

## **Treball Final de Grau**

**Estudi: Grau en Enginyeria Agroalimentària**

**Títol: Bioconservació d'un producte de IV  
gamma: Albergínia llescada**

**Document:** Memòria

**Alumne:** Marina Gispert Teixidor

**Directores:** Elena Sagner Hom  
Anna Bonaterra Carreras

**Departament:** Enginyeria Química, Agrària i  
Tecnologia Agroalimentària

**Àrees:** Tecnologia d'Aliments / Producció Vegetal

**Convocatòria (mes/any):** Setembre 2019

# ÍNDIX

RESUM .....	1
PARAULES CLAU .....	3
ACRÒNIMS .....	4
AGRAÏMENTS .....	5
1. INTRODUCCIÓ .....	6
1.1. Productes IV gamma: Fruites i Hortalisses .....	6
1.1.1 Consum de productes de IV gamma .....	7
1.1.2 Factors que limiten la vida útil dels productes de IV gamma .....	9
1.1.1. Principals riscos microbiològics en productes de IV gamma.....	13
1.1.2. Estratègies per a la conservació de productes de IV gamma .....	15
1.1.2.1 Aplicació d'agents bioconservants .....	15
1.1.2.2 Ús d'atmosfera modificada o protectora.....	19
1.1.2.3 Envasos per a productes de IV gamma .....	21
1.1.3 Innovació en productes de IV gamma .....	23
1.2 El conreu de l'albergínia .....	24
1.2.2 Àrea de cultiu i producció d'albergínia a Espanya .....	24
1.2.3 Recol·lecció i conservació .....	26
1.2.4 Origen .....	27
1.2.5 Descripció botànica .....	27
1.2.5.1 Fruit .....	28
1.2.6 Característiques nutritives de l'albergínia .....	31
2. OBJECTIUS .....	33
3. MATERIALS I MÈTODES .....	34
3.1. Disseny experimental .....	34
3.2. Desinfecció i llescat de les albergínies .....	35
3.3. Aplicació de tractaments .....	36
3.3.1. Higienització de les llesques d'albergínia .....	39
3.3.2. Aplicació d'agents bioconservants.....	40
3.3.3. Tractament antienfosquiment de l'albergínia .....	41
3.3.4. Tractament combinat higienització, antienfosquiment i bioconservació de l'albergínia .....	41
3.4. Envasat i Conservació.....	42
3.5. Recomptes .....	43
3.6. Determinació de la composició de l'atmosfera interna .....	43
3.7. Determinació del color.....	44
3.8. Anàlisi estadística dels resultats.....	46
4. RESULTATS I DISCUSSIÓ .....	47
4.1. Higienització de l'albergínia llescada .....	48

4.2.	Efecte d'agents bioconservants sobre el creixement de <i>L. monocytogenes</i> .....	54
4.3	Aplicació del tractament d'antienfosquiment.....	64
4.4	Combinació de tractaments per a l'obtenció d'albergínia llescada llesta per al seu ús .....	69
5.	APLICABILITAT.....	81
6.	CONCLUSIONS .....	82
	BIBLIOGRAFIA .....	83

## RESUM

Els productes de IV gamma inclouen vegetals frescos llestos per a ser consumits o bé cuinats. Són una gamma de productes que cada cop està en més desenvolupament, tant a nivell de consumidor com a nivell d'investigació, pel fet que estan categoritzats com a productes amb una gran estratègia de futur. Durant el procés de producció i elaboració dels productes llestos pel consum, s'ha de tenir especial cura en realitzar-lo de forma acurada i el més higiènica possible degut a que, tan la matèria primera com la maquinària utilitzada durant el procés, poden aportar microbiota patògena i/o deteriorant que poden afectar a la seva seguretat alimentària suposant una qualitat inacceptable per a ser comercialitzat. Malgrat aquesta perspectiva de futur, tenen l'inconvenient de presentar un aspecte negatiu durant el seu de conservació anomenat enfosquiment enzimàtic, degut a l'oxidació dels compostos fenòlics dels productes vegetals, en presència d'oxigen, duta a terme per l'enzim anomenat polifenoloxidasa.

Concretament, en el present projecte s'ha determinat l'efecte de diferents tractaments en la conservació i seguretat de l'albergínia llescada llesta per al seu ús durant el seu període de conservació, ajustat a la vida útil que normalment disposen aquesta tipologia de productes. S'ha estudiat la bioconservació, definida com l'aplicació de microorganismes i/o dels seus metabòlits que s'utilitzen per millorar la conservació i la seguretat dels productes alimentaris. Per altra banda, per tal de reduir i/o evitar l'enfosquiment enzimàtic s'ha assajat un producte a base de vitamines i àcid ascòrbic de la marca comercial NatureSeal®.

En concret, s'ha realitzat un protocol d'higiene per comprovar l'eficàcia de diferents tractaments, NatureSeal® FS, ultraviolats dos minuts i ultraviolats quatre minuts. També s'ha realitzat un protocol de bioconservació per tal de controlar el microorganisme contaminant *Listeria monocytogenes* mitjançant tres agents bioconservants (nisina, àcid làctic i *Leuconostoc mesenteroides*, BAL-160, i la seva combinació. S'ha estudiat l'efecte de l'agent d'antienfosquiment en el producte llest per al consum, concretament en albergínia llescada. Per últim, s'ha realitzat un assaig on s'han englobat els tractaments que han donat millors resultats dels protocols realitzats. En definitiva, s'ha pogut comprovar la eficàcia dels tractaments d'higienització, els efectes dels agents bioconservants, de l'agent d'antienfosquiment i la seva combinació.

Finalment, s'ha pogut observar que els tractaments d'higienització aplicats han sigut satisfactoris, conjuntament amb l'aplicació d'agents bioconservants que, malgrat no tots han tingut eficàcia en l'inici, tots han aconseguit uns valors de detecció del microorganisme inoculat per sota el nivell de detecció. Per contra, l'agent d'antienfosquiment, no ha donat els resultats esperats.

# PARAULES CLAU

Productes IV gamma

Bioconservació

Agents bioconservants

Bacteriocines

Atmosfera modificada

Albergínia

Espai CIELAB

# ACRÒNIMS

CNT: Control no tractat

Nis: Nisina

AL: Àcid làctic

BAL-160: soca 160 de *Leuconostoc mesenteroides*

Lm: *Listeria monocytogenes*

LB+C: agar Luria Bertani + cicloheximida

MRS: agar Man, Togosa i Sharpe

NS-A5: NatureSeal® A5, agent antienfosquiment

NS-FS: NatureSeal® FS, agent higienitzant

PDA: Potato Dextrose Agar

PPO: Polifenoloxidasa

UV: Ultraviolat

## AGRAÏMENTS

La finalització del treball de final de grau em suposa personalment arribar a la fi d'un llarg trajecte el qual no ha estat fàcil però finalment, amb la redacció del present treball ha sigut molt satisfactori. Hi ha hagut moments molt durs i difícils, dels quals he après a agafar força i valentia per seguir endavant però, el més important, han sigut els grans moments que he pogut compartir amb tota la gent que m'ha ajudat, recolzat i sobretot anima't a tirar endavant el projecte.

Vull agrair tota la dedicació, l'ajuda i la paciència que han tingut les meves tutores Elena Saguer Hom i Anna Bonaterra Carreras per a la redacció i realització del projecte. També vull agrair a tota la gent del laboratori de TA amb la que he compartit matins i tardes inacabables, per tots els ànims i ajuts donats en tot moment sempre amb un gran somriure a la cara. També donar les gràcies a tots els meus amics i amigues que m'han recolzat quan era necessari.

Finalment, vull agrair a la meva família tot el que m'han donat dia si i dia, em quedaria curta expressant adjectius però sobretot, la paciència que han tingut en tot moment quan semblava que no s'acabés mai.

Per mi, aquest projecte ha sigut aire fresc, una esperança motivadora i interessant, que m'ha aportat un gran coneixement sobre conceptes desconeguts per mi i que d'ara en endavant els tindrè molt presents.



# 1. INTRODUCCIÓ

## 1.1. Productes IV gamma: Fruites i Hortalisses

Els productes de IV gamma engloben productes vegetals frescos com hortalisses i fruites, mínimament processats i condicionats per allargar la seva vida útil, llestos per al seu consum o bé preparats per a una etapa de cocció posterior (Comité de Frutas y Hortalizas preparadas de FEPEX, 2012) .Són productes que no han estat sotmesos a cap mena de tractament tèrmic d'higienització per tal mantenir les seves característiques originals ni tampoc contenen cap additiu conservant, de manera que la seva vida útil és molt curta, aproximadament d'entre 7 i 10 dies. Per tal de garantir la seva seguretat des d'un punt de vista microbiològic, és molt important conservar-los en refrigeració, procurant que no es trenqui la cadena del fred fins al moment del seu consum.

Una de les principals particularitats dels productes de IV gamma és que es tracta de matèria primera viva, és a dir, de material amb els processos metabòlics actius, que en alguns casos poden accelerar-se quan es manipulen. Això fa que s'hagin de tractar amb molta cura i en condicions el més higièniques possible, a més de conservar-los a temperatures de refrigeració no només per seguretat alimentària sinó també per endarrerir la seva maduració i/o senescència.

Dins la categoria de productes de IV gamma, s'hi inclouen productes amb diverses denominacions depenent de la seva naturalesa i format de presentació; entre elles, les que es mostren a continuació:

- frescos tallats (*fresh-cut*): fruites fresques preparades per al consum immediat;
- mínimament processats (*minimally processed*): són tots els productes que, dins de la categoria IV gamma, s'han vist modificats en relació a la seva naturalesa inicial;
- llestos per al consum (*ready-to-eat*): es poden obrir i consumir directament; aquest tipus de productes n'inclouen molts que no són estrictament vegetals;
- llestos per a cuinar (*ready-to-cook*): productes preparats per només haver-los de cuinar, com bolets o hortalisses.

A la **Figura 1** es mostra un exemple per a cada denominació. El fet d'anomenar amb una denominació concreta un producte no significa que no es pugui definir amb una de les altres denominacions. La realitat és que tots els productes són mínimament processats per a un consum posterior, sigui quin sigui el seu destí final.



**Figura 1.** Denominacions dels productes de IV gamma: 1. *fresh-cut*; 2. *minimally processed*; 3. *ready-to-eat*; 4. *ready-to-cook*

### 1.1.1 Consum de productes de IV gamma

A Espanya, la IV gamma es va introduir durant els anys 80 del segle XX i es va estendre ràpidament per a totes les comunitats autònomes típicament dedicades a la producció hortofructícola, agafant més importància a la Comunitat Valenciana, Murcia, Catalunya i Andalusia.

A partir d'aquest moment, els productes de IV gamma van anar evolucionant amb molta rapidesa degut als canvis actuals en els hàbits de consum, els quals es poden englobar en tres grups: canvis en l'estil de vida, canvis en la mida de les llars i l'augment de l'esperança de vida. En els darrers 30 anys, l'estil de vida de les persones ha evolucionat amb escreix; una major dedicació a la vida laboral, la incorporació de la dona al món laboral i el poc temps per preparar el menjar són algunes de les causes que han provocat aquest canvi. Els habitatges també s'han vist influenciats ja que actualment ha disminuït el nombre de membres de la família i ha augmentat el nombre de llars unipersonals. En relació a l'augment d'esperança de

vida, aquest va associat a una major preocupació per la salut i el consum d'aliments saludables (Plaza, 2015). A totes aquestes causes s'hi suma el fet de que la primera matèria a partir de la qual s'obtenen actualment està pràcticament disponible durant tot l'any. L'avantatge dels productes de IV gamma és que aporten comoditat i rapidesa però alhora són saludables per al consumidor, que cada cop està més convençut a l'hora de consumir aquesta tipologia de producte.

La importància que anava prenent aquest sector de la indústria alimentària va fer que l'any 2005 les empreses espanyoles més grans del sector fundessin l'Associació de Fruïtes i Hortalisses Llestes per al Consum (AFHORLA) amb l'objectiu de donar resposta a les necessitats d'aquesta activitat productiva i econòmica (Lobo & González, 2006). Actualment, les empreses més importants del sector dels productes vegetals llestos per al consum són els representats en la **Taula 1**.

**Taula 1. Empreses més importants del sector de fruites i verdures preparades (FEPEX, 2019)**

<b>Empreses d'AFHORLA</b>
<b>Bonnysa Agroalimentaria</b>
<b>Florette Ibérica (Vega Mayor, S.A.)</b>
<b>Mesturados Canarios, S.L.</b>
<b>Verdifresh, S.L.</b>

Aquesta associació es va fusionar amb la Federació Espanyola d'Associacions de Productors i Exportadors de Fruïtes, Hortalisses, Flors i Plantes Vives (FEPEX) amb la finalitat de consolidar-se com a una categoria específica dins les fruites i hortalisses (Lobo & González, 2006).

L'empresa pública *Mercasa* amb la col·laboració del Ministeri d'Agricultura, Pesca, Alimentació i Medi Ambient del Govern Espanyol, publica anualment un informe que agrupa tota la informació estadística i documental sobre l'Alimentació a Espanya a nivell de producció, indústria, distribució i consum. Segons aquests informes, el consum de productes de IV gamma a Espanya ha incrementat molt entre els anys 2015-2017. Tal i com es pot observar a la **Figura 2**, l'any 2015 va representar un punt d'inflexió en l'augment del consum d'aquesta tipologia de productes; durant els anys

anteriorment s'havia mantingut una tendència regular a la baixa de consum, especialment acusat en el cas de les fruites. El consum d'hortalisses sempre ha estat superior al de les fruites, entre d'altres coses pel caràcter més estacional d'aquestes darreres i per tractar-se de productes molt peribles i sensibles als processos de transformació.

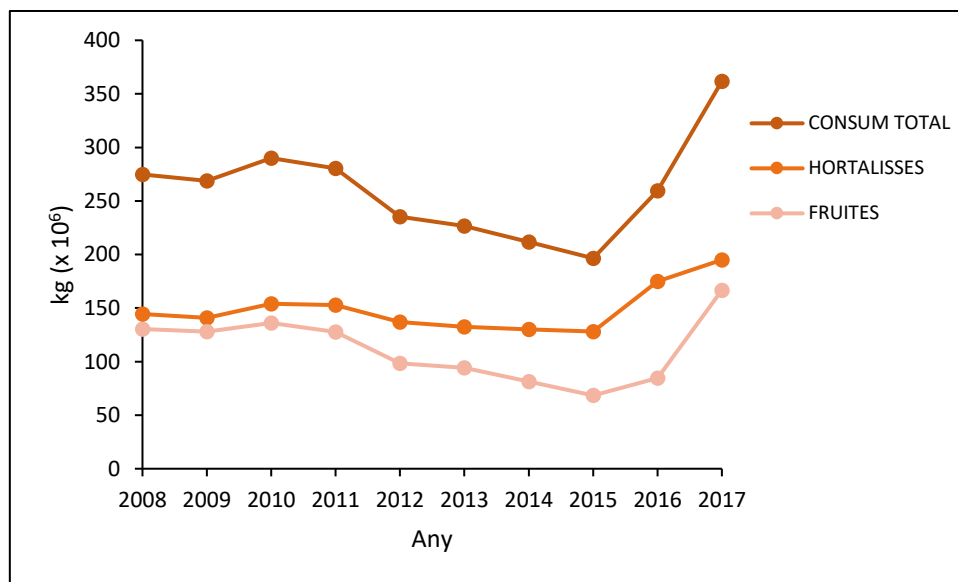


Figura 2. Evolució del consum dels productes de IV gamma a Espanya del 2008 al 2017 (MERCASA, 2018)

Els canals de distribució principals dels productes de IV gamma són tant la venda directa al consumidor, per exemple en els supermercats, com el sector de l'hostaleria, ja que permet estalviar molt de temps en la preparació dels productes.

### 1.1.2 Factors que limiten la vida útil dels productes de IV gamma

Els requeriments de qualitat en els productes de IV gamma inclouen diferents aspectes (Cámara Hurtado, Sánchez Mata, & Torija Isasa, 2008):

- Qualitat organolèptica o sensorial: determinada directament pel consumidor amb els seus sentits; fa referència al color, aspecte, olor, flavor i textura.
- Qualitat nutritiva: capacitat dels productes vegetals de proporcionar tots nutrients necessaris, com els sucres, les vitamines i minerals, per a la vida.

- Qualitat sanitària: té en compte la presència o absència de tòxics naturals, contaminants i/o microorganismes patògens que poden afectar la salut del consumidor.

La qualitat d'aquests tipus de producte dependrà tant de característiques pròpies de la primera matèria com de les condicions ambientals i les pràctiques agrícoles, i de les condicions de processat i de conservació del producte.

### **a) Característiques de la primera matèria**

Els cultivars de plantes utilitzades per a l'obtenció de productes de IV gamma han d'estar seleccionats per ser productivament i comercialment efectius. Per tal d'aconseguir un màxim rendiment per a cada planta productora, s'han de tenir en compte els aspectes fisiològics com la respiració, la transpiració, l'índex de maduresa i la senescència natural. El fet de recol·lectar una fruita o hortalissa amb alguna d'aquestes característiques inadequades pot comportar un efecte negatiu a l'hora de la manipulació del producte o bé del seu consum i comportar una pèrdua total del producte (Cámara Hurtado, Sánchez Mata, & Torija Isasa, 2008).

També cal tenir present que un dels principals problemes recau en l'enfosquiment enzimàtic que pateixen molts productes d'origen vegetal degut a la presència de compostos fenòlics en els seus teixits capaços d'oxidar-se, donant lloc finalment a compostos marronosos. L'enzim responsable de la reacció és la polifenoloxidasa (PPO), la qual va ser descoberta i aïllada per primera vegada en xampinyons. La reacció es basa en l'oxidació dels o-fenols que esdevenen o-quinones en presència d'O<sub>2</sub>, les quals posteriorment, degut a reaccions químiques complexes, acaben donant lloc a les melanines, pigments responsables del color marronós. La PPO presenta dues activitats diferents (**Figura 3**) ja que actua sobre dues classes de substrats, els monofenols (activitat cresolasa) i els difenols (activitat catecolasa). La geometria de l'enzim es basa en dos àtoms de coure al centre actiu units a tres histidines. Al seu voltant se situen aminoàcids hidrofòbics que formen uns anells aromàtics molt importants per a la unió dels substrats (Guerrero Eraso, 2009).

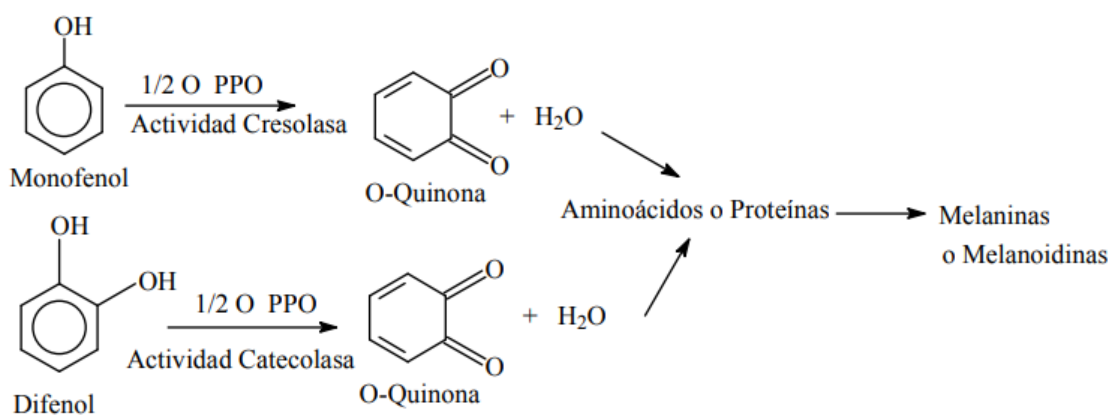


Figura 3. Activitat de l'enzim polifenoloxidasa (PPO) (Guerrero Eraso, 2009)

D'altra banda, cal tenir en compte que qualsevol òrgan de la planta pot produir etilè, el qual està relacionat amb la maduració dels fruits i la senescència. La seva producció s'incrementa en el cas d'estressos mecànics i hídrics, entre d'altres. En el cas dels fruits, aquests es diferencien en climatèrics o no climatèrics en funció de si continuen madurant després de la seva recol·lecció o si un cop recol·lectats finalitzen el seu procés de maduració, respectivament (Mollejo, 2018).

