. JUSTIFICACIÓN E INTERÉS DEL ESTUDIO .....	1
2. ANTECEDENTES .....	5
2.1. Origen y domesticación de la alcachofa.....	7
2.2. Características taxonómicas y botánicas .....	10
2.3. Composición química y propiedades nutraceuticas .....	14
2.3.1. Vitamina C.....	16
2.3.2. Compuestos fenólicos de importancia en la alcachofa .....	18
2.3.3. Pardeamiento enzimático .....	23
2.3.3.1. Enzimas responsables del pardeamiento .....	25
2.3.3.2. Control del pardeamiento enzimático.....	28
2.4. Distribución geográfica, producción y comercialización.....	33
2.4.1. Producción y comercialización mundial de alcachofa.....	33
2.4.2. Producción y comercialización nacional de alcachofa .....	40
2.4.2.1. Importancia del cultivo en la Región de Murcia. ....	41
2.5. Variedades.....	43
2.6. Reproducción y cultivo .....	49
2.6.1. Métodos de propagación.....	49
2.6.1.1. Propagación agámica.....	50
2.6.1.2. Propagación gámica.....	54
2.6.1.3. Micropropagación.....	56
2.6.2. Exigencias edafoclimáticas y nutricionales de la planta.....	59
2.6.2.1. Clima .....	59

2.6.2.2.	Suelo .....	61
2.6.2.3.	Necesidades hídricas .....	62
2.6.2.4.	Requerimiento de nutrientes .....	62
2.6.3.	Aspectos agronómicos del cultivo.....	65
2.6.3.1.	Preparación del terreno .....	65
2.6.3.2.	Siembra y plantación.....	67
2.6.3.3.	Otras labores .....	69
2.6.3.4.	Fertilización .....	71
2.6.3.5.	Riego .....	72
2.6.4.	Plagas y enfermedades que afectan a la alcachofa.....	74
2.6.4.1.	Parásitos animales .....	74
2.6.4.2.	Enfermedades.....	77
2.6.5.	Recolección .....	83
2.6.6.	Post- cosecha.....	85
2.6.6.1.	Calidad comercial de la alcachofa .....	85
2.6.6.2.	Factores de deterioro post-cosecha .....	86
2.6.6.3.	Control post-cosecha.....	92
2.7.	Alcachofa en IV Gama .....	95
2.7.1.	Gamas alimentarias .....	95
2.7.2.	Importancia de la IV Gama .....	97
<b>3.</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>101</b>
<b>4.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>107</b>
4.1.	Estudio varietal .....	109
4.1.1.	Materia prima .....	109

---

4.1.2.	Determinación del color.....	110
4.1.3.	Humedad.....	110
4.1.4.	Contenido fenólico.....	110
4.1.5.	Pardeamiento potencial (PP).....	111
4.1.6.	Determinación del contenido de proteínas y de la actividad enzimática.....	111
4.2.	Determinación de la composición gaseosa de la atmósfera y de los metabolitos de la alcachofa.....	112
4.2.1.	Determinación de la tasa respiratoria.....	113
4.2.2.	Determinación de la producción de etileno .....	113
4.3.	Procesado de alcachofa en IV Gama.....	114
4.4.	Control de los elaborados de alcachofa.....	115
4.4.1.	Análisis físico-químicos .....	115
4.4.1.1.	Seguimiento de la atmósfera interior del envase.....	115
4.4.1.2.	pH.....	116
4.4.1.3.	Ácido ascórbico .....	116
4.4.1.4.	Sulfuroso libre .....	117
4.4.2.	Análisis microbiológicos .....	117
4.5.	Estimación de la vida útil microbiológica mediante modelización microbiana.....	118
4.6.	Análisis estadísticos .....	119
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>121</b>
5.1.	Estudio y caracterización de cultivares de alcachofa con alto potencial para exportación.....	123
5.1.1.	Aspectos agronómicos .....	125

5.1.2.	Humedad de las brácteas .....	129
5.1.3.	Color objetivo.....	134
5.1.4.	Determinación de la estabilidad oxidativa de la alcachofa .....	140
5.1.4.1.	Contenido fenólico.....	140
5.1.4.1.1.	Índice de polifenoles totales (IPT).....	141
5.1.4.1.2.	Índice de Folin-Ciocalteu (IFC).....	145
5.1.4.2.	Actividades enzimáticas.....	150
5.1.4.2.1.	Cuantificación de las proteínas en los extractos .....	150
5.1.4.2.2.	Actividad polifenol oxidasa (PPO) .....	152
5.1.4.2.3.	Actividad peroxidasa (POD).....	157
5.1.4.3.	Pardeamiento Potencial (PP).....	163
5.2.	Efecto de la atmósfera en los procesos metabólicos de los corazones de alcachofa fresca .....	168
5.2.1.	Estudio de la tasa respiratoria de la alcachofa.....	169
5.2.2.	Estudio de la emisión de etileno.....	174
5.3.	Desarrollo de elaborados de alcachofa en IV Gama.....	178
5.3.1.	Estudios de laboratorio.....	180
5.3.2.	Estudios en planta piloto .....	182
5.3.2.1.	Operaciones previas al envasado .....	184
5.3.2.2.	Envasado final y almacenamiento del producto .....	186
5.4.	Control físico-químico y microbiológico de los elaborados de alcachofa en IV Gama durante su almacenamiento.....	191
5.4.1.	Evolución de las características químico-físicas.....	193
5.4.1.1.	Humedad de los elaborados .....	193
5.4.1.2.	pH de los elaborados .....	195

---

5.4.1.3.	Evolución de la atmósfera interior de los envases.....	198
5.4.1.4.	Control del contenido de ácido ascórbico .....	201
5.4.1.5.	Control del contenido del dióxido de azufre .....	204
5.4.2.	Estudio de la biocarga de los elaborados .....	207
5.4.2.1.	Preparación de la muestra, diluciones y siembra.....	209
5.4.2.2.	Validación de los métodos para la determinación de <i>E. coli</i> , <i>Salmonella spp</i> y <i>Listeria spp</i> .....	211
5.4.2.3.	Aerobios mesófilos .....	211
5.4.2.4.	Aerobios psicrófilos.....	215
5.4.2.5.	Enterobacterias totales .....	218
5.4.2.6.	Coliformes totales y <i>Escherichia coli</i> .....	221
5.4.2.7.	<i>Clostridium</i> sulfito-reductores.....	226
5.4.2.8.	Mohos y levaduras.....	228
5.4.2.9.	<i>Salmonella spp</i> .....	230
5.4.2.10.	<i>Listeria spp</i> .....	233
5.5.	Estudio de vida útil de los elaborados desde el punto de vista microbiológico.....	236
6.	RESUMEN Y CONCLUSIONES .....	245
7.	BIBLIOGRAFÍA .....	251
8.	ANEXOS .....	279
8.1.	Anexo I.....	281
8.2.	Anexo II .....	282
8.3.	Anexo III.....	283



## ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 2.1. Alcachofa cultivada (izquierda), cardo cultivado (centro) y cardo silvestre (derecha).....	8
Fig. 2.2. Sistema radicular de una planta de alcachofa.....	12
Fig. 2.3. Cabezuela de alcachofa.....	12
Fig. 2.4. Flor de alcachofa.....	13
Fig. 2.5. Semillas de alcachofa.....	13
Fig. 2.6. Oxidación del ácido ascórbico.....	16
Fig. 2.7. Estructuras del ácido cafeico (izquierda) y cumárico (derecha).....	18
Fig. 2.8. Estructura del ácido 5-O- cafeilquínico (ácido clorogénico).....	19
Fig. 2.9. Estructura del ácido 1,3-di-O-cafeilquínico (cinarina).....	19
Fig. 2.10. Estructura genérica de flavonoides.....	20
Fig. 2.11. Luteolina-7-O-glucósido.....	20
Fig. 2.12. Apigenina-7-O-glucósido.....	21
Fig. 2.13. Estructura de las principales antocianidinas (agluconas) presentes en la alcachofa.....	21
Fig. 2.14. Cianidina-3-O-glucósido.....	21
Fig. 2.15. Alcachofa recién cortada sin signos de pardeamiento (A). Señales de pardeamiento a los 30 min del corte (B).....	24
Fig. 2.16. Estructura de la polifenol oxidasa de uva (Virador y col., 2010) y ampliación del centro activo (PBD, 2013).....	25
Fig. 2.17. Mecanismo de actuación de la enzima PPO sobre monofenoles y difenoles.....	26
Fig. 2.18. Estructura tridimensional de POD de la soja (Henriksen y col., 2001) y del grupo hemo del centro activo (PBD, 2013).....	27
Fig. 2.19. Oxidación de guayacol a un complejo coloreado de tetraguayacol en presencia de POD.....	27

Fig. 2.20. Alcachofa envasada en AM (A). Variación de la atmósfera en el interior del envase permeable que contiene vegetales metabólicamente activos (B) .....	30
Fig. 2.21. Distribución del rendimiento mundial de alcachofa (FAOSTAT 2011) .....	35
Fig. 2.22. Distribución de la producción mundial de alcachofa (FAOSTAT 2011) .....	36
Fig. 2.23. Evolución del rendimiento y la superficie cultivada de alcachofa en España (FAOSTAT, 2011) .....	40
Fig. 2.24. Distribución de la superficie de cultivo de alcachofa en España por Comunidades Autónomas en 2011 (MAGRAMA, 2012) .....	41
Fig. 2.25. Cabezuelas de Green Globe .....	44
Fig. 2.26. Imperial Star .....	44
Fig. 2.27. Blanca de Tudela .....	45
Fig. 2.28. Alcachofa Catanese .....	45
Fig. 2.29. Espinoso Sardo .....	46
Fig. 2.30. Romanesco .....	46
Fig. 2.31. Violeta de Provenza .....	46
Fig. 2.32. Camus de Bretagne .....	47
Fig. 2.33. Capítulos de Calicó .....	47
Fig. 2.34. Cabezuelas de Salambo .....	48
Fig. 2.35. Alcachofa Thema .....	48
Fig. 2.36. Propagación mediante hijuelos en semillero .....	51
Fig. 2.37. Zueca de alcachofa .....	52
Fig. 2.38. Óvulos obtenidos de rizomas seleccionados (izquierda). Brotación y desarrollo en semilleros (derecha). .....	53
Fig. 2.39. Brotación y desarrollo de semillas de alcachofa .....	54
Fig. 2.40. Micropropagación de alcachofa .....	57
Fig. 2.41. Aclimatación de brotes de alcachofa obtenidos “in vitro” .....	57
Fig. 2.42. Evolución de la temperatura durante el año 2011 (INE, 2012) .....	60
Fig. 2.43. Subsulado del terreno (izquierda) y labor de grada (derecha) .....	65
Fig. 2.44. Cultivo de alcachofa en llano (izquierda) y en caballón (derecha) .....	66
Fig. 2.45. Estructura del ácido giberélico (GA3) .....	69
Fig. 2.46. Riego por goteo de un cultivo de alcachofa .....	72

Fig. 2.47. Larva de <i>Gortyna xanthenes</i> y daños causados por la misma en una planta de alcachofa .....	74
Fig. 2.48. Adulto de <i>Cassida defflorata</i> y larvas en hoja de alcachofa (izquierda), y oruga de <i>Pyrameis cardui</i> alimentándose (derecha).....	75
Fig. 2.49. <i>Agrotis segetum</i> (izquierda) y <i>Agriotes lineatus</i> (derecha).....	76
Fig. 2.50. Pulgón negro en cabezuela de alcachofa.....	76
Fig. 2.51. Microfotografías de <i>Meloidogyne</i> (i), <i>Aphelenchus</i> (c) y <i>Pratylenchus</i> (d).....	77
Fig. 2.52. Daños causados por caracoles .....	77
Fig. 2.53. Planta de alcachofa con síntomas de verticilosis (Fotografías extraídas de Cirulli y col., 2010).....	78
Fig. 2.54. Micelio blanco de <i>Livellula taurica</i> en el envés de la hoja de alcachofa .....	79
Fig. 2.55. Roya de cabeza en alcachofa. (Fotografía extraída de Parra y col., 2012).....	79
Fig. 2.56. Corte manual de alcachofa .....	84
Fig. 2.57. Mecanismos generales de los procesos de degradación fisiológica de la alcachofa.....	86
Fig. 2.58. Alcachofa fresca (I), en conserva (II), congelada (III), mínimamente procesada (IV) y en escabeche (V). .....	96
Fig. 4.1. Medida del color de la alcachofa mediante un espectrofotómetro de reflectancia. ....	110
Fig. 4.2. Cromatógrafo de gases Thermo Trace GC .....	112
Fig. 4.3. Medidor de atmósfera Checkpoint .....	116
Fig. 4.4. Reflectómetro RQflex .....	116
Fig. 5.1. Separación de las brácteas internas (A) y externas de la alcachofa (B) .....	129
Fig. 5.2. Humedad media de las brácteas externas e internas de los cultivares estudiados en la 1ª campaña.....	130
Fig. 5.3. Humedad media de las brácteas externas e internas de los cultivares estudiados en la 2ª campaña.....	131
Fig. 5.4. Humedad media de los cultivares de la 3ª campaña.....	131
Fig. 5.5. Espacio de color CIELab .....	134

Fig. 5.6. Índice de Polifenoles Totales para la campaña 2010-2011 .....	142
Fig. 5.7. Índice de Polifenoles Totales para la campaña 2011-2012 .....	142
Fig. 5.8. Índice de Polifenoles Totales para la campaña 2012-2013 .....	143
Fig. 5.9. Índice de Folin-Ciocalteu en las brácteas de alcachofa de la campaña 2010-2011 .....	146
Fig. 5.10. Índice de Folin-Ciocalteu para la campaña 2011-2012 .....	146
Fig. 5.11. Índice de Folin-Ciocalteu para la campaña 2012-2013 .....	147
Fig. 5.12. Estructura del colorante azul de Coomassie G-250.....	151
Fig. 5.13. Recta de calibración experimental de patrones de albúmina bovina (BSA) .....	152
Fig. 5.14. Representación experimental de la actividad PPO de un extracto en función del tiempo .....	154
Fig. 5.15. Variación de la $AS_{PPO}$ para los cultivares de estudio .....	156
Fig. 5.16. Variación de la $AS_{PPO}$ para las campañas estudiadas .....	156
Fig. 5.17. Curva de actividad POD de un extracto en función del tiempo .....	158
Fig. 5.18. Variación de la $AS_{POD}$ según el tipo de brácteas.....	161
Fig. 5.19. Variación de la $AS_{POD}$ para los cultivares de estudio .....	161
Fig. 5.20. Análisis de regresión lineal simple entre las actividades PPO y POD .....	162
Fig. 5.21. Pardeamiento Potencial de brácteas de alcachofa durante la campaña 2010-2011 .....	164
Fig. 5.22. Pardeamiento Potencial de brácteas de alcachofa durante la campaña 2011-2012 .....	164
Fig. 5.23. Pardeamiento Potencial de brácteas de alcachofa durante la campaña 2012-2013.....	165
Fig. 5.24. Dispositivo para la determinación de la atmósfera en el interior de los envases .....	169
Fig. 5.25. Aspecto de la columna tipo CTR1 (izquierda) y esquema de su empaquetamiento coaxial (derecha). .....	170
Fig. 5.26. Cromatograma de la mezcla (1) $CO_2$ ; (2) $O_2$ ; (3) $N_2$ .....	171
Fig. 5.27. Evolución de la atmósfera en el interior del envase conteniendo corazones de alcachofa, a lo largo de 72 horas.....	172

---

Fig. 5.28. Espectro de masas de $N_2$ .....	175
Fig. 5.29. Espectro de masas de $C_2H_4$ .....	175
Fig. 5.30. Envasadora manual ORVED VM-12 .....	180
Fig. 5.31. Dispositivo experimental aplicable al tratamiento del material vegetal y al estudio de la evolución de la atmósfera interior. ....	181
Fig. 5.32. Línea de procesado de la empresa Alimer. ....	182
Fig. 5.33. Diagrama de flujo de la elaboración de alcachofa en IV Gama .....	183
Fig. 5.34. Luminómetro Clean-Trace NG.....	184
Fig. 5.35. Desaireadora (Sammic SV-T) .....	185
Fig. 5.36. Termoselladora ULMA Smart-300.....	187
Fig. 5.37. Variación del contenido de $CO_2$ en el interior de los envases de alcachofa en IV Gama según la atmósfera de envasado.....	188
Fig. 5.38. Corazones de alcachofa en IV Gama .....	190
Fig. 5.39. Variación del contenido de humedad de los corazones laminados en las series A y B .....	194
Fig. 5.40. Evolución del pH de los corazones de alcachofa laminados en IV Gama durante el periodo de almacenamiento .....	196
Fig. 5.41. Evolución del contenido de $CO_2$ en el interior de las barquetas de alcachofa en IV Gama durante el almacenamiento .....	200
Fig. 5.42. Evolución del contenido de ácido ascórbico durante el almacenamiento de alcachofa en IV Gama .....	203
Fig. 5.43. Formas químicas del $SO_2$ en función del pH.....	205
Fig. 5.44. Etapas del crecimiento microbiológico de los alimentos.....	208
Fig. 5.45. Crecimiento de aerobios mesófilos en placa con medio PCA con dos diluciones sucesivas. ....	212
Fig. 5.46. Representación del Log RAM durante el tiempo de almacenamiento para las series de elaborados A y B.....	213
Fig. 5.47. Representación logarítmica del crecimiento de aerobios psicrófilos durante el tiempo de almacenamiento para las series de elaborados A y B .....	216
Fig. 5.48. Crecimiento de Enterobacterias en placa con medio VRBG. Diluciones $10^3$ , $10^4$ y $10^5$ para las series A (arriba) y B (abajo) .....	219

---

Fig. 5.49. Representación del Log UFC/g de enterobacterias durante el tiempo de almacenamiento para las series de elaborados A y B .....	220
Fig. 5.50. Reacción de detección de la actividad galactosidasa .....	222
Fig. 5.51. Reacción de detección de la actividad glucuronidasa .....	223
Fig. 5.52. Prueba de confirmación bioquímica “EnteroPluri-Test” .....	223
Fig. 5.53. Crecimiento de <i>E. coli</i> y coliformes fecales en el medio selectivo .....	224
Fig. 5.54. Resultados de la identificación bioquímica para <i>E. coli</i> .....	225
Fig. 5.55. Incubación en anaerobiosis de placas SPS .....	226
Fig. 5.56. Colonias de sulfito-reductores en aguas residuales .....	227
Fig. 5.57. Crecimiento de colonias de mohos y levaduras en medio RB .....	229
Fig. 5.58. Medios de enriquecimiento y detección de <i>Salmonella</i> .....	231
Fig. 5.59. Resultado negativo de <i>Salmonella</i> en muestra de alcachofa en IV Gama (izquierda) y resultado positivo de la cepa de control (derecha) .....	232
Fig. 5.60. Esquema de funcionamiento de la tira inmunocromatográfica .....	234
Fig. 5.61. Resultados negativos para listeria en los elaborados A y B .....	235
Fig. 5.62. Parámetros cinéticos y de ajuste del modelo de Baranyi y Roberts (1994). .....	239
Fig. 5.63. Ajuste del RAM de las series de elaborados A y B al modelo de crecimiento microbiano de Baranyi y Roberts (1994) .....	241

## ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 2.1. Clasificación taxonómica de la alcachofa cultivada según APG III (2009)</i>	11
<i>Tabla 2.2. Composición nutricional de la alcachofa cultivada (valores para 100 g de parte comestible)</i>	15
<i>Tabla 2.3. Producción, rendimiento y superficie cultivada de alcachofa en el mundo</i>	34
<i>Tabla 2.4. Principales países exportadores e importadores de alcachofa en el mundo</i>	37
<i>Tabla 2.5. Intercambio intracomunitario de alcachofa</i>	38
<i>Tabla 2.6. Requerimiento de nutrientes de distintas variedades de alcachofa, por toneladas y hectáreas de material vegetal</i>	64
<i>Tabla 2.7. Extracción de nutrientes durante el ciclo de cultivo de la alcachofa</i>	64
<i>Tabla 2.8. Época de plantación de países productores de alcachofa</i>	68
<i>Tabla 2.9. Herbicidas autorizados para el cultivo de alcachofa</i>	70
<i>Tabla 2.10. Programa de fertirrigación (Rincón, 1996)</i>	71
<i>Tabla 2.11. Medidas de control de plagas y enfermedades fúngicas y bacterianas en el cultivo de alcachofa en España</i>	81
<i>Tabla 2.12. Clasificación de frutas y hortalizas según su actividad respiratoria</i>	88
<i>Tabla 2.13. Condiciones idóneas de conservación para distintas frutas y hortalizas, y su periodo máximo de vida en dichas condiciones</i>	94
<i>Tabla 5.1. Producción media de los cultivares de alcachofa durante la 1ª y 2ª campaña</i>	127
<i>Tabla 5.2. Resultados ANOVA para el efecto de los cultivares, tipo de brácteas y nº de campañas y su interacción sobre la humedad</i>	133
<i>Tabla 5.3. Color del capítulo íntegro y del corazón de los cultivares muestreados durante la campaña 2010-2011</i>	135

<i>Tabla 5.4. Color del capítulo íntegro y del corazón de los cultivares muestreados durante la campaña 2011-2012</i> .....	135
<i>Tabla 5.5. Color del capítulo íntegro y del corazón de los cultivares muestreados durante la campaña 2012-2013</i> .....	136
<i>Tabla 5.6. Resultados ANOVA para el efecto de los cultivares, tipo de brácteas y nº de campañas y su interacción sobre las coordenadas CIELab.</i> .....	139
<i>Tabla 5.7. Resultados ANOVA para el efecto de los cultivares, tipo de brácteas y nº de campañas y su interacción sobre el contenido fenólico.</i> .....	149
<i>Tabla 5.8. Actividad PPO de los cultivares muestreados durante la campaña 2010-2011</i> .....	154
<i>Tabla 5.9. Actividad PPO de los cultivares muestreados durante la campaña 2011-2012</i> .....	155
<i>Tabla 5.10. Actividad PPO de los cultivares muestreados en la campaña 2012-2013.</i> .....	155
<i>Tabla 5.11. Actividad POD de los cultivares estudiados durante la campaña 2010-2011</i> .....	159
<i>Tabla 5.12. Actividad POD de los cultivares estudiados durante la campaña 2011-2012</i> .....	159
<i>Tabla 5.13. Actividad POD de los cultivares estudiados durante la campaña 2012-2013</i> .....	160
<i>Tabla 5.14. Resultados ANOVA para el efecto de los cultivares, tipo de brácteas y nº de campañas y su interacción sobre el PP</i> .....	166
<i>Tabla 5.15. Tasa respiratoria estimada para la alcachofa a distintas temperaturas por Suslow y Cantwell (1997).</i> .....	173
<i>Tabla 5.16. Análisis de varianza (ANOVA) de los parámetros químico-físicos analizados en los elaborados de alcachofa en IV Gama</i> .....	204
<i>Tabla 5.17. Medios de cultivo y condiciones de incubación adecuadas para los microorganismos de estudio.</i> .....	210
<i>Tabla 5.18. Recuento de mohos y levaduras en UFC/g durante el periodo de almacenamiento de los elaborados de alcachofa en IV Gama</i> .....	230

---

<i>Tabla 5.19. Parámetros cinéticos calculados mediante el modelo de Baranyi y Roberts y estimación del TVU.</i> .....	243
--	-----

## ÍNDICE DE ECUACIONES

<i>Ec. 5.1. Cálculo del porcentaje de humedad</i> .....	126
<i>Ec. 5.2. Necesidades brutas de riego para un cultivo</i> .....	129
<i>Ec. 5.3. Ecuación para el cálculo del Índice de Polifenoles Totales</i> .....	141
<i>Ec. 5.4. Ecuación para el cálculo del Índice de Folin- Ciocalteu</i> .....	145
<i>Ec. 5.5. Actividad polifenol oxidasa en U/ mL</i> .....	153
<i>Ec. 5.6. Actividad polifenol oxidasa en U/mg proteína</i> .....	153
<i>Ec. 5.7. Actividad peroxidasa en U/mL</i> .....	158
<i>Ec. 5.8. Actividad peroxidasa en U/mg proteína</i> .....	158
<i>Ec. 5.9. Calculo del Pardeamiento Potencial</i> .....	163
<i>Ec. 5.10. Ecuación del modelo de Baranyi y Roberts (1994)</i> .....	239
<i>Ec. 5.11. Integral de la función de ajuste del modelo de Baranyi y Roberts (1994)</i> ...	240
<i>Ec. 5.12. Cálculo del TVU en función del tiempo de generación</i> .....	242
<i>Ec. 5.13. Cálculo del TVU en función de la tasa máxima específica de crecimiento</i>	242

## **ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS**

A o Abs: absorbancia	C: concentración
AA: ácido ascórbico	CARM: Comunidad Autónoma de la Región de Murcia
Ac: anticuerpo	CECT: Colección Española de Cultivos Tipo
ADHA: ácido dehidroascórbico	CGL: cromatografía gas-líquido
ADV: Artichoke Degeneration Virus	CIREN: Centro de Información de Recursos Naturales (Chile)
AE: actividad enzimática	EDTA: ácido etilendiaminotetraacético
AFHORLA: Asociación Española de Frutas y Hortalizas Lavadas Listas para su empleo	ELISA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
AFNOR: Asociación Francesa de Normalización	EVOH: etilen-vinil-alcohol
Ag: antígeno	FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations
ALV: Artichoke Latent Virus	GA3: ácido giberélico
AM: atmósfera modificada	HEPA: High Efficiency Particulate Air
ANOVA: ANalysis Of VAriance	HR: humedad relativa
AOAC: Association Of Analytical Communities	IC: intervalo de confianza
AS: actividad específica enzimática	IFC: Índice de Folin-Ciocalteu
ATP: Adenosine triphosphate	IMIDA: Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agroalimentario
BME: $\beta$ -mercaptoetanol	INE: Instituto Nacional de Estadística
BSA: albumina sérica bovina	
Btu: unidades térmicas británicas	

IPT: Índice de Polifenoles Totales	RB: Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar
ISO: International Organization for Standardization	RLUs: unidades relativas de luz
Lag: fase de latencia	Sd: desviación estandar
LMRs: límites máximos de residuos	SIAM: Sistema de Información Agraria de Murcia
M.O: materia orgánica	SPS: Sulfite Polymyxin Sulfadiazine
MAGRAMA: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente	TBS: Caldo soja triptona
MM: masa molecular	TCD: Thermal Conductivity Detector
MS: espectrofotómetro de masas	TSA: Agar soja triptona
PAL: phenylalanine ammonia liase	TSWV: Tomato Spotted Wild Virus
PBD: Protein Data Bank	TVU: tiempo de vida útil
PCA: Plate Count Agar	u: masa atómica
PE: poliéster	U: unidades de enzima
PET: polietileno	U.F: unidades fertilizantes
POD: peroxidasa	UFC: unidades formadoras de colonias
PP: Pardeamiento Potencial	UMU: Universidad de Murcia
PPO: polifenol oxidasa	USDA: United States Department of Agriculture
PVP: polivinilpirrolidona	VRBG: Violet Red Bile Glucose
RAM: recuento de aerobios mesófilos	



## **1. JUSTIFICACIÓN E INTERÉS DEL ESTUDIO**



La Región de Murcia es una de las zonas productoras de alcachofa más importantes en el mundo, destacando como predominante la variedad “Blanca de Tudela”. Debido a la globalización de los mercados y la gran competencia que esta situación implica, los productores de esta hortaliza deben adaptarse a las demandas de aquellos países que son grandes consumidores y, por lo tanto, mercados en los que hay que competir con el resto de la producción mundial. Además de la optimización de los cultivos para aumentar el rendimiento económico, la introducción de nuevas variedades adaptadas al comercio estatal e intracomunitario son alternativas a considerar.

Por otra parte se puede constatar una retracción del consumo de alcachofa al nivel del consumidor final, situación que está relacionada con los cambios sociales y la preparación tediosa que exigen los capítulos de alcachofa frescos. Una alternativa para agilizar la preparación culinaria es la de desarrollar elaborados listos para el consumo mediante su transformación en forma de IV Gama. Sin embargo, este tipo de procesado

no es fácil en un material vegetal con tan alto potencial de pardeamiento. Otras frutas y hortalizas como acelgas, lechuga, zanahoria, tomates, melón, etc., pueden encontrarse en el mercado actual bajo este formato, mientras que aún es inexistente la presencia corazonas de alcachofa frescos cortados y envasados, listos para cocinar o degustar.

Atendiendo a la problemática expuesta, la presente investigación se ha enfocado bajo dos grandes líneas. Por una parte se ha realizado el estudio de nuevas variedades de alcachofa tras su implantación en las zonas productoras de la Región de Murcia; la selección de estos cultivares ha tenido en consideración aquellos que presentan, o pueden presentar, buenas perspectivas para el mercado de consumo en fresco y con proyección para la exportación. En segundo lugar, se ha llevado a cabo el desarrollo de elaborados de alcachofa bajo el formato de IV Gama que, que emplea tratamientos mínimos y mantiene las características organolépticas del producto fresco, pero elimina los inconvenientes de comprar y transportar un gran volumen de la hortaliza de la que solo se consume una mínima parte, además de la incomodidad de la manipulación previa. Para garantizar la calidad y seguridad, los elaborados diseñados han sido sometidos a un exhaustivo control de estabilidad físico-química y microbiológica durante el periodo de conservación.

## **2. ANTECEDENTES**



## 2.1. Origen y domesticación de la alcachofa

La especie *Cynara cardunculus* está formada por tres subespecies principales pertenecientes a la familia de las *Asteraceae*: el cardo silvestre *Cynara cardunculus* L. var. *sylvestris* (Lamk) Fiori, la alcachofa cultivada *Cynara cardunculus* var. *scolymus* L. Fiori y el cardo cultivado *Cynara cardunculus* var. *altilis* DC (Basnizki y Zohary, 1994; Rottenberg y Zohary, 1996; Rottenberg y Zohary, 2005; Sonnante y col., 2007).



Fig. 2.1. Alcachofa cultivada (izquierda), cardo cultivado (centro) y cardo silvestre (derecha).

El progenitor común de las subespecies cultivadas, es decir, la alcachofa y el cardo cultivado, es el cardo silvestre. Tras la última glaciación esta especie se extendió hacia la parte oriental y occidental de la cuenca mediterránea, dejando huellas aun visibles de su paso. Este es el caso de los cardos silvestres *C. syraca*, *C. cyrenaica*, y *C. cornigera* en el área oriental, y *C. betica*, *C. algarbienis* y *C. humilis* en la zona occidental (Pignone y Sonnante, 2009).

El consumo de alcachofa se remonta al 2000 o 2500 a.C. En esta época únicamente se consumían los tallos florales y las nervaduras carnosas de la hojas de los cardos, ya que las inflorescencias eran pequeñas, espinosas y de sabor amargo (Bartual, 1985).

La domesticación de la alcachofa tuvo lugar en el siglo XV en los monasterios cristianos de Sicilia, donde los monjes la cultivaban y mejoraban, evolucionando hasta la alcachofa que se conoce en la actualidad. Los árabes se encargaron de extender este cultivo a otras regiones mediterráneas, mientras que Italia fue una conexión importante para su propagación por el norte de Europa central y oriental (Pignone y Sonnante, 2004).

El nombre del género *Cynara* viene de la palabra griega “*kinara*”, que significa planta espinosa (Bianco, 1990). Los nombres actuales destinados a nombrar la alcachofa en Italia (carciofo), España (alcachofa) y Portugal (alcachofra), vienen de la palabra árabe “*al’qarshuff*”, mientras que en inglés, francés, alemán y en otros idiomas de Europa del

Norte, el nombre actual proviene de una palabra compuesta del latín “*articoculum*”, cuyo significado es *Artus* = espinosa y *cocolum* = esfera (Bianco, 1990; Pignone y Sonnante, 2009).

En el siglo XVI la alcachofa llegó a Francia de la mano de Catalina de Médicis al contraer matrimonio con Enrique II. En 1800 los navegantes franceses la introdujeron en América, concretamente en Luisiana y, posteriormente, llegó a California, uno de los lugares con mayor número de hectáreas cultivadas. Tras la primera guerra mundial la migración italiana la llevó a Argentina y Perú.

## **2.2. Características taxonómicas y botánicas**

La alcachofa cultivada *Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.), Fiori pertenece a la familia *Asteraceae*. Es una planta diploide, semiperenne y de polinización cruzada. La planta posee  $2n = 2x = 34$  cromosomas, es de color verde plateado y crece hasta una altura media de 1,0 m – 1,5 m cubriendo un área de 1,5 m – 2,0 m de diámetro; no obstante alguno de los cultivares actuales presentan portes más elevados. (Bianco, 1990; Pignone y Sonnante, 2009).

Tabla 2.1. Clasificación taxonómica de la alcachofa cultivada según APG III (2009)

<b>Clase</b>	Magnoliidae
<b>Subclase</b>	Asteridae
<b>Orden</b>	Asterales
<b>Familia</b>	Asteraceae (Compositae)
<b>Subfamilia</b>	Tubulifloroideae
<b>Género</b>	<i>Cynara</i>
<b>Especie</b>	<i>cardunculus</i>
<b>Subespecie</b>	<i>scolymus</i>

La clasificación taxonómica de las distintas especies dentro del género *Cynara* ha ido evolucionando en el tiempo. Linnaeus (1753) clasificó a *C. cardunculus* y *C. scolymus* como dos especies diferentes del género *Cynara*. En 1890, De Candolle propuso que la alcachofa cultivada derivaba de la especie *C. cardunculus* L. var. *sylvestris* (Lamk) Fiori, mientras que Wiklund (1992) consideraba que el cardo y la alcachofa eran cultivares de la misma subespecie (*C. cardunculus flavescens*). Rottenberg y Zohary (1996) sostienen, mediante estudios de hibridación, que la alcachofa cultivada, el cardo silvestre y el cardo cultivado constituyen una especie única: *C. cardunculus* L.

Los estudios más recientes han demostrado que tanto el cardo como la alcachofa cultivada proceden del cardo silvestre *Cynara cardunculus* L. var. *sylvestris* (Lamk) Fiori. Estas tres subespecies de *C. cardunculus* son genéticamente similares entre sí, mientras que otras especies del género *Cynara* (*C. humilis*, *C. tournefortii*, *C. algarbiensis*, *C. baetica*, *C. syriaca*, etc) no comparten esta elevada analogía genética, aunque en algunos casos se ha encontrado un cierto grado de parentesco (Basnizki y Zohary, 1994; Sonnante y col., 2004).

Comercialmente, en las regiones mediterráneas, la planta de alcachofa puede permanecer en el terreno entre 4 y 5 años, pero la tendencia actual es renovar el

alcachofar cada 1 o 2 años debido a que las cosechas posteriores son de menor calidad y dan una baja producción (Ryder y col., 1983). La vida de la planta está salpicada de períodos de reposo, que se manifiestan durante el verano en los países de clima mediterráneo y durante el invierno en los países fríos.

El sistema radicular de la planta está formado por raíces suculentas y fibrosas, insertadas en un rizoma que permite el rebrote vegetativo de la planta a través de hijuelos. El número de éstos puede variar de un simple hijuelo en una planta joven hasta aproximadamente 12 en las plantas adultas. El rizoma es, por tanto, el responsable en la multiplicación de la planta (Macua y col., 1991).



*Fig. 2.2. Sistema radicular de una planta de alcachofa*

La corona es el punto de unión entre tallo y raíz en la planta de alcachofa, el cual presenta una serie de yemas que dan origen a los hijuelos. Cada yema da lugar a un tallo principal, erguido, grueso y acanalado longitudinalmente. Los tallos son de color verde grisáceo y pueden llegar a medir hasta 1,5 m dependiendo de las características genéticas de la planta (La Malfa y Foury, 1971). En el extremo principal del tallo se genera una inflorescencia llamada cabezuela, que es una ramificación que termina en flores sésiles, de color violáceo o morado, que se insertan en el ápice o receptáculo rodeado por una serie de brácteas carnosas. Del tallo principal se desarrollan ramificaciones que dan lugar a cabezuelas secundarias y terciarias de menor tamaño (Ryder y col., 1983).



*Fig. 2.3. Cabezuela de alcachofa*

Las hojas son alargadas, grandes (de hasta 1 m de longitud dependiendo de la variedad), agrietadas, grisáceas-verdosas por el haz, y pilosas por el envés, con una nervadura prominente. Las hojas que envuelven al capítulo constituyen las brácteas, que junto al

receptáculo (conocido como “fondo de alcachofa”) forman la parte comestible de la alcachofa. Debe consumirse antes de que se desarrolle la flor ya que en ese caso el receptáculo se endurece y forma espinas. Este fruto es un aquenio de color grisáceo con manchas parduzcas, provisto de un vilano plumoso encargado de favorecer la diseminación (Maroto, 1983).

Las semillas de la planta se encuentran en el interior del fruto y son aquenios pequeños (de unos 5 o 7 mm), de color grisáceo. Cada fruto puede contener entre 50 y 180 semillas, dependiendo de la variedad, con una capacidad germinativa de 6 a 7 años y una germinación entre 7 y 20 días (Foury, 1967; Maroto, 1983).



*Fig. 2.4. Flor de alcachofa*



*Fig. 2.5. Semillas de alcachofa*

### **2.3. Composición química y propiedades nutraceuticas**

La alcachofa es un alimento muy valorado en la dieta mediterránea gracias a sus saludables propiedades nutricionales. Su elevada humedad, bajo contenido calórico, la práctica ausencia de grasas y su naturaleza fibrosa la han convertido en uno de los alimentos dietéticos por excelencia. Otra característica importante es el alto contenido de minerales, sobre todo en potasio, sodio, magnesio, fósforo y calcio, que son fundamentales para el organismo, ya que participan en numerosas funciones como la regulación de líquidos en el cuerpo, control de la presión arterial, funcionamiento del intestino, músculos y nervios, etc.

El carbohidrato más importante que se encuentra en esta hortaliza es la inulina, un oligopolímero de fructosa que no puede ser digerido por el intestino delgado humano, y que tiene propiedades prebióticas y bifidobacterianas. Esta fibra aumenta la absorción intestinal de minerales como el calcio, reduciendo el riesgo de osteoporosis; reduce la síntesis de ácidos grasos en el hígado, descendiendo el riesgo de arteroesclerosis; y modula los niveles de glucosa en sangre (Lattanzio y col., 2009).

Otros compuestos bioactivos, con numerosos beneficios para el organismo, presentes en las cabezuelas de las alcachofas son las vitaminas y los compuestos fenólicos (Cabezas-Serrano y col., 2009; Lattanzio y col., 2009).

*Tabla 2.2. Composición nutricional de la alcachofa cultivada (valores para 100 g de parte comestible)*

Agua (g)	84,94	Hierro (mg)	1,28
Energía (kcal)	47	Fósforo (mg)	90
Grasas (g)	0,15	Potasio (mg)	370
Proteínas (g)	3,27	Sodio (mg)	94
Carbohidratos (g)	10,51	Ac. ascórbico (mg)	11,7
Cenizas (g)	1,13	Tiamina (mg)	0,072
Azúcares (g)	0,99	Niacina (mg)	1,046
Colesterol (mg)	0	Vitamina E (mg)	0,19
Fibra (g)	5,4	Riboflavina (mg)	0,066
Calcio (mg)	44	Ácido pantoténico (mg)	0,338
Magnesio (mg)	60	Vitamina B-6 (mg)	0,116

USDA (2013)

### 2.3.1. Vitamina C

La vitamina C es el enantiómero L del ácido ascórbico; una vitamina hidrosoluble que actúa como coenzima en la síntesis de colágeno, glóbulos rojos, huesos y dientes, además de favorecer la adsorción de nutrientes, entre otras funciones metabólicas.

El ser humano no es capaz de producir vitamina C debido a la ausencia de la enzima necesaria para su síntesis, la L-gulonolactona oxidasa; por ello, debe incluirse en la dieta a través de frutas y verduras que la contengan. El consumo de esta vitamina ayuda a reducir el riesgo de cáncer y enfermedades cardiovasculares.

El ácido ascórbico (AA) se oxida fácilmente en disolución a ácido dehidroascórbico (ADHA). Esta reacción es catalizada por las enzimas ascorbato peroxidasa y ascorbato oxidasa, y se favorece a elevada temperatura, pH alcalino, y en presencia de oxígeno y de trazas de hierro o cobre. El AA en primer lugar se oxida a ADHA que debido a su inestabilidad se deslactoniza generando el ácido 2,3-dicetogulónico (fig.2.6). La función vitamínica está presente tanto en el AA como en su forma oxidada ADHA, mientras que el producto de hidrólisis carece de esta propiedad. El ácido 2,3-dicetogulónico puede continuar oxidándose, sufriendo deshidrataciones y polimerizaciones que dan lugar a una gran variedad de compuestos volátiles y coloreados (Davey y col., 2000).

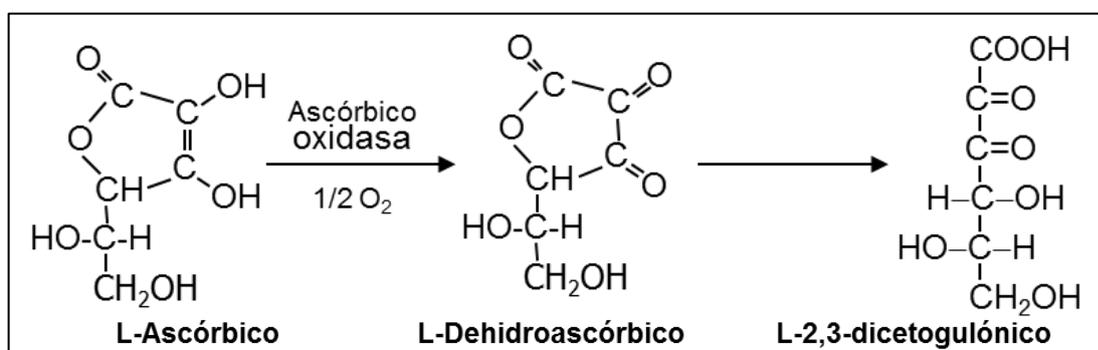


Fig. 2.6. Oxidación del ácido ascórbico

Las principales funciones de la vitamina C son: donador y aceptor de electrones, cofactor enzimático, y captador de radicales libres. Esta última función es la que le confiere su alto poder antioxidante. Estas cualidades son las responsables de su uso como aditivo en alimentación: como antipardeante de fruta y verdura procesada, en curaciones de carnes, en bebidas refrescantes, zumos, etc.

La mayor parte de la vitamina C encontrada en la alcachofa se encuentra como ADHA, debido fundamentalmente a la gran actividad enzimática presente en esta hortaliza (peroxidasas, ascorbato oxidasas, polifenol oxidasas, citocromo oxidasas, etc.), que puede actuar catalizando reacción de oxidación del AA (Espín y col., 2000). Durante el almacenamiento de esta hortaliza, la oxidación de la vitamina C no se detiene, por lo que finalmente se pierde gran parte de la actividad vitamínica (Gil- Izquierdo y col, 2001).

La parte comestible de la alcachofa contiene alrededor de unos 100 mg/kg de vitamina C, dependiendo de la variedad (Ihl y col., 1998). Mencarelli y col., 1982 encontraron valores mucho más elevados para el cultivar “Violeta de Toscana”, alrededor de 620 mg/kg. Gil-Izquierdo y col. (2001) encontraron unos 200 mg/kg de vitamina C en la parte comestible del cultivar “Blanca de Tudela”. Además, observaron que las brácteas internas poseen mayor contenido de vitamina C que las brácteas externas.

Los procesos de corte en la alcachofa influyen negativamente sobre el contenido de vitamina C, ya que no sólo aumenta la exposición al oxígeno atmosférico, sino que se favorece el aumento de la actividad enzimática, favoreciendo la oxidación del AA (Salveit, 2003). Los tratamientos a elevada temperatura también aceleran la velocidad de degradación de la vitamina C (García y col., 2000).

### 2.3.2. Compuestos fenólicos de importancia en la alcachofa

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios presentes en las plantas con una estructura común: una o varias funciones fenol unidas a una estructura aromática o alifática. Existen diversos tipos de compuestos fenólicos que se diferencian estructuralmente: ácidos fenólicos, flavonoides, antocianos y taninos, entre otros. Estos compuestos desempeñan numerosas funciones en las plantas: contribuyen al color, sabor y aroma, protegen del ataque de patógenos e intervienen en el crecimiento y madurez de la planta. Pero la importancia de estos compuestos reside sobretudo en la doble función que realizan como antioxidantes y como sustratos de reacciones de pardeamiento oxidativo (Lattanzio y col., 1994; Tomás-Barberán y Espín, 2001).

La alcachofa contiene una gran cantidad de fenoles naturales, entre los que destacan los ácidos hidroxicinámicos, tales como el ácido *p*-cumárico (ácido 4-hidroxicinámico) y en mayor medida derivados del ácido cafeico (ácido 3,4-dihidroxicinámico) (Lattanzio y col., 1994).

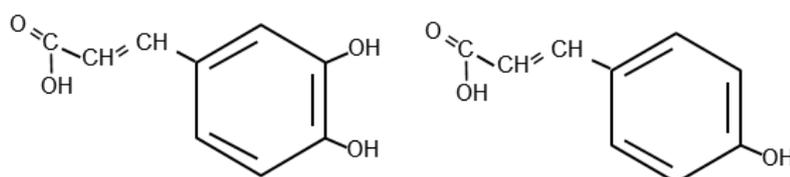


Fig. 2.7. Estructuras del ácido cafeico (izquierda) y cumárico (derecha)

Los ácidos hidroxicinámicos son compuestos con un esqueleto del tipo fenilpropanoide ( $C_6-C_3$ ), que se diferencian por las sustituciones del anillo fenólico. La mayor parte de estos compuestos se encuentran conjugados con otros ácidos. En la alcachofa la mayor parte del ácido cafeico presente se encuentra conjugado con el ácido quínico, formando derivados cafeilquínicos. Los más relevantes son: el ácido clorogénico (ácido 5-*O*-cafeilquínico (39%)), ácido 1,5-di-*O*-cafeilquínico (21%), el ácido 3,4-di-*O*-cafeilquínico (11%) y la cinarina (ácido 1,3-di-*O*-cafeilquínico (1,5%)) (Lattanzio y col., 2009).

Estos compuestos tienen propiedades anticancerígenas, diuréticas y coleréticas. Favorecen la formación y eliminación de bilis, facilitando la digestión de los alimentos y disminuyendo los niveles de colesterol. De esta forma se mejora el funcionamiento del hígado y se evitan problemas como la insuficiencia hepática o la hepatitis. La cinarina es la responsable del aumento en la eliminación de la orina, mejorando problemas de retención de líquidos, hipertensión, cálculos renales, etc.

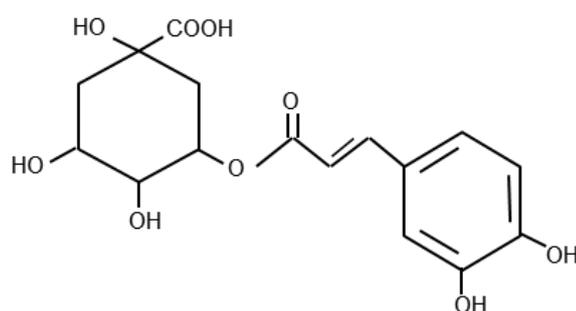


Fig. 2.8. Estructura del ácido 5-O- cafeilquínico (ácido clorogénico)

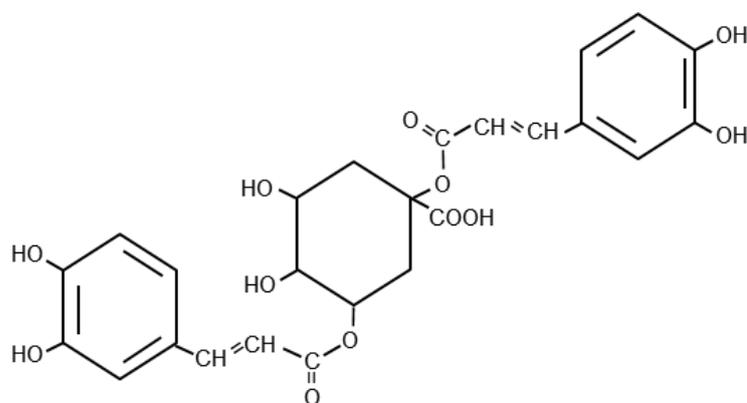


Fig. 2.9. Estructura del ácido 1,3-di-O-cafeilquínico (cinarina)

Otros constituyentes minoritarios en la alcachofa son los flavonoides. Estos compuestos poseen un esqueleto tipo difenil-pirano ( $C_6-C_3-C_6$ ), compuesto por un anillo A y otro B unidos por un heterociclo C de tres átomos de carbono y un átomo de oxígeno (fig.2.10). Dependiendo de los sustituyentes que presente la estructura básica se clasifican en chalconas, flavonoles, flavonas, flavononas, catequinas,

dihidroflavonoides, isoflavonoides y antocianidinas. Pueden encontrarse combinados con carbohidratos (glicósidos) o no combinados (agliconas) y son los responsables de las características organolépticas de las frutas y hortalizas (Tomás-Barberán y Espín, 2001).

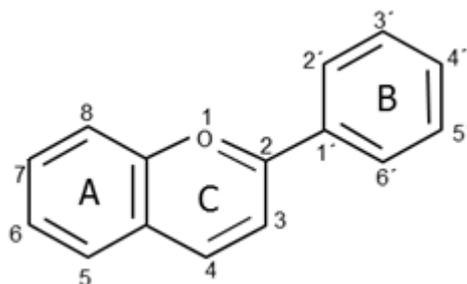


Fig. 2.10. Estructura genérica de flavonoides

En la alcachofa se han identificado flavonas tales como apigenina y luteolina, en forma de glucósidos y rutinósidos (fig. 2.11 y 2.12), tanto en las cabezuelas como en las hojas de la planta. También se han extraído antocianidinas como cianidina, peonidina y delphinidina, responsables del color de los capítulos de alcachofa (Lattancio y col., 2009). Estos compuestos también suelen estar presentes unidos a moléculas de carbohidratos (fig.2.14).

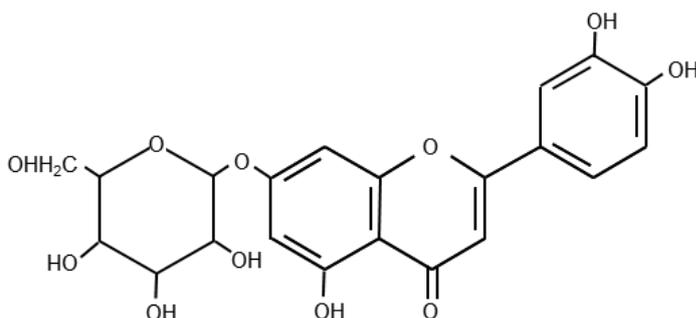


Fig. 2.11. Luteolina-7-O-glucósido

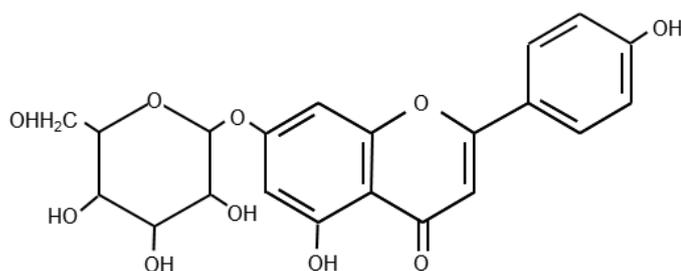


Fig. 2.12. Apigenina-7-O-glucósido

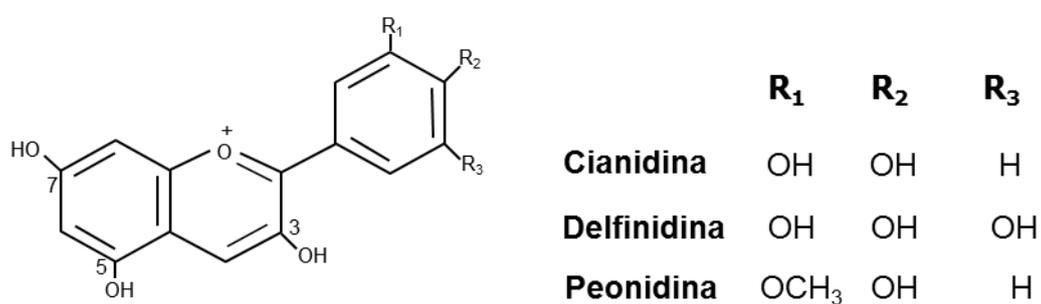


Fig. 2.13. Estructura de las principales antocianidinas (agluconas) presentes en la alcachofa

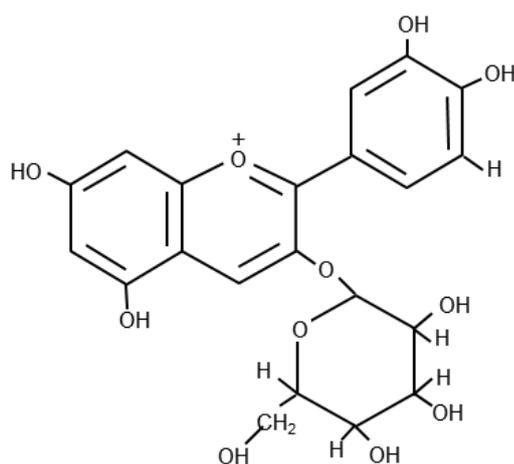


Fig. 2.14. Cianidina-3-O-glucósido

Son muchos los factores que pueden afectar al contenido fenólico de la alcachofa: genotipo, manejo pre-cosecha, época de recolección, estado de madurez, operaciones de procesado, conservación, etc.

Numerosos autores han demostrado que la composición fenólica (cualitativa y cuantitativa) varía en función de la variedad de alcachofa. Además, estos compuestos tienden a acumularse preferentemente en diferentes partes de esta hortaliza. De este modo, con independencia del genotipo, se han encontrado mayores cantidades de compuestos fenólicos en las brácteas internas y el receptáculo, que en las brácteas externas y las hojas de la planta (Gil-Izquierdo y col., 2001; Fratianni y col., 2007; Cabezas-Serrano y col., 2009; Lombardo y col., 2010; Ricci y col., 2013).

Lombardo y col. (2010) evaluaron el contenido fenólico de la variedad “Romanesco” según la fecha de recolección (en verano e invierno), encontrando diferencias significativas. Las alcachofas recolectadas en primavera presentaron mayor contenido fenólico, 16 veces más, que las cosechadas en invierno. Además, varios ácidos fenólicos y flavonoides que no se encontraban presentes en invierno, aparecieron en las alcachofas de primavera.

Las condiciones ambientales (temperatura, atmósfera, luz, etc.) y el estado fisiológico de la planta de alcachofa es otro factor importante que afecta al contenido fenólico. Durante el desarrollo de la cabezuela de alcachofa, el contenido de estos compuestos bioactivos va disminuyendo progresivamente. Temperaturas altas, elevadas concentraciones de oxígeno y los procesos de corte y pelado, favorecen la intervención de estos compuestos en las reacciones de pardeamiento enzimático, variando su composición en los tejidos vegetales (Ricci y col., 2013).

### 2.3.3. Pardeamiento enzimático

El pardeamiento enzimático es la oxidación de compuestos fenólicos a *o*-quinonas. Estos últimos compuestos son muy reactivos, por lo que continúan combinándose con los grupos amino o sulfhídrico de las proteínas, originando polímeros coloreados llamados melaninas. Estos polímeros tienen colores pardos, rojizos y negros que degradan la calidad visual y nutricional de las frutas y hortalizas (Cabezas-Serrano y col., 2009; Lattanzio y col., 1994; Tomás-Barberán y Espín, 2001).

Los principales grupos de enzimas que catalizan la oxidación fenólica son polifenol oxidasas (PPO) y peroxidasas (POD). La mayor parte del contenido enzimático se localiza en los plástidos de las células vegetales, mientras que los compuestos fenólicos se sitúan en la vacuola; de manera que cuando tiene lugar un proceso de ruptura del tejido vegetal, se produce una descompartimentación celular que pone en contacto las enzimas con los sustratos fenólicos, produciéndose la oxidación.

El pardeamiento de las frutas y hortalizas está influenciado por un gran número de variables: la actividad enzimática, cantidad y naturaleza de compuestos fenólicos, pH, temperatura, genotipo, estado fisiológico, actividad de agua y la disponibilidad del oxígeno entorno al tejido vegetal (Ahvenainen, 1996)

La alcachofa es un vegetal muy susceptible al pardeamiento enzimático debido, principalmente, a su alto contenido de compuestos fenólicos y a la elevada actividad enzimática que presentan sus tejidos. Es durante el procesado de esta hortaliza cuando se alcanza la mayor oxidación enzimática, produciéndose el oscurecimiento indeseable de la superficie (fig.2.15) (Lattanzio y col., 1994).

Diferentes autores han demostrado que existe una proporcionalidad directa entre el contenido polifenólico y la susceptibilidad de pardeamiento en la alcachofa (Cabezas-Serrano y col., 2009; Todaro y col., 2010). Además, el tipo de fenoles presentes en el vegetal influye sobre la reacción de oxidación, siendo el ácido clorogénico el mejor sustrato para la enzima PPO de la alcachofa (Leoni y col., 1990; Todaro y col.; 2010).

Se han realizado numerosos estudios de la actividad enzimática en la alcachofa. Espín y col. (1997) aislaron la enzima PPO en esta hortaliza, confirmando su mecanismo de actuación; Ziyani y Pekyardimci (2003) extrajeron y caracterizaron la PPO de la piel y la parte carnosa; Lattanzio y col. (1994) estudiaron el pardeamiento durante su almacenamiento y la relación con los procesos químicos y enzimáticos. El estudio llevado a cabo por Todaro y col. (2010) relaciona, no sólo el contenido de fenoles de la alcachofa con el pardeamiento, sino que relaciona linealmente la actividad PPO con la cantidad de fenoles y la susceptibilidad de pardeamiento.



*Fig. 2.15. Alcachofa recién cortada sin signos de pardeamiento (A). Señales de pardeamiento a los 30 min del corte (B)*

El pardeamiento enzimático depende de la variedad de alcachofa, al igual que ocurre con el contenido fenólico y la actividad enzimática. Además, las variedades recolectadas durante los meses fríos suelen presentar menor susceptibilidad de pardeamiento que las cosechadas en los meses más cálidos (Di Venere y col., 2005; Massignan y col., 2005; Ricci y col., 2013). El estudio de todas estas variables es muy útil para determinar la predisposición de un tipo de cultivar para ser procesado. De este modo, cultivares de elevado contenido fenólico y alta actividad enzimática son más propensos a pardearse durante los procesos de pelado y corte, siendo poco aptos para el procesado. (Cefola y col., 2012; Cabezas-Serrano y col., 2009; Todaro y col., 2010).

### 2.3.3.1. Enzimas responsables del pardeamiento

La PPO (EC 1.10.3.1.) es una enzima oxidoreductasa con dos átomos de cobre puenteados por una molécula de solvente en su centro activo, unidos a histidinas. Los aminoácidos hidrofóbicos responsables de la unión de los sustratos están situados alrededor de los átomos de cobre (fig.2.16).

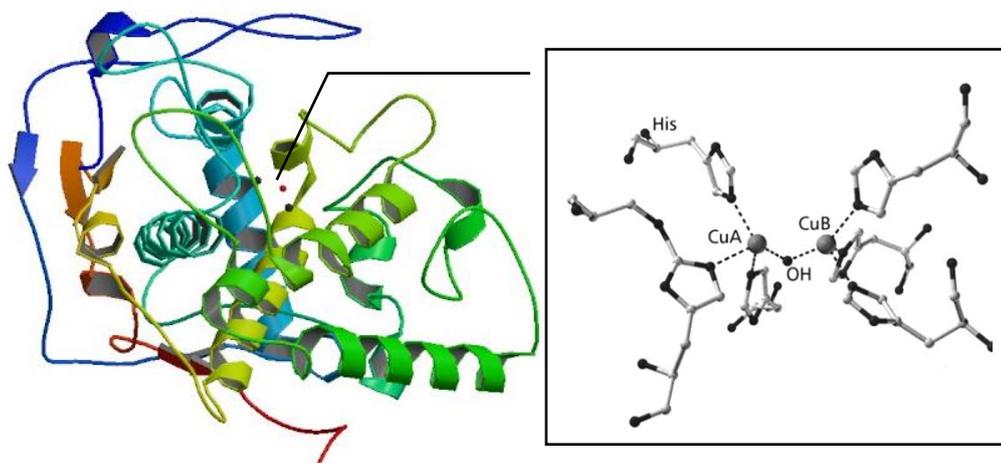


Fig. 2.16. Estructura de la polifenol oxidasa de uva (Virador y col., 2010) y ampliación del centro activo (PBD, 2013)

En la figura 2.17 se muestra el mecanismo de actuación de la PPO, el cual consiste en la catálisis de dos tipos de reacciones acopladas: la hidroxilación de monofenoles a *o*-difenoles (actividad monofenolasa o cresolasa) y la oxidación de *o*-difenoles a *o*-quinonas (actividad difenolasa o catecolasa) (Sanchez-Ferrer y col., 1995; Espín y col., 1996).

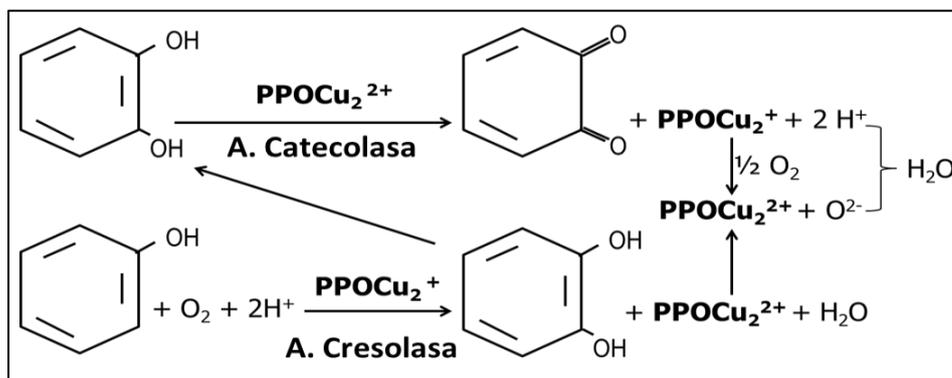


Fig. 2.17. Mecanismo de actuación de la enzima PPO sobre monofenoles y difenoles

Para que se produzca la hidroxilación de los monofenoles es necesario que el  $\text{Cu}^{+2}$  se reduzca a  $\text{Cu}^+$ , ya que en este estado de oxidación la enzima es capaz de ligar oxígeno para formar el complejo enzima-sustrato que da lugar, finalmente, a *o*-quinonas. Los átomos de cobre son capaces de volver a oxidarse en presencia de oxígeno, continuando con la formación de *o*-quinonas que polimerizan dando compuestos coloreados.

Otras enzimas responsables, en menor medida, del pardeamiento de las frutas y hortalizas son las peroxidasas. Se encuentran ampliamente distribuidas en frutas y hortalizas pero su mecanismo de acción en los procesos de pardeamiento no está del todo claro.

Las POD (EC 1.11.1.7) son enzimas con un centro activo formado por un grupo hemo, con  $\text{Fe}^{3+}$  pentacoordinado, unido a una glicoproteína (fig.2.18). Actúan catalizando las reacciones de oxidación de donantes de hidrógeno, como compuestos fenólicos, en presencia de  $\text{H}_2\text{O}_2$  como oxidante (Dunford y Stillman, 1997). Esta oxidación enzimática está limitada por la baja disponibilidad de peróxidos en el interior de las células vegetales (Robinson, 1991).

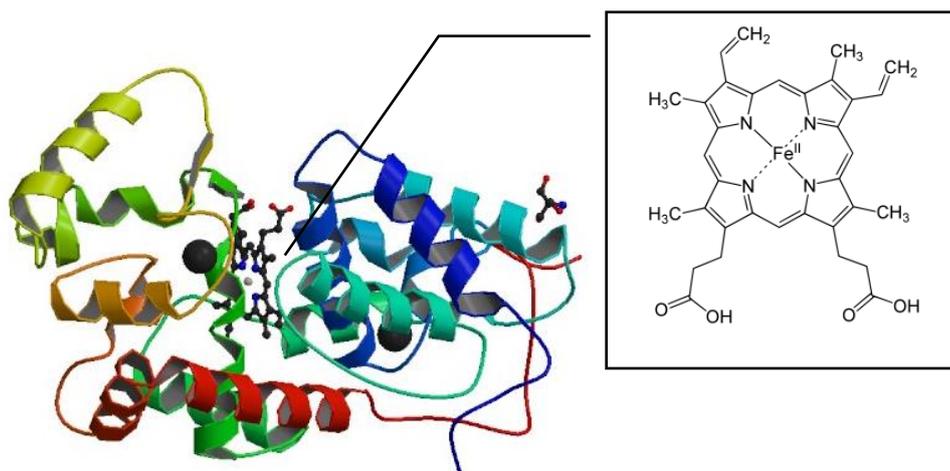


Fig. 2.18. Estructura tridimensional de POD de la soja (Henriksen y col., 2001) y del grupo hemo del centro activo (PBD, 2013)

El mecanismo de actuación de esta enzima consta de dos procesos (Dawson, 1988): un ciclo oxidasa en el que se genera H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gracias a la oxidación de sustratos en presencia de oxígeno, y un ciclo peroxidasa en el que los peróxidos generados se usan para oxidar otros sustratos (fig.2.19). La POD no es una enzima oxidativa, por lo que esta función requiere de la participación de una enzima oxidasa, como por ejemplo la PPO. Esta última genera los peróxidos necesarios para el ciclo peroxidasa, produciéndose un efecto sinérgico entre ambas enzimas que favorece el pardeamiento (Richard-Forget y Gauillard, 1997; Robards y col., 1999; Nicolas y col., 1994; Tomás-Barberán y Espin, 2001).