### **b) Condicions mediambientals i pràctiques agrícoles**

Els factors climàtics i la qualitat del sòl també són molt importants ja que, per una banda, si no es compleixen els requeriments de temperatura, d'aigua i llum que té la planta, no es podrà desenvolupar correctament i pot provocar que, tant hortalisses com fruites, no siguin aptes per al seu consum. Per l'altra, si el sòl té un esgotament a nivell de nutrients el producte final no serà comercialment acceptat. En aquest sentit, les pràctiques agrícoles són determinants a l'hora d'obtenir un producte vàlid per al seu consum (Plaza, 2015). Les plantes també poden estar afectades per factors biòtics com patògens i plagues i factors abiòtics que poden provocar pèrdues de qualitat. Per tal d'evitar que aquests factors perjudiquin la qualitat dels aliments i poder garantir un nivell de protecció elevat per als consumidors, s'han establert uns límits màxims de residus de plaguicides, regulats pel Reglament (CE) n°396/2005 relatiu als límits màxims de residus en aliments i pinsos d'origen vegetal i animal, per controlar la presència de tòxics que puguin resultar un perill per al consumidor final.

D'altra banda, cal tenir present que la producció de danys mecànics durant el maneig a camp o durant el transport des del camp a la planta processadora pot contribuir de manera important en l'enfosquiment enzimàtic del producte, i en l'entrada i proliferació de microorganismes patògens o deteriorants en els teixits vegetals.

Finalment, per tal de garantir la màxima qualitat en el producte final, és important també que la primera matèria utilitzada es recol·lecti en el seu punt òptim de maduresa, tenint en compte les condicions a les que se sotmetrà durant el seu processat i posterior conservació. A més, cal reduir la temperatura del producte el més ràpid possible per obtenir un bon maneig.

### ***c) Procés d'elaboració i conservació***

Les etapes del procés d'elaboració i conservació on s'ha de tenir extrema vigilància a l'hora de realitzar el maneig del producte per evitar malmetre el producte són les següents (Garcia & Vázquez, 2015):

- **Emmagatzematge de la primera matèria:** s'ha de mantenir a una temperatura i humitat òptimes per tenir una bona conservació i així controlar el seu índex de maduresa. Les baixes temperatures fan que la taxa de respiració dels productes vegetals es redueixi i així s'alenteixi el procés de maduració; a més, es redueix la producció d'etilè.
- **Selecció, neteja i desinfecció:** idealment el producte ha de ser homogeni, i la neteja s'ha de realitzar amb aigua freda sotmesa a controls de seguretat; posteriorment cal desinfectar la primera matèria ja sigui utilitzant una solució d'hipoclorit sòdic, ozó, peròxid d'hidrogen, o aigua electrolitzada, entre d'altres, per disminuir el nivell de contaminació microbiològica inicial; la manipulació ha de ser acurada per evitar danys al producte.
- **Pelat i/o trossejat:** idealment, el pelat i trossejat de la primera matèria s'ha de realitzar amb maquinària desinfectada i amb estris estèrils, i de forma ràpida per evitar danys al producte. Una vegada dutes a terme aquestes operacions cal higienitzar novament el material vegetal, sobretot per minimitzar els riscos de contaminació microbiològica; la sortida d'aigua i nutrients provocats pel pelat/tallat afavoreix el creixement de microorganismes, a més de comportar

una pèrdua de turgència i de la qualitat nutritiva. D'altra banda, també cal tenir en compte que el trencament del teixit suposa un increment de les taxes de respiració i transpiració que comporten un ràpid deteriorament del producte. Al mateix temps, es pot afavorir l'enfosquiment enzimàtic del producte de manera que, per tal de minimitzar-ho, és freqüent aplicar tractaments, ja sigui controlant l'activitat de l'enzim, addicionant compostos reductors/antioxidants, o reduint la presència d'oxigen en l'atmosfera interna del producte envasat, entre d'altres (Martín, 2016). Així, la conservació en temperatures de refrigeració, l'aplicació d'antioxidants i/o acidulants com l'àcid ascòrbic o l'àcid cítric, l'envasament en atmosfera modificada, i els recobriments comestibles són estratègies que s'apliquen freqüentment per tal d'evitar-lo.

- **Emmagatzematge en refrigeració:** es requereix una temperatura de refrigeració, normalment d'entre 2 i 5 °C tot i que depèn del producte concret, per evitar la proliferació de microorganismes i allargar la seva vida útil.

#### 1.1.1. Principals riscos microbiològics en productes de IV gamma

Els principals riscos microbiològics d'aquests tipus de productes estan recollits en el Reglament (CE) nº 2073/2005, el qual fixa els criteris microbiològics aplicables als productes alimentaris. D'acord amb aquest reglament, en els "Aliments llestos per al consum que poden afavorir el desenvolupament de *Listeria monocytogenes* que no siguin els destinats als lactants ni per a usos mèdics especials" (on queden inclosos els productes de IV gamma), els criteris microbiològics que determinen l'acceptabilitat dels productes alimentaris són l'absència de *L. monocytogenes* i *Salmonella* spp., mentre que per a la higiene de processos és *Escherichia coli*.

*L. monocytogenes* és un bacteri Gram-positiu que sobreviu en condicions aeròbies o anaeròbies. És resistent a temperatures de refrigeració, a temperatures de 45-50 °C i a nivells de pH 4.4 – 9.6. Per tant, és capaç de créixer en molts aliments diferents. Aquest microorganisme és el principal causant d'una malaltia infecciosa anomenada listeriosi que afecta tant a humans com a animals. Els seus símptomes clínics són febre, gastroenteritis, sèpsia, la implicació del sistema central nerviós en les malalties com encefalitis, meningitis, o infeccions focals com pneumònia, miocarditis, artritis sèptica, entre d'altres. La població més sensible a patir els seus efectes són les dones



embarassades, els nounats, la gent gran i la gent amb malalties immunitàries. A Espanya entre els anys 1997 i 2015 es van detectar 5696 hospitalitzacions amb diagnòstic de listeriosi, de les quals un 17% van ser defuncions. El principal grup de població afectat van ser les persones amb més de 65 anys, un 67.5 % dels casos van ser mortals (Herrador, Gherasim, López-Vélez, & Benito, 2019).

*Salmonella* és un enterobacteri Gram-negatiu anaerobi facultatiu responsable de la salmonel·losi, una malaltia infecciosa normalment transmesa a través dels aliments. És capaç de reduir nitrats a nitrits i fermenta la glucosa produint àcid i diòxid de carboni. Es tracta d'un microorganisme mesòfil, és a dir, el seu creixement òptim oscil·la entre 32-37 °C reduint-se el seu creixement a temperatures inferiors a 10 °C; a més, la majoria de soques pràcticament no creixen a temperatures inferiors a 7 °C. Els nivells de pH de creixement òptim oscil·len entre 6.5-7.5 (Bertó Navarro, 2017).

*Escherichia coli* és un enterobacteri Gram-negatiu anaeròbic facultatiu. És un important indicador fecal capaç de metabolitzar la lactosa i la glucosa amb la producció d'àcid i diòxid de carboni. Pot créixer a temperatures entre 7 i 43 °C, òptimament entre 35-43 °C. El pH de creixement òptim es troba a 7.2. Pot provocar intoxicacions alimentàries amb diferents símptomes com vòmits, nàusees i diarrees (Canet, 2016).

L'any 2012 FEPEX va crear una "Guia de Bones Pràctiques de Producció de Fruites i Hortalisses Preparades" amb l'objectiu de controlar el procés productiu dels productes vegetals mínimament processats. Tanmateix l'Agència Catalana de Seguretat Alimentària (ACSA) de la Generalitat de Catalunya va publicar l'any 2015 la seva "Guia de pràctiques correctes d'higiene per a vegetals i derivats frescos, pelats, trossets o envasats" on es recullen tots els requeriments sanitaris del sector de la fruita i les hortalisses de IV gamma. L'àmbit d'aplicació d'aquesta guia se centra en el sistema de gestió de la seguretat alimentària de les empreses que es dediquen a la fabricació, elaboració i/o transformació de productes d'origen vegetal pelats o trossets.

Segons la guia publicada per l'ACSA, s'evidencien dos punts de control crític (PCC) durant el procés productiu dels productes de IV gamma els quals necessiten una vigilància i controls exhaustius. El primer punt de control crític és la desinfecció dels productes ja que si no es realitza correctament pot comportar presència de microorganismes patògens o bé presència de desinfectant residual. El segon punt de

control crític és l'envasament en atmosfera modificada que pot comportar un desenvolupament de microbiota patògena, aeròbia i microaeròfila durant la vida útil del producte si hi ha un excés d'oxigen dins l'envàs o una modificació no segura de la composició de gasos de l'atmosfera protectora.

### **1.1.2. Estratègies per a la conservació de productes de IV gamma**

Per tal de garantir la seguretat alimentària dels productes de IV gamma, s'aplica una sèrie d'estratègies de conservació (obstacles o barreres) per evitar la presència i creixement de microorganismes tant patògens com deteriorants. En el cas concret dels productes de IV gamma, els principals obstacles aplicats són:

- Temperatura de refrigeració: és un factor molt important per a la conservació dels aliments frescos i s'ha de conservar en l'òptim al llarg de la vida útil de cada producte.
- Ús d'atmosferes modificades: barreja de gasos a diferents concentracions segons el producte al qual s'aplica.
- Envasament adequat: el tipus d'envàs utilitzat s'escull en funció de la taxa de respiració dels productes envasats; generalment, però, els més utilitzats són els envasos barrera.

L'aplicació d'agents bioconservants es considera cada vegada més un altre obstacle a tenir en compte ja que pot contribuir considerablement en el manteniment de la qualitat dels productes de IV gamma.

#### **1.1.2.1 Aplicació d'agents bioconservants**

La bioconservació és un mètode que té per objectiu allargar la vida útil i augmentar la seguretat dels aliments que es basa en l'ús de microorganismes i/o els seus metabòlits així com d'antimicrobians naturals d'altres orígens (Keepcool, 2016). A nivell comercial, és una estratègia de futur ja que, amb les tècniques de conservació tradicionals sovint s'alteren certes propietats fisicoquímiques i nutritives, de manera que s'estan portant a terme molts estudis basats en l'aplicació d'agents bioconservants

i fins i tot s'han començat a aplicar com a estratègies més adequades per garantir la seguretat i la qualitat dels aliments (Pal Singh, 2018).

Els agents bioconservants utilitzats es poden classificar en dos grups. El grup més comú són els antimicrobians naturals provinents de diversos orígens: derivats del metabolisme de cèl·lules bacterianes (àcids orgànics, diòxid de carboni o peròxid d'hidrogen); bacteriocines, definides com a substàncies sintetitzades per determinats bacteris, concretament pèptids amb activitat antimicrobiana sintetitzats en els ribosomes; compostos antifúngics (natamicina); compostos d'origen animal (lisozim o lactoperoxidasa); i compostos derivats de plantes (olis essencials). El segon grup inclou els microorganismes capaços d'inhibir els microorganismes patògens o deteriorants, utilitzats tradicionalment per conservar els aliments comportant, però comporta la modificació de la naturalesa del producte (Filiberto, Aranda, Toledano, Morales, & Pérez, 2016).

Els bacteris inhibidors de microorganismes patògens o deteriorants més coneguts són els bacteris de l'àcid làctic (BAL). Aquests microorganismes fermenten els sucres fins a àcid làctic i diòxid de carboni, convertint la primera matèria en un producte amb una vida útil molt més llarga però amb el desavantatge que, en excés, suposa un canvi organolèptic en l'aliment. El seu mecanisme d'acció és complex i consisteix en produir un ambient desfavorable per als microorganismes patògens i/o deteriorants, mitjançant diversos mecanismes com reduir el pH a nivells per sota de 4-5, contribuir a l'establiment de condicions anaeròbies i/o sintetitzar substàncies antimicrobianes perquè els microorganismes no desitjables no puguin sobreviure, a més de la competència pels recursos que suposa la seva presència (Karpinski & Szkaradkiewicz, 2013).

Les bacteriocines són pèptids produïts per bacteris, incloent Gram-positius (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*...) i Gram-negatius (*E. coli*, *Pseudomonas*, *Shigella*...), amb propietats antibacterianes. Aquelles produïdes pels BAL són les de major interès per a la indústria alimentària pel fet de presentar característiques positives: són comercialment fàcils de trobar, són segures ja que no són tòxiques i presenten un alt nivell d'inhibició en comparació amb les sintetitzades pels bacteris Gram-negatius, especialment enfront els bacteris Gram-positius com *Listeria monocytogenes*. Es classifiquen en tres grups d'acord amb la seva estructura, propietats fisicoquímiques i propietats moleculars. La classe 1 correspon als

lantibiòtics, pèptids amb baix pes molecular, poc resistents al calor i modificables químicament. La classe 2 són no lantibiòtics, bacteriocines amb un pes molecular menor a 10 kDa, sense aminoàcids modificables i estables al calor i pH. Per últim, la classe 3 són termolàbils, amb un elevat pes molecular i inestables al calor (Beristain-Bauza, Palou, & López-Malo, 2012). Per poder aplicar bacteriocines en els aliments han de complir amb uns criteris (Beristain-Bauza, Palou, & López-Malo, 2012):

- Classificació GRAS (*Generally Recognized As Safe*)
- Reconegudes per una autoritat reguladora
- Inhibició de microorganismes patògens o activitat contra algun en concret
- Presentar efectes beneficiosos a nivell de seguretat, qualitat i sabor
- Alta activitat antimicrobiana

La bacteriocina més reconeguda és la nisina A (**Figura 4**), descoberta l'any 1928 i produïda per soques de *Lactococcus lactis* (Karpinski & Szkaradkiewicz, 2013). Pertany a la classe I, és a dir, que està caracteritzada per diversos anells intramoleculars a base de tioèter. A més, va ser la primera permesa a la indústria alimentaria i gaudeix de la condició de "GRAS" segons la Food and Drug Administration d'Estats Units amb el codi GRN 000065 (Rulis Ph.D., 2001). Per obtenir aquesta condició i poder ser utilitzada en productes alimentaris, la bacteriocina ha de ser neutra en aromes i sabors, no tòxica, estable i molt activa, antibacteriana, econòmica i de fàcil ús (Armengol, 2015).



**Figura 4. Estructura terciària de la nisina (Karpinski & Szkaradkiewicz, 2013)**

La nisina presenta un elevat rang d'activitat antimicrobiana contra els bacteris Gram-positius com són els del gènere *Listeria* o *Enterococcus*. Pot inhibir el creixement de microorganismes formadors d'espores com *Clostridium* i *Bacillus* (Beristain-Bauza, Palou, & López-Malo, 2012). La seva utilització com a agent bioconservant en els productes alimentaris s'indica sota el nom E-234 i està regulada segons el Reglament (CE) 1333/2000 sobre additius alimentaris i les seves darreres modificacions. En el Reglament (UE) 231/2012 s'estableixen les especificacions per als additius alimentaris, com la fórmula química, el pes molecular i la puresa de l'additiu. Les seves aplicacions a la indústria alimentaria i els seus límits d'aplicació queden recollits en l'annex II del Reglament (CE) 1333/2008 i modificacions posteriors; els productes als quals es pot aplicar es mostren a la **Taula 2**.

**Taula 2. Dosis màximes d'aplicació de la nisina en la indústria alimentària d'acord amb el Reglament (CE) 1333/2008 (i modificacions posteriors)**

Aliment	Dosi màxima (mg/l)
Nata espessa	10
Mascarpone	10
Formatge curat	12.5
Formatge fos	12.5
Ou líquid pasteuritzat	6.25
Postres de semolina, tapioca i productes similars	3

Existeixen altres bacteriocines que tenen importància tecnològica i industrial com la pediocina, un pèptid sintetitzat per bacteris del gènere *Pediococcus*. Pertany al grup IIa de la classificació de bacteriocines, amb un pes molecular de 4.6 kDa, estable en dissolucions aquoses i amb una estructura formada per quatre cisteïnes amb dos ponts disulfurs (Sibel, 2003). Malgrat sigui una bacteriocina amb una alta activitat antimicrobiana, la Food and Drug Administration (FDA) només li ha atorgat la condició GRAS en certes aplicacions alimentàries com en productes fermentats en els que els bacteris productors de pediocina PA-1/AcH s'utilitzen com a estàrters amb l'avantatge que la bacteriocina, produïda naturalment, controla el creixement de *L. monocytogenes*. Tanmateix, existeixen preparacions comercials de pediocina, com

Alta 2341<sup>®</sup>, per a la bioconservació de productes, només permeses als Estats Units (Juneja, Dwivedi, & Yan, 2012) (Sibel, 2003). Tanmateix, malgrat les activitats antimicrobianes favorables que presenta, la seva producció és molt costosa. Existeixen bacteriocines semblants a la pediocina, però són molt inestables en presència de metionina; el sofre present en la molècula pot ser oxidat, comportant un canvi en les seves funcions i propietats (Juneja, Dwivedi, & Yan, 2012).

L'aplicació d'agents bioconservants ajuda a la reducció de l'ús d'ingredients i additius conservants convencionals però amb l'inconvenient que s'ha de combinar amb altres tractaments fisicoquímics com la baixa temperatura i l'atmosfera modificada, per tal de prevenir al màxim la presència de microorganismes patògens i/o deteriorants.

### **1.1.2.2 Ús d'atmosfera modificada o protectora**

Els productes de IV gamma continuen realitzant el seus processos metabòlics durant el seu emmagatzematge en refrigeració; per tant, han d'estar envasats en unes condicions especials per tal de poder ser conservats el major temps possible assegurant l'òptim de qualitat. Cada tipologia de producte vegetal té unes condicions òptimes d'emmagatzematge quant a temperatura de conservació, humitat relativa i d'atmosfera modificada. Els avantatges que comporta l'envasament en atmosfera modificada de cares a la conservació dels productes mínimament processats són: permet reduir la velocitat de respiració i l'activitat metabòlica del producte així com la pèrdua d'aigua, pot prevenir el creixement microbià, i permet mantenir les propietats organolèptiques de l'aliment (Conesa, 2019).

L'atmosfera modificada o protectora es tracta d'una barreja de gasos diferent a la de l'atmosfera terrestre, adaptada a les necessitats del producte a envasar. Segons la normativa, els gasos d'envasament pertanyen a la classe dels additius. Els gasos permesos per a l'envasat són: el nitrogen ( $N_2$ ), l'oxigen ( $O_2$ ), l'argó (Ar), l'heli (He), el diòxid de nitrogen ( $N_2O$ ) i el diòxid de carboni ( $CO_2$ ). Les mesclades de gasos utilitzades per a la conservació ideal de les fruites i verdures amb l'objectiu de que es mantinguin fresques són combinacions de  $N_2$ ,  $O_2$  i  $CO_2$ . En general, els productes de IV gamma requereixen un percentatge baix en  $O_2$  i una concentració moderada de  $CO_2$ , encara

que els percentatges de cadascun d'ells en la barreja depèn del producte vegetal. Concretament, les seves funcions són:

- CO<sub>2</sub>: agent conservant amb efecte bacteriostàtic i fungistàtic que s'obté com a subproducte de diferents indústries; tanmateix, pot produir una lleugera acidificació dels productes i pèrdua d'aigua (generació d'exsudat);
- O<sub>2</sub>: permet mantenir el metabolisme dels vegetals, inhibeix el creixement de microorganismes anaerobis patògens i/o deteriorants, i evita que tinguin lloc processos fermentatius que alterarien les característiques del producte envasat; tanmateix, la seva presència afavoreix l'enfosquiment enzimàtic dels productes
- N<sub>2</sub>: element majoritari de l'aire i, a més, inert; per això, s'utilitza per desplaçar l'O<sub>2</sub> present a l'atmosfera normal.

A la **Taula 3** es poden observar les condicions òptimes de conservació per a diferents productes vegetals mínimament processats.

**Taula 3. Composició de gasos recomanada per la conservació de fruites i hortalisses (Oms, 2007)**

Producte	O <sub>2</sub> (kPa)	CO <sub>2</sub> (kPa)
Caqui	2	12
Cítrics	Aire	
Kiwi	2	5
Mango	2	10
Maduixa	1-2	10
Meló Cantaloup	4	10
Pera	0.5-2	-
Poma	<1	-
Préssec	0.25-2	10-12
Síndria	3	15

### 1.1.2.3 Envasos per a productes de IV gamma

L'envasat dels productes, de manera general, està destinat a protegir-los dels perills físics, químics i/o microbiològics durant el seu emmagatzemament, distribució i comercialització (Parzanese, 2012). En el cas dels productes de IV gamma, un altre objectiu és mantenir les característiques de l'atmosfera interna durant el màxim de temps possible al llarg de la vida útil del producte. En aquest sentit, és important remarcar que la pròpia activitat metabòlica del producte vegetal fa que es modifiqui l'atmosfera interna de manera substancial, disminuint el % d'O<sub>2</sub> i incrementant el de CO<sub>2</sub>. Idealment, amb l'ús d'un envàs de característiques apropiades quant a intercanvi de gasos hauria de permetre garantir el manteniment d'una concentració de gasos a l'interior del producte adequada, més o menys estable, treballant en condicions d'atmosfera modificada.

Els materials plàstics que componen els envasos existents a l'actualitat, poden tenir diferents permeabilitats (**Taula 4**). Les propietats de permeabilitat de les pel·lícules polimèriques dependran del tipus de plàstic, la gruixària, l'àrea, la temperatura i la diferència de pressió dels gasos a través del film (Oms, 2007). Per seleccionar el material d'envasament dels productes vegetals mínimament processats, s'ha de tenir en compte aquesta permeabilitat que proporciona cada material, ja que segons la taxa de respiració de cada vegetal, l'envàs haurà de permetre, amb major o menor intensitat, l'intercanvi d'O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> i vapor d'H<sub>2</sub>O entre l'interior i l'exterior. Dins l'envàs, s'ha d'evitar arribar a condicions d'anaerobiosi ja que el producte no podria respirar, a més d'afavorir altres fenòmens indesitjables com el creixement de microorganismes anaerobis.



**Taula 4. Principals materials utilitzats per envasos en atmosfera modificada (Conesa, 2019)**

Material	Permeabilitat als gasos (cm <sup>3</sup> /m <sup>2</sup> -dia-atm), gruixària de 25 µm			Transmissió de vapor d'aigua	Resistència a greixos i olis
	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>		
Polietilè de baixa densitat (LDPE)	7800	42 000	2800	18	Baixa
Polietilè d'alta densitat (HDPE)	2600	7600	650	7-10	Alta-Molt alta
Polipropilè fos (PP)	3700	10 000	680	10-12	Alta
Policlorur de vinil rígid (PVC)	150-350	150-350	60-150	30-40	Molt alta
Poliamida (PA) o Nylon-6	40	150-190	14	84-3100	Molt alta
Politereftalat de etilenglicol (PET)	50-130	180-390	15-18	25-30	Molt alta
Poliestirè (PS)	5000	18 000	800	100-125	Alta

Els productes vegetals amb una elevada taxa de respiració requereixen un intercanvi de gasos més elevat que l'obtingut pels polímers convencionals; en aquesta tipologia de productes s'utilitzen els materials micro-porosos o micro-perforats. Per obtenir un film micro-perforat, es pot realitzar a través de tres mecanismes diferents: incloure un material ceràmic en l'estructura del polímer com zeolites, CaCO<sub>3</sub> o SiO<sub>2</sub>; mecànicament; o bé per aplicació de làser. En qualsevol cas, mitjançant la selecció de la quantitat de porus i el seu diàmetre es pot controlar la concentració d'O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> i etilè (Catalá, López-Carballo, & Gavara, 2009). Tanmateix, la complexitat del sistema utilitzant materials micro-perforats sovint fa molt difícil arribar al punt d'intercanvi desitjat entre atmosfera interna i externa. Alternativament, el que se sol aplicar és la combinació d'un envàs amb un elevat grau de barrera amb una atmosfera modificada preparada amb una concentració d'O<sub>2</sub> superior a l'òptim perquè permeti mantenir unes condicions properes a l'òptim al llarg de la seva vida útil.

Quant a la forma, els envasos utilitzats per a l'envasament dels productes de IV gamma es poden dividir bàsicament en dues categories (Conesa, 2019):

- a) Envasos flexibles: principalment bosses amb un segellat longitudinal i dos transversals als extrems.
- b) Envasos rígids: compostat de dos elements, una safata on es diposita el producte i una pel·lícula flexible per tapar-lo.

### **1.1.3 Innovació en productes de IV gamma**

Els consumidors i la restauració han trobat en els productes de IV gamma nombrosos avantatges els quals justifiquen, cada vegada més, el seu elevat consum. És clar que cada cop hi ha més demanda per part dels consumidors i, per conseqüència, més oferta per part de les empreses. La comoditat, l'estalvi de temps i una manera més pràctica i ràpida de consumir productes frescos i sans estarien entre els motius més clars de l'increment de la seva demanda per evitar caure en el consum de menjar ràpid (El Español, 2018). Moltes de les innovacions associades a aquest sector estan relacionades amb els sistema d'envasament amb la finalitat d'allargar la seva vida útil, incloent tant el material d'envasament amb diferents propietats (permeabilitat als gasos, propietats antimicrobianes, propietats antibaf,...) com la composició de l'atmosfera modificada.

Si bé la major part d'innovacions en aquest sector tenen lloc en els productes en base a fruita, en relació a les hortalisses cada vegada van sortint al mercat productes nous, tant pel que fa a productes preparats per a consumir-se directament -bàsicament preparacions en base a amanides- com productes preparats per a una etapa de cocció posterior els quals són de gran interès per al sector HoReCa. Entre aquests darrers s'hi troben els xampinyons laminats, els cors de carxofa, el carbassó llescat, la ceba tallada, les patates ja pelades -ja siguin senceres o tallades en funció del destí final- o l'albergínia llescada, la qual, si bé no pot ser consumida directament, pot trobar moltes aplicacions culinàries: cuinades en fregitel·la, fetes a la planxa, component de la samfaina, saltejat de verdures, entre moltes altres. A més, és un producte molt susceptible a patir enfosquiment; per tant, s'hauran de tenir una sèrie de consideracions a la hora de la seva elaboració i conservació.

## 1.2 El conreu de l'albergínia

L'albergínia és un producte hortofructícola molt estès arreu del món, típic sobretot de zones amb clima temperat ja que li permet créixer i desenvolupar-se correctament. De fet, la producció d'albergínia a l'aire lliure es concentra a l'estiu mentre que en els mesos d'hivern la producció es fa en hivernacles ja que és un producte poc resistent a les baixes temperatures. A la **Taula 5**, es poden observar els principals països productors d'albergínia durant l'any 2017.

**Taula 5. Principals països productors d'albergínia durant l'any 2017 (FAOSTAT, 2017)**

País productor	Producció 2017 (t)
Xina Continental	32 883 567
Índia	12 510 000
Egipte	1 307 793
Turquia	883 917
República Islàmica de l'Iran	654 149
Indonèsia	535 436
Japó	307 800
Itàlia	286 473
Filipines	241 901
Espanya	225 912

Com es pot comprovar, Espanya es troba entre els 10 països principals productors d'aquesta hortalissa, tot i que el nivell de producció és molt inferior al de la Xina i fins i tot l'Índia, degut a l'elevada extensió d'aquests dos països i al clima adequat per al seu cultiu.

### 1.2.2 Àrea de cultiu i producció d'albergínia a Espanya

A l'Estat Espanyol, entre els anys 2007 i 2017, l'àrea cultivada va disminuir un 1%, un valor massa baix per afirmar que s'han perdut àrees de conreu. La producció, en canvi, va augmentar un 25.6%. Això porta a pensar que el mercat espanyol de l'albergínia s'ha consolidat en el mercat europeu, malgrat que s'hagin passat uns anys

de crisis, i això ha comportat que dos terços de la facturació de la producció hagin sigut gràcies a les vendes exteriors (**Taula 6**).

**Taula 6. Superfície cultivada i producció d'albergínia anuals a Espanya entre els anys 2007 i 2017 (FAOSTAT, 2017)**

Any	Àrea cultivada (ha)	Producció (t)
2007	3617	179 826
2008	3596	198 768
2009	3747	207 269
2010	3438	190.195
2011	3667	215 769
2012	3893	246 142
2013	3700	206 300
2014	3688	222 383
2015	3836	244 540
2016	3753	242 643
2017	3580	225 912

A la **Taula 7** s'hi visualitza el rendiment de les superfícies cultivades a Espanya durant l'any 2017. S'observa que el cultiu de regadiu protegit (en hivernacles) és el més aplicat en les superfícies cultivades degut a que té l'avantatge que es pot produir durant tot l'any. Al mateix temps, s'observa que és el que té més rendiment (kg/ha) dins l'Estat Espanyol.

**Taula 7. Rendiment del cultiu d'albergínia a Espanya durant l'any 2017 (MAPA, 2017)**

Cultiu	Superfície (ha)			Rendiment (kg/ha)			Producció (t)	
	Secà	Regadiu		Secà	Regadiu			
		Aire lliure	Protegit		Aire lliure	Protegit		
<b>Albergínia</b>	3	1097	2480	3580	8000	36 632	74 888	225 912

Pel que fa concretament a Catalunya, l'àrea cultivada va disminuir un 44% i la producció també un 39.5% (**Taula 8**). El cultiu de l'albergínia necessita un clima molt més càlid i sec. Catalunya, en tenir moltes zones de regadiu, es centra en tenir altres classes de conreu com els arrossars.

**Taula 8. Superfície cultivada i producció d'albergínia anuals a Catalunya entre els anys 2007 i 2017 (DARP, 2017)**

Any	Àrea cultivada (ha)	Producció (t)
2007	327	8428
2008	305	7943
2009	277	7168
2010	260	6792
2011	331	8800
2012	303	7586
2013	247	6413
2014	232	5613
2015	162	4107
2016	174	4507
2017	183	5094

### 1.2.3 Recol·lecció i conservació

Es tracta d'un producte que es comercialitza durant tot l'any arreu del món ja que, com s'ha comentat anteriorment, es pot cultivar tant a l'aire lliure com en hivernacle; per tant, el període productiu abasta els dotze mesos de l'any. A Espanya, els mesos de recol·lecció varien en funció de les característiques climatològiques; concretament, són els següents:

- Novembre – Maig: climes càlids de Canàries i Costa del Sol
- Abril – Juliol: clima temperat, zona de llevant
- Juny – Juliol: zones de climes freds i cultivades a l'aire lliure

La indicació que permet saber si una albergínia està en bones condicions per a ser recol·lectada és l'observació de la pell: ha de ser brillant i turgent per evitar que presenti un sabor massa amarg. S'ha de calcular que entre la sembra i la recol·lecció

poden arribar a passar des de 60 a 90 dies. Un cop recol·lectada, i per a una conservació ideal i evitar que es malmeti, s'ha de mantenir en una temperatura adequada, entre 1 °C i 15 °C. Una vegada comercialitzada, s'ha de mantenir a la cambra de refrigeració i evitar que es trenqui la cadena de fred.

#### 1.2.4 Origen

Els orígens de l'alberginiera no estan del tot clars. Es tenen evidències que l'hortalissa prové de l'Àsia meridional, inicialment a l'Índia. És a partir del segle XIII quan es comencen a tenir mencions del seu cultiu al nord d'Àfrica. Durant els segles XIV i XV els àrabs la van introduir a Europa i es va expandir per tota la zona mediterrània durant el segle XVI.

El seu nom prové del mot àrab "*badingian*". Inicialment es va usar per a complementar la venda de la poma i es comercialitzava amb el nom de "*manzana-badingian*", que va esdevenir a "*melangiana*" fins arribar al mot actual albergínia que va ser considerada com a poma no sana pel fet que és una hortalissa fresca no comestible quan és crua. De fet, no va arribar a tenir èxit fins passada l'edat mitjana ja que es creia que si es consumia aquesta hortalissa es podia arribar a tornar-se boig. Actualment, gràcies a la gran varietat de receptes culinàries, s'ha arribat a consums rècord del sector hortofructícola.

#### 1.2.5 Descripció botànica

L'alberginiera és una planta herbàcia anual que produeix un fruit en forma de baia anomenat albergínia. El seu nom científic és *Solanum melongena* L., i pertany a la família de les Solanàcies. Té les flors regulars amb ovaris que contenen nombrosos òvuls. Pertany a la classe de les dicotiledònies formant part de les angiospermes fanerògames.

L'alberginiera té un sistema radicular vertical i horitzontal que pot arribar a mesurar fins a 1 m de profunditat. La tija és erecta, cilíndrica i rígida, a vegades espinosa, amb un aspecte semi llenyós i amb molts entrenusos que en deriven ramificacions, a vegades

fràgils que es poden trencar amb facilitat pel pes de les fulles i els fruits. Pot arribar a alçades de fins a 2 m. Les fulles són molt desenvolupades amb un pecíol llarg i robust, amples i ovalades. La seva distribució per les branques és de forma alterna. Presenten diferències entre l'anvers i el revés; mentre que l'anvers és verd i amb pèls, el revés és grisós, llis i onejat. El limbe de la fulla té una longitud aproximadament de 30-35 cm i una amplada de 10-15 cm. Les flors poden ser solitàries o bé en forma de raïm amb entre 3 i 5 flors, amb un peduncle senzill, de les quals només se n'aprofita una que és hermafrodita que esdevé el fruit comercial; les altres es converteixen en fruits més petits o bé es panseixen. Presenta un calze amb sèpals soldats de color violaci al principi i després esdevenen verds. En ser una flor hermafrodita conté estams amb anteres desenvolupades de color groc intens i el gineceu format de dos carpels.






Existeixen tres subespècies de *Solanum melongena* L.: *esculentum*, que és la que té més importància a nivell agrícola ja que és la que es cultiva per a comercialitzar; *ovigerum*, utilitzada com a planta ornamental; i, per últim, *insanum* que és la varietat silvestre.

#### 1.2.5.1 Fruit

El fruit és una voluminosa baia carnosa amb un epicarpi llis i brillant i una polpa de color marfil, consistent i seca amb gran nombre de llavors al seu interior; per la part del peduncle està rodejat d'un fort calze espinós i pot arribar a pesar entre 200 i 300 g. Les llavors són aplanades i rodones, presenten un color beix-groc, el mateix que el de la polpa, i tenen un diàmetre aproximadament de 3 mm.








Existeixen moltes varietats d'albergínia en el mercat hortofructícola. Generalment varien per la seva forma (ovalada, allargada i rodona), les dimensions i el color. En les **Taules 9, 10 i 11**, es classifiquen les varietats d'albergínia amb més interès comercial on s'especifiquen les característiques pròpies de cadascuna. Les varietats més apreciades pels consumidors són la negra i la morada.

**Taula 9. Varietats de forma ovalada (Agrovademecum)**




Varietat	Característiques	Fotografia
<b>Atenea</b>	Color negre intens i brillant	
<b>Amalia</b>	Color negre i brillant amb el calze verd durant tot el cicle	
<b>E87941282 F1</b>	Fruits uniformes i fermes de color negre; apta per a cultiu d'hivernacle i a l'aire lliure	
<b>Esmeralda</b>	Color llistat violeta intens i blanc marfil; cultiu d'hivernacle	
<b>Gatuna</b>	Fruits fermes i uniformes de color negre	



**Taula 10. Varietats de forma allargada (Agrovalidemecum)**

Varietat	Característiques	Fotografia
<b>Àsia</b>	Superfície llisa de color negre i brillant amb el calze verd i sense espines	
<b>AG32 F1</b>	Superfície llisa de color llistat violeta i blanc. Calze petit sense espines. Pes entre 300 i 500 g	
<b>Black F1</b>	Color negre fosc amb un calze sense espines	
<b>E664 F1</b>	Color blanc amb calze verd clar sense espines; cultiu en hivernacle i aire lliure amb una bona tolerància al fred	
<b>E7773211 F1</b>	Color negre i brillant amb calze sense espines; cultiu a l'aire lliure amb bona tolerància a les altres temperatures	
<b>Madrid F1</b>	Color negre i brillant amb el calze petit i sense espines, i la polpa ferma i sense llavors. Pes de 300-400 g. Cultiu d'hivernacle i aire lliure	
<b>Senegal</b>	Fruit cilíndric, recte i allargat de color negre brillant. Calze petit, verd i sense espines. Cultiu d'aire lliure i d'hivernacle	

**Taula 11. Varietats de forma rodona (Agrovalidemecum)**

Varietat	Característiques	Fotografia
<b>Bilbo F1</b>	Fruit petit de color llistat blanc i violeta. Calze petit sense espines	
<b>E1524 F1</b>	Color violeta amb calze lila fosc. Cultiu en hivernacle amb un excel·lent rendiment	
<b>Giada</b>	Color molt fosc i brillant. Gran duresa i densitat de la polpa. Cultiu d'hivernacle i aire lliure	

### 1.2.6 Característiques nutritives de l'albergínia

Des del punt de vista de la seva composició química, les hortalisses són, normalment, productes poc calòrics degut al ser elevat contingut d'aigua, pobres en proteïnes i lípids, i amb diferències en el contingut de carbohidrats segons el tipus de producte. Tanmateix, tenen un gran interès pel seu contingut en micronutrients, vitamines i minerals (Cámara Hurtado, Sánchez Mata, & Torija Isasa, 2008).

En el cas de l'albergínia, es tracta d'un producte ric en calci, ferro i magnesi. A la **Taula 12** es mostra amb més detall la seva composició nutricional. També es caracteritza per la gran varietat de beneficis que aporta tant per a la salut com per l'aspecte físic, ajuda al control de la diabetis i del colesterol, a la salut cardiovascular, a realitzar la digestió, entre altres (Choudhary, 2019). A la seva pell conté un antocià anomenat *nasunina* amb acció antioxidant.

Cal tenir en compte, però, que conté un alcaloide tòxic anomenat solanina que es localitza a les parts verdes del fruit i als fruits menys madurs. Aquesta substància química desapareix aplicant calor; per tant, no suposa cap risc per al consumidor final ja que se li aplica un tractament tèrmic abans de consumir-la (FEN, 2013).