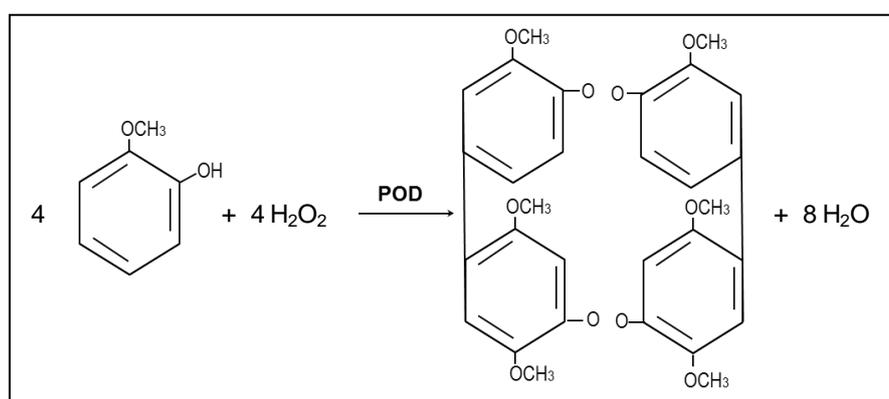


Fig. 2.19. Oxidación de guayacol a un complejo coloreado de tetraguayacol en presencia de POD

Paralelamente a estas enzimas actúa la fenilalanina amonio liasa (PAL), catalizando la desaminación no oxidativa de fenilalanina a ácido cinámico, sintetizándose nuevos compuestos fenólicos que sirven de sustrato para la oxidación en presencia de PPO (Saltveit, 1997).

### **2.3.3.2. Control del pardeamiento enzimático**

El pardeamiento es el principal problema del procesado de frutas y hortalizas, ya que reduce la vida útil y la calidad comercial, ocasionando importantes pérdidas económicas. Los métodos para controlar o inhibir la oxidación enzimática pueden ser físicos, químicos o una combinación de ambos. Todas estas técnicas actúan sobre los parámetros que hacen posible las reacciones de pardeamiento: oxígeno, enzimas y sustratos.

#### **❖ Métodos físicos**

Consisten en la disminución de la actividad enzimática, actuando sobre la temperatura y la disponibilidad de oxígeno.

##### **- Modificación de la temperatura**

Para minimizar o inhibir la actividad de la enzima PPO, principal responsable del pardeamiento enzimático, se deben emplear temperaturas que disten del intervalo óptimo de actuación de la enzima. La termoestabilidad de la PPO varía en función del tipo de cultivo. En el caso de la alcachofa, la actividad PPO máxima se alcanza a unos 50°C, mientras que a valores de temperatura superiores a 75°C se detiene su actuación (Todaro y col., 2010).

Los tratamientos térmicos a elevada temperatura como por ejemplo el escaldado (75-95°C durante 1-10 min), disminuyen la actividad de las enzimas, llegando incluso a desnaturalizarlas. Este tipo de tratamientos pueden ocasionar la pérdida de calidad del producto si no se controla bien el proceso de escaldado. Es una buena técnica para los vegetales que se van a usar para conservas o congelados, aunque en frutas como peras y manzanas mínimamente procesadas, se ha empleado dicha técnica con éxito (Pérez y col., 2001; Kim y col., 1993).

El uso de bajas temperaturas durante el manejo, procesado y almacenamiento de las frutas y hortalizas frescas o mínimamente procesadas, inhibe la actividad enzimática, además de disminuir los procesos metabólicos y el riesgo de infecciones microbianas durante la post-cosecha (Artés Calero, 2006). En la alcachofa la temperatura idónea para garantizar su calidad ronda los 0°C (Suslow y Cantwell, 1997).

- Uso de atmósferas protectoras

Limitar la presencia de oxígeno en los productos hortofrutícolas es una de las técnicas más utilizadas para evitar los procesos de oxidación enzimática, ya que este gas actúa como aceptor final de pares de electrones en este tipo de reacciones. Hay que tener la precaución de no usar niveles demasiado bajos, ya que la anoxia puede favorecer procesos fermentativos y el desarrollo de microorganismos patógenos anaeróbicos como *Clostridium botulinum*, generándose malos olores y sabores (Arias y col., 2007).

El envasado en atmósfera protectora puede realizarse mediante tres vías: envasado al vacío, eliminando todo el oxígeno presente; atmósferas controladas, sustituyendo el aire presente en una cámara de almacenamiento por una mezcla de gases que se puede ir controlando en el tiempo; y atmósferas modificadas, el método más utilizado en vegetales.

El envasado en atmósfera modificada (AM) consiste en la eliminación del aire del interior del envase, sustituyéndolo por una mezcla de gases adecuada, según el tipo de alimento. El uso de plásticos con permeabilidad selectiva que permita el intercambio gaseoso entre el interior del envase y la atmósfera exterior es importante, ya que en los

vegetales envasados los procesos metabólicos de respiración, transpiración, producción de etileno, etc. no se detienen (fig.2.20). Conseguir un equilibrio gaseoso que aumente la vida útil de estos alimentos no es una tarea fácil (Ospina y Cartagena, 2008).

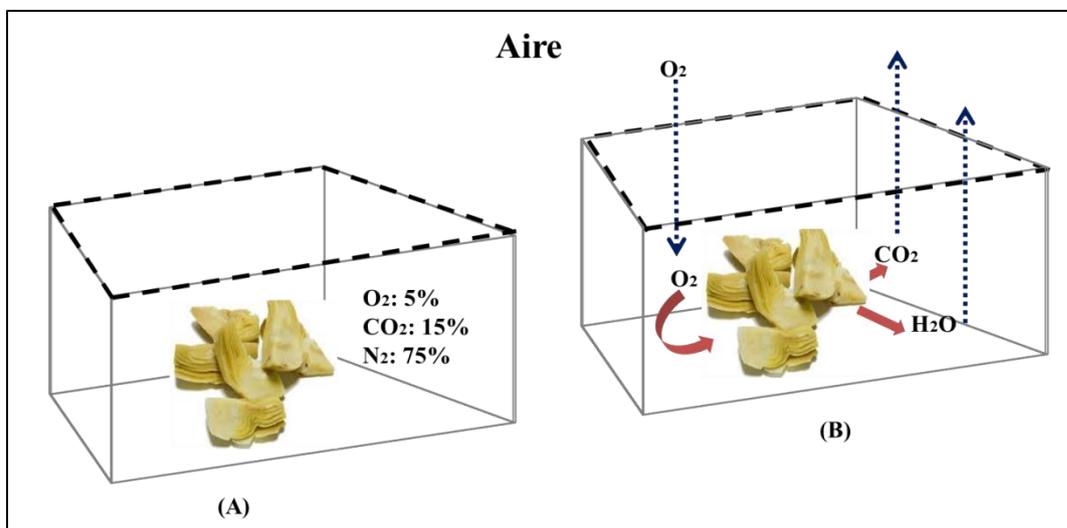


Fig. 2.20. Alcachofa envasada en AM (A). Variación de la atmósfera en el interior del envase permeable que contiene vegetales metabólicamente activos (B)

El uso de bajas presiones parciales de O<sub>2</sub> y elevadas de CO<sub>2</sub>, respetando los límites de tolerancia de los vegetales a estos gases (Artés Hernández, 2007), frena los procesos de pardeamiento, además de reducir la respiración, transpiración y producción de etileno (Kader, 2002).

Los gases que se suelen emplear en AM son: O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>; o mezclas de los mismos. El CO<sub>2</sub> desplaza el O<sub>2</sub> del interior del envase, minimizando la acción de la enzima PPO en los procesos de pardeamiento. Además, ataca electrófilamente a las *o*-quinonas, impidiendo su polimerización (Heimdal y col., 1997). Este gas tiene propiedades antimicrobianas que reducen el crecimiento de bacterias Gram-negativas como *Pseudomonas*, y en concentraciones elevadas *Salmonella* y *E. coli*. En cambio, el crecimiento de las bacterias ácido-lácticas se estimula con la presencia de este gas, y otros microorganismos como las levaduras y mohos son muy resistentes (Martín y Oms, 2005). Esta propiedad antimicrobiana se debe, principalmente, a la disminución del pH provocada por la disolución parcial del CO<sub>2</sub> en el agua.

Uno de los problemas del uso del CO<sub>2</sub> en el envasado el AM es el colapso del envase, debido al aumento de este gas en su interior, en vegetales con una elevada tasa de respiración. Para solucionarlo se suelen usar altas concentraciones de N<sub>2</sub> (Ospina y Cartagena, 2008).

### ❖ **Métodos químicos**

Existen diversos compuestos químicos que pueden actuar sobre las enzimas, sustratos o sobre los productos de las oxidaciones enzimáticas, inhibiendo el pardeamiento. Se pueden clasificar según su función en antioxidantes, quelantes y acidulantes (Ahvenainen, 1996; Amodio y col., 2011).

Los compuestos quelantes secuestran el cobre del centro activo de la enzima, inhibiendo su acción. En este grupo destacan compuestos como el etilendiaminotetraacético (EDTA) y ácidos policarboxílicos como el cítrico, tartárico, oxálico, etc. Estos mismos ácidos, a su vez actúan bajando el pH del medio a valores en los que la actividad enzimática es baja o prácticamente nula. Por ejemplo, en el caso de la alcachofa pH inferiores a 3 reducen considerablemente la actividad enzimática (Todaro y col., 2010).

Los antioxidantes actúan reduciendo las quinonas, los difenoles o formando con las quinonas productos incoloros. Los más usados para reducir el pardeamiento son el ácido ascórbico, ácido isoascórbico, metabisulfito, L-cisteína y 4-hexilresorcinol, entre otros.

Normalmente se usan conjuntamente varios compuestos, ya que en muchos casos se produce un mecanismo sinérgico que potencia su función antipardeante.

Se han realizado varios estudios sobre el poder de inhibición de estos compuestos sobre el pardeamiento en la alcachofa. Lattanzio y col. (1989) investigaron el uso de ácido cítrico y ascórbico en alcachofas como retardantes del pardeamiento. Giménez y col. (2003) utilizaron con éxito ácido cítrico y ascórbico para reducir el pardeamiento en esta hortaliza. Todaro y col. (2010) probaron el efecto de distintas concentraciones de ácido ascórbico, cítrico y tartárico sobre distintos cultivares de alcachofa. Amodio y col.

(2011) consiguieron excelentes resultados con el uso de cisteína como antipardeante en el cultivar “Catanese”, mientras que otros compuestos como AA, 4-hexilresorcinol y  $\text{CaCl}_2$  resultaron menos efectivos. Un estudio muy reciente de Ghidelli y col. (2013) evalúa un gran número de compuestos antipardeantes en el cultivar “Blanca de Tudela”, siendo la cisteína el compuesto que da mejores resultados en la alcachofa cortada.

La aplicación de estos antipardeantes suele realizarse por inmersión de la fruta u hortaliza en una disolución formada por estos compuestos. Una forma rápida y efectiva de incorporar estos agentes a los vegetales es mediante impregnación a vacío. Esta técnica consiste en la sustitución de los gases presentes en el tejido vegetal por una disolución con antipardeantes. Durante el proceso se ejerce una presión de vacío sobre el alimento que extrae los gases contenidos en los poros del tejido, al mismo tiempo que el líquido penetra en ellos por capilaridad (Fito y Pastor, 1994).

#### **❖ Métodos combinados**

El uso conjunto de algunos de los métodos anteriormente descritos es muy útil para alargar la vida de frutas y hortalizas procesadas (Artés Calero y col., 1998). La combinación de agentes antioxidantes con atmósferas modificadas y almacenamiento a baja temperatura es muy utilizada en los productos hortofrutícolas mínimamente procesados, ya que mantiene la calidad organoléptica de los mismos.

## **2.4. Distribución geográfica, producción y comercialización**

### **2.4.1. Producción y comercialización mundial de alcachofa**

El cultivo de alcachofa es viable en todas las regiones del mundo en las que el clima es el adecuado (veranos frescos e inviernos suaves), sin embargo la mayor parte de la producción mundial se concentra en la cuenca mediterránea. Esta tendencia no solo se debe a las condiciones climáticas, sino a los orígenes ancestrales de este cultivo.

Tabla 2.3. Producción, rendimiento y superficie cultivada de alcachofa en el mundo

Países	Producción (t)	Superficie cultivada (ha)	Rendimiento (t/ha)
Argelia	46.808	3.760	12,45
Argentina	100.891	3.847	26,23
Chile	41.694	4.409	9,46
China	75.000	11.000	6,82
Chipre	2.621	125	20,97
Egipto	202.458	9.476	21,37
España	182.120	15.144	12,03
Estados Unidos de América	45.310	2.990	15,15
Francia	50.589	7.822	6,47
Grecia	38.000	2.200	17,27
República Islámica de Irán	17.000	950	17,89
Israel	2.419	300	8,06
Italia	474.550	49.577	9,57
Kazajstán	200	20	10
Kenya	19	5	3,8
Líbano	1.200	120	10
Malta	1.549	175.00	8,85
Marruecos	43.137	2.769	15,58
México	3.193	242	13,19
Perú	150.417	7.890	19,06
República Árabe Siria	15.103	879	17,18
Reunión	271	-	-
Rumania	589	52	11,33
Suiza	-	-	-
Turquía	33.460	2.444	13,69
Túnez	18.000	2.300	7,83
Uzbekistán	2.400	100	24
Zambia	706	-	-
Zimbabwe	293	21	13,95

FAOSTAT (2011)

En la tabla 2.3 puede observarse la distribución de alcachofa en el mundo. La producción mundial en el año 2011 se estimó en 1.550.136 t, la mayor parte producidas en áreas mediterráneas de Europa y África. Destaca la producción de Italia seguida de Egipto y España, representando en conjunto alrededor del 60% de la producción mundial total. Otros grandes productores de alcachofa son: Perú, Argentina, China, Francia, Argelia, Estados Unidos de América, Marruecos, Chile y Turquía.

Como muestra la figura 2.21, y referido a datos oficiales de FAO, el rendimiento de países con tradición en el cultivo de alcachofa, como Italia, España y Francia, es bajo (inferior a 12 t/ha) a pesar de ser grandes productores, mientras que países emergentes de América del Sur y África (Argentina, Perú y Egipto) muestran rendimientos superiores a 19 t/ha. Realmente y, al menos en lo que respecta a España, los rendimientos medios son muy superiores a 12 t/ha (hay datadas producciones de 20-22 t/ha), lo que permite rentabilizar el cultivo.

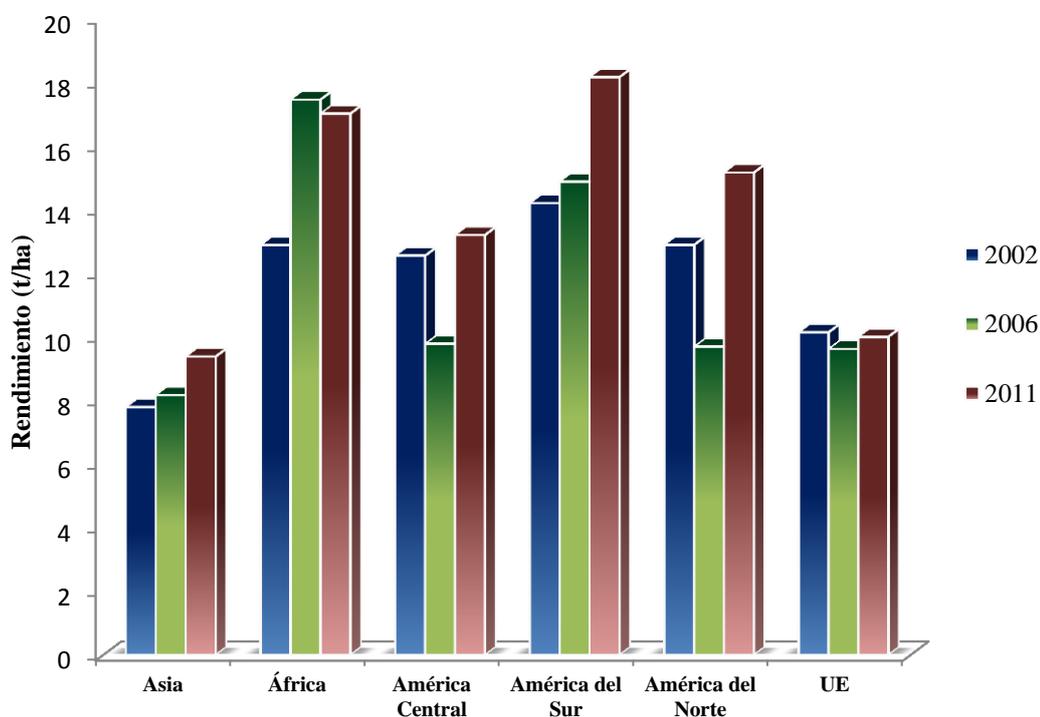


Fig. 2.21. Distribución del rendimiento mundial de alcachofa (FAOSTAT 2011)

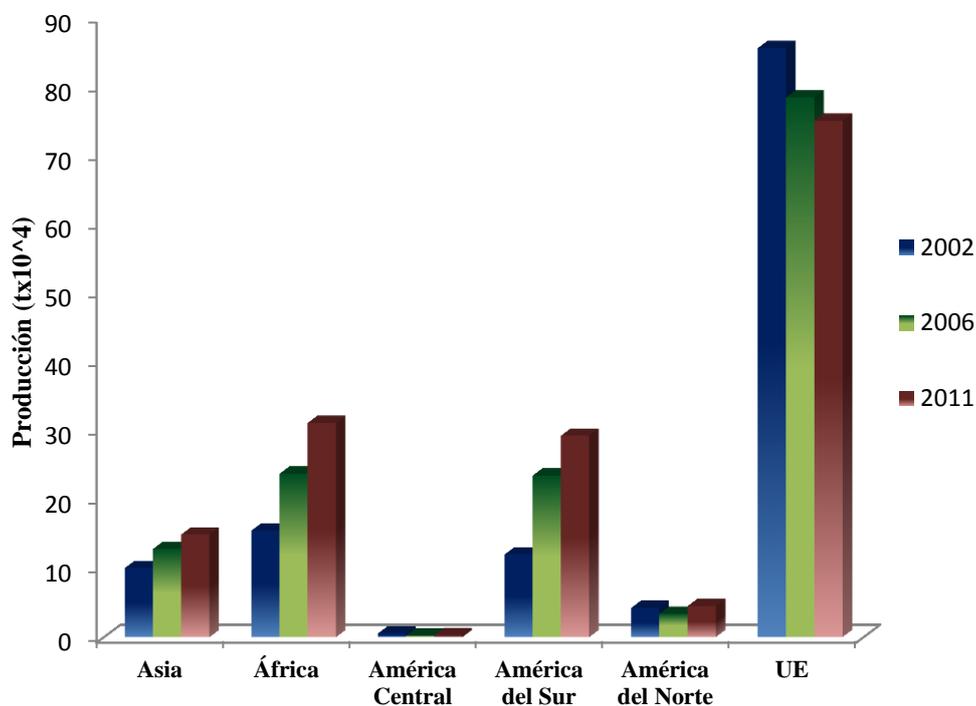


Fig. 2.22. Distribución de la producción mundial de alcachofa (FAOSTAT 2011)

A lo largo de los últimos 10 años, Asia, África y América del Sur han experimentado un aumento en la producción y la superficie cultivada de alcachofa, mientras que en la Unión Europea ha disminuido su producción en un 12% desde 2002 (fig. 2.22). Este decrecimiento es debido principalmente a un descenso en la demanda de alcachofa, provocado por la dificultad de preparación de este vegetal para su consumo. Cada vez se demandan más productos frescos, naturales, ya preparados y listos para su consumo. A pesar de esto, la Unión Europea produce el 50% de la producción mundial de alcachofa.

Tabla 2.4. Principales países exportadores e importadores de alcachofa en el mundo

Exportación Mundial		Importación Mundial	
Países	US (Miles \$)	Países	US (Miles \$)
España	25.741	Francia	19.799
Francia	13.231	Italia	14.254
Egipto	10.592	Alemania	3.984
Italia	8.204	Canadá	3.497
Países Bajos	1.915	Países Bajos	2.722
Marruecos	959	Bélgica	2.401
Bélgica	367	Reino Unido	2083

FAOSTAT (2011)

El principal exportador de alcachofa del mundo es España, seguido de Francia, Egipto e Italia, entre otros. Egipto y Países Bajos figuran en la lista de principales países exportadores debido a la excelente trayectoria productora del primero, y al alto potencial comercializador del segundo, gracias a las mercancías procedentes de terceros países, ya que no es un gran productor.

España tiene un superávit comercial de alcachofa, exportando 12.409 t en el año 2011, mientras que Francia es el país que más alcachofa importa, 12.793 t en el mismo año. Es singular que Francia e Italia sean grandes importadores, ya que, a la vez, son grandes exportadores mundiales.

Todos los países de la Unión Europea importan alcachofa, pero entre los países que no producen esta hortaliza, únicamente destacan Alemania y Bélgica como significativos importadores.

Cada país productor posee un grupo de variedades locales de alcachofa, adaptadas a las condiciones edafoclimáticas de la zona. Estas variedades poseen unas características específicas en cuanto a color, tamaño, forma, etc. En España la variedad más cultivada

es “Blanca de Tudela”. Este tipo de alcachofa es también la más usual en Marruecos, Argelia y Túnez. El segundo país más productor del mundo, Egipto, cultiva la variedad local “Baladí”. En Italia los cultivos más frecuentes son “Spinoso Sardo”, “Violetto de Sicilia” y “Violetto de Provenza”. Esta última, junto con “Camus de Bretaña”, “Salenquet” y “Salambó”, son variedades típicas de Francia.

El gran intercambio comercial ha puesto a disposición de los consumidores otras variedades de alcachofa distintas a las locales, diversificando la producción hacia cultivos no autóctonos. La demanda de estas nuevas variedades amplía las posibilidades productivas y comerciales.

Tabla 2.5. Intercambio intracomunitario de alcachofa

	Fresca		Conserva		Congelada	
	Exp (t)	Imp (t)	Exp (t)	Imp (t)	Exp (t)	Imp (t)
<b>España</b>	14.044	263	14.520	312	821	25
<b>Francia</b>	5.823	10.930	762	5.951	691	4.876
<b>Italia</b>	6.669	3.763	5.029	1.445	463	1.107
<b>Alemania</b>	398	3.631	1.522	6.754	17	779
<b>Bélgica</b>	378	1.370	203	866	314	509
<b>Grecia</b>	0,7	32	118	237	4	14
<b>Países Bajos</b>	1.183	1.461	64	787	49	141
<b>Reino Unido</b>	164	1.168	24	2.323	6	44
<b>Austria</b>	4	174	21	709	0,8	43
<b>Suecia</b>	99	1.280	33	717	4	71
<b>Total</b>	28.956	25.196	16.531	17.363	2.411	7.760

Export helpdesk- European comisión (2012)

Las exportaciones de alcachofa en fresco representan el 60% de las exportaciones intracomunitarias. A pesar de esto, la demanda de alcachofa en conserva está aumentando en estos últimos años debido a que se prefieren productos de fácil preparación.

España es el principal exportador de alcachofa en conserva dentro y fuera de los 27 países comunitarios, representando más del 85% de las exportaciones de alcachofa en conserva dentro de la Unión Europea. Los principales países a los que destina su producción son Alemania, Francia e Italia. Como segundo país de importancia en las exportaciones intracomunitarias de alcachofa en conserva se encuentra Italia, abasteciendo en un 30% las demandas de este producto. Perú, Egipto y China también juegan un papel sobresaliente en la exportación de alcachofa en conserva.

El principal receptor mundial de alcachofa en conserva es Estados Unidos, con una importación superior a 10.000 t en 2012, provenientes de España principalmente. Dentro de los países intracomunitarios destacan Alemania, Francia, Italia y Reino Unido como receptores de este producto.

Las exportaciones de alcachofa congelada, únicamente representan el 5 % de las exportaciones intracomunitarias. Francia e Italia participan activamente en el intercambio de este producto, ya sea como importadores o como exportadores.

### 2.4.2. Producción y comercialización nacional de alcachofa

En 2011, se cultivaron en España 15.144 ha de alcachofa, principalmente de la variedad “Blanca de Tudela”, con una producción de más de 180.000 t de esta hortaliza (FAOSTAT, 2011). Aproximadamente, el 60 % de la producción total se transforma industrialmente, quedando un 40% para el consumo en fresco. España exporta un 25% del cultivo al mercado comunitario, principalmente variedades grandes y violáceas demandadas por países como Francia e Italia, producidas casi exclusivamente en Murcia (MAGRAMA, 2012).

Durante la última década, la productividad y la superficie cultivada de alcachofa en este país han ido disminuyendo de forma lenta y progresiva, como puede apreciarse en la figura 2.23. Se ha producido un descenso de más del 20 % de las hectáreas cultivadas y del rendimiento del cultivo desde el 2002.

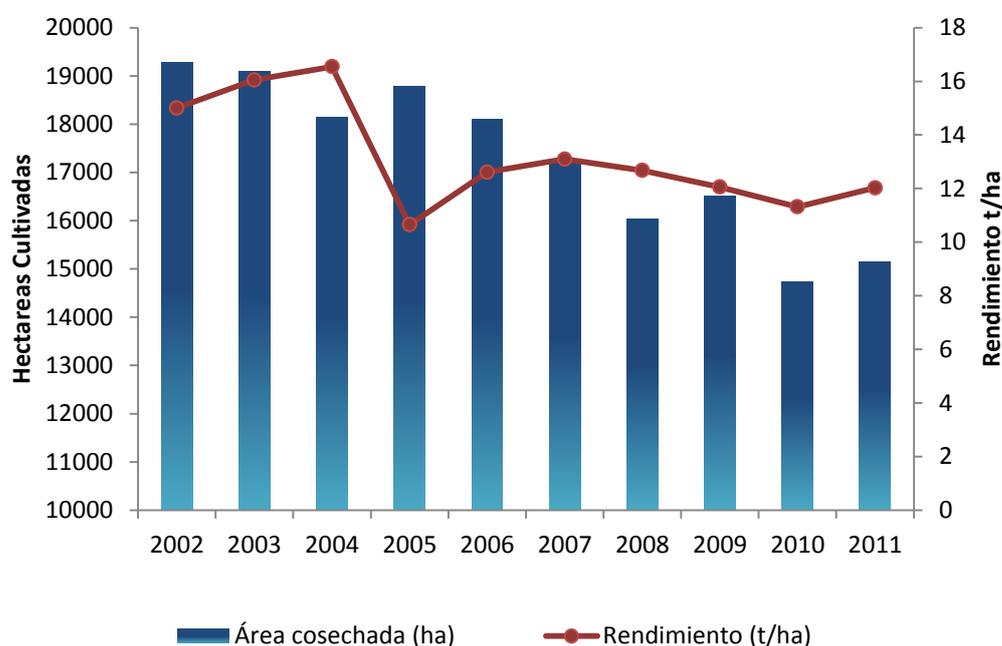


Fig. 2.23. Evolución del rendimiento y la superficie cultivada de alcachofa en España (FAOSTAT, 2011)

El cultivo de esta hortaliza es especialmente importante en el litoral mediterráneo, mayoritariamente en Murcia, con más de un 40 % de superficie cultivada en el año 2011 y más de 78.000 t producidas. Con un 25 % de hectáreas cultivadas le sigue la Comunidad Valenciana con unas 44.000 t de producción, seguido de Andalucía y Cataluña con 29.000 y 10.000 t, respectivamente. La zona del Valle del Ebro (Navarra, La Rioja y Aragón) no destaca por el volumen de alcachofa producida, pero sí por la producción de material vegetal de abastecimiento en el área de Tudela (MAGRAMA, 2012).

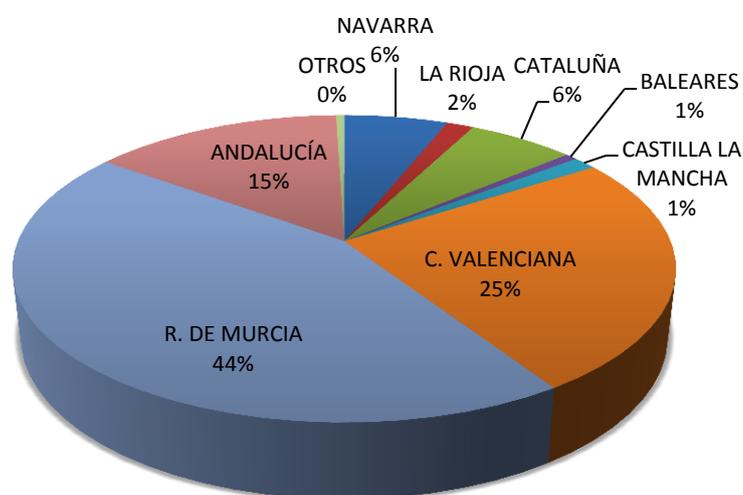


Fig. 2.24. Distribución de la superficie de cultivo de alcachofa en España por Comunidades Autónomas en 2011 (MAGRAMA, 2012)

#### 2.4.2.1. Importancia del cultivo en la Región de Murcia.

La Región de Murcia es considerada como “la gran huerta de España”, debido a la gran cantidad de productos, tanto en fresco como elaborados, que se producen en esta tierra. Su situación geográfica, en el Sureste de la Península Ibérica, junto al Mar Mediterráneo, hace que las condiciones climáticas sean las adecuadas para el cultivo hortofrutícola.

En la Región de Murcia, la superficie total de hortalizas cultivadas con riego localizado alcanzó las 40.028 ha, en 2012. Destacando las superficies dedicadas a lechuga (14.065 ha), brócoli (11.882 ha) y alcachofa (7.347 ha) (CARM, 2012).

La alcachofa supone el 18 % de la producción total hortícola en la Región y las principales zonas de producción de esta hortaliza son el Campo de Cartagena y el valle del Guadalentín. La primera de ellas supone un 43,5% de la producción regional, mientras que el valle del Guadalentín supone el 48,5% restante (Estadística Agraria 2012, INE). La variedad predominante que se produce es la “Blanca de Tudela”, aunque también se cultivan otras variedades para exportación como “Violeta de Provenza”, “Spinoso Sardo” o del tipo “Blanc Hyerois” o “Camus”, destinadas principalmente a los mercados de Francia e Italia.

La Región también es la primera productora de conserva de alcachofa a nivel nacional, exportando este tipo de productos a regiones intracomunitarias, como Francia, Alemania, Reino Unido e Italia, y países como Estados Unidos y Canadá entre otros (CARM, 2012).

## **2.5. Variedades**

Actualmente, hay más de 286 variedades cultivadas de alcachofa, originadas mayoritariamente en Italia, Francia y España. Muchas de estas variedades deben su nombre al lugar de origen: “Blanca de Tudela”, “Violeta de Provenza”, “Camus de Bretaña”, etc. (Bianco, 2005; Infoagro, 2012).

No es fácil identificar los diversos genotipos de alcachofa que existen (entre 100 y 120), debido a la gran variabilidad genética (Pignone y Sonnante, 2004; Sonnante y col., 2007; Mauro y col., 2009). Las variedades pueden diferenciarse atendiendo a la forma del capítulo (esférico u oval), tamaño y color del mismo (verde o violeta). También puede tenerse en cuenta la precocidad de la planta.

Entre las principales variedades que se cultivan en el mundo y, que por tanto, se consume, destacan:

❖ ***Green Globe***

Se trata de una alcachofa con brácteas brillantes y espinosas, de tonos que varían entre el verde y el violeta, como resultado de la mezcla genética de esta variedad (Martínez Serna, 1998). La planta puede alcanzar 2 m de altura y posee hojas grandes y fruto globoso, dulce y tierno. Se cultiva principalmente en Estados Unidos.



*Fig. 2.25. Cabezuelas de Green Globe*

❖ ***Imperial Star***

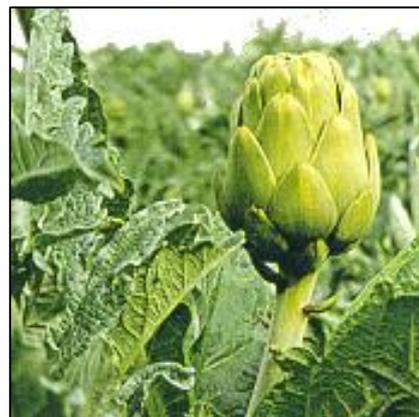
Es una variedad procedente de California, temprana y muy productiva, de propagación por semillas (Scharader y Mayberry, 1992). Esta planta puede alcanzar los 1,50 m de altura, superando a la variedad “Blanca de Tudela”. Sus capítulos son ovals y grandes, con brácteas interiores de color blanco, y exteriores verdes con tonos violáceos en su base, que pueden terminar en una espina curvada (Martínez Serna y Carbonell, 2007).



*Fig. 2.26. Imperial Star*

❖ ***Blanca de Tudela***

Es una planta temprana, de tamaño pequeño (1 m de desarrollo vegetativo) capaz de producir durante toda la primavera, otoño e invierno, dando dos o tres rebrotes por estación (Macua, 1996). En el área mediterránea se planta a finales de julio o principio de agosto, pudiéndose recolectar los primeros frutos a mitad o final de octubre. Se cultiva principalmente en España, y su destino es tanto para el consumo en fresco como para la industrialización. Su multiplicación es vegetativa o por esquejes (Macua y col., 1991; Iranzo, 1995; Martínez Serna y Carbonell, 2007). El capítulo que genera esta variedad es pequeño, sin espinas y de forma cónica-cilíndrica, rodeado de brácteas verdes y compactas.



*Fig. 2.27. Blanca de Tudela*

❖ ***Catanese o Violetto di Sicilia***

Es una variedad de alcachofa de origen italiano, de ciclo productivo largo y producción temprana. La planta es de tamaño mediano, con hojas de lámina entera en los primeros estados vegetativos, y lobuladas. Los capítulos son ovoidales y medianos, cubiertos por brácteas redondeadas de color verde con tonos violáceos en el exterior, y más claras en el interior.



*Fig. 2.28. Alcachofa Catanese*

❖ ***Spinoso Sardo***

Es la segunda variedad más cultivada en Italia, y la preferida por los italianos para el consumo en fresco. Es una de las alcachofas más llamativas por sus características morfológicas. Los capítulos de la planta son cónicos y se encuentran rodeados por brácteas alargadas, de color verde con tonos violetas y pardos. El ápice de las brácteas termina en una espina amarillenta muy pronunciada (Dellacecca y col., 1976).



Fig. 2.29. *Spinoso Sardo*

❖ ***Romanesco***

Variedad italiana de baja y tardía producción, de enero a mayo. Esta planta es muy vigorosa y puede llegar a alcanzar 160 cm de altura. Posee capítulos subsféricos achatados y grandes, con tonos verdes y violetas en sus brácteas (Macua, 1996). La producción de capítulos es muy adecuada para el consumo en fresco; mientras que por su forma no se presta bien a la industrialización en forma de corazones.



Fig. 2.30. *Romanesco*

❖ ***Violeta de Provenza***

Esta variedad es originaria de Francia, pero también se cultiva en Italia y en menor medida, España (Foury, 1976). Es una planta algo menos productiva que “Blanca de Tudela”, comenzando a dar capítulos a partir de octubre y aumentando su producción tras la parada de invierno (Gamayo, 1996). La planta no es



Fig. 2.31. *Violeta de Provenza*

muy grande y sus capítulos son medianos y alargados, con brácteas de tonos verdosos y violeta rojizo (Dellacecca y col., 1976).

❖ *Camus de Bretagne*

Su denominación indica que su origen es francés. Se caracteriza por tener grandes capítulos redondeados y compactos (entre 300 y 500 g), de color verde brillante con tonos pardos en los bordes. Su gran tamaño la hace adecuada para la exportación a otros mercados que aprecian esta característica, especialmente para utilizarse como base para relleno con otros alimentos. Es una planta temprana y bastante productiva (Macua, 1996).



Fig. 2.32. *Camus de Bretagne*

❖ *Calicó*

Es similar a Camus de Bretagne en cuanto a origen, forma y color de los capítulos, pero es una planta mucho más tardía que se recolecta a partir de febrero. Pueden llegar a pesar más de 1 kg y el desarrollo vegetativo de la planta es muy grande (alcanza 160 cm de altura).



Fig. 2.33. *Capítulos de Calicó*

❖ *Salambo*

Es un híbrido generado a partir de “Camus de Bretagne”. El cultivar “Salambó” es de producción muy tardía, de febrero a mayo. Los capítulos son muy grandes, de forma esférica con brácteas de tono rojo púrpura sin espinas. El desarrollo vegetativo es muy grande, similar al cultivar “Calicó” (más de 160 cm).



Fig. 2.34. Cabezuelas de Salambo

❖ *Tema*

Variedad italiana, cultivada principalmente en la Toscana y de producción precoz. La planta es mediana, llegando a los 90 cm de altura, y de vigor medio. Los capítulos son medianos, ovalados y de color violeta intenso, y las brácteas que los rodean tienen tendencia a abrirse con temperaturas altas.



Fig. 2.35. Alcachofa Thema

## **2.6. Reproducción y cultivo**

### **2.6.1. Métodos de propagación**

La reproducción de la planta de alcachofa puede llevarse a cabo mediante dos vías: la propagación gámica, mediante semillas, o agámica, a través de material vegetal de una planta madre (Gil-Ortega, 1996). La técnica más usada es la multiplicación a partir de órganos de la planta (Iranzo, 1995). En España se usan zuecas o palos, mientras que en Francia e Italia se prefieren hijuelos o rebrotes jóvenes. Actualmente están tomando relevancia las técnicas de micropropagación de alcachofa, ya que garantizan que el material vegetal esté libre de enfermedades.

Es importante tener en cuenta la calidad y el manejo de las semillas y del material vegetal usado en la reproducción, ya que influye directamente sobre el desarrollo y el rendimiento de las plantas futuras.

#### **2.6.1.1. Propagación agámica**

El método más utilizado para la multiplicación de la alcachofa a nivel mundial es la propagación vegetativa. Países como Francia, Italia, Estados Unidos, Chile, Perú, Turquía, Marruecos y, por supuesto, España, han usado este tipo de propagación durante décadas. El proceso consiste en trasplantar trozos de material vegetal de la planta madre, para originar una nueva planta que posee el material genético de la misma (Iranzo, 1995).

Existen varios sistemas de multiplicación vegetativa: propagación por hijuelos, por esquejes, por óvolos y mediante sistemas de micropropagación (La Malfa y Foury, 1971).

##### ❖ Multiplicación por hijuelos o vástagos

Los hijuelos son brotes con un enraizamiento moderado, provenientes del rizoma de la planta madre, que se trasplantan durante los meses de agosto y septiembre para generar nuevas plantas.

Estos vástagos pueden recolectarse tanto en primavera como en otoño (Bianco, 1990). Cuando se recolectan en los meses de febrero o marzo, se plantan en viveros especiales para mejorar su desarrollo radicular (fig. 2.36); mientras que los brotes recogidos en agosto o septiembre pueden plantarse directamente en el terreno definitivo si presentan un enraizamiento adecuado.



*Fig. 2.36. Propagación mediante hijuelos en semillero*

Los brotes seleccionados deben ser vigorosos, tener un sistema radicular bien desarrollado y, al menos, 4 o 5 hojas de lámina entera (de 20 o 30 cm de altura) para garantizar una producción satisfactoria y temprana (Bianco, 1990).

Este método de propagación es uno de los más empleados en países como Francia e Italia (Calabrese, 2009), debido principalmente a que no se requiere la extracción de la planta madre que puede mantenerse para posteriores rebrotes. Otros factores que influyen positivamente en el uso de esta técnica son la homogeneidad y el buen agarre de las plantas producidas.

El principal inconveniente de la multiplicación por hijuelos es el elevado coste del proceso, tanto de la mano de obra requerida, como de los materiales necesarios para los viveros.

#### ❖ Propagación por zuecas o esquejes

Las zuecas o esquejes son fragmentos de la cepa original formados por trozos basales de tallos con parte del rizoma de la planta (fig. 2.37). De cada cepa madre pueden obtenerse entre 4 y 6 esquejes, que suelen plantarse en los meses de julio o agosto.

Los requisitos que deben cumplir las plantas de alcachofa de las que se van a extraer las zuecas son los siguientes:

- Plantas libres de virosis, nematodos, ataques de taladro o enfermedades fúngicas como la verticilosis.
- Plantas que den buenas producciones de alcachofa, tanto en cantidad como en calidad (cabezuelas homogéneas con brácteas apretadas).
- Plantas de primer año de cultivo, ya que dan producciones precoces, homogéneas y de buena calidad (Gamayo y Aguilar, 1999).

El proceso de obtención de las zuecas es el siguiente: cuando finaliza la recolección de las cabezuelas de alcachofa (en mayo aproximadamente) se paraliza el riego, y como consecuencia, la planta entra en un estado de latencia o parada vegetativa. Al comenzar a secarse las hojas de la alcachofera, ésta se corta a 10 o 15 cm del suelo, permaneciendo en el terreno hasta el periodo de plantación (Iranzo, 1995). Llegada esa fecha se extraen las zuecas de la planta, dejando una en el terreno si se pretende proseguir con el cultivo en la misma parcela; en caso contrario, se extrae toda la planta y se separan a mano, y una por una, todas las zuecas.



*Fig. 2.37. Zueca de alcachofa*

Antes de plantar los esquejes obtenidos, es necesario guardarlos durante 5 días para que cicatricen las heridas producidas en el proceso de separación, y evitar que los esquejes se pudran tras el primer riego (Gamayo, 1996).

Es muy importante hacer una selección previa de las zuecas de plantación para obtener plantas de buena calidad. Por este motivo, se prefieren zuecas gruesas y con yemas bien diferenciadas, que garanticen el agarre de la planta.

Mediante la propagación por esquejes se consiguen plantas muy precoces (se obtienen buenas plantas en 3 meses tras el trasplante) y uniformes, capaces de dar producciones tempranas. Sin embargo, este método tiene algunos inconvenientes: hay un alto porcentaje de pérdida de plantas, los costes de plantación y mano de obra son elevados, y presentan un factor de multiplicación bajo (Devos y col., 1975). Además, con este sistema se produce la transmisión de enfermedades bacterianas, hongos (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium sp*, *Verticilium dahliae* y *Phyitium sp*) y otras enfermedades de origen viral (Chabbouh y Cherif, 1990; Chabbouh y col., 1990; Gil-Ortega, 1996). A pesar de estos problemas es, actualmente, el sistema que da mejores resultados en cuanto a precocidad, calidad y uniformidad de las plantas generadas, en comparación con cualquier otro método de multiplicación (Arce y col., 1996).

❖ Propagación por óvulos

Los óvulos (*óvolis*) son vástagos subterráneos que no han llegado a desarrollarse, debido a la parada vegetativa de la planta en la etapa de desecación (fig. 2.38). Se visualizan como pequeñas ramas (13 o 14 cm de altura y 1,0 a 3,5 cm de diámetro) cilíndricas sobre los rizomas con una yema lateral y varias apicales (Bianco., 1990).



Fig. 2.38. Óvulos obtenidos de rizomas seleccionados (izquierda). Brotación y desarrollo en semilleros (derecha).

Una planta es capaz de producir más de 20 *óvolis*, según la variedad. Por ejemplo, las variedades italianas “Catanese”, “Spinoso sardo” o “Violeta de Provenza” generan excelentes óvulos, mientras que la variedad española “Blanca de Tudela” no es buena productora (Iranzo, 1995).

La recogida de los *óvolis* se produce durante los meses de verano (julio y agosto). Tras la recolección se pre-germinan durante una semana enterrados en paja para mantener su humedad, antes del posterior trasplante (Bianco, 1990).

### **2.6.1.2. Propagación gámica**

La multiplicación de alcachofa mediante semilla comenzó a reducirse drásticamente en el siglo XVII, debido a la incorporación de nuevos métodos de propagación de tipo vegetativo, que proporcionaban plantas de mayor uniformidad y calidad que las generadas por semilla.

En los últimos años, hay una tendencia a recuperar la reproducción gámica, ya que los métodos vegetativos son caros, y la calidad y producción de los cultivos se ha visto mermada por el aumento de la durabilidad de los mismos. La reutilización de las



*Fig. 2.39. Brotación y desarrollo de semillas de alcachofa*

alcachoferas durante 3 o 4 años impide que los terrenos de plantación tengan periodos de descanso, aumentando el número de transmisiones de virosis y enfermedades bacterianas y fúngicas. Las mejoras en la técnica de propagación por semilla y el menor riesgo de enfermedades mediante este proceso, han hecho que se reabra una nueva vía de reproducción.

En los últimos 20 años se han desarrollado nuevas variedades de semillas, tanto por polinización abierta como híbrida, que mejoran el cultivo de la alcachofa. Estas nuevas variedades no han tenido la difusión esperada hasta la fecha (Bernal y col., 2005; Lo Bianco y col., 2011; Jana y col., 2011). La calidad de las alcachofas generadas con este método renovado es excelente, y el uso de semillas para el cultivo presenta numerosas ventajas (Basnizki y Zohary, 1994; Zaniboni, 2009, Infoagro, 2012):

- La cosecha es anual, permitiendo la rotación de cultivos y la renovación del terreno cada año, eliminando plagas y enfermedades presentes en el suelo de cultivo.
- Aumento en la densidad de plantación, obteniéndose producciones un 60-80% mayores que en el cultivo mediante esquejes (Jana y col., 2011; Infoagro, 2012).
- Los frutos no tienen espinas y son más resistentes a abrirse cuando alcanzan la madurez productiva.
- La siembra puede realizarse mecánicamente, ahorrando en mano de obra y costes de operación agrícola.
- Las plantas generadas mediante esta técnica desarrollan raíces más largas y verticales que las propagadas vegetativamente, aprovechando de forma más eficiente la humedad, los nutrientes y los fertilizantes añadidos al suelo (Foti y col., 2005).
- Facilidad de adquisición, almacenamiento y transporte de las semillas.

Las desventajas de la propagación gámica son las siguientes:

- Alto grado de heterocigosis, obteniéndose plantas no uniformes (Baixauli y Maroto, 2007).
- Producciones tardías. La cosecha se inicia a los 5 meses debido a que hay una fase de almácigo.
- Técnica de elevado costo, tanto de semillas como de elaboración de los plántones para el trasplante.

- Dependencia de las empresas suministradoras, en el caso de variedades híbridas.
- Para adelantar la producción hay que inducir la floración, y para ello se necesitan temperaturas bajas o el uso de una fitohormona, el ácido giberélico (GA3). Los mercados internacionales cada vez son más estrictos y demandan frutos libres de hormonas y pesticidas, por lo que el uso del GA3 cada vez está más limitado (Jana y col., 2011).

### **2.6.1.3. Micropropagación**

La micropropagación de alcachofa es una técnica de cultivo “in vitro” que proporciona material sano para la plantación de esta hortaliza. Con este método se solventan muchos de los problemas que limitan la producción (Pècaut y col., 1985), como la baja tasa de multiplicación y las transmisiones de virus o enfermedades de origen bacteriano o fúngico.

El desarrollo de la micropropagación de alcachofa comenzó a finales de 1970, cuando De Leo y Greco (1976) emplearon semillas de esta planta para llevar a cabo sus experimentos de cultivo *in vitro*. No fue hasta los años 80, cuando Ancora y col. (1981), Harbaoui y col. (1982) y Pècaut y col. (1983), desarrollaron métodos eficientes y satisfactorios de micropropagación de alcachofa. El principal problema de esta técnica desde sus inicios ha sido el escaso enraizamiento de los brotes generados.

Los fragmentos de planta (explantes) que se utilizan, mayoritariamente, para obtener los clones de alcachofa son:

#### ❖ Segmentos de rizoma

El uso del rizoma en el cultivo “in vitro” de alcachofa es anterior al cultivo de meristemos. De Leo y Greco (1976) fueron los primeros en el uso del rizoma como explante.

❖ Semillas

Benoit y Ducreux (1981) obtuvieron buenos resultados en la proliferación de las semillas como explantes, pero tuvieron problemas con el enraizamiento de los brotes producidos.

❖ Ápices meristemáticos

La micropropagación a partir de meristemas (Ancora y col., 1981) es la más utilizada actualmente (fig. 2.40). Conlleva cuatro etapas:

(I) *Desarrollo primario del cultivo*: en esta primera etapa el ápice germina en el medio de cultivo adecuado.

(II) *Multiplicación*: los explantes supervivientes de la fase primaria originan brotes con varias hojas. Para estimular la proliferación de yemas auxiliares es importante el uso de hormonas en esta etapa.



Fig. 2.40. Micropropagación de alcachofa

(III) *Enraizamiento*: en ocasiones puede existir una etapa previa de pre-arraigado de los brotes, debido a los problemas de enraizamiento que conlleva el uso de esta técnica.

(IV) *Aclimatación*: Los brotes recién enraizados son muy sensibles a los cambios ambientales, necesitando un proceso de aclimatación para poder vivir en condiciones ambientales naturales (fig. 2.41).



Fig. 2.41. Aclimatación de brotes de alcachofa obtenidos "in vitro"

Mediante la micropropagación de alcachofa se consiguen plantas sanas, libres de virus y enfermedades ocasionadas por hongos o bacterias (Arce y col., 1996). En el caso de que el cultivo se realice a partir de meristemas, y para garantizar la ausencia de virus en la planta, es imprescindible que el ápice no supere los 0,8 mm (Harbaoui, 1982).

La vigorosidad y productividad de las plantas generadas por cultivo *in vitro* es mucho mayor que las de las plantas producidas por métodos tradicionales (Saccardo y Ancora, 1984; Draoui y col., 1993). Además prácticamente no se dan marras de plantación (Infoagro, 2012). El único inconveniente es que la producción es tardía y en ocasiones se dan variaciones somaclonales heredables (Larkin y Scowcroft, 1981) y mutaciones indeseables.

## 2.6.2. Exigencias edafoclimáticas y nutricionales de la planta

### 2.6.2.1. Clima

Uno de los factores que más afectan a la calidad y producción del cultivo de alcachofa es el clima. Variables como la temperatura, humedad relativa y luz, influyen directamente sobre el desarrollo de la planta.

#### ❖ Temperatura

La alcachofa es un cultivo típico de la zona mediterránea, que requiere climas suaves y templados, sin cambios bruscos de temperatura (Macua y col., 1996). La planta no es capaz de resistir temperaturas de congelación, dañándose sus estructuras aéreas entre -2 y -4°C, mientras que las subterráneas lo hacen por debajo de -10°C. Tampoco soportan bien temperaturas superiores a 30°C de forma continuada (Maroto, 1995).

España cumple estos requisitos, aunque existen zonas de producción diferenciadas. En zonas con inviernos fríos y veranos suaves, como Navarra, el desarrollo de la planta tiene lugar desde marzo hasta los meses más fríos (diciembre, enero y febrero), en los cuales la planta entra en parada vegetativa. En zonas de cultivo del levante español, como Murcia y Alicante, con veranos excesivamente calurosos, el desarrollo del cultivo tiene lugar a partir de agosto, la producción es temprana y los cultivos se abandonan a partir de marzo puesto que las temperaturas rondan los 30°C y los capítulos son de muy mala calidad (fig. 2.42).

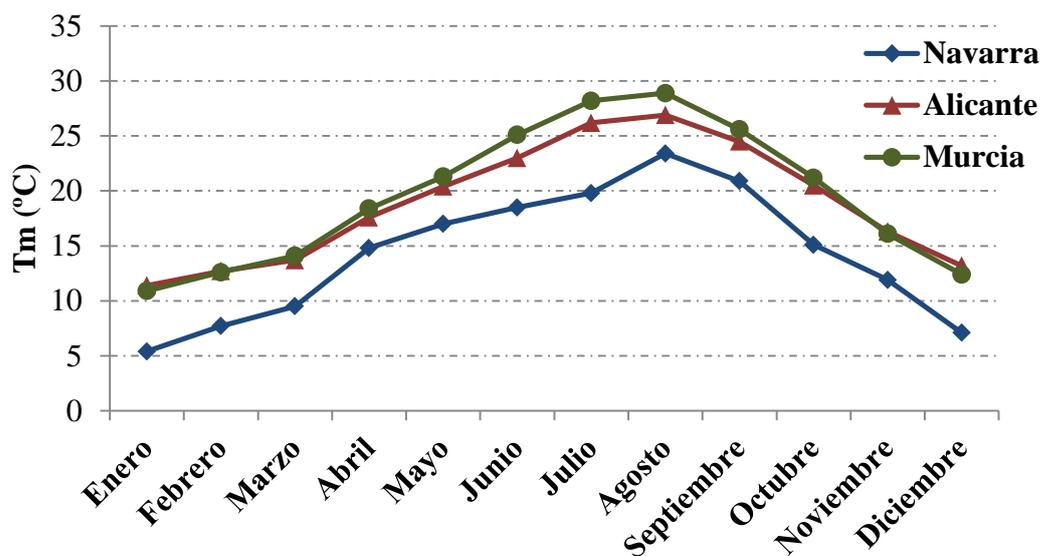


Fig. 2.42. Evolución de la temperatura durante el año 2011 (INE, 2012)

Existe otra zona de producción en España, aunque no muy extensa, que presenta unas peculiaridades propias. Se trata de la zona de producción agrícola de Zafarralla (Granada) que por su altitud presenta un microclima especial con inviernos muy fríos y veranos suaves. Por esta razón la plantación la realizan al final del invierno y cosechan en los meses de verano, cuando no existe producción en otras zonas españolas.

La temperatura óptima para el desarrollo de la planta depende, en gran medida, de la etapa fisiológica en la que se encuentre.

En la fase de desarrollo vegetativo, el rango de temperatura ideal para el crecimiento de la planta es de 12 a 20°C. Durante la formación de las cabezuelas, el rango se hace más estrecho (15 - 18°C) debido a la mayor sensibilidad de la planta, de modo que temperaturas superiores a 24°C producen un alto grado de estrés en la planta, conduciendo a la formación de capítulos pequeños, abiertos y fibrosos (Rojas, 2011). Con temperaturas próximas a 0°C, las brácteas que rodean a la cabezuela se vuelven blanquecinas causando lesiones por congelación, que afectan a la apariencia de la alcachofa. En la floración, la planta requiere temperaturas bajas, entre 7 y 10°C, para garantizar una producción temprana (vernalización). La planta entra en periodo de

reposo o parada de crecimiento cuando la temperatura es inferior a 5°C (Sala y Carpintero, 1967) o superior a 30°C (Gamayo, 1996; Macua y col., 1996).

❖ Humedad Relativa

El cultivo de alcachofa requiere humedades relativas elevadas (sobre el 60%) para garantizar la calidad de las cabezuelas producidas. La falta de humedad origina la apertura de las brácteas que rodean al capítulo, haciendo que se pierda la ternura de las mismas, y con ello, la alcachofa pierde su calidad (Infoagro, 2012).

❖ Luminosidad

La alcachofa es una planta de fotoperiodo largo (con un mínimo de 10,5 h). La cantidad de luz que recibe la planta influye en la temporada de floración y en la maduración de las alcachofas. Los cultivos más expuestos a la radiación solar tienden a adelantar la formación de las flores, y por tanto, la producción de alcachofas es más temprana.

### **2.6.2.2. Suelo**

La alcachofa es una planta que necesita suelos profundos (de más de 80 cm) para desarrollarse de forma adecuada, debido a que posee un sistema radicular fuerte y penetrante. Los suelos fértiles, bien drenados y de textura franco-arenosa, arcillo-limosa o franco-arcillo-arenosa son los que mejor se adaptan a este tipo de cultivo (Cárdenas, 2006).

La planta de alcachofa se adapta a suelos ricos en carbonato cálcico (hasta un 45%) y ligeramente alcalinos (pH: 8,5), pero se desarrolla mejor en rangos de pH de 7- 8 (Sala y Carpintero, 1967). Además es capaz de resistir muy bien la salinidad, desarrollándose bien el cultivo hasta valores de 2,5 dS/m (Rojas, 2011). Cuando la salinidad supera los 4 dS/m, la planta puede presentar problemas de necrosis, enfermedades debidas a *Botrytis* y *Erwinia* y bajo rendimiento. Con valores superiores a 7 dS/m se detiene el desarrollo de la planta (Maroto, 1995).

En la zona del levante español, los suelos agrícolas son muy adecuados para el cultivo de alcachofa, debido a que poseen una textura arcillo-limosa, con buen drenaje, que impide el encharcamiento de la planta y el pudrimiento de la raíz. Los suelos agrícolas de la Huerta Murciana, la mayor productora de alcachofa de España, tienen un pH de 7,5-8, son calizos (35-40%) y salinos (3-4 dS/m) (Vidal, 2002). Estos valores los hacen aptos para el cultivo, y, aunque la salinidad es algo elevada, la variedad “Blanca de Tudela” se ha adaptado a estas condiciones.

Las actividades agrícolas tradicionales de este cultivo intensivo han generado problemas de degradación en el suelo (Porta y col., 1994; Aparicio-Tejo y col., 2000). La sensibilidad de la planta de alcachofa a la fatiga del suelo es grande, por lo que es importante la rotación de otros cultivos y el abonado adecuado.

#### **2.6.2.3. Necesidades hídricas**

La alcachofa es una planta que necesita grandes cantidades de agua para su desarrollo, sobre todo en las etapas de crecimiento vegetativo y producción de cabezuelas. Cuando el agua necesaria en estas etapas de mayor demanda no está disponible, se producen plantas poco vigorosas y cabezuelas pequeñas con brácteas fibrosas.

Las necesidades hídricas de la planta dependen de la temperatura, precipitaciones, textura del suelo, variedad, etc. El consumo medio del cultivo de alcachofa es de 7.000 a 10.000 m<sup>3</sup>/ha por ciclo de cultivo (Serrano, 2006).

#### **2.6.2.4. Requerimiento de nutrientes**

La alcachofera necesita gran cantidad de nutrientes para su desarrollo, pero desde el punto de vista agronómico, nitrógeno, fósforo, potasio y magnesio son los elementos más importantes. El nitrógeno afecta principalmente al crecimiento vegetativo de la planta, mientras que el fósforo influye en la precocidad de producción de capítulos y en

la calidad de los mismos. El potasio aporta vigorosidad a los tejidos, y resistencia a la sequía y las heladas, ya que disminuye la transpiración de la planta. El magnesio es fundamental, ya que participa en la formación de los pigmentos vegetales.

Cuando la alcachofa se cultiva de forma continua en un terreno sin aportar nutrientes, el rendimiento del cultivo va disminuyendo debido al agotamiento de los elementos esenciales antes mencionados (Loomis y Connor, 2002). Conocer el balance de nutrientes (diferencia entre el aporte de nutrientes y nutrientes extraídos por la planta) permite al agricultor llevar a cabo un buen manejo del cultivo, y por tanto, tener una buena producción agrícola.

En la tabla 2.6 se muestra el consumo de los principales nutrientes según el tipo de órgano vegetativo (Magnifico y Lattanzio, 1979). Las hojas y los tallos de las plantas extraen el 60% de N, el 50% de  $P_2O_5$  y el 80% de  $K_2O$ , mientras que los capítulos consumen el 30% de Nitrógeno y fósforo, y un 45% de potasio. Las raíces son el órgano que menos elementos consume. Esto se debe principalmente a que las hojas, tallos y capítulos tienen un crecimiento mayor y requieren más nutrientes para su desarrollo.

La necesidad de nutrientes depende de la variedad de alcachofa cultivada, entre otros muchos factores. Diversos autores han estudiado la extracción de elementos esenciales en diferentes variedades obteniendo resultados que varían notablemente entre ellas (tabla 2.6).

Otro factor que influye notablemente en la necesidad de nutrientes es la fase fisiológica en la que se encuentra la planta. Pomares (1991) y Magnífico y Lattanzio (1979) estudiaron las extracciones de nutrientes durante todo el ciclo biológico de la alcachofa (tabla 2.7). Los resultados de estos autores muestran un mayor requerimiento nutricional de la planta durante los meses de formación de las cabezuelas.

Tabla 2.6. Requerimiento de nutrientes de distintas variedades de alcachofa, por toneladas y hectáreas de material vegetal

Parte de la planta	Rto (t/ha)	Elementos extraídos (kg/ha)			
		N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	MgO
<b>Magnifico y Lattanzio (1979). Cv Locale Di Mola</b>					
Hojas y tallos	70,2	172	22	215	-
Capítulos	29,4	89	14	123	-
Raíces	9,6	25	8	30	-
Total	109,2	286	44	268	-
<b>Anstett (1965). Cv Gros Vert de Laon</b>					
Capítulos	23,9	80	-	-	-
Total	82,26	229	104	478	31
<b>Pomares y col. (1995). Cv Blanca de Tudela</b>					
Capítulos	22,5	75	29	115	16
Total	-	271	87	575	62

Tabla 2.7. Extracción de nutrientes durante el ciclo de cultivo de la alcachofa

Intervalo (días)	Extracción de nutrientes (kg/ha)				
	N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	Ca	Mg
<b>0-30</b>	7,5	2,5	7,0	4,5	1,2
<b>31-60</b>	12,5	5,0	17,5	7,5	2,0
<b>61-90</b>	42,5	17,5	52,5	22,5	6,0
<b>91-120</b>	22,5	7,5	28,0	15	4,0
<b>121-150</b>	12,5	6,2	17,5	7,5	2,0
<b>151-180</b>	22,5	8,7	17,5	7,5	2,0
<b>181-210</b>	47,5	20,0	38,5	30,0	8,0
<b>211-240</b>	60,0	27,5	94,5	30,0	8,0
<b>22,5</b>	30,0	38,5	10,5	10,5	2,8
<b>Total</b>	250	125	350	150	40

### 2.6.3. Aspectos agronómicos del cultivo

#### 2.6.3.1. Preparación del terreno

El cultivo de alcachofa requiere una preparación previa del suelo de plantación para asegurar la vida de la planta durante los años que permanezca en el terreno. El sistema radicular de la planta es fuerte y penetrante, pero es muy sensible a la asfixia, por lo que es necesario llevar a cabo labores de labrado y de acondicionamiento del suelo.

##### ❖ Labores de subsolado, alzar y grada

El subsolado consiste en el arado del terreno a unos 40 o 50 cm de profundidad, rompiendo las capas compactas e impermeables del suelo para facilitar la penetración de las raíces de la planta de alcachofa. Tras este arado profundo, el terreno se va levantando con una vertedera a una profundidad de 30 cm; o, en el caso de no querer mezclar la tierra, se puede usar un cultivador (alzar). La finalidad de ambas operaciones es proporcionar un terreno uniforme, aireado y con buen drenaje.



*Fig. 2.43. Subsolado del terreno (izquierda) y labor de grada (derecha)*

Las operaciones de grada eliminan los terrones del suelo y las malas hierbas, dejando el terreno mullido y homogéneo, listo para la plantación o siembra. Es en esta etapa cuando se añade el abono previo a la plantación y los desinfectantes.

❖ Operaciones de corte del terreno

El cultivo de alcachofa puede realizarse en llano o en caballones (montículos de tierra de 30 cm de altura, en hileras separadas a 1,4 m). En España, se prefiere el cultivo en caballón, ya que de este modo se evitan daños en las plantas por el exceso de humedad.



*Fig. 2.44. Cultivo de alcachofa en llano (izquierda) y en caballón (derecha)*

❖ Desinfección del terreno y abonado de fondo

El abonado de fondo dependerá del tipo de suelo de cultivo, por lo que es necesario un análisis previo para conocer la dosis necesaria de elementos nutritivos. 30 días antes de la siembra o plantación, se puede añadir un máximo de 40 t/ha de estiércol maduro, hasta alcanzar un 1,5 % de materia orgánica. En el caso de que no se añada M.O. es posible aplicar un máximo de 100 U.F./ha de nitrógeno procedente de fertilizantes minerales. En función del análisis del suelo, se puede añadir entre 65-120 U.F./ha de  $P_2O_5$  y 100-200 U.F./ha de  $K_2O$ , dependiendo de si el suelo es pobre o no en estos elementos (Gil-Albarellos y col., 2011).

Cuando los suelos tienen problemas de insectos, nematodos u hongos, se pueden añadir fitofármacos polivalentes o específicos al terreno antes de la plantación del cultivo, para garantizar que las plantas crezcan libres de enfermedades ocasionadas por estos organismos.