Taula 12. Composició nutricional (United States Department of Agriculture, 2018)

<b>Informació Nutricional (per 100 g de producte)</b>	
<b>Energia (kcal)</b>	25
<b>Proteïnes (g)</b>	0.98
<b>Greixos (g)</b>	0.18
dels quals saturats (g)	0.03
dels quals monoinsaturats	0.02
dels quals poliinsaturats	0.08
<b>Hidrats de carboni (g)</b>	5.88
dels quals fibra	3.0
dels quals sucres	3.53
<b>Fibra (g)</b>	3
<b>Aigua (g)</b>	92.3
<b>Calci (mg)</b>	9
<b>Ferro (mg)</b>	0.23
<b>Magnesi (mg)</b>	14
<b>Sodi (mg)</b>	2
<b>Potassi (mg)</b>	229
<b>Fòsfor (mg)</b>	24
<b>Zinc (mg)</b>	0.16
<b>Tiamina (mg)</b>	0.04
<b>Riboflavina (mg)</b>	0.04
<b>Niacina (mg)</b>	0.65
<b>Vitamina B6 (mg)</b>	0.08
<b>Folats (µg)</b>	22
<b>Vitamina C (àcid ascòrbic)</b>	2.2
<b>Vitamina A (µg)</b>	1
<b>Vitamina E (mg)</b>	0.3
<b>Vitamina K</b>	3.5

## 2. OBJECTIUS

El principal objectiu del present treball va ser determinar l'efecte de diferents tractaments en la conservació i seguretat d'albergínia llescada llesta per al seu ús. Concretament, es va assajar l'efecte de diferents agents bioconservants (una bacteriocina (nisina), àcid làctic (AL), *Leuconostoc mesenteroides* (BAL-160) i les seves combinacions dos a dos) sobre el creixement de *Listeria monocytogenes*. A més, degut a la susceptibilitat de l'albergínia a patir enfosquiment enzimàtic per l'acció de la polifenoloxidasa (PPO), també es va determinar si el tractament amb un agent antienfosquiment comercial permetia minimitzar el seu impacte sense interferir amb l'acció del tractament bioconservant que es determinés com a més apropiat.

Els objectius específics van ser:

- Establir un mètode adequat d'higienització d'albergínia llescada (tractament químic d'higienització *versus* tractament amb UV) envasada en atmosfera modificada utilitzant un envàs barrera i conservada a dues temperatures diferents (5 i 23 °C)
- Determinar l'efecte de diferents agents bioconservants sobre el creixement de *L. monocytogenes* així com també dels bacteris aerobis mesòfils, de fongs i llevats en albergínia llescada llesta per al seu ús, envasada en atmosfera modificada utilitzant un envàs barrera i conservada a 23 °C
- Assajar l'efecte del tractament amb un agent antienfosquiment comercial sobre l'activitat de la PPO en albergínia llescada llesta per al seu ús preparada i conservada en les mateixes condicions que en l'assaig anterior
- Determinar si l'aplicació del tractament antienfosquiment en albergínia llescada llesta per al seu ús preparada i conservada seguint les pautes dels dos assajos anteriors, interfereix amb els efectes del tractament bioconservant que s'hagi establert com a més adequat

### 3. MATERIALS I MÈTODES

Per a qualsevol dels assaigs realitzats, es van utilitzar albergínies negres (*Solanum melongena* L.) fresques comprades en un mercat local el mateix dia de realització de l'assaig, les quals es mantenien en refrigeració fins a l'inici de l'experiment.

#### 3.1. Disseny experimental

D'acord amb els objectius plantejats, es van realitzar quatre experiments diferents (E-1 a E-4) treballant sempre amb albergínia llescada desinfectada la qual, una vegada sotmesa als diferents tractaments, es conservava en atmosfera modificada dins d'un envàs barrera. En tots els casos, es va fer el seguiment de diferents paràmetres durant un període de 7 dies (dia d'inici de l'experiment i un, tres i set dies després). Tots els experiments es van realitzar per triplicat, amb cada repetició duent-se a terme en un dia diferent.

En el primer experiment (E-1) es va assajar 3 tractaments d'higienització de les llesques prèviament al seu envasament en atmosfera modificada: aplicació d'una mescla comercial d'àcids orgànics i vitamines (NatureSeal® FS), exposició a rajos UV durant 2 min per cada cara de la llesca d'albergínia, i el mateix però durant 4 min per cada cara. Per tal de poder valorar l'eficiència dels tractaments d'higienització es va incloure un tractament control (sense cap tractament d'higienització de les llesques) i, per a qualsevol dels tractaments, es va fer el seguiment dels recomptes de bacteris aerobis mesòfils, així com de la composició de l'atmosfera interna dels productes envasats conservats a dues temperatures diferents (5 i 23 °C).

En el segon experiment (E-2), es van assajar els agents bioconservants següents: nisina, àcid làctic i *Leuconostoc mesenteroides* (BAL-160), i les seves combinacions dos a dos. Com a microorganisme indicador es va escollir una soca no patògena de *L. monocytogenes* no hemolítica (CECT 4031). Es van incloure dos tractaments control: un per garantir que s'havia realitzat correctament la higienització de les llesques i l'altre per seguir el creixement de *L. monocytogenes* inoculada en absència de qualsevol agent de bioconservació. Tots els productes (tractats i no tractats) es varen envasar en envasos barrera amb atmosfera modificada i es van conservar a una temperatura de

23 °C. En aquest experiment, es va fer el seguiment dels recomptes de *L. monocytogenes*, bacteris aerobis mesòfils, fongs i llevats, i BAL (aquests darrers, només en el cas dels tractaments amb el BAL-160). Igualment que en l'assaig anterior, es va fer un seguiment de la variació en la composició gasosa de l'atmosfera interna.

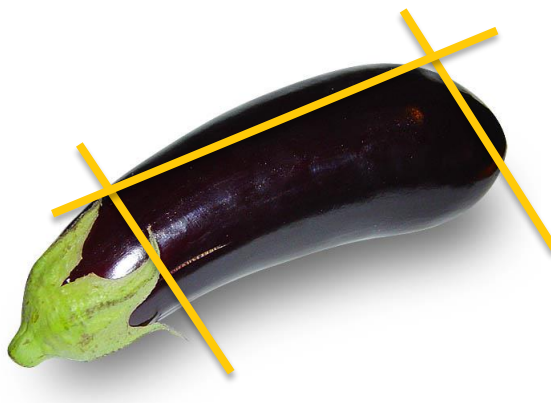
El tercer assaig (E-3) es va dur a terme per determinar si el tractament amb un producte comercial antienfosquiment (NatureSeal® A5) reduïa l'impacte de l'activitat de la PPO durant el processat i conservació d'albergínia llescada. L'assaig va incloure un control sense estar tractat amb aquest producte. Les condicions d'envasat i conservació del producte varen ser les mateixes que les aplicades en l'experiment anterior. Es va fer un seguiment de l'evolució del color utilitzant l'espai de color CIELAB, de la composició de l'atmosfera interna, i del recompte dels bacteris aerobis mesòfils per controlar qualsevol contaminació microbiològica que pogués estar associada a l'agent antienfosquiment.

Finalment, amb el darrer assaig (E-4) es va voler avaluar l'efecte global de l'aplicació dels tractaments d'higienització, d'antienfosquiment i de bioconservació més adequats (UV-2 min, antienfosquiment-NS i nisina, respectivament) sobre la qualitat de l'albergínia llescada llesta per al seu ús, envasada i conservada en les mateixes condicions que en els dos assajos anteriors i, al mateix temps, determinar si l'agent antienfosquiment interferia en l'acció de l'agent bioconservant. Per això, es va fer el seguiment dels recomptes de bacteris aerobis totals i de *L. monocytogenes*, de l'evolució del color i de la composició de l'atmosfera interna.

### **3.2. Desinfecció i llescat de les albergínies**

Per tal de treballar en les condicions el més higièniques possibles es procedia inicialment a desinfectar la superfície de les albergínies senceres col·locant-les en un bany amb aigua destil·lada i lleixiu (150 ppm a pH 9) durant 5 min i, a continuació, s'esbandien amb aigua destil·lada i s'assecaven. Just abans de procedir al seu llescat, la superfície de l'albergínia es netejava amb etanol al 70% i es deixava assecar. A continuació, s'esbandia amb aigua destil·lada, s'assecava i es procedia al seu llescat en condicions estèrils sota una campana de flux laminar Telstar BV-100 (Terrassa, Barcelona). Per això, s'eliminava la part de l'albergínia més propera al peduncle i

l'extrem oposat així com una part lateral, tal i com s'indica en la **Figura 5**, sobre un suport de tallar i utilitzant un ganivet de cuina prèviament desinfectats amb etanol al 70% i assecats.



**Figura 5. Talls realitzats a l'albergínia abans del seu llescat**

A continuació, es tallava l'albergínia en llesques de 0.5 cm de gruixària utilitzant una llescadora *CutMaster* (Taurus, Oliana, Lleida) prèviament desinfectada amb etanol al 70% i assecada sota la campana de flux laminar.

Les parts descartades s'utilitzaven per determinar el pH de l'albergínia com a mesura de control, utilitzant un pH-metre GLP 22 equipat amb una sonda 52-32, ambdós de la marca CRISON (Alella, Barcelona); es prenen com a mínim 3 mesures en punts diferents.

### **3.3. Aplicació de tractaments**

Els tractaments aplicats a les llesques d'albergínia desinfectades just després del seu llescat depenien de l'experiment concret. De manera global, es van assajar tractaments d'higienització de les llesques, d'aplicació d'agents bioconservants i/o per al control de l'enfosquiment enzimàtic. En qualsevol cas, es van dur a terme sota una campana de flux laminar Telstar BV-100 i, una vegada aplicats els diferents tractaments, s'extreien 5 discs de les llesques d'albergínia tractades amb l'ajuda d'un trepà de 2 cm de diàmetre estèril els quals es col·locaven a l'interior de bosses barrera estèrils per al seu envasament amb atmosfera modificada i la seva conservació en les

condicions de temperatura establertes en cada experiment. A la **Figura 6** es presenta un esquema del disseny experimental seguit per tal d'assolir els objectius proposats.



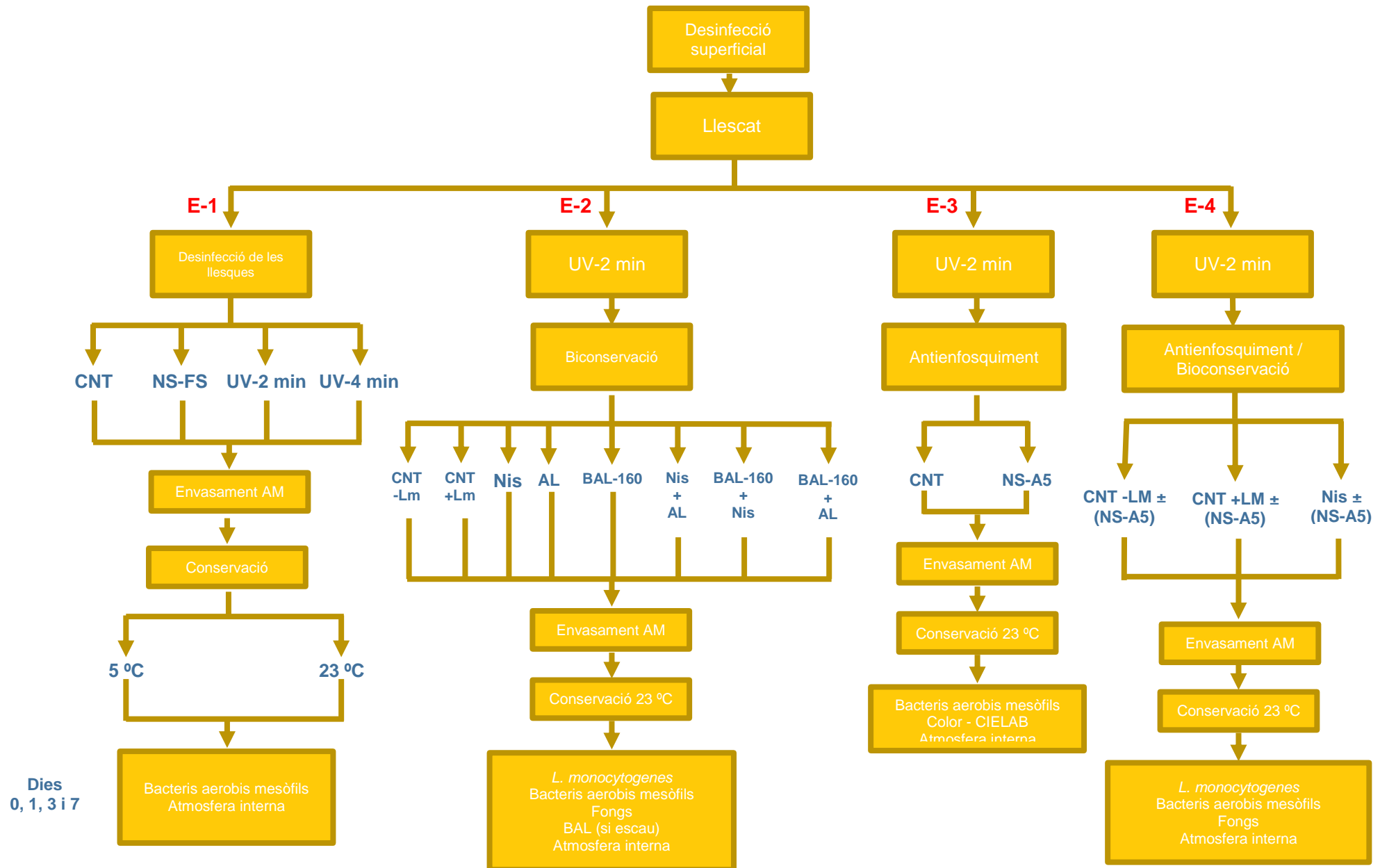


Figura 6. Disseny experimental per a l'assoliment dels objectius proposats. Cada experiments (E1 – E4) es va realitzar per triplicat

### 3.3.1. Higienització de les llesques d'albergínia

Es van assajar tres tractaments diferents per a la higienització de les llesques d'albergínia. Concretament, van ser un tractament amb NatureSeal® FS (NatureSeal Inc., Westport, CT, EUA), una barreja d'àcids orgànics, vitamines i minerals; i dos tractaments diferents amb UV a una  $\lambda = 250$  nm utilitzant la campana de flux laminar (2 min per cada cara de la llesca i 4 min per cara, respectivament). En el disseny de l'experiment s'hi va incloure també un tractament control (CNT, sense etapa d'higienització posterior al llescat) per poder avaluar l'efecte higienitzant dels agents fisicoquímics assajats.

Per a la desinfecció de les llesques amb NatureSeal® FS (NS-FS), les llesques es col·locaven a l'interior d'una bossa d'*stomacker* estèril amb la solució desinfectant preparada a una concentració de 1.42%, a pH 2.4 aproximadament. El conjunt s'agitava manualment durant 2 min i, posteriorment, s'extreien les llesques de la bossa a l'interior de la campana de flux laminar i s'assecaven amb papers de filtre estèrils durant 1 min.

Per als tractaments amb UV, tant durant 2 o 4 min per cada cara (UV-2 min i UV-4 min, respectivament), les llesques es col·locaven sobre un paper de filtre estèril sota la campana de flux laminar i s'aplicava el tractament respectiu amb la llum UV.

En finalitzar l'aplicació de cada tractament, s'extreien discs de les llesques d'albergínia tractades amb l'ajuda del trepà de 2 cm de diàmetre estèril i es col·locaven a l'interior de 8 bosses per al seu envasament per tal de poder fer el seguiment de les característiques del producte durant la seva vida útil (7 dies) conservat a dues temperatures diferents: 5 °C i 23 °C. Es col·locaven 5 discs per bossa i es requerien 4 bosses per a cada temperatura de conservació per tal determinar l'evolució del creixement de bacteris aerobis mesòfils i de la composició de gasos de l'atmosfera interna.

### 3.3.2. Aplicació d'agents bioconservants

Es van assajar 3 agents bioconservants diferents per al control de *L. monocytogenes*. A més, a cada experiment s'hi va incloure dos controls: un per tal de comprovar que la higienització de les llesques s'havia realitzat correctament; i l'altre, inoculant el microorganisme indicador (*L. monocytogenes*) però sense aplicar cap agent bioconservant. Els agents de bioconservació que es van utilitzar van ser nisina (400 IU/25 µl), àcid làctic (2%), una suspensió BAL-160 (resistent a la rifampicina) a una concentració de 10<sup>8</sup> ufc/ml, i la combinació entre ells dos a dos. Per tant, en cada experiment es van assajar:

- 1: Control no tractat, sense *L. monocytogenes* (CNT -Lm)
- 2: Control no tractat, amb *L. monocytogenes* (CNT +Lm)
- 3: Nisina (Nis)
- 4: Àcid làctic (AL)
- 5: *Leuconostoc mesenteroides* (BAL-160)
- 6: Nisina + Àcid làctic (Nis + AL)
- 7: *Leuconostoc mesenteroides* + Nisina (BAL-160 + Nis)
- 8: *Leuconostoc mesenteroides* + Àcid làctic (BAL-160 + AL)

La nisina va ser escollida pel fet que és la única bacteriocina autoritzada per al seu ús com a bioconservant; l'àcid làctic es va escollir pel fet que es un bon conservador; i la soca BAL-160 de *L. mesenteroides* va ser escollida perquè ha estat aïllada i caracteritzada pel grup de Patologia Vegetal-CIDSAV de la UdG per tenir activitat com a bioconservant en productes vegetals i ser productora de la bacteriocina mesentericina

L'aplicació dels agents bioconservants es va realitzar a partir de les solucions preparades amb anterioritat aplicant-les directament sobre els discs extrets amb el trepà. A cada tractament s'inoculava 0.1 ml de la suspensió de *L. monocytogenes*, mentre que de l'agent de bioconservació respectiu de cada tractament s'aplicaven 0.25 ml de la solució/suspensió. L'ordre d'aplicació depenia del tipus d'agent bioconservant: mentre que en el cas d'agents químics, primer s'inoculava el microorganisme indicador i posteriorment s'hi afegia l'agent bioconservant, s'invertia l'ordre quan l'agent bioconservant aplicat era el BAL. En els tractaments combinats, se seguia el mateix criteri. En el cas del CNT +Lis, simplement s'inoculava el microorganisme indicador,

mentre que en el CNT -Lis els discs s'extreien i envasen directament en atmosfera modificada utilitzant bosses barrera després de l'aplicació del tractament d'higienització de les llesques. En tots els tractaments –excepte aquest darrer– després de cada inoculació es deixava assecar completament la gota abans d'envasar els discs en les mateixes condicions que el CNT -Lis. Es van conservar durant 7 dies a una temperatura de 23 °C i, al llarg d'aquest període, es van fer recomptes de: bacteris aerobis mesòfils; fongs i llevats e; *L. monocytogenes*; i bacteris de l'àcid làctic (en els tractaments que incloïen la soca BAL-160).

### **3.3.3. Tractament antienfosquiment de l'albergínia**

Es va assajar el producte comercial NatureSeal® A5 (barreja d'àcid ascòrbic i vitamines) per determinar si podia ser utilitzat en el cas de l'albergínia llescada per minimitzar la pèrdua de qualitat degut a l'enfosquiment enzimàtic. En aquest cas, una part dels discs obtinguts a partir de llesques d'albergínia una vegada sotmeses al tractament d'higienització amb UV-2 min es varen envasar sense cap més tractament posterior, mentre que l'altra part de discs es van tractar amb NatureSeal® A5 (5%) introduint-los dins d'una bossa d'*stomacker* estèril i mantenint el conjunt tancat i en agitació durant 2 min. Posteriorment, els discs es varen transferir a bosses barrera en condicions higièniques i es varen envasar en atmosfera modificada. Es va conservar a una temperatura de 23 °C durant 7 dies. Cada tractament es va envasar per duplicat per a cada temps de mostreig. Una de les bosses va servir per fer el seguiment de l'evolució del nombre de bacteris aerobis mesòfils en medi LB+C durant el període de conservació, mentre que l'altra s'utilitzava per determinar la concentració d'O<sub>2</sub> i de CO<sub>2</sub> en l'atmosfera interna i el grau d'enfosquiment enzimàtic a partir dels paràmetres de color de l'espai *CIELAB*, lluminositat (L\*) i coordenades cromàtiques (a\* i b\*).

### **3.3.4. Tractament combinat higienització, antienfosquiment i bioconservació de l'albergínia**

En el darrer assaig es van aplicar els tractaments que es varen considerar més adequats en els assajos anteriors de cares a mantenir la qualitat del producte envasat. La higienització es va realitzar amb UV durant 2 min per cara, es va aplicar el

tractament d'antienfosquiment amb NatureSeal® i com a tractament bioconservant es va escollir la nisina.

La manera de procedir va ser l'establerta per a cadascun dels tractaments tal i com s'ha descrit anteriorment. Tanmateix, per tal de poder posar en evidència qualsevol interacció entre l'agent antienfosquiment i l'agent bioconservant, es va realitzar un control sense l'aplicació de l'agent antienfosquiment, però si amb la inoculació del microorganisme contaminant i amb el tractament amb nisina. Es van conservar a temperatura de 23 °C. En aquest cas, a l'igual que en l'assaig anterior, es varen preparar 2 bosses per tractament per a cada temps de mostreig; una per fer els recomptes de bacteris aerobis mesòfils; de fongs i llevats en medi PDA, i de *L. monocyrogenes* en el medi selectiu Palcam; mentre que l'altra s'utilitzava per determinar l'evolució de la composició de gasos a l'interior de la bossa i el color mitjançant l'espai CIELAB.

### 3.4. Envasat i Conservació

Una vegada aplicats els tractaments d'higienització, antienfosquiment i/o bioconservació indicats en cada assaig, les albergínies s'envasaven en una bossa barrera termosegellable Llamb®Pack (Massegur, Girona, Espanya) de dimensions 20x30 cm fabricades a partir de poliamides i polietilè, amb gruixària de 90 µm i amb permeabilitat mostrada a la **Taula 13**, sota condicions d'atmosfera modificada utilitzant la barreja de gasos comercial *EXTENDAPACK 47* (2% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub> i 88% N<sub>2</sub>), subministrada per AGR Girona (Olot, Espanya,) amb l'ajuda d'una envasadora de buit Tecnotrip® (Barcelona, Espanya). El programa d'envasament aplicat comportava l'establiment d'un buit del 98% abans d'injectar un 65% de la barreja de gasos.

**Taula 13. Permeabilitat de la bossa termosegellable Llamb®Pack utilitzada per a tots els assajos.**

Propietat	Valor (cc/m <sup>2</sup> 24 h atm)
Permeabilitat a l'O <sub>2</sub>	<60
Permeabilitat al CO <sub>2</sub>	<190
Permeabilitat al N <sub>2</sub>	<12

Una vegada les mostres estaven envasades es conservaven a la temperatura desitjada durant un màxim de 7 dies ja fos en una nevera (5 °C) o utilitzant una estufa d'incubació *Conterm* (J.P. Selecta, Barcelona, Espanya) a 23 °C.

### 3.5. Recomptes

En tots els experiments, es van realitzar recomptes microbiològics als temps 0, 1, 3 i 7 dies després de l'inici de l'experiment fent sembres de les dilucions decimals adequades en diferents medis per comptabilitzar els microorganismes d'interès. Per realitzar les sembres i el posterior recompte de microorganismes, s'afegien 20 ml d'aigua de triptona estèril a l'interior de la bossa que contenia els discs dels quals s'havia de fer l'anàlisi microbiològica (dilució directa). S'homogeneïtzava el contingut utilitzant un homogeneïtzador de pales (Stomacher Masticator, IUL Instruments, Barcelona, Espanya) durant 90 s i es preparava un banc de dilucions decimal utilitzant aigua estèril per procedir a la sembra en gota (20 µl de dissolució per cada gota) en els diferents medis utilitzant una pipeta automàtica. Els medis utilitzats per als diferents recomptes van ser els següents: agar Luria Bertani amb cicloheximida (un antifúngic) en el cas dels bacteris aerobis mesòfils; medi Agar Patata Dextrosa (PDA) per fongs i llevats; medi selectiu Palcam per *L. monocytogenes*; i medi Man, Rogosa i Sharpe amb rifampicina (un antibiòtic) (MRS+R) per la soca BAL-160 (en els tractaments que l'inclouïen) donat que la soca BAL utilitzada era resistent a rifampicina.

### 3.6. Determinació de la composició de l'atmosfera interna

La determinació de la concentració de d'O<sub>2</sub> i CO<sub>2</sub>, en percentatge, a l'interior de la bossa on estava envasat el producte es feia amb un analitzador de gasos OXIBABY (**Figura 7**) de la marca PRAXAIR (Barcelona, Espanya).



Figura 7. Analitzador de gasos (Wittgas, 2019)

La mesura es prenía a través d'una agulla que es troba a l'extrem inferior de l'analitzador la qual pot penetrar a l'interior de la bossa amb l'ajuda d'un septo que es col·loca a la superfície de la bossa per impedir l'intercanvi de gasos amb l'atmosfera externa. L'aparell es calibrava cada dia, just abans de la realització de les mesures, utilitzant per al seu calibratge l'atmosfera a l'interior del laboratori i N<sub>2</sub> pur subministrat per PRAXAIR.

### 3.7. Determinació del color

La determinació del color es va realitzar en els tractaments on es va aplicar l'agent d'antienfosquiment, és a dir, en els experiments E-2 i E-4. La mesura del grau d'enfosquiment enzimàtic es va determinar amb un colorímetre electrònic Konica Minolta CR-400 (Tòquio, Japó). Es van utilitzar els paràmetres de color que indicava el colorímetre de l'espai *CIELAB*, els valors de lluminositat (L\*) i els valors de les coordenades a\* (que abasta de +a, indicant el color vermell, fins -a, indicant el color verd) i b\*, (de +b indicant el color groc fins -b indicant el color blau) a partir dels quals es pot determinar el to i la saturació. L'espai de color *CIELAB* és un mètode per expressar el color d'un objecte de manera objectiva i correlacionar-los amb la percepció humana per així definir de forma objectiva el color (Konica Minolta, 2018). En la **Figura 8**, es pot observar l'esfera de color de l'espai *CIELAB*.

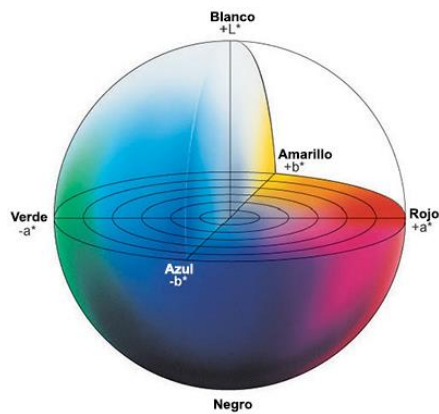


Figura 8. Espai de color CIELAB (Konica Minolta, s.f.)

Les coordenades  $a^*$  i  $b^*$  de l'espai de color CIELAB se situen en el pla horitzontal de l'esfera, tal i com es mostra en la **Figura 9**.

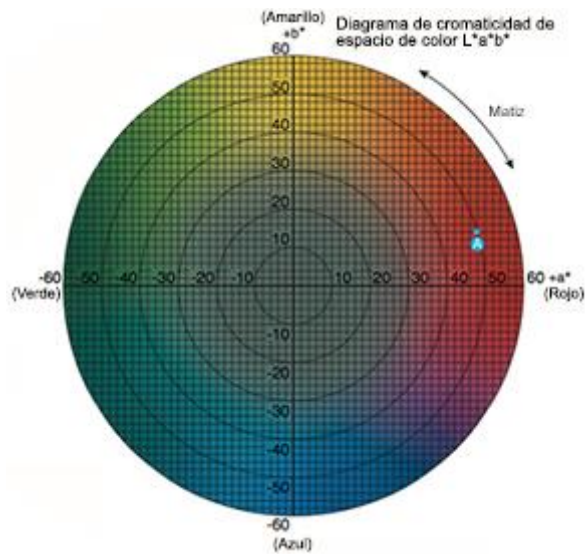


Figura 9. Coordenades  $a^*$  i  $b^*$  a l'espai de color CIELAB (Konica Minolta, s.f.)

A la **Figura 10** es mostra el colorímetre utilitzat per a la determinació del color dels discs d'albergínia llescada, el qual estava equipat amb l'il·luminat universal estàndard  $D_{65}$  que es correspon la il·luminació al migdia a l'Europa Occidental.





Figura 10. Colorímetre electrònic Konica Minolta CR-400 (Konica Minolta, 2018)

### 3.8. Anàlisi estadística dels resultats

L'anàlisi estadística de les dades es va realitzar amb el paquet estadístic IBM SPSS Statistics versió 25 (IBM Corporation, Armonk, NY, EUA). En els diferents assajos es va aplicar una ANOVA d'un o més factors fixos, depenent de l'estudi concret, en la que el dia de realització de l'assaig es va establir com a factor aleatori. En el cas dels models amb dos factors fixos o més, s'inclouïa les possibles interaccions en ells. Quan es van observar diferències significatives per algun dels factors estudiats es va aplicar el test de separació de mitjanes de Tukey. El nivell de significació en tots els casos va ser  $\alpha= 0.05$ .

## 4. RESULTATS I DISCUSSIÓ

Un dels principals factors que determinen la vida útil d'un producte de IV gamma és la qualitat de la primera matèria. En aquest estudi, per a la realització dels diferents experiments es va partir sempre d'albergínies fresques, amb característiques òptimes a nivell visual. A més, com a mesura de control, es va realitzar una determinació del valor de pH a totes les albergínies. A la **Figura 11** es mostra el valor mig del pH de les albergínies utilitzades en cadascun dels 4 assajos realitzats i la seva desviació estàndard. De manera global, es va obtenir un rang de valors entre 5.3 i 6.5, entre lleugerament àcids i prop de la neutralitat. Els valors de pH normals de les albergínies fluctuen entre un 5.5 i 6.5 (GO GREEN, 2019).

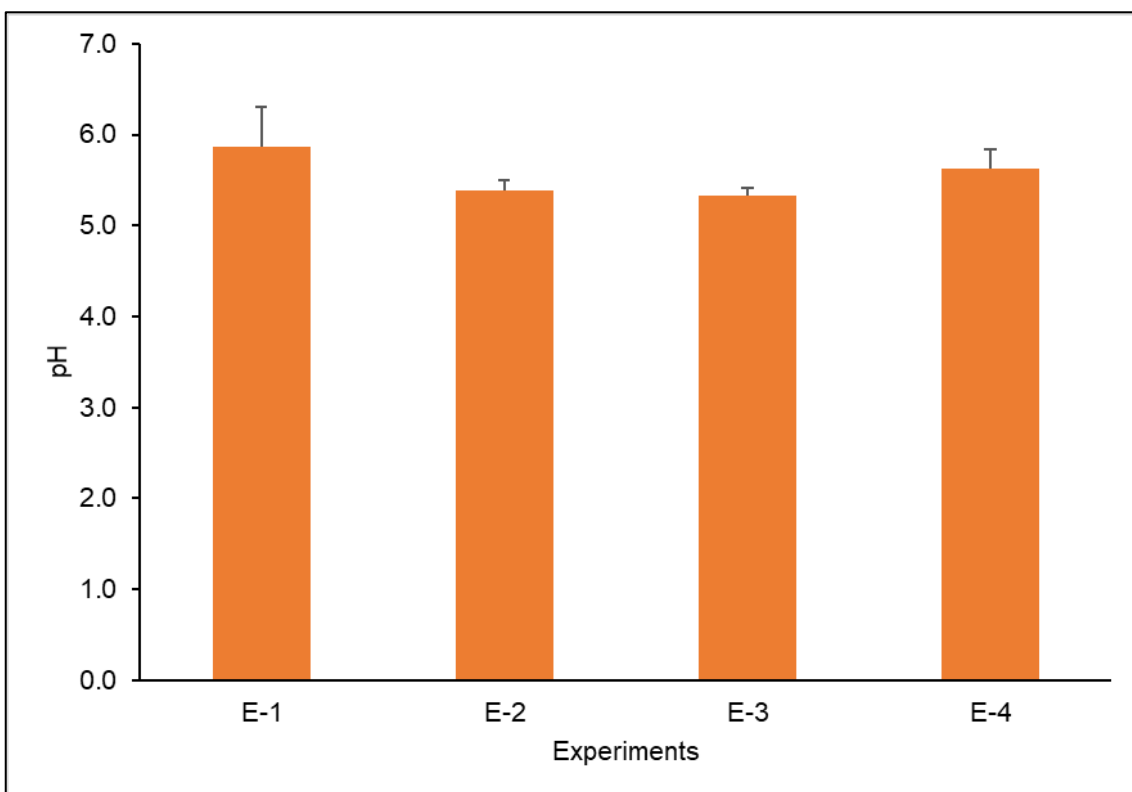


Figura 11. pH de les albergínies utilitzades en cadascun dels experiments. Mitjana  $\pm$  de (n=3)

## 4.1. Higienització de l'albergínia llescada

Per tal d'obtenir un producte de IV gamma de qualitat és molt important partir d'una primera matèria amb un baix nivell de contaminació microbiològica. Però, en el context d'aquest estudi, el fet de partir d'un producte el menys contaminat possible interessava tant de cares a la qualitat del producte final com per poder evidenciar més clarament els efectes dels tractaments bioconservants aplicats.

És per això que el primer que es va fer va ser establir un protocol d'higienització de l'albergínia llescada que, més enllà de la desinfecció de la superfície de l'albergínia sencera amb lleixiu, inclogués també una etapa d'higienització posterior al seu llescat que garantís mantenir la seva qualitat. Concretament, es va assajar el producte químic comercial NatureSeal® FS i el tractament amb UV sota campana de flux laminar, en aquest darrer cas estudiant també l'efecte de la durada del tractament, prèviament al seu envasament en atmosfera modificada i en un envàs barrera en condicions higièniques. L'aplicació dels UV és un tractament comú d'higienització, molt utilitzat en recerca. També es va incloure un tractament control, el qual no incloïa una higienització post-llescat. Tots els productes preparats (control i tractats) es varen conservar a dues temperatures diferents, 5 i 23 °C. La primera es va escollir donat que els productes de IV gamma requereixen ser mantinguts a temperatures de refrigeració durant el seu període de vida útil, mentre que la segona és la que es va escollir per realitzar l'estudi del tractament amb agents de bioconservació amb la intenció de facilitar la visualització dels seus efectes. Es varen fer recomptes de bacteris aerobis mesòfils just després del tractament d'higienització i 1, 3 i 7 dies després de la seva conservació en atmosfera modificada i en envàs barrera. Els resultats obtinguts es mostren a la **Taula 14**.

**Taula 14. Recomptes de bacteris aerobis mesòfils totals en albergínia llescada sotmesa a diferents tractaments d'higienització en els temps de mostreig (0, 1, 3 i 7 dies) després de l'aplicació del tractament higienitzant, en funció de la temperatura de conservació (n= 3)**

Tractament	Bacteris aerobis mesòfils (ufc/cm <sup>2</sup> )*	
	5 °C	23 °C
<b>CNT</b>	No detectats	No detectats
<b>NS-FS</b>	No detectats	No detectats
<b>UV-2 min</b>	No detectats	No detectats
<b>UV-4 min</b>	No detectats	No detectats

\*Limit de detecció: 1.8 log ufc/cm<sup>2</sup>

Tal i com es pot observar, només amb el tractament de desinfecció superficial amb lleixiu (CNT) ja s'assolien recomptes de bacteris aerobis mesòfils inferiors al límit de detecció del mètode (1.8 log ufc/cm<sup>2</sup>). Això comporta que no fos possible visualitzar cap possible efecte addicional dels tractaments post-llescat. Tot i això, els resultats obtinguts permetien assegurar que amb l'aplicació de la desinfecció inicial amb lleixiu i una segona etapa d'higienització posterior al llescat s'aconseguia minimitzar els riscos microbiològics, és a dir, que les pautes higièniques eren adequades. Donat que amb el producte NatureSeal<sup>®</sup> FS (NS-FS) es va observar que la seva aplicació comportava un enfosquiment de l'albergínia i una acumulació d'aigua a l'interior de la bossa, es va escollir com a tractament d'higienització estàndard l'aplicació d'UV durant 2 min per cada cara pel fet de ser ràpid, senzill i pràctic a l'hora de la seva aplicació.

En el mateix experiment, es va realitzar el seguiment de la composició de l'atmosfera protectora per assegurar que al final del període de vida útil d'emmagatzematge hi continués havent presència d'O<sub>2</sub> tant pel fet de mantenir el producte viu com per a la inhibició de microorganismes anaerobis estrictes. Concretament, es va determinar el percentatge d'O<sub>2</sub> i de CO<sub>2</sub>. L'anàlisi estadística dels resultats considerant els factors tractament, temps i temperatura de conservació va mostrar que hi havia una interacció significativa ( $p < 0.05$ ) entre temps i temperatura de conservació per als dos gasos analitzats, és a dir, que l'evolució al llarg del període de conservació de la composició a l'interior de l'envàs depenia significativament ( $p < 0.05$ ) de la temperatura de conservació. Per això, es va analitzar com variaven els percentatges dels gasos per a cada temperatura de conservació per separat.

Quan el producte llescat es mantenia a una temperatura de 23 °C, el percentatge de CO<sub>2</sub> tendia a augmentar significativament ( $p < 0.05$ ) fins al tercer dia però reduint-se significativament ( $p < 0.05$ ) al final del període de conservació, assolint un percentatge fins i tot inferior a l'inicial. Aquest comportament no depenia de manera significativa ( $p > 0.05$ ) del tractament aplicat. A la **Figura 12** es pot observar l'evolució del CO<sub>2</sub> a una temperatura de 23 °C.

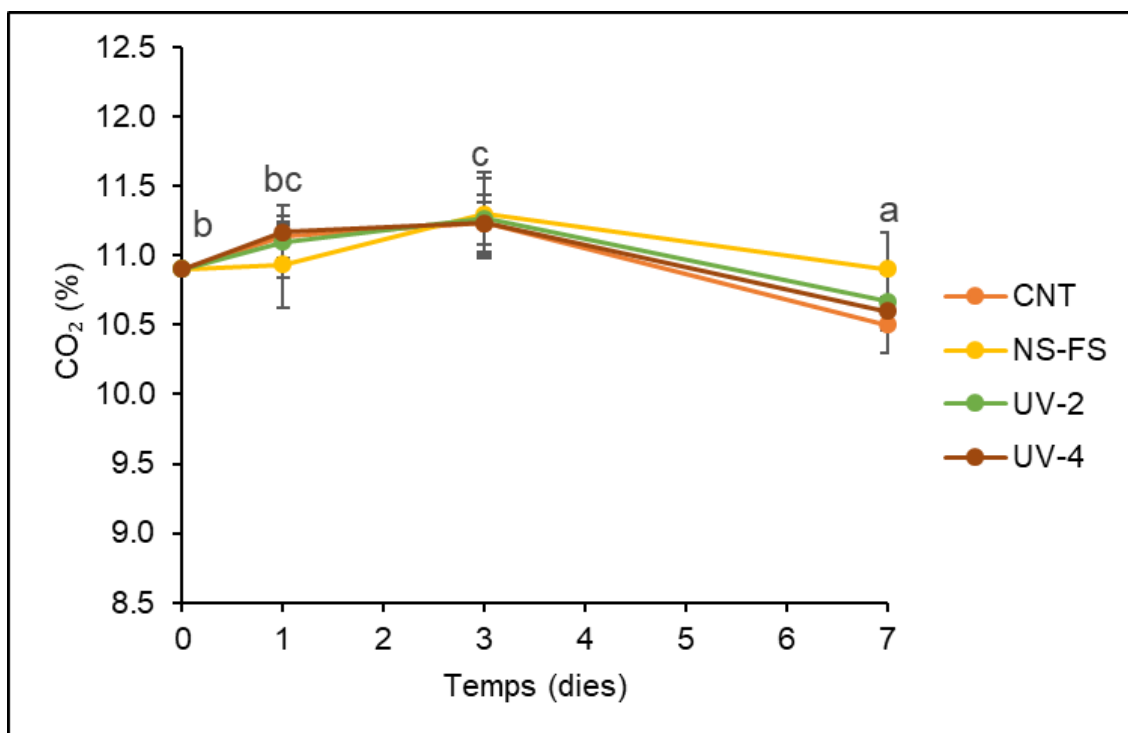


Figura 12. Evolució del percentatge de CO<sub>2</sub> a l'interior de l'envàs amb albergínia llescada mantinguda a 23 °C durant el període de conservació en funció del tractament d'higienització aplicat. Mitjana  $\pm$  de (n=3). Lletres minúscules diferents indiquen diferències significatives entre diferents temps per  $\alpha = 0.05$

Pel que fa al percentatge d'O<sub>2</sub> i a aquesta mateixa temperatura de conservació, també es van obtenir diferències significatives ( $p < 0.05$ ) al llarg del temps. D'acord amb el test de separació de mitjanes de Tukey, el contingut d'O<sub>2</sub> disminuïa significativament ( $p < 0.05$ ) al llarg de la vida útil sense que aquest comportament depengués del tractament aplicat (**Figura 13**).