### 2.6.3.2. Siembra y plantación

Como se ha mencionado en el apartado 2.6.1, la alcachofa puede multiplicarse a través de semillas o de material vegetativo (zuecas, hijuelos, *óvolis*, etc.).

#### ❖ Siembra

Las semillas pueden sembrarse directamente en campo abierto o en semillero. Actualmente, la segunda opción es la más empleada por los agricultores, ya que el precio de las semillas híbridas que se utilizan es muy alto y su siembra directa origina plantas poco homogéneas.

La siembra en grandes extensiones de terreno se realiza mecánicamente, mediante una sembradora que coloca dos o tres semillas cada 60 o 90 cm, usando surcos de 1,5 m de ancho. La densidad de siembra puede llegar a 27.000 semillas/ha (Serrano, 2006).

Cuando la siembra se realiza en semillero, la germinación (a los 6 o 7 días) se produce en cámaras en las que se controla la temperatura, humedad, etc., garantizando la homogeneidad de la germinación. Cuando el brote tiene entre 4 y 6 hojas (entre 40 a 50 días) ya está listo para trasplantarlo al terreno definitivo. Una vez trasplantados los brotes, se riegan para asegurar un buen agarre de las plantas.

#### ❖ Trasplante de material vegetal

La plantación de zuecas, hijuelos, etc. se realiza normalmente de forma manual, aunque es posible hacerlo con trasplantadoras. Se preparan hoyos separados 0,8 m, donde posteriormente se coloca el material vegetal. Si hay varias hileras de plantación estas deben estar separadas al menos 1 m. Pueden llegar a plantarse entre 7.000 y 10.000 plantas por hectárea (Calabrese, 2009). Si el cultivo se riega por gotero, las plantas deben separarse de la tubería 10 o 15 cm, para evitar que se pudra la raíz.

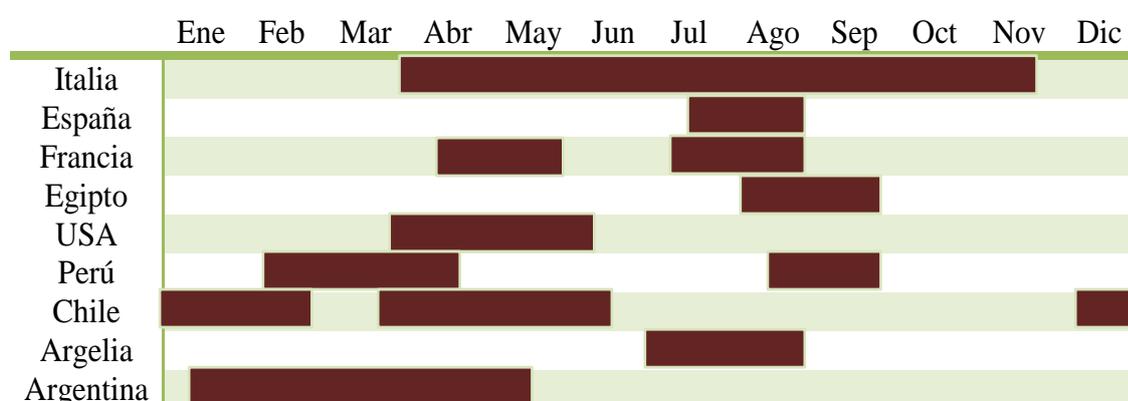
Cuando se trasplantan zuecas, es recomendable la desinfección previa de éstas para garantizar un cultivo libre de enfermedades. Además es necesario que las yemas basales queden bajo tierra para garantizar el agarre de la planta. En el caso del trasplante de

hijuelos hay que tener la precaución de que el punto de crecimiento no quede enterrado. Al igual que con los brotes generados en semillero, el material vegetal recién plantado requiere un riego inicial, o un riego previo a la plantación.

❖ Fecha de plantación

La tabla 2.8 muestra las fechas de plantación adecuadas para cada país productor. Los países mediterráneos como España, Argelia y Egipto plantan el material vegetal entre junio y septiembre, mientras que en Francia e Italia la plantación comienza en periodo primaveral, alargándose en este último país hasta noviembre. En el hemisferio sur las fechas de plantación son más variables y dependen del tipo de propagación usado. Por ejemplo, en Chile la plantación con zuecas se hace en los meses de diciembre a febrero, mientras que la plantación mediante hijuelos comienza más tarde, de marzo a junio (Macua, 2007).

Tabla 2.8. Época de plantación de países productores de alcachofa



*Informe especial 2003. Navarra Agraria*

Como ya se ha mencionado, la variedad de alcachofa más cultivada en España es “Blanca de Tudela”. Para este cultivo la fecha de plantación más apropiada es la segunda quincena de julio y la primera de agosto. No obstante, en muchas ocasiones se adelanta la fecha de plantación para conseguir producciones más precoces, aún a riesgo de que se presenten enfermedades en el cultivo debido al calor (Macua y col., 2009).

### 2.6.3.3. Otras labores

#### ❖ Reposición de marras de plantación

Después de la plantación de esquejes, hijuelos o brotes de alcachofa, son frecuentes los fallos de plantación, es decir, plantas que no han agarrado en el terreno. Para solventar este problema, es posible reponer el material vegetal a los 15 o 20 días de la plantación inicial.

#### ❖ Aporque

El recalzado de la planta en los meses previos a la entrada del frío es muy importante, ya que protege las yemas del sistema radicular y proporciona soporte a la planta. Según Cárdenas (2006), el aporque favorece la formación de hijuelos prematuros. Cuando llega la primavera las plantas se descalzan con sumo cuidado de no dañarlas.

#### ❖ Aplicación de ácido giberélico

Las giberelinas son fitorreguladores que se sintetizan de forma natural en los meristemos apicales y las semillas de las plantas, promoviendo el crecimiento del tallo y la floración (Trigo y López, 1984).

La planta de alcachofa necesita unas condiciones mínimas de frío para poder iniciar el proceso de floración. Aplicar a la planta giberelinas tiene el mismo efecto que la vernalización. Esta acción se aprovecha comercialmente mediante el empleo de ácido giberélico -GA3- (fig. 2.45) para obtener producción precoz de alcachofa, en otoño e invierno, que es la más interesante comercialmente en la zona mediterránea (Maroto, 2007).

Se puede realizar un tratamiento con GA3 a los 40 días del trasplante y dar dos o tres aplicaciones más, de 20 a 60 ppm, dependiendo de la variedad de alcachofa cultivada.

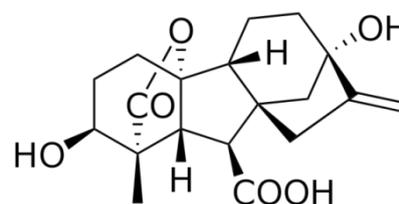


Fig. 2.45. Estructura del ácido giberélico (GA3)

❖ Control de malezas

Junto con el cultivo de alcachofa se desarrollan malas hierbas que compiten por los nutrientes y el agua, además de proporcionar un hábitat ideal para plagas de insectos y otros patógenos. Algunas de las malezas más abundantes son: *Portulaca oleracea* L., *Digitaria sanguinalis* L., *Amaranthus spp*, *Sonchus spp* y *Chenopodium álbum* L. Estas plantas se pueden eliminar mediante escarda manual o química (mediante herbicidas) (Bianco, 1990).

Los herbicidas permitidos para acabar con las malas hierbas son el Glifosato, Oxifluorfén, Linurón, y Pendimetalina (Tabla 2.9). Estos químicos se aplican dependiendo de varios factores: tipo de planta con la que se quiere acabar, modo de acción (pre o post-emergencia), modo de aplicación del herbicida (antes o después de la plantación), etc (Gil-Albarellos y col., 2011).

Tabla 2.9. Herbicidas autorizados para el cultivo de alcachofa

Herbicidas	Modo de aplicación		Modo de acción		Monocotiledóneas		Dicotiledóneas	
	Pre-plan-tación	Post-plan-tación	Pre-emer-gencia	Post-emer-gencia	Anual	Perenne	Anual	Perenne
Glifosato	■			■	■	■	■	■
Linurón		■	■		■		■	
Oxifluorfén		■	■	■	■		■	
Pendimeta-lina	■		■		■		■	

Gil-Albarellos y col. (2011)

❖ Deshijadura y deshoje

La deshijadura consiste en eliminar algunos hijuelos laterales de la planta para regular la producción. Los hijuelos recogidos pueden usarse para replantación en el terreno o para viveros. Esta operación suele ir acompañada de la eliminación de hojas viejas (deshoje) que, normalmente, están en contacto con el suelo. Estas labores son muy costosas, ya que se hacen a mano y requieren muchas horas de trabajo.

❖ Poda

Una vez terminada la cosecha de capítulos, cuando la planta comienza a secarse, ésta se corta a unos 10 cm del suelo para que se desarrollen nuevas plantas en el siguiente ciclo productivo, a partir de las zuecas que quedan en el terreno.

**2.6.3.4. Fertilización**

La fertilización del cultivo de alcachofa se divide en dos etapas: el abonado de fondo y el de cobertura. El primero se aplica durante la preparación del terreno (apartado 2.6.3.1). La cantidad de nutrientes que se añaden depende de las necesidades de la planta y del resultado del análisis de elementos nutritivos presentes en el suelo.

El abonado de cobertura se realiza atendiendo la demanda de nutrientes de la planta durante todo su ciclo de vida (apartado 2.6.2.4). La aplicación del abono vía suelo es preferible a la aplicación foliar (Gil-Albarellos, 2011). Una técnica que garantiza la absorción de los nutrientes en el suelo es la fertirrigación (Burt y col., 1998). En la tabla 2.10 se muestra un ejemplo de programa de fertirrigación propuesto por Rincón (1996), en la región de Murcia.

*Tabla 2.10. Programa de fertirrigación (Rincón, 1996)*

Intervalo (días)	Abonado de cobertura kg/ha.día				
	Nitrato cálcico	Fosfato monoamónico	Sulfato potásico	Sulfato de Magnesio	Nitrato amónico
<b>0-30</b>	-	-	-	-	-
<b>31-60</b>	1,47	0,27	1,16	0,70	0,50
<b>61-90</b>	4,41	0,95	3,50	2,00	1,87
<b>91-120</b>	2,94	0,41	1,86	1,33	0,75
<b>121-150</b>	1,47	0,34	1,16	0,70	0,45
<b>151-180</b>	4,41	0,47	3,73	2,00	0,05
<b>181-210</b>	5,88	0,10	2,56	2,67	1,65
<b>211- 240</b>	5,88	1,50	6,30	2,67	2,75
<b>241- 270</b>	2,06	1,64	2,56	0,93	0,75

### 2.6.3.5. Riego

La alcachofa es un cultivo que tiene una necesidad de agua elevada (apartado 2.6.2.3) debido al gran desarrollo vegetativo de la planta. El equilibrio hídrico es muy importante, ya que un déficit de agua puede afectar al crecimiento de la planta y a la calidad de las cabezuelas de alcachofa; al contrario, un exceso de agua puede provocar la podredumbre de las raíces (Espelta y col., 1984).

Cuando se realiza la plantación, hay que dar un riego abundante (35-40 L/m<sup>2</sup>) para impedir la deshidratación del material vegetal. Pasados 3 o 4 días se procede a dar otro riego (10-20 L/m<sup>2</sup>), que se repite unos días después para garantizar el agarre de la planta. En estas primeras semanas hay que tener la precaución de no regar excesivamente para no asfixiar las raíces, ya que se producirían numerosas marras de plantación (López y col., 2007).

Durante los siguientes meses de desarrollo del cultivo, el riego dependerá de las necesidades hídricas de la planta según el periodo de crecimiento y de la climatología (temperatura y precipitaciones), pudiendo programarse semanalmente los riegos dependiendo de estos factores.

Entre los principales sistemas de riego, el riego por aspersión no es apto para la alcachofa debido, principalmente, al gran desarrollo foliar de la planta. La humedad que se genera en la parte baja de las hojas de la planta propicia un hábitat para hongos y bacterias capaces de desarrollar enfermedades. El riego a manta se ha utilizado



Fig. 2.46. Riego por goteo de un cultivo de alcachofa

tradicionalmente en la zona mediterránea durante muchos años, pero en la actualidad se está sustituyendo por el riego localizado. La disminución del uso de esta técnica de

debe, entre otros motivos, al alto número de marras en la plantación debido al exceso de agua en esta fase de riego. En el riego localizado y mediante un sistema de goteros, el agua cae directamente en las proximidades de la raíz de la planta (fig. 2.46). Este hecho hace que el riego por goteo sea muy efectivo, ya que optimiza el agua y puede emplearse para abonar el cultivo al mismo tiempo (fertirrigación). Actualmente, es el método de riego más usado en la Región de Murcia.

## 2.6.4. Plagas y enfermedades que afectan a la alcachofa

### 2.6.4.1. Parásitos animales

Los parásitos animales que atacan a la alcachofera son capaces de dañar las hojas, tallos, capítulos e incluso las raíces de la planta, afectando seriamente a la producción y calidad del cultivo.

Las principales plagas que amenazan a la alcachofa son: lepidópteros noctuidos, coleópteros, áfidos, dípteros minadores, ácaros, nematodos, caracoles, babosas y pequeños mamíferos como ratones y topillos. A continuación se detallan los más importantes (García, 1999; Gil-Ortega, 1999; Maroto, 2002):

#### ❖ Barrenador o taladro (*Gortyna xanthenes*)

Es la plaga más preocupante del cultivo de la alcachofa, ya que afecta al interior de la planta, ocasionando daños importantes que reducen la producción hasta en un 80-90 % en cultivos de tercer año (Balmaseda, 1970).

Las larvas del lepidóptero noctuido *Gortyna xanthenes* mordisquean las hojas de la alcachofera, penetrando en las nerviaciones de la planta hasta llegar a los tallos e incluso los capítulos (fig.2.47). En el tallo principal crean pequeñas galerías que cortan el paso de la savia, mermando el crecimiento de la planta y la vida de la misma.



Fig. 2.47. Larva de *Gortyna xanthenes* y daños causados por la misma en una planta de alcachofa

❖ Insectos defoliadores

Los insectos defoliadores atacan la parte aérea de la alcachofera, mordisqueando las hojas de las plantas adultas y los brotes jóvenes. Algunos parásitos, además, crean túneles en las nervaduras de las hojas y los tallos, causando necrosis en los tejidos y otros daños importantes. Este es el caso del Minador o submarino (*Agrozyrna*) y de la Pulguilla de la alcachofa (*Sphaeroderma rubidum*). Otros insectos que pertenecen al grupo de parásitos defoliadores son: Vanesa (*Pyrameis cardui*), Rosquilla negra (*Spodoptera littoralis*), Rosquilla verde (*Spodoptera exigua*), *Apion carduorum*, *Cassida defflorata*, Araña Roja (*Tetranychlus urticae*) etc.



Fig. 2.48. Adulto de *Cassida defflorata* y larvas en hoja de alcachofa (izquierda), y oruga de *Pyrameis cardui* alimentándose (derecha).

❖ Gusanos del suelo

En España, los más abundantes son los gusanos grises de la especie *Agrotis segetum* y los gusanos del alambre (*Agriotes lineatus*). Estos últimos son larvas que dañan el sistema radicular de la planta, afectando a su desarrollo; mientras que los gusanos grises atacan durante el día, desde el suelo, mordiendo los tallos y brotes más tiernos. También devoran hojas y capítulos durante la noche.



Fig. 2.49. *Agrotis segetum* (izquierda) y *Agriotes lineatus* (derecha).

#### ❖ Pulgones

Los pulgones se agrupan en las hojas, capítulos e incluso en las raíces de la alcachofera formando colonias que causan problemas de desarrollo en la planta y, en ocasiones, marchitez en las hojas. El pulgón verde de la alcachofa (*Capitophorus horni*) ataca únicamente a las hojas, mientras que el pulgón verde del cardo (*Brachycaudus cardui*) y el pulgón negro de las habas (*Aphis fabae*) afecta tanto a las hojas como a los capítulos (fig. 2.50). Según Sala y Carpintero (1967), las especies *Protrama spp* y *Trama spp* se reproducen en el sistema radicular ocasionando retraso en el crecimiento de la planta.

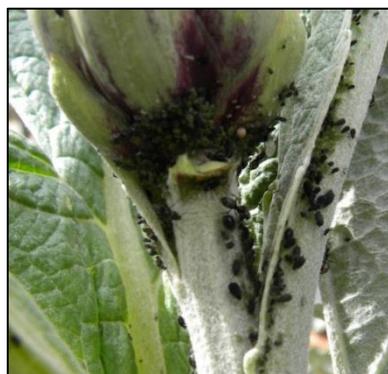


Fig. 2.50. Pulgón negro en cabezuela de alcachofa

Los pulgones son responsables indirectos de algunos casos de enfermedades fúngicas y virosis. La transmisión de virus se da cuando la larva del pulgón se alimenta de una planta infectada y, de este modo, el virus se multiplica en el adulto infesto. Por otro lado, la melaza segregada por las larvas de estos insectos actúa como medio de crecimiento de hongos.

❖ Nematodos

Los nematodos ocasionan pérdida de vigor y de desarrollo en la planta de alcachofa. Algunos de estos organismos generan hipertrofias en el sistema radicular. Los géneros de nematodos más habituales en la alcachofera son: *Meloidogyne*, *Aphelenchus* y *Pratylenchus* (fig. 2.51).



Fig. 2.51. Microfotografías de *Meloidogyne* (i), *Aphelenchus* (c) y *Pratylenchus* (d)

❖ Caracoles y babosas y pequeños mamíferos

Los caracoles (*Helix spp*) y babosas (*Agriolimax agrestis*) dañan la vegetación de la planta de alcachofa. Se alimentan de las hojas, cabezuelas y tallos, dejando agujeros claramente visibles (fig.2.52).

El caso de los roedores y topos es mucho más grave. Estos pequeños mamíferos perforan las raíces y dañan la yema apical de la planta, haciendo que la alcachofera comience a perder vigor, se marchiten sus hojas y finalmente muera.



Fig. 2.52. Daños causados por caracoles

#### 2.6.4.2. Enfermedades

Las enfermedades que afectan a los cultivos de alcachofa suelen ser de origen fúngico, aunque también es frecuente encontrar plantaciones dañadas por enfermedades

bacterianas o por virus. Las enfermedades más frecuentes de la alcachofa son (Gil-Ortega, 1999; Maroto, 2002):

❖ Enfermedades criptogámicas

Como se ha comentado anteriormente, la principal vía de propagación de la alcachofa es mediante material vegetal. Los hongos del suelo son, mayoritariamente, los responsables de las marras de plantación y el mal desarrollo de las plantas generadas a partir de este sistema de multiplicación. Por este motivo es importante la desinfección previa del material vegetal de plantación y del terreno de cultivo. Algunos microorganismos destacables dentro de este grupo son: *Rhizoctonia solani* y *Verticillium dahliae*.



Fig. 2.53. Planta de alcachofa con síntomas de verticilosis (Fotografías extraídas de Cirulli y col., 2010)

El hongo *Rhizoctonia solani* parasita, principalmente, las raíces de las plantas en sus primeras etapas de crecimiento, haciendo que se marchiten a los pocos días de haber brotado.

*Verticillium dahliae* es el hongo que mayores problemas genera en los cultivos de la zona del sudeste español (Cebolla y col., 2004; Armengol y col., 2005), debido a la dureza de sus ataques y a la dificultad de control de la enfermedad (Cirulli y col., 1994; Goud y col., 2004). El hongo penetra en la planta a través de las raíces, infectando los vasos de las hojas y los tallos de la planta. Los síntomas de la verticilosis son: pérdida de vigor, amarilleamiento o manchas en las hojas y desecación de tallos y hojas (fig. 2.53). La enfermedad tiene un carácter unilateral. Dependiendo de las condiciones climáticas, la enfermedad se manifiesta de forma más o menos acusada, e incluso, dentro de una misma planta pueden existir zonas con síntomas de la enfermedad y otras zonas aparentemente sanas.

Otros hongos atacan a la parte aérea de la planta. Este es el caso de *Leveillula taurica*, responsable de la Oidiopsis, una enfermedad muy común en la zona mediterránea que forma un micelio blanco-grisáceo sobre el envés de la hoja y manchas amarillas sobre el haz, que pueden desembocar en necrosis e incluso la muerte de la planta (Mauricio y Leal, 2011).



Fig. 2.54. Micelio blanco de *Leveillula taurica* en el envés de la hoja de alcachofa

*Ramularia cynarae* y *Bremia lactucae* son hongos que también causan problemas en las hojas, mientras que *Botrytis cinérea* y *Ascochyta cynarae* suelen afectar en mayor medida a los capítulos de la planta.

Existe una enfermedad denominada Roya de cabeza, que consiste en el ennegrecimiento y necrosis de las brácteas de las cabezuelas de alcachofa, de la cual se desconoce la causa de su aparición (fig. 2.55). Algunos autores la asocian a los hongos del género *Ascochyta*, pero actualmente se cree que estos organismos crecen como consecuencia del tejido muerto y no son realmente los causantes de esta fisiopatía. Los estudios más recientes la relacionan con el estado sanitario de las raíces, la humedad del suelo y la absorción de nutrientes (Parra y col., 2012).



Fig. 2.55. Roya de cabeza en alcachofa. (Fotografía extraída de Parra y col., 2012).

#### ❖ Enfermedades bacterianas

Una de las enfermedades bacterianas más comunes de este cultivo es la “Grasa de la alcachofa”. La responsable es una bacteria del género *Xanthomonas* que penetra en la planta a través de las heridas provocadas por las heladas, desarrollándose en su interior si los días posteriores son cálidos y húmedos. Este organismo produce manchas

traslúcidas y aceitosas sobre el capítulo, que en ocasiones termina con necrosis parcial de las brácteas que lo rodean.

*Erwinia carotovora* es la bacteria responsable de la llamada “Podredumbre bacteriana”. Este organismo penetra en la planta a través de las heridas, produciendo la podredumbre del cuello de la alcachofera y provocando el marchitamiento de la misma.

#### ❖ Virus

Se han encontrado más de 23 especies de virus en cultivos de alcachofa y de cardo en diversas zonas de la Cuenca Mediterránea y Europa (Gallitelli y col., 2004). En España, los principales virus que dañan la alcachofa son: el virus del bronceado del tomate (TSWV), virus de la degeneración de la alcachofa (ADV) y el virus latente de la alcachofa (ALV). Estos virus se transmiten indirectamente a través de insectos que dañan los cultivos de alcachofa. Los síntomas que provocan estos virus en la planta son variables. Normalmente se manifiestan con pérdidas de vigor y de producción, en mayor o menor medida, pero es complicado relacionar estos síntomas con un determinado virus.

El TSWV no solo afecta a la alcachofa, también daña cultivos de tomate, lechuga o pimientos. Este virus se manifiesta con manchas plateadas en las hojas, capítulos deformes, necrosis y marchitamiento. El ALV no produce síntomas en la planta en su estado inicial, pero conforme se desarrolla, produce pérdida de vigor y manchas amarillas en algunas hojas. Por último, el ADV fue identificado por primera vez por Peña-Iglesias y Ayuso-Gonzales (1972) en plantas de la especie “Blanca de Tudela”. Este virus provoca una degeneración de la planta que causa retraso en el crecimiento y disminución del rendimiento. La naturaleza viral de esta degeneración fue cuestionada por Welvaert y Zitouni (1974) y Welvaert y Van Vaenenberg (1981), los cuales determinaron que además de ser una enfermedad ocasionada por virus, intervienen bacterias y otros factores bióticos.

Para controlar las plagas de insectos, hongos y bacterias que dañan los cultivos se pueden usar diferentes métodos: agentes químicos específicos para cada organismo, uso de feromonas en el caso de insectos y medidas culturales como la renovación anual de

los cultivares, selección de material vegetal sano para la plantación, eliminación de plantas afectadas, etc. (tabla 2.11).

El uso de productos fitosanitarios en España se rige por las directrices establecidas por la Unión Europea, según los Reglamentos (CE) N° 1107/2009 y (CE) N° 396/2005, que recogen las sustancias activas que se pueden usar en un producto fitosanitario y los LMRs (límites máximos de residuos) de las mismas en los alimentos como consecuencia del uso de estos productos. Finalmente, el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA) se encarga de decidir sobre qué productos fitosanitarios se pueden usar o comercializar en España.

Los métodos de control de virus distan de los utilizados para la eliminación de plagas, hongos y bacterias. En este caso no es posible la utilización de productos químicos que eviten la multiplicación del virus, ya que éstos necesitan hospedar células para sobrevivir y éstas se verían afectadas también. Además no hay agentes químicos que impidan la entrada del virus en las células. Por todo ello, el control de la virosis es complicado. Las principales vías de prevención contra virus son: las prácticas culturales anteriormente mencionadas, el uso de semillas para la propagación del cultivo y la multiplicación mediante meristemas. La propagación por semillas no resuelve el problema para algunos virus como el ALV que también puede transmitirse durante la polinización (Gallitelli y col, 2004; Acquadro y col., 2010).

*Tabla 2.11. Medidas de control de plagas y enfermedades fúngicas y bacterianas en el cultivo de alcachofa en España.*

	<b>CONTROL QUÍMICO</b>	<b>CONTROL NO QUÍMICO</b>
<b>PLAGAS</b>	<i>*Sustancias activas autorizadas por el reglamento (UE) N° 1107/2009</i>	
<b>Taladro (<i>Gortyna xanthenes</i>)</b>	Alfa-cipermetrin, cipermetrin, deltametrin, clorpirifos, tau-fluvalinato.	Uso de material vegetal de plantación sano Uso de Feromonas

<b>Submarino (<i>Agromyza</i>)</b>	Clorpirifos, deltametrin, tau-fluvalinato, Azadiractin	
<b>Insectos defoliadores (<i>Vanessa cardui</i>, <i>Spodoptera</i>, <i>Apion carducirum</i>, <i>Cassida defflorata</i>, etc)</b>	Alfa-cipermetrin, cipermetrin, deltametrin, clopirifos, tau-fluvalinato.	Eliminación de malas hierbas
<b>Gusanos del suelo (<i>Agrotis segetum</i> y <i>Agriotes lineatus</i>)</b>	Alfa-cipermetrin, cipermetrin, deltametrin, Clorpirifos, carbaril, tau-fluvalinato.	Uso de polilleros
<b>Pulgones (<i>Capitophorus horni</i>, <i>Brachicaudus cardui</i>, <i>Aphis fabae</i>)</b>	Deltametrin, pirimicarb, acefato, imidacloprid, endosulfan.	Trampas cromáticas
<b>Nematodos (<i>Meloidogyne</i>, <i>Aphelenchus</i> y <i>Pratylenchus</i>)</b>	Dicloropreno, carbofuran, oxamilo.	
<b>Caracoles y babosas</b>	Metaldehído, metiocarb.	
<b>Topillos y roedores</b>	Endosulfan, brodifacoum, bromadiolona.	Perros Ratoneros
<b>ENFERMEDADES</b>		
<b><i>Rhizoctonia solani</i></b>	Flutolanil, pencicuron, metiltiofanato	Uso de material vegetal de plantación sano Evitar el exceso de riego al inicio de la plantación Buena fertilización del suelo
<b>Oidiopsis (<i>Leveillula taurica</i>)</b>	Azufre coloidal, penconazol, tetraconazol, triadimenol	Evitar el exceso de humedad del suelo
<b>Grasa, Podredumbre bacteriana, <i>Botytis</i> y <i>Ascochita</i></b>	Compuestos cúpricos (preventivo)	
<b>Mildiu (<i>Bremia lactucae</i>) y Viruela (<i>Ramularia cynarae</i>)</b>	Compuestos cúpricos, captan	Marcos de plantación poco densos Limpieza de follaje
<b>Verticilosis (<i>Verticillium dahliae</i>)</b>	-	Rotación de cultivos Destrucción de plantas afectadas Material de plantación sano Eliminación de malas hierbas

Elaboración propia a partir de García (1999), Gil-Ortega (1999) y Gil-Albarellos (2011).

### **2.6.5. Recolección**

La época de cosecha de la alcachofa en España varía en función de la zona de cultivo, fecha de plantación y variedades cultivadas. Para el cultivar “Blanca de Tudela”, la variedad más usada en el país, la recolección en la zona mediterránea (C. Valenciana, Murcia y Andalucía) se extiende desde Octubre hasta Mayo o Junio ininterrumpidamente; mientras que en las zonas más frías (Navarra, La Rioja, Castilla la Mancha, etc.), la temporada de recolección es de Marzo a Mayo. En los años menos fríos, la recolección en estas Comunidades puede adelantarse a los meses otoñales (Gil-Ortega, 1999a).

Cuando se usan variedades de semilla, la recolección es más tardía, ya que la producción en otoño es nula si no se usan agentes vernalizantes (Esteva y Martínez-Tomé, 2002).

Como se ha comentado anteriormente, la época de plantación también influye en la fecha de recolección. En muchas ocasiones se adelanta la plantación para conseguir cultivares precoces que dan mayor valor a la alcachofa en el mercado (Macua y col., 2009).

La alcachofa se recoge cuando los capítulos florales son inmaduros y aún no se han desarrollado las flores (Cravero y col., 2012). Las brácteas de los capítulos deben estar cerradas, compactas y ser tiernas. Además, las cabezuelas deben estar exentas de pilosidad, tener un tamaño adecuado y no presentar defectos o daños, ya que afectaría en gran medida a su posterior comercialización. El tamaño de las alcachofas varía en función de la variedad y de su destino. Por ejemplo, las cabezuelas de la variedad “Blanca de Tudela” se recolectan para el mercado en fresco cuando pesan entre 130 y 160 gramos, mientras que para la industria son válidas las cabezuelas de 80 a 100 g. El mercado exterior demanda alcachofas de mayor tamaño (Gil-Ortega, 1999a).

El proceso de recolección se realiza a mano y a primera hora de la mañana para impedir la deshidratación de la alcachofa. La cabezuela se corta con parte del tallo (4-5 cm para el mercado interior, y de 15-20 cm para exportación) para retrasar lo máximo posible el marchitamiento del producto. Durante los meses de producción, se van realizando múltiples pasadas según el desarrollo de la planta.



*Fig. 2.56. Corte manual de alcachofa*

La cantidad recolectada varía en función de la variedad cultivada y la edad de la planta, entre otros muchos aspectos. Las plantas de segundo y tercer año dan producciones menores y de peor calidad que las alcachoferas jóvenes. En España el número medio de cabezuelas recolectadas por hectárea se encuentra entre 100.000 y 200.000 (Macua y col., 1999).

## 2.6.6. Post- cosecha

### 2.6.6.1. Calidad comercial de la alcachofa

La calidad post-cosecha de la alcachofa fresca se rige por la norma europea de comercialización de esta hortaliza (Reglamento (CE) N° 1466/2003). En dicha normativa se establecen los requisitos mínimos de calidad:

- Estar enteras, sanas y limpias.
- Tener un aspecto fresco y no presentar señales de marchitamiento.
- No contener parásitos ni presentar signos visibles de daños por estos organismos.
- Estar exentas de humedad exterior anormal.
- No presentar olores ni sabores extraños.

El diámetro mínimo de la sección ecuatorial de los capítulos no puede ser inferior a 6 cm, exceptuando unas pocas variedades. Las alcachofas se podrán clasificar según el calibre de las mismas, dependiendo de este diámetro.

Las alcachofas frescas se dividen en tres categorías (extra, primera y segunda) dependiendo de la calidad de las mismas.

- Categoría "Extra": alcachofas de calidad superior, con las características propias de la variedad. Deben tener brácteas bien compactas, sin defectos ni daños externos. Los vasos del fondo no deben tener principio de lignificación.
- Categoría I: alcachofas de buena calidad, con características propias de la variedad. Sus brácteas deben ser compactas y pueden tener ligeros defectos que no afecten a su calidad y conservación. Los vasos del fondo no deberán presentar ningún principio de lignificación.
- Categoría II: en este grupo se encuentran las alcachofas que cumplen con los requisitos mínimos de calidad, pero presentan brácteas ligeramente abiertas y

defectos como ligeras deformaciones, magulladuras y manchas. Pueden presentar principio de lignificación de los vasos del fondo.

### 2.6.6.2. Factores de deterioro post-cosecha

Una vez recolectada la alcachofa, se desarrollan los primeros procesos de degradación metabólica debidos a la naturaleza viva del vegetal. El corte de las cabezuelas de la alcachofera se traduce en el inicio de la muerte de las células vegetales y, por tanto, en el comienzo de la degradación biológica, cuyo mecanismo se esquematiza en la figura 2.57.



Fig. 2.57. Mecanismos generales de los procesos de degradación fisiológica de la alcachofa.

El deterioro durante la post-cosecha puede ser de tres tipos: fisiológico, físico y patológico. La degradación fisiológica puede hacerse visible cuando se produce la congelación del tejido vegetal, originándose pardeamientos y pudriciones en el tejido dañado, malos olores, etc. Los daños por calor también afectan a la fisiología, quemando, deshidratando o blandeando la superficie de la fruta u hortaliza. Además, los desequilibrios nutricionales, la composición atmosférica y los procesos metabólicos como la respiración y la producción de etileno pueden originar desordenes, que se traducen en pérdidas de calidad nutricional, de textura, sabor, etc. (Kader, 2002).

Los daños físicos de corte, pelado, compresión, etc. propician los procesos metabólicos de respiración y producción de etileno, pardeamiento, deshidratación del tejido e infección microbiana por hongos y bacterias.

Es importante conocer los procesos involucrados en el deterioro de la alcachofa y la influencia de los factores ambientales sobre los mismos, para poder retardar o minimizar, en la medida de lo posible, los efectos negativos de dichos procesos y alargar la vida útil del producto. Los principales factores biológicos que afectan a la post-cosecha de esta hortaliza son:

❖ Tasa de respiración

La respiración aeróbica de las plantas es un proceso complejo mediante el cual, los vegetales absorben el oxígeno atmosférico, liberando dióxido de carbono para producir la energía que necesitan para su supervivencia. Esta energía se produce gracias a la oxidación de las reservas de carbohidratos, proteínas, grasas, etc. presentes en la planta (Braverman, 1980, Fonseca y col., 2002).

Durante la post-cosecha de las hortalizas, continúa el proceso respiratorio y las reservas existentes en el vegetal van disminuyendo, provocando el deterioro del producto. Además, parte de la energía producida se disipa en forma de calor, haciendo que aumente la temperatura de las hortalizas cosechadas y empacadas, provocando una degradación física y fisiológica (pérdida de peso, sabor, calidad visual, etc.) (Cheftel y Cheftel, 1983). Por estos motivos, el aumento de la tasa respiratoria supone la disminución de la vida post-cosecha de las hortalizas (Kader, 2002).

La respiración post-cosecha aumenta con la temperatura de almacenamiento y el estrés físico de pelado y corte de los vegetales (Watada y col., 1996; Ricci y col, 2013). Otros factores que también influyen sobre la respiración son la composición de la atmósfera y la producción de etileno (Mahajan y Goswami, 2001).

Como puede observarse en la tabla 2.12, generalmente las hortalizas poseen mayor tasa respiratoria que las frutas, debido entre otros factores a la impermeabilidad que le ofrece la piel a estas últimas.

La alcachofa tiene una elevada actividad respiratoria, lo que la convierte en un producto altamente perecedero (entre 2 y 3 semanas en condiciones óptimas de almacenamiento).

Tabla 2.12. Clasificación de frutas y hortalizas según su actividad respiratoria

	Tasa de respiración (mg CO <sub>2</sub> /kg·h) a 5°C	Calor de Respiración (Btu/ton. 24h) a 5°C	
<b>Muy baja</b>	<5	<1100	Nueces, dátiles, frutos secos
<b>Baja</b>	5-10	1100-2200	Manzana, cítricos, cebolla, apio, melón, sandía
<b>Moderada</b>	10-20	2200-4400	Pimiento, tomate, pera, ciruela, pepino
<b>Alta</b>	20-40	4400-8800	Fresa, coliflor, lechuga, zanahoria
<b>Muy alta</b>	40-60	8800-13200	Alcachofa, brócoli, col, berro
<b>Extremadamente alta</b>	>60	>13200	Espárrago, espinaca, maíz dulce

Kader (2002)

#### ❖ Producción de etileno

El etileno es un producto natural generado durante el metabolismo de los vegetales que interviene en los procesos de crecimiento, desarrollo y senescencia. La mayor producción de etileno se alcanza durante la maduración de los frutos y hortalizas.

La tasa de producción de esta fitohormona durante la post-cosecha depende de varios factores:

- Daños en los tejidos de las plantas: aceleran la producción de etileno y el deterioro del vegetal debido al incremento de las reacciones enzimáticas y metabólicas, como la respiración (Tay y Perera, 2004; Salinas-Hernandez y col., 2007).
- Temperatura: la producción de etileno aumenta con la temperatura. Cuando se alcanzan los 30°C, la síntesis y la acción de esta hormona se ve altamente restringida.
- La atmósfera: La producción de etileno se reduce a bajos niveles de O<sub>2</sub>, y elevados niveles de CO<sub>2</sub>.

La alcachofa presenta una baja tasa de producción de etileno (inferior a 0,1 µL C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/kg·h a 20°C) en comparación con otras frutas y hortalizas como el tomate, el plátano o el higo, cuya producción es de 1-10 µL C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/kg·h a la misma temperatura; o la manzana y la pera, que muestran tasas que se encuentran entre 10-100 µL C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/kg·h. Además es una hortaliza poco sensible a este gas, por lo que no es un factor muy importante durante su post-cosecha (Kader, 2002).

#### ❖ Transpiración

Los vegetales, como cualquier organismo, necesitan agua para su supervivencia. El agua necesaria para realizar las distintas funciones del metabolismo de la planta es captada por las raíces, y parte de ésta, es liberada a la atmósfera a través de las hojas como vapor de agua. La transpiración se produce gracias a la diferencia entre la presión de vapor del agua de la atmósfera exterior y la del interior de los tejidos vegetales (Burton, 1982).

Tras la recolección, las hortalizas poseen entre un 65 y un 95% de agua. Este porcentaje va disminuyendo durante el periodo post-cosecha, debido a que el proceso de transpiración de la planta no se detiene. El agua perdida en esta etapa no se puede reponer, produciendo en las hortalizas y frutas cosechadas problemas de pérdida de peso, marchitamiento, deshidratación y ablandamiento, que reducen la calidad.

Los factores que afectan a la pérdida de humedad son: temperatura, humedad relativa, movimiento de aire, presión atmosférica, morfología y anatomía del vegetal, daños mecánicos, estado de madurez, etc. Para controlar la transpiración se pueden usar ceras superficiales o envoltorios plásticos, regular la ventilación aire y mantener un ambiente húmedo (Kader, 2002).

La alcachofa tiene una tasa de transpiración muy alta, debido a que posee una elevada relación superficie/ volumen, que influye directamente sobre la pérdida de peso durante su almacenamiento (Agamia, 1984). La humedad de esta hortaliza se encuentra entorno al 85%. La pérdida de humedad, y por tanto de peso, debida a la transpiración de la alcachofa se puede reducir empleando condiciones de almacenamiento de baja temperatura y elevada humedad relativa, obteniendo disminuciones de peso insignificantes (no más del 1%) (Ricci y col, 2013).

#### ❖ Cambios en la composición

Como respuesta al estrés biológico y ambiental sufrido durante la recolección y el almacenamiento, se producen cambios en la composición química de las frutas y hortalizas post-cosecha. Una prueba de ello es la disminución de las reservas de energía primarias (azúcares solubles y almidón) durante el proceso de respiración.

En muchas hortalizas se evidencian cambios de color, originados por la pérdida o desarrollo de algunos pigmentos. Un claro ejemplo es la pérdida del color verde característico de algunas hortalizas, como consecuencia de la degradación de la clorofila presente en el tejido vegetal; o el desarrollo de carotenoides como resultado de la maduración. Factores como la temperatura, luz, humedad y composición de la atmósfera influyen directamente sobre los pigmentos vegetales (Kader, 2002).

Durante el periodo post-cosecha, también se producen variaciones en los compuestos antioxidantes (carotenoides, ácido ascórbico, compuestos polifenólicos, etc.) como respuesta al estrés del vegetal (Wang y col, 2003). La alteración de estos compuestos puede dar lugar a cambios de color, pardeamientos en el tejido, olores y sabores desagradables.

En las alcachofas, los cambios en la composición química durante la post-cosecha más relevantes son:

- Degradación de la clorofila: durante la etapa de senescencia de los tejidos vegetales, los cloroplastos son desensamblados para trasladar el nitrógeno que contienen a otras zonas del vegetal para reutilizarlo. Al degradar las proteínas tilacoidales que contienen clorofila, ésta última también se degrada, produciendo cambios de color indeseables (Costa y col, 2013).
- Aceleración de la oxidación de la vitamina C durante el almacenamiento, debido a la presencia de PPO que cataliza la reacción (Espín y col., 2000). Gil-Izquierdo y col, 2001 observaron la disminución en el contenido de vitamina C en el cultivar “Blanca de Tudela” tras la recolección de esta hortaliza.
- Cambios en la composición fenólica: Tras la recolección de la alcachofa se producen variaciones en el contenido fenólico que pueden dar lugar a procesos indeseables (Gil-Izquierdo y col, 2001). Es bien conocido el papel antioxidante de estos compuestos, así como su actuación como sustratos en los procesos de oxidación enzimática y pardeamiento no enzimático (Lattancio y col, 1994). El pardeamiento es uno de los principales problemas post-cosecha de esta hortaliza, sobre todo durante su procesado (pelado y corte). Un gran número de autores han estudiado la susceptibilidad de pardeamiento y su relación con el contenido de fenoles en distintas variedades de alcachofas (Lattancio y col., 1994; Brecht y col., 2004; Cabezas-Serrano y col., 2009).

### **2.6.6.3. Control post-cosecha**

La mejor forma de controlar el deterioro post-cosecha de los productos hortofrutícolas y por tanto, alargar su vida comercial, es actuando sobre los factores externos que afectan a los procesos metabólicos de degradación; es decir, modificar la temperatura, humedad relativa y composición de la atmósfera durante el almacenamiento.

La temperatura es la variable con mayor influencia en el deterioro post-cosecha. Un aumento de 10°C en la temperatura duplica e incluso triplica la tasa de deterioro (Kader, 2002). La disminución de la temperatura minimiza los procesos metabólicos del vegetal, frenando la respiración, biosíntesis de etileno, transpiración, pardeamiento, etc., ralentizando la degradación. Además, el empleo de bajas temperaturas minimiza el riesgo de infecciones microbianas (Artés Calero, 2006).

El control de la temperatura durante la post-cosecha se lleva a cabo en dos fases: una primera etapa de eliminación del calor acumulado durante la recolección (pre-refrigeración) y una segunda fase de almacenamiento a baja temperatura. El pre-enfriamiento puede realizarse mediante diversos sistemas: usando cámaras de refrigeración simples, cámaras de enfriamiento con sistemas de aire forzado o con aire forzado humedecido, empleando cámaras de vacío, o hidrogenfriamiento (Giambanco de Ena, 2003).

La refrigeración en cámara simple y el hidrogenfriamiento son los sistemas más utilizados para el pre-enfriamiento de la alcachofa. Este último se utiliza en el Sur de España, debido a las elevadas temperaturas que se alcanzan durante la recolección de esta hortaliza.

La temperatura de almacenamiento adecuada para la conservación de los productos hortofrutícolas depende en gran medida de la sensibilidad al frío que presenten dichos vegetales. De este modo, productos susceptibles al daño por frío como los plátanos, tomates, cítricos, melones, pepinos y pimientos, presentan temperaturas de conservación más elevadas que los productos no sensibles. Entre los vegetales resistentes a las bajas temperaturas se encuentran los espárragos, lechugas, zanahorias, peras, fresas,

alcachofas, etc. (Kader, 2002). Estos productos pueden almacenarse a temperaturas que rondan los 0°C. (Tabla 2.13).

Junto con el empleo de temperaturas de almacenamiento bajas, mantener una elevada humedad relativa (90-95%) minimiza las pérdidas de agua en las frutas y hortalizas. El control de ambas variables garantiza productos con una elevada vida comercial.

Las condiciones de almacenamiento adecuadas para la alcachofa según Suslow y Cantwell (1997) son temperatura de 0°C y humedad relativa superior al 95%. Manteniendo estos valores, la alcachofa puede llegar a los 21 días de vida útil.

El empleo de atmósferas controladas o modificadas, junto con el almacenamiento a bajas temperaturas y elevadas humedades relativas, proporciona a los vegetales post-cosecha un mayor tiempo de vida útil. Este hecho está relacionado con la disminución de los procesos metabólicos como la tasa de respiración, producción de etileno y transpiración, como se comenta en el capítulo 1.3.3.2.

Gil y col. (2003) estudiaron la variación de la tasa de respiración de la alcachofa “Blanca de Tudela” en atmósfera controlada (5% O<sub>2</sub> y 10-15% CO<sub>2</sub>), obteniendo un 50% menos de producción de CO<sub>2</sub> que en las alcachofas almacenadas al aire. Este es un claro ejemplo de disminución de los procesos biológicos, que dan lugar a la degradación post-cosecha, gracias a la utilización de atmósferas controladas. En la tabla 2.13 se muestran las composiciones atmosféricas adecuadas para la conservación de distintas frutas y hortalizas.

El uso de atmósferas controladas o modificadas en la conservación de la alcachofa fresca y entera no es muy frecuente, debido a su rápida comercialización. Sin embargo, cuando la hortaliza debe mantenerse almacenada durante varias semanas para su exportación, o se ha procesado en fresco, el uso de un 2-3% O<sub>2</sub> y 3-5% CO<sub>2</sub> a baja temperatura retrasa el pardeamiento interno, la decoloración de las brácteas y la pudrición de la alcachofa (Suslow y Cantwell, 1997).

En España, se han realizado numerosos estudios de almacenamiento de alcachofa en atmósfera controlada, obteniéndose diferentes resultados dependiendo de la variedad

estudiada y del autor. Artés Calero (2006) encontró mejores resultados con el almacenamiento de esta hortaliza al 2-3% O<sub>2</sub> y 1-3% CO<sub>2</sub> (tabla 2.13), mientras que Shafiur Rahman (2003) recomienda la conservación de esta hortaliza al 2-5% O<sub>2</sub> y 3-10% CO<sub>2</sub>. Esta variabilidad es consecuencia del estado fisiológico, de la variedad, de la temperatura y de la humedad relativa entre otros factores (Artés Calero, 2006).

Tabla 2.13. Condiciones idóneas de conservación para distintas frutas y hortalizas, y su periodo máximo de vida en dichas condiciones.

	T <sup>a</sup> (°C)*	Atmósfera		Vida útil (Semanas)
		% O <sub>2</sub>	% CO <sub>2</sub>	
<b>Alcachofa</b>	0	2-3	1-3	2-3
<b>Espárrago</b>	0	2-1	5-10	2-3
<b>Brócoli</b>	0	1-2	5-10	1-2
<b>Tomate</b>	9-10	3-5	1-5	2-3
<b>Lechuga</b>	0	2-5	0-1	2-3
<b>Pepino</b>	8-13	3-5	2-5	1-2
<b>Pimiento</b>	7-12	2-5	2-5	2-3
<b>Zanahoria</b>	0-1	5-10	0-3	25-34
<b>Melón</b>	3-9	3-5	10-15	2-3
<b>Manzana</b>	4	1-3	1-5	8-12
<b>Naranja</b>	1-5	10-12	0-5	6-8
<b>Pera</b>	-0,5-0	1-3	0-5	20-28
<b>Plátano</b>	13	2-5	2-5	3-5
<b>Nueces</b>	0-25	0-1	40-100	50-55
<b>Limón</b>	11-15	5	0-5	6-15
<b>Fresa</b>	0	5-10	15-20	1

Artés Calero (2006)

\*Humedad relativa (HR) del 90-95%

## **2.7. Alcachofa en IV Gama**

### **2.7.1. Gamas alimentarias**

Los métodos tradicionales de conservación y procesado de los alimentos vegetales se han ido modificando con el desarrollo de las nuevas tecnologías. Así, se pueden clasificar en 5 gamas dependiendo del tipo de tratamiento al que han sido sometidos.

- *I Gama*: Se trata de frutas y hortalizas que no han sido sometidas a ningún tratamiento o proceso industrial, exceptuando la refrigeración. Son, por tanto, alimentos altamente perecederos. Esta gama incluye frutas y hortalizas frescas, deshidratadas y encurtidas.

- *II Gama*: está formada por vegetales a los que se les ha aplicado algún tipo de tratamiento térmico y se han envasado en recipientes herméticos. A este grupo pertenecen las conservas y semiconservas.
- *III Gama*: son los vegetales congelados que necesitan cocinarse para ser consumidos. En este tipo de alimentos es importante mantener la cadena de frío para mantener su calidad durante el almacenamiento.
- *IV Gama*: a este grupo pertenecen las frutas y hortalizas que han sido sometidas a un procesado mínimo como el pelado, corte, lavado y envasado para su consumo inmediato. Deben conservarse en refrigeración ya que son productos muy perecederos (7-10 días).
- *V Gama*: son vegetales que han sido tratados térmicamente, envasados y almacenados en frío, listos para consumir tras un calentamiento previo.



Fig. 2.58. Alcachofa fresca (I), en conserva (II), congelada (III), mínimamente procesada (IV) y en escabeche (V).

### **2.7.2. Importancia de la IV Gama**

En la actualidad, debido al cambio en el estilo de vida y la alimentación de los consumidores, se desean adquirir productos frescos, naturales, ya preparados y listos para su consumo. Factores como el envejecimiento progresivo de la población en los países occidentales, la incorporación de la mujer al mundo laboral, la reducción de convivencia dentro de la estructura familiar, o el notable aumento de hogares unipersonales, han supuesto una importante transformación en las exigencias hacia los alimentos. Por todo ello, en la actualidad, el sector de las frutas y hortalizas mínimamente procesadas o de IV Gama está tomando mayor relevancia en el mercado.

La IV Gama surgió a mediados de los años 70, en Estados Unidos, como resultado de la necesidad de abastecer de lechuga a los restaurantes de comida rápida. No fue hasta el inicio de los años 80 cuando se introdujo en Europa, llegando a países como Alemania, Suiza, Francia, Italia, Inglaterra y los Países Bajos. En España estos productos llegaron con 10 años de retraso respecto al resto de Europa, implantándose en Navarra en primera instancia y extendiéndose a otras comunidades de gran importancia hortofrutícola como Murcia, Comunidad Valenciana, Andalucía y Cataluña. (Alonso, 2007).

Según el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, el consumo medio por persona de hortalizas en IV Gama en 2012 fue de 2,96 kg/año; unas cuatro veces más que en 1998. Además, según la Asociación Española de Frutas y Hortalizas Lavadas, Listas para su Empleo (Afhorla), las ventas de frutas y hortalizas mínimamente procesadas siguen un aumento progresivo, comercializándose un total de 74.000 t en el año 2011, un 22% más que en 2006. Estos datos indican que la proyección de la IV Gama es ascendente, convirtiéndose en un producto de futuro en la industria alimentaria.

Del total de la producción hortofrutícola española en IV Gama, el 95% corresponde a hortalizas como lechuga, ensalada, espinaca, acelga, canónigos, escarola, zanahoria,

pepino, apio, etc.; mientras que únicamente el 5% se dedica a frutas (Artés Calero y col., 2004; Pérez-Rodríguez y Martín-Fernández, 2010).

Estos productos son muy perecederos debido, principalmente, a las operaciones de corte, que aceleran los procesos metabólicos (tasa respiratoria, producción de etileno, transpiración, etc.) responsables del deterioro. Factores externos como la calidad de la materia prima de partida, manipulación, higiene, temperatura, humedad, atmósfera, etc. influyen en gran medida sobre la degradación. Las alteraciones que suelen darse en este tipo de alimentos son: pardeamiento, deshidratación, blandeamiento y alteración microbiana (Salinas-Hernández y col., 2007).

La finalidad de la IV Gama es proporcionar al consumidor un producto de calidad, fácil consumo, inocuo y con características semejantes a la materia prima de partida. Para lograr esto, es necesario que los tratamientos que se aplican para prevenir el deterioro sean mínimos, para no producir cambios sobre las características nutritivas y organolépticas. Las técnicas más utilizadas para conseguir un producto de IV Gama de calidad son: el envasado en atmósfera modificada, el empleo de baja temperatura y el uso de disoluciones antipardeantes (Namesny, 2005).

En este tipo de alimentos es importante llevar a cabo una manipulación adecuada para prevenir la contaminación microbiana, ya que en estos alimentos no se aplica tratamiento térmico para la eliminación de patógenos. Además, deben conservarse bajo refrigeración para evitar la proliferación microbiana.

La dificultad de procesado de los productos hortofrutícolas varía en función de sus características físicas, químicas y bioquímicas. En el mercado existen numerosos vegetales de hoja mínimamente procesados como la lechuga, escarola, canónigos, etc. que sufren procesos de deterioro lentos. Sin embargo, hortalizas como las alcachofas presentan serias dificultades para su elaboración en IV Gama, ya que, como se ha comentado anteriormente, este vegetal posee una alta tasa respiratoria, y una elevada susceptibilidad de pardeamiento. Estas características hacen que su elaboración en IV gama sea un reto, existiendo muy pocos estudios sobre el procesado mínimo de este vegetal.

La introducción en el mercado de un producto de alcachofa mínimamente procesada facilitaría su consumo, ya que la manipulación de esta hortaliza es laboriosa y, además se oscurece rápidamente tras el corte, dificultando su consumo en fresco. Pero para lograr un producto de alcachofa en IV Gama de calidad es necesario encontrar una variedad que sea idónea para el procesado, estudiando sus características químico-físicas y bioquímicas. Además, es importante conocer la actividad metabólica del material vegetal tras el estrés de corte y pelado, optimizar los tratamientos para su conservación y llevar a cabo un posterior control físico-químico y microbiológico del producto que garantice su salubridad.



### **3. OBJETIVOS**



Los objetivos globales planteados en el presente trabajo han tenido un triple enfoque. En primer lugar caracterizar un grupo de variedades de alcachofa alternativas al cultivar tradicional en la Región de Murcia, que presentan un alto potencial para la exportación. En segundo lugar, estudiar su aptitud para la transformación agroindustrial. El tercero de los objetivos ha sido el diseño de protocolos para la elaboración de los capítulos de alcachofa en IV Gama que puedan ser comercializados en condiciones de refrigeración, manteniendo todas sus propiedades. De este modo los objetivos generales de la tesis se resumen en:

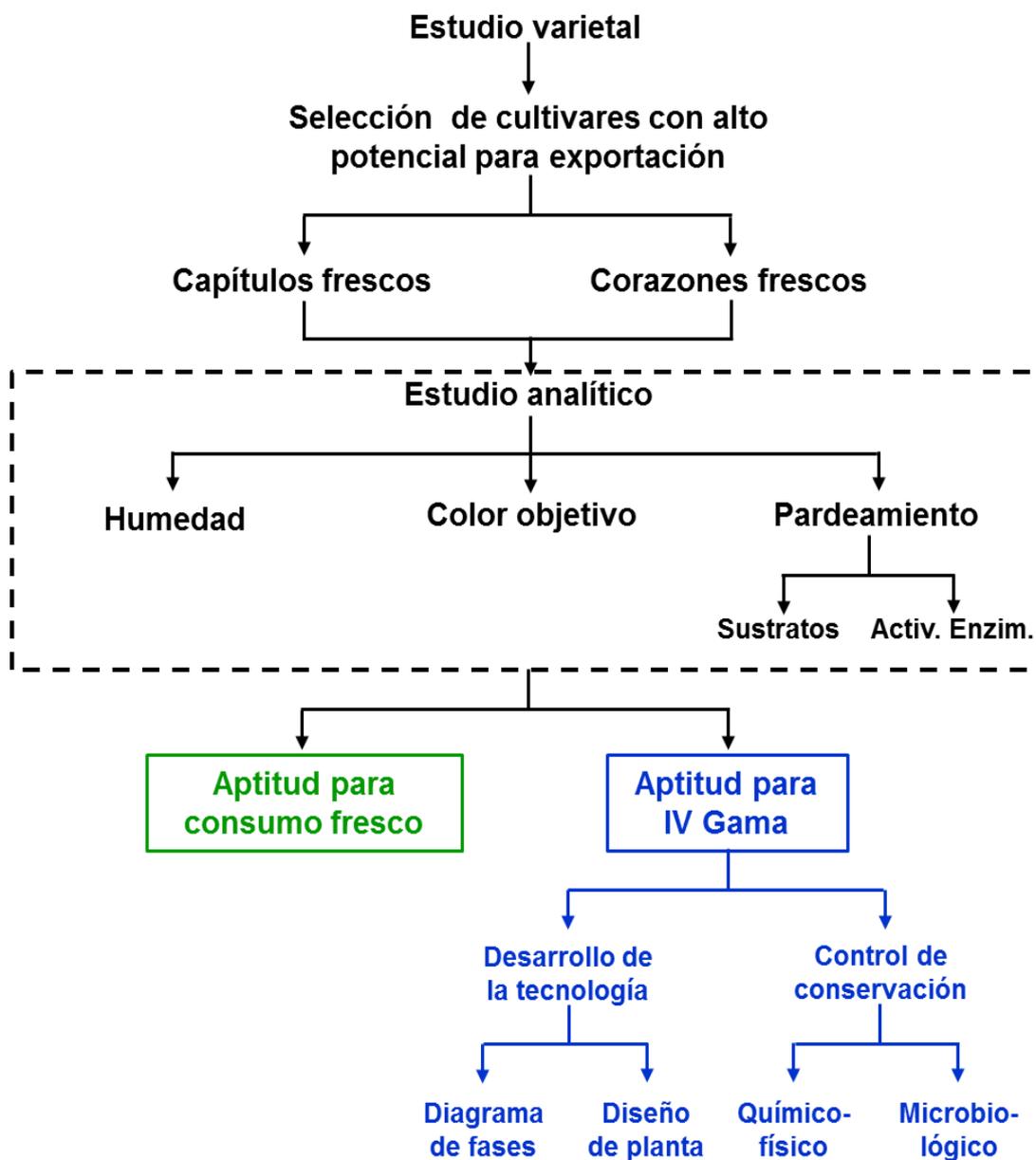
- a) La caracterización químico-física y bioquímica de distintos cultivares de alcachofa, y su comparación con los de la variedad tradicional.
- b) En base a los resultados anteriores, plantear la idoneidad de los mismos bien sea para la comercialización en fresco, o para la transformación agroindustrial.
- c) El desarrollo de una metodología para elaborar alcachofa en IV Gama, y el estudio de su comportamiento durante el almacenamiento.

Para lograr el primer objetivo se tuvieron en cuenta aquellos parámetros que tienen una relación más directa con la identificación organoléptica (color y humedad) y con la estabilidad del producto fresco durante su comercialización. La estabilidad de un producto tan sensible como es la alcachofa, se determinó en función de su capacidad de pardeamiento y de los factores que inciden sobre la misma (contenido fenólico y actividad enzimática). Los datos así obtenidos permiten definir un perfil en cuanto al destino de la producción.

Respecto al desarrollo de preparados en IV Gama se plantearon los siguientes objetivos secundarios:

- Caracterizar el comportamiento del material fresco, una vez que se le somete al estrés correspondiente al pelado de las brácteas externas y su confinamiento en un recipiente cerrado. Para ello se determinó la tasa respiratoria y la emisión de etileno.
- Optimizar las condiciones de manipulación de los capítulos, disoluciones de tratamiento o impregnación, condiciones de envasado, características de los materiales plásticos a utilizar y la atmósfera óptima para la conservación.
- Garantizar la seguridad de estos preparados y precisar el periodo de vida útil de los mismos, llevando a cabo un seguimiento químico- físico y microbiológico.

El conjunto de los objetivos planteados se resume en el siguiente esquema:





## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**



## **4.1. Estudio varietal**

### **4.1.1. Materia prima**

Como materia prima se utilizaron alcachofas de las variedades “Blanca de Tudela”, “Calicó”, “Salambó”, “Romanesco”, “Violeta de Provenza” y “Tema”, cultivadas en el Campo de Cartagena y suministradas por el Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (IMIDA). Se almacenaron refrigeradas a 3°C, durante un máximo de 24h para su posterior estudio.

Los análisis se realizaron sobre capítulos que presentaban el tamaño medio comercial, en los laboratorios del Grupo de Agroquímica y Tecnología de Alimentos de la UMU.

#### 4.1.2. Determinación del color

La metodología analítica utilizada fue la medida del color visual mediante espectrometría de reflectancia en la zona del visible, utilizando el espacio de color CIELab (1976) desarrollado a partir del espacio máster XYZ CIE (1931) por la Commission Internationale d'Eclairage (CIE). La lectura se realizó sobre el capítulo íntegro (brácteas externas) y sobre el corazón de la alcachofa (brácteas internas), utilizando un espectrofotómetro Minolta (modelo CM-508I).



*Fig. 4.1. Medida del color de la alcachofa mediante un espectrofotómetro de reflectancia.*

#### 4.1.3. Humedad

La humedad se determinó, tanto para las brácteas externas como las internas, mediante el método de desecación en estufa hasta peso constante.

#### 4.1.4. Contenido fenólico

Se realizó mediante la determinación espectrofotométrica del índice de polifenoles totales (IPT) y del Índice de Folin-Ciocalteu (IFC) a partir de extractos preparados a partir de las brácteas internas o externas de las alcachofas.

Los extractos se prepararon pesando 3 g de material vegetal que se trituró en un homogeneizador tipo Polytron<sup>®</sup> (modelo PT 10-35, Kinematica) con tampón fosfato 0,1 M pH=7,2. El triturado se filtró en un embudo con lecho de algodón y se transfirió a un matraz de 100 mL, aforando con el mismo tampón. El extracto obtenido se centrifugó durante 30 minutos a 20.000x g en una centrífuga provista de refrigeración (Sorvall RC-5) a 5 °C. El sobrenadante que se obtuvo en el procedimiento se usó para determinar los IPT e IFC.

#### **4.1.5. Pardeamiento potencial (PP)**

Se utilizó el método descrito por Walter y Purcell (1980) modificado por Omuaru y col. (1990). El pardeamiento potencial se obtuvo por diferencia entre la lectura espectrofotométrica a 450 nm del extracto elaborado para la determinación del IPT e IFC, y la de un blanco obtenido de igual manera pero adicionando previamente 2 mL de  $\beta$ -mercaptoetanol (BME) al 10%.

#### **4.1.6. Determinación del contenido de proteínas y de la actividad enzimática.**

La medida de las actividades polifenol oxidasa (PPO) y peroxidasa (POD) se optimizó partiendo de un extracto enzimático común. Para ello, se tomaron 10g de material vegetal y se trituraron en un Polytron<sup>®</sup> con 60 mL de tampón fosfato (0,1M, pH=7) al que se le añadió TRITON X-100 al 1% (BDH Chemicals) y 0,5 g de Polivinilpirrolidona insoluble (PVP) (Sigma-Aldrich). El proceso se llevó a cabo en baño de hielo. El triturado se filtró y se centrifugó durante 30 minutos a 20.000x g a 5°C. El sobrenadante se usó para las determinaciones enzimáticas. Para cada repetición se prepararon dos extractos de cada variedad, uno de las brácteas externas y otro de las internas.

Para conocer el contenido de proteínas del extracto enzimático, se usó el método Bradford (1976). Esta técnica se basa en la unión covalente de un colorante, Azul de Coomassie G-250, a las proteínas.

La actividad PPO se determinó mediante el método espectrofotométrico propuesto por Gauillard y col. (1993), mientras que para la actividad POD se usó la metodología propuesta por Ferrer y col. (1990) modificada ligeramente.

#### **4.2. Determinación de la composición gaseosa de la atmósfera y de los metabolitos de la alcachofa**

La determinación de la tasa respiratoria y la producción de etileno de los corazones de alcachofa se determinó por CGL, mediante un cromatógrafo de gases Thermo Trace GC con software Thermo Chrom-Card.



*Fig. 4.2. Cromatógrafo de gases Thermo Trace GC*

#### **4.2.1. Determinación de la tasa respiratoria**

La tasa respiratoria se determinó introduciendo 200 g de corazones de alcachofa fresca en recipientes herméticos de vidrio provistos de septum para la toma periódica de muestras de gas. La atmósfera del interior de los envases se identificó mediante cromatografía gaseosa, utilizando una columna de doble relleno formado por un tamiz molecular/polímero poroso (Alltech) y un detector de conductividad térmica (TCD).

Una vez envasadas las muestras de corazones de alcachofa en los tarros descritos se conservaron a temperatura ambiente, tomando periódicamente (durante 72 h) muestras de la atmósfera en el espacio de cabeza, utilizando una jeringa para gases.

#### **4.2.2. Determinación de la producción de etileno**

El análisis se realizó en envases similares a los usados para la determinación de la tasa respiratoria, utilizando cromatografía gaseosa. Se utilizó una columna polimérica para la separación de hidrocarburos de 2m por 1/8", horno a temperatura ambiente, gas portador helio y detector TCD.