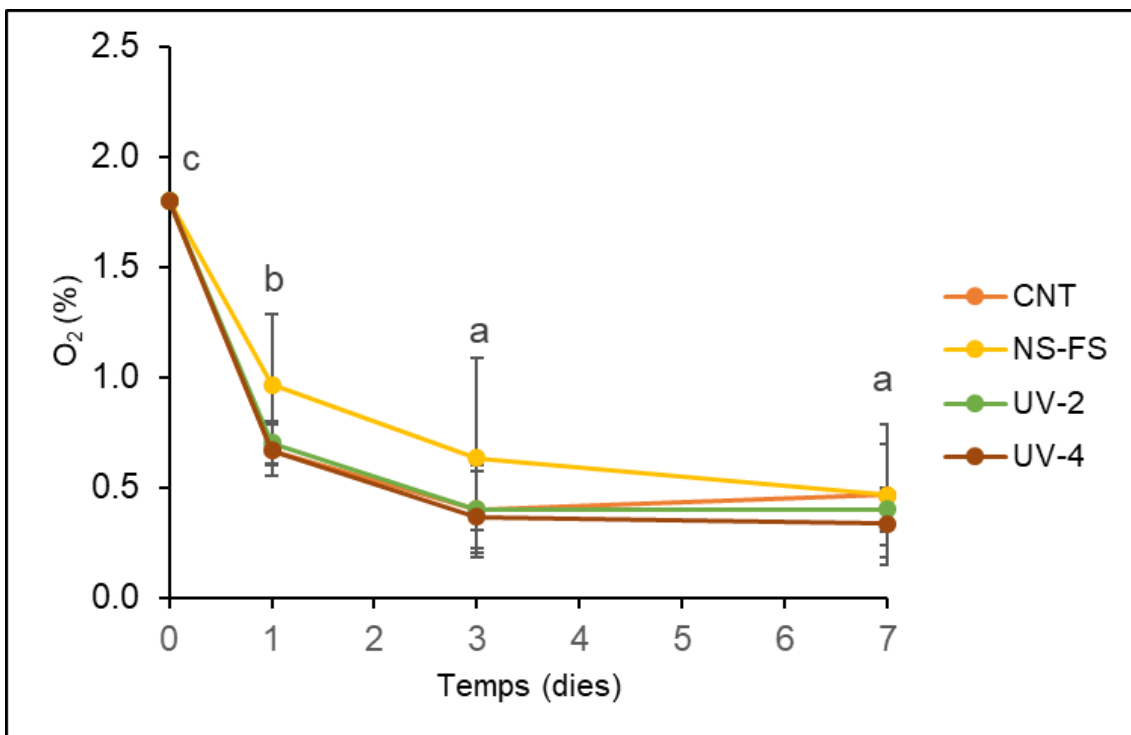


Figura 13. Evolució del percentatge de O<sub>2</sub> a l'interior de l'envàs amb albergínia llescada mantinguda a 23 °C durant el període de conservació en funció del tractament d'higienització aplicat. Mitjana ± de (n=3). Lletres minúscules diferents indiquen diferències significatives entre diferents temps per  $\alpha=0.05$

L'anàlisi estadística dels percentatges de CO<sub>2</sub> i O<sub>2</sub> quan l'albergínia llescada es mantenia a 5 °C va mostrar una variació significativa ( $p<0.05$ ) al llarg del temps en els dos casos.

En el cas del CO<sub>2</sub>, el seu contingut disminuïa significativament ( $p<0.05$ ) durant el primer dia de conservació i amb tendència a augmentar de manera significativa ( $p<0.05$ ) a partir d'aquest moment i fins al final del període de conservació, assolint nivells similars als inicials, sense que aquest comportament depengués del tractament aplicat. A la **Figura 14** es pot observar l'evolució del CO<sub>2</sub> a una temperatura de conservació 5 °C.

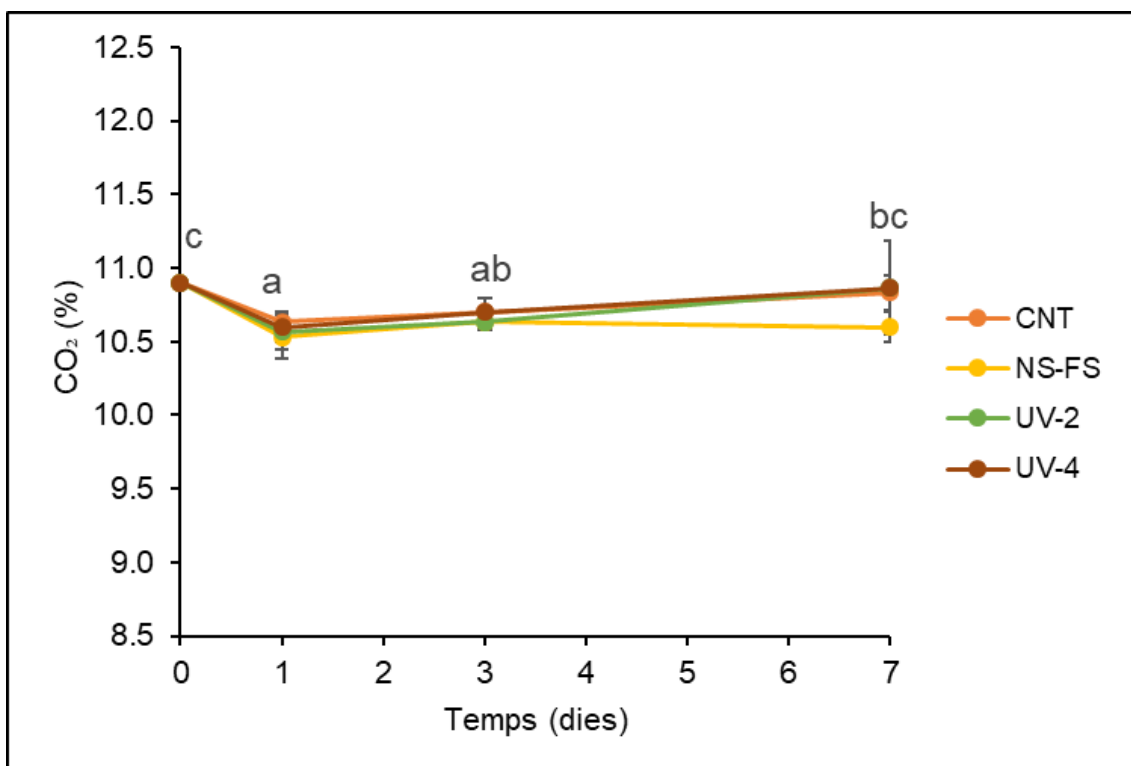


Figura 14. Evolució del percentatge de CO<sub>2</sub> a l'interior de l'envàs amb albergínia llescada mantinguda a 5 °C durant el període de conservació en funció del tractament d'higienització aplicat. Mitjana ± de (n=3). Lletres minúscules diferents indiquen diferències significatives entre diferents temps per  $\alpha=0.05$

L'anàlisi de la variable O<sub>2</sub> a la mateixa temperatura, va mostrar que el seu contingut disminuïa significativament ( $p<0.05$ ) al llarg de la vida útil sense que aquest comportament depengués del tractament aplicat (**Figura 15**).

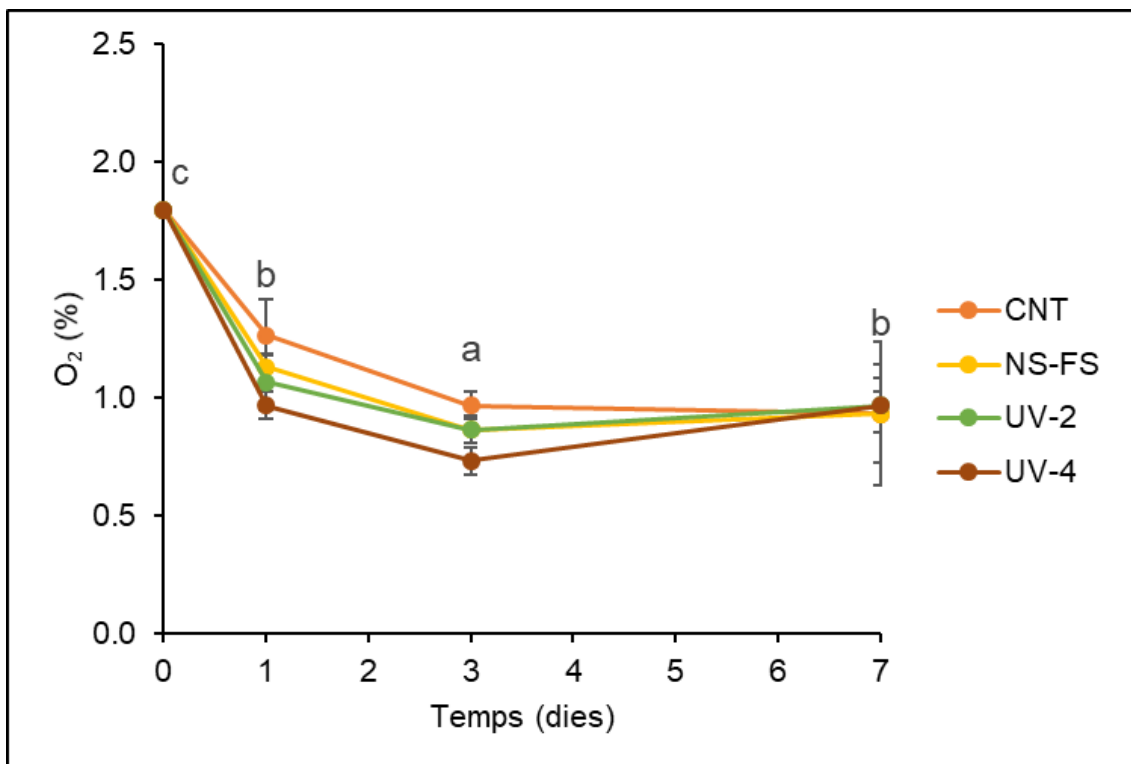


Figura 15. Evolució del percentatge de O<sub>2</sub> a l'interior de l'envàs amb albergínia llescada mantinguda a 5 °C durant el període de conservació en funció del tractament d'higienització aplicat. Mitjana ± de (n=3). Lletres minúscules diferents indiquen diferències significatives entre diferents temps per  $\alpha=0.05$

Per altra banda, també es va observar que dins de cada temps de mostreig al llarg del període de conservació no hi havia un efecte significatiu del tractament ( $p>0.05$ ) però sí de la temperatura de conservació ( $p>0.05$ ). D'acord amb els resultats del test de separació de mitjanes de Tukey, en el dies 1 i 3 el percentatge de CO<sub>2</sub> era significativament ( $p<0.05$ ) més elevat a 23 °C que a 5 °C mentre que en el cas de l'O<sub>2</sub> el comportament era just el contrari. En canvi, a dia 7 de vida útil, el CO<sub>2</sub> no presentava diferències significatives ( $p>0.05$ ) entre temperatures de conservació mentre que en el de l'O<sub>2</sub> es mantenia el mateix comportament que en els dies anteriors.

Aquests resultats estarien força d'acord amb els efectes de la temperatura sobre la taxa de respiració. En aquest sentit, la major disminució del percentatge d'O<sub>2</sub> a l'interior dels envasos a temperatura ambient (23 °C) degut a una major activitat respiratòria de l'albergínia estaria lligada al conseqüent increment de CO<sub>2</sub> en relació a aquells a una temperatura de refrigeració (5 °C). Tot i això, resulta difícil explicar el



comportament específic de cadascun d'ells en funció de la temperatura. De fet, se sap que el manteniment de l'atmosfera modificada està influenciat pel balanç entre l'activitat fisiològica del producte i de les condicions físiques de l'entorn, paràmetres molt difícils de controlar ja que són molt variables (Pinto Mosquera, de la Vega, & Cañarejo, 2016). La permeabilitat de l'envàs és un dels paràmetres que influeix en aquest manteniment. En el present assaig s'ha utilitzat un envàs format a partir de poliamides i polietilè, cal destacar que les poliamides presenten una propietat barrera depenent de la temperatura (Benedito Borrás, 2012), en concret, aporten una elevada barrera a l'oxigen fet que, va provocar que un cop consumit tot l'oxigen del seu interior fos difícil recuperar-lo a través de l'atmosfera externa deguda a la baixa permeabilitat aportada. Per tant, l'evolució de l'atmosfera obtinguda durant la vida útil del producte estudiat, quadra amb la permeabilitat de l'envàs utilitzat. Cal destacar també que el CO<sub>2</sub> a baixes temperatures, pot tenir tendència a formar exsudat.

## **4.2. Efecte d'agents bioconservants sobre el creixement de *L. monocytogenes***

Conèixer la vida útil d'un aliment permet establir el període de temps durant el qual es mantenen els paràmetres de qualitat específics, si s'ha mantingut a les condicions de emmagatzematge apropiades. Hi ha molts tipus d'estudis tipus "Challenge test" que permeten determinar-la, des d'estudis directes (a temperatures de conservació), passant per estudis accelerats (realitzats a temperatures més elevades que les de conservació) i finalment els estudis predictius (Gisbert, 2015).

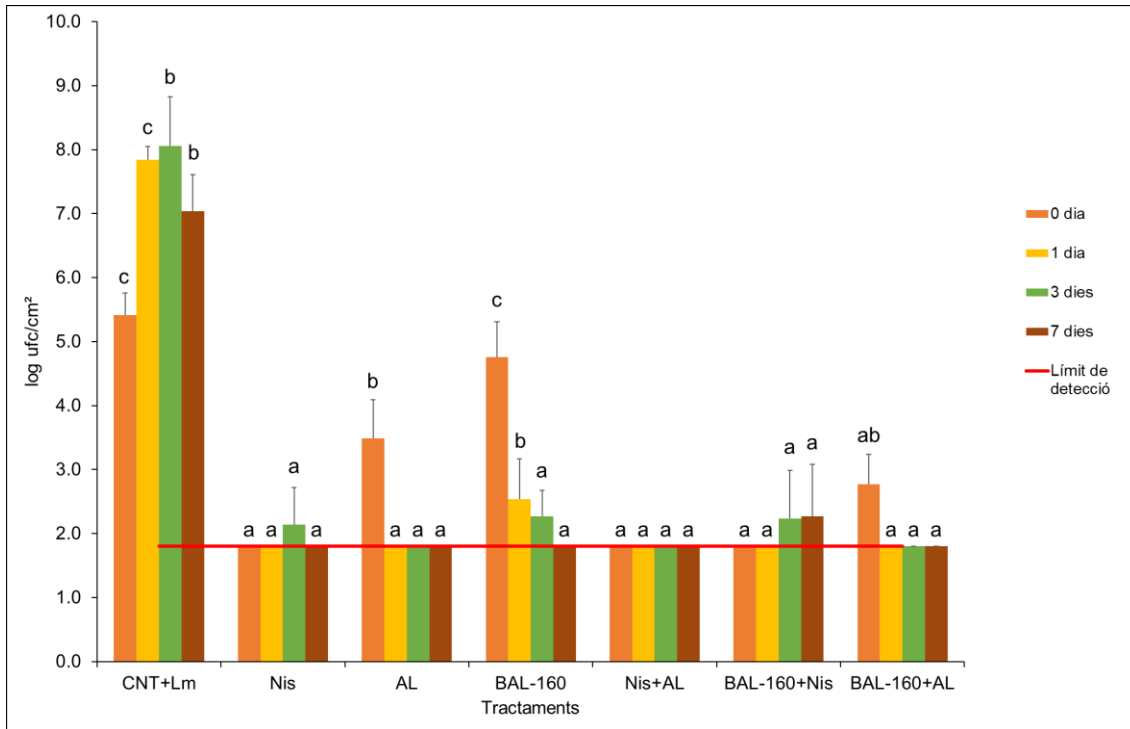
En el present projecte s'han combinat dos tipus d'estudis, l'estudi accelerat d'estabilitat i el *Challenge Test*. El primer consisteix en emmagatzemar els aliments en unes condicions forçades, generalment a temperatures més altes que les habituals de conservació de 4 °C, i analitzant-lo de forma periòdica fins arribar a límits de conservació inacceptables, amb l'objectiu de predir la vida comercial amb un període de temps curt (Gisbert, 2015). A més, es va utilitzar el *Challenge Test* amb l'objectiu de conèixer l'efecte de l'aplicació d'agents bioconservants sobre la qualitat microbiològica d'albergínia llescada al llarg de la seva vida útil. Aquest test consisteix en estudiar l'evolució d'un microorganisme patògen indicador, el qual s'introdueix durant el

processat, de forma experimental per estudiar si el procés d'elaboració del producte permet desenvolupar o eliminar el microorganisme alterant (Lavilla, 2018).

En aquest cas, es va utilitzar *L. monocytogenes* com a microorganisme indicador ja que és un patògen de gran rellevància en el cas de productes mínimament processats degut a que pot créixer a temperatures de refrigeració. Els agents bioconservants assajats van ser tres; concretament, nisina, àcid làctic i BAL-160 i, com ja s'ha explicat anteriorment, es van realitzar combinacions dos a dos, per comprovar els seus efectes amb un altre agent bioconservant. Els discs d'albergínia tractats i inoculats amb *L. monocytogenes* es van envasar en un envàs barrera amb una atmosfera modificada, d'igual manera que a l'assaig anterior i van ser conservats durant 7 dies a temperatura de 23 °C, per tal de facilitar la visualització dels efectes de la bioconservació.

Per determinar l'efecte dels agents bioconservants sobre el creixement de *L. monocytogenes*, es van realitzar recomptes en el moment inicial i 1, 3 i 7 dies després de la seva inoculació; així com també es va fer un seguiment de la microbiota contaminant, bacteris aerobis mesòfils i de fongs i llevats. A més a més, per tal d'observar l'evolució dels nivells poblacionals de BAL-160, es van realitzar recomptes en el cas on s'aplicava aquest tractament. Els resultats obtinguts dels recomptes realitzats es mostren a les **Figures 16, 17, 18 i 19**, respectivament.

Pel que fa als recomptes de *L. monocytogenes*, l'anàlisi estadística dels resultats considerant els factors fixes tractament i temps va mostrar que hi havia una interacció significativa ( $p < 0.05$ ) entre ells, és a dir, que l'evolució dels recomptes d'aquest microorganisme al llarg del període de conservació depenia del tractament aplicat. Aquesta interacció queda clarament reflectida en la **Figura 16**.



**Figura 16. Efecte de diferents bioconservants en els recomptes de *L. monocytogenes* en diferents temps durant el període de conservació d'albergínia llescada mantinguda a 23 °C. Mitjana  $\pm$  de (n=3). Límit de detecció: 1.8 log ufc/cm<sup>2</sup>. Lletres minúscules diferents indiquen diferències significatives entre tractaments dins de cada temps de mostreig per  $\alpha= 0.05$**

En el control no tractat inoculat amb *L. monocytogenes* (CNT +Lm), a temps inicial els recomptes del microorganisme indicador es trobaven entre 10<sup>5</sup> i 10<sup>6</sup> ufc/cm<sup>2</sup>, el que coincideix amb el fet de que es partia d'una suspensió d'inoculació aproximadament de 10<sup>6</sup> ufc/ml. A més, es va observar una tendència a augmentar significativament ( $p<0.05$ ) al llarg de la vida útil del producte de IV gamma fins arribar a valors de l'ordre de 10<sup>8</sup> ufc/cm<sup>2</sup>, tot i que aquest nivell de recomptes tendia a reduir-se significativament ( $p<0.05$ ) fins a valors de 10<sup>7</sup> ufc/cm<sup>2</sup> al final de l'assaig.

Tots els tractaments bioconservants aplicats a l'albergínia llescada van mostrar-se efectius ja que al final del període de conservació en pràcticament tots ells, els recomptes de *L. monocytogenes* es trobaven per sota el límit de detecció. Només en el cas del tractament BAL-160 + Nis en alguna repetició es trobaven per sobre; tot i això, l'anàlisi estadística dels resultats no va mostrar diferències significatives ( $p<0.05$ ) en relació als altres tractaments bioconservants. Malgrat això, també és important que l'efecte de l'agent bioconservant sigui immediat, ja que el producte de IV gamma pot

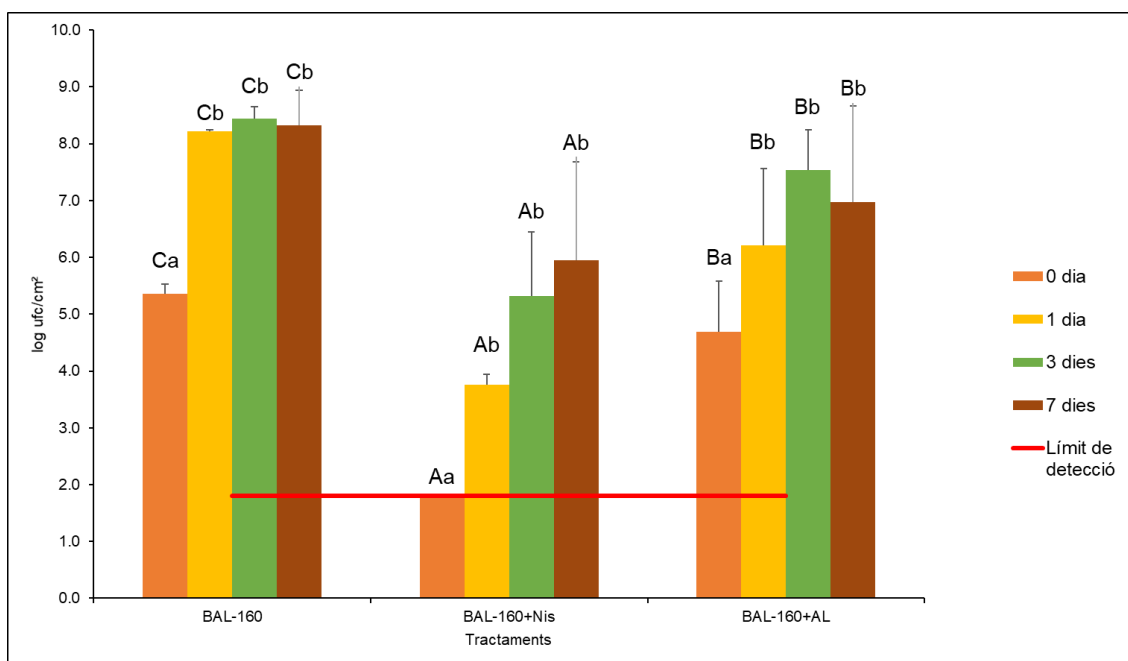
ser consumit des que s'ha processat fins al final. És per això que els tractaments ideals serien aquells en els que el creixement de *L. monocytogenes* és inhibit des de l'inici. Tenint en compte els recomptes a temps inicials, es pot observar que aquells en que el seu efecte bioconservant no era immediat van ser el tractament amb àcid làctic (AL) i el tractament amb la soca BAL-160. Mentre que els tractaments que van resultar més eficients van ser els que inclouen el tractament amb Nisina (Nis).

Tal i com s'ha explicat a l'apartat 1.1.1. Principals riscos microbiològics en productes de IV gamma, a nivell legal, s'exigeixen uns límits microbiològics per a la comercialització d'un aliment. En concret, els productes de IV gamma no estan regulats per cap reglament específic a nivell de contaminació microbiològica, tot i que les fruites i hortalisses integrades en la IV gamma són aliments i, com a tals, estan regulades pel Reglament (CE) nº 178/2002 pel que s'estableixen els principis i els requisits generals de la legislació alimentària, i pels Reglaments (CE) nº 1234/2007 i nº 1182/2007, pel que es crea una organització comú de mercats agrícoles i s'estableixen disposicions específiques per determinats productes agrícoles i pel que s'estableixen suposicions específiques en respecte al sector de les fruites i hortalisses, respectivament.

A la **Figura 17** es poden observar els recomptes de BAL-160 obtinguts en els tractaments on es va aplicar a  $10^8$  ufc/ml, valor que no coincideix amb el recompte a temps inicial dels tractaments que contenien aquest agent bioconservant. Una possible explicació seria que a aquesta soca li costés adaptar-se a les condicions de l'assaig, incloent el tipus de material vegetal.

L'anàlisi estadística dels resultats considerant els factors tractament i temps va mostrar que no hi havia una interacció significativa ( $p > 0.05$ ) entre ells però sí un efecte significatiu ( $p < 0.05$ ) tant del tractament com de temps. Pel que fa al tractament, es va observar que els recomptes de BAL-160 en el tractament combinat amb nisina eren significativament ( $p < 0.05$ ) més baixos que els dels altres tractaments, i els del tractament combinat amb àcid làctic ho eren també en relació amb el tractament només amb BAL-160. En el cas del factor temps, per a qualsevol tractament amb BAL-160 els recomptes inicials eren significativament ( $p < 0.05$ ) més baixos que la resta de dies de mostreig, els quals no mostren diferències significatives entre ells ( $p > 0.05$ ). Una possible explicació d'aquest comportament seria que la nisina inhibiria inicialment

el creixement del bacteri de l'àcid làctic (recomptes per sota del límit de detecció), tot i que posteriorment s'aniria recuperant lentament. En el cas del tractament BAL-160 + AL, el nivell d'inhibició tot i que significatiu seria molt poc rellevant. Aquests resultats estarien d'acord amb l'efecte inhibidor de l'àcid làctic i la nisina sobre bacteris Gram positius, com els bacteris de l'àcid làctic (Concha Meyer, 2008).

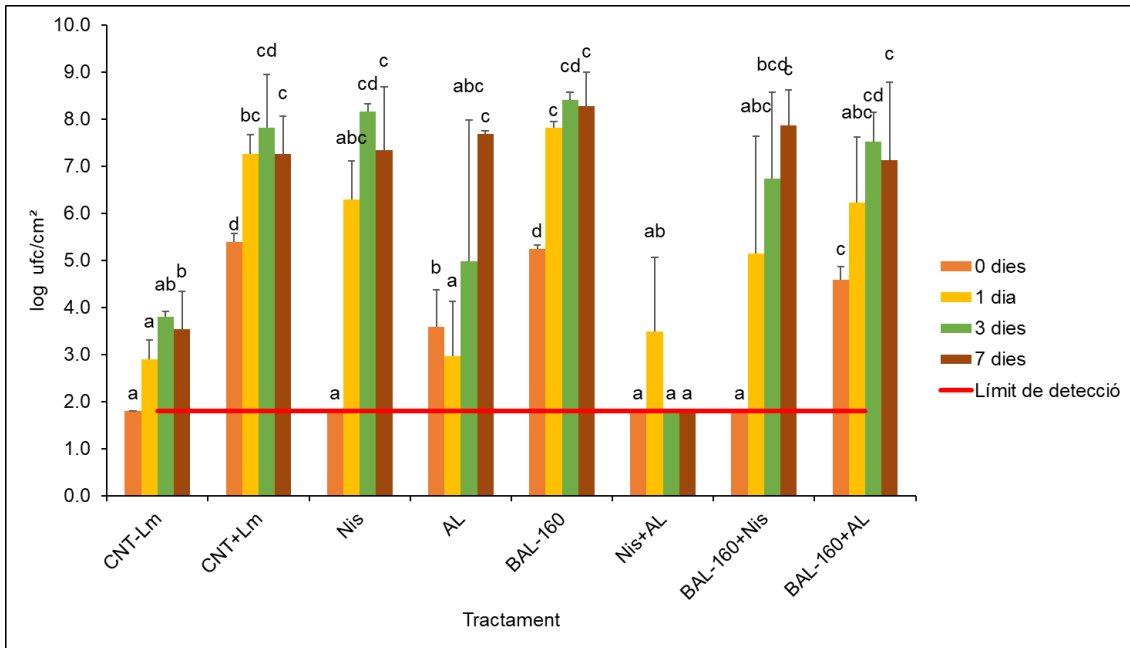


**Figura 17.** Evolució dels recomptes de BAL-160 durant el període de conservació d'albergínia llescada a 23 °C, en funció del tractament, aplicat sol o en combinació amb nisina o àcid làctic. Límit de detecció: 1.8 log ufc/cm<sup>2</sup>. Mitjana ± de (n=3). Lletres majúscules diferents indiquen diferències significatives entre tractaments mentre que lletres minúscules diferents indiquen diferències significatives al llarg del període de conservació, en ambdós casos per  $\alpha= 0.05$

A la **Figura 18** es mostren els resultats dels recomptes dels bacteris aerobis mesòfils totals en funció del tractament aplicat. Tal i com es pot observar, els valors obtinguts presenten una gran dispersió considerant tots els tractaments diferents. De fet, l'anàlisi estadística dels resultats va indicar que hi havia una interacció significativa ( $p<0.05$ ) entre els factors tractament i temps, és a dir, que l'evolució dels recomptes al llarg de la vida útil depenia significativament ( $p<0.05$ ) de cada tractament. Per això, es va analitzar cada temps per separat.

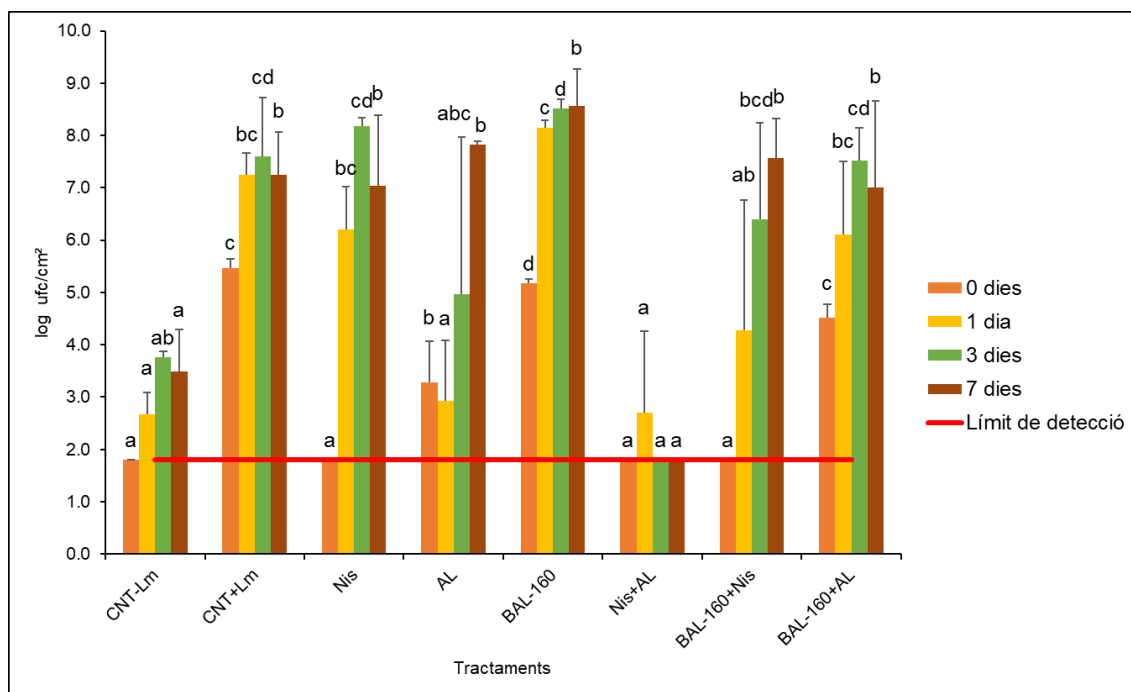
En el tractament CNT -Lm, els resultats inicials coincideixen amb els del primer experiment en el que els recomptes de bacteris aerobis mesòfils eren inferiors al límit

de detecció. Tanmateix, en el present experiment i a diferència de l'anterior, hi ha una tendència a incrementar els recomptes de manera significativa ( $p < 0.05$ ), assolint valors de l'ordre de  $10^3$ - $10^4$  ufc/cm<sup>2</sup> al llarg del període de conservació, sense mostrar diferències significatives ( $p > 0.05$ ) entre els dies 1 i 7, ambdós inclosos, els quals es podrien considerar acceptables. Per contra, en el control CNT +Lm la major presència de bacteris aerobis mesòfils en relació al tractament CNT -Lm es podria atribuir a la inoculació del microorganisme indicador. En el cas dels tractaments amb agents bioconservants, aquells que inclouen Nis (sola o en combinació) comporten que a temps inicial els recomptes sempre es trobin per sota del límit de detecció, mentre que ni en el cas de l'AL ni de la BAL-160 (sols o combinats entre elles) això és així. En els tractaments amb la soca BAL-160 els recomptes tendeixen a incrementar de manera significativa ( $p < 0.05$ ) immediatament des del dia 1 i sense que es modifiquin significativament ( $p > 0.05$ ) a partir d'aquest dia fins al final de l'assaig. Cal tenir en compte que en aquest cas els recomptes dels nivells poblacionals inclouen bacteris de la soca BAL-160. Tots aquests resultats coincideixen amb el que ja s'havia observat en els experiments anteriors. Pel que fa a la resta de tractaments, el que presenta un comportament més destacable per al control de la microbiota al llarg del període de conservació és el tractament combinat Nis+AL, ja que en aquest cas els recomptes es troben pràcticament sempre per sota del límit de detecció i en qualsevol cas sense mostrar diferències significatives entre els diferents dies de mostreig ( $p > 0.05$ ), indicant que és capaç de controlar tant *L. monocytogenes* inoculada com la microbiota bacteriana contaminant.



**Figura 18.** Efecte dels bioconservants en els recomptes de bacteris aerobis mesòfils totals durant el període de conservació d'albergínia llescada mantinguda a 23 °C. Mitjana  $\pm$  de (n=3). Límit de detecció: 1.8 log ufc/cm<sup>2</sup>. Lletres minúscules diferents indiquen diferències significatives entre tractaments diferents dins de cada temps per  $\alpha=0.05$

A la **Figura 19** s'observa l'evolució dels recomptes de fongs en funció del tractament aplicat. En l'anàlisi estadística dels resultats es van considerar els mateixos factors anteriors, i també es va observar que hi havia una interacció significativa ( $p < 0.05$ ) entre ells. Per això, es va tornar a analitzar l'efecte dels tractaments per a cada temps per separat.



**Figura 19.** Efecte dels bioconservants els recomptes de fongs i llevats durant el període de conservació d'albergínia llescada mantinguda a 23 °C. Mitjana  $\pm$  de (n=3). Límit de detecció 1.8 log ufc/cm<sup>2</sup>. Lletres minúscules diferents indiquen diferències significatives entre tractaments dins de cada temps de mostreig per  $\alpha= 0.05$

Tal i com es pot observar comparant les **Figures 18 i 19**, els recomptes de fongs i llevats van ser molt similars als de bacteris aerobis mesòfils, tant just després d'iniciar l'experiment com al final del període de conservació. Degut aquesta coincidència, per a futurs estudis caldria utilitzar algun altre medi que permetés saber quin tipus de contaminant és el més predominant.

D'acord amb els resultats obtingut, es pot concloure que els tractaments utilitzats són eficaços enfront *L. monocytogenes* però, en canvi, no ho són enfront altres microorganismes contaminants que puguin estar presents en el producte.

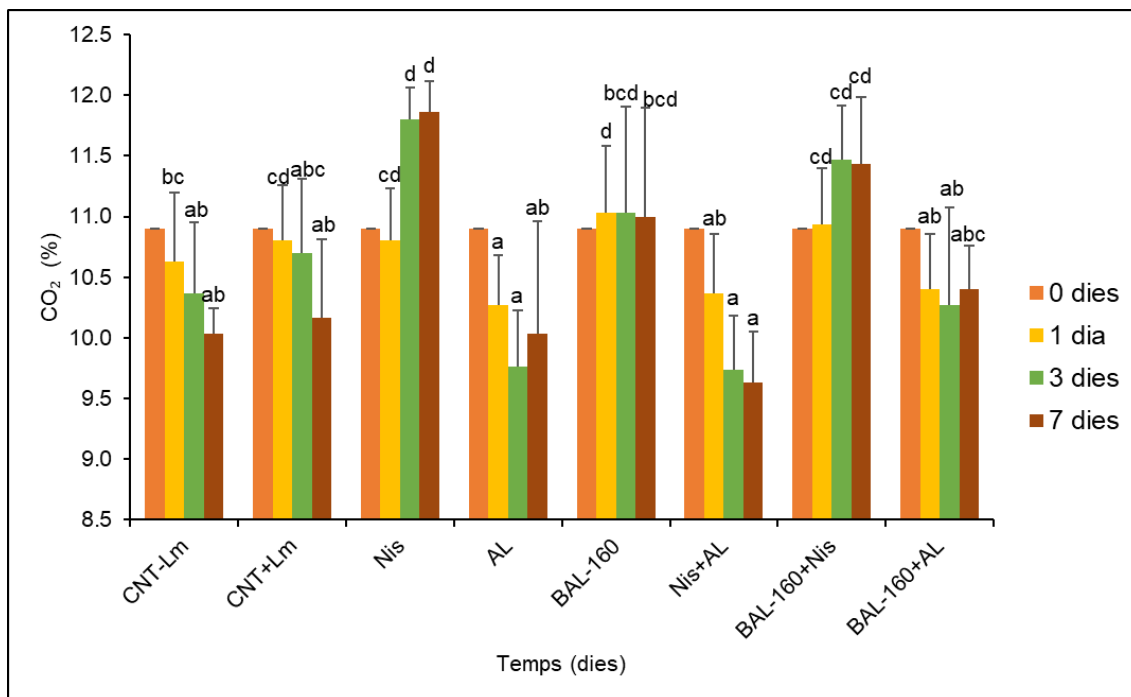
En aquest estudi també es va fer un seguiment de la composició de l'atmosfera protectora per comprovar com inflüen els tractaments aplicats en el percentatge d'O<sub>2</sub> i de CO<sub>2</sub> i determinar si al final del període de vida útil d'emmagatzematge hi havia presència d'O<sub>2</sub>. La taxa de respiració dels productes vegetals depèn, entre d'altres coses, de la concentració d'O<sub>2</sub>; a baixes concentracions, la respiració va més lenta, mentre que a concentracions altes s'accelera. Si s'envasa un producte vegetal en un



envàs totalment hermètic amb aire atmosfèric (20.9% d'O<sub>2</sub> i 0.04% CO<sub>2</sub>), els percentatges d'O<sub>2</sub> i CO<sub>2</sub> a la llarga s'invertiran pel fet que no hi ha possible intercanvi de gasos. Per a productes amb una elevada taxa de respiració es fa molt complicat el seu envasament; si el seu consum d'O<sub>2</sub> és més ràpid que el temps de substituir-lo, comporta que la seva concentració es redueixi ràpidament i que el producte acabi en senescència. Malgrat aquest desavantatge, s'han buscat solucions d'envasament com els films micro-perforats que en el mateix temps que el diòxid de carboni surt de l'envàs, entra oxigen nou (Institute, 2008).