### **4.3. Procesado de alcachofa en IV Gama**

Los elaborados de alcachofa en IV Gama se desarrollaron a escala de laboratorio y posteriormente se escaló a nivel industrial, en la planta piloto de la empresa Alimer Sociedad Cooperativa, en el polígono industrial SAPRELORCA (Lorca, Murcia). En ambos casos las alcachofas de la variedad “Blanca de Tudela” se lavaron e higienizaron previamente a la eliminación de las brácteas externas. Los corazones, cuarteados o laminados se procesaron para su preparación en forma de IV Gama.

## **4.4. Control de los elaborados de alcachofa**

### **4.4.1. Análisis físico-químicos**

El control físico-químico de las barquetas de alcachofa en IV Gama se llevó a cabo durante más de 4 meses. Los análisis se realizaron por triplicado.

#### **4.4.1.1. Seguimiento de la atmósfera interior del envase**

El control rutinario de la composición gaseosa en el interior de los envases se realizó con un medidor de atmósfera Checkpoint (PBI-Dansensor) previamente calibrado. Este instrumento utiliza una tecnología diferente a la cromatografía; incorpora un detector

electroquímico para la determinación de oxígeno, y otro de infrarrojo para el dióxido de carbono; el nitrógeno se evalúa por diferencia de los dos gases anteriores con respecto al aire atmosférico. Este instrumento es lo suficientemente preciso para los estudios de la atmósfera modificada en los envases de tipo comercial, y presenta la ventaja de su portabilidad a diferencia de los cromatógrafos de gases. Para asegurar la fiabilidad de los resultados se realizaron periódicas calibraciones externas frente a los datos cromatográficos, además de la calibración interna propia del equipo.



Fig. 4.3. Medidor de atmósfera Checkpoint

#### 4.4.1.2. pH

El valor del pH se determinó potenciométricamente, utilizando un pH metro electrónico CRISON-GLP 21. Para obtener la muestra de medición, se prensaron suavemente 4 láminas de alcachofa de la barqueta, determinándose inmediatamente el pH en el líquido escurrido. El aparato se calibró antes de cada lectura con las soluciones tampón de pH 7 y pH 4 de CRISON.

#### 4.4.1.3. Ácido ascórbico

La determinación del ácido ascórbico en el jugo recién extraído de las láminas de alcachofa se realizó mediante un equipo Reflectoquant® (Merck), formado por un reflectómetro RQflex y unas tiras reactivas para la determinación del AA. El fundamento de la técnica está basado en la capacidad del ácido ascórbico para reducir el ácido molibdofosfórico (amarillo) a fosfomolibdeno (azul). El aparato mide por reflectancia el cambio de color de las tiras tras la reacción.



Fig. 4.4. Reflectómetro RQflex

#### 4.4.1.4. Sulfuroso libre

Para la determinación del SO<sub>2</sub> libre se usó el mismo equipo que para la determinación del AA, utilizando las tiras para la determinación de sulfuroso libre Reflectoquant® (Merck). En este caso, la reacción que se produce en la tira es la reacción de Boedeker. La muestra que contiene sulfitos (SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) libera SO<sub>2</sub> al acidificarla, que reacciona con pentaciano-nitrosil-ferrato (III), [Fe(CN)<sub>5</sub>NO]<sup>2-</sup> (nitroprusiato) dando una débil coloración roja debida al compuesto [Fe(CN)<sub>5</sub>NOSO<sub>3</sub>]<sup>4-</sup> que se determina reflectométricamente. La presencia de Zn<sup>2+</sup> (sulfato de cinc) y hexacianoferrato(II) de potasio aumentan la sensibilidad de la reacción.

#### 4.4.2. Análisis microbiológicos

Para este tipo de elaborados la normativa europea (CE) N° 2073/2005 modificada por (CE) N° 1441/2007 regula la presencia de los microorganismos: *E. coli*, *Salmonella* y *Listeria*. No obstante, se realizó un estudio más exhaustivo que además incluyó el recuento de aerobios mesófilos, psicrófilos, enterobacterias, coliformes totales, mohos y levaduras, y *Clostridium* sulfito-reductores. Dicho estudio se desarrolló durante más de cuatro meses para tener una panorámica total de la evolución de la carga microbiológica.

El trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de microbiología del Departamento de Química Agrícola, Geología y Edafología, provisto de los aparatos y materiales necesarios para garantizar las condiciones de esterilidad. Para mantener la asepsia durante el muestreo se desinfectó la superficie y el instrumental de trabajo; y se utilizó una campana de flujo laminar (Telstar AV-100) provista de un filtro HEPA (High Efficiency Particulate Air) capaz de retener partículas de tamaño  $\geq 0,3\mu\text{m}$ .

#### **4.5. Estimación de la vida útil microbiológica mediante modelización microbiana**

Para el ajuste de las curvas de crecimiento microbiológico se utilizó el modelo primario de Baranyi y Roberts (1994), utilizando el software DMFit 3.0. Los datos experimentales se introdujeron en el programa en forma de logaritmo decimal. Seguidamente se ajustaron al modelo, determinándose parámetros como el número inicial y final de células, duración de la fase de latencia, así como la tasa máxima de crecimiento. A partir de estos parámetros se procedió a estimar el tiempo de vida útil desde el punto de vista microbiológico mediante el modelo de Monod-Hinshelwood descrito por McMeekin y Ross (2002).

#### **4.6. Análisis estadísticos**

Para conocer la influencia del tipo de cultivar, tipo de brácteas y la campaña del cultivo sobre los parámetros de caracterización de la alcachofa se realizaron análisis de varianza ANOVA multifactorial de medidas independientes para cada parámetro analizado. Además, para valorar las diferencias entre cultivares dos a dos se realizó la prueba post-Hoc de Tukey. La evaluación de la relación entre las actividades enzimáticas polifenol oxidasa y peroxidasa de la alcachofa se llevó a cabo mediante una regresión lineal simple.

El análisis estadístico de las variables de control en los elaborados (pH, humedad, atmósfera, ácido ascórbico y análisis microbiológico) se llevó a cabo mediante un análisis ANOVA de dos factores.

El programa estadístico utilizado para llevar a cabo todos los análisis fue SYSTAT versión 12.0.



## **5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**



### **5.1. Estudio y caracterización de cultivares de alcachofa con alto potencial para exportación**

Con el fin de mejorar la producción y comercialización de la alcachofa, tanto para el consumo en fresco como para la destinada a industria, así como competir en el mercado Europeo, se están cultivando nuevas variedades de alcachofa que permiten la continuidad de los mercados sobre todo aquellos destinados a la exportación.

El estudio de las características físicas, químicas y bioquímicas de estos nuevos cultivares es necesario para poder seleccionar su destino: transformación agroindustrial o consumo en fresco.

Parámetros como el tamaño, color, textura, producción, susceptibilidad al pardeamiento, resistencia a las plagas, entre otros, son factores que dependiendo del genotipo, afectan a la calidad comercial y deben ser tenidos en cuenta a la hora de elegir una variedad determinada.

La parte experimental de la investigación estuvo condicionada por la estacionalidad del cultivo de alcachofa. De este modo, los estudios de productividad, técnicas agronómicas específicas y caracterización químico-física de los distintos cultivares se realizaron durante 3 campañas: 2010-2011, 2011-2012, y 2012-2013. En todas ellas, el material vegetal se plantó en el mes de julio.

Durante la primera campaña agrícola únicamente se utilizaron plantaciones preexistentes de los cultivares “Blanca de Tudela”, “Calicó” y “Thema”, ya que la plantación fue anterior al inicio de la investigación. Las alcachofas que se estudiaron en esta temporada fueron suministradas por el IMIDA al final de la campaña (abril-mayo). En la segunda y tercera campaña se pudo aumentar el estudio a un mayor número de cultivares, incorporando las variedades “Violeta de Provenza”, “Romanesco” y “Salambó” a las estudiadas en la campaña precedente. Los muestreos de la segunda campaña se realizaron durante la temporada completa, tres veces a lo largo del ciclo, mientras que en la campaña 2012-2013 el proyecto en el que estaba enmarcada la investigación terminó antes de completar la temporada, disponiéndose únicamente de un muestreo al comienzo de la producción de cada cultivar.

Los resultados obtenidos se compararon tomando como referencia la variedad “Blanca de Tudela”, la más ampliamente cultivada tradicionalmente en esta zona productora.

### **5.1.1. Aspectos agronómicos**

Previo a la plantación del material vegetal en las parcelas experimentales, se preparó el suelo de cultivo mediante labores profundas, para asegurar una buena permeabilidad y aireación que garantizara el agarre del máximo número de plantas. Además se realizó un abonado de fondo aportando estiércol, nitrógeno, fósforo y potasio, dependiendo del contenido de nutrientes inicial en los suelos de las distintas fincas. En general, y considerando el déficit de materia orgánica en los suelos del sureste de España, una aplicación de unas 50 t/ha de estiércol suele ser aconsejable.

La densidad de plantación fue de 10.000 plantas/ha, con un marco de 1x1 m, para “Blanca de Tudela”, “Thema” y “Violeta de Provenza”. Para el resto de los cultivares, por su mayor porte, la distancia entre plantas se aumentó, resultando una densidad de 7.000 plantas/ha.

El aporte de nutrientes durante el desarrollo del cultivo se realizó mediante fertirrigación, siendo variable la cantidad aplicada en función del estado fenológico. Así, durante el desarrollo vegetativo se aplicó una cantidad de 0,4-0,5 g/planta de nitrógeno, cantidad que se incrementó hasta 1,6-2,0 g/planta desde el inicio de la recolección. Todo ello supone un total de unos 200 kg/ha de nitrógeno, equivalente a unos 560 kg/ha de nitrato amónico comercial. Para el fósforo la cantidad aportada se incrementó también unas cuatro veces entre el inicio de la plantación y la recolección, con un aporte total de unos 180 kg/ha expresados como P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. En el caso del potasio la relación de aportes inicio/producción fue de hasta 6, con un aporte total en toda la campaña de 300 kg/ha expresados como K<sub>2</sub>O. Estos valores son similares a las recomendaciones de otros autores o empresas suministradoras (Rincón, 1996; Fertiberia ([www.fertiberia.es](http://www.fertiberia.es))).

El ajuste del gasto hídrico se llevó a cabo tomando como base el principio de eficiencia de riego, que considera las necesidades totales para este cultivo. Los datos meteorológicos tomados como referencia fueron los proporcionados por las estaciones

del Sistema de Información Agraria de Murcia (SIAM), seleccionándose aquellas más próximas a las plantaciones del proyecto.

Las necesidades brutas de riego ( $N_b$ ) es el cociente entre las necesidades netas de riego y la eficiencia de la aplicación del riego (Ec. 5.1).

$$Nb(mm) = \frac{[ET_0 \times K_c - \text{pluviometría}(mm)] \times K_m}{C_{Riego}} \quad (\text{Ec. 5.1})$$

Donde:

$ET_0$ , evapotranspiración de referencia del cultivo, es el sumatorio del agua que se evapora del suelo de cultivo y la transpiración de la propia planta.

$K_c$ : coeficiente de cultivo que permite calcular la evapotranspiración real.

Pluviometría: entrada de agua debida a la lluvia, medida en mm (obtenida de la estación del SIAM).

$K_m$  = Coeficiente de ajuste del riego

$C_{Riego}$  = Caudal efectivo del riego obtenido experimentalmente.

Los tratamientos fitosanitarios estuvieron encaminados al control de las principales plagas de la alcachofa: Barrenador de la alcachofa (*Gortyna xanthenes*), Pulguilla de la alcachofa (*Sphaeroderma rubidum*) y diversos tipos de pulgones como el pulgón verde de las hojas, pulgón negro, pulgón del cardo o pulgón de las raíces.

Las recolecciones se realizaron con una periodicidad de 10 días, aunque el comienzo fue variable en función de la precocidad de la variedad. La finalización también fue variable pero, en general, se terminó a finales de mayo.

La toma de datos agronómicos se efectuó cuando los capítulos alcanzaron el peso medio comercial; el sumatorio de datos a lo largo de toda la campaña permitió establecer el rendimiento de cada variedad.

Los datos de producción total de los cultivares estudiados en la primera y segunda campaña se muestran en la tabla 5.1.

*Tabla 5.1. Producción media de los cultivares de alcachofa durante la 1ª y 2ª campaña.*

<b>Variedad</b>	<b>Producción campaña 2010-2011 (kg/planta)</b>	<b>Producción campaña 2011-2012 (kg/planta)</b>
Blanca de Tudela	2,98	3,12
Calicó	3,10	4,23
Thema	4,26	4,80
Romanesco	-	4,57
Salambó	-	3,84

En la campaña finalizada en mayo de 2011, la tradicional “Blanca de Tudela” fue la de menor producción seguida por la variedad “Calicó”; mientras que el cultivar “Thema” presentó una excelente producción. Los rendimientos obtenidos en esta campaña para “Calicó” fueron bajos y, posiblemente, atribuibles al manejo de la plantación de una forma no bien controlada a lo largo de todo el ciclo en esta primera campaña.

La segunda campaña agrícola fue controlada estrictamente desde su implantación, y a lo largo de todo el ciclo productivo. Se estudiaron agrónomicamente los tres cultivares de la campaña anterior más las variedades “Salambó” y “Romanesco”. En esta segunda campaña se mejoraron los rendimientos por planta en las tres variedades estudiadas en la primera campaña.

“Blanca de Tudela”, aunque mejoró ligeramente el rendimiento, fue la menor producción por planta. No obstante, como el marco de plantación es menor, el rendimiento global no se diferenció notablemente respecto a los otros cultivares. En general, la producción total, en cualquiera de las variedades, fue superior a la que se suele obtener en cultivos comerciales. La justificación se atribuye al hecho de que se trata de parcelas experimentales no muy grandes, controladas estrictamente en todos aquellos factores que pueden incidir en la producción.

La producción de “Calicó” mejoro notablemente, alcanzando resultados claramente superiores a los de la primera campaña. Los cultivares “Salambó” y “Romanesco” también mostraron buenos rendimientos.

A la vista de los resultados agronómicos, los cultivares “Calicó”, “Thema” y “Romanesco” mostraron muy buena adaptación a las condiciones edafoclimáticas de la zona de producción demostrando, además, la adecuada optimización de las técnicas de cultivo desarrolladas.

### 5.1.2. Humedad de las brácteas

Se analizó la humedad de las brácteas externas, parámetro responsable del aspecto fresco y de la textura del conjunto del capítulo, así como de las brácteas internas correspondientes a los corazones, que se relaciona con la terneza de la parte comestible. Para ello, previamente se separaron las brácteas exteriores de las interiores del capítulo (fig. 5.1). Se pesaron 15g de brácteas de alcachofa en una placa de Petri previamente desecada y tarada. Seguidamente, la muestra se secó en estufa (JP Selecta, Barcelona, España) a una temperatura de  $103 \pm 1^\circ\text{C}$  durante aproximadamente 16h, hasta peso constante. Se realizaron tres repeticiones por muestra.

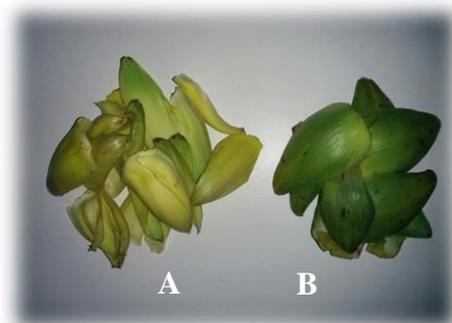


Fig. 5.1. Separación de las brácteas internas (A) y externas de la alcachofa (B)

La humedad expresada en porcentaje, fue igual a:

$$H(\%) = \frac{M_2 - M_1}{M_2 - M} \times 100 \quad (\text{Ec. 5.2})$$

Donde  $M_2$  es la masa de la placa con la muestra (g),  $M_1$  la masa de la placa con la muestra desecada (g) y  $M$  la masa de la placa vacía (g).

La figura 5.2 muestra los valores medios de humedad de las variedades estudiadas durante la primera campaña agrícola.

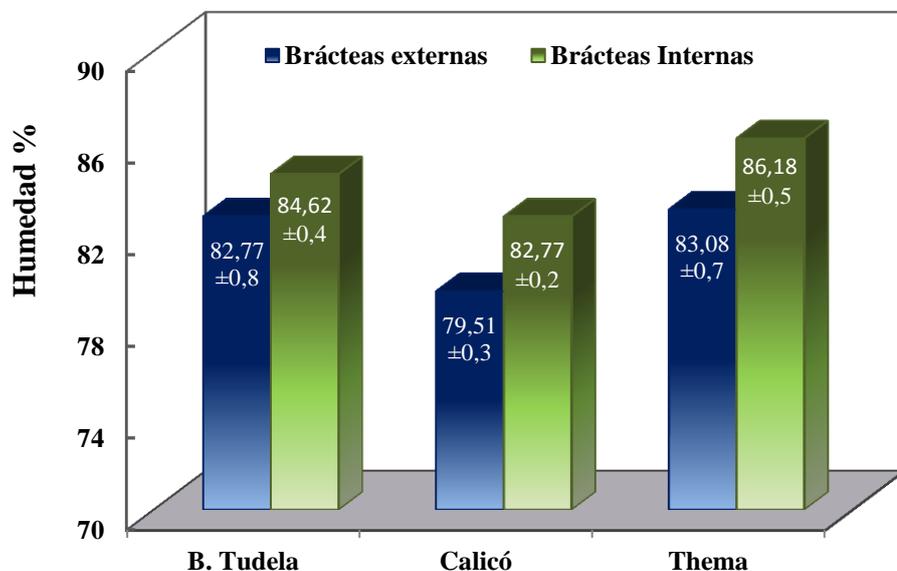


Fig. 5.2. Humedad media de las brácteas externas e internas de los cultivares estudiados en la 1ª campaña.

Las brácteas externas, más coriáceas y expuestas al sol presentaron menor humedad, en torno al 82 %. El cultivar “Calicó” fue el de menor contenido hídrico, aunque las diferencias con los otros dos cultivares no fueron significativas. Los valores calculados para “Blanca de Tudela” y “Thema” fueron muy similares.

En el caso de las brácteas internas, el cultivar “Thema” fue el de mayor terneza respecto “Blanca de Tudela” y “Calicó”.

Las figuras 5.3 y 5.4 muestran los datos correspondientes a la humedad de las brácteas en la 2ª y 3ª campañas.

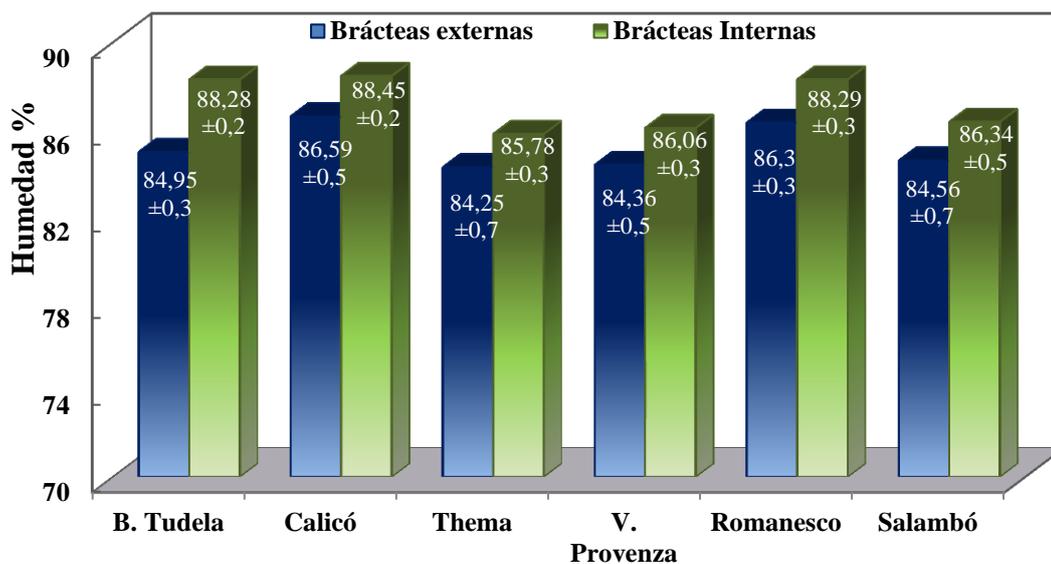


Fig. 5.3. Humedad media de las brácteas externas e internas de los cultivares estudiados en la 2ª campaña.

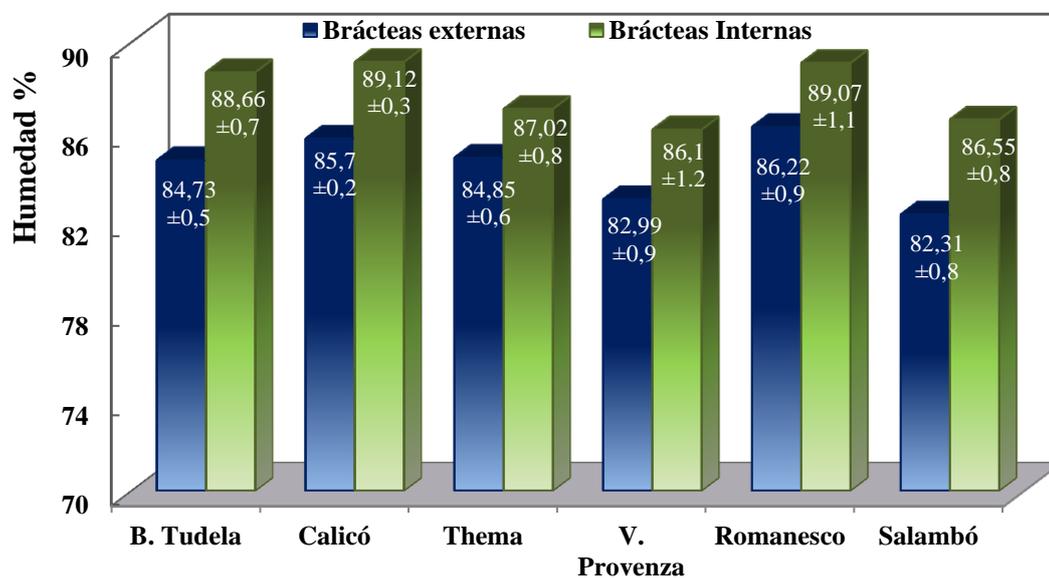


Fig. 5.4. Humedad media de los cultivares de la 3ª campaña.

En la segunda y tercera campaña al igual que en la primera, las brácteas externas fueron menos húmedas y más coriáceas que las brácteas internas. Las humedades de las brácteas externas e internas de los cultivares “Blanca de Tudela”, “Thema” y “Calicó” fueron significativamente más altas que en el primer año de cultivo. Atribuimos estos datos a la circunstancia de que en el primer año los muestreos se realizaron hacia la mitad-fin de la campaña, con temperaturas más elevadas; mientras que los datos aportados para la segunda campaña corresponden a la media de los muestreos realizados a lo largo de toda la campaña. Los datos de contenido hídrico de las brácteas de los cultivares de la tercera campaña correspondieron a la cosecha de febrero.

De los nuevos cultivares estudiados, destaca la humedad de “Romanesco” y “Calicó”, especialmente en las brácteas internas. “Violeta de Provenza”, “Thema” y “Salambó” tuvieron un comportamiento similar respecto a este parámetro, con brácteas menos húmedas que “Blanca de Tudela”, cultivar de referencia.

La tabla 5.2 resume dos análisis estadísticos: un análisis de varianza de los cultivares “Blanca de Tudela”, “Thema” y “Calicó” para las tres campañas de estudio y otro realizado para el total de los cultivares estudiados durante la segunda y tercera campaña.

El p-valor de 0,000 obtenido para el efecto de las brácteas en ambos análisis de varianza muestra claras diferencias entre la humedad media de las brácteas externas (83-84%) y las brácteas internas (87%). No se evidencian variaciones de humedad significativas entre la segunda y tercera campaña (p-valor=0,904), mientras que si se encontraron diferencias entre éstas dos y la primera (letras diferentes en la prueba post-Hoc de Tuckey).

El efecto del tipo de cultivar únicamente tuvo relevancia cuando se analizaron el conjunto de todos los cultivares, mostrando diferencias significativas entre dos grupos de variedades: “Violeta de Provenza”, “Thema” y “Salambó”, por un lado, y “Blanca de Tudela”, “Romanesco” y “Calicó”, por otro. Sin embargo, cuando se comparan las humedades entre cultivares dos a dos, mediante la prueba Tukey, no existen diferencias detectables entre variedades debido a que esta prueba es demasiado conservadora, y no muestra diferencias reales si éstas no son excesivamente grandes.

Tabla 5.2. Resultados ANOVA para el efecto de los cultivares, tipo de brácteas y nº de campañas y su interacción sobre la humedad

Variables	Niveles						p-valor
<b>Cultivares (A)</b>	B.Tudela <sup>a</sup>		Calicó <sup>a</sup>		Thema <sup>a</sup>		0,606
<b>Brácteas (B)</b>	Externas <sup>a</sup>			Internas <sup>b</sup>			0,000
<b>Campañas (C)</b>	Primera <sup>a</sup>		Segunda <sup>b</sup>		Tercera <sup>b</sup>		0,000
<b>A x B</b>							0,706
<b>B x C</b>							0,628
<b>A x C</b>							0,001
<b>A x B x C</b>							0,613
<b>Cultivares (A)</b>	B.T. <sup>a</sup>	Calicó <sup>a</sup>	Thema <sup>a</sup>	Romanesco <sup>a</sup>	V.P. <sup>a</sup>	Salambó <sup>a</sup>	0,047
<b>Brácteas (B)</b>	Externas <sup>a</sup>			Internas <sup>b</sup>			0,000
<b>Campañas (C)</b>	Segunda <sup>b</sup>			Tercera <sup>b</sup>			0,904
<b>A x B</b>							0,971
<b>B x C</b>							0,309
<b>A x C</b>							0,949
<b>A x B x C</b>							0,998

\*Un p-valor igual o menor a 0,05 indica que existen diferencias significativas (IC=95%). \*Letras diferentes como exponente muestran diferencias significativas según la prueba comparativa de Tukey.

### 5.1.3. Color objetivo

El color es un factor fundamental en la caracterización de un producto, ya que es un indicador directo de la calidad, relacionado con las propiedades sensoriales (sabor y aroma) y la composición química del alimento. En las frutas y hortalizas procesos como la maduración, degradación de la clorofila y el pardeamiento se manifiestan con cambios sobre este atributo.

En el caso de un producto vegetal como la alcachofa, además de servir como carácter identificador, el color externo de las brácteas es un parámetro asociado por el consumidor a la variedad y estado de frescura de los capítulos. También se determina para definir la idoneidad de un cultivar para el procesado tradicional en forma de corazones, donde solo se utilizan las brácteas internas.

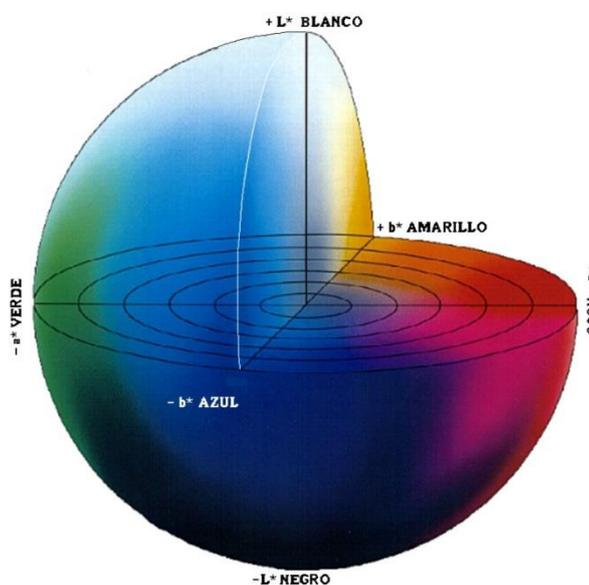


Fig. 5.5. Espacio de color CIELab

En la investigación, el color se definió en el espacio CIELab (CIE, 1976), que deriva del espacio máster CIE 1931 XYZ relacionado con la distribución espectral de la radiación. Las coordenadas  $L^*$  (claridad),  $a^*$  (tonalidad rojo-verde) y  $b^*$  (tonalidad amarillo-azul), se obtienen en base a una transformación tipo raíz cúbica de los valores triestimulares  $X, Y, Z$ . El ángulo del observador y el iluminante utilizado debe ser definido.

El color de los capítulos de alcachofa íntegros (brácteas externas), y el de las brácteas internas (corazones) se definió utilizando un espectrofotómetro CM-508i (Minolta Camera Co., Japan), con ángulo de observador de  $2^\circ$  e iluminante C (temperatura de color 6774K). Se tomó la lectura en cuatro puntos alrededor del capítulo de alcachofa, con tres medidas sucesivas en cada punto. El resultado es, por lo tanto, la media de 12

lecturas por capítulo. Se realizaron 7 repeticiones (7 diferentes capítulos) por cada variedad.

Los resultados obtenidos durante las tres campañas de análisis se muestran en las tablas siguientes:

*Tabla 5.3. Color del capítulo íntegro y del corazón de los cultivares muestreados durante la campaña 2010-2011*

CULTIVAR	COORDENADAS DE COLOR (Valor CIELab $\pm$ sd)					
	Brácteas externas			Brácteas internas		
	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$L^*$	$a^*$	$b^*$
<b>B. Tudela</b>	54,49 $\pm$ 2,34	-6,34 $\pm$ 0,50	23,57 $\pm$ 1,55	68,56 $\pm$ 3,52	-7,60 $\pm$ 1,11	34,41 $\pm$ 2,36
<b>Calicó</b>	56,16 $\pm$ 2,39	-6,24 $\pm$ 0,63	23,08 $\pm$ 1,55	65,01 $\pm$ 3,45	-7,75 $\pm$ 0,85	29,23 $\pm$ 2,79
<b>Thema</b>	32,53 $\pm$ 3,14	3,45 $\pm$ 2,05	5,72 $\pm$ 3,57	47,15 $\pm$ 5,80	10,31 $\pm$ 4,04	16,29 $\pm$ 5,16

*Tabla 5.4. Color del capítulo íntegro y del corazón de los cultivares muestreados durante la campaña 2011-2012*

CULTIVAR	COORDENADAS DE COLOR (Valor CIELab $\pm$ sd)					
	Brácteas externas			Brácteas internas		
	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$L^*$	$a^*$	$b^*$
<b>B. Tudela</b>	49,93 $\pm$ 2,44	-7,22 $\pm$ 0,72	24,29 $\pm$ 2,81	60,36 $\pm$ 3,82	-9,58 $\pm$ 0,65	33,52 $\pm$ 2,89
<b>Thema</b>	34,1 $\pm$ 2,57	3,12 $\pm$ 1,98	4,81 $\pm$ 3,03	48,12 $\pm$ 3,24	9,76 $\pm$ 2,02	15,18 $\pm$ 3,12
<b>Violeta Pro.</b>	48,12 $\pm$ 3,95	-3,53 $\pm$ 0,38	19,93 $\pm$ 2,15	54,16 $\pm$ 1,80	5,65 $\pm$ 0,45	21,14 $\pm$ 1,29
<b>Romanesco</b>	34,98 $\pm$ 1,43	4,23 $\pm$ 0,87	7,12 $\pm$ 2,22	51,34 $\pm$ 9,52	6,82 $\pm$ 2,61	19,31 $\pm$ 7,64
<b>Calicó</b>	56,20 $\pm$ 1,42	-6,19 $\pm$ 0,67	28,52 $\pm$ 1,23	66,18 $\pm$ 1,28	-7,03 $\pm$ 0,53	29,22 $\pm$ 0,22
<b>Salambó</b>	36,74 $\pm$ 2,81	7,83 $\pm$ 0,98	8,51 $\pm$ 0,37	36,79 $\pm$ 0,92	12,39 $\pm$ 2,00	7,33 $\pm$ 1,11

Tabla 5.5. Color del capítulo íntegro y del corazón de los cultivares muestreados durante la campaña 2012-2013

CULTIVAR	COORDENADAS DE COLOR (Valor CIELab $\pm$ sd)					
	Brácteas externas			Brácteas internas		
	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$L^*$	$a^*$	$b^*$
<b>B. Tudela</b>	52,01 $\pm$ 2,14	-6,48 $\pm$ 0,62	23,33 $\pm$ 2,65	64,49 $\pm$ 3,94	-8,29 $\pm$ 0,83	32,98 $\pm$ 2,11
<b>Thema</b>	33,9 $\pm$ 2,07	3,32 $\pm$ 1,68	5,11 $\pm$ 2,03	48,02 $\pm$ 3,14	9,16 $\pm$ 2,22	15,48 $\pm$ 2,82
<b>Violeta Pro.</b>	45,56 $\pm$ 4,08	3,04 $\pm$ 1,58	11,27 $\pm$ 3,45	56,13 $\pm$ 4,21	-0,85 $\pm$ 2,46	20,55 $\pm$ 3,79
<b>Romanesco</b>	43,00 $\pm$ 3,99	7,03 $\pm$ 0,74	12,28 $\pm$ 3,78	49,19 $\pm$ 4,70	8,37 $\pm$ 2,21	14,92 $\pm$ 4,11
<b>Calicó</b>	56,10 $\pm$ 1,32	-6,29 $\pm$ 0,61	25,32 $\pm$ 2,23	66,01 $\pm$ 1,08	-7,43 $\pm$ 0,55	29,19 $\pm$ 0,12
<b>Salambó</b>	35,74 $\pm$ 2,91	7,93 $\pm$ 1,18	7,91 $\pm$ 0,67	36,89 $\pm$ 0,95	12,89 $\pm$ 2,10	7,73 $\pm$ 1,41

Entre las variedades de color verde nítido en las brácteas externas (“blancas”), “Blanca de Tudela” y “Calicó” fueron las únicas que no presentaron pigmentación violácea en estas brácteas. Ello se traduce en una luminosidad o claridad (coordenada  $L^*$ ) superior a 50 y con pequeña desviación estándar; los valores de  $a^*$  ligeramente negativos implican tonos verdes muy claros y uniformes; mientras que los valores de  $b^*$  marcadamente positivos (amarillos), justifican la ausencia de tonos violáceos. La reproducibilidad en las tres campañas estudiadas fue muy buena en “Calicó”. Es preciso considerar que la producción de esta variedad es tardía por lo que pudo muestrearse a lo largo de las dos primeras campañas y principio de la tercera.

En el cultivar “Blanca de Tudela” se observó una dispersión de valores ligeramente superiores, aunque sin diferencias significativas. Ello lo atribuimos al hecho de que en la primera campaña la producción estaba muy avanzada, mientras que en la tercera solo se pudo analizar la producción temprana. Por ello, los valores más significativos pueden ser los medidos en la segunda campaña.

Las variedades “violetas”, “Violeta de Provenza”, “Thema”, “Romanesco” y “Salambó”, se caracterizan por ser variedades más oscuras (menor valor de  $L^*$ ), sobre todo los tres últimos cultivares anteriormente mencionados.

El valor más elevado en la coordenada  $a^*$  en estas variedades está relacionado con la pigmentación violácea (ausencia de verde). “Romanesco”, “Thema” y “Salambó” mostraron los valores más elevados para esta coordenada, mientras que “Violeta de Provenza” mostró algunos tonos verdosos y una mayor variabilidad respecto a las campañas de estudio. Estas diferencias se pueden atribuir a que la segunda campaña se pudo muestrear íntegra y con un mayor número de alcachofas; mientras que en la tercera campaña únicamente se analizaron las de producción precoz. “Thema” muestra una desviación estándar más elevada en esta coordenada, lo que implica falta de uniformidad del color alrededor del capítulo.

Los valores de  $b^*$  para estos cultivares fueron mucho menores que para las variedades “blancas”, hecho que justifica la presencia de tonos azulados.

En cuanto a las brácteas internas, las diferencias también fueron muy marcadas. Los cultivares “Blanca de Tudela” y “Calicó” fueron los que presentaron mayor luminosidad ( $L^*$  elevada), seguido de “Violeta de Provenza” y “Romanesco”. “Thema” y “Salambó” presentaron los corazones más oscuros. Los valores positivos más elevados en la coordenada  $b^*$  (amarillo), junto a bajos valores de  $a^*$  (incluso negativos) implican un color visual amarillo-verdoso pálido, muy adecuado para la elaboración tradicional de corazones, o para IV Gama. En este sentido, “Blanca de Tudela” y “Calicó” son las más adecuadas. “Violeta de Provenza” y “Romanesco” presentan un aspecto intermedio; mientras que “Thema” y “Salambó” serían las menos adecuadas ya que presentan tonos violáceos, a no ser que se buscara expresamente ese aspecto.

Las diferencias encontradas en los parámetros CIELab según la variedad de alcachofa y su interacción con el tipo de brácteas (A x B) son significativas, mostrando un p-valor  $\leq 0,05$  (tabla 5.6). Los análisis de varianza de los resultados también concluyen que existen claras desigualdades para los valores globales de  $a^*$ ,  $b^*$  y  $L^*$  según el tipo de cultivar (A), el tipo de brácteas (B) y el año de campaña (C). Además hay variaciones

significativas en los valores de las coordenadas CIELab para la interacción de los cultivares con el año de análisis (A x C).

Los resultados obtenidos para el color de las brácteas externas e internas de las variedades “Thema”, “Violeta de Provenza” y “Romanesco”, son similares a los colores descritos por Lombardo y col. (2010) para dichos cultivares. Según estos autores las brácteas externas de “Thema” son de color morado oscuro, mientras que las internas son amarillas con tonos morados. El color del capítulo de “Romanesco” es violáceo con tonos verdosos, con un corazón amarillo-verdoso con algunas manchas violáceas. El color externo de “Violeta de Provenza” es similar al de “Romanesco”, con brácteas internas amarillas con leve tono violáceo.

Globalmente podemos concluir que los cultivares “Violeta de Provenza”, “Romanesco” y “Salambó” son aptos para los mercados que buscan y aprecian la alcachofa violeta; tal es el caso de Francia e Italia. La variedad “Thema” también presenta buenas perspectivas para el mercado exterior, y también para el nacional, considerando las dimensiones de sus capítulos. Las variedades “blancas” por excelencia son “Blanca de Tudela” y “Calicó”. Esta última es muy apreciada en el mercado francés por su gran tamaño ( $600\pm 70$  g), y se utiliza para platos a base de rellenos.

Para la preparación en IV Gama podría conseguirse una amplia diversidad de preparados diferenciados por el color y tamaño. “Blanca de Tudela” ( $\sim 170\pm 20$  g) y “Thema” ( $\sim 190\pm 30$  g), por su menor tamaño pueden prepararse en forma de corazones enteros o mitades. Los cultivares de tamaño de capítulos grande admiten una buena presentación en forma de laminados.

Tabla 5.6. Resultados ANOVA para el efecto de los cultivares, tipo de brácteas y n° de campañas y su interacción sobre las coordenadas CIELab.

Variables	Niveles						p-valor		
							L*	a*	b*
<b>Cultivares (A)</b>	B.Tudela <sup>a</sup>		Calicó <sup>b</sup>		Thema <sup>c</sup>		0,000	0,000	0,000
<b>Brácteas (B)</b>	Externas <sup>a</sup>			Internas <sup>b</sup>			0,000	0,000	0,000
<b>Campañas (C)</b>	Primera <sup>a1 a2</sup>		Segunda <sup>b1 a2</sup>		Tercera <sup>ab1 a2</sup>		0,003 <sup>1</sup>	0,033 <sup>1</sup>	0,059 <sup>2</sup>
<b>A x B</b>							0,000	0,000	0,000
<b>B x C</b>							0,459	0,584	0,000
<b>A x C</b>							0,000	0,001	0,000
<b>A x B x C</b>							0,260	0,259	0,009
<b>Cultivares (A)</b>	B.T. a1 a2 a3	Cal. b1 a2 b3	Them. c1 b2 c3	Rom. c1 c2 d3	V.P. d1 d2 e3	Salam. e1 e2 f3	0,000 <sup>3</sup>	0,000 <sup>1</sup>	0,000 <sup>2</sup>
<b>Brácteas (B)</b>	Externas <sup>a</sup>			Internas <sup>b</sup>			0,000	0,000	0,000
<b>Campañas (C)</b>	Segunda <sup>a</sup>			Tercera <sup>b</sup>			0,008	0,000	0,000
<b>A x B</b>							0,000	0,000	0,000
<b>B x C</b>							0,520	0,000	0,233
<b>A x C</b>							0,000	0,000	0,000
<b>A x B x C</b>							0,000	0,000	0,000

\*Un p-valor igual o menor a 0,05 indica que existen diferencias significativas (IC=95%). \*Letras diferentes como exponente muestran diferencias significativas según la prueba comparativa de Tukey.

#### **5.1.4. Determinación de la estabilidad oxidativa de la alcachofa**

El pardeamiento enzimático es el fenómeno de deterioro que afecta en mayor manera a la estabilidad de la alcachofa, sobre todo durante su manipulación. Este proceso degradativo no solo reduce la calidad de esta hortaliza, sino que es el factor limitante para la comercialización de productos IV Gama. Por ello, determinar la susceptibilidad de pardeamiento de los nuevos cultivares de alcachofa es importante para establecer si son adecuados para la comercialización en fresco o la transformación industrial.

Como se ha comentado en capítulos anteriores, los principales factores que influyen sobre las reacciones de pardeamiento enzimático son los compuestos fenólicos susceptibles de ser oxidados, y las actividades enzimáticas necesarias para que ocurra el proceso. En ocasiones, parte del pardeamiento es de carácter no enzimático y se atribuye a la autooxidación de los compuestos fenólicos no susceptibles a la oxidación enzimática.

Por este motivo, la estabilidad de la alcachofa se determinó en base al proceso de pardeamiento, evaluando el contenido fenólico, la actividad de las enzimas que intervienen en las reacciones de oxidación enzimática (PPO y POD), y la influencia de dichas enzimas sobre la oxidación fenólica mediante la determinación del Pardeamiento Potencial.

##### **5.1.4.1. Contenido fenólico**

Los compuestos de tipo polifenólico que presentan una estructura de tipo orto-difenol libre son sustratos directos para el pardeamiento enzimático catalizado por PPO, cuando ésta expresa la actividad catecolasa. También los restos de tipo monofenol pueden contribuir al pardeado cuando la enzima es capaz de expresar también la actividad cresolasa. Por ello la medida del contenido fenólico total informa sobre la capacidad de oxidación de ambos tipos de compuestos durante su manipulación.

El estudio del contenido fenólico en los cultivares de alcachofa se llevó a cabo mediante la determinación del índice de polifenoles totales y el índice de Folin-Ciocalteu.

#### 5.1.4.1.1. Índice de polifenoles totales (IPT)

Este índice está relacionado con el contenido fenólico total del material estudiado. El fundamento de la técnica analítica se basa en la medida de la absorbancia a 280 nm, ya que todos los compuestos fenólicos presentan un máximo de absorbancia característico a esta longitud de onda, debido al anillo resonante del benceno (Blouin, 1992). Pero no solo los compuestos fenólicos absorben a esa longitud de onda, sino que la mayoría de proteínas presentan un máximo de absorbancia a 280 nm, debido a la presencia de aminoácidos aromáticos (tirosina, triptofano y fenilalanina).

La determinación del IPT en los extractos de las brácteas (capítulo 3.1.4) se realizó midiendo la absorbancia a 280 nm, en cubetas de cuarzo de 1 cm, utilizando un espectrofotómetro UV-V (Genesys 6, Thermo Co. Madison, USA). El extracto de alcachofa se diluyó 25 veces con agua destilada.

$$IPT = \frac{A_{280nm} \times f}{g_{Brácteas}} \quad (Ec. 5.3)$$

Donde  $A_{280nm}$  es el valor de la absorbancia a una longitud de onda de 280 nm,  $f$  es el factor de dilución y  $g_{Brácteas}$  son los gramos de brácteas utilizados para elaborar el extracto.

En los siguientes gráficos las columnas representan los valores medios del IPT con sus respectivas desviaciones estándar para las diferentes variedades de alcachofa.

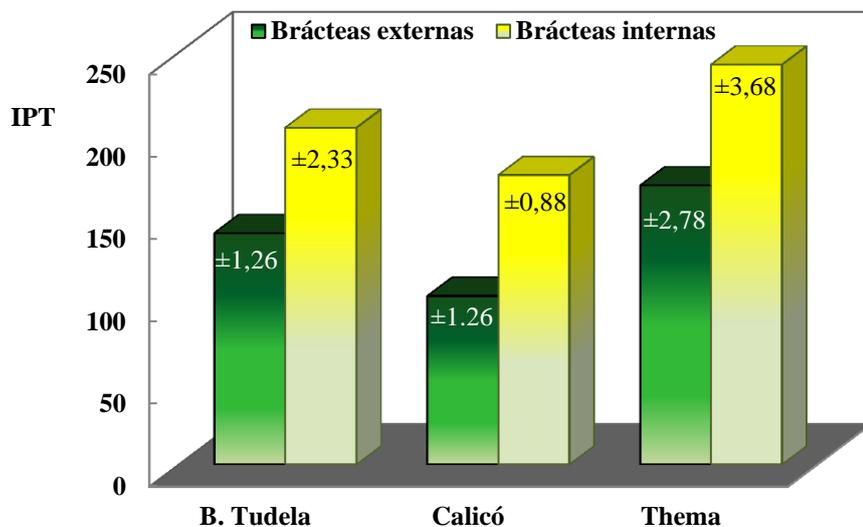


Fig. 5.6. Índice de Polifenoles Totales para la campaña 2010-2011

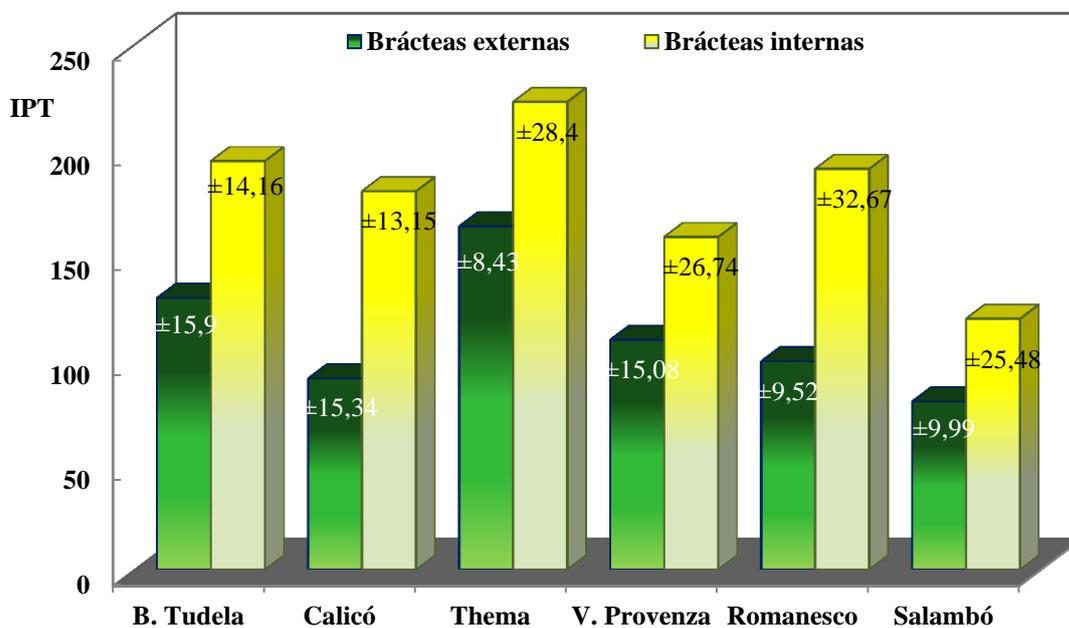


Fig. 5.7. Índice de Polifenoles Totales para la campaña 2011-2012

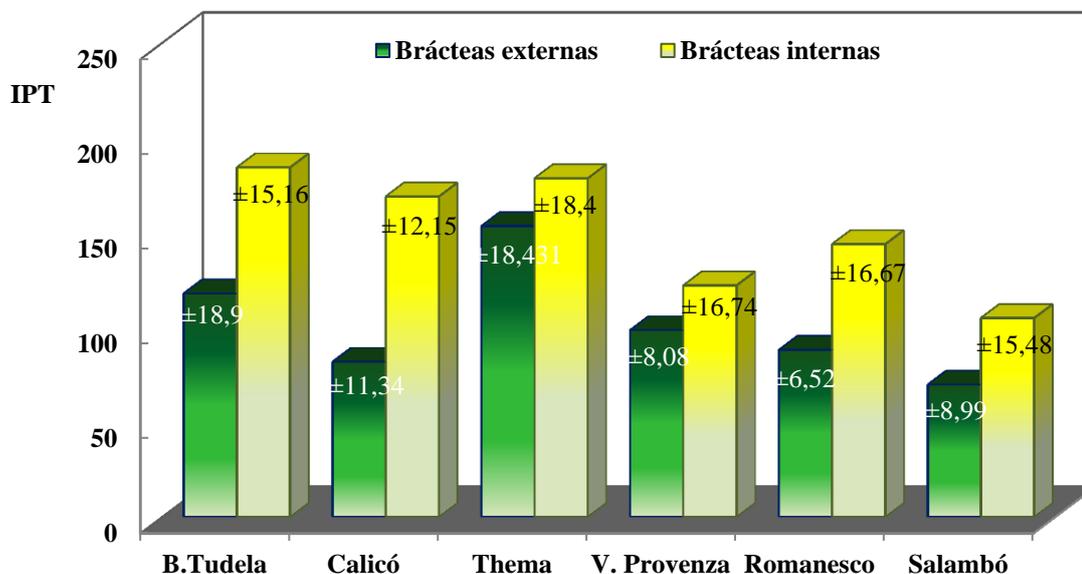


Fig. 5.8. Índice de Polifenoles Totales para la campaña 2012-2013

Los resultados obtenidos para la segunda campaña son los más significativos, ya que las variedades se muestrearon a lo largo de todo el ciclo productivo; aun así, se muestran los datos obtenidos para el primer y tercer año de cultivo para compararlos y evaluar las diferencias encontradas.

El contenido fenólico total, con independencia del genotipo, fue significativamente más bajo en las brácteas externas que realizan metabolismo primario, comparado con los de las brácteas internas en las que prácticamente no existe este metabolismo, aunque sí el secundario que conduce, entre otros, a la síntesis de fenoles (p-valor= 0,000) (tabla 5.7). Estos resultados coinciden con los estudios realizados por varios autores como Gil-Izquierdo y col. (2001); Fratianni y col. (2007) y Lombardo y col. (2010), en los que se confirma la acumulación preferente de los compuestos fenólicos en las brácteas internas de la cachofa.

En la tabla 5.7 se muestran las diferencias encontradas en el IPT para las variedades estudiadas, sin tener en cuenta el tipo de brácteas ni la campaña de estudio. Tanto para el análisis de varianza de las variedades “Blanca de Tudela”, “Calicó” y “Thema”, como

para el ANOVA de todas las variedades, el p-valor calculado es inferior a 0,05, lo que concluye que existen diferencias significativas en el IPT de los cultivares estudiados. Esta variación encontrada en la composición fenólica en función de la variedad de alcachofa también ha sido reportada por autores como Fratianni y col. (2007), Cabezas-Serrano y col. (2009), Lombardo y col. (2010) y Cefola y col. (2012).

Entre las variedades “blancas”, “Calicó” presentó menor IPT que “Blanca de Tudela”. La variedad “Salambó” fue la de menor índice tanto en las brácteas externas como en las internas, mientras que “Thema” fue la de mayor IPT. Otros cultivares violetas como “Romanesco” y “Salambó” mostraron valores muy moderados, incluso por debajo de “Blanca de Tudela”.

Se encontraron diferencias importantes en el IPT según el año de campaña (p-valor =0,000). La producción del año 2010-2011 presentó el mayor contenido fenólico, seguida de la campaña 2011-2012; mientras que la última campaña fue la de menor IPT. Estos resultados se deben a la influencia que ejercen variables como la luz o la temperatura en la síntesis fenólica.

Como se comentó al principio del capítulo, las variedades de la primera campaña se recolectaron a finales de año (abril-mayo), con temperaturas más elevadas, mientras que las de la última campaña se obtuvieron a principios de año, con temperaturas bajas. La segunda campaña presenta un IPT intermedio debido a que el estudio se realizó a lo largo de todo el año. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Lombardo y col. (2010) para el cultivar “Romanesco”, y Todaro y col. (2010) para “Violeta de Provenza” y “Thema”, en el que el contenido fenólico de las variedades recolectadas en los meses primaverales fue mayor que las cosechadas en los meses de invierno.

#### 5.1.4.1.2. Índice de Folin-Ciocalteu (IFC)

Se trata de un ensayo espectrofotométrico que se fundamenta en la capacidad del reactivo Folin-Ciocalteu de oxidar a los fenoles presentes en una muestra. Este método es mucho más específico para los compuestos fenólicos que el IPT, ya que el reactivo es selectivo a estos compuestos. Actualmente se usa el método modificado por Singleton y Rossi (1965), que usa como reactivo un heteropolianión fosfórico de molibdeno y wolframio ( $3\text{H}_2\text{O}-\text{P}_2\text{O}_5-13\text{WO}_3-5\text{MoO}_3-10\text{H}_2\text{O}$  y  $3\text{H}_2\text{O}-\text{P}_2\text{O}_5-14\text{WO}_3-4\text{MoO}_3-10\text{H}_2\text{O}$ ) que, a pH básico, oxida los fenoles con una gran especificidad formando óxidos cromógenos de color azul intenso de tungsteno ( $\text{W}_8\text{O}_{23}$ ) y de molibdeno ( $\text{Mo}_8\text{O}_{23}$ ). Estos óxidos presentan un máximo de absorción a 750 nm que se cuantifica por espectrofotometría UV-V. La intensidad de color desarrollada es proporcional al número de grupos hidroxilo de los fenoles.

Para determinar el IFC en los extractos de alcachofa se introdujeron en un matraz aforado de 100 mL, y respetando el orden, 4 mL de extracto, 50 mL de agua destilada, 5 mL de reactivo Folin- Ciocalteu (Panreac, Barcelona, España) y 20 mL de solución de carbonato sódico al 20% (p/v), enrasando finalmente a 100 mL. Se agitó el matraz para homogeneizar y se dejó 30 minutos en la oscuridad para estabilizar la reacción. Por último se midió la absorbancia a 750 nm utilizando una cubeta de cuarzo de 1 cm de camino óptico frente a un blanco preparado con agua destilada. Mediante la siguiente ecuación se determinó el índice Folin-Ciocalteu:

$$IFC = \frac{A_{750} \times f}{g_{\text{Brácteas}}} \quad (\text{Ec. 5.4})$$

Donde  $A_{750\text{nm}}$  corresponde al valor de la absorbancia a una longitud de onda de 750 nm,  $f$  es el factor de dilución y  $g_{\text{Brácteas}}$  son los gramos de brácteas utilizados para elaborar el extracto.

En las siguientes figuras se muestran los valores para el IFC de los cultivares estudiados y sus respectivas desviaciones estándar.

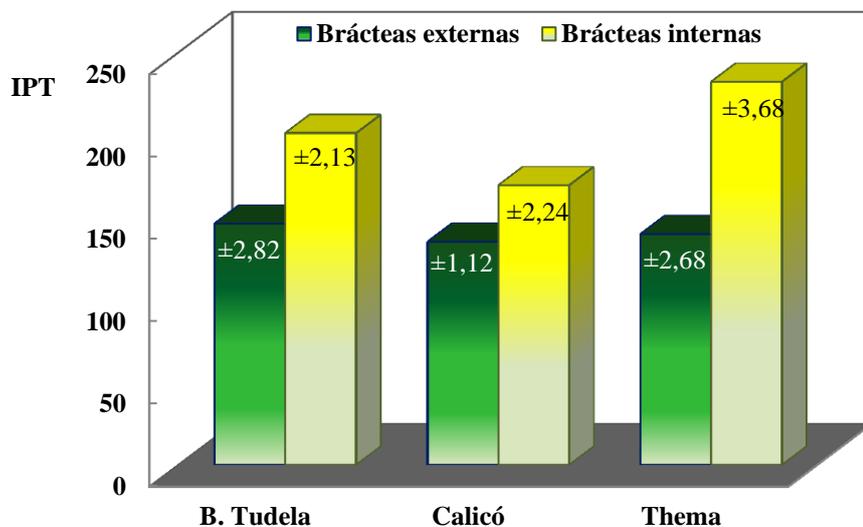


Fig. 5.9. Índice de Folin-Ciocalteu en las brácteas de alcachofa de la campaña 2010-2011

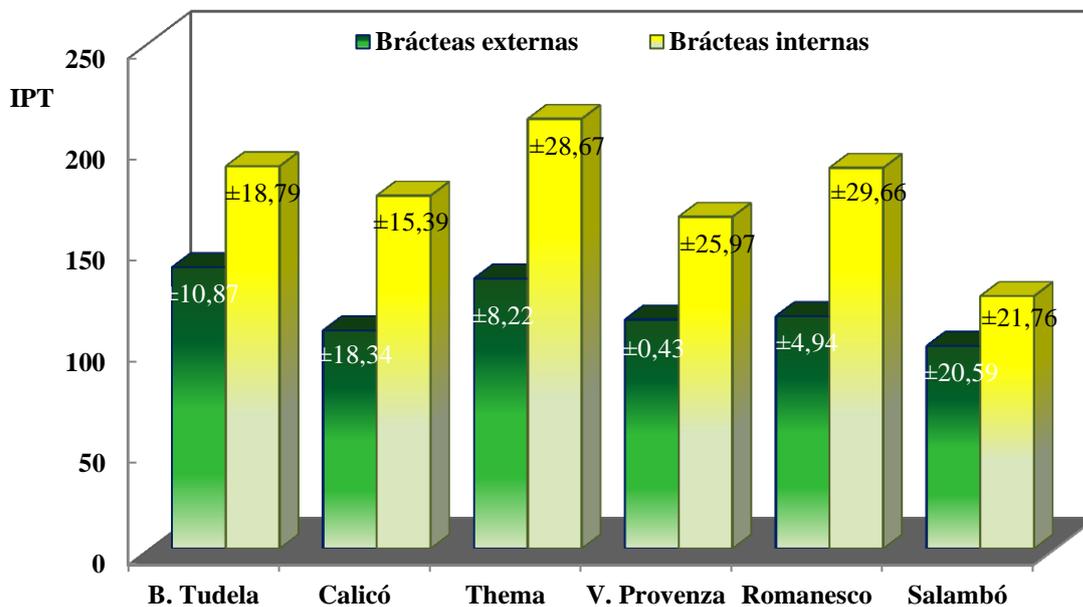


Fig. 5.10. Índice de Folin-Ciocalteu para la campaña 2011-2012

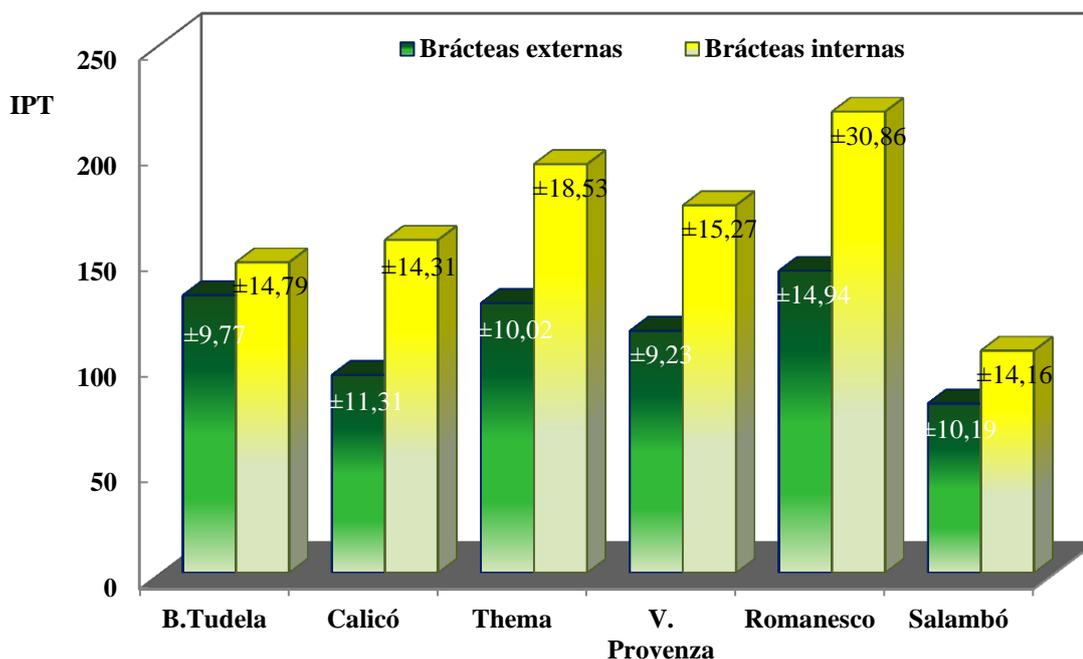


Fig. 5.11. Índice de Folin-Ciocalteu para la campaña 2012-2013

Al igual que se discutió para el IPT, el número de datos obtenidos para cada cultivar varía en función de la campaña. Esto es, en la primera campaña solo se muestreó al final de la misma, y en la tercera al comienzo. Por todo ello consideramos que los datos referentes a la segunda campaña (2011-2012) pueden ajustarse con más precisión a la realidad de cada cultivo. No obstante, las tendencias dentro de cada cultivar se mantienen.

Los resultados obtenidos para el IFC ratifican la mayoría de las diferencias encontradas en el contenido fenólico calculado mediante el IPT (tabla 5.7). Existen diferencias significativas entre los cultivares, independientemente del tipo de brácteas y del año de cultivo, además, las brácteas internas presentaron un mayor contenido fenólico que las externas. Las diferencias entre el IFC para las tres campañas de estudio fueron notables para el conjunto de las variedades “Blanca de Tudela”, “Calicó” y “Thema” (p-valor= 0,000), sin embargo para la campaña 2011-2012 y 2012-2013, el IFC promedio de los seis cultivares estudiados no presentó variaciones importantes (p-valor= 0,126), aunque siguió la misma tendencia que el IPT.

Tomando la segunda campaña como referencia, las variedades “Blanca de Tudela” y “Thema” mostraron los valores más elevados para el IFC en las brácteas externas. En las brácteas internas destaca el alto valor de ambos cultivares, aunque “Romanesco” también mostró un valor muy elevado. “Salambó” y “Calicó” fueron los de menor contenido fenólico tanto en las brácteas externas como en las internas.

La consideración conjunta de los valores del IPT e IFC es una herramienta importante a la hora de seleccionar las variedades para la comercialización en fresco o para el procesado industrial. Además ayuda a optimizar los procedimientos de inactivación térmica de PPO, tanto en el caso de elaborados tradicionales de corazones en salmuera, en productos de IV Gama, como para prever la conservación durante la comercialización en fresco.

Las variedades con un elevado contenido fenólico son poco adecuadas para el procesado tradicional; este es el caso de “Thema”, que además al presentar brácteas internas ricas en estos compuestos, presenta corazones con manchas violetas que pueden confundirse con alteraciones del producto, no siendo apta para su procesamiento industrial. De los cultivares de tipo “blancas”, en referencia a la industrialización, “Calicó” sería más adecuada que “Blanca de Tudela” debido a que presenta un menor contenido fenólico, aunque su gran tamaño limita su procesado industrial.

Tabla 5.7. Resultados ANOVA para el efecto de los cultivares, tipo de brácteas y nº de campañas y su interacción sobre el contenido fenólico.

Variables	Niveles						p-valor	
							IPT	IFC
<b>Cultivares (A)</b>	B.Tudela <sup>a</sup>		Calicó <sup>b</sup>		Thema <sup>c</sup>		0,000	0,000
<b>Brácteas (B)</b>	Externas <sup>a</sup>			Internas <sup>b</sup>			0,000	0,000
<b>Campañas (C)</b>	Primera a1 a2		Segunda a1 b2		Tercera b1 c2		0,000 <sup>1</sup>	0,000 <sup>2</sup>
<b>A x B</b>							0,005	0,000
<b>B x C</b>							0,352	0,151
<b>A x C</b>							0,163	0,803
<b>A x B x C</b>							0,065	0,022
<b>Cultivares (A)</b>	B.T b1 a2	Cal. a1 ab2	Them. c1 ad2	Rom. a1 ad2	V.P. a1 ab2	Salam. d1 c2	0,000 <sup>1</sup>	0,000 <sup>2</sup>
<b>Brácteas (B)</b>	Externas <sup>a</sup>			Internas <sup>b</sup>			0,000	0,000
<b>Campañas (C)</b>	Segunda <sup>a1 a2</sup>			Tercera <sup>b1 a2</sup>			0,000 <sup>1</sup>	0,126 <sup>2</sup>
<b>A x B</b>							0,001	0,002
<b>B x C</b>							0,040	0,424
<b>A x C</b>							0,559	0,003
<b>A x B x C</b>							0,583	0,702

\*Un p-valor igual o menor a 0,05 indica que existen diferencias significativas (IC=95%). \*Letras diferentes como exponente muestran diferencias significativas según la prueba comparativa de Tukey.

#### **5.1.4.2. Actividades enzimáticas**

Las enzimas presentes en un extracto pueden ser determinadas mediante la medida de la reacción que catalizan, pudiéndose conocer la cantidad de enzima y su actividad a través de la velocidad de reacción. La cinética de la reacción debe medirse en las condiciones óptimas de pH, temperatura y concentraciones saturantes de sustrato, para garantizar que la velocidad de la reacción sea máxima. De este modo, la velocidad puede determinarse mediante métodos analíticos sencillos, como por ejemplo la espectrofotometría, midiendo la aparición de los productos o la desaparición de los reactivos en función del tiempo. Así, se obtiene una curva cinética, en la que la velocidad va disminuyendo a medida se consume el sustrato. La medida de la velocidad de reacción debe determinarse en la zona lineal de la curva, de forma que la concentración de sustrato sea constante a lo largo del experimento (fig. 5.14 y 5.17).

En la investigación realizada, la determinación de la actividad de las enzimas responsables del pardeamiento de la alcachofa (polifenol oxidasa y peroxidasa) se llevó a cabo mediante la representación de las curvas cinéticas de reacciones específicas para cada enzima, midiendo la absorbancia de los productos de reacción.

##### **5.1.4.2.1. Cuantificación de las proteínas en los extractos**

Para la determinación del contenido proteico de los extractos enzimáticos preparados según el apartado 4.1.6, se usó el reactivo Bradford. Este reactivo contiene el colorante, azul de Coomassie G-250 (fig. 5.12), que en disolución ácida, puede presentarse de dos formas: roja (colorante libre) y azul (colorante unido a las proteínas). Las proteínas se unen al colorante formando un complejo proteína-pigmento con un coeficiente de extinción mayor que la sustancia libre, provocando un cambio batocrómico en el máximo de absorción del colorante desde 465 a 595 nm. El método es muy sensible, fácil, rápido y barato.

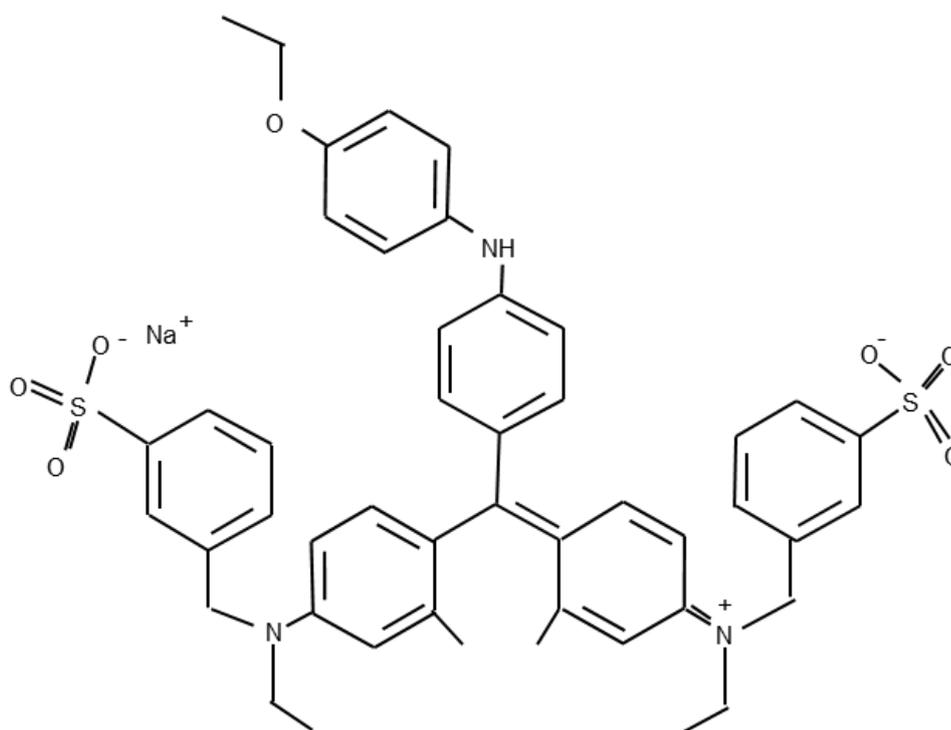


Fig. 5.12. Estructura del colorante azul de Coomassie G-250

El reactivo Bradford se preparó introduciendo en un matraz aforado de 100 mL, 10mg de azul de Coomassie G-250 (Sigma-Aldrich Química, Madrid, España), 5 mL de etanol 96% (Panreac) y 10mL de ácido fosfórico 85% (Merck-VWR, Barcelona, España), enrasando finalmente con agua. Se dejó reposar 24 horas y se filtró para su uso.

Para cuantificar las proteínas se preparó un patrón de albúmina disolviendo 10 mg de albúmina bovina (BSA) (Sigma-Aldrich Química) en 10 mL de agua destilada. De esta forma, se obtuvo una disolución madre con una concentración de 1 mg/mL. A partir de ésta se preparó la curva patrón de albúmina bovina de 0 a 1 mg/mL (fig. 5.13).

Para la determinación analítica se añadieron 5 mL del reactivo Bradford a 100  $\mu$ L de muestra (ya sea el extracto o los patrones de BSA) y se procedió a medir la absorbancia a 595 nm.

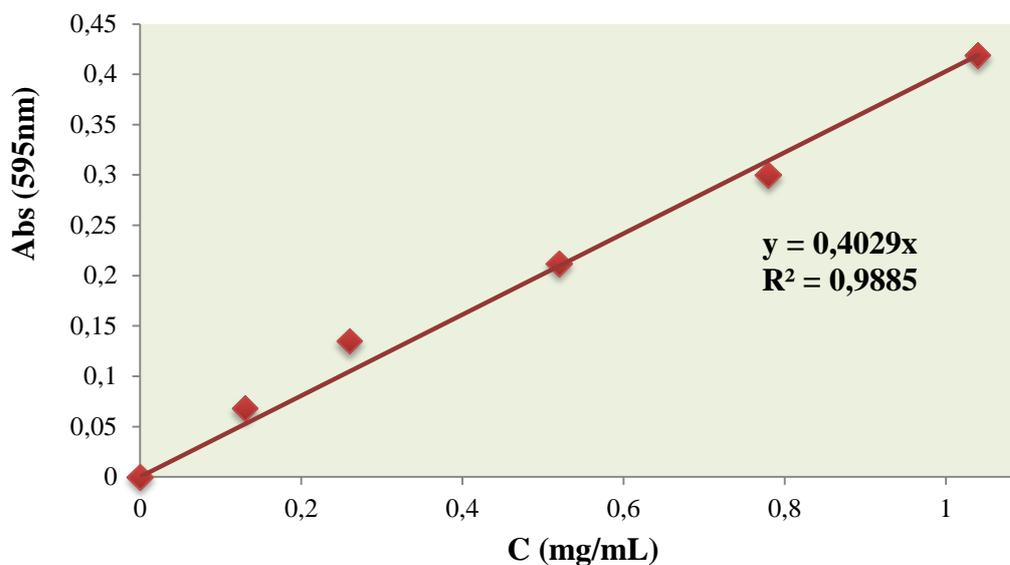


Fig. 5.13. Recta de calibración experimental de patrones de albúmina bovina (BSA)

#### 5.1.4.2.2. Actividad polifenol oxidasa (PPO)

Para la determinación de la actividad polifenol oxidasa en el extracto enzimático se utilizó una variante del método basado en la transformación del 4-metilcatecol en *o*-quinona, introduciendo la participación de L-cisteína. Este compuesto reacciona con las quinonas originadas formando aductos estables que presentan un máximo de absorbancia a 300 nm. Este método permite una extracción rápida, económica y sencilla, evitando el uso de otras técnicas engorrosas y destructivas, como la preparación de polvos acetónicos (Leoni y col., 1990; Lattancio y col., 1994).

Las condiciones que se aplicaron para estudiar la actividad PPO fueron: medio de reacción 20 mM en 4-metilcatecol y 10 mM en cisteína (Sigma-Aldrich); 20  $\mu$ L de extracto enzimático. El volumen final se completa hasta 3 mL con tampón fosfato 0,1M, pH=7,2 en una cubeta de 1 cm de camino óptico, registrándose la lectura de la absorbancia a 300nm durante el tiempo de reacción (fig. 5.14), tomando los valores de absorbancia que se encontraran dentro del rango de linealidad (a los 30 y 60 s).

La actividad PPO se expresó en unidades de actividad específica (U/mg<sub>prot.</sub>), definiendo la unidad de enzima (U) como la cantidad de enzima que cataliza la transformación de 1 μmol de sustrato en producto en 1 minuto de reacción (Ec. 5.5 y 5.6).

$$AE_{PPO}(U/mL) = \frac{\Delta A^{300nm}}{\Delta t} \times \frac{1000}{\epsilon \times b} \times \frac{Vt}{Vext} \quad (Ec. 5.5)$$

$$AS_{PPO}(U/mg_{prot.}) = \frac{AE(U/mL)}{[proteínas]} \quad (Ec. 5.6)$$

Donde:

AE<sub>PPO</sub>: actividad PPO en unidades internacionales por mililitro de extracto enzimático

ΔA<sub>300nm</sub>: diferencia entre la absorbancia a 60s y a 30s, medida a 300 nm

Δt: tiempo en el que se mide el avance de la reacción (0,5 min)

ε: coeficiente de extinción molar a 300 nm para el aducto de la reacción catalizada por PPO (2460 M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>)

b: longitud del paso de luz por la celda (1cm)

Vt: Volumen total en la cubeta (3 mL)

Vext: Volumen de extracto enzimático añadido a la cubeta (0,02mL)

AS<sub>PPO</sub>: actividad PPO específica

[proteínas]: mg de proteínas por mL de extracto enzimático.

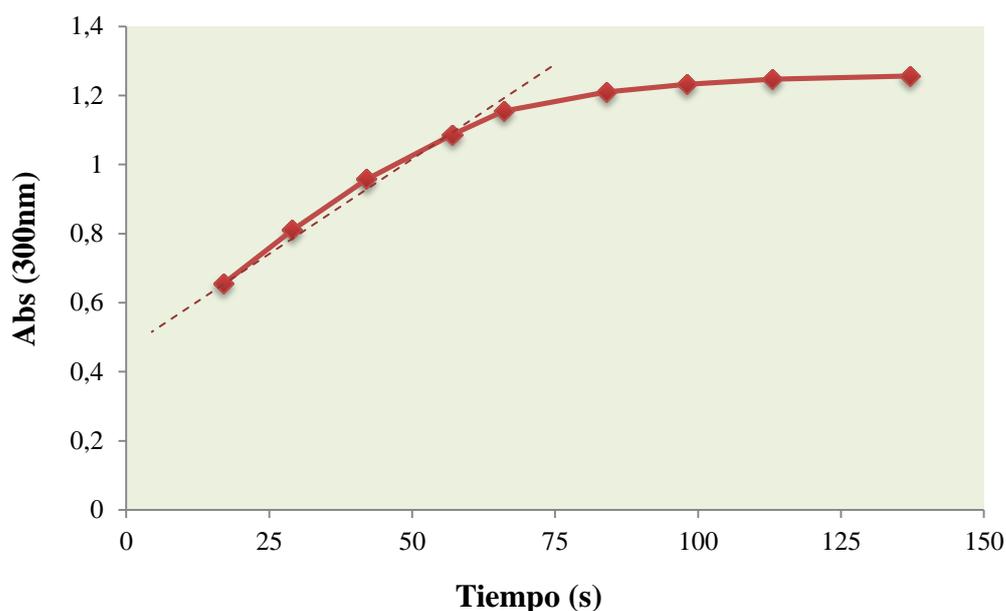


Fig. 5.14. Representación experimental de la actividad PPO de un extracto en función del tiempo

Los resultados obtenidos para las distintas variedades, tanto para las brácteas externas como para las internas, en las diferentes campañas estudiadas, se muestran en las siguientes tablas:

Tabla 5.8. Actividad PPO de los cultivares muestreados durante la campaña 2010-2011

CULTIVAR	ACTIVIDAD PPO					
	Brácteas externas			Brácteas internas		
	AE(U/mL)	mg/mL Prot	AS (U/mg)	AE(U/mL)	mg/mL Prot	AS (U/mg)
<b>B. Tudela</b>	15,64±3,44	0,68±0,06	23,00±3,45	34,55±3,81	0,66±0,03	52,39±3,96
<b>Calicó</b>	12,18±2,04	0,59±0,10	20,66±2,23	33,27±4,38	0,61±0,09	53,97±3,71
<b>Thema</b>	28,56±2,08	0,77±0,06	37,89±2,64	39,07±2,22	0,32±0,04	122,57±6,19

Tabla 5.9. Actividad PPO de los cultivares muestreados durante la campaña 2011-2012

CULTIVAR	ACTIVIDAD PPO					
	Brácteas externas			Brácteas internas		
	AE(U/mL)	mg/mL Prot	AS (U/mg)	AE(U/mL)	mg/mL Prot	AS (U/mg)
<b>B. Tudela</b>	26,77±3,21	0,75±0,05	35,41±3,55	32,55±3,45	0,78±0,04	41,77±3,11
<b>Calicó</b>	23,46±2,89	0,55±0,09	44,67±3,70	31,67±5,50	0,71±0,11	45,93±3,64
<b>Thema</b>	24,65±2,43	0,78±0,07	31,78±3,30	38,79±3,22	0,46±0,03	83,26±4,61
<b>V. Provenza</b>	33,17±1,03	0,91±0,05	36,33±1,13	34,51±2,12	0,86±0,06	39,97±2,90
<b>Romanesco</b>	26,89±0,95	0,43±0,06	63,87±2,77	29,76±4,00	0,37±0,01	81,17±4,11
<b>Salambó</b>	29,35±3,25	0,60±0,12	52,21±5,17	31,26±2,50	0,61±0,10	53,87±3,64

Tabla 5.10. Actividad PPO de los cultivares muestreados en la campaña 2012-2013

CULTIVAR	ACTIVIDAD PPO					
	Brácteas externas			Brácteas internas		
	AE(U/mL)	mg/mL Prot	AS (U/mg)	AE(U/mL)	mg/mL Prot	AS (U/mg)
<b>B. Tudela</b>	25,01±2,96	0,65±0,03	38,82±3,11	26,77±3,22	0,66±0,06	40,44±3,18
<b>Calicó</b>	27,01±3,21	0,66±0,05	41,06±3,61	40,43±4,58	0,73±0,09	55,28±4,68
<b>Thema</b>	26,88±3,44	0,75±0,05	35,64±3,36	21,82±3,21	0,52±0,06	41,88±3,09
<b>V. Provenza</b>	31,71±2,08	0,84±0,06	37,58±2,14	43,17±2,43	0,94±0,07	45,78±2,74
<b>Romanesco</b>	37,32±1,75	0,81±0,08	46,13±2,22	39,39±2,00	0,81±0,03	48,69±2,82
<b>Salambó</b>	26,24±3,00	0,68±0,10	38,56±4,15	27,77±2,30	0,67±0,08	41,54±3,78

La actividad polifenol oxidasa específica fue significativamente mayor para las brácteas internas que para las externas. Esto se debe no solo a la mayor actividad PPO en las brácteas interiores, sino también al mayor contenido de compuestos fenólicos susceptibles de ser oxidados por esta enzima.

La  $AS_{PPO}$  media para cada cultivar varió notablemente con independencia del tipo de brácteas y campaña de estudio. La mayor actividad la presentó la variedad “Romanesco”. “Calicó”, “Thema” y “Salambó” mostraron valores intermedios para este parámetro, mientras que los cultivares “Violeta de Provenza” y “Blanca de Tudela” fueron los menos activos (fig. 5.15). Cefola y col. (2012) también encontraron diferencias significativas entre cultivares de alcachofa diferentes a los estudiados en la presente investigación. De este modo se puede concluir que la actividad PPO depende del genotipo de alcachofa.

Al considerar los resultados de la segunda campaña, las brácteas externas del cultivar “Romanesco” fueron las que mostraron mayor actividad PPO, seguido de “Salambó” y “Calicó”; mientras que la actividad más baja la presentaron “Blanca de Tudela”, “Violeta de Provenza” y “Thema”.

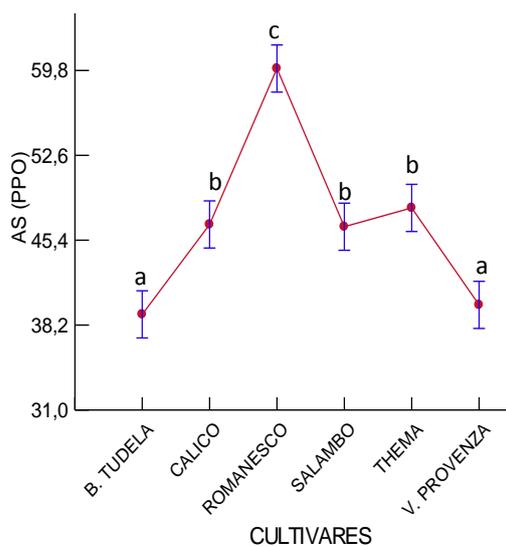


Fig. 5.15. Variación de la  $AS_{PPO}$  para los cultivares de estudio

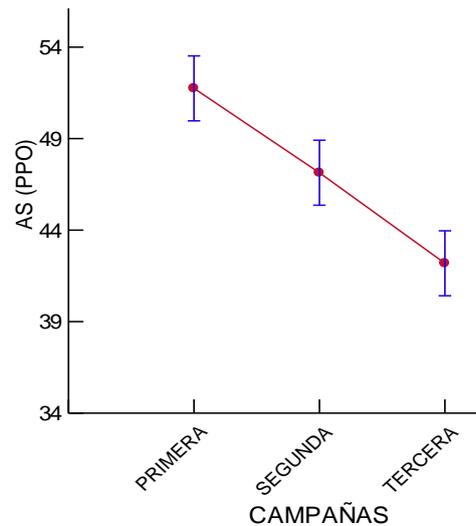


Fig. 5.16. Variación de la  $AS_{PPO}$  para las campañas estudiadas

En las brácteas internas, “Romanesco” y “Thema” mostraron elevada actividad PPO, seguidas de las variedades “Calicó” y “Salambó”, que presentaron una actividad intermedia. “Blanca de Tudela” y “Violeta de Provenza” fueron los cultivares de menor actividad.

Cabezas-Serrano y col. (2009) y Todaro y col. (2010) estudiaron diferentes variedades de alcachofa, evaluando su actividad PPO en sus corazones. Para los cultivares “Thema” y “Violeta de Provenza” los resultados encontrados por estos autores fueron similares a los encontrados en esta investigación, siendo la actividad PPO mayor para “Thema” que para “Violeta de Provenza”.

Merece la pena resaltar los valores medios de  $AS_{PPO}$  obtenidos para las tres campañas de estudio, con independencia del tipo de cultivar y del tipo de brácteas. Como puede observarse en la figura 5.16, la actividad PPO varía según la campaña y el momento de recolección. Los valores más altos se encontraron en las inflorescencias muestreadas en primavera (campaña 2010-2011); mientras que los más bajos aparecieron en los muestreos realizados en los meses fríos (tercer año). Los valores de la temporada 2011-2012 fueron intermedios, debido a que se muestreó durante todo el ciclo productivo.

Para el estudio estadístico se siguió el mismo proceso que en otros apartados anteriores, realizando los análisis de varianza (ANOVA) que pudieran justificar las diferencias encontradas en la actividad PPO específica considerando las variables: cultivares, campañas, tipo de brácteas y todas sus interacciones posibles. En todos los casos los p-valores encontrados fueron inferiores a 0,05, por lo que todas las diferencias encontradas fueron significativas. La comparación de la actividad entre los cultivares se realizó mediante el test de Tukey que se muestra en la figura 5.15. Las letras diferentes indican que existen diferencias significativas.

#### 5.1.4.2.3. Actividad peroxidasa (POD)

Se determinó mediante la oxidación del 4-metoxi- $\alpha$ -naftol en presencia de  $H_2O_2$ , que origina un producto insoluble de color azul oscuro que presenta un máximo de absorción a 600 nm.

Para determinar la actividad POD se tomó 20 $\mu$ L del extracto enzimático y medio de reacción 4-metoxi- $\alpha$ -naftol (Sigma-Aldrich) 0,2 mM y  $H_2O_2$  (Panreac) 2 mM; el

volumen final de 3 mL se completó con tampón TRIS-HCl 0,05M, pH=7,5 en una cubeta de 1 cm de camino óptico. Se realizó la lectura de la absorbancia a 600nm, a los 30 y 60 s de reacción. Los resultados se expresaron del mismo modo que la actividad PPO.

$$AE_{POD}(U / mL) = \frac{\Delta A^{600nm}}{\Delta t} \times \frac{1000}{\varepsilon \times b} \times \frac{Vt}{Vext} \quad (Ec. 5.7)$$

$$AS_{POD}(U / mg_{prot}) = \frac{AE(U / mL)}{[proteínas]} \quad (Ec. 5.8)$$

Para calcular la actividad POD en unidades internacionales por mililitro de extracto enzimático, se sustituyen en la ecuación los mismos valores de b, Vt, Δt y Vext dados para la actividad PPO. La diferencia de absorbancias a 60s y a 30s, en este caso se mide a 600nm, y el coeficiente de extinción molar para el producto de reacción a dicha longitud de onda es de  $2,1 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ . La figura 5.17 muestra la variación de la actividad POD en función del tiempo de reacción.

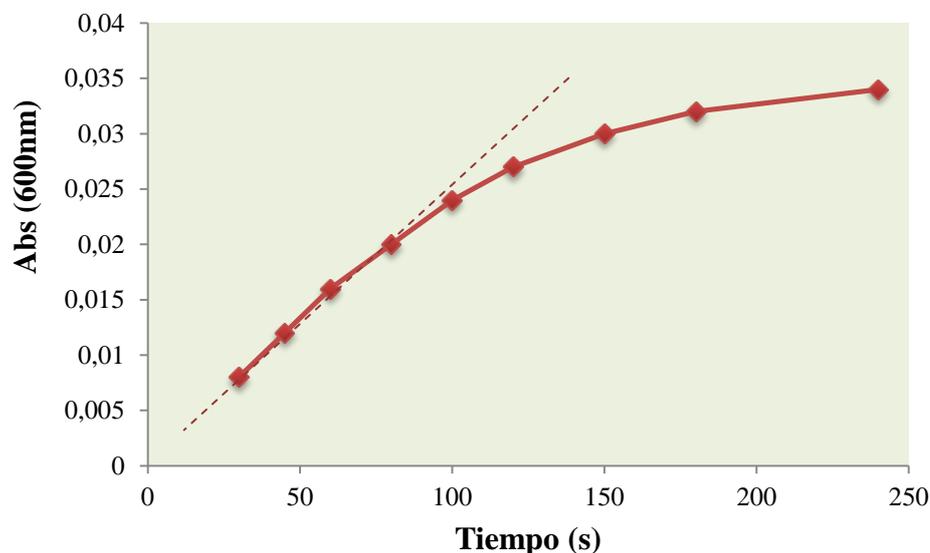


Fig. 5.17. Curva de actividad POD de un extracto en función del tiempo

Los valores de actividad peroxidasa obtenidos para las variedades de alcachofa estudiadas durante las tres campañas, se presentan en las siguientes tablas:

*Tabla 5.11. Actividad POD de los cultivares estudiados durante la campaña 2010-2011*

CULTIVAR	ACTIVIDAD POD					
	Brácteas externas			Brácteas internas		
	AE(U/mL)	mg/mL Prot	AS (U/mg)	AE(U/mL)	mg/mL Prot	AS (U/mg)
<b>B. Tudela</b>	0,03±0,01	0,68±0,06	0,04±0,01	0,06±0,01	0,66±0,03	0,09±0,02
<b>Calicó</b>	0,02±0,01	0,59±0,10	0,03±0,01	0,04±0,01	0,61±0,09	0,07±0,01
<b>Thema</b>	0,11±0,03	0,77±0,06	0,14±0,03	0,04±0,01	0,32±0,04	0,13±0,02

*Tabla 5.12. Actividad POD de los cultivares estudiados durante la campaña 2011-2012*

CULTIVAR	ACTIVIDAD POD					
	Brácteas externas			Brácteas internas		
	AE(U/mL)	mg/mL Prot	AS (U/mg)	AE(U/mL)	mg/mL Prot	AS (U/mg)
<b>B. Tudela</b>	0,10±0,02	0,75±0,05	0,13±0,03	0,08±0,01	0,78±0,04	0,10±0,02
<b>Calicó</b>	0,12±0,03	0,55±0,09	0,23±0,02	0,07±0,01	0,71±0,11	0,10±0,02
<b>Thema</b>	0,07±0,01	0,78±0,07	0,09±0,02	0,04±0,01	0,46±0,03	0,09±0,02
<b>V. Provenza</b>	0,14±0,02	0,91±0,05	0,16±0,02	0,07±0,01	0,86±0,06	0,08±0,01
<b>Romanesco</b>	0,14±0,05	0,43±0,06	0,33±0,04	0,05±0,01	0,37±0,01	0,14±0,03
<b>Salambó</b>	0,11±0,01	0,60±0,12	0,22±0,08	0,10±0,02	0,61±0,10	0,17±0,03

Tabla 5.13. Actividad POD de los cultivares estudiados durante la campaña 2012-2013

CULTIVAR	ACTIVIDAD POD					
	Brácteas externas			Brácteas internas		
	AE(U/mL)	mg/mL Prot	AS (U/mg)	AE(U/mL)	mg/mL Prot	AS (U/mg)
<b>B. Tudela</b>	0,08±0,02	0,65±0,03	0,12±0,03	0,04±0,01	0,66±0,06	0,06±0,01
<b>Calicó</b>	0,09±0,01	0,66±0,05	0,14±0,03	0,10±0,01	0,73±0,09	0,14±0,02
<b>Thema</b>	0,07±0,01	0,75±0,05	0,09±0,02	0,04±0,01	0,52±0,06	0,08±0,01
<b>V. Provenza</b>	0,09±0,01	0,84±0,06	0,10±0,01	0,09±0,02	0,94±0,07	0,09±0,02
<b>Romanesco</b>	0,11±0,02	0,81±0,08	0,14±0,02	0,10±0,01	0,81±0,03	0,12±0,02
<b>Salambó</b>	0,08±0,01	0,68±0,10	0,12±0,02	0,05±0,01	0,67±0,08	0,07±0,01

A la vista de los resultados obtenidos se puede concluir que, a diferencia de las enzimas polifenol oxidasas, la mayor parte de las peroxidasas se encuentran localizadas en las brácteas externas de la alcachofa, con independencia de la variedad y del año de campaña (fig. 5.18). En este caso, a pesar de que el contenido fenólico en las brácteas internas era muy elevado, la baja presencia de la enzima POD limitó su actividad específica, obteniéndose valores muy bajos para este parámetro.

Se han encontrado variaciones significativas en la  $AS_{POD}$  entre los diferentes cultivares de estudio. Estas diferencias también fueron observadas por Cefola y col. (2012) para otros cultivares de alcachofa, confirmando que la composición enzimática depende del genotipo.

Tanto para las brácteas externas como para las internas, el cultivar que presentó mayor actividad POD, tomando la media de las tres temporadas de estudio, fue “Romanesco”, seguido de “Calicó y Salambó” que presentaron valores intermedios. “Blanca de Tudela”, “Violeta de Provenza” y “Thema” en mayor medida, presentaron menor actividad (fig. 5.19). La evolución de las actividades POD en los cultivares de estudio es similar a la observada para la enzima PPO.

Los resultados de actividad POD encontrados en las brácteas externas para la campaña 2011-2012, siguen la misma evolución que los obtenidos para la media de las tres campañas discutida anteriormente; sin embargo las actividades de las brácteas internas no fueron muy representativas debido a que los valores fueron muy bajos.

El análisis estadístico para la  $AS_{POD}$  de las variedades estudiadas mostró diferencias significativas en este parámetro en todas las variables de estudio (cultivares, campañas y tipo de brácteas) y sus interacciones, mostrando p-valores inferiores a 0,05. La comparación de la actividad POD entre los cultivares se realizó mediante el test de Tukey que se muestra en la figura 5.19. Las letras diferentes indican que existen diferencias significativas.

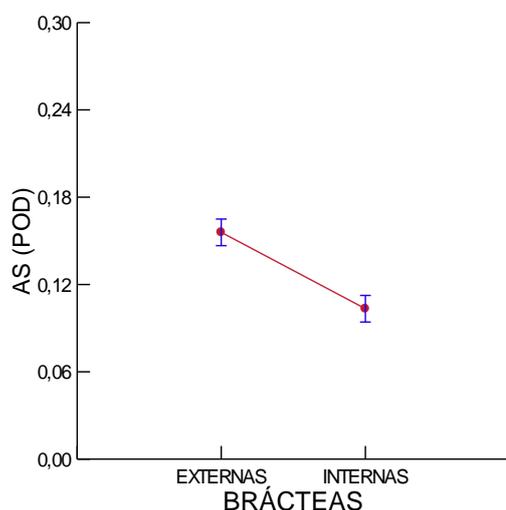


Fig. 5.18. Variación de la  $AS_{POD}$  según el tipo de brácteas

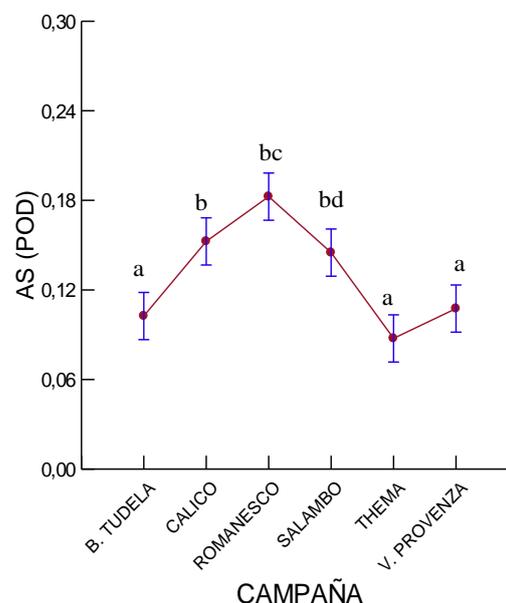


Fig. 5.19. Variación de la  $AS_{POD}$  para los cultivares de estudio

Aunque la enzima polifenol oxidasa es la principal responsable de los procesos de pardeamiento, en ocasiones se produce el efecto sinérgico entre dicha enzima y la peroxidasa. Como ya se ha comentado en capítulos anteriores esta relación es posible gracias a la producción de pequeñas cantidades de  $H_2O_2$  durante la oxidación de los fenoles catalizada por la PPO.

Para estudiar la posible relación entre ambas enzimas se ha llevado a cabo un análisis de regresión lineal simple para las brácteas externas de todos los cultivares; ya que en las brácteas internas el contenido de POD era demasiado bajo para poder relacionarlo. En la figura 5.20 se muestra la línea de regresión estimada (en color rojo) y su incertidumbre asociada (intervalo representado en azul), así como la bondad del ajuste ( $R^2$ ).

El valor de  $R^2=0,876$  y el p-valor=0,000 para la regresión, confirma que existe una clara relación entre PPO y POD, apoyando la opinión de que ambas enzimas actúan en tándem. Cefola y col. (2012) llegaron a esta misma conclusión relacionando linealmente ambas actividades, aunque la relación obtenida por estos autores fue algo menor ( $R^2=0,741$ ) a la obtenida en esta investigación.

De este modo, los cultivares que presentan una baja actividad PPO, están limitados en lo que se refiere a su actividad POD, ya que la producción de  $H_2O_2$  durante la oxidación fenólica estará restringida a niveles bajos.

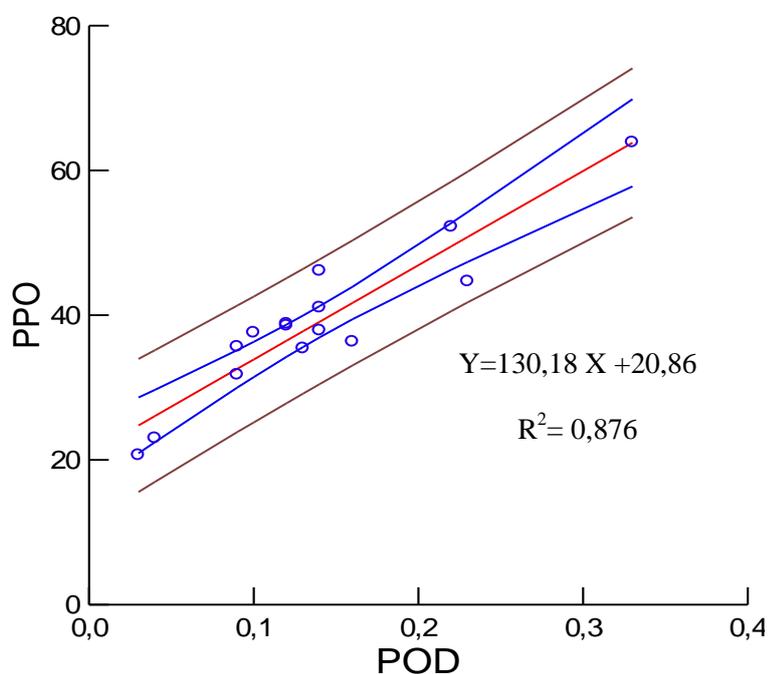


Fig. 5.20. Análisis de regresión lineal simple entre las actividades PPO y POD

### 5.1.4.3. Pardeamiento Potencial (PP)

El PP está relacionado con la capacidad de pardeamiento como respuesta a la actividad enzimática específica de cada material, en lugar de relacionarla directamente con el contenido total de sustratos potenciales para el mismo. La determinación de este índice proporciona información sobre la susceptibilidad de pardeamiento de las variedades de alcachofa de modo que, atendiendo a este parámetro y al contenido fenólico del material vegetal, es posible establecer qué variedades pueden ser adecuadas para el procesado industrial o para la comercialización en fresco.

La metodología se fundamenta en la adición de 2-mercaptoetanol o  $\beta$ -mercaptoetanol (BME) que desnaturaliza las proteínas por reducción de los puentes disulfuro. Con ello se inhibe la expresión de actividades enzimáticas tales como la PPO y POD. BME es también capaz de reducir los grupos carbonilo por lo que actúa como antioxidante en las reacciones donde este compuesto interviene.

La determinación del PP se llevó a cabo midiendo la diferencia de absorbancia, a 450 nm, de los extractos preparados para la determinación del contenido fenólico y un extracto preparado de la misma forma pero añadiendo BME. Al cabo de 2 horas se realizó la lectura espectrofotométrica.

$$PP = \frac{\Delta A \times f}{g \text{ Brácteas}} \quad (\text{Ec. 5.9})$$

$$\Delta A = A_{450\text{nm}} (\text{extracto}) - A_{450\text{nm}} (\text{extracto con BME})$$

Las siguientes figuras resumen los resultados obtenidos en la determinación del pardeamiento potencial de las distintas variedades estudiadas durante las tres campañas.

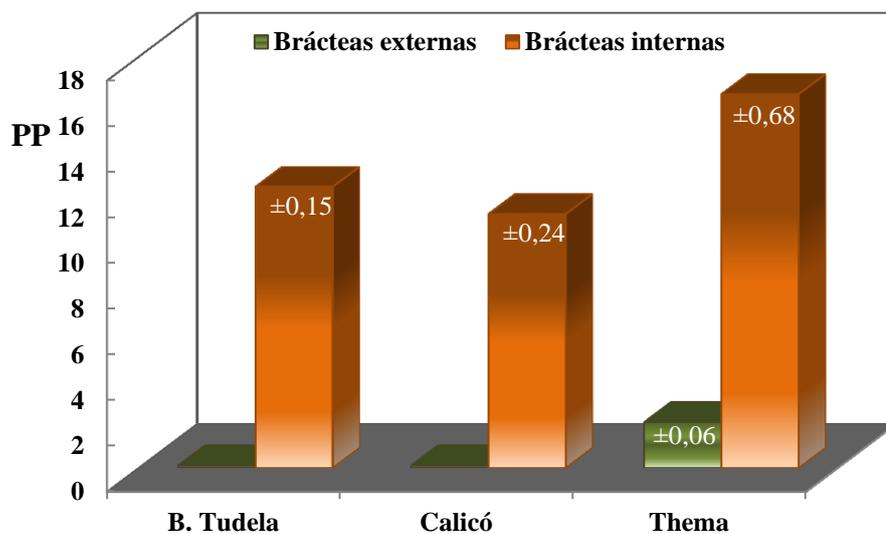


Fig. 5.21. Pardeamiento Potencial de brácteas de alcachofa durante la campaña 2010-2011

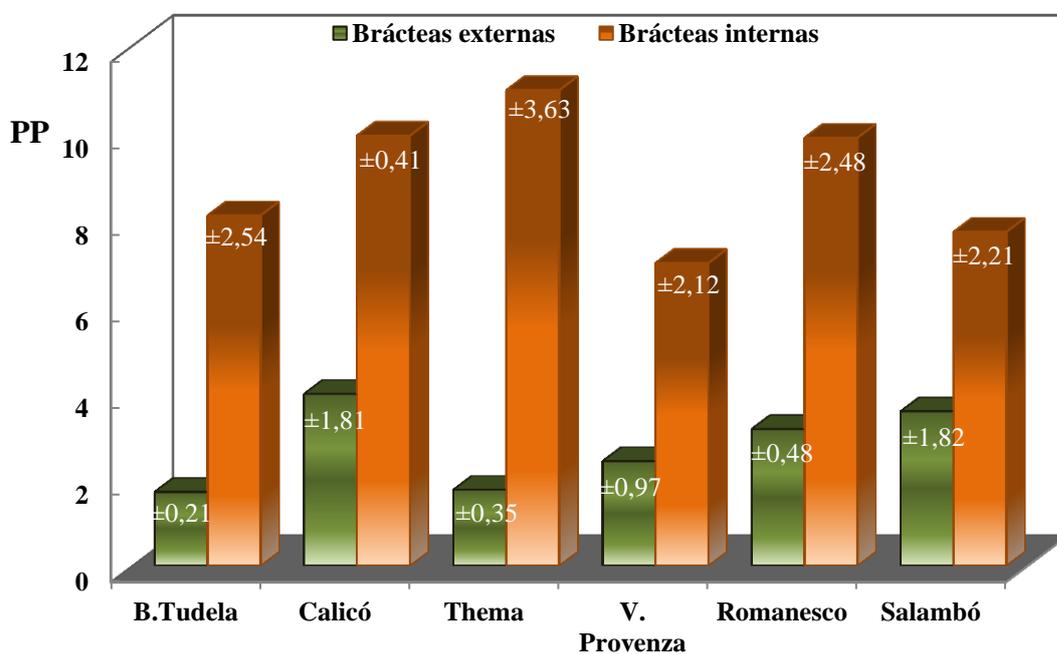


Fig. 5.22. Pardeamiento Potencial de brácteas de alcachofa durante la campaña 2011-2012

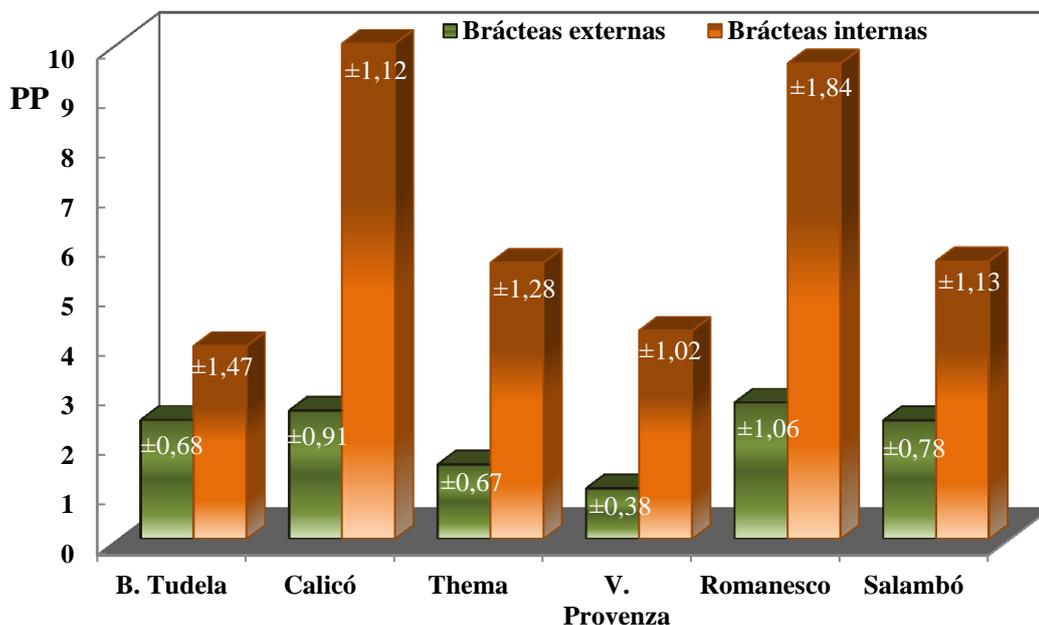


Fig. 5.23. Pardeamiento Potencial de brácteas de alcachofa durante la campaña 2012-2013

El pardeamiento potencial se expresó con mayor intensidad en las brácteas internas que en las externas. Esta diferencia indica que la actividad enzimática que presenta una mayor contribución al pardeamiento es la producida por la PPO, ya que la POD presentaba actividades mayores para las brácteas externas.

Nuevamente puede considerarse los valores de las experiencias realizadas en 2011-2012 como los más representativos por el mayor número de muestreos. Si consideramos que los datos de la primera y tercera campañas se corresponden a la producción temprana o la tardía, respectivamente, se confirma el incremento de la actividad enzimática relacionada con el pardeamiento conforme avanza la campaña.

Si consideramos los valores de PP en la segunda campaña y para las brácteas externas, éstos fueron más elevados para los cultivares “Calicó”, “Romanesco” y “Salambó”. Por el contrario, “Thema”, “Blanca de Tudela” y “Violeta de Provenza” fueron los cultivares que presentaron menor pardeamiento potencial en estas brácteas. Como cabría esperar, estos resultados concuerdan con la evolución de la actividad polifenol oxidasa específica para estas variedades.

Para las brácteas internas, “Romanesco”, “Thema” y “Calicó” tuvieron un PP muy elevado, mientras que “Blanca de Tudela”, “Violeta de Provenza” y “Salambó” fueron los cultivares que presentaron menor pardeamiento.

Todas las diferencias encontradas en el PP para el tipo de cultivar, tipo de brácteas y año de campaña fueron significativas, mostrando un p-valor inferior a 0,05. También lo fueron las interacciones entre las variables: tipo de cultivar y tipo de brácteas (A x B) y, tipos de brácteas y año de campaña (B x C) (tabla 5.14).

Tabla 5.14. Resultados ANOVA para el efecto de los cultivares, tipo de brácteas y nº de campañas y su interacción sobre el PP

Variables	Niveles						p-valor
<b>Cultivares (A)</b>	B.Tudela <sup>a</sup>	Calicó <sup>b</sup>			Thema <sup>b</sup>		0,001
<b>Brácteas (B)</b>	Externas <sup>a</sup>			Internas <sup>b</sup>			0,000
<b>Campañas (C)</b>	Primera <sup>a</sup>	Segunda <sup>a</sup>			Tercera <sup>b</sup>		0,000
<b>A x B</b>							0,024
<b>B x C</b>							0,000
<b>A x C</b>							0,000
<b>A x B x C</b>							0,006
<b>Cultivares (A)</b>	B.T <sup>a</sup>	Calicó <sup>b</sup>	Thema <sup>ab</sup>	Romanesco <sup>b</sup>	V.P <sup>a</sup>	Salambó <sup>ab</sup>	0,000
<b>Brácteas (B)</b>	Externas <sup>a</sup>			Internas <sup>b</sup>			0,000
<b>Campañas (C)</b>	Segunda <sup>a</sup>			Tercera <sup>b</sup>			0,000
<b>A x B</b>							0,018
<b>B x C</b>							0,018
<b>A x C</b>							0,410
<b>A x B x C</b>							0,071

\*Un p-valor igual o menor a 0,05 indica que existen diferencias significativas (IC=95%). \*Letras diferentes en el exponente muestran diferencias significativas según la prueba comparativa de Tukey.

Teniendo en cuenta el contenido fenólico y la actividad enzimática relacionada con el pardeamiento, es posible evaluar la estabilidad oxidativa de los diferentes cultivares de estudio. Aquellos que presentan una elevada estabilidad oxidativa son, en principio, adecuados para su transformación agroindustrial, mientras que en los que el contenido fenólico y actividad enzimática son altos, serán susceptibles de pardearse durante las operaciones de desbracteado y corte. Además, es importante dar mayor importancia a los parámetros de estabilidad en las brácteas internas, ya que durante la industrialización únicamente se utiliza el corazón de la alcachofa.

Teniendo en cuenta estos aspectos se puede concluir que dentro de las variedades “violetas”, “Thema” y “Romanesco” fueron las variedades de mayor contenido fenólico y actividad enzimática, presentando una alta susceptibilidad de pardeamiento en sus brácteas interiores. Esta baja estabilidad oxidativa, junto con la presencia de tonos violáceos en los corazones de estas variedades, las hacen poco atractivas para su procesado en forma de IV Gama, conserva o como corazones congelados.

Estas variedades “violetas” son muy apreciadas en los mercados de Francia e Italia, siendo apropiadas para su consumo en fresco. La exportación de estas variedades en épocas no productivas en los países de destino, supone un gran interés comercial.

De las variedades “blancas”, aunque “Blanca de Tudela” presentó mayor contenido fenólico que “Calicó”, su actividad enzimática relacionada con el PP fue notablemente inferior al cultivar “Calicó” mostrando, por tanto, alta estabilidad a la oxidación. Estas características hacen que “Blanca de Tudela” sea el mejor cultivar para su procesado en forma de corazones.

Para minimizar el pardeamiento enzimático durante el procesado, como consecuencia de lo anteriormente expuesto, será necesario optimizar los tratamientos térmicos de inactivación enzimática (escaldado) en los elaborados tradicionales de corazones, así como las operaciones de desaireación e impregnación en los elaborados de tipo IV Gama.

## **5.2.Efecto de la atmósfera en los procesos metabólicos de los corazones de alcachofa fresca**

La atmósfera que rodea a los productos vegetales envasados puede tener distintos efectos sobre procesos metabólicos que tienen lugar en el vegetal. Por esta razón realizamos el estudio de procesos metabólicos de interés y su relación con la atmósfera que rodea al producto.

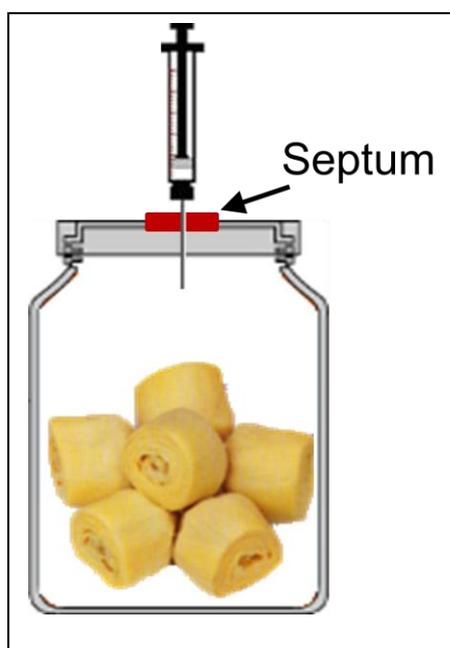
Los procesos estudiados en los corazones frescos de alcachofa fueron:

- Tasa respiratoria.
- Emisión/presencia de etileno.

### 5.2.1. Estudio de la tasa respiratoria de la alcachofa

Cuando un vegetal se somete a un envasado hermético, los niveles de oxígeno que rodean al producto comienzan a disminuir como consecuencia de la respiración, produciéndose  $\text{CO}_2$ . El proceso de respiración del vegetal confinado en un recipiente hermético puede dar lugar a condiciones anaerobias o niveles excesivamente altos de  $\text{CO}_2$  que pueden producir efectos negativos sobre el producto vegetal, como por ejemplo dar lugar a procesos fermentativos indeseables.

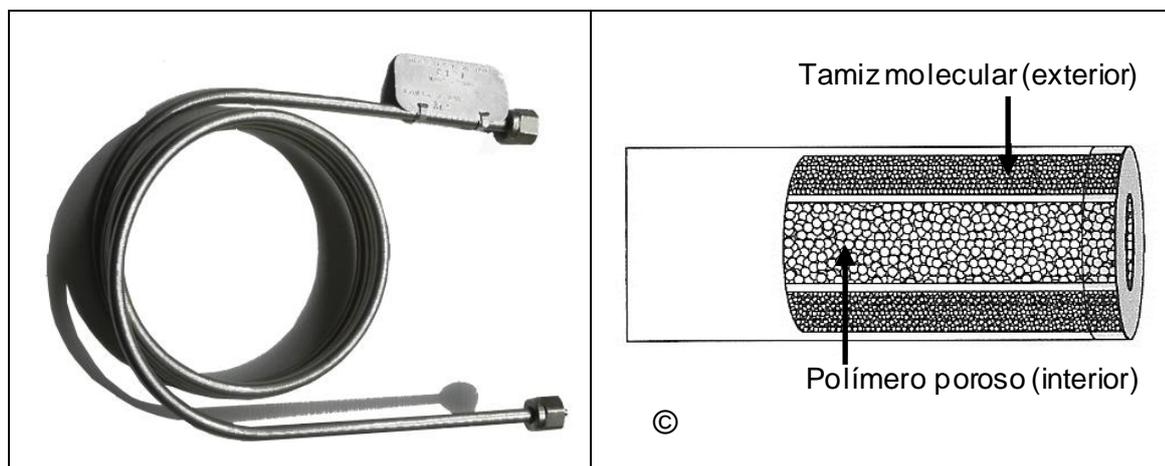
Para controlar la respiración de los corazones de alcachofa frescos envasados, se utilizó un envase hermético provisto de un septum para la toma de muestras de la atmósfera interior (fig. 5.24). Se evaluó la atmósfera del interior del envase a temperatura ambiente y a  $4^\circ\text{C}$ , durante 72 h, mediante cromatografía gaseosa.



*Fig. 5.24. Dispositivo para la determinación de la atmósfera en el interior de los envases*

El análisis mediante CGL de mezclas gaseosas conteniendo  $O_2$ ,  $CO_2$  y  $N_2$  se suele realizar utilizando dos columnas cromatográficas situadas en paralelo. Una de ellas está empaquetada con tamiz molecular, capaz de separar oxígeno y nitrógeno, y otra con relleno de tipo polímero poroso para el análisis de  $CO_2$ . Ello obliga a utilizar dos inyecciones distintas, o una sola si el equipo dispone de una válvula de conmutación de flujo que permita su paso alternativo por una u otra. Para solucionar este problema se han diseñado columnas dobles de diseño coaxial con dos empaquetamientos distintos, cada uno de ellos adecuado para determinados tipo de gases.

En la investigación desarrollada se ha utilizado una columna concéntrica de la firma Alltech, tipo CTR I. La parte externa de la columna coaxial está compuesta de un tamiz molecular activado; mientras que la interna está empaquetada con una mezcla de polímero poroso (fig. 5.25). El  $CO_2$  queda absorbido en la parte de tamiz molecular y solo alcanza el detector circulando por la parte interna de polímero. Por el contrario, una parte del  $O_2$  y  $N_2$  son separados en la zona de tamiz molecular, mientras que otra atraviesa rápidamente la de polímero poroso sin quedar prácticamente retenida. Este tipo de columna también permite el análisis de  $CO$  y  $CH_4$ .



© Copyright Alltech Assoc. Inc.

Fig. 5.25. Aspecto de la columna tipo CTR1 (izquierda) y esquema de su empaquetamiento coaxial (derecha).

Las dimensiones de la columna CTR I fueron: longitud 6 ft (1,83 m), diámetro del empaquetamiento exterior 1/4" (6,35 mm) y diámetro interior 1/8" (3,175 mm). La temperatura de trabajo fue de 35 °C, y como gas portador se utilizó He, con un flujo de 60 mL/min. El volumen de inyección fue de 1000 µL y el detector de conductividad térmica (TCD).

La figura 5.26 muestra un cromatograma de una mezcla de CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> y N<sub>2</sub> separados en la columna CTR I. En el mismo se han excluido el registro y la integración de tiempos inferiores a 0,5 minutos para eliminar el pico inicial correspondiente a fracción de la mezcla de O<sub>2</sub> y N<sub>2</sub> no separada, que circulan por la columna interior.

Para la determinación del porcentaje de gases en el espacio de cabeza se realizó una calibración previa con una mezcla de gases certificada (Alltech) compuesta por 24 % O<sub>2</sub>, 2% CO<sub>2</sub> y resto N<sub>2</sub>.

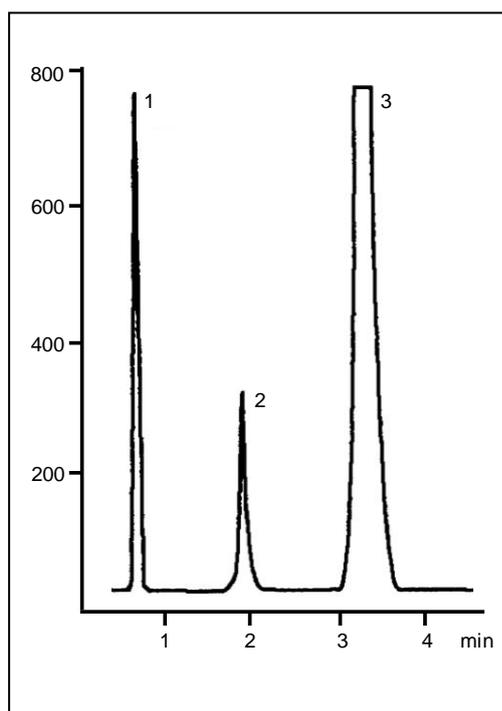


Fig. 5.26. Cromatograma de la mezcla (1)CO<sub>2</sub>; (2) O<sub>2</sub>; (3) N<sub>2</sub>

La evolución de la composición de esta atmósfera a lo largo de 72 horas se muestra en la figura 5.27.

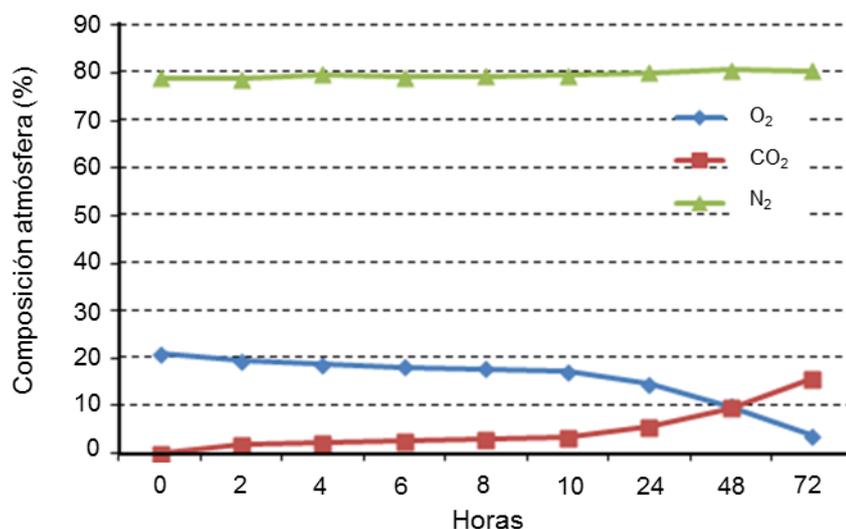


Fig. 5.27. Evolución de la atmósfera en el interior del envase conteniendo corazones de alcachofa, a lo largo de 72 horas.

La producción de CO<sub>2</sub> incrementó hasta un valor próximo al 2% en las dos primeras horas. En los muestreos siguientes el aumento de la concentración fue aproximadamente lineal durante 12-15 horas, incrementándose a partir de ese momento. Al cabo de 72 horas el oxígeno residual estuvo en el rango del 3 %, mientras que el CO<sub>2</sub> alcanzó un máximo del 16 %. Este aumento en la concentración de CO<sub>2</sub> desde los niveles atmosféricos normales (~ 0.036%) hasta el 16 % puede causar alteraciones, tales como la producción de metabolitos secundarios.

Considerando el volumen de los envases utilizados y la masa de los corazones introducidos, la tasa respiratoria estimada a 20°C fue de unos 30 mL CO<sub>2</sub>/kg•h. Este valor es inferior al reportado para los capítulos de alcachofa completos por Suslow y Cantwell (1997) en UC Davis (tabla 5.15), pero es preciso considerar que en nuestra experiencia se seleccionaron únicamente los corazones, cuyas brácteas poco desarrolladas y con escasa pigmentación tienen menor capacidad fotosintética y respiratoria.

Cuando la atmósfera de conservación fue de  $4 \pm 1^\circ\text{C}$ , la tasa respiratoria estimada se redujo a 13,9 mL/kg•h, coincidiendo con los datos reportados por los autores mencionados anteriormente. En una revisión realizada por Kader (2002) los valores reportados para la tasa respiratoria a dicha temperatura fueron mucho mayores (40-60 mL CO<sub>2</sub>/kg•h).

*Tabla 5.15. Tasa respiratoria estimada para la alcachofa a distintas temperaturas por Suslow y Cantwell (1997)*

<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tasa respiratoria (mL CO<sub>2</sub>/kg•h)</b>
0	8-22
5	13-30
10	22-49
15	38-72
20	67-126

### **5.2.2. Estudio de la emisión de etileno**

Los capítulos completos de alcachofa presentan una tasa de producción de etileno muy baja, al mismo tiempo que son poco sensibles a esta hormona. No obstante se valoró la emisión de etileno en los corazones envasados para comprobar si el estrés producido en el pelado y manipulación de los corazones presentaba algún efecto.

Para ello, los corazones se introdujeron en los envases herméticos del mismo modo que para la determinación de la tasa respiratoria, evaluándose la generación de  $C_2H_4$  mediante CGL utilizando una columna polimérica de separación de hidrocarburos. No se realizó modificación de la atmósfera, y la experiencia fue seguida hasta que el proceso fermentativo fue manifiesto. Para la cuantificación de la tasa de producción de etileno se utilizó un patrón de etileno de 1000ppm (Abello Linde), a partir del cual se realizó una curva de calibración.

Dada la similitud de las masas moleculares del etileno, monóxido de carbono y del nitrógeno ( $MMs \sim 28$ ), que también podrían estar presentes, se llevó a cabo la identificación y diferenciación entre estos gases por CGL-MS, empleando un cromatógrafo Agilent 6890N acoplado a un espectrómetro de masas Agilent 5973 con sistema de ionización por impacto de electrones (EI) e inyección por split/splitless.

En las figuras 5.28 y 5.29 se muestran los espectros de algunos de estos compuestos.

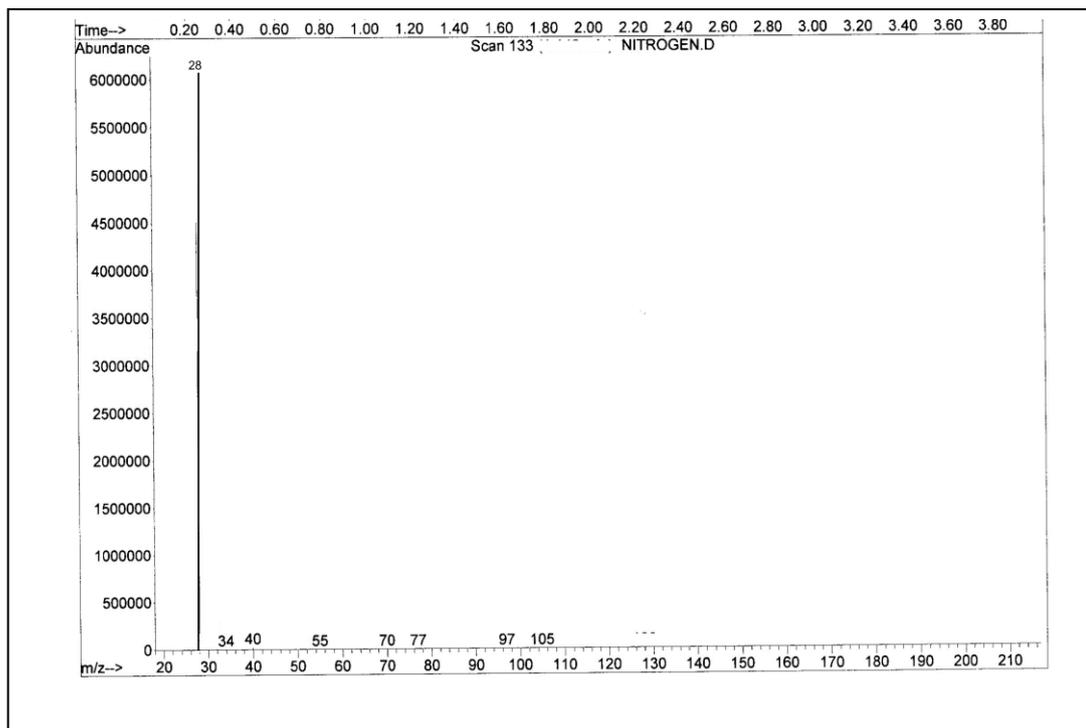


Fig. 5.28. Espectro de masas de  $N_2$

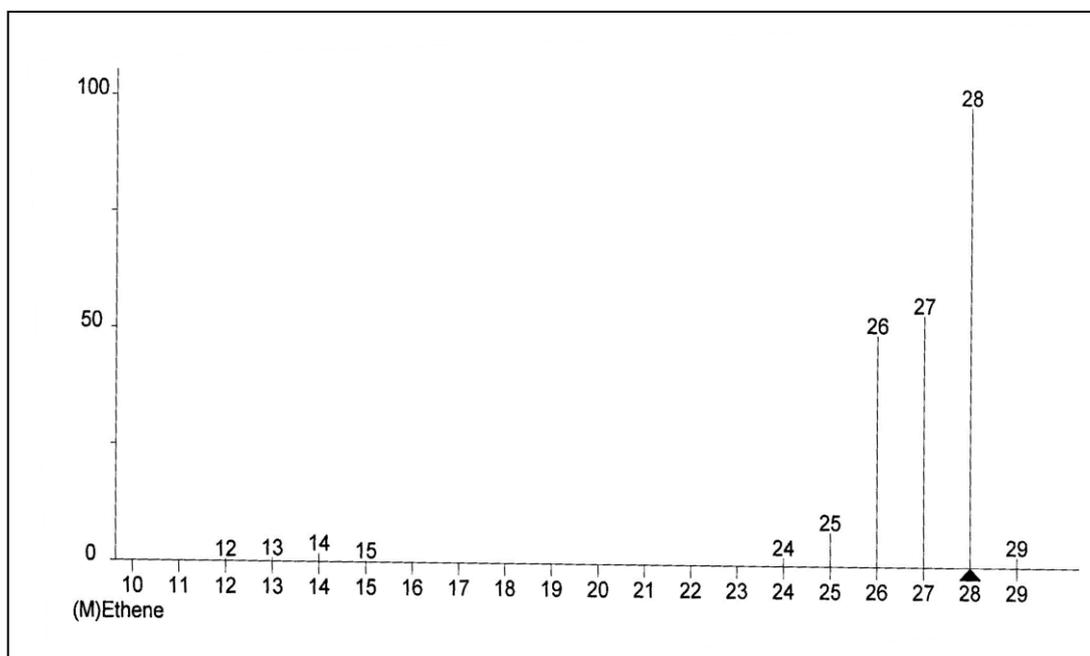


Fig. 5.29. Espectro de masas de  $C_2H_4$

La distinción inequívoca del etileno se basó en la aparición del ión de relación  $m/z$  32 que corresponde a la molécula de esta sustancia en la que los átomos de carbono corresponden al isótopo 14. El nitrógeno no presentará esta relación  $m/z$  considerando que sus isótopos estables son el  $^{14}\text{N}$  (89,634 %) y el  $^{15}\text{N}$  (0,366 %). Tampoco el CO puede dar la relación  $m/z$  32 a partir de los posibles isótopos del carbono ( $^{12}\text{C}$  98,89%,  $^{13}\text{C}$  1,11%) y del oxígeno ( $^{16}\text{O}$  99,76 %,  $^{17}\text{O}$  0,038 %).

El análisis detallado de los espectros de masas, mostró una pequeña señal de 29 unidades de masa atómica (u) que podría corresponder a la presencia de moléculas de etileno en el que uno de los C fuera el isótopo  $^{13}\text{C}$  cuya abundancia es, aproximadamente del 1,11 %. El CO puede dar este ión a partir del isótopo  $^{13}\text{C}$  (1,11 %), ya que la presencia de  $^{17}\text{O}$  es despreciable. Por su parte el gas nitrógeno ( $\text{N}_2$ ) podría darlo si en su molécula están presentes ambos isótopos  $^{14}\text{N}$  y  $^{15}\text{N}$ .

De los tres gases considerados, la abundancia relativa del ión  $m/z$  29 fue mayor para el etileno, con un valor de 2,24 %, que se corresponde muy aproximadamente al valor que presentan aquellas moléculas que contienen los dos átomos de C en su forma isotópica  $^{13}\text{C}$ . Para  $\text{N}_2$  la abundancia del ión  $m/z$  29 fue del 0,76%, correspondiente a la presencia del 0,38% del  $^{15}\text{N}$  natural.

En el caso del nitrógeno apareció también el ión  $m/z = 14$  con una significativa abundancia relativa, que correspondería a la transición  $\text{N}_2^+ \rightarrow \text{N}^+ + \text{N}$ . Por su parte el CO da lugar a los iones de  $m/z$  12 y 16 ( $\text{C}^+$  y  $\text{O}^+$ ).

El espectro de masas del etileno fue muy diferente, con picos a  $m/z = 27$ , 26 y 25, entre otros, correspondientes a distintos fragmentos resultantes de la pérdida de átomos de hidrógeno.

Una vez identificado inequívocamente el etileno, la tasa de emisión calculada fue muy baja, inferior a 0,1  $\mu\text{L}/\text{kg}\cdot\text{h}$ , en el límite de detección de la metodología de cromatografía gaseosa empleada. Por lo tanto, se puede concluir que la manipulación de la alcachofa (desbracteado y corte) prácticamente no influye en la tasa de producción de etileno. Estos resultados son similares a los reportados por Suslow y Cantwell (1997) en UC Davis y Kader (2002).

De los estudios previos realizados sobre los procesos metabólicos, se concluye que la elaboración de corazones de alcachofa en IV Gama precisa de un control estricto de la atmósfera de envasado y una serie de tratamientos compatibles que ayuden a controlar el proceso respiratorio. La tasa de producción de etileno, sin embargo, fue tan baja que no es un parámetro a tener en cuenta durante la manipulación.

### **5.3.Desarrollo de elaborados de alcachofa en IV Gama**

La alcachofa en IV Gama que se ha desarrollado es un producto a base de corazones frescos, sin tratamiento térmico, preparados en láminas y envasados, listos para consumir o cocinar. Como no se aplica tratamiento térmico para la eliminación de patógenos, la alcachofa mínimamente procesada debe ser manipulada adecuadamente para prevenir la contaminación, y debe conservarse bajo refrigeración para evitar la proliferación microbiana. Para controlar las alteraciones y prolongar su vida comercial, además del mantenimiento de la cadena de frío, la alcachofa en IV Gama debe envasarse en atmósfera modificada (AM). Este método no sólo permite el control de la biocarga, sino que junto al uso de tratamientos antioxidantes previene el pardeamiento en las zonas de corte del vegetal.

La alta susceptibilidad de pardeamiento, elevada tasa respiratoria y la producción de metabolitos del proceso fermentativo de la alcachofa, hacen que sea importante optimizar las condiciones de manipulación de los capítulos, disoluciones de tratamiento, y las condiciones y atmósfera de envasado.

### 5.3.1. Estudios de laboratorio

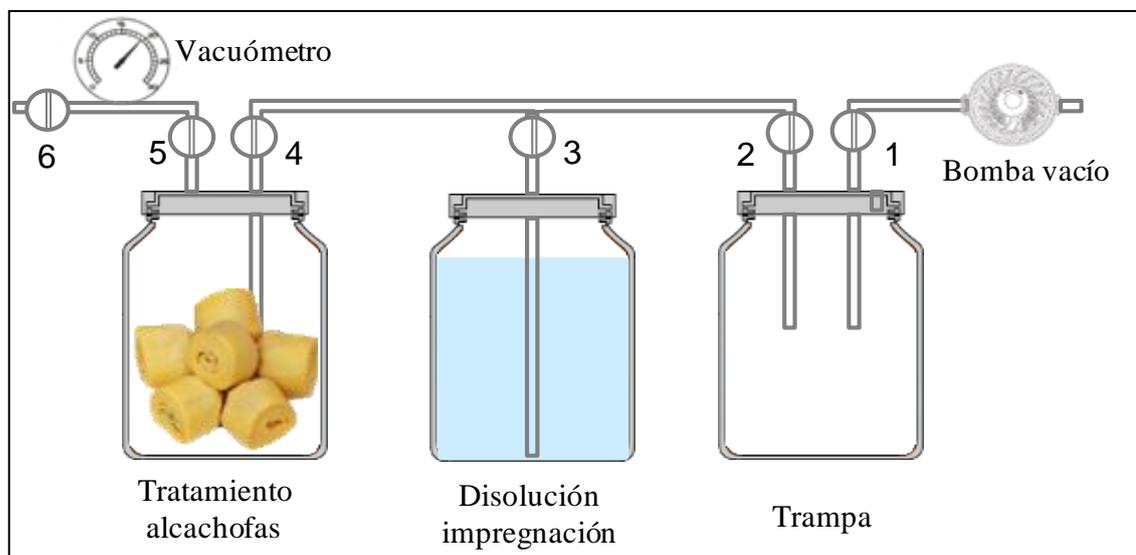
Previamente a la elaboración industrial, se realizaron diferentes estudios de laboratorio para determinar las condiciones adecuadas para la conservación y envasado de la alcachofa mínimamente procesada. Para ello se ensayaron diferentes tratamientos de inmersión en soluciones antioxidantes, así como la modificación de la composición de la atmósfera de envasado.

Para los estudios de laboratorio se utilizó una envasadora ORVED VM-12 manual (fig. 5.30) y bolsas de plástico barrera CRYOVAC® BDF 750 (Anexo I). Además, se desarrolló un sistema piloto para la desaireación e impregnación, previo al envasado, que sirvió como herramienta útil para el desarrollo de la metodología a utilizar en planta.



Fig. 5.30. Envasadora manual ORVED VM-12

La figura 5.31 muestra el esquema de dicho dispositivo. Los tres frascos o reservorios que contiene son herméticos. Cuando las válvulas 3 y 6 se encuentran cerradas y el resto abiertas, la succión de la bomba de vacío extrae el aire del reservorio destinado al tratamiento de las alcachofas. Así se consigue eliminar la atmósfera ocluida entre las brácteas e incluso el exudado del interior del tejido. Al cerrar el vacío (válvula 2) y abrir la válvula 3, la disolución de impregnación (fría) es desplazada por absorción al depósito de tratamiento. En este momento se reequilibran en parte las presiones e incluso la disolución de tratamiento penetra en el interior del tejido vegetal tras un tiempo de estabilización. La ruptura del vacío residual permite la recuperación del material tratado, o bien su mantenimiento confinado en el envase, para el estudio de la evolución de la atmósfera interior mediante toma de muestras y análisis cromatográfico tal como se describe en el apartado 5.2.



*Fig. 5.31. Dispositivo experimental aplicable al tratamiento del material vegetal y al estudio de la evolución de la atmósfera interior.*

El envasado con la termoselladora ORVED presentó una limitación muy importante ya que no fue posible disminuir el contenido de oxígeno por debajo del 5-7%, incluso después de modificar el control electrónico del aparato para conseguir sucesivas etapas de aplicación de vacío e inyección de nitrógeno.

Un contenido residual de oxígeno del orden del 5 % no es suficiente para que el proceso respiratorio de los corazones de alcachofa se detenga, originando incrementos excesivos del contenido de CO<sub>2</sub> durante el almacenamiento.

No obstante, la termoselladora manual, combinada con el sistema piloto de laboratorio para la desaireación e impregnación, fue el punto de partida para el desarrollo de los elaborados de alcachofa en IV Gama.

### **5.3.2. Estudios en planta piloto**

Los preparados de alcachofa en IV Gama se realizaron en la planta industrial de la empresa Alimer. En dicha planta se preparó una sala de envasado apta para alimentos de IV Gama, independiente del resto de la instalación industrial, de forma que las condiciones higiénicas y de manipulación fueron adecuadas para el procesado.



*Fig. 5.32. Línea de procesado de la empresa Alimer.*

Tras los ensayos de laboratorio se optimizaron las condiciones de procesado y envasado en la misma planta industrial, estableciéndose el siguiente diagrama de flujos para la elaboración de la alcachofa en IV Gama:

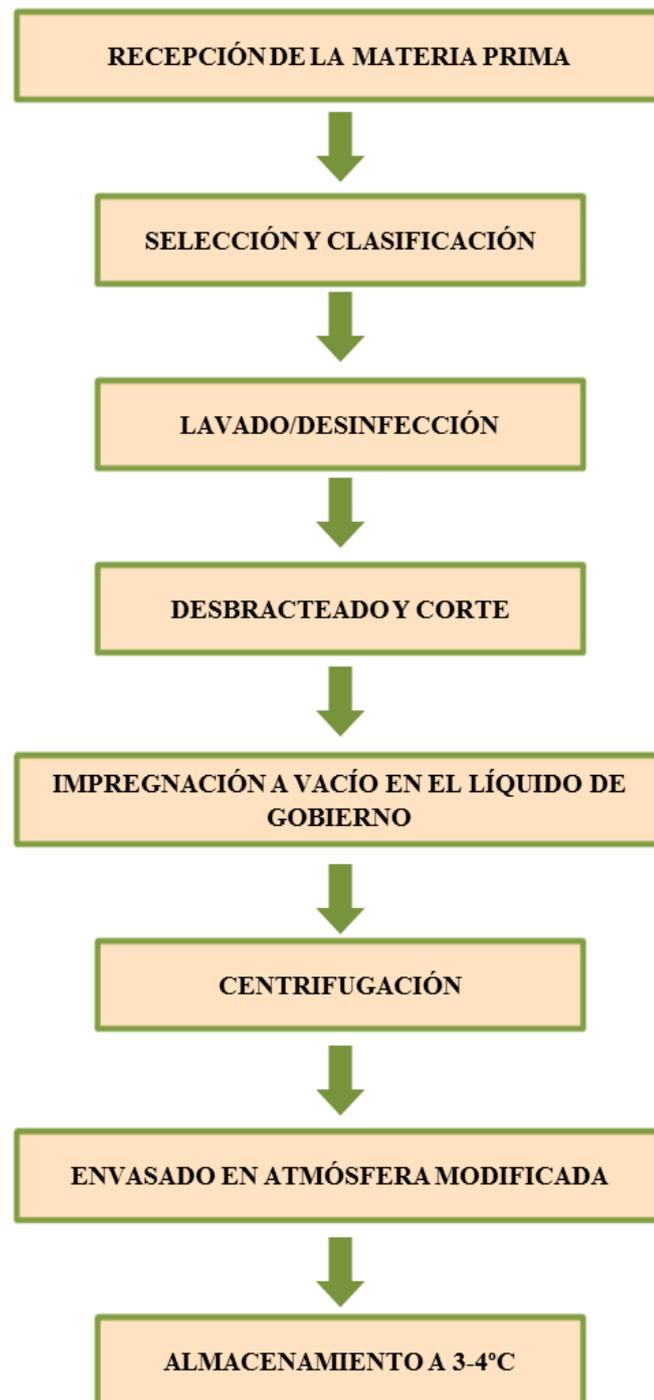


Fig. 5.33. Diagrama de flujo de la elaboración de alcachofa en IV Gama

### 5.3.2.1. Operaciones previas al envasado

#### **Recepción de la materia prima**

La alcachofa utilizada para el procesado en IV Gama fue de la variedad “Blanca de Tudela”, cultivada en una finca propiedad de la empresa Alimer. La materia prima se recibió en la planta piloto de la empresa, procesándose en el mismo día de su recolección.

#### **Selección y clasificación**

Se detectaron y separaron las alcachofas defectuosas y, posteriormente, se procedió a la clasificación según su diámetro, seleccionando las alcachofas de tamaño uniforme, que no presentaban defectos.

#### **Lavado/ Higienizado**

Las alcachofas íntegras se sometieron a una limpieza inicial para eliminar restos de tierra, moho, hierbas o microorganismos. El lavado se realizó con agua fría (4-5 °C) en una proporción aproximada de 10L/kg. El agua utilizada estaba tratada mediante el aporte de hipoclorito de sodio al nivel de 150 ppm. Además toda la sala de procesado se limpió y desinfectó, así como todo el material utilizado para producir los elaborados.

Para comprobar la limpieza de las superficies de trabajo se utilizó un luminómetro *Clean-Trace*<sup>®</sup> NG (3M) basado en la técnica de bioluminiscencia para la detección de adenosín trifosfato (ATP). El ATP es una molécula presente en todo tipo de materia orgánica y es la



Fig. 5.34. Luminómetro *Clean-Trace NG*

unidad de energía universal utilizada por las células vivas. Una elevada presencia de ATP en una superficie indica una limpieza incorrecta o algún tipo de contaminación, como consecuencia de residuos de alimentos, suciedad existente, microorganismos, etc.

Para medir el ATP de una superficie con este aparato se usa un hisopo de muestreo humedecido con una solución que permite retener el ATP. Al pasar el hisopo por la superficie a examinar se recoge el ATP de células microbianas, además de ATP libre que se encuentra en los residuos de los alimentos. El reactivo que está dentro del bulbo del dispositivo está formado por una enzima que se encuentra en las luciérnagas llamada luciferasa. Cuando esta enzima entra en contacto con el ATP reacciona y emite luz. La emisión de luz cuantificada por el luminómetro, en Unidades Relativas de Luz (RLUs), es directamente proporcional a la cantidad de ATP, dando así una medida cuantitativa de la limpieza de la superficie.

### **Desbracteado y corte**

Se eliminaron las brácteas externas fibrosas y los pedúnculos de la alcachofa, perfilándose el corazón de forma manual con cuchillos bien afilados. Los corazones se cortaron en láminas de aproximadamente 0,5 cm de grosor.

### **Impregnación a vacío en el líquido de gobierno**

Las alcachofas laminadas, inmediatamente se sumergieron en una disolución antiparadeante en el interior de una desaireadora (Sammic SV-T) (fig. 5.35).

El tratamiento consistió en la realización de un vacío durante 1,5 min para eliminar el aire de la cámara, el aire ocluido entre las brácteas, e incluso dentro del propio tejido. Se rompió el vacío para forzar a la disolución de tratamiento a penetrar en



*Fig. 5.35. Desaireadora (Sammic SV-T)*

la zona periférica y los poros del tejido (proceso de impregnación). La duración del vacío fue la suficiente para eliminar el aire y evitar la pérdida de textura debida a la compresión del vegetal. Además, el tiempo de impregnación fue de 1 min, de manera que el tejido no quedó excesivamente humedecido. Al sustituir el aire contenido entre las brácteas y los poros del tejido, los corazones de alcachofa aumentaron su densidad de manera que dejaron de flotar en la disolución.

### **Centrifugación**

Tras el proceso de impregnación, el material vegetal se sometió a una centrifugación suave para eliminar el exceso de líquido de tratamiento retenido entre las brácteas, para evitar exudaciones durante el almacenamiento. No obstante la centrifugación también debe controlarse de forma adecuada pues si es excesiva el producto pierde su aspecto de fresca durante el almacenamiento.

#### **5.3.2.2. Envasado final y almacenamiento del producto**

##### **Envasado en atmósfera modificada**

Las láminas de alcachofa se colocaron, de forma simétrica, en barquetas para su posterior envasado (8 láminas por barqueta). El peso final de la barqueta con el producto fue de aproximadamente 150g.

El envasado se realizó en la termoselladora ULMA Smart-300 (fig.5.36). Esta máquina semiautomática se usa para el envasado de productos alimenticios en atmósfera modificada. El proceso comienza con la introducción manual de las bandejas con producto en los 4 alojamientos del molde. Activando simultáneamente los dos pulsadores de marcha, la máquina realiza automáticamente las siguientes operaciones:

- Introducción del molde con las bandejas al módulo de sellado.
- Vacío
- Inyección de gas
- Cierre del envase por sellado del film de tapa a la bandeja.
- Corte de film de tapa.
- Extracción del molde.



Fig. 5.36. Termoselladora ULMA Smart-300

Para extraer las bandejas ya selladas, los moldes se elevan ligeramente de forma automática sobre su alojamiento, para facilitar la extracción.

### **Envases y film de envasado**

Para el envasado se utilizaron barquetas de material barrera a los gases, constituidas por material termoformado de polietileno, Etilen-Vinil-Alcohol y poliéster (PET-EVOH-PE). Las barquetas termoformadas con este material son resistentes, flexibles y transparentes, presentando una excelente barrera contra el oxígeno. La capa de EVOH suele ser intermedia ya que este material es higroscópico; la capa de polietileno es adecuada para la soldadura.

Las barquetas utilizadas fueron del modelo G-27 de dimensiones 173x130x27 mm, adecuadas a la horma de la máquina de envasado. Fueron suministradas por Dynaplast, empresa del grupo COOPBOX. Las características se muestran en la hoja técnica mostrada en el Anexo II.

El film de sellado fue del tipo coextruido PET-EVOH-PE tipo Onalid TV suministrado por ULMA. Las características técnicas se muestran en el Anexo III.

Tanto las barquetas como el film cumplen los requisitos establecidos por la Directiva comunitaria (CE) 1935/2004 que regula los materiales destinados a estar en contacto

con los alimentos, así como la legislación comunitaria específica para plásticos destinados a estar en contacto con los alimentos (UE) N° 10/2011. Además cumplen el Reglamento (CE) 2023/2006 que establece las buenas prácticas de fabricación aplicables a todos los materiales en contacto con alimentos.

### Atmósfera de envasado

Como gases de envasado se ensayó el comportamiento del N<sub>2</sub> (99,9 %) Aligal 1 de Air Liquide España, S.A., y de la mezcla N<sub>2</sub> / CO<sub>2</sub> (70 % / 30 %) Aligal 13. En la figura 5.37 se muestra la evolución del contenido de CO<sub>2</sub> en el interior de los envases de alcachofa en IV Gama, para cada tipo de atmósfera modificada, durante 25 días.

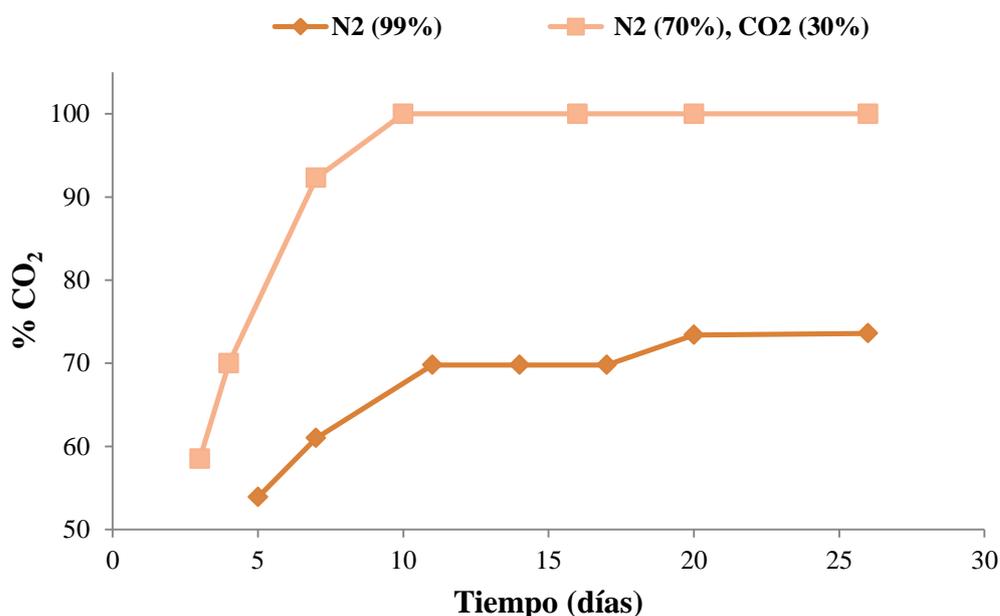


Fig. 5.37. Variación del contenido de CO<sub>2</sub> en el interior de los envases de alcachofa en IV Gama según la atmósfera de envasado

La utilización de un gas con alto contenido en CO<sub>2</sub> se basó en la consideración de que es adecuado para la inhibición de mohos y bacterias aeróbicas Gram negativas, como las pertenecientes al orden *Pseudomonadales* tales como los géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter* o *Moraxella*. Por otra parte, aunque las condiciones de anoxia pueden favorecer las bacterias anaeróbicas como *Clostridium* y *Lactobacillus*, siendo especialmente peligroso el primero por ser generador de toxinas, la disolución del CO<sub>2</sub> en el agua contenida en las alcachofas produce una acidificación que inhibe el crecimiento microbiano.

Sin embargo, cuando se partía de una atmósfera excesivamente rica en CO<sub>2</sub> la tasa respiratoria residual elevaba excesivamente el contenido de dióxido de carbono en el interior de los envases. En esta situación la decoloración de los pigmentos clorofílicos residuales en los corazones de alcachofa se ve muy acelerada, perdiendo éstos su aspecto de producto fresco a los pocos días.

Para solventar esta situación, pero trabajando siempre en condiciones de ausencia de oxígeno para limitar el pardeamiento, se estudió el envasado usando como gas modificador nitrógeno exclusivamente. En esta situación la tasa respiratoria de los corazones en presencia del oxígeno residual eleva el contenido de CO<sub>2</sub> hasta un nivel adecuado para la inhibición de mohos y bacterias aeróbicas, sin afectar de forma tan intensa a la pigmentación clorofílica.

Los parámetros de la termoselladora que se optimizaron fueron:

- Tiempo de gas: el tiempo de inyección de gas dentro del envase fue de 10s.
- Presión externa: la presión de la bala del gas de relleno fue de unos 2 b.
- Consigna de vacío: es el valor de vacío a realizar en el interior del envase. Se seleccionó un valor de 200mb.
- Consigna de gas: el valor de gas a inyectar en el envase fue de 300mb
- Temperatura de sellado: 170°C
- Tiempo de soldadura: el tiempo durante el cual se llenó el envase fue de 3,5s.

### Almacenamiento

Las barquetas de alcachofa en IV Gama se almacenaron en una cámara de refrigeración a 3°C para su posterior seguimiento químico-físico y microbiológico.

Para la distribución minorista las barquetas se introdujeron en una funda de cartón fino, como alternativa al serigrafiado directo del material plástico (Fig. 5.38).



Fig. 5.38. Corazones de alcachofa en IV Gama

#### **5.4. Control físico-químico y microbiológico de los elaborados de alcachofa en IV Gama durante su almacenamiento**

Durante el almacenamiento del producto a base de corazones de alcachofa mínimamente procesados y envasados en AM, en el interior del envase se producen cambios en la composición de la atmósfera como consecuencia del proceso respiratorio del vegetal y del metabolismo microbiano. Aunque el uso de AM y el almacenamiento a baja temperatura retardan la alteración del producto, es importante evaluar los cambios que se producen. El estudio químico-físico y microbiológico de las alcachofas en IV Gama almacenadas a 3°C permite evaluar la calidad y seguridad de estos preparados.

Se llevó a cabo el control y seguimiento durante más de 4 meses, de dos series de alcachofa elaborada en IV Gama bajo las condiciones descritas en el apartado 5.3. Las series se envasaron en AM con N<sub>2</sub> (99 %), diferenciándose en el pH de las disoluciones de impregnación: A (pH<sub>inicial</sub> de 4,4) y B (pH<sub>inicial</sub> de 4,1). Cada serie estaba formada por un mínimo de 70 bandejas, de forma que el número de muestras fuese el suficiente para realizar los análisis con sus respectivas repeticiones. Cada análisis se llevó a cabo por triplicado.

#### 5.4.1. Evolución de las características químico-físicas

##### 5.4.1.1. Humedad de los elaborados

La importancia del estudio de este parámetro deriva del hecho de que la pérdida de humedad durante el almacenamiento de los elaborados de alcachofa en IV Gama, da lugar a que el material vegetal se arrugue y marchite, perdiendo calidad.

La transpiración del material vegetal en el envase aumenta si la humedad relativa que rodea al producto no es la adecuada, situación que está relacionada con una permeabilidad inadecuada del material de envasado al vapor de agua. Para evaluar estos aspectos se llevó a cabo el estudio de la evolución de la humedad de los corazones de alcachofa durante un periodo de tiempo de unos 60 días; la metodología utilizada fue la desecación en estufa hasta peso constante.

Estudios realizados en alcachofa mínimamente procesada por autores como Giménez y col. (2003), Del Nobile y col. (2009) y Aboul-Anean y col. (2013), muestran que la pérdida de peso del material vegetal tiende a aumentar durante el almacenamiento como consecuencia de la pérdida de humedad.

La humedad de los elaborados A y B no mostró disminución apreciable (figura 5.39) durante el almacenamiento a 3°C; lo que pone de manifiesto la adecuada impermeabilidad al vapor de agua del material de la barqueta y del film de sellado.

En nuestras experiencias, la ausencia de pérdidas de peso del producto durante el almacenamiento, contrasta con los resultados obtenidos por Aboul-Anean y col (2013) para alcachofas frescas, cortadas, sumergidas en disoluciones antiparodeantes, tratadas con recubrimientos comestibles, y envasadas en atmósfera normal. En estas condiciones, los autores encontraron pérdidas de peso del 4 al 8 % a los 12 días de almacenamiento a 4°C. Del Nobile y col. (2009) evaluaron la evolución de peso de los elaborados durante 7 días, observando pérdidas entre el 1 y el 8 % dependiendo del film

de envasado. Giménez y col. (2003) usando como disolución antipardeante la mezcla de ácido ascórbico y cítrico, obtuvieron pérdidas de peso al cabo 15 días de envasado entre el 0,5 y el 4 % según el film utilizado. La ausencia de pérdida de humedad puede ser atribuible al método de impregnación usado que contribuye al aumento de la humedad relativa de la atmósfera que rodea al producto, impidiendo que el material vegetal tenga una transpiración excesiva.

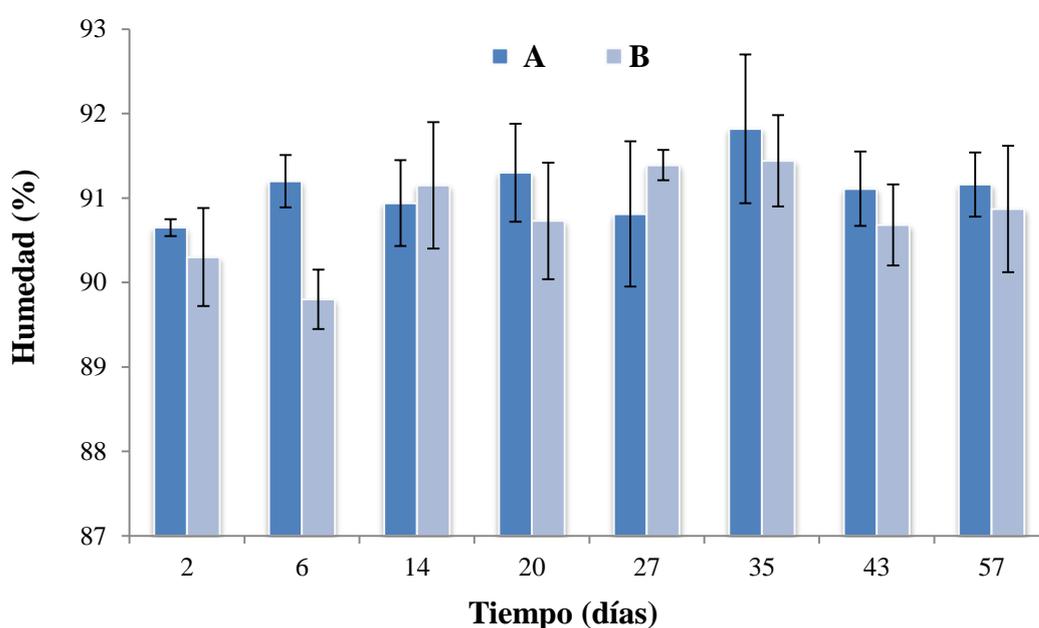


Fig. 5.39. Variación del contenido de humedad de los corazones laminados en las series A y B

Para evaluar la posible existencia de diferencias en el contenido de agua de los elaborados durante el tiempo de conservación se realizó un análisis ANOVA de dos factores. Los resultados se muestran en la tabla 5.16, junto a los datos correspondientes a los restantes parámetros físico-químicos estudiados.

Atendiendo a este análisis se encontró la ausencia de diferencias significativas entre la humedad media de las series A y B, con independencia del periodo de conservación; y

considerando que las series se diferenciaban en el pH, se puede concluir que la acidez de las disoluciones de impregnación no afectó a la humedad de los elaborados. Además se corrobora que no existen variaciones importantes en el contenido de agua durante el periodo de conservación, ni diferencias entre las dos series de estudio durante el almacenamiento.

El rango de humedad de ambas series estuvo comprendido entre el 89 y el 92 %, con un valor medio de  $90,96 \pm 0,63$ , ligeramente superior al que presentan las brácteas internas frescas sin elaborar (88 %). Este pequeño incremento de la humedad es debido al proceso de impregnación y a la pequeña cantidad de disolución de tratamiento que queda adherida a las brácteas tras la etapa de centrifugación.

#### **5.4.1.2. pH de los elaborados**

El pH es un parámetro de control muy importante durante el almacenamiento de productos vegetales en IV Gama, ya que influye sobre el desarrollo de microorganismos de alteración y/o patógenos, y afecta a los procesos de pardeamiento enzimático al influir sobre la acción de las enzimas responsables. El pH en el interior del envase puede variar durante el almacenamiento debido a la biocarga presente en el alimento, y a la producción de CO<sub>2</sub> durante la respiración del vegetal.

En las conservas tradicionales de alcachofa, al tratarse de una hortaliza de baja acidez, se suele envasar en salmueras con pH comprendido entre 4,1 y 4,5 siendo este último valor el habitual. En la investigación se ha estudiado la evolución de la acidez de las dos series de elaborados de alcachofa en IV Gama, que se diferencian en el pH de la disolución de impregnación ( $pH_B=4,1$  y  $pH_A=4,4$ ), para comprobar su evolución durante la conservación (fig. 5.40).

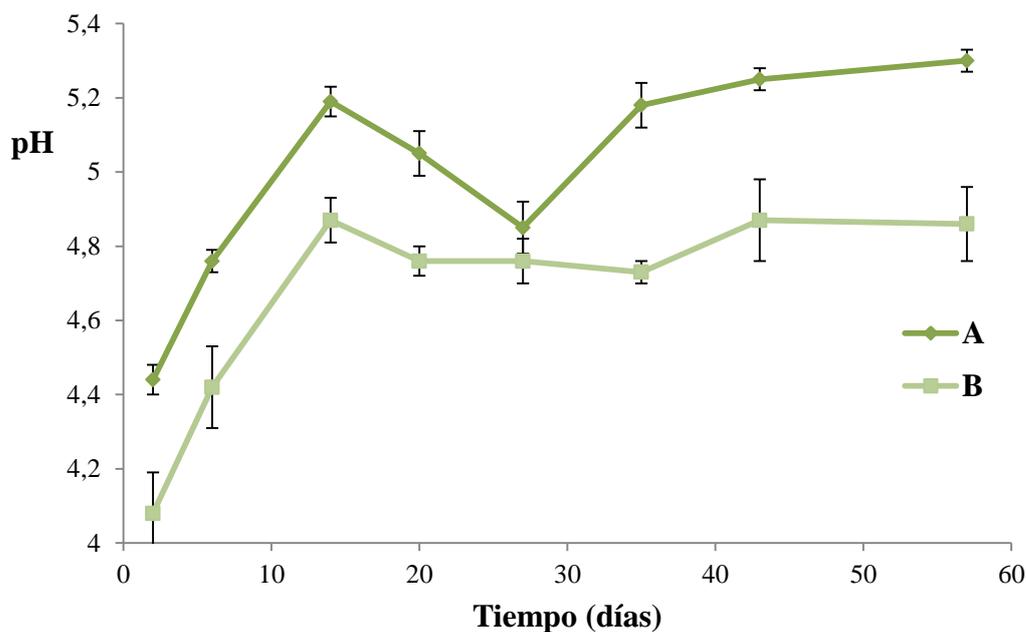


Fig. 5.40. Evolución del pH de los corazones de alcachofa laminados en IV Gama durante el periodo de almacenamiento

Para evaluar la posible existencia de diferencias entre el pH de las dos series de elaborados, se realizó un análisis de varianza de dos factores (tiempo de almacenamiento y tipo de serie) que se muestra en la tabla 5.16 de forma conjunta con los otros parámetros físico-químicos.

En ambas series de elaborados, el pH varió significativamente durante el tiempo de almacenamiento, aumentando durante los 14 primeros días como consecuencia de los procesos fisiológicos y el aumento de la carga microbiana. Los microorganismos son capaces de consumir ácidos orgánicos y por lo tanto reducir la acidez presente en el vegetal. Esta tendencia fue reportada por Aboul-Anean y col (2013), que encontraron un aumento de pH durante un periodo de almacenamiento de 28 días, para alcachofas cortadas, tratadas con cítrico y/o cloruro de calcio, y/o recubiertas con alginato de sodio, envasadas y almacenadas a 4°C.

Este aumento de pH también ha sido descrito para otras frutas y hortalizas mínimamente procesadas tales como manzanas (Murata y col., 1995), zanahorias (Barry y O'Beirne, 2000) y nopal (Fortiz-Hernández y Rodríguez-Félix, 2010).

Tras los 14 primeros días se produjo una ralentización en el aumento del pH, tendiendo a una situación de estabilidad que puede ser consecuencia de la generación de elevadas cantidades de dióxido de carbono que, al disolverse en fase acuosa, acidifica el medio (fig. 5.41). Esta disminución del pH también fue reportada por Manjula y col. (2013) para piña mínimamente procesada.

El pH medio de los elaborados, independientemente del tiempo de almacenamiento, fue significativamente superior para la serie A (disolución de impregnación de  $pH_{inicial}$  más elevado). Además, los incrementos de pH fueron claramente superiores para esta serie, comparados con los de la serie B, durante todo el tiempo de conservación.

Algunos autores han estudiado la variación de pH durante el almacenamiento de alcachofa mínimamente procesada: Giménez y col. (2003) evaluaron dicha variación para el cultivar "Blanca de Tudela", desinfectada, cortada, sumergida en disolución de ácido cítrico y ascórbico, envasada y almacenada a 4°C durante 15 días, obteniendo pHs entre 6,3 y 6,9. Del Nobile y col. (2009) llevó a cabo el mismo estudio sobre alcachofas de la variedad "Madrigal", cortadas, desinfectadas, sumergidas en disolución de ácido cítrico y cloruro de calcio y/o recubiertas con alginato de sodio, envasadas y almacenadas a 4°C durante 6 días. Estos autores encontraron que el pH de las muestras varió entre 5,3 y 5,8. Aboul-Anean y col (2013) obtuvieron valores de pH que oscilaron entre 5,96 y 7,41 dependiendo del tipo de tratamiento utilizado.

Los resultados obtenidos en esta investigación han sido inferiores a los obtenidos por los autores mencionados anteriormente, variando el pH para la serie de elaborados A entre 4,4 y 5,3, mientras que para la serie B estuvo comprendido entre 4,1 y 4,9.

En las conservas tradicionales o en alcachofas preparadas en V Gama, una salmuera o líquido de gobierno de pH comprendido en el mismo rango de nuestros ensayos muestra menores fluctuaciones. Avitia y col. (2008) en un producto constituido por alcachofa cortada, escaldada en una disolución de ácido cítrico a 98°C, envasada en AM y

almacenada a 3°C, encontraron que el pH prácticamente no variaba durante 22 días de almacenamiento (5,03-5,12). Esto es debido a que el tratamiento térmico de conservación detiene los procesos fisiológicos y microbiológicos del tejido vegetal, y que la relación peso alcachofa/volumen salmuera es muy inferior.

Ala vista de los resultados obtenidos, se considera más adecuado realizar los tratamientos de impregnación con disoluciones de pH más bajo (4,1), ya que se consigue un pH final más adecuado en el producto sin afectar a las características organolépticas.

#### **5.4.1.3. Evolución de la atmósfera interior de los envases**

La proporción de gases en el interior de un envase que contiene productos vegetales cambia durante el periodo de almacenamiento por la influencia de factores tales como la tasa respiratoria, procesos bioquímicos, o la difusión de los gases a través del film de envasado, entre otros. Conseguir un equilibrio en esta atmósfera es imprescindible para garantizar la calidad de los elaborados. Una forma de acelerar la consecución de las condiciones de equilibrio es mediante la creación de un vacío parcial en el envase y la inyección de gases (AM), que disminuyen los procesos metabólicos del vegetal.

Como se comprobó en los ensayos iniciales de laboratorio, la mejor forma de bloquear el pardeamiento enzimático y optimizar la conservabilidad de la alcachofa pelada y/o laminada, es la generación de una atmósfera carente de oxígeno que consigue reducir la tasa respiratoria, la generación de off-flavours y frenar el crecimiento de microorganismos aerobios.

Para generar esta atmósfera en nuestras experiencias, los parámetros de la máquina envasadora se ajustaron tal como se expone en el apartado 5.3.2.2, a fin de conseguir una eliminación prácticamente total del oxígeno mediante un vacío previo a la inyección del N<sub>2</sub> (99 %). El film que se utilizó fue de alta barrera para limitar la difusión del oxígeno durante la conservación. Para mejorar la estabilidad de la

atmósfera interior, se envasó con una ligera sobrepresión de gas para limitar la posible intrusión de la atmósfera exterior. Se estudió la evolución de la atmósfera en el espacio de cabeza de dos series de elaborados preparadas con disoluciones de impregnación de distinto pH (A y B).

Tras el proceso de impregnación y el envasado en AM, se logró eliminar casi todo el O<sub>2</sub> del interior de los envases, llegando a obtener concentraciones residuales del 2 % tras el envasado, en ambas series de elaborados. Este valor decreció rápidamente al 0 % debido a la respiración del vegetal, estabilizándose a las 48 h de almacenamiento. De este modo, el escaso O<sub>2</sub> que pueda difundir a través del film y el retenido en los poros del tejido vegetal es consumido durante la respiración.

Giménez y col. (2003) estudiaron la evolución del oxígeno en distintos envases “no perforados” de alcachofa mínimamente procesada, obteniendo valores estables comprendidos entre el 3 y el 8 % a las 48 h de almacenamiento, dependiendo de la permeabilidad del envase. Estos autores no lograron contenidos de O<sub>2</sub> tan bajos como en la presente investigación debido a que no emplearon procesos de impregnación a vacío ni usaron AM, por lo que no lograron extraer todo el oxígeno presente en el envase o el ocluido en el material vegetal.

El consumo de oxígeno está directamente relacionado con la producción de CO<sub>2</sub>. Este último se va acumulando en el interior del envase hasta que la elevada concentración en la atmósfera interna hace que difunda al exterior hasta alcanzar un equilibrio, dependiendo de la permeabilidad del film. Al mismo tiempo, la proporción de N<sub>2</sub> inyectado en el envase va disminuyendo como consecuencia de la producción de CO<sub>2</sub> que lo desplaza y fuerza su difusión a través del envase. La existencia de altas concentraciones de CO<sub>2</sub> durante la conservación de productos vegetales en IV Gama minimiza los procesos metabólicos y disminuye el pH de los tejidos, evitando el crecimiento de microorganismos.

La figura 5.41 muestra la evolución de la concentración de CO<sub>2</sub> en el espacio de cabeza. Transcurridas 48 horas del envasado, el contenido de CO<sub>2</sub> alcanzó un 50 % y continuó aumentando significativamente en días sucesivos en las dos series de elaborados. El

incremento de la concentración de dióxido de carbono es interpretable considerando que la actividad metabólica del material vegetal no se destruye en los tratamientos previos de envasado; y aunque la atmósfera inicial tiene un contenido de oxígeno muy bajo, las pequeñas cantidades de oxígeno de la atmósfera exterior que penetran a través del film, además del oxígeno que queda ocluido en el tejido, permiten mantener una cierta tasa respiratoria suficiente para generar nuevo CO<sub>2</sub>. Entre los 20 y los 27 días de envasado la actividad disminuye y la atmósfera se estabiliza. En los estudios de Campus y col. (2007) con alcachofas de la variedad “Spinoso Sardo” mínimamente procesadas y envasadas en AM (5 % O<sub>2</sub>, 5 % CO<sub>2</sub> y 90% N<sub>2</sub>), y en los de Giménez y col. (2003), la concentración de CO<sub>2</sub> en el interior de los envases siguió la misma tendencia que en nuestras experiencias, aumentando hasta llegar a un cierto equilibrio. Sin embargo, estos autores reportaron contenidos de CO<sub>2</sub> menores (entre el 5 y el 30 % a los 10 días de envasado) a los encontrados en esta investigación. Estas diferencias se pueden atribuir a la distinta permeabilidad a los gases de los envases usados.

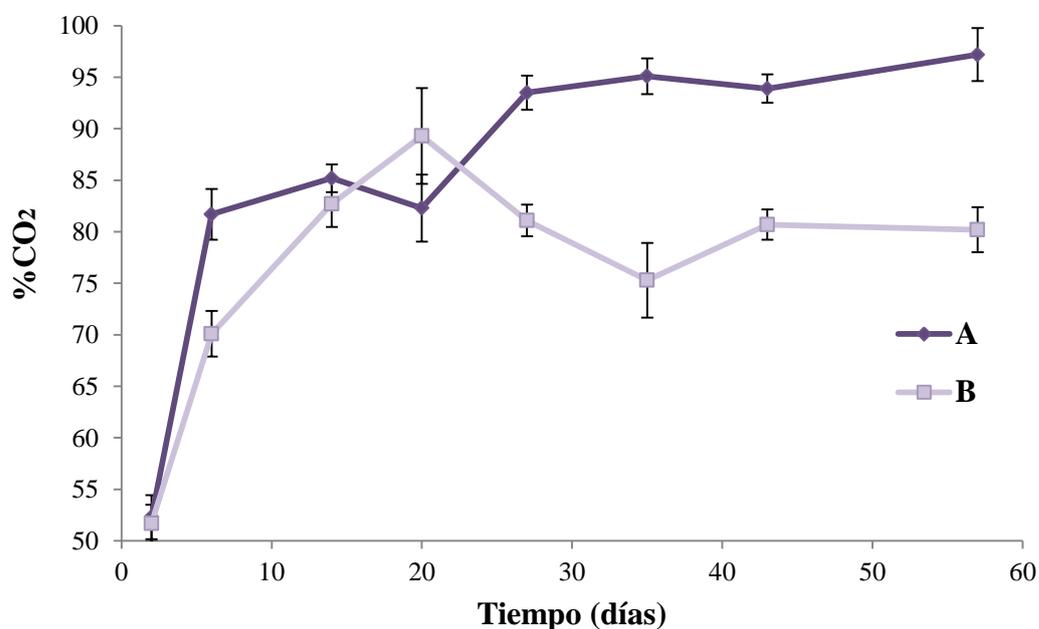


Fig. 5.41. Evolución del contenido de CO<sub>2</sub> en el interior de las barquetas de alcachofa en IV Gama durante el almacenamiento

El pH es uno de los principales factores que, junto con la temperatura, influyen sobre la actividad de las enzimas que intervienen en los procesos metabólicos. En la figura 5.41 se observa claramente que el porcentaje de CO<sub>2</sub> en el interior de los envases de la serie de elaborados B (pH= 4,1) fue significativamente menor que el encontrado para la serie A (pH= 4,4) (tabla 5.16). Este resultado equivale a una menor actividad metabólica para los elaborados producidos a pH 4,1 siendo este pH, por lo tanto, más adecuado para conseguir una atmósfera final más equilibrada.

#### 5.4.1.4. Control del contenido de ácido ascórbico

La alcachofa es una hortaliza rica en ácido ascórbico (AA) o vitamina C, con un contenido medio comprendido entre 60 y 120 mg/kg en la parte comestible, dependiendo del estado de desarrollo y la variedad (Cabezas Serrano y col., 2009). Además de su calidad como nutriente, el ácido ascórbico es un buen antioxidante natural capaz de bloquear distintos tipos de procesos oxidativos; en concreto, el pardeamiento enzimático se inhibe mediante la reducción de *o*-quinonas a *o*-difenoles, y mediante el secuestro del oxígeno que necesita la PPO para la oxidación enzimática. No obstante, el contenido natural de ácido ascórbico en la alcachofa no es suficiente para inhibir el pardeamiento enzimático de esta hortaliza cuando se manipula para su industrialización, debido al elevado contenido de sustratos polifenólicos y su alta actividad PPO.

Por esta razón, en numerosos estudios para la conservación en fresco de vegetales, el ácido ascórbico es utilizado como antioxidante para prevenir el pardeamiento. Autores como Lattanzio y col. (1989) y Todaro y col. (2010) verificaron el poder antipardeante del AA en alcachofa mínimamente procesada.

El principal problema del uso del AA es que la acción antioxidante implica su oxidación, perdiéndose su actividad vitamínica fácilmente durante el procesado de los alimentos en presencia de oxígeno. Al desbractear y trocear la alcachofa se produce la

ruptura de la compartimentalización en los orgánulos vegetales, favoreciendo el contacto del AA con enzimas como la ascorbato oxidasa, acelerando su destrucción. Esto implica que su actuación antioxidante es temporal; una vez oxidado todo el AA tienen lugar los procesos de pardeamiento. El uso de AM disminuye la cantidad de oxígeno disponible, limitando los procesos de oxidación fenólica y la degradación del AA.

La utilización del AA como antioxidante (E-300) en productos vegetales cortados, pelados, o triturados, refrigerados, envasados y listos para el consumo, está permitida por el Reglamento (CE) N° 1331/2008 y sus modificaciones (UE) N° 1129/2011 y (UE) N° 438/2013 sobre aditivos alimentarios. Aunque en dicho reglamento no se especifica un nivel máximo de uso, se deben emplear cantidades no superiores a las necesarias para conseguir el fin que se pretende.

Con el fin de prevenir el pardeamiento de los elaborados de alcachofa en IV Gama se utilizó ácido ascórbico en la disolución de impregnación, junto a otros compuestos con propiedades antipardeantes, en una proporción unas 20 veces superior a la contenida de forma natural en los corazones de alcachofa, junto a otros compuestos con propiedades antipardeantes. La determinación de la estabilidad del ácido ascórbico en el jugo recién extraído de las alcachofas mínimamente procesadas se realizó por espectrofotometría de reflectancia utilizando el test específico Reflectoquant<sup>®</sup>. La figura 5.42 muestra la evolución del contenido de ácido ascórbico tras el procesado y almacenamiento de los elaborados de alcachofa.

En ambas series (A y B), el contenido de ácido ascórbico decreció rápidamente tras la elaboración hasta estabilizarse transcurridos unos 15 días, manteniéndose estable durante el resto del periodo de almacenamiento. Estas variaciones en la concentración de antioxidante durante el tiempo de conservación fueron significativas (tabla 5.16). La pérdida de AA puede asociarse a la evolución de la atmósfera en el interior de los envases. Durante los primeros días, el contenido de oxígeno residual en los envases, además de la pequeña cantidad que atraviesa la capa de film por difusión se emplea en el proceso de respiración, y también actúa como aceptor final de pares de electrones en

las reacciones de oxidación catalizadas por PPO, y también en la oxidación del AA para reducir las *o*-quinonas producidas.

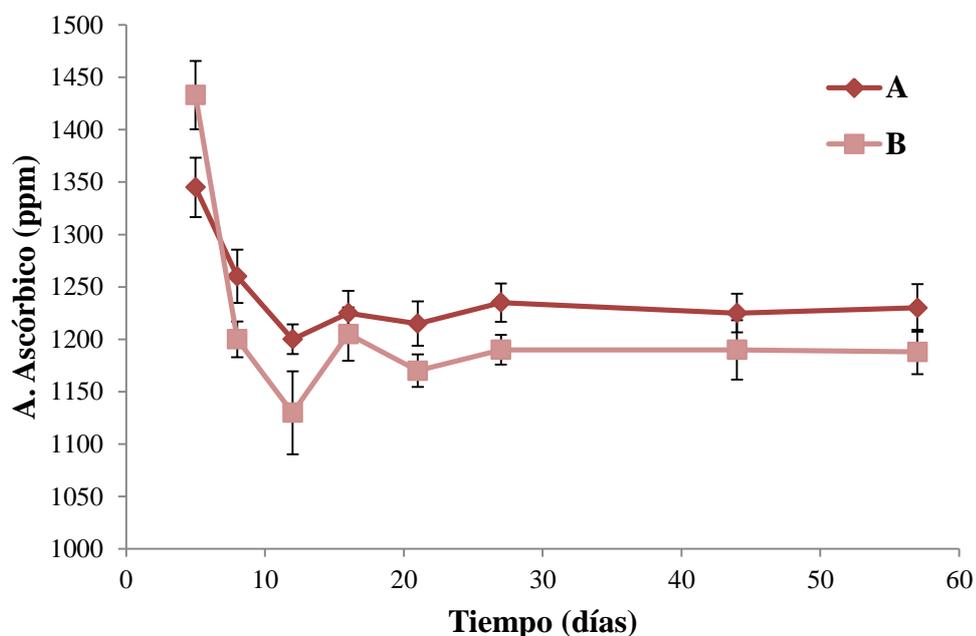


Fig. 5.42. Evolución del contenido de ácido ascórbico durante el almacenamiento de alcachofa en IV Gama

La disminución del contenido de AA endógeno del vegetal durante el almacenamiento, ha sido reportado por Gil- Izquierdo y col. (2001) en alcachofas frescas de la variedad “Blanca de Tudela”, almacenadas durante 14 días. En alcachofas mínimamente procesadas en las que se ha añadido ácido ascórbico junto con otros antipardeantes, Giménez y col. (2003) estudiaron su evolución durante el almacenamiento, mediante la técnica reflectométrica usada en esta investigación. Estos autores también encontraron una leve disminución del contenido de este antioxidante, que disminuyó de 412 ppm tras la inmersión, hasta 380ppm al cabo de 15 días. En otras frutas y hortalizas mínimamente procesadas, como aguacates (Arias y col., 2012), patatas (Sgroppo y col., 2010) o naranjas (Plaza y col., 2011), se observó la misma evolución de los niveles de AA durante el almacenamiento.

Con independencia del tiempo de almacenamiento, el contenido de ácido ascórbico en la serie A (pH=4,4) mostró valores superiores a los obtenidos para los elaborados B (pH=4,1). Estas diferencias, aunque significativas, no fueron muy grandes, del orden de 30 ppm aproximadamente. Estos resultados pueden ser atribuibles a la influencia del pH en la reacción de oxidación del AA. Cuando el ácido ascórbico se disuelve en agua se produce su disociación en función del pH del medio. Dependiendo de la forma química que predomine, la susceptibilidad a la oxidación será mayor o menor.

Tabla 5.16. Análisis de varianza (ANOVA) de los parámetros químico-físicos analizados en los elaborados de alcachofa en IV Gama

Variables	Humedad	pH	%CO <sub>2</sub>	AA
<b>Serie (A y B)</b>	ns	***	***	***
<b>Tiempo de conservación</b>	ns	***	***	***
<b>Serie x Tiempo</b>	ns	*	***	***

\**p*-valor ≤ 0,05 (diferencias significativas para un IC=95%); \*\*\* *p*-valor ≤ 0,01 (diferencias significativas para un IC=99%); ns: *p*-valor > 0,05 (no diferencias significativas)

#### 5.4.1.5. Control del contenido del dióxido de azufre

El SO<sub>2</sub> (E-220) es un aditivo ampliamente utilizado en la industria alimentaria, ya que actúa como antioxidante, antipardeante y antimicrobiano. Su empleo como aditivo alimentario está limitado, ya que en exceso puede producir problemas de diversa índole, como la alteración de sabores y aromas e incluso afectar particularmente a personas sensibles o vulnerables, provocando reacciones alérgicas, dermatitis, dolor de cabeza, asma, lesiones oculares, etc.

La adición de este aditivo a un alimento en cualquiera de sus formas: disulfito (metabisulfito o piro sulfito), hidrógeno sulfito (bisulfito), solución sulfurosa, etc.), produce ácido sulfuroso que, a su vez, se disocia en función del pH del medio dando lugar a diversas formas químicas (fig. 5.43).

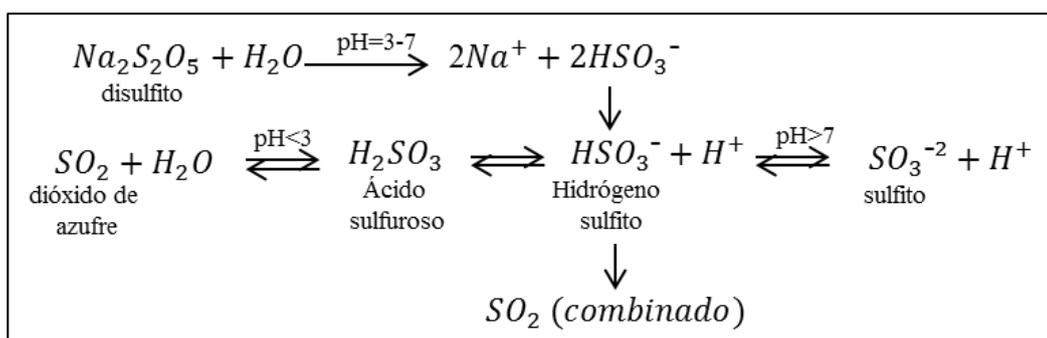


Fig. 5.43. Formas químicas del  $\text{SO}_2$  en función del pH

Estas especies predominarán en el alimento en función de las condiciones del medio (pH, temperatura y fuerza iónica). El dióxido de azufre molecular es el responsable de la actividad antimicrobiana; el sulfito reacciona con el oxígeno y los peróxidos actuando como antioxidante; mientras que el bisulfito es el responsable de la inactivación enzimática. Además, este último es capaz de combinarse con otros compuestos como azúcares, antocianos, acetaldehído, etc., dando lugar a  $\text{SO}_2$  combinado que no presenta actividad.

El interés por este compuesto en la presente investigación radica en su carácter antipardeante. Numerosos autores como Cortez-Vega y col. (2008), Sgroppo y col. (2010) y Uylaşer y col. (2014) han comprobado la efectividad de este aditivo para evitar el pardeamiento en manzanas, patatas y castañas mínimamente procesadas, respectivamente. Por este motivo, en la disolución de impregnación para la elaboración de alcachofa en IV Gama se utilizó disulfito de sodio a baja concentración. Como el pH de las series de elaborados de alcachofa en IV Gama se encontraba entre 4,1 y 4,4, la mayor parte del sulfuroso se encontraba como

hidrógeno sulfito, por lo que el carácter antipardeante del aditivo era el predominante.

Para garantizar que este aditivo se encontrara por debajo del límite establecido por la legislación se estudió su evolución durante el almacenamiento de los elaborados mediante su determinación por la técnica basada en el test de reflectancia del SO<sub>2</sub>.

En todos los análisis de ambas series (A y B) los valores de SO<sub>2</sub> encontrados fueron menores de 1 mg/L, cumpliendo con la limitación contemplada en el anexo II del Reglamento (CE) N° 1331/2008, en la que un nivel de SO<sub>2</sub> inferior a 10 mg/L, para verduras cortadas, peladas, refrigeradas y envasadas, implica su ausencia en el alimento.

#### 5.4.2. Estudio de la biocarga de los elaborados

La alcachofa en IV Gama, al igual que cualquier vegetal que se ha sometido a un proceso mecánico de pelado y corte, es altamente susceptible a la contaminación microbiana. Durante el procesado de la hortaliza, además del aumento de la superficie expuesta, el tejido dañado libera líquido rico en nutrientes que puede ser utilizado por los microorganismos.

Las fuentes de contaminación de los capítulos de alcachofa pueden provenir de la etapa de cultivo o durante el procesado del alimento. Las bacterias y hongos presentes en el suelo son capaces de pasar a las cabezuelas. Además, el uso de abonos de origen animal y el riego con aguas residuales es uno de los focos principales de microorganismos fecales. Otro punto crítico, desde el punto de vista de la seguridad microbiológica, es el personal, utensilios y maquinaria empleada durante la manipulación del vegetal durante la elaboración en IV Gama.

Los principales microorganismos que pueden encontrarse en los productos vegetales en IV Gama suelen pertenecer al grupo de bacterias Gram negativas, destacando las familias *Enterobacteriaceae* y *Pseudomonadaceae*. También es posible encontrar bacterias Gram positivas tales como *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Lactobacillus* y *Listeria*, y algunos tipos de mohos y levaduras.

Durante el almacenamiento, los microorganismos presentes en el producto comienzan a reproducirse utilizando los nutrientes que les suministra el alimento, pasando por 4 fases de crecimiento (fig. 5.44). En la primera, y previamente a la multiplicación microbiana, se produce una fase de acondicionamiento o latencia (a) en la que se produce la adaptación al medio. A continuación tiene lugar el crecimiento exponencial durante el cual el número de colonias aumenta hasta que se agotan los nutrientes necesarios (fase b); a partir de ese momento la multiplicación del microorganismo se iguala a la muerte por falta de alimento (fase c). La tasa o velocidad de crecimiento depende de factores como la temperatura, pH, atmósfera, etc. Finalmente tiene lugar la etapa de muerte celular (d) que conlleva una notable degradación del producto.

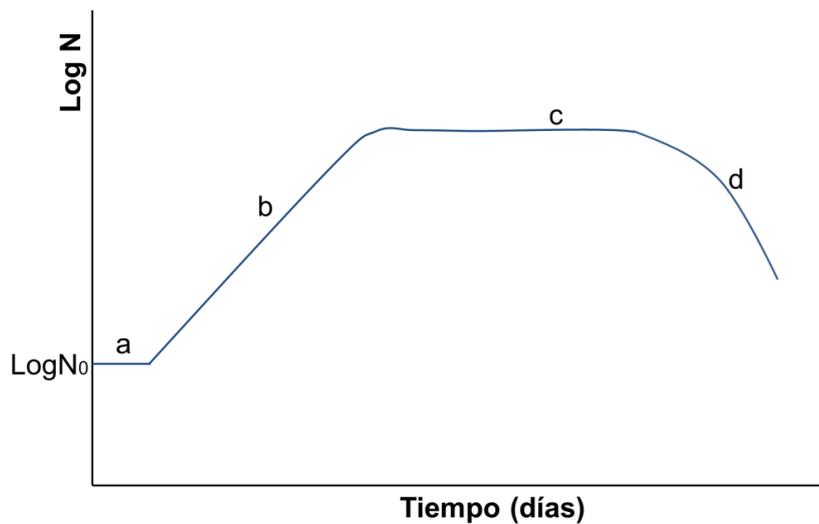


Fig. 5.44. Etapas del crecimiento microbiano de los alimentos

El control de las variables que influyen sobre el crecimiento de la biocarga durante el almacenamiento ayuda a alargar la vida útil microbiológica del alimento, desacelerando los procesos degradativos. Una de las medidas que se llevan a cabo en vegetales en IV Gama es el almacenamiento a baja temperatura, limitando así, el crecimiento de microorganismos mesófilos. El uso de AM también ayuda a controlar la proliferación de ciertas bacterias; así, en condiciones de anoxia y contenidos de CO<sub>2</sub> elevados, se dificulta el crecimiento de bacterias aerobias Gram negativas como las *Pseudomonas*, patógenos como *Salmonella* y *E. coli*, y mohos. Medios con pH igual o inferior a 4 también inhiben el crecimiento de la mayoría de los microorganismos.

El uso de estas técnicas de control en vegetales en IV Gama es muy útil, aunque hay especies de microorganismos patógenos que muestran una alta resistencia a las bajas temperaturas y a las AM, este es el caso de microorganismos anaerobios como *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens* y *Listeria*.

Con el objetivo de estudiar la salubridad de los elaborados de alcachofa en IV Gama conservados a 3°C, se llevó a cabo su control microbiológico. Para ello se estudió la presencia de bacterias tales como *Salmonella*, *Listeria* y *E. coli*, cuyos límites están regulados por la normativa europea (CE) N° 2073/2005 que establece los criterios

microbiológicos aplicables a frutas y hortalizas troceadas, listas para el consumo, modificada por la normativa (CE) N° 1441/2007. Además, se realizó un estudio microbiológico más amplio que incluyó aerobios mesófilos, psicrófilos, enterobacterias, coliformes totales, mohos y levaduras, y *Clostridium* sulfito-reductores.

#### **5.4.2.1. Preparación de la muestra, diluciones y siembra**

Para el recuento de aerobios mesófilos, psicrófilos, enterobacterias, coliformes totales, *E. coli*, mohos y levaduras, y *Clostridium* sulfito-reductores, las muestras se prepararon de la misma forma (ISO 6887-1:1999): se tomaron  $10 \pm 0,1$  g del alimento y se introdujeron en una bolsa de plástico estéril provista de filtro (BagFilter<sup>®</sup>), seguido de 90 mL de agua de peptona tamponada (Biokar), equivalente a una dilución de  $10^{-1}$ . Las bolsas así preparadas se homogenizaban durante 2 min en un Stomacher (IUL Instruments). A continuación, el contenido de las bolsas se mantenía a temperatura ambiente durante 20 minutos. Transcurrido ese tiempo, se realizaban las diluciones necesarias con agua de peptona para conseguir recuentos fiables.

La siembra se realizó, por duplicado, mediante la técnica de vertido en placa (Pour Plate), tomando 1 mL de suspensión de la bolsa o de los tubos de dilución con una micropipeta estéril y depositándola en una placa de Petri. A continuación se añadía 15 mL del medio de cultivo selectivo para cada microorganismo (tabla 5.17) previamente fundido y atemperado a una temperatura inferior a 45°C. Tras la homogenización mediante movimientos de vaivén ligeros, se dejaba enfriar la placa hasta que el medio se solidificaba. Las placas se incubaban en una estufa de cultivo (Binder GmbH BF 53, Tuttlingen, Alemania) a la temperatura adecuada según el tipo de microorganismo (tabla 5.17).

Tabla 5.17. Medios de cultivo y condiciones de incubación adecuadas para los microorganismos de estudio

Microorganismo	Medio de cultivo	Tª Incubación	Tiempo de incubación
Aerobios mesófilos	Plate Count Agar (PCA), Biokar	30°C	72h
Aerobios psicrófilos	Plate Count Agar (PCA), Biokar	20°C	72h
Enterobacterias	Violet Red Bile Glucose (VRBG), Biokar	37°C	24h
Coliformes totales y <i>E. Coli</i>	Rose-Gal BCIG Agar, Biokar	44°C	24h
<i>Mohos y levaduras</i>	Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar (RB), Biokar	25°C	5 días
<i>Clostridium</i> sulfito-reductores	Sulfite Polymyxin Sulfadiazine (SPS), Conda	37°C ( en anaerobiosis)	48h
<i>Salmonella spp</i>	Sesame <i>Salmonella</i> Test, Biokar	Pre-enriquecimiento: 37°C Incubación inóculo: 41°C	18h 24h
<i>Listeria spp</i>	Rapid Check <i>Listeria</i> , Bioser (tiras de doble anticuerpo)	30°C	48h

Tanto los medios de cultivo como el agua de peptona se elaboraron a partir de medios deshidratados, según las instrucciones de preparación para cada uno. Una vez preparados, se esterilizaron en autoclave (SX-500E, Tomy Digital Biology Co., Tokyo, Japón) a 121°C durante 15 min para su posterior uso.

El recuento se realizó en las placas que contenían más de 10 colonias y menos de 300. Los resultados, media de tres repeticiones, se multiplicaron por el factor de dilución correspondiente, expresándose como unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g).

Para detectar la presencia de *Listeria* y *Salmonella* no se siguió este procedimiento, sino que se usaron unos kits de presencia/ ausencia.

#### **5.4.2.2. Validación de los métodos para la determinación de *E. coli*, *Salmonella spp* y *Listeria spp***

Para validar la metodología utilizada para la determinación de los microorganismos regulados por la legislación para los elaborados de alcachofa, se utilizaron cepas de microorganismos de la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT): *E. coli* (CECT-434), *Listeria* (CECT-934) y *Salmonella* (CECT-443). Estas cepas se almacenaron congeladas en un medio de caldo soja triptona (TSB)/50 % glicerina (70/30).

Para la preparación de los cultivos de ensayo, los extractos de las cepas se sembraron en agar soja triptona (TSA), se incubaron a 37°C durante 24 horas, y se guardaron refrigeradas (4 °C) hasta el momento de empleo. Un fragmento de la colonia se incubó en 5 mL de TSB durante 24 horas, al final de las cuales se centrifugó. El precipitado se recogió y diluyó con agua de peptona tamponada de manera que el recuento microbiano estuviera en el rango  $10^6 - 10^8$  UFC/mL. Este caldo se pulverizó sobre los corazones de alcachofa cuarteados que se conservaron en frascos estériles bajo refrigeración, para su impregnación en el tejido vegetal.

El material vegetal inoculado se utilizó para ensayos de identificación de los patógenos, siguiendo los métodos propuestos para la determinación de cada uno de ellos.

#### **5.4.2.3. Aerobios mesófilos**

A este grupo pertenecen todos los microorganismos capaces de crecer a 30°C en presencia de oxígeno. La determinación de aerobios mesófilos no indica la presencia de microorganismos patógenos pero da una idea general del nivel de contaminación del alimento, informando sobre su alteración.

Aunque en los actuales criterios microbiológicos, (CE) N° 2073/2005 modificado por (CE) N° 1441/2007, no se establece un límite en el recuento de aerobios mesófilos (RAM) para los elaborados vegetales en IV Gama, el Real Decreto 3484/2000 para comidas preparadas envasadas a base de vegetales crudos establece un RAM máximo, en el que para una muestra de 5 unidades, sólo dos de ellas pueden contener entre  $10^5$  y  $10^6$  UFC/g el día de fabricación, y entre  $10^6$  y  $10^7$  UFC/g en el día de caducidad; sin sobrepasar en ningún caso ambos límites superiores. Aunque actualmente este reglamento nacional no es válido, ya que el anexo de límites microbiológicos fue derogado por Real Decreto 135/2010, en la presente investigación se tendrá en cuenta a fin de dar una idea de degradación del producto.

Para el aislamiento selectivo de aerobios mesófilos se utilizó el medio *Plate Count Agar* (PCA) suministrado por Biokar en forma de polvo deshidratado. Este medio contiene triptona, extracto de levadura y glucosa, y proporciona los nutrientes y vitaminas necesarios para favorecer el crecimiento de la mayoría de las bacterias.

El RAM se determinó siguiendo la norma NF EN ISO 4833-1: 2013, mediante siembra en masa, usando PCA para el aislamiento a  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  durante  $72 \pm 3$  horas. Las colonias de color amarillo pálido se contabilizaron como aerobios mesófilos (fig. 5.45).



Fig. 5.45. Crecimiento de aerobios mesófilos en placa con medio PCA con dos diluciones sucesivas.

En la figura 5.46 se muestra la curva de crecimiento de los microorganismos aerobios mesófilos, para dos tipos de elaborados (series A y B), en función del tiempo de almacenamiento.

El recuento inicial en el primer día de fabricación para ambas series de elaborados fue reducido ( $\sim 10^4$  UFC/g), cumpliendo con el antiguo Reglamento 3484/2000. Además, durante todo el periodo de conservación ninguna de las experiencias sobrepasó las  $10^7$  UFC/g, mostrando, en principio, que la producción se realizó en unas condiciones adecuadas.

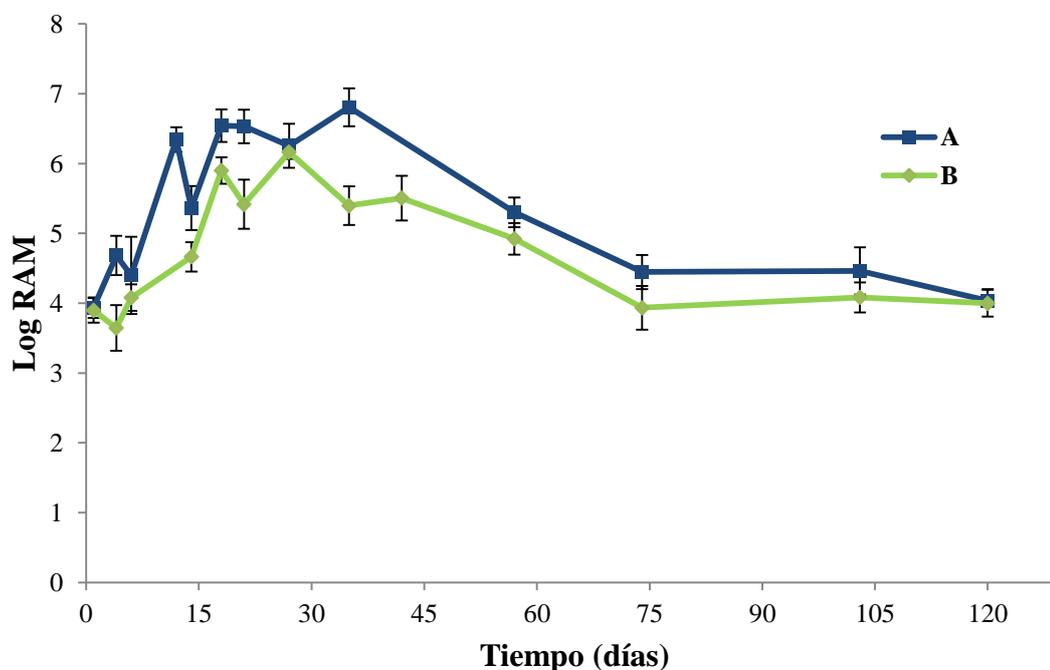


Fig. 5.46. Representación del Log RAM durante el tiempo de almacenamiento para las series de elaborados A y B

La curva de crecimiento fue distinta para las dos series de elaborados. En los de pH más alto (serie A) la fase de latencia (lag) duró unas pocas horas, no pudiendo observarse el tiempo de adaptación de los microorganismos a las condiciones del medio. Por el contrario, en los elaborados de menor pH (serie B) fue posible distinguir una pequeña fase de latencia de unos 4 días, tras la cual se inició un crecimiento

exponencial que fue estabilizándose entre los 20 y 35 días de almacenamiento, al cabo de los cuales comenzó el periodo de muerte microbiana. El periodo de estabilización en estas experiencias coincidió con el de equilibrio en la atmósfera interior de los envases, en los que se alcanza del 80-95 % de CO<sub>2</sub> (fig. 5.41). De este modo se puede concluir que un elevado contenido de CO<sub>2</sub> influyó directamente sobre el crecimiento microbiano, al concordar con el periodo de muerte microbiana.

Giménez y col. (2003) también encontraron valores de RAM en el día de fabricación que rondaban las 10<sup>4</sup> UFC/g para alcachofas de la misma variedad, desinfectadas, cortadas, sumergidas en disolución antipardeante y envasadas en distintos envases. Coincidiendo con nuestros datos, dichos autores encontraron un incremento progresivo de la biocarga durante los 15 primeros días de almacenamiento que alcanzaba valores entre 10<sup>6</sup>-10<sup>10</sup> UFC/g (dependiendo del tipo de envase), frente a los encontrados en esta investigación (10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> UFC/g) para el mismo periodo de tiempo. Estos autores no observaron fase de adaptación en ninguna de sus experiencias, y el periodo de muestreo no fue lo suficientemente grande como para observar las etapas de estabilidad y muerte microbiana. También concuerdan los datos de estos autores referidos a la relación entre la composición de la atmósfera y el RAM, que calcularon era mayor para atmósferas pobres en CO<sub>2</sub>. El efecto de inhibición microbiana de este gas ha sido demostrado en diversos vegetales por diferentes autores como Berrang y col. (1990) y Allende y col. (2004), entre otros.

Otros autores como Campus y col. (2007) analizaron la biocarga de alcachofas de la variedad “Spinoso Sardo”, desinfectadas, cortadas, sumergidas en disoluciones antipardeantes, envasadas en AM y almacenadas a 3°C, obteniendo recuentos de microorganismos mesófilos a los 10 días de envasado entre 10<sup>5</sup> y 10<sup>6</sup> UFC/g. Del Nobile y col. (2009) reportaron el aumento de la biocarga de alcachofas de la variedad “Madrigal” mínimamente procesadas durante el tiempo de almacenamiento, pasando de un valor inicial de 10<sup>5</sup> a 10<sup>6</sup>-10<sup>7</sup>, dependiendo de la técnica de conservación, tras 6 días almacenadas a 4°C. Aboul-Anean y col. (2013) encontraron la misma evolución del RAM en alcachofas mínimamente procesadas durante 12 días de almacenamiento a 4°C.

Para evaluar las diferencias en el RAM entre los dos tipos de elaborados durante el periodo de almacenamiento se realizó un análisis de varianza de dos factores (tiempo de almacenamiento y series de elaborados) con un 95% de intervalo de confianza (datos no mostrados). Los resultados concluyeron que el RAM fue significativamente mayor, a lo largo de todo el periodo de conservación, para la serie de mayor pH (A) que para la serie de pH=4,1.

La mayor parte de las bacterias se desarrollan con pH comprendido entre 4,5 y 9, excepto las bacterias ácido-lácticas que son capaces de crecer a pH<3,5 así como algunos mohos y levaduras. La variación de la flora microbiana en los dos tipos de elaborados confirma la influencia de la acidez del medio sobre el crecimiento microbiano, siendo menor la biocarga a pH más bajo.

Los resultados son utilizables para optimizar la producción seriada de elaborados de alcachofa en IV Gama, con la finalidad de mantener la línea en unas buenas condiciones higiénicas, y conseguir elaborados más estables desde el punto de vista microbiológico.

#### **5.4.2.4. Aerobios psicrófilos**

Estos microorganismos se caracterizan por ser capaces de desarrollarse a temperaturas cercanas a 0°C, aunque su crecimiento óptimo tiene lugar entre 15-20°C. Su presencia da lugar a que las bajas temperaturas no sean suficientes para garantizar la seguridad de los alimentos. Entre los microorganismos aerobios psicrófilos se encuentran patógenos peligrosos como *Listeria monocytógenes* o *Clostridium botulinum*, junto con algunas cepas de *Staphilococcus aureus*, capaces de crecer a temperaturas de refrigeración.

Un grupo de gran importancia en los alimentos vegetales de IV Gama son *Pseudomonas fluorescens* que abundan en este tipo de productos, y son responsables de una buena parte de la degradación durante el almacenamiento (Willocx y col., 1993). Estos microorganismos, aunque crecen a una temperatura óptima de 25-30°C, tienen un amplio rango de desarrollo (desde los 5 hasta los 42°C).

En nuestro trabajo, los elaborados de alcachofa en IV Gama se conservaron a 3°C para controlar el crecimiento microbiano. Esta medida restringe el crecimiento de aerobios mesófilos, pero no detiene el crecimiento de psicrófilos. Por esta razón se llevó a cabo el estudio de la presencia de microorganismos psicrófilos durante el tiempo de almacenamiento de estos productos (fig. 5.47). El cultivo se realizó en base a la ISO 17410:2001, usando el mismo medio que para el RAM pero variando las condiciones de incubación: 20±1°C, 72±2h.

La presencia de un elevado número de colonias de aerobios psicrófilos es indicadora de una alta degradación del producto almacenado en refrigeración. Por ello, aunque la legislación no especifica límites para estos microorganismos, es importante llevar a cabo su control.

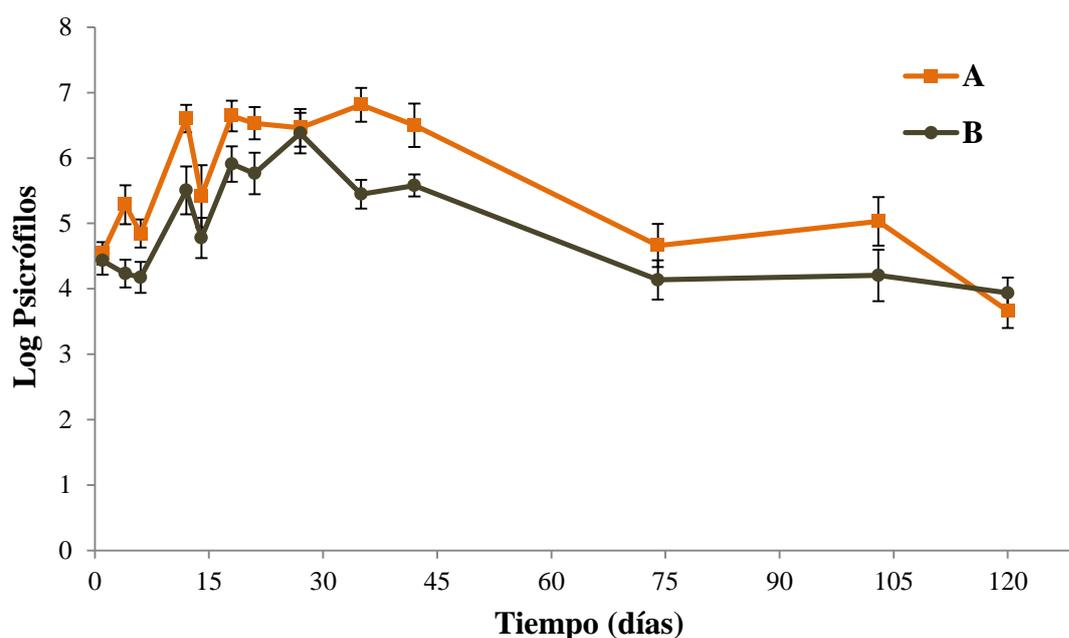


Fig. 5.47. Representación logarítmica del crecimiento de aerobios psicrófilos durante el tiempo de almacenamiento para las series de elaborados A y B

El crecimiento de este tipo de microorganismos siguió una cinética similar al RAM, observándose una fase lag de aproximadamente 6 días en los ensayos a pH más reducido, tras la cual se inició una fase de crecimiento exponencial, seguida de una fase estacionaria que acaba en una rápida desaparición de UFC viables.

Al igual que en el caso de aerobios mesófilos, el recuento de psicrófilos para la serie de elaborados A fue significativamente superior a la serie B, a lo largo de las experiencias. El análisis estadístico ANOVA para el recuento de psicrófilos, en ambas series de elaborados, durante el tiempo de almacenamiento mostró un p-valor<0,05 ratificando estas diferencias.

También se realizó otro análisis de varianza, con un intervalo de confianza del 95%, que comparaba en las series A y B el número de UFC de aerobios mesófilos y psicrófilos a lo largo del tiempo. Si no se tiene en cuenta el pH y el tiempo de almacenamiento, los recuentos fueron significativamente mayores para los psicrófilos (p-valor= 0,000); sin embargo, cuando se considera la acidez y el tiempo de conservación, no se observaron diferencias significativas entre el número de colonias de mesófilos y psicrófilos (p-valor=0,873>0,05).

Los datos calculados para el recuento de aerobios mesófilos y psicrófilos concuerdan con los de Garg y col. (1990) para verduras frescas cortadas; estos autores concluían que los recuentos para estos dos tipos de microorganismos eran comparables.

El estudio de aerobios psicrófilos en alcachofa mínimamente procesada durante el almacenamiento ha sido estudiado por varios autores. Campus y col. (2007) reportaron valores de UFC similares a los obtenidos en la presente investigación, a los 10 días de procesado ( $10^4$ - $10^6$ ). Giménez y col. (2003) y Del Nobile y col. (2009) verificaron el aumento de la carga microbiológica psicrófila durante el almacenamiento, obteniendo recuentos superiores a los obtenidos en este estudio.

#### 5.4.2.5. Enterobacterias totales

Las *Enterobacteriaceae* son una familia de microorganismos aerobios o anaerobios facultativos, Gram negativos, formada por dos grupos: lactosa positiva (coliformes) y lactosa negativa. Pueden formar parte de la microbiota del intestino y de otros órganos del ser humano y de animales, o actuar como saprofitos del suelo, agua o plantas.

El análisis de enterobacterias totales en los alimentos procesados es una herramienta muy útil para evaluar su calidad sanitaria. Niveles elevados son indicadores de una elaboración poco higiénica o contaminación tras el procesado y el almacenamiento. Además, a este grupo microbiano pertenecen patógenos de origen fecal como *E. coli* (lactosa positiva) y *Salmonella* (lactosa negativa) que deben controlarse y determinarse ya que pueden causar infecciones tóxicas.

Para el aislamiento selectivo de este tipo de microorganismos en los elaborados de alcachofa en IV Gama se utilizó el medio deshidratado *Violet Red Bile Glucose and neutral red* (VRBG) de Biokar. Este medio está formado por glucosa, extracto de levadura, indicador rojo neutro, violeta de cristal y sales biliares entre otros compuestos. La presencia simultánea de violeta cristal y sales biliares inhibe el crecimiento de las bacterias Gram-positivas, mientras que el indicador rojo neutro permite que se forme un halo violeta al borde de las colonias debido a la acidificación de la glucosa y precipitación de las sales biliares. La preparación de este medio debe llevarse a cabo en condiciones asépticas, ya que no se puede autoclavar.

El recuento de enterobacterias se realizó según la norma NF ISO 21528-2: 2004, mediante siembra en masa, usando VRBG para el aislamiento a  $37\pm 1^\circ\text{C}$  durante  $24\pm 2$  h. Las colonias que se contabilizaron fueron de color violeta (fig. 5.48).

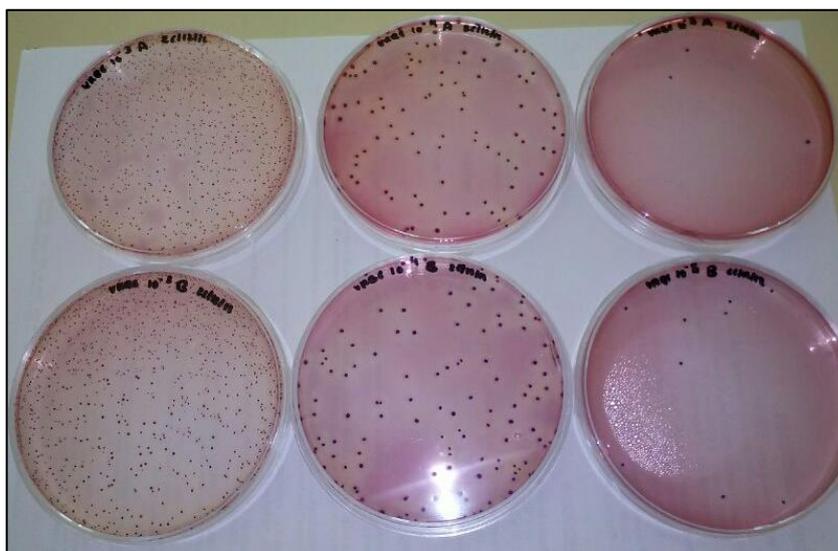


Fig. 5.48. Crecimiento de *Enterobacterias* en placa con medio VRBG. Diluciones  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$  para las series A (arriba) y B (abajo)

En la figura 5.49 se muestra la evolución de las enterobacterias de los elaborados de alcachofa durante 4 meses de almacenamiento. Como cabría esperar, el recuento inicial de estos microorganismos fue menor que el de la biocarga mesófila total. Se realizó el análisis estadístico comparando los dos tipos de biocarga total, obteniendo que el recuento de UFC de enterobacterias para las series A y B, durante todo el tiempo de almacenamiento, fue significativamente inferior al RAM ( $p$ -valor=0,05). Estos menores recuentos son consecuencia de que una gran parte de este tipo de microbiota está englobada en el recuento de aerobios mesófilos totales.

El crecimiento de las colonias durante el almacenamiento fue similar al recuento RAM, con ausencia de la fase lag en los dos tipos de elaborados y un crecimiento exponencial durante aproximadamente 18-20 días, que se fue estabilizando posteriormente hasta alcanzar el periodo de muerte celular. El crecimiento de las enterobacterias totales durante el almacenamiento de vegetales también fue reportado por Allende y col. (2004) para espinacas mínimamente procesadas.

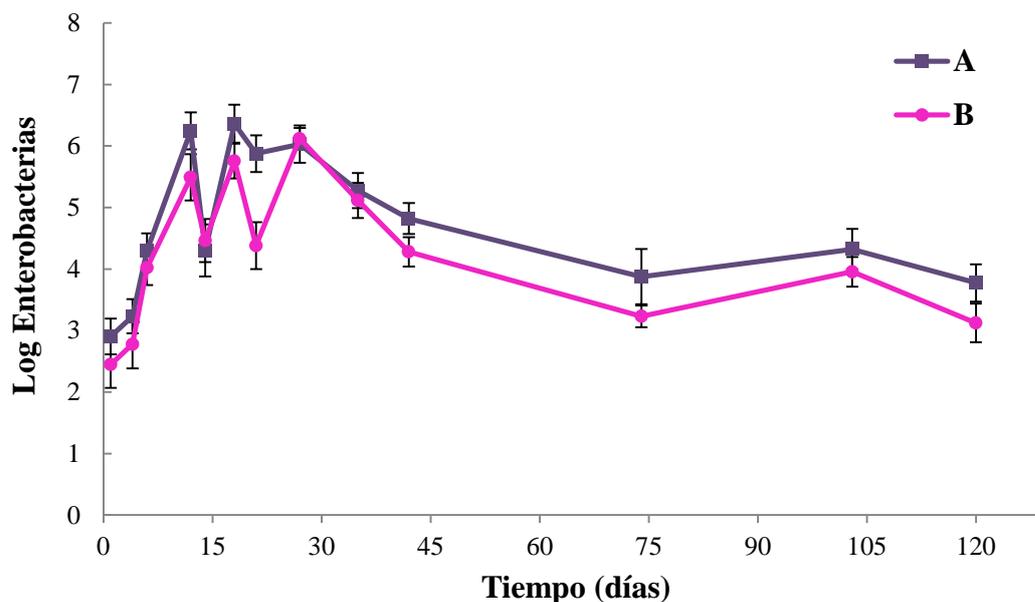


Fig. 5.49. Representación del Log UFC/g de enterobacterias durante el tiempo de almacenamiento para las series de elaborados A y B

En cuanto a las diferencias entre las dos series de elaborados (A y B) durante el periodo de conservación, el ANOVA realizado con un IC del 95% concluyó que aunque el recuento medio para la serie A fue superior a B, al tener en cuenta la variable “tiempo de conservación” las diferencias entre ambos tipos de elaborados no fueron lo suficientemente grandes ( $p\text{-valor}=0,111 > 0,05$ ). A la vista de estos resultados, se puede afirmar que el pH de los elaborados no influyó de forma significativa sobre el crecimiento de las enterobacterias totales.

#### 5.4.2.6. Coliformes totales y *Escherichia coli*

Las bacterias coliformes son bacilos Gram negativos, no esporógenos que pertenecen a la familia de las *Enterobacteriaceae*. A diferencia de otras bacterias de la misma familia, los coliformes tienen la capacidad de fermentar la lactosa produciendo ácido y gas en presencia de sales biliares; es decir son lactosa positivas. En este grupo se incluyen los géneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Klebsiella*, además de algunas cepas de *Serratia*.

La determinación de coliformes en alimentos, y de las *Enterobacteriaceae* en general, constituye un método indicativo de la higiene en la elaboración y almacenamiento del producto. Además, la diferenciación de estos microorganismos por temperaturas de crecimiento es muy útil para detectar las bacterias coliformes de origen fecal, ya que son capaces de tolerar temperaturas elevadas.

*Escherichia coli* pertenece a este último grupo de microorganismos y puede encontrarse en el intestino humano o en el de animales y en el suelo. Entre las diversas funciones intestinales, esta bacteria es capaz de inhibir el desarrollo de otros microorganismos peligrosos y colaborar en la síntesis de vitaminas. El problema de la presencia de *E. coli* en los alimentos radica en la existencia de cepas patógenas que pueden causar serios trastornos gastrointestinales. Por esta razón, este microorganismo es motivo de una gran preocupación en la industria alimentaria.

La presencia de esta bacteria en los alimentos vegetales preparados en IV Gama puede proceder de dos vías principalmente: el agua de riego y/o fertilizantes que pueden portar la bacteria *E. coli* y contaminar frutas y hortalizas durante el cultivo, y la contaminación durante el procesado debido a falta de higiene en el personal manipulador, la maquinaria, las instalaciones, etc.

Con el fin de comprobar la presencia de *E. coli* o de otro tipo de coliformes fecales en los elaborados de alcachofa en IV Gama se realizó un total de 13 análisis, por triplicado, durante todo el periodo de almacenamiento para cada serie de estudio (A y B). Para la

determinación de *E. coli* y coliformes termotolerantes fecales se utilizó el medio selectivo *Rose-Gal BCIG Agar* de la firma Biokar. Se trata de un medio cromogénico para la enumeración y distinción específica y simultánea de *E. coli* y coliformes mediante incubación durante 24 horas a 44 °C.

El fundamento de este medio cromogénico se basa en dos principios:

- a) La capacidad de las bacterias coliformes de fermentar la lactosa en presencia de la enzima  $\beta$ -galactosidasa, para producir ácido.
- b) La presencia en el 97% de las especies de *E. coli* de la enzima específica  $\beta$ -D-glucuronidasa, que no se encuentra en prácticamente ninguna otra especie de coliforme.

Para detectar específicamente ambas actividades enzimáticas, el medio contiene dos sustratos: 6-cloro-3-indolil- $\beta$ -D-galactopiranosido (ROSE-GAL) y 5-bromo-4-cloro-3-indolil- $\beta$ -D-glucuronato (BCIG). La enzima  $\beta$ -galactosidasa reacciona con el sustrato ROSE-GAL, originando un precipitado rosa (fig. 5.50); mientras que la  $\beta$ -D-glucuronidasa reacciona con BCIG, formando un precipitado de color azul (fig. 5.51).

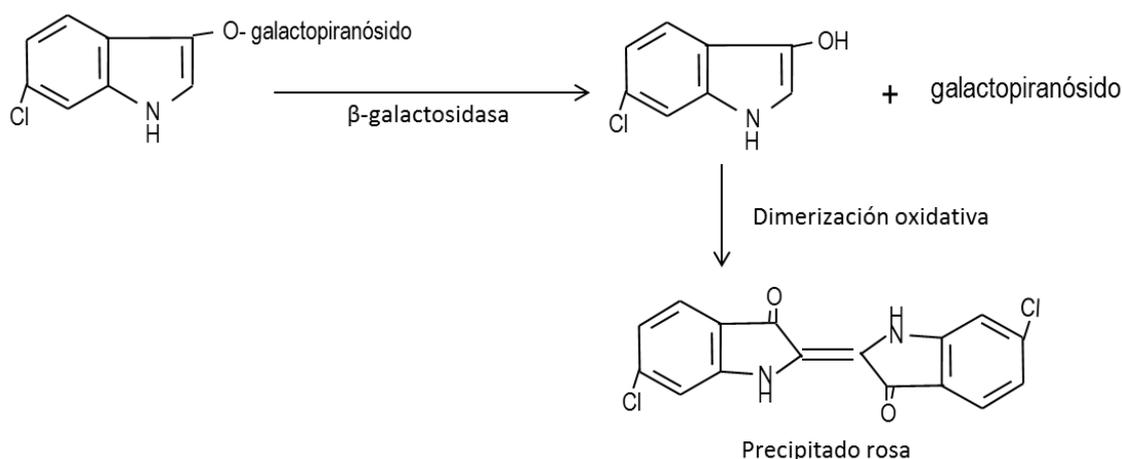


Fig. 5.50. Reacción de detección de la actividad galactosidasa

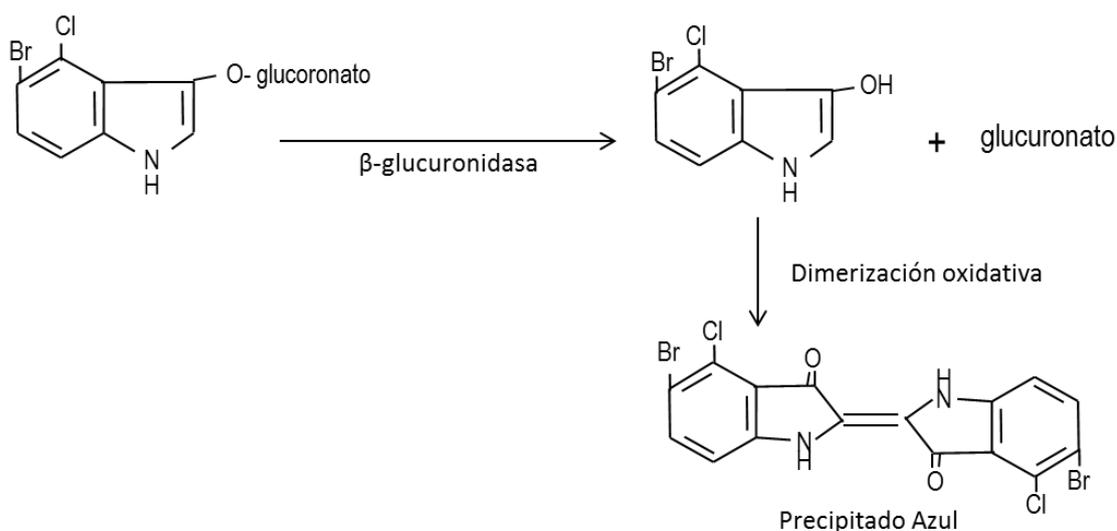


Fig. 5.51. Reacción de detección de la actividad glucuronidasa

Usando dicho medio para la siembra en masa, las placas se incubaron a 44°C durante 24h. Las colonias de color rosa se contabilizaron como coliformes, mientras que las de color púrpura correspondían a colonias de *E. coli*. El color púrpura de las colonias de este microorganismo fue debido a la simultaneidad de las actividades glucuronidasa y galactosidasa.

Los casos presuntamente positivos de *E. coli* se confirmaron con el sistema de identificación para Enterobacterias, "EnteroPluri-Test" de la firma Liofilchem (fig. 5.52). El sistema está formado por una especie de lápiz de 12 pocillos con medios de cultivo específicos que permiten identificar Enterobacterias y otras bacterias Gram-negativas, oxidasas negativas, mediante la ejecución de 15 reacciones bioquímicas. La inoculación es simultánea en todos los medios



Fig. 5.52. Prueba de confirmación bioquímica "EnteroPluri-Test"

de cultivo de los sectores, gracias a una aguja de inoculación que los atraviesa. El microorganismo se identifica evaluando las reacciones positivas o negativas, según el viraje de color de los distintos medios de cultivo tras 18-24 horas de incubación a  $36 \pm 1$  °C. Tras la interpretación de los resultados se obtiene un código numérico que permite identificar las bacterias en examen con la ayuda del Manual de Códigos.

En los ensayos realizados sobre las dos series de elaborados de alcachofa, todos los análisis fueron negativos (ausencia de crecimiento) tanto para *E. coli*, como para otros tipos de coliformes fecales.

Para comprobar la efectividad del medio se sembró e incubó en el medio cromogénico una muestra inoculada con la cepa *E. coli* (CECT-434) (apartado 5.4.2.2), con resultados positivos para este microorganismo. Además, para observar el

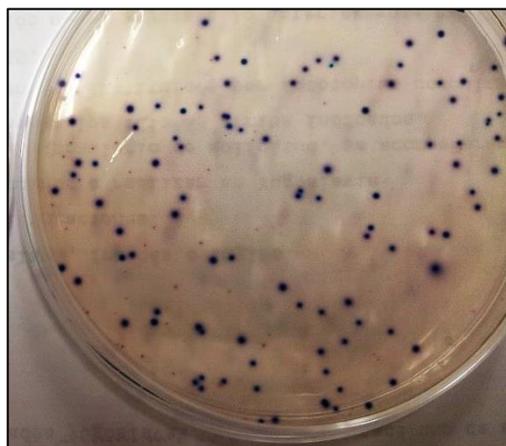


Fig. 5.53. Crecimiento de *E. coli* y coliformes fecales en el medio selectivo

crecimiento de coliformes fecales y comprobar la efectividad de diferenciación del medio, se analizaron muestras de aguas residuales en las que se detectó la presencia de *E. coli* (color violáceo) y coliformes fecales termotolerantes (color rosa), y dónde se pudo diferenciar claramente ambos tipos de colonias, tal como se muestra en la figura 5.53.

La identificación de *E. coli* para el análisis presuntamente positivo de la muestra inoculada con la cepa CECT-434 se realizó con la prueba “EnteroPluri-Test”. Los resultados obtenidos al evaluar los cambios de color en los diferentes pocillos se muestran en la figura 5.54, en la que los símbolos + indican reacciones positivas y – reacciones negativas. La suma de los casos positivos de cada cuadrante da lugar a un número que finalmente proporciona el código que representa a un tipo de microorganismo. En este caso el código obtenido confirmó que el crecimiento microbiano en el medio crómogénico selectivo correspondía a la bacteria *E. coli*.

De este modo se comprobó que el medio Rose-Gal BCIG Agar funcionaba correctamente, confirmando la ausencia de crecimiento de coliformes y por tanto de *E. coli* en los elaborados de alcachofa en IV Gama.

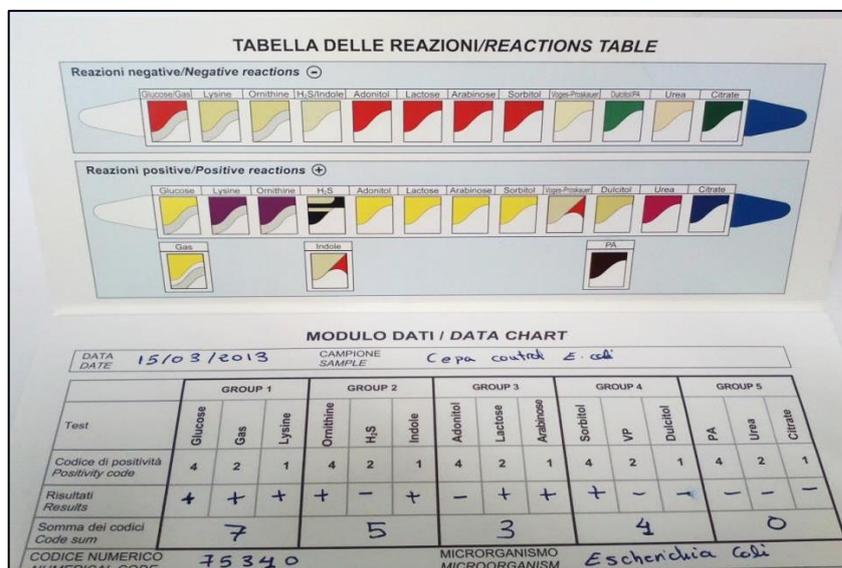


Fig. 5.54. Resultados de la identificación bioquímica para *E. coli*

Para este tipo de elaborados vegetales mínimamente procesados, el Reglamento (CE) N° 2073/2005 modificado por (CE) N° 1441/2007 limita la presencia de *Escherichia coli*, de forma que en una muestra con 5 unidades, solo dos de ellas pueden tener entre  $10^2$  y  $10^3$  UFC/g, sin igualar o sobrepasar en ningún caso este último valor. La ausencia de *E. coli* en todas las muestras analizadas para el producto de alcachofa en IV Gama, además de la ausencia de otro tipo de microorganismos termotolerantes de origen fecal, garantiza la seguridad de los elaborados desarrollados que cumplen con la normativa vigente.

Autores como Giménez y col. (2003) y Campus y col. (2007) también estudiaron la presencia de *E. coli* en alcachofa mínimamente procesada. Sus resultados fueron coincidentes con los obtenidos en el presente estudio, no encontrando presencia de dicha bacteria en ninguno de sus análisis. Además, Giménez y col. (2003) analizaron también el contenido de coliformes fecales obteniendo un valor medio para el total de análisis inferior a 0,47 UFC/g.

#### 5.4.2.7. *Clostridium* sulfito-reductores

Los microorganismos sulfito-reductores pertenecen al grupo de *Clostridium spp.*, bacterias anaerobias estrictas, Gram positivas, y capaces de formar esporas. La característica más importante de este grupo es su capacidad de reducir el sulfito a sulfuro. Son de naturaleza normalmente fecal, aunque también es posible encontrarlos en el suelo, vegetación en descomposición y aguas. La formación de esporas hace que estas bacterias sean muy resistentes a los tratamientos de limpieza y desinfección, ya que pueden germinar posteriormente cuando las condiciones son favorables.

El microorganismo sulfito-reductor más representativo desde el punto de vista alimentario es *C. perfringens*. La presencia de esta bacteria u otros sulfito-reductores en los alimentos indica condiciones de higiene deficientes durante su manipulación. En ausencia de oxígeno estas bacterias son capaces de producir toxinas, originando desde problemas estomacales en personas sanas, hasta gangrena y muerte en los casos más graves. Además, las cepas no patógenas son bacterias deteriorantes, produciendo malos olores en los alimentos y ennegrecimiento por formación de sulfuro de hidrógeno. Los niveles de pH a los que son capaces de sobrevivir se encuentran entre 5 y 9 (Li y McClane, 2006), por lo que encontrarlos en frutas y vegetales procesados cuyo pH suele ser bajo no es habitual, siendo los alimentos cárnicos más susceptibles de contaminación.

Aunque la legislación no marca límites sobre estas bacterias en vegetales mínimamente procesados, en los elaborados de alcachofa en IV Gama se realizó el recuento de estos microorganismos siguiendo la norma ISO 15213:2003. Para ello se sembró en masa con el medio selectivo *Sulfite Polymyxin Sulfadiazine* (SPS) suministrado por BD



Fig. 5.55. Incubación en anaerobiosis de placas SPS

Bioscience, incubando en ausencia de oxígeno, usando una jarra de anaerobiosis (fig. 5.55), a 37 °C durante 48 horas.

Dicho medio está formado por compuestos que aportan nutrientes, como extracto de levadura, triptona y glucosa; antibióticos como polimixina B y sulfadiazina sódica que inhiben el crecimiento de bacterias Gram-negativas; y, para la diferenciación, sulfito sódico y citrato férrico, entre otros compuestos. El sulfito sódico, por la acción sulfito reductora de la mayor parte de los *Clostridium*, se reduce a sulfuro. El sulfuro, al reaccionar con el citrato de hierro, da lugar a sulfuro de hierro, que se manifiesta formando un precipitado negro alrededor de las colonias.

Los resultados encontrados en las muestras de elaborados de alcachofa fueron siempre negativos, para un total de 13 análisis (por triplicado), durante todo el periodo de almacenamiento y para cada serie de estudio.

Al no ser microorganismos de control en el Reglamento microbiológico para estos alimentos, no se realizó prueba confirmatoria de la bondad del método con cepas certificadas. No obstante, y para confirmar la efectividad de la detección, los resultados negativos en las pruebas de alimentos se contrastaron con los de muestras de aguas residuales, donde la detección fue positiva (fig.5.56).

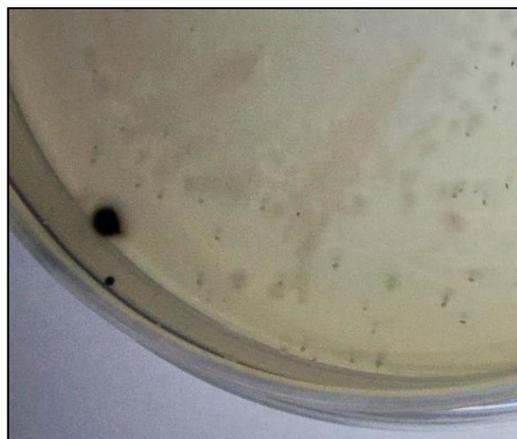


Fig. 5.56. Colonias de sulfito-reductores en aguas residuales

La ausencia de contaminación por este tipo de microorganismos sulfito-reductores en los elaborados, puede deberse a que no haya existido contaminación del producto durante el cultivo y la manipulación; o en el caso de que ésta hubiese ocurrido, el pH bajo de los productos de alcachofa (4,1 y 4,5) pudo ser capaz de inhibir el crecimiento y la germinación de las esporas.

#### 5.4.2.8. Mohos y levaduras

Otros microorganismos indicadores del deterioro alimentario son los mohos y las levaduras. Algunas especies pueden encontrarse como flora natural de los alimentos o usarse en la elaboración de productos alimentarios. Este es el caso de algunas levaduras como *Saccharomyces cerevisiae* en la fermentación del pan, cerveza y vinos, o *Kluyveromyces marxianus* usada para fermentar la lactosa y obtener productos lácteos. Mientras que otros hongos pueden proceder de contaminaciones externas, ocasionando degradaciones y descomposición. Normalmente crecen en condiciones desfavorables para otras bacterias, como es el caso de pH y temperaturas bajas.

En vegetales mínimamente procesados y conservados a baja temperatura, estos microorganismos suelen ser habituales, encontrándose en mayor proporción las levaduras. En cuanto a los mohos que pueden estar presentes en este tipo de alimentos, se suelen aislar con mayor frecuencia los géneros *Cladosporium*, *Alternaria* y *Penicillium*, por su abundancia en la naturaleza (Tournas, 2005).

El análisis de mohos y levaduras en los elaborados de alcachofa en IV Gama se realizó para las series de elaborados A y B, durante todo el tiempo de conservación. Para el recuento en placa se utilizó el método establecido en la norma NF ISO 21527-1: 2008. El medio selectivo de siembra fue *Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar* (RB) de Biokar. Las placas se incubaron a 25°C durante 5 días.

RB es un medio de cultivo clásico para hongos y levaduras que contiene un antibiótico, el cloranfenicol, como inhibidor del crecimiento bacteriano, y rosa bengala que controla el tamaño y la altura de las colonias de mohos, entre otros componentes.

La diferenciación entre mohos y levaduras se realizó por el aspecto de las colonias. Las colonias de levaduras eran elípticas u ovaladas brillantes y estaban teñidas de color rosáceo, debido a la asimilación de rosa de bengala; mientras que los mohos se distinguían claramente por su textura algodonosa debido a la formación del micelio (fig. 5.57).

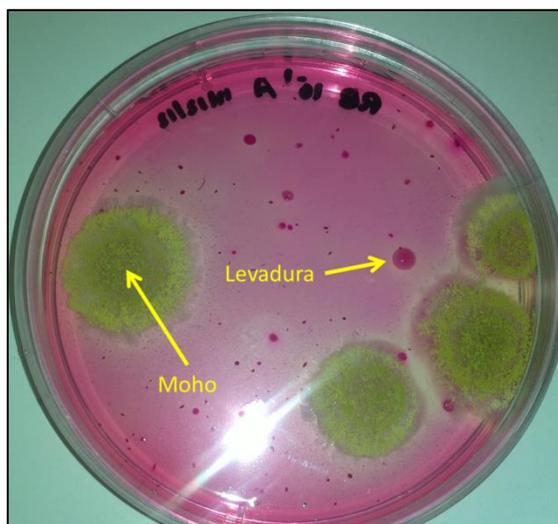


Fig. 5.57. Crecimiento de colonias de mohos y levaduras en medio RB

Los resultados de los 13 análisis realizados por triplicado para los elaborados de alcachofa en IV Gama se muestran en la tabla 5.18. Los resultados obtenidos concuerdan con los encontrados por Tournas (2005) para vegetales mínimamente procesados, obteniendo un mayor número de colonias de levaduras que de mohos. Estos últimos microorganismos únicamente se encontraron en la serie de elaborados A, en el 30% de las muestras analizadas. El número máximo de colonias de mohos encontrado fue de 40 UFC/g.

El crecimiento de las colonias de levaduras durante el almacenamiento estuvo caracterizado por un periodo de latencia de unos 6 días, seguido de una fase de crecimiento exponencial que alcanzó su máximo a los 21 días de almacenamiento, tras los cuales comenzó la muerte celular de estos microorganismos.

La serie de elaborados B, además de no contener ningún tipo de moho, desarrolló durante el almacenamiento un número de colonias de levaduras menor que la serie A. Estos resultados pueden ser debidos que las alcachofas de la serie A viniesen contaminadas con un alto número de estos microorganismos del campo y el lavado con hipoclorito no fuese lo suficientemente efectivo. Aun así, ambas series mostraron recuentos muy bajos, inferiores a los obtenidos por Aboul-Anean y col. (2013) para

alcachofas mínimamente procesadas. Estos autores obtuvieron recuentos de mohos y levaduras que alcanzaron entre 600 y 900 UFC/g a los 12 días de almacenamiento a 4°C. Además, también observaron el crecimiento del número de colonias durante ese periodo.

Tabla 5.18. Recuento de mohos y levaduras en UFC/g durante el periodo de almacenamiento de los elaborados de alcachofa en IV Gama

TIEMPO DE ALMACENAMIENTO	MOHOS		LEVADURAS	
	A	B	A	B
1	0	0	30	20
4	20	0	40	20
6	0	0	30	20
12	40	0	70	30
14	0	0	80	40
18	0	0	110	60
21	0	0	180	110
27	20	0	50	80
35	10	0	10	40
42	0	0	0	0
74	0	0	0	0
103	0	0	0	0
120	0	0	0	0

#### 5.4.2.9. *Salmonella spp*

*Salmonella spp* es un género de bacterias que pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. Son bacilos aerobios o anaerobios facultativos, Gram negativos, lactosa negativos y no formadores de esporas. Pueden encontrarse en el tracto digestivo del hombre o de los animales, así como en el medio ambiente (aguas, lodos, etc.).

Es un tipo de microorganismo al que debe prestarse una especial atención en el campo alimentario debido a que cepas patógenas como *Salmonella typhimurium* o *Salmonella enteritidis* son capaces de provocar gastroenteritis graves en el ser humano (salmonelosis). Además, puede crecer en los alimentos en condiciones extremas de temperatura (5-46°C) y amplio rango de pH (3,8-9,5). Su presencia es frecuente en alimentos de origen animal, como la superficie de los huevos, pero también en frutas y verduras que puedan tener contacto con el suelo. Por esta razón se recomienda el control de su ausencia en los alimentos.

El control de *Salmonella* en los elaborados de alcachofa en IV Gama se realizó mediante el método “Sesame Salmonella Test<sup>®</sup>”, de la firma Biokar. Se trata de un procedimiento alternativo al método oficial ISO 6579:2002, certificado por AFNOR bajo el número de referencia BKR 23/04-12/07. Con este método se reduce el tiempo de análisis, de 5 días a 48h. El test consta de dos etapas:

- Pre-enriquecimiento en un medio líquido durante 18 horas a 37°C. Este medio proporciona un equilibrio osmótico adecuado, y la reanimación de las cepas de *Salmonella*.
- Incubación en placa de medio semisólido a 41 °C durante 24 horas.



Fig. 5.58. Medios de enriquecimiento y detección de *Salmonella*

El protocolo seguido fue el siguiente:

Para el pre-enriquecimiento se pesan 25g de alimento en una bolsa aséptica y se añaden 225 mL de medio “Salmonella Enrichment” (fig. 5.58). Seguidamente, la mezcla se introduce en un homogeneizador tipo stomacher durante 2 min y, posteriormente, se incuba a 37±1°C durante 18±2h.

La incubación y detección se realiza en una segunda etapa, mediante la incubación en placa de medio semisólido a 41 °C durante 24 horas. El medio semisólido (fig. 5.58) permite la migración de la *Salmonella*, y está compuesto por diversos agentes selectivos que permiten la identificación rápida de muestras presuntamente positivas. Para ello se

inoculan tres gotas de la muestra pre-enriquecida en el centro de una placa con el medio semisólido “Sesame Salmonella Detection”. La placa se incubó a  $41\pm 1^{\circ}\text{C}$  durante  $24\pm 3\text{h}$ .

La presencia de un halo blanco y opaco con un diámetro igual o superior a 30 mm en el punto de inoculación indica la presencia presuntiva de *Salmonella*. En nuestra investigación los casos presuntamente positivos se confirmaron con el sistema de identificación para Enterobacterias, “EnteroPluri-Test”, anteriormente mencionado. Los resultados se expresaron como presencia/ausencia de *Salmonella* en 25g de muestra.

En un total de 13 análisis realizados por triplicado para cada tipo de elaborados (A y B) no se encontró la presencia de este microorganismo, cumpliendo con el Reglamento actual (CE) N° 2073/2005 modificado por (CE) N° 1441/2007 aplicable a frutas y hortalizas troceadas y listas para el consumo, que regula que este microorganismo debe estar ausente en una muestra de 25 g de alimento. Autores como Giménez y col. (2003) y Campus y col. (2007), que también estudiaron la presencia de *Salmonella* en alcachofa mínimamente procesada, reportan su ausencia en todas las muestras estudiadas.

Con el fin de validar la respuesta del método se realizó el test “Sesame *Salmonella*” para una muestra inoculada con la cepa de *Salmonella typhimurium* (CECT-443) (apartado 5.4.2.2), originando un presunto positivo (fig. 5.59), que después se identificó como *Salmonella* mediante el sistema “EnteroPluri-Test”.

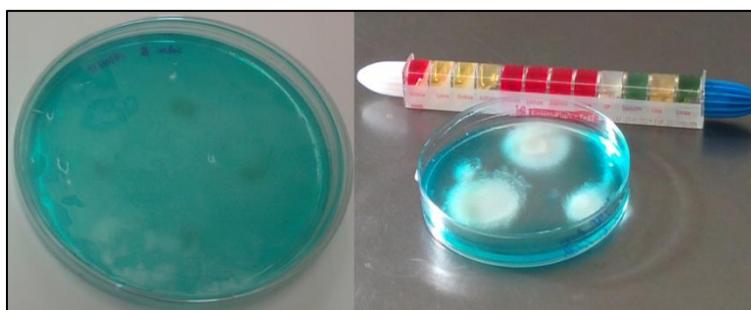


Fig. 5.59. Resultado negativo de *Salmonella* en muestra de alcachofa en IV Gama (izquierda) y resultado positivo de la cepa de control (derecha)

#### 5.4.2.10. *Listeria spp*

El género bacteriano *Listeria* está formado por seis especies (*L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii*, *L. grayi* y *L. monocytogenes*) Gram-positivas, anaeróbicas facultativas, no formadoras de esporas. *L. monocytogenes* es la bacteria patogénica intracelular causante de la listeriosis, infección virulenta y peligrosa que puede derivar en enfermedades como meningitis, meningoencefalitis y trastornos respiratorios. Puede encontrarse en el medio ambiente, suelo, agua, vegetación, de donde pasa a los animales. Es altamente resistente a bajas y altas temperaturas, siendo capaz de desarrollarse entre 0 y 45°C.

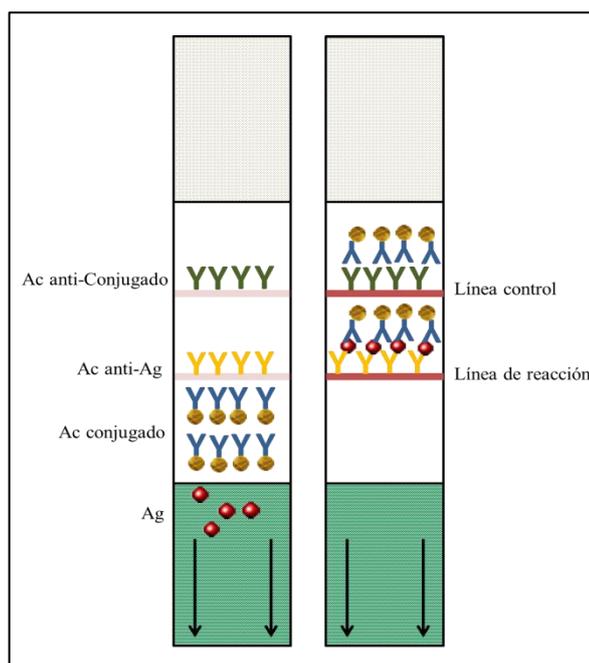
Los alimentos pueden contaminarse con facilidad durante la manipulación ya que la bacteria forma biopelículas sobre superficies o alimentos, incluso bajo refrigeración. Por este motivo es importante llevar a cabo un control de esta bacteria.

Para la detección de este microorganismo en los elaborados de alcachofa se usó un test de flujo lateral basado en el inmunoensayo ELISA sándwich con formato de tiras de doble anticuerpo, “Rapid Check<sup>®</sup> *Listeria*” de la firma Bioser, validado por la AOAC Performance Tested (certificado n° 020201). El kit de análisis está formado por un medio de pre-enriquecimiento y una tira inmunocromatográfica para la detección del patógeno.

La tira está formada por varias zonas (fig. 5.60):

- ❖ Absorbente inferior: permite la absorción de la muestra y su avance por capilaridad.
- ❖ Conjugado: sobre la zona anterior, se encuentra absorbido un anticuerpo (Ac) específico del microorganismo marcado con oro coloidal.

- ❖ Membrana de nitrocelulosa: consta de una línea de reacción sobre la que se encuentran absorbidos anticuerpos que reconocen al antígeno (Ag) de *Listeria*, y una línea control con anticuerpos anti-conjugados.
- ❖ Absorbente superior: recoge el exceso de muestra que pasa a través de la membrana.



Cuando la muestra contiene *Listeria*, el antígeno y el conjugado fluyen por capilaridad a través de la membrana

Fig. 5.60. Esquema de funcionamiento de la tira inmunocromatográfica

quedando retenidos por el anticuerpo de la línea de reacción, formando un sándwich entre los dos anticuerpos y el antígeno que colorea de rojo la línea de reacción. El exceso de conjugado continúa ascendiendo hasta la línea de control, donde queda retenido por el anticuerpo anti-conjugado. Por lo tanto, cuando el ensayo es positivo, se forman dos líneas rojas, la de control y la de reacción. Si la muestra no contiene *Listeria*, únicamente se retiene el conjugado en la línea de control, obteniendo una única línea roja. Si en la tira reactiva no se observa la línea roja de control, el ensayo no es válido.

El proceso de análisis se llevó a cabo en dos etapas:

- a) Pre-enriquecimiento de la muestra: se pesaron 25g de muestra en una bolsa estéril añadiendo 225 mL de medio específico “RapidChek *Listeria*”, homogeneizando durante 2 min. La mezcla se incubó durante 40 horas a 30 °C.
- b) Test “RapidChek *Listeria*”: se transfirió una alícuota de la muestra pre-enriquecida a un tubo de análisis, colocándolo en un baño de agua a 100°C durante 5 min. Pasado ese tiempo, se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y

se introdujo la tira reactiva. La lectura de los resultados se realizó a los 10 min de inmersión.

Se llevó a cabo un total de 13 ensayos por tipo de elaborado (por triplicado), durante todo el tiempo de conservación del producto. Todos los análisis resultaron negativos para este microorganismo, observándose únicamente la tira de control (fig. 5.61).

Para comprobar la validez del método analítico se realizó un ensayo control con una cepa de *Listeria monocytogenes* (CECT-934) que mostró resultados positivos, coloreando tanto la línea de control como la de análisis.

Al igual que en la presente investigación, Campus y col. (2007) analizó la presencia de *Listeria* en alcachofa mínimamente procesada, no encontrando su presencia en ninguna de las muestras estudiadas.

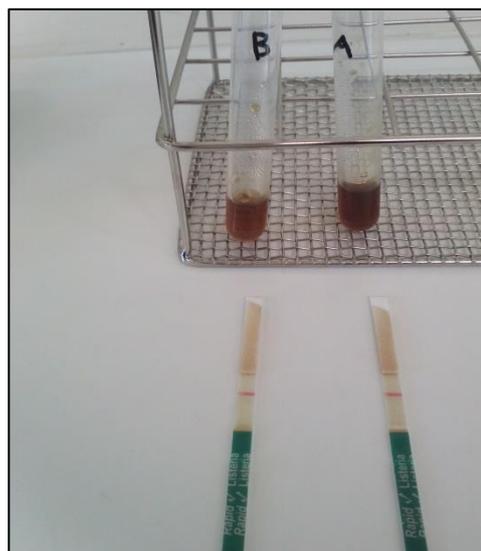


Fig. 5.61. Resultados negativos para *Listeria* en los elaborados A y B

La ausencia de *Listeria* en los elaborados de alcachofa en IV Gama cumple con las indicaciones dadas por la legislación vigente para alimentos listos para el consumo que pueden favorecer el desarrollo de *L. monocytogenes*, que no sean los destinados a los lactantes ni para usos médicos especiales. Este reglamento fija dos límites: ausencia en 25 g de alimento para los productos recién elaborados y controlados en la empresa; y menos de  $10^2$  UFC/g para productos comercializados durante su vida útil.

### **5.5. Estudio de vida útil de los elaborados desde el punto de vista microbiológico**

El control físico-químico y microbiológico de los elaborados de alcachofa en IV Gama durante su conservación, no solo proporciona información sobre la calidad y seguridad del producto, sino que permite estimar su periodo de vida útil.

Según Theodore P. Labuza, “la vida útil de un alimento es el período de tiempo durante el cual se mantiene un nivel aceptable de calidad comestible desde el punto de vista de la seguridad y la calidad organoléptica. Depende de cuatro factores principales: la formulación, elaboración, envasado y condiciones de almacenamiento”.

Teniendo en cuenta esta definición, la limitación de la vida útil de un alimento puede estar ocasionada por la pérdida de calidad físico-química (color, sabor, textura, pardeamiento, etc.) o por el aumento de la carga microbiana. En alimentos perecederos de unos 14 días o menos de duración media, la vida útil del producto está restringida por el nivel de microorganismos que se desarrollan; mientras que en alimentos poco perecederos, de larga duración, la degradación organoléptica es previa al desarrollo máximo de la biocarga (Cabeza, 2008).

En los alimentos de corta duración, en los que la carga microbiana marca la vida útil del producto, la estimación de la misma se realiza estudiando los microorganismos presentes. Existe una gran controversia en cuanto al tipo de microorganismos que se deben considerar para analizar la vida útil de los alimentos. Algunos autores estiman conveniente calcularla teniendo en cuenta el recuento de aerobios mesófilos totales, ya que son indicadores del nivel de contaminación del alimento; mientras que otros opinan que es preferible evaluar la microflora predominante causante de la alteración (Cabeza, 2008). Por ejemplo, Leonett y col. (2011) seleccionaron como microorganismos alteradores los mohos y las levaduras para calcular la vida media de melones mínimamente procesados; mientras que Corbo y col. (2006) utilizaron el RAM para determinar la vida útil de ensaladas de lechuga y zanahoria rayada.

En las experiencias desarrolladas, para la determinación de la vida útil a tiempo real, es decir, a la temperatura normal de conservación para la comercialización de los elaborados de alcachofa en IV Gama, únicamente se tuvo en cuenta la variable de degradación microbiológica, ya que durante la conservación del producto a 3°C, características como el color, sabor, textura, etc., no se vieron afectadas en gran medida gracias a los tratamientos de impregnación a vacío y AM utilizados durante el procesado y envasado. La microflora que se utilizó para la determinación de la vida útil fue, al igual que Corbo y col. (2006), el recuento de aerobios mesófilos.

Para la estimación del tiempo de vida útil microbiológico (TVU) de un alimento es necesario modelizar la curva de crecimiento microbiano mediante el uso de la microbiología predictiva. Esta disciplina emplea diversos modelos cuyas ecuaciones

tratan de ajustarse lo máximo posible a la actuación de los microorganismos que se desarrollan en los alimentos, en determinadas condiciones de almacenamiento. De este modo, los modelos se pueden clasificar en primarios, secundarios o terciarios (Whiting y Buchanan, 1993).

Los modelos primarios miden la respuesta microbiana en función del tiempo, bajo determinadas condiciones de temperatura, pH, atmósfera, etc. Mediante este tipo de modelos es posible determinar variables cinéticas que caracterizan el crecimiento microbiano, como el tiempo de latencia, máxima velocidad específica de crecimiento y máxima densidad celular. Los más utilizados son: el modelo Logístico (Jason, 1983), la función modificada de Gompertz (Zwietering y col., 1990), las ecuaciones de Baranyi y Roberts (1994) y el modelo tri-linear de Buchanan y col. (1997), entre otros.

Los modelos secundarios, sin embargo, estudian la variación de los parámetros cinéticos en función de la temperatura, pH, atmósfera, etc. Los más conocidos son los de Ratkowsky y col. (1982), y el modelo de Arrhenius modificado (Davey, 1989), que estudian el efecto de la temperatura sobre la tasa máxima específica de crecimiento. Los modelos terciarios son mucho más complejos, ya que comparan y hacen predicciones sobre los modelos primarios y secundarios usando software informático.

Para el ajuste de las curvas de crecimiento microbiológico en los elaborados de alcachofa se utilizó el modelo primario de Baranyi y Roberts (1994), que describe el crecimiento microbiano en función del tiempo, permitiendo calcular los parámetros cinéticos. Este modelo ha sido empleado por varios autores para ajustar las curvas de crecimiento de diversos tipos de microorganismos: Lee y col. (2007) ajustaron mediante el modelo de Baranyi y Roberts el crecimiento de aerobios mesófilos en brotes de soja sazónada; García-Gimeno y Zurera-Cosano (1997) modelizaron el desarrollo de psicrófilos y bacterias ácido-lácticas en ensalada mixta de lechuga, col roja y zanahoria; también fue usado por Leonett y col. (2011) para el crecimiento de mohos y levaduras durante el almacenamiento de melones mínimamente procesados.

La ecuación que caracteriza a este modelo (Ec. 5.10) describe la transición de la fase de latencia a la fase de crecimiento exponencial, así como el paso de esta última a la fase

estacionaria. Al tener en cuenta los periodos de transición, es uno de los modelos más eficientes (Li y col., 2007).

$$N(t) = N_0 + \mu_{max} A(t) - \frac{1}{m} \text{Ln} \left( 1 + \frac{e^{m\mu_{max}A(t)} - 1}{e^{m(N_f - N_0)}} \right)$$

(Ec. 5.10)

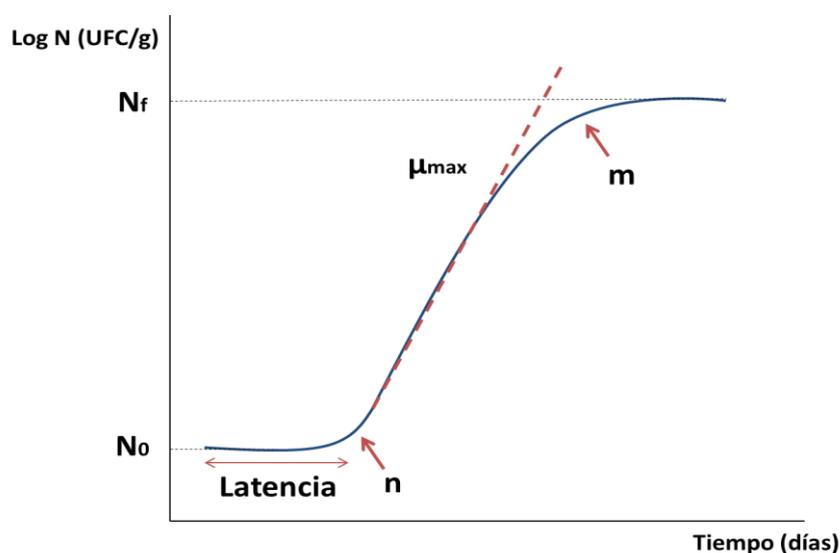


Fig. 5.62. Parámetros cinéticos y de ajuste del modelo de Baranyi y Roberts (1994)

Los parámetros característicos son:

- $N(t)$ : número de unidades formadoras de colonias desarrolladas por gramo de alimento, al cabo del tiempo ( $t$ ).
- $N_0$ : recuento inicial de microorganismos.
- $\mu_{max}$ : tasa específica máxima de crecimiento; es decir, la velocidad de crecimiento microbiana por unidad de tiempo.
- $N_f$ : máxima cantidad de microorganismos alcanzada (fase estacionaria).
- $m$ : parámetro que caracteriza la curvatura entre la fase exponencial y la estacionaria.

- A(t): integral de una función de ajuste que caracteriza el paso de la fase de latencia a la fase exponencial, y que se calcula como:

$$A(t) = t + \frac{1}{\mu_{\max}} \ln[e^{-\mu_{\max}t} + e^{-h_0} - e^{-nt-h_0}] \quad (\text{Ec. 5.11})$$

En esta integral, n es el parámetro de curvatura del paso de la fase de latencia a la exponencial, y  $h_0$  es el producto de  $\mu_{\max}$  por el tiempo de la fase de latencia.

Para ajustar los datos experimentales al modelo de Baranyi y Roberts se utilizó el software DMFit 3.0 utilizado por el Instituto de Investigación Alimentaria (Institute of Food Research, Norwich, UK). Los datos experimentales se introdujeron en el programa en forma de logaritmo decimal. Seguidamente se ajustaron al modelo, obteniendo parámetros como el número inicial y final de células (Log UFC/g), duración de la fase de latencia (días), así como la tasa específica máxima de crecimiento (Log UFC g<sup>-1</sup> días<sup>-1</sup>).

Los gráficos de ajuste al modelo de Baranyi y Roberts para los RAM en los elaborados de alcachofa (A y B) se muestran en la figura 5.63. Hay que destacar que aunque los coeficientes de regresión ( $R^2$ ) obtenidos para ambos ajustes no fueron del orden de los descritos por los autores anteriormente mencionados (superiores a 0,900), fueron lo suficientemente aceptables como para considerar que los datos se ajustaron al modelo sigmoidal de Baranyi y Roberts, ya que en el caso de que los valores experimentales no se adaptaran al modelo, el propio programa DMFit los rechazaría (tabla 5.19). Estos menores valores en  $R^2$  fueron debidos a que, para facilitar el desarrollo experimental, únicamente se realizaron 3 repeticiones por punto, mientras que Walker y Jones (1993) recomiendan que se realicen 10 análisis por punto para minimizar las desviaciones producidas por los errores experimentales y la variabilidad de las muestras.

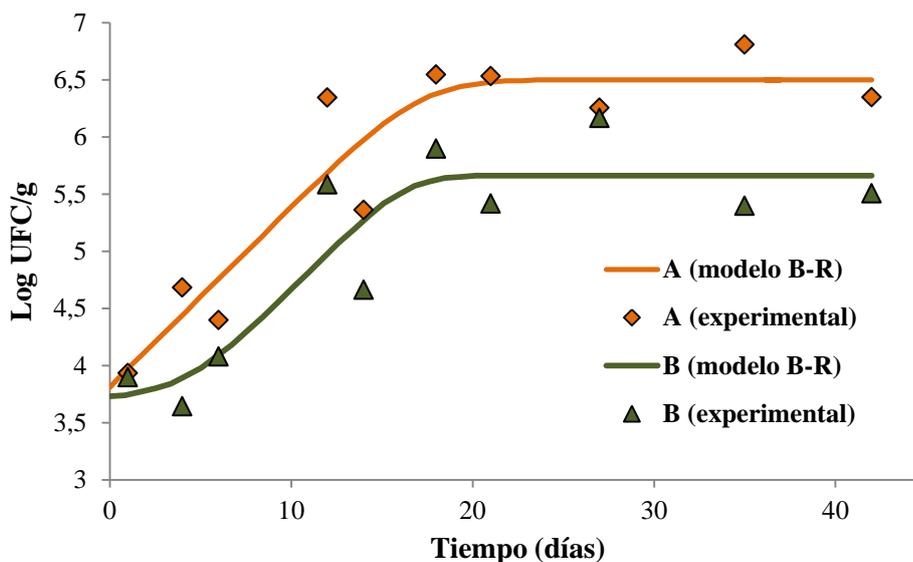


Fig. 5.63. Ajuste del RAM de las series de elaborados A y B al modelo de crecimiento microbiano de Baranyi y Roberts (1994)

En cuanto al análisis de las curvas de crecimiento microbiano ajustadas, en el caso de los elaborados de mayor pH (serie A) no pudo observarse el tiempo de adaptación de los microorganismos a las condiciones del medio, ofreciendo el programa de ajuste un valor de lag igual a 0; mientras que para los elaborados de menor pH (serie B) sí fue posible distinguir una pequeña fase de latencia de unos 4 días. La tasa máxima de crecimiento específica para ambos tipos de elaborados fue análoga, mostrando una fase exponencial de pendiente similar (tabla 5.19).

La serie de elaborados A se adaptó mejor al modelo que la serie B. Estas diferencias pueden ser atribuibles a que esta última presenta una fase de adaptación caracterizada por un bajo número de puntos, haciendo que el ajuste no sea tan bueno.

Una vez determinada la tasa máxima de crecimiento, se procedió a estimar el tiempo de vida útil desde el punto de vista microbiológico (TVU). Para calcular la caducidad microbiológica de los elaborados de alcachofa en IV Gama se utilizó el modelo de Monod-Hinshelwood (Ec. 5.12). Según McMeekin y Ross (2002), el tiempo para que se desarrolle la alteración de un producto está directamente relacionado con el tiempo de generación (Tg) de los microorganismos predominantes.

$$TVU = \frac{\text{Log } N_s - \text{Log } N_0}{\text{Log } 2} \times Tg \quad (\text{Ec. 5.12})$$

Donde  $N_s$  es el valor de seguridad o máximo permisible antes de considerarse alterado el producto (UFC/g), y  $Tg$  es el tiempo necesario para que una población se duplique ( $Tg = \text{Log } 2 / \mu_{\max}$ ). Sustituyendo el valor de  $Tg$  en la ecuación anterior se obtiene la ecuación que se utilizó para el cálculo del tiempo de vida útil microbiológico (Ec. 5.13).

$$TVU = \frac{\text{Log } N_s - \text{Log } N_0}{\mu_{\max}} \quad (\text{Ec. 5.13})$$

La ausencia de estudios de vida útil en alcachofa mínimamente procesada da lugar a que la propuesta del valor de seguridad ( $N_s$ ) para este tipo de elaborados se haga en base a la antigua normativa microbiológica 3484/2000 y a otros estudios para vegetales mínimamente procesados. En ausencia de microorganismos patógenos,  $N_s$ , que corresponde al valor de “m” (valor umbral del número de bacterias) en el reglamento anteriormente mencionado, toma el valor de 6 Log UFC/g. Además, en los estudios de García-Gimeno y Zurera-Cosano (1997) y Leonett y col. (2011) marcan como límite máximo de la biocarga este mismo valor.

Sustituyendo el valor de  $N_s$  y los valores de  $N_0$  y  $\mu_{\max}$  calculados por el modelo de Baranyi y Roberts para cada tipo de elaborados se obtuvieron los TVU mostrados en la tabla 5.19.

El TVU estimado para las series de elaborados A y B fue similar, de unos 14 días. Normalmente, los vegetales en IV Gama poseen una vida útil que varía entre 7 y 10 días (Horticom, [www.horticom.com](http://www.horticom.com)), por lo que en el presente estudio se ha logrado ampliar la vida media microbiológica del producto manteniendo su calidad organoléptica, gracias al uso conjunto de técnicas de impregnación a vacío y AM.

Tabla 5.19. Parámetros cinéticos calculados mediante el modelo de Baranyi y Roberts y estimación del TVU.

	$N_0$	$N_f$	Lag	$\mu_{\max}$	$R^2$	TVU
<b>A</b>	3,81±0,34	6,50±0,21	0	0,16±0,04	0,8415	13,68
<b>B</b>	3,73±0,50	5,66±0,22	4,24±0,69	0,16±0,06	0,7234	14,19

Donde  $N_0$  y  $N_f$  vienen expresados en Log UFC/g;  $\mu_{\max}$  en Log UFC g<sup>-1</sup> días<sup>-1</sup>; y Lag y TVU en días.



## **6. RESUMEN Y CONCLUSIONES**



- I. Se han caracterizado desde el punto de vista agronómico, físico-químico y bioquímico seis variedades de alcachofa de alto potencial para exportación (“Calicó”, “Salambó”, “Romanesco”, “Thema”, “Violeta de Provenza” y “Blanca de Tudela”), para seleccionar su destino comercial: transformación agroindustrial o consumo en fresco.
  
- II. El adecuado manejo agronómico de los cultivares (establecimiento de los marcos de plantación en función de las variedades, elaboración de programas de fertirrigación atendiendo a las necesidades de agua y nutrientes del cultivo, tratamientos fitosanitarios, etc.) ha conseguido optimizar la producción de las variedades en estudio.

- III. Atendiendo al color de sus capítulos, los seis cultivares se han podido clasificar en dos grupos: las variedades “Blancas”, caracterizadas por el color verdoso de sus brácteas exteriores y corazones amarillentos; y las “violetas”, con tonos violáceos tanto en las brácteas externas como en las internas. El primer grupo ha estado integrado por los cultivares “Blanca de Tudela” y “Calicó”, mientras que “Salambó”, “Thema”, “Romanesco” y “Violeta de Provenza” forman parte de las variedades “violetas”.
- IV. Se ha evaluado la estabilidad oxidativa de los cultivares en función de su capacidad de pardeamiento, determinando variables relacionadas tales como el contenido fenólico y la actividad enzimática para las brácteas externas e internas de las variedades.
- V. En los cultivares “violetas”, las brácteas internas destacan por su mayor contenido fenólico y actividad enzimática, presentando una elevada susceptibilidad de pardeamiento. El tono morado de sus corazones, hace a estas variedades poco adecuadas para el procesado industrial. Sin embargo, el color violáceo de estas variedades las hace aptas para su comercialización en fresco en países como Francia e Italia donde aprecian estas características.
- VI. De las variedades “blancas”, “Blanca de Tudela” ha mostrado mayor estabilidad a la oxidación enzimática que “Calicó”, haciendo a aquel cultivar el más adecuado para su procesado en forma de IV Gama, conserva tradicional o como corazones congelados.
- VII. Se han estudiado procesos metabólicos tales como la respiración y la producción de etileno, en corazones de alcachofa sometidos a operaciones de desbractado, para evaluar su comportamiento como respuesta a situaciones de estrés y plantear soluciones para controlar estos procesos fisiológicos durante el procesado en IV Gama.

- VIII. Se han optimizado las condiciones de manipulación de los capítulos, disoluciones de impregnación, y materiales, atmósfera y condiciones de envasado, para la elaboración en IV Gama, mediante estudios de laboratorio y a escala piloto, teniendo en cuenta la elevada tasa respiratoria y susceptibilidad de pardeamiento de este vegetal.
- IX. Se han elaborado dos series de corazones de alcachofa en IV Gama (A y B), diferenciadas en el pH de la disolución de impregnación, a las que se ha sometido a un control físico-químico y microbiológico para evaluar su calidad y seguridad durante el almacenamiento a 3°C.
- X. Durante el almacenamiento, los elaborados de alcachofa no han mostrado pérdida de peso significativa. Además, el bajo valor del pH de los productos manufacturados, junto con una atmósfera pobre en O<sub>2</sub> y enriquecida en CO<sub>2</sub>, han contribuido a inhibir el crecimiento de una gran parte de la flora microbiana, así como detener procesos de pardeamiento indeseables y ralentizar la respiración.
- XI. El seguimiento de la biocarga del producto (aerobios mesófilos, psicrófilos, enterobacterias, coliformes, mohos y levaduras, *Clostridium* sulfito-reductores, *E. coli*, *Salmonella* y *Listeria*) ha permitido garantizar la calidad microbiológica y seguridad del producto al cumplir con los límites establecidos en el Reglamento (CE) N° 2073/2005 modificado por (CE) N° 1441/2007, para este tipo de alimentos.
- XII. En cuanto a la evolución de los parámetros físico-químicos y microbiológicos tras el envasado, este ha sido más favorable cuando el pH inicial se ajustó a valores más bajos.

- XIII. Se ha realizado la modelización de la curva de crecimiento de microorganismos aerobios mesófilos a lo largo del almacenamiento mediante un modelo informatizado que ha permitido estimar la vida media microbiológica de los elaborados a partir de su tasa máxima específica de crecimiento. La vida útil calculada ha sido de unos 14 días.
- XIV. En definitiva, se ha creado un producto a base de corazones de alcachofa laminados en IV Gama, actualmente inexistente en el mercado, que mantiene su calidad físico-química y seguridad microbiológica durante el periodo estimado de almacenamiento.

## **7. BIBLIOGRAFÍA**



- Aboul-Anean H.E., Mohamed A.Y.I., El-Waseif K.H.M., **2013**. Extension of shelf life of the fresh cut mushrooms and artichokes using some edible films. *Journal of Applied Sciences Research*, 9: 590-600.
- Acquadro A., Papanice M.A., Lanteri S., Bottalico G., Portis E., Campanale A., Finetti-Sialer M.M., Mascia T., Sumerano P., Gallitelli D., **2010**. Production and fingerprinting of virus-free clones in a reflowering globe artichoke. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 100: 329-337.
- Agamia E.H. **1984**. Effect of some postharvest treatments on artichoke heads. *Beitr Trop Landwirtsch Veterinarmed*, 22: 95–100.
- Ahvenainen R., **1996**. New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruit and vegetables. *Trends in Food Science and Technology*, 7: 179-187.

- Allende A., Luob Y., Mc Evoy J.L., Artés F., Wang C.Y., **2004**. Microbial and quality changes in minimally processed baby spinach leaves stored under super atmospheric oxygen and modified atmosphere conditions. *Postharvest Biology and Technology*, 33: 51–59.
- Alonso P., **2007**. Situación de la IV Gama en España. *Horticultura Internacional*, 58: 54-58.
- Alttech Associates Inc. GC columns. Disponible en: [www.discoverysciences.com](http://www.discoverysciences.com)
- Amodio M.L., Cabezas-Serrano A.B., Peri G., Colelli G., **2011**. Post-cutting quality changes of fresh-cut artichokes treated with different anti-browning agents as evaluated by image analysis. *Postharvest Biology and Technology*, 62: 213–220.
- Ancora G., Belli-Donini M.L., Cuozzo L., **1981**. Globe artichoke plants obtained from shoot apices through rapid in vitro micropropagation. *Scientia Horticulturae*, 14: 207-213.
- Anstett, A., **1965**. Les exportations de espèces légumières en maraichage de pleine terre. *Bulletin Technique d'Information*, 200: 459-567.
- Aparicio-Tejo P.M., Lasa B., Frechilla S., Muro J., Quemada M., Arrese-Igor C., Lamfus C., **2000**. La nutrición mineral en ecosistemas agrícolas y naturales y el medio ambiente. Actas VIII Simposio Nacional-IV Ibérico sobre Nutrición Mineral de las Plantas.
- Angiosperm Phylogeny Group III (APG III). Bremer B., Bremer K., Chase M.W., Fay M.F., Reveal J.L., Soltis D.E., Soltis P.S., Stevens P.F., Andenberg A., Moore M.J., Olmstead R.G., Rudall P.J., Sytsma K.J., Tank D.C., Wurdack K., Xiang J.Q., Zmarzty S., **2009**. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161: 105-121.
- Arce P., Gil R., Macua J.I., Villa F., **1996**. Aplicación de las técnicas de cultivo in vitro a la mejora de la alcachofa. 1ª Jornadas Técnicas de Alcachofa, pp. 114-121.

- 
- Arias E., González J., López-Buesa P., Oria R., **2007**. Influencia de la composición atmosférica en la vida útil de pera conferencia mínimamente procesada. V congreso iberoamericano de tecnología postcosecha y agroexportaciones, pp. 739-750.
- Arias L.E., Patiño Gómez J.H., Salazar J.A., **2012**. Application of the matrixes engineering on the development of minimally processed Hass avocado (*Persea americana* Mill) with additions of vitamin C and calcium. *Revista Lasallista de Investigación*, 9: 44-54.
- Armengol J., Berbegal M., Giménez-Jaime A., Romero S., Beltrán R., Vicent A., Ortega A., and García-Jiménez J., **2005**. Incidence of *Verticillium* wilt of artichoke in Eastern Spain and role of inoculum sources on crop infection. *Phytoparasitica*, 33: 397-405.
- Artés Calero F., **2006**. El envasado en atmósfera modificada mejora la calidad de consumo de los productos hortofrutícolas intactos y mínimamente procesados en fresco. *Revista iberoamericana de tecnología postcosecha*, 7: 61-85.
- Artés Calero F., Artés Hernández F., Aguayo E., **2004**. Evolución y tendencias de la industria española de procesado mínimo en fresco de frutas y hortalizas. *Revista Mercados*, 51: 14-15.
- Artés Calero F., Castañer M., Gil M.I., **1998**. Enzymatic browning in minimally processed fruit and vegetables. *Food Science and Technology International*, 4: 377-389.
- Artés Hernández F., **2007**. Avances tecnológicos en el transporte frigorífico hortofrutícola. Jornada sobre soluciones tecnológicas en logística y transporte. UPCT- Cartagena, noviembre de 2007.
- Asociación Española de Frutas y Hortalizas Lavadas, Listas para su Empleo (AFORLA). Consulta: diciembre, 2013. Disponible en: [www.afhorla.com](http://www.afhorla.com)

- Avitia J., Pujolà M., Blazquez J., Díaz C., Achaerandio I., **2008**. Evolución de parámetros de calidad organoléptica en productos de V Gama elaborados con alcachofa del Prat (*Cynara Scolymus*). V Congreso Español de Ingeniería de los Alimentos. Barcelona, 5-7 noviembre 2008.
- Baixauli C., Maroto J.V., **2007**. Cvs de alcachofa propagable por semilla, respuesta al ácido giberélico. Nuevas variedades de reproducción por semilla y técnicas de producción en alcachofa. Tesis Doctoral del Departamento de Producción Vegetal de la Universidad Politécnica de Valencia.
- Balmaseda J.L., **1970**. Protección fitosanitaria de la alcachofa. Agricultura. *Revista Agropecuaria*, 460: 547-550.
- Baranyi J., Roberts T.A., **1994**. A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *International Journal of Food Microbiology*, 23: 277-294. DMFit (edición web) <http://modelling.combase.cc/DMFit.aspx>.
- Barry-Ryan C., O'Beirne D., **2000**. Effects of peeling methods on the quality of ready-to-use carrot slices. *International Journal of Food Science and Technology*, 35: 243-254.
- Bartual R., **1985**. IV cursos internacionales de horticultura en climas áridos. Ministerio de Agricultura y Ministerio de Asuntos Exteriores, 5: 1-25.
- Basnizki J., Zohary D., **1994**. Breeding of seed planted artichoke. *Plant Breeding Reviews*, 12: 253-269.
- Benoit H., Ducreux G., **1981**. Etude de quelques aspects de la multiplication végétative in vitro de l'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Agronomie*, 1: 225-230.
- Bernal C., Palomares G., Susín I., **2005**. Establishment of a germination medium for artichoke pollen and its relationship with seed production. *Acta Horticulturae*, 681: 291-300.

- 
- Berrang M.E., Brackett R.E., Beuchat L.R., **1990**. Microbial, color and textural qualities of fresh asparagus, broccoli and cauliflower stored under controlled atmosphere. *Journal of Food Protection*, 53: 391-395.
- Bianco V.V., 1990. Carciofo (*Cynara scolymus* L.). In: Bianco V.V. and Pimpini F.(eds). *Orticoltura*. Patron Editore, Bologna (in Italian), pp. 209-251.
- Bianco V.V., **2005**. Present situation and future potential of artichoke in the Mediterranean Basin. *Acta Horticulturae*, 681: 39-55.
- Blouin J., **1992**. Techniques d'analyses des moûts et de vins. Ed. Bujardin-Salleron, Paris.
- Bradford M.M., **1976**. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- Braverman J., **1980**. Introducción a la bioquímica de los alimentos. Ed. Omega, Barcelona, pp. 355.
- Brecht JK., Saltveit ME., Talcott ST., Schneider KR., Felkey K., Bartz JA., **2004**. Fresh-cut vegetables and fruits. *Horticultural Reviews*, 30:185–250.
- Buchanan R.L., Whiting R.C., Damert W.C., **1997**. When is simple good enough. Comparison of the Gompertz, Baranyi and three-phase linear models for fitting bacterial growth curves. *Food microbiology*, 14: 313-326.
- Burt C.K., O'Connor R., Ruehr T., **1998**. Fertigation. The irrigation. Training and Research Center. California Polytechnic State University. San Luis Obispo. CA.
- Burton W.G., **1982**. Postharvest physiology of food crops. Ed. Longman, London, pp. 339.
- C.I.E. Commission Internationale de L'Eclairage. **1976**. 18 th session. Publication 36, London.

- Cabeza E. **2008**. Aplicación de la microbiología predictiva en la determinación de la vida útil de los alimentos. Departamento de Microbiología de la Universidad de Pamplona. Facultad de Ciencias Básicas. Disponible en: [http://www.academia.edu/992792/Aplicacion\\_de\\_la\\_Microbiologia\\_Predictiva\\_en\\_la\\_determinacion\\_de\\_la\\_vida\\_util\\_de\\_los\\_alimentos](http://www.academia.edu/992792/Aplicacion_de_la_Microbiologia_Predictiva_en_la_determinacion_de_la_vida_util_de_los_alimentos)
- Cabezas-Serrano A.B., Amodio M.L., Cornacchia R., Rinaldi R., Colelli G., **2009**. Screening quality and browning susceptibility of five artichoke cultivars for fresh-cut processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89: 2588-2594.
- Calabrese N., **2009**. AA.VV. Il carciofo e il cardo. Coordinamento scientifico N. Calabrese. Collana Coltura&Cultura. Ed. Script. Bologna, Impianto, pp. 168-171.
- Campus M., Porcu M.C., Cappuccinelli R., Scano E.A., Roggio T., **2007**. Design and evaluation of EMA package for minimally processed artichoke. VI International Symposium on Food and Agricultural Products: Processing and Innovations. Naples, Italy, 24-26 september 2007.
- Cardenas G., **2006**. Alcachofa cualidades y producción. Ed. Ripalme, Lima, 7-113.
- Cebolla V., Navarro C., Miguel A., Llorach S., Monfast P., **2004**. The control of *Verticillium dahliae* on artichokes by chemical and non chemical soil disinfection methods. *Acta Horticulturae*, 660: 473-478.
- Cefola M., D'Antuono I., Pace B., Calabrese N., Carito A., Linsalata V., Cardinali A., **2012**. Biochemical relationships and browning index for assessing the storage suitability of artichoke genotypes. *Food Research International*, 48: 397-403.
- Chabbouh N., Cherif C., **1990**. Cucumber mosaic virus in artichoke (CMV). *FAO Plant Protection Bulletin*, 38: 52-53.
- Chabbouh N., Cherif C., Martelli G.P., **1990**. Natural infections of artichoke by potato virus X in Tunisia. *Journal of Phytopathology*, 129: 257-260.

- 
- Cheftel J.C. y Cheftel H., **1983**. Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos. Ed. Acribia. Zaragoza, pp. 333.
- Cirulli M., Bubici G., Amenduni M., Armengol J., Berbegal M., Jiménez-Gasco M.M., Jiménez-Díaz R.M., **2010**. Verticillium wilt: a threat to artichoke production. *Plant Disease*, 94: 1176-1187.
- Cirulli M., Ciccarese F., Amenduni M., **1994**. Evaluation of Italian clones of artichoke for resistance to *Verticillium dahliae*. *Plant Disease*, 78: 680-682.
- Comunidad Autónoma de la Región de Murcia (CARM). Anuario de Estadística agraria **2012**. Disponible en: [www.carm.es](http://www.carm.es)
- Corbo M.R., Del Nobile M.A., Sinigaglia M., **2006**. A novel approach for calculating shelf life of minimally processed vegetables. *International Journal of Food Microbiology*, 106: 69 – 73.
- Cortez-Vega W.R., Becerra-Prado A.M., Marques Soares J., Graciano Fonseca G., **2008**. Effect of L-ascorbic acid and sodium metabisulfite in the inhibition of the enzymatic browning of minimally processed apple. *International Journal of Agricultural Research*, 3: 196-201.
- Costa M.L., Martínez D.E., Gomez F.M., Carrión C., Guiamet J.J., **2013**. Chloroplast Protein Degradation: Involvement of Senescence-Associated Vacuoles. In “Chloroplast development during leaf growth and senescence”. Biswal B., Krupinska K., Biswal U.C. (Eds). Serie libros “Advances in Photosynthesis and Respiration” (Govindjee & Sharkey T.D., series eds.), pp. 417 – 433.
- Cravero V., Martín E., Crippa I., Lopez Anido F., Maris Garcia S., **2012**. Fresh biomass production and partitioning of aboveground growth in the three botanical varieties of *Cynara cardunculus* L. *Industrial Crops and Products*, 37: 253-258.
- Davey K.R. **1989**. A predictive model for combined temperature and water activity on microbial growth during the growth phase. *Journal of Applied Bacteriology*, 67: 483-488.

- Davey M.W., Van Montagu M., Inze D., Sanmartín M., Kanellis A., Smirnoff N., Benzie I.J.J., Favell D., Fletcher J., **2000**. Plant L- ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 825-860.
- Dawson J.H., **1988**. Probing structure-function relations in heme-containing oxygenases and peroxidases. *Science*, 240: 433–439.
- De Candolle A., **1890**. Origin of cultivated plants. Ed. Appleton and Company, New York, pp. 233-236.
- De Leo P., Greco B., **1976**. Nuova tecnica di propagazione del carciofo: coltura in vitro dei meristemi apicali. Atti 2nd Congr. Int. Sul Carciofo, Bari. Ed. Minerva Medica, Torino, pp. 657-667.
- Del Nobile M.A., Conte A., Scrocco C., Laverse J., Brescia I., Conversa G., Elia A., **2009**. New packaging strategies to preserve fresh-cut artichoke quality during refrigerated storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10: 128–133.
- Dellacecca V., Magnifico V., Marzi V., Porceddu E., Scarascia G.T., **1976**. Contributo alla conoscenza delle varietà di carciofo coltivate nel mondo. Atti II Congresso Internazionale Studi sul Carciofo, Bari. Ed. Minerva Medica, Torino, pp. 199-316.
- Devos P., Langhe E., Bruijne E., **1975**. Influence of 2,4-D on the propagation of *Cynara scolymus L. in vitro*. Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, *Rijksuniversiteit Gent.*, 40: 829-836.
- Di Venere D., Linsalata V., Calabrese N., Pieralice M., Bianco V.V., Lattanzio V., **2005**. Morphological and biochemical changes during growth and development of artichokes buds. *Acta Horticulturae*, 681: 437–441.

- 
- Draoui N., Ghorbel A., Kchouk M.E., **1993**. In vitro culture of Globe artichoke (*Cynara scolymus* L.) in Tunisia: utilization of vitromethods in artichoke improvement. *Agricoltura Mediterranea*, 123: 139-145.
- Dunford H.B., Stillman J.S., **1997**. On the function and mechanism of action of peroxidase. *Coordination Chemistry Reviews*, 19: 187-251.
- Espelta J.M; Isart J; Salleras J.M; Murull A; Nadal M; Ros M.A; Fábregues C., **1984**. La alcachofa (I parte) Cultivo, plagas y enfermedades. *Horticultura*, 15: 7-14.
- Espin J.C., Morales M., Varon R., Tudela J., García Canovas F., **1996**. Continuous spectrophotometric method for determining monophenolase and diphenolase activities for pear polyphenol oxidase. *Journal of Food Science*, 61: 1177–1181.
- Espín J.C., Tudela J., García-Cánovas F., **1997**. Monophenolase Activity of Polyphenol Oxidase from Artichoke Heads (*Cynara scolymus* L.). *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie*, 30: 819–825.
- Espín J.C., Veltman R.H., Wichers J.W., **2000**. The oxidation of L-ascorbic acid catalysed by pear tyrosinase. *Physiologia Plantarum*, 109: 1-6.
- Esteva Pascual J., Martínez Tomé J., **2002** Estudio comparativo de dos cultivares de alcachofa de semilla de polinización abierta con Blanca de Tudela en la Vega Baja del Segura. *Seminario de Especialistas en Horticultura*, 10: 53-59.
- Export helpdesk- European commission. Estadísticas de comercio **2012**. Disponible en: <http://exporthelp.europa.eu>
- Ferrer M.A., Calderón A.A., Muñoz R., Ros Barceló A., **1990**. 4-Methoxy-a-naphthol as a specific substrate for kinetic, zymographic and cytochemical studies on plant peroxidase activities. *Phytochemical Analysis*, 1: 63-69.
- Fertiberia. Disponible en: [www.fertiberia.es](http://www.fertiberia.es) [Consulta Enero 2013]
- Fito P., Pastor R., **1994**. Non-diffusional mechanisms occurring during vacuum osmotic dehydration. *Journal of Food Engineering*, 21: 513-519.

- Fonseca S.C., Oliveira F.A.R., Brecht J.K., **2002**. Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: a review. *Journal of Food Engineering*, 52: 99–119.
- Fortiz-Hernández J., Rodríguez-Félix A., **2010**. Efecto del envasado en películas plásticas en la calidad de nopal mínimamente procesado. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 11: 180-190.
- Foti S., Mauromicale G., Ierna A., **2005**. Response of seed-grown globe artichoke to different levels of nitrogen and water. *Acta Horticulturae*, 68: 237-242.
- Foury C., **1967**. Study of the floral biology of the artichoke *Cynara scolymus* L. with application to selection. Part I (in French). *Annales De L'amélioration Des Plantes*, 17: 357–373.
- Foury C., **1976**. L'Artichaut. Ministère Agriculture. *Bulletin Technique Information*, 311: 415-432.
- Fратиanni F., Tucci M., De Palma M., Pepe R., Nazzaro F., **2007**. Polyphenolic composition in different parts of some cultivars. *Food Chemistry*, 104: 1282–1286.
- Gallitelli D., Rana G.L., Vovlas C., Martelli G.P., **2004**. Viruses of globe artichoke: an overview. *Journal of Plant Pathology*, 86: 267-281.
- Gamayo Díaz J., **1996**. El cultivo de la alcachofa en las comunidades Valenciana y de Murcia. I Jornadas técnicas de alcachofa. Tudela, Navarra, pp. 69-77.
- Gamayo Díaz J., Aguilar A., **1999**. Alcachofa “Blanca de Tudela”. Ensayo de estacas o zuecas de distinta edad en la Comunidad Valenciana. *Navarra Agraria*, 32-38.
- García M., **1999**. Plagas, enfermedades y fisiopatías del cultivo de la alcachofa en la Comunidad Valenciana. Conselleria d'Agricultura i Pesca. Generalitat Valenciana.

- 
- García M.C., García M.T., García-Linares M.C., Villarino A., **2000**. Verduras y Hortalizas: alimentos funcionales de la dieta. *Elaboración de conservas vegetales*, 17-31.
- García-Gimeno R.M., Zurera-Cosano G., **1997**. Determination of ready-to-eat vegetable salad shelf-life. *International Journal of Food Microbiology*, 36: 31-38.
- Garg N., Churey J.J., Splittstoesser D.F., **1990**. Effect of processing conditions on the microflora of fresh-cut vegetables. *Journal of Food Protection*, 53: 701-703.
- Gauillard F., Richard-Forget F., Nicolas J., **1993**. New spectrophotometric assay for polyphenol oxidase activity. *Analytical Biochemistry*, 215: 59-65.
- Ghidelli C., Mateos M., Rojas-Argudo C., Pérez-Gago M.B., **2013**. Antibrowning effect of antioxidants on extract, precipitate, and fresh-cut tissue of artichokes. *Food Science and Technology*, 51: 462-468.
- Giambanco de Ena H., **2003**. La prerefrigeración de la alcachofa. *Horticultura*, 170: 32-37.
- Gil M.I., Conesa M.A., Artes F., **2003**. Effects of low-oxygen and high-carbon dioxide atmosphere on postharvest quality of artichokes. *Acta Horticulturae*, 600: 385-388.
- Gil-Albarellos C., Monfort E., López E., Fernández L., Gómez N., **2011**. Normas técnicas de producción integrada. Alcachofa. Conserjería de Agricultura, ganadería y Medio Ambiente. La Rioja, pp. 1-14.
- Gil-Izquierdo A., Gil M.I., Conesa M.A., Ferreres F., **2001**. The effect of storage temperatures on vitamin C and phenolics content of artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2: 199-202.
- Gil-Ortega R., **1996**. Selección y mejora de la alcachofa. 1ª Jornadas Técnicas de Alcachofa. Tudela, Navarra, pp. 99-107.

- Gil-Ortega R., **1999**. Plagas, enfermedades y accidentes de la alcachofa. Hojas Divulgadoras N° 2098. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid, pp. 23-25.
- Gil-Ortega R., 1999a. El cultivo de la alcachofa. Variedades de semilla. Hojas Divulgadoras N° 2097. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid, pp. 1-47.
- 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 Microbiology*, 20: 231–242.
- Goud J.C., Termorshuizen A.J., Blok W.J., Van Bruggen A.H.C., **2004**. Long-term effect of biological soil disinfestation on *Verticillium* wilt. *Plant Disease*, 88: 688-694.
- Harbaoui Y., **1982**. Multiplication in vitro et assainissement viral de l'artichaut *Cynara scolymus* L. Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques. Faculté des Sciences Agronomiques et Biologiques Appliquées de Gent. Belgique.
- Harbaoui Y., Smayn G., Welvaert W., Debergh P.C., **1982**. Assainissement viral de l'artichaut (*Cynara scolymus* L.) par la culture in vitro d'apex méristématiques. *Phytopathologie Méditerranée*, 21: 15-19.
- Heimdal H., Bro R., Larsen L.M., Poll L., **1997**. Prediction of polyphenol oxidase activity in model solutions containing various combinations of chlorogenic acid. (-)-Epicatechin, O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, temperature and pH by multiway data analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 2399-2406.
- Henriksen A., Mirza O., Indiani C., Teilum K., Smulevich G., Welinder K.G., Gajhede M., **2001**. Structure of soybean seed coat peroxidase: a plant peroxidase with unusual stability and haem-apoprotein interactions. *Protein Science*, 10: 108-115.

- Horticom. Portal temático para la industria, comercio, distribución y economía hortícolas. Disponible en: [www.horticom.com](http://www.horticom.com)
- Ihl M., Monsalves M., Bifani V., **1998**. Chlorophyllase inactivation as a measure of blanching efficacy and colour retention of artichokes *Cynara scolymus* L. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 31: 50-56.
- Infoagro, **2012**. El cultivo de la alcachofa. Disponible en: <http://www.infoagro.com/hortalizas/alcachofa.htm>
- Informe especial. **2003**. La Alcachofa. *Navarra Agraria*. Disponible en: [www.navarraagraria.com/n137/alcacho1.pdf](http://www.navarraagraria.com/n137/alcacho1.pdf)
- Instituto Nacional de Estadística (INE). Estadística Agraria **2012**. Disponible en: [www.ine.es](http://www.ine.es)
- Iranzo B., **1995**. La alcachofa en “el proyecto de hortalizas”. *Agrícola Vergel*, 165: 487-489.
- ISO 15213: **2003**. Microbiología de alimentos y piensos Método horizontal para el recuento de bacterias sulfito-reductoras que crecen bajo condiciones anaeróbicas.
- ISO 17410: **2001**. Microbiología de alimentos y piensos - Método horizontal para el recuento de microorganismos psicrotrofos.
- ISO 6579: **2002**. Microbiología de alimentos y piensos - Método horizontal para la detección de *Salmonella spp.*
- ISO 6887-1: **1999**. Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Preparación de las muestras de ensayo, suspensión inicial y diluciones decimales para examen microbiológico. Parte 1: Reglas generales para la preparación de la suspensión inicial y las diluciones decimales.

- Jana C., Gutiérrez R., Alfaro V., **2011**. Propagación de alcachofas. Un aspecto clave en la producción. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Centro Regional de Investigación Intihuasi. Boletín N° 222. La Serena, Chile.
- Jason A.C., **1983**. A deterministic model for monophasic growth of batch cultures of bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 49: 513-536.
- Kader A.A., **2002**. Postharvest Biology and Technology: an overview. Postharvest technology of horticultural crops. University of California. *Agriculture y Natural Resource (ANR Publications)*, 311-324.
- Kim D.M., Smith N.L., Lee C.Y., **1993**. Apple cultivar variations in response to heat treatment and minimal processing. *Journal of Food Science*, 58: 1111-1124.
- La Malfa G., Foury C., **1971**. Aspects de la multiplication végétative de l'artichaut dans le bassin occidental de la méditerranée. *Pépinieristes, Horticulteurs, Maraîchers*, 114: 19-29.
- Labuza T. Determination of Shelf Life of Foods. Disponible en: [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/ShelfLife1corto\\_8507.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/ShelfLife1corto_8507.pdf)
- Larkin P.J., Scowcroft W.R., **1981**. Somaclonal variation a novel source of variability from cell culture for plant improvement. *Theoretical and Applied Genetics*, 60: 197-214.
- Lattanzio V., Cardinali A., Di Venere D., Linsalata V., Palmieri S., **1994**. Browning phenomena in stored artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads: enzymic or chemical reaction? *Food Chemistry*, 50: 1-7.
- Lattanzio V., Linsalata V., Palmieri S., Van Sumere C.F., **1989**. The beneficial effect of citric and ascorbic acid on the phenolic browning reaction in stored artichokes (*Cynara scolymus* L.) heads. *Food Chemistry*, 33: 93-106.
- Lattanzio V., Paul A. Kroon P.A., Linsalata V., Cardinali A., **2009**. Globe artichoke: A functional food and source of nutraceutical ingredients. *Journal of functional foods 1*: 131-143.

- 
- Lee D.S., Hwang K.J., An D.S., Park J.P., Lee H.J., **2007**. Model on the microbial quality change of seasoned soybean sprouts for on-line shelf life prediction. *International Journal of Food Microbiology*, 118: 285–293.
- Leonett M.J., Arenas C.A, Bracho N., **2011**. Calculation of shelf life from fresh-cut melon (*Cucumis melo* L.). variety Cantaloupe with edible gelatine based coating by a surface response model. Universidad de Oriente, Venezuela. *Saber*, 23: 127-133.
- Leoni O., Palmieri S., Lattanzio V., Van Sumere C.F., **1990**. Polyphenol oxidase from artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Food Chemistry*, 38: 27–39.
- Li H., Xie W., Edmonson A. **2007**. Evolution and limitations of primary mathematical models in predictive microbiology. *British Food Journal*, 109: 608-626.
- Li J., McClane B.A., **2006**. Comparative effects of osmotic, sodium nitrite-induced, and pH-induced stress on growth and survival of *Clostridium perfringens* Type A isolates carrying chromosomal or plasmid-borne enterotoxin genes. *Applied and Environmental Microbiology*, 77: 7620–7625.
- Linnaeus C., **1753**. *Species Plantarum*, 2: 561-1200
- Lo Bianco C., Micozzi F., Jordan J.R., Jordan A., Crinò P., Temperini A., Pagnotta M.A., Saccardo F., **2011**. F1 hybrids of globe artichoke of 'Romanesco' type. *Acta Horticulturae* 942 Vol. 1. VII International Symposium on Artichoke, Cardoon and Their Wild Relatives. Saint Pol de Léon, France.
- Lombardo S., Pandino G., Mauromicale G., Knödler M., Carle R., Schieber A., **2010**. Influence of genotype, harvest time and plant part on polyphenolic composition of globe artichoke [*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori]. *Food Chemistry*, 119: 1175–1181.
- Loomis R.S., Connor D.J., **2002**. Procesos del nitrógeno. “Ecología de cultivos. Productividad y manejo en sistemas agrarios”. Ed. Mundi-Prensa, pp. 215-248.

- López J., González A., Vicente F.E., Condés L.F., Fernández J.A., **2007**. Artichoke production in the Province of Murcia (SE Spain). *Acta Horticulturae*, 630: 223-227.
- Macua J.I., **1996**. Colección de variedades de alcachofa. 1ª Jornadas Técnicas de Alcachofa. Tudela, Navarra, pp. 151-162.
- Macua J.I., **2007**. New orizons for artichoke cultivation. *Acta Horticulturae*, 730: 39-48.
- Macua J.I., Arce P., López B., **1991**. Multiplicación de la alcachofa en el Valle Medio del Ebro. *Navarra Agraria*, 3-5.
- Macua J.I., Lahoz I., Bozal J.M., **2009**. Alcachofa “Blanca de Tudela”. Influencia de las épocas de plantación en la producción y venta. *Navarra Agraria*, 175: 27- 30.
- Macua J.I., San Martín C., Francés J., **1996**. La alcachofa, un cultivo mimado en Navarra. *Navarra Agraria*. 21-23.
- Macua J.I., Bozal J.M., Lahoz I., Sola E., **1999**. Artichoke cv "Blanca de Tudela": trial of different "age" cuttings. *Navarra Agraria*, 114: 28-31.
- Magnífico V., Lattanzio V., **1979**. Ritmo di asportazione di elementi nutritivi (N, P e K) nelle diverse fasi del ciclo di una cardifolia. *Rivista Di Agronomia*, 4: 273- 281.
- Mahajan P.V. y Goswami T.K., **2001**. PH—Postharvest Technology: Enzyme kinetics based modelling of respiration rate for apple. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 79: 399-406.
- Manjula K., Bhagath Y.B., Soujanya K., **2013**. Physicochemical and microbial analysis of minimally processed fruits and vegetables. *IOSR Journal Of Environmental Science, Toxicology And Food Technology*, 5: 1-6. Disponible en: [www.Iosrjournals.Org](http://www.Iosrjournals.Org)
- Maroto J.V., **1983**. Horticultura herbácea especial. 4ª edición. Ed. Mundi-Prensa. Madrid.

- 
- Maroto J.V., **1995**. Horticultura herbácea especial. 4ª edición. Ed. Mundi-Prensa. Madrid.
- Maroto J.V., **2002**. Principales problemas y soluciones para el cultivo de la alcachofa. *Vida Rural*, 146: 26-28.
- Maroto J.V., **2007**. Effects of Gibberellic Acid (GA3). Applications on globe artichoke production. *Acta Horticulturae*, 730: 137-142.
- Martín O., Oms G., **2005**. Efecto de la atmósfera modificada en las características físico-químicas y nutricionales de la fruta fresca cortada. Simposium “Nuevas tecnologías de conservación y envasado de frutas y hortalizas. Vegetales frescos cortados” La Habana, Cuba. Marzo 2005.
- Martínez Serna J.A., **1998**. Estudio de precocidad y producción de cuatro variedades de alcachofa cultivadas por semilla y zueca en el primer año de cultivo. *Revista de Horticultura*, 197: 274-277.
- Martínez Serna J.A., Carbonell M., **2007**. Estudio comparativo de cultivares de alcachofa de propagación sexual o vegetativa. XXXVII Seminario de Técnicos y Especialistas en Horticultura. Almería, pp. 153–162.
- Massignan L., Lovino R., Di Venere D., Linsalata V., **2005**. Effect of harvest time, processing and packaging on the quality of ‘ready to use’ artichokes. *Acta Horticulturae*, 681: 629–636.
- Mauricio L., Leal J., **2011**. Efecto de la aplicación de azufre para el control de oidiosis “*Leveillula taurica*” en el cultivo de alcachofa (*Cynara scolymus* L.) var Imperial Star. *Scientia Agropecuaria*, 2: 169-176.
- Mauro R., Portis E., Acquadro A., Lombardo S., Mauromicale G., Lanteri S., **2009**. Genetic diversity of globe artichoke landraces from Sicilian small-holdings: implication for evolution and domestication of the species. *Conservation Genetics*, 10: 431-440.

- McMeekin T.A., Ross T., **2002**. Predictive microbiology: providing a knowledge based framework for change management. *International Journal of Food Microbiology*, 78: 133– 153.
- Mencarelli F., Anelli G., Tesi R. **1982**. Idoneita alla consevazione di alcune cultivars di carciofo e di zucca da zucchini. *Frutticoltura*, 44: 47-50.
- Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio ambiente. Anuario de Estadística del MAGRAMA **2012**. Disponible en: <http://www.magrama.gob.es>
- Murata M., Tsurutani M., Tomita M., Homma S., Katsuyoshi K. **1995**. Relationship between apple ripening and browning: changes in polyphenol content and polyphenol oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43: 1115-1121.
- Namesny A., **2005**. Actualidad en fruta de IV Gama. *Horticultura*, 188: 41-52.
- NF EN ISO 4833-1: **2013**. Microbiología de alimentos - Método horizontal para el recuento de microorganismos - Parte 1: Recuento de colonias a 30 ° C por la técnica de vertido en placa.
- NF ISO 21527-1: **2008**. Microbiología de alimentos y piensos - Método horizontal para el recuento de hongos y levaduras - Parte 1: Técnica de recuento de colonias en productos con actividad de agua superior a 0,95.
- NF ISO 21528-2: **2004**. Microbiología de alimentos y piensos - Métodos horizontales para la detección y enumeración de Enterobacterias - Parte 2: Método de recuento de colonias.
- Nicolas J.J., Richard-Forget F.C., Goupy P.M., Amiot M.J., Aubert S.Y., **1994**. Enzymatic browning reactions in apple and apple products. *Food Science and Nutrition*, 34: 109-157.
- Omuaru V., Welford A., Izonfuo L., Braide S.A., **1990**. Enzymic browning in ripening plantain pulp (*Musa paradisiaca*) as related to endogenous factors. *Journal of Food Science and Technology*, 27: 239-241.

- 
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. FAOSTAT **2011**. Disponible en: <http://faostat.fao.org>
- Ospina S.M., Cartagena J.R., **2008**. La atmósfera modificada: una alternativa para la conservación de los alimentos. *Revista Lasallista de Investigación*, 5: 112-123.
- Parra J., Aguilar A., Gamayo J.D., Ramírez B., Marsal J.I., Calatayud A., **2012**. Tratamientos para la prevención y control de la “Roya de cabeza” en alcachofa “Blanca de Tudela”. XI Jornadas IVIA sobre actualización en cultivos hortícolas. Valencia.
- Pècaut P., Corre J., Lot H y Miglori A., **1985**: Intèrêt des plants sains d’artichaut, régénérés par la culture in vitro. *Pépinieristes, Horticulteurs, Maraîchers*, 256: 21-26.
- Pècaut P., Dumas de Vaulx R., Lot H., **1983**. Virus-free clones of globe artichoke (*Cynara scolymus*) obtained after in vitro propagation. *Acta Horticulturae*, 131: 303-309.
- Peña-Iglesias A., Ayuso-Gonzales P., **1972**. Degeneration of Spanish globe artichoke (*Cynara scolymus* L.) plants. Virus isolation, host range, purification and ultrastructure of infected hosts. *Annales de l’Institut National de Investigaciones Agronomicas*, 2: 89-122.
- Pérez L., González-Martínez C., Chafér M., Chiralt A., **2001**. Inhibición del pardeamiento enzimático en pera var. Blanquilla. Actas del 3º Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos (CIBIA 2001), 4: 307-312.
- Pérez-Rodríguez R., Martín-Fernández M., **2010**. Producción y comercialización de hortalizas de 4ª Gama. *Horticultura Global*, 26-35.
- Pignone D., Sonnante G., **2004**. Wild artichokes of south Italy: did the story begin here? *Genetic Resources and Crop Evolution*, 51: 577-580.

- Pignone D., Sonnante G., **2009**. Origine ed evoluzione. AA.VV. Il cardiofo e il cardo. Coordinamento científico N. Calabrese. Collana coltura & coltura. Ed. Script Bologna, pp. 2-11.
- Plaza L., Crespo I., Pascual-Teresa S., Ancos B., Sánchez-Moreno C., Muñoz M., Cano M.P., **2011**. Impact of minimal processing on orange bioactive compounds during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 124: 646–651.
- Pomares F., **1991**. Fertilización nitrogenada, fosforada y potásica en alcachofas en la Comunidad Valenciana. *Agrícola Vergel*, 623-626.
- Pomares F., Tarazona F., Estela M., Bartual R., Arcinaga L., **1995**. Response of globe artichoke to nitrogen, phosphorous and potassium fertilizer. *Agrochimica*, 37: 111-121.
- Porta J., López-Acevedo M., Roquero C., **1994**. Edafología para la Agricultura y el medio Ambiente. Ed. Mundi- Prensa. Madrid, pp. 807.
- Protein Data Bank (PDB). Consulta: Diciembre, 2013. Disponible en: <http://www.pdb.org/pdb/home/home.do>
- Ratkowsky D.A., Olley J., McMeekin T.A., Ball A., **1982**. Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures. *Journal of Bacteriology*, 149: 1-5.
- Real Decreto 135/2010, de 12 de febrero, por el que se derogan disposiciones relativas a los criterios microbiológicos de los productos alimenticios.
- Real Decreto 3484/2000, de 29 de diciembre, por el que se establecen las normas de higiene para la elaboración, distribución y comercio de comidas preparadas.
- Reglamento (CE) N° 1466/2003 de la Comisión, de 19 de agosto de 2003, por el que se establecen las normas de comercialización de las alcachofas y se modifica el Reglamento (CE) n° 963/98.

Reglamento (CE) N° 1935/**2004** del Parlamento Europeo y del Consejo, de 27 de octubre de 2004, sobre los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos y por el que se derogan las Directivas 80/590/CEE y 89/109/CEE.

Reglamento (CE) N° 396/**2005** del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de febrero de 2005 relativo a los límites máximos de residuos de plaguicidas en alimentos y piensos de origen vegetal y animal y que modifica la Directiva 91/414/CEE del Consejo Texto pertinente a efectos del EEE.

Reglamento (CE) N° 1107/**2009** del Parlamento Europeo y del Consejo de 21 de octubre de 2009 relativo a la comercialización de productos fitosanitarios y por el que se derogan las Directivas 79/117/CEE y 91/414/CEE del Consejo.

Reglamento (CE) N° 1331/**2008** del Parlamento Europeo y del Consejo de 16 de diciembre de 2008 por el que se establece un procedimiento de autorización común para los aditivos, las enzimas y los aromas alimentarios.

Reglamento (CE) N° 1441/**2007** de la Comisión de 5 de diciembre de 2007 que modifica el Reglamento (CE) no 2073/2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios.

Reglamento (CE) N° 2023/**2006** de la Comisión, de 22 de diciembre de 2006, sobre buenas prácticas de fabricación de materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos.

Reglamento (CE) N° 2073/**2005** de la Comisión de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios.

Reglamento (UE) N° 10/**2011** de la Comisión, de 14 de enero de 2011 , sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos.

Reglamento (UE) N° 1129/**2011** de 11 de noviembre 2011 por el que se modifica el anexo II del Reglamento (CE) N° 1333/2008 del Parlamento Europeo y del

Consejo por el que se establece una lista de la Unión de los aditivos alimentarios.

Reglamento (UE) N° 438/2013 de la Comisión de 13 de mayo de 2013 por el que se modifica y corrige el anexo II del Reglamento (CE) N° 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo que respecta a la utilización de determinados aditivos alimentarios.

Ricci I., Amodio M.L., Colelli G., **2013**. Influence of pre-cutting operations on quality of fresh-cut artichokes (*Cynara scolymus* L.): Effect of storage time and temperature before cutting. *Postharvest Biology and Technology*, 85: 124–131.

Richard-Forget F.C., Gaillard F.A., **1997**. Oxidation of chlorogenic acid, catechins and 4-methylcatechol in model solutions by combinations of pear (*pyrus communis* cv Williams) polyphenol oxidase and peroxidase—a possible involvement of peroxidase in enzymatic browning. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 2472-2476.

Rincón L. **1996**. Riego y fertilización de la alcachofa en riego por goteo. Jornadas Técnicas de alcachofa. Tudela, Navarra, pp. 191-205.

Robards K., Prenxler P.D., Tucker G., Swatsitang P., Glover W., **1999**. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66: 401-436.

Robinson D.S., **1991**. Peroxidases and their significances in fruits and vegetables. “Food Enzymology”. Vol 1. P F Fox. Ed Elsevier, London, pp. 329-426.

Rojas C., **2011**. Cultivo de alcachofa (*Cynara cardunculus* sub *scolymus* L.). Instituto de Investigaciones Agropecuarias, centro de investigación especializado en agricultura del desierto y altiplano (CIE), INIA URURI, Región de Arica y Parinacota. Ministerio de Agricultura. Informativo n°56, octubre 2011.

Rottemberg A., Zohary D., **1996**. The wild ancestry of the cultivated artichoke. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 43: 53-58.

- 
- Rottemberg A., Zohary D., **2005**. Wild genetic resources of cultivated artichoke. *Acta Horticulturae*, 681: 307- 301.
- Ryder E.J., DeVos N.E., Bari M.A., **1983**. The globe artichoke (*Cynara scolymus* L.). *HortScience*, 18: 646-653.
- Saccardo F., Ancora G., **1984**. Il contributo della micropropagazione al miglioramento della coltura del carciofo. *Informatore Agrario*. Recenti adquisizioni del miglioramento genetico italiano in orticoltura e floricoltura. Ferrara 9/12/1983, pp. 24-26.
- Sala F., Carpintero C., **1967**. La Alcachofa, Publicaciones del MAPA, Madrid, pp 149.
- Salinas-Hernández R.M., González-Aguilar G.A., Pirovani M.E., Ulín-Montejo F., **2007**. Modelación del deterioro de productos vegetales frescos cortados. *Universidad y Ciencia*, 23: 183-196.
- Saltveit M.E., **2003**. Fresh-cut vegetables. En: Bartz J.A., Brecht J.K. (Eds), *Postharvest physiology and pathology of vegetables*, Maral Dekker Inc., New York, pp. 691-712.
- Saltveit, M. E., **1997**. Physical and physiological changes in minimally processed fruits and vegetables. En F.A. Tomas-Barberan y R.J. Robins (eds). *Phytochemistry of Fruits and Vegetables*, Calderon Press, pp. 205-220.
- Sanchez-Ferrer A., Rodriguez-Lopez J.N., Garcia-Carmona F., **1995**. Tyrosinase: A comprehensive review of its mechanism. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1247: 1-11.
- Schrader W.L., Mayberry K., **1992**. “Imperial Star” Artichoke. *Hortsciencie*, 27: 375-376.
- Serrano Z., **2006**. La Alcachofa. Ed. Junta de Andalucía, pp. 49-58.

- Sgroppo S.C., Vergara L. E., Tenev M. D., **2010**. Effects of sodium metabisulphite and citric acid on the shelf life of fresh cut sweet potatoes. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 8: 686-693.
- Shafiur Rhaman M., **2003**. Manual de conservacion de los alimentos. Ed. Acribia, Zaragoza, pp. 874.
- Singleton U.L., Rossi J.A., **1965**. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158.
- Sistema de Información Agraria de Murcia (SIAM). Consulta: Enero **2013**. Disponible en: <http://siam.imida.es/apex/f?p=101:1:1559620319959448>
- Sonnante G., De Paolis A., Pignone D., **2004**. Relationships among artichoke cultivars and some related wild taxa based on AFLP markers. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*, 1: 125–133.
- Sonnante G., Pignone D., Hammer K., **2007**. The Domestication of Artichoke and Cardoon: From Roman Times to the Genomic Age. *Annals of Botany*, 1-6.
- Suslow T., Cantwell M., **1997**. Artichoke (Globe): Recommendations for maintaining postharvest quality. Dept. of Vegetable Crops, University of California, Davis. Disponible en: <http://postharvest.ucdavis.edu/pfvegetable/artichoke/> [Consulta: Noviembre de 2013]
- Tay S.L., Perera C.O., **2004**. Effect of 1-Methylcyclopropene treatment and edible coatings on the quality of minimally processed lettuce. *Journal of Food Science*, 69: 131-135.
- Todaro A., Peluso O., Catalano A.E., Mauromicale G., Spagna G., **2010**. Polyphenol oxidase activity from three Sicilian artichoke [*Cynara cardunculus* L. Var. *scolymus* L. (Fiori)] cultivars: studies and technological application on minimally processed production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 1714–1718.

- 
- Tomás-Barberán F.A., Espin J.C., **2001**. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81: 853–876.
- Tournas V.H., **2005**. Moulds and yeast in fresh and minimally processed vegetables and sprouts. *International Journal of Food Microbiology*, 99: 71-77.
- Trigo M.I., López B., **1984**. Influencia del frío en la floración de la variedad de alcachofa “Blanca de España” en relación con la síntesis de sustancias de tipo gibberelina. *Anales del INIA. Serie Agrícola*, 25: 87-105.
- USDA, **2013**. United States department of agriculture: national nutrient database for standard reference. Disponible en: <http://ndb.nal.usda.gov/>. [Consulta: 3 de Diciembre 2013]
- Uylaser V., BigeIncedayı., GökçenYıldız., **2014**. Effects of citric acid and Na-metabisulphite on the shelf life of minimally processed *Haciomer* cv. Chestnut. *International Journal of Applied Science and Technology*, 4: 127-135.
- Vidal J., **2002**. Evaluación de los principales procesos de degradación en fluvisoles calcáricos de la Huerta de Murcia. Tesis doctoral del Departamento de Química Agrícola, Geología y Edafología, Universidad de Murcia.
- Virador V.M., Reyes Grajeda J.P., Blanco-Labra A., Mendiola-Olaya E., Smith G.M., Moreno A., Whitaker J.R., **2010**. Cloning, sequencing, purification, and crystal structure of Grenache (*Vitis vinifera*) polyphenol oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 1189-1201.
- Walker S.J., Jones J.E., **1993**. Protocols for data generation for predictive modelling. *Journal of Industrial Microbiology*, 12: 273-276.
- Walter W.M., Purcell A.E., **1980**. Effect of substrate levels and polyphenol oxidase activity on darkening in sweet potato cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28: 941-944.

- Wang S.Y., Chang H.N., Lin K.T., Lo C.P., Yang N.S., Shyur L.F., **2003**. Antioxidant properties and phytochemical characteristics of extracts from *Lactuca indica*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 1506-1512.
- Watada A.E., Ko N.P., Minott D.A., **1996**. Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. *Postharvest Biology and Technology*, 9: 115-125.
- Welvaert W., Van Vaenenberg I., **1981**. Recherches sur la dégénération infectieuse en Tunisie. Atti del 2° Congresso Internazionale di Studi sul Carciofo, Bari, pp. 929-942.
- Welvaert W., Zitouni B., **1974**. Investigation on infectious de generation of artichoke in Tunisia. "Studi sul Carciofo". Atti del 2° Congresso Internazionale di Studi sul Carciofo, Bari, pp. 865-875.
- Whiting R., Buchanan R., **1993**. A classification of models for predictive microbiology. *Food Microbiology*, 10: 175-177.
- Wiklund A., **1992**. The genus *Cynara* L. (*Asteraceae-Cardueae*). *Botanical journal of the Linnean Society*, 109: 75-123.
- Willox F., Mercier M., Hendrickx M. y Tobback P., **1993**. Modelling the influence of temperature and carbon dioxide upon the growth of *Pseudomonas fluorescens*. *Food Microbiology*, 10: 159-173.
- Zaniboni R., **2009**. Ibridi commerciali. AA.VV. Il carciofo e il cardo. Coordinamento scientifico N. Calabrese. Collana Coltura e cultura. Bayer CropScience. Ed. Script, Bologna, pp. 160.
- Ziyan E., Pekyardimci S., **2003**. Characterization of polyphenol oxidase from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*). *Turkish Journal Of Chemistry*, 27: 217-225.
- Zwietering M.H., Jongenburger I., Rombouts F.M. y Van't Riet K. **1990**. Modeling of the bacterial growth curve. *Applied and Environmental Microbiology*, 56: 1875-1881.

## **8. ANEXOS**



## 8.1. Anexo I



# Información Producto

## FILM CRYOVAC BDF<sup>®</sup> 750

Nueva generación de film retráctil de barrera, antivaho con excelente capacidad de soldadura y retracción suave para el envasado de productos frescos en atmósfera controlada (MAP)

CRYOVAC BDF<sup>®</sup> 750 es un film retráctil, multicapa coextruido de estructura cruzada con alta barrera al oxígeno y los aromas.

Presenta una alta capacidad antivaho con excelentes características de retracción, brillo y transparencia.

Ha sido diseñado para el envasado en bandejas de porciones frescas de alimentos en atmósfera modificada, produciendo envases con soldaduras herméticas a prueba de fugas de gases y líquidos

Tiene un amplio rango de soldadura con lo que produce envases herméticos usando un amplio rango de máquinas HFFS (máquinas Flow-Pack).

Su excelente adaptabilidad le permite trabajar a altas productividades en las máquinas HFFS aprobadas.

La especial formulación para retracción suave, permite que se puedan usar bandejas de resistencia estándar.

Este film de 25 micras se presenta en laminas simples protegidas con tela plástica en un amplio rango de anchos.

**Cryovac Europe**

Sealed Air, S.L.  
Riera Fonollar, 12  
08830 Sant Boi de Llobregat  
(Barcelona – España)

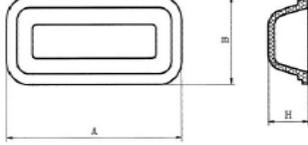
Tel. +34.93 635 20 00  
Fax +34.93 635 21 11

## CARACTERISTICAS

- COMBINA LAS VENTAJAS DEL ENVASE CON ATMOSFERA CONTROLADA Y EL ATRACTIVO DE LA PRESENTACIÓN TRADICIONAL EN BANDEJAS.
- PERMITE AUMENTAR LA VIDA DEL PRODUCTOS EN LOS LINEALES
- MEJORA LA PRESENTACIÓN Y LA HACE MAS ATRACTIVA PARA EL CONSUMIDOR
- PROPORCIONA ENVASES MÁS RESISTENTES
- INCREMENTA LA PRODUCTIVIDAD DE LAS LÍNEAS DE ENVASADO
- REDUCE LOS COSTES OPERATIVOS Y DE PRODUCCIÓN, GRACIAS A LA FLEXIBILIDAD Y VELOCIDAD DEL SISTEMA BDF DE ENVASADO EN BANDEJAS.
- PROPORCIONA UNA MEJOR PRESENTACIÓN AL ENVASE.
- MINIMIZA EL IMPACTO AMBIENTAL Y REDUCE LOS COSTES DE RECUPERACIÓN DE LOS SOBRANTES DE ENVASADO
- CUMPLE CON TODAS LAS NORMATIVAS DE SANIDAD E HIGIENE
- CUBRE UN AMPLIO RANGO DE APLICACIONES



## 8.2. Anexo II

		<b>FICHA TECNICA DE PRODUCTO TERMINADO</b>		<b>Grupo</b> 	
Ctra. M-300, Km.30,680 Alcalá de Henares (Madrid) Telef. 91-888.26.00-Fax: 91-888.26.16					
<b>CODIGO</b> PCP5240210		BASE PET/EVOH/PE MODELO G-27		-SIN USO-	
				Revision: 1 Fecha: 02/2009	
					
<b>Datos Generales</b>			<b>Datos Logísticos</b>		
Peso,g <input type="text" value="14,28"/> +/- <input type="text" value="5"/> %			<b>CAJA:</b>	Largo,mm <input type="text" value="360"/>	Ancho,mm <input type="text" value="360"/>
Color <input type="text" value="TRANSPARENTE"/>			<b>PALET:</b>	Alto,mm <input type="text" value="430"/>	Vol,m3 <input type="text" value="0,05573"/>
Dimensiones AxBxH,mm <input type="text" value="173 x 130 x 27"/>				Peso,kg <input type="text" value="12,091"/>	
Uni x Caja <input type="text" value="800"/>				Largo,mm <input type="text" value="1200"/>	Ancho,mm <input type="text" value="800"/>
CajaxPalet <input type="text" value="24"/>				Alto,mm <input type="text" value="1870"/>	Vol,m3 <input type="text" value="1,33747"/>
				Peso,kg <input type="text" value="290,184"/>	
		Envases aptos para entrar en contacto con alimentos. Las sustancias empleadas en su fabricación están incluidas en la lista positiva de sustancias de partida autorizadas para usarse en la fabricación de materiales y objetos plásticos.			
		Envases fabricadas con: PET, PP, PS. Reciclaje: Nuestros productos son fácilmente reciclables.			
		Nuestros productos cumplen la legislación nacional y comunitaria sobre plásticos en contacto con alimentos, en todos sus apartados. Están empaquetados y envasados atendiendo a las especificaciones de la reglamentación técnico sanitaria. Están etiquetadas con la marca de Dynaplast, S.A. Una etiqueta en cada caja con identificación del producto y lote de fabricación. (Esta etiqueta será imprescindible para cualquier reclamación).			
<b>NUMERO DE REGISTRO SANITARIO 39432/M</b>					
Esta información técnica se ofrece como guía para el usuario, pero sin que sirva de garantía. El usuario deberá comprobar si el producto es adecuado para su proceso y aplicación.					

## 8.3. Anexo III

		<b>FICHA TÉCNICA</b>	Pag. 1/1
	Fecha 25/05/2007	COMBIFLEX PET/EVOH/PE 65 $\mu$	Ref. 617 Cod. 341106505

## ONALID TV

**RODUCT CODE: KR-52F**

**PRODUCT DESCRIPTION:**  
 Biaxially oriented POLYESTER film, laminated to 5 layer coextruded POLYETHYLENE film with EVOH as barrier layer and low temperature PE as heat seal layer.

<p><b>MAIN USES - APPLICATIONS :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• VFFS machines</li> <li>• Flowpack machines</li> </ul> <p><b>SPECIAL PROPERTIES :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Antifog for good visibility</li> <li>• Seal performance can be tailor made according to machine speed</li> <li>• UV absorbance</li> </ul> <p><b>FOOD SAFETY :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Koropack has been developed specially for packaging foods and meets the specific requirements on health and safety.</li> <li>• It meets the FDA and EC regulations.</li> <li>• Specific documents are available on request</li> </ul>	<p><b>FILM CHARACTERISTICS :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• High oxygen barrier</li> <li>• Very Good heat resistance</li> <li>• Very low temperature sealing</li> <li>• Good mechanical strength and puncture resistance</li> <li>• Maximum dimensional stability</li> <li>• High surface gloss</li> <li>• Excellent hot-tack</li> </ul> <p><b>SHELF-LIFE &amp; STORAGE CONDITIONS :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Koropack Film is suitable for use up to 6 months from the date of production maintaining correct storage conditions. Details are available on request.</li> </ul>
--	---

**TECHNICAL DATA**

Order no : 1170717      Product name: PET/EVOH/PE 65  $\mu$ , ANCHO 300mm  
 Production date : -

PROPERTIES	TEST METHOD	UNIT	VALUE
Width	Meter	mm.	300
Thickness	Micrometer	Micron	62 +/- %8
Grammage	Analytical balance	Gr/m <sup>2</sup>	63,8
Yield	Analytical balance	m <sup>2</sup> /kg	16,67
Repeat control	Meter	mm.	-
COF	DIN-53375 / ASTM-D1894		0,22
Heat Seal Force	107 C° - 5 bar - 0,5 sec.	N.	5,85
Heat Seal Range	5 bar - 0,5 sec.	C°	88-115
Oxygen Permeability	@ 23 C° - % 0 RH	cm <sup>3</sup> / m <sup>2</sup> .day.atm	-
Water Vapour Pem.	@ 38 C° - %90 RH	g / m <sup>2</sup> .day	-
Reel Length	Meter	m.	-
Reel Outer Diameter	Meter	m.	350
Reel Weight	Analytical balance	Kg	-

The figures and the data provided in this datasheet are consistent with the current state of our knowledge and are intended to provide general information on our products and their applications. They do not constitute a guarantee of any specific applications.

---

Sistemes d'Embalatge ESTUDI GRAF, S.A. C/ Gironès, 3 (Polig.Ind. Mas Aliu) - 17181 AIGUAVIVA (Girona) - Tel. (+34) 972 244 462 - Fax (+34) 972 230 470 - adm@sistemb.com - www.sistemb.com