L'anàlisi estadística dels resultats de CO<sub>2</sub> i O<sub>2</sub>, considerant els factors tractament i temps, va mostrar que hi havia una interacció significativa ( $p < 0.05$ ) entre els dos factors, és a dir, que l'evolució al llarg del període de conservació de la composició a l'interior de l'envàs depenia significativament del tractament aplicat. Per això, es va analitzar com variaven els percentatges dels gasos per a cada temps de conservació per separat. A temps inicial la composició de gasos era la mateixa per a tots els tractaments; per tant, no té sentit realitzar l'anàlisi estadística per a aquest temps.

A la **Figura 20** es pot observar l'evolució del CO<sub>2</sub> a l'interior de l'envàs barrera al llarg del període de conservació a 23 °C. Tots els tractaments van presentar diferències significatives ( $p < 0.05$ ) al llarg del temps. En els tractaments amb Nis i BAL-160 + Nis el seu percentatge s'incrementava durant el període de conservació, especialment rellevant en el primer cas. Per contra, en els tractaments CNT -Lm, CNT +Lm, AL, Nis+AL i BAL-160 + AL el percentatge de CO<sub>2</sub> tendia a disminuir. El tractament només amb BAL-160 pràcticament no mostrava variacions en el percentatge d'aquest gas



**Figura 20.** Evolució del CO<sub>2</sub> a l'interior de l'envàs amb albergínia llescada durant el període de conservació en funció del tractament de bioconservació aplicat. Mitjana ± de (n=3). Lletres minúscules diferents indiquen diferències significatives entre tractaments dins de cada temps de mostreig per  $\alpha= 0.05$

A la **Figura 21** es poden observar els valors d'oxigen a l'interior de l'envàs barrera. Els tractaments on el percentatge tendia a disminuir van ser el CNT -Lm, el CNT +Lm, el Nis el BAL-160, el BAL-160+Nis, aquest darrer arribant a valors pròxims al 0.0% al final de la seva vida útil i finalment el BAL-160+AL que va disminuir a l'inici i després es va mantenir. En canvi, els tractaments on el percentatge d'O<sub>2</sub> tendia a augmentar van ser el d'AL i el Nis+AL que va presentar una tendència menys clara, ja que al principi va disminuir, llavors va augmentar i es va mantenir.

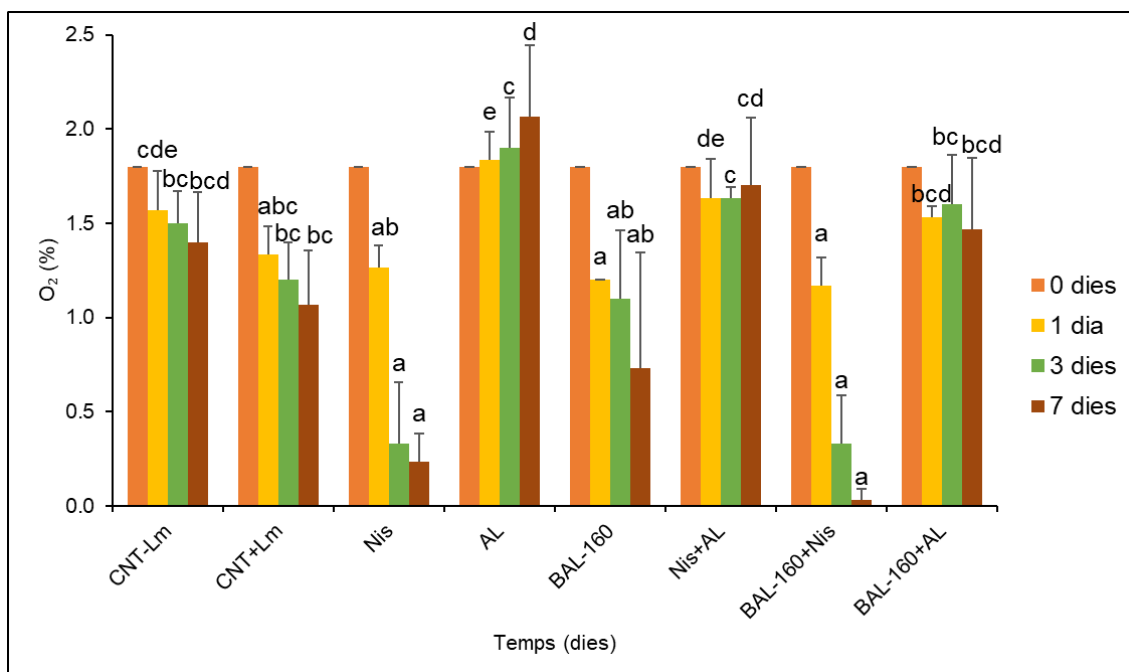


Figura 21. Evolució del O<sub>2</sub> a l'interior de l'envàs amb albergínia llescada durant el període de conservació en funció del tractament de bioconservació aplicat. Mitjana ± de (n=3). Lletres minúscules diferents indiquen diferències significatives entre tractaments dins de cada temps de mostreig per  $\alpha= 0.05$

En general, la nisina i els BAL-160 tenen tendència a incrementar el percentatge de CO<sub>2</sub> i per conseqüència reduir el percentatge d'O<sub>2</sub>. El tractament amb AL, en canvi, mostra la tendència contrària al comportament anterior. Per tant, en els tractaments combinats amb AL, la taxa de respiració és regulada pels dos agents bioconservants.

### 4.3 Aplicació del tractament d'antienfosquiment

Els productes de IV gamma són molt susceptibles a patir enfosquiment enzimàtic durant el tractament tecnològic o el condicionament degut a la formació de melanoïdines, de color bru o fosc, en la reacció d'oxidació enzim-substrat produïda per la PPO (Calvo, 2004). En les fruites i verdures, en malmetre's la pell, rebre un cop o en tallar el teixit vegetal, els substrats de la PPO entren en contacte amb l'O<sub>2</sub> desencadenant-se les reaccions d'enfosquiment enzimàtic. Aquest fenomen també té lloc a mesura que maduren els productes vegetals. És per aquest motiu que es

busquen tractaments complementaris per tal de reduir aquest mecanisme de deteriorament i obtenir un producte comercialment acceptable. NatureSeal® és una empresa dedicada a la venda d'aquests productes inhibidors de l'enfosquiment, entre d'altres, i es va decidir aplicar el producte NS-A5 en l'assaig per comprovar els seus efectes.

Es va seguir el protocol d'higienització amb la posterior aplicació del tractament d'antienfosquiment per tal de comprovar si els seus efectes en el producte eren immediats i es mantenien al llarg del temps. Es va incloure un tractament control (CNT), sense NatureSeal® (NS-A5). Es va determinar l'efecte del tractament amb NS-A5 en l'enfosquiment, mesurant l'evolució del color al llarg del període de conservació i també en els recomptes d'aerobis mesòfils i en els nivells de CO<sub>2</sub> i O<sub>2</sub>

Respecte a l'evolució dels recomptes d'aerobis mesòfils en funció del temps, els resultats es mostren a la **Figura 22**. Tal i com es pot observar, els recomptes microbiològics incrementen durant el temps de conservació, independentment del tractament aplicat. L'augment més important es dona entre temps 0 i 1 dia després de l'inici de l'experiment.

L'anàlisi estadística dels resultats dels recomptes de bacteris aerobis mesòfils va mostrar que no hi havia una interacció significativa ( $p > 0.05$ ) entre els dos factors fixes considerats, tractament i temps, però tots dos comportaven una variació significativa ( $p < 0.05$ ) dels recomptes. Concretament, el tractament NS-A5 presentava uns recomptes de bacteris aerobis mesòfils significativament ( $p < 0.05$ ) més elevats que el CNT (entre 0.5 i 1.0 log ufc/cm<sup>2</sup>). Tanmateix, cal tenir en compte que en aquest cas, el protocol d'higienització no tenia l'efecte esperat ja que es varen assolir recomptes d'entre 10<sup>6</sup> i 10<sup>7</sup> ufc/cm<sup>2</sup> al final de període de conservació en els dos tractaments, molt superiors que els obtinguts en l'apartat 4.1.

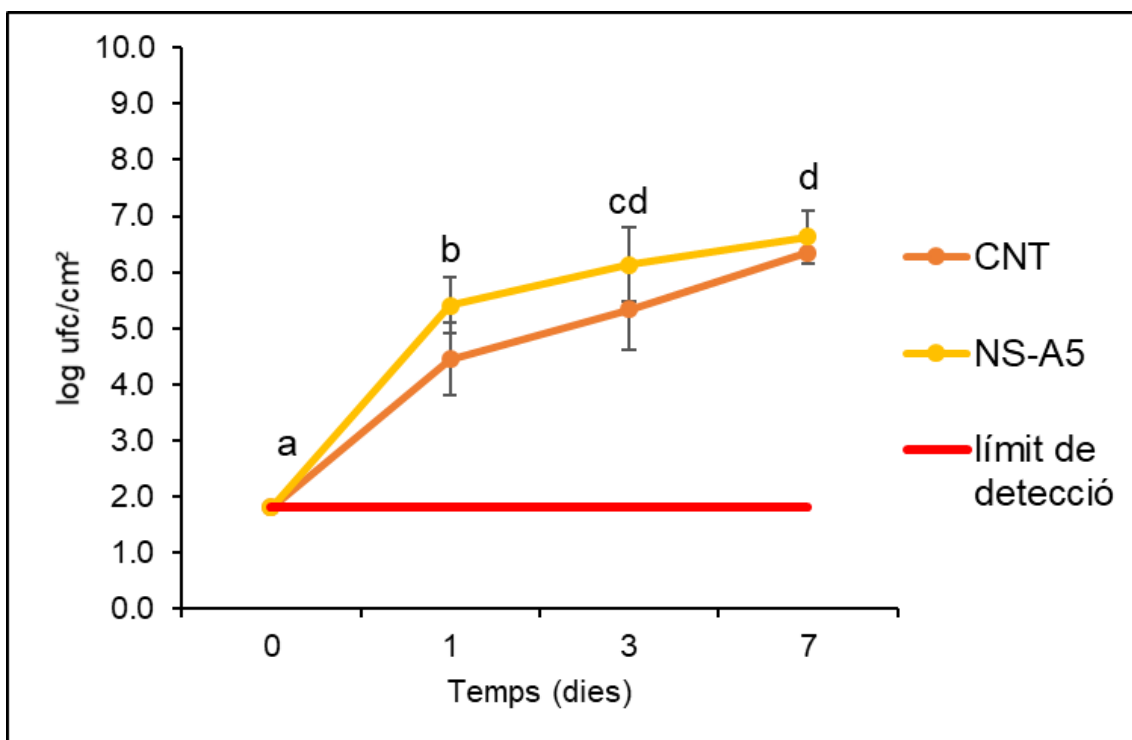


Figura 22. Evolució dels recomptes dels bacteris aerobis mesòfils totals en albergínia llescada sotmesa a tractament d'antienfosquiment al llarg del període de conservació a 23 °C. Mitjana  $\pm$  de (n= 3). Límit de detecció 1.8 log ufc/cm<sup>2</sup>. Lletres minúscules diferents indiquen diferències significatives entre dies diferents per  $\alpha= 0.05$

Com en els experiments anteriors, es va fer el seguiment de la composició de l'atmosfera protectora per assegurar que hi havia presència d'oxigen. Es van determinar els percentatges de CO<sub>2</sub> i d'O<sub>2</sub>. A la **Figura 23** es pot observar l'evolució del diòxid de carboni a l'interior de l'envàs durant tota la vida útil del producte. L'anàlisi estadística dels resultats, considerant els factors tractament i temps, va mostrar que hi havia diferències significatives ( $p<0.05$ ) entre els dos tractaments, amb els valors més baixos donant-se en el tractament amb NS-A5. D'acord amb els resultats estadístics, els continguts es mantenien força constants al llarg del temps.

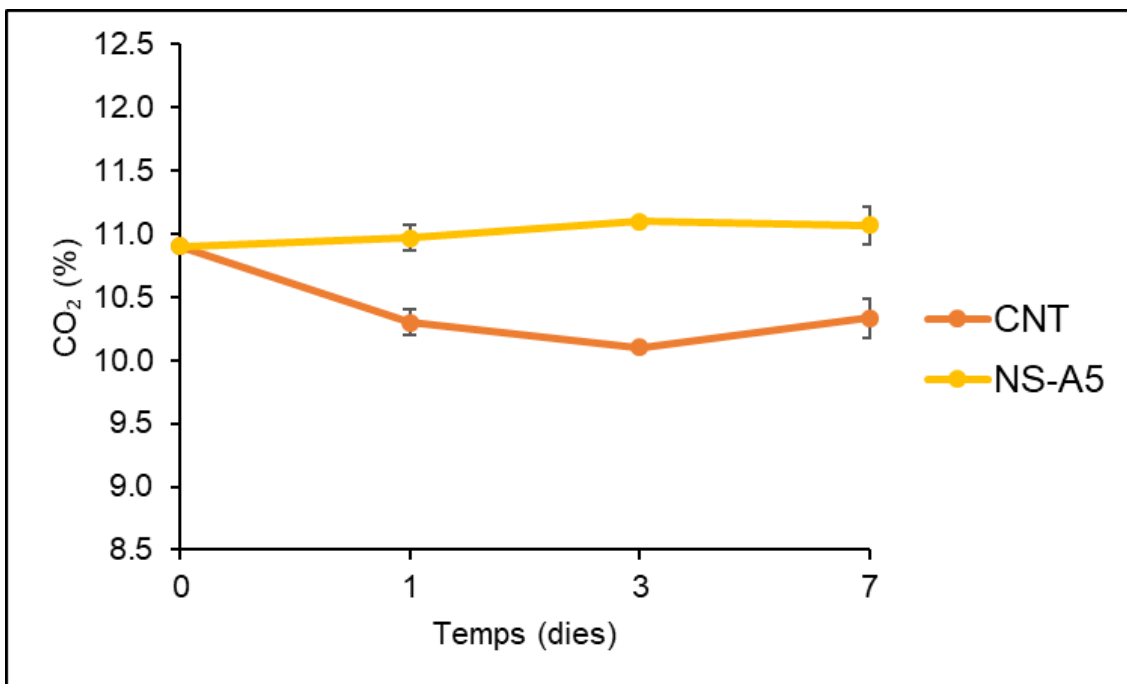


Figura 23. Evolució del percentatge de CO<sub>2</sub> a l'interior de l'envàs amb albergínia llescada durant el període de conservació a 23 °C. Mitjana ± de (n=3)

En canvi, analitzant les dades del percentatge d'O<sub>2</sub>, es va veure que hi havia una interacció significativa ( $p < 0.05$ ) entre tractament i temps, és a dir, l'evolució de la concentració d'oxigen al llarg del període de conservació depenia del tractament aplicat. Per tant, es va fer l'anàlisi de l'evolució al llarg del temps per a cada tractament per separat. El tractament CNT va mostrar una disminució significativa ( $p < 0.05$ ) del contingut d'O<sub>2</sub> durant el període de vida útil. En el cas del tractament amb NS-A5 també es va veure una disminució significativa de la concentració d'O<sub>2</sub>, però molt més marcada que en el cas del tractament CNT, arribant a assolir valors pròxims al 0.0% (**Figura 24**); per això, la interacció entre el tractament i el temps era significativa. Aquesta diferent comportament podria indicar que l'agent antienfosquiment accelera el metabolisme del producte vegetal provocant així un increment en la seva taxa respiratòria.

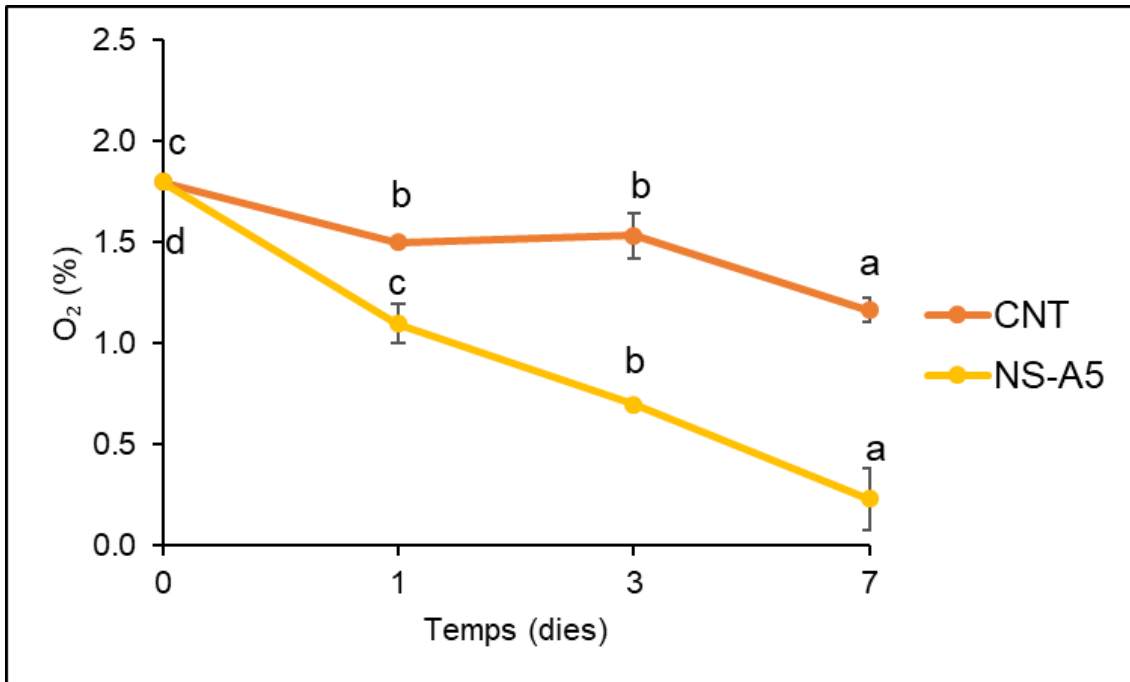


Figura 24. Evolució del percentatge d'O<sub>2</sub> a l'interior de l'envàs amb albergínia llescada durant el període de conservació. Mitjana ± de (n=3). Lletres minúscules diferents indiquen diferències significatives dins de cada tractament per  $\alpha=0.05$

Pel que fa a les concentracions dels gasos, normalment si un percentatge augmenta, l'altre per conseqüència disminueix. Tal i com es pot observar a les **Figures 23 i 24**, aquest fet no és així, en el tractament NS-A5 el diòxid de carboni es manté constant en canvi l'oxigen disminueix a gran velocitat, això pot ser degut a la permeabilitat donada per l'envàs, degut a que és un valor molt baix i no permet la recuperació del gas amb l'oxigen de l'atmosfera.

L'enfosquiment dels productes comporta una pèrdua de qualitat causada, en part, per l'O<sub>2</sub>. Per tal de quantificar l'evolució del color entre els dos tractaments i comprovar si el protocol utilitzat d'aplicació era el correcte, es va procedir a realitzar les mesures del color mitjançant l'espai de color CIELAB. L'anàlisi estadística de les dades de color van mostrar que els paràmetres de lluminositat (L) i la coordenada a\* no variaven significativament ( $p>0.05$ ) ni en funció del tractament ni al llarg del període de conservació. Per contra, els valors de la coordenada b\* eren significativament ( $p<0.05$ ) superiors en el tractament NS-A5 en relació al CNT, tendint a un color més marronós, efecte el qual no s'esperava pel fet que l'aplicació d'aquest producte tenia per objectiu inhibir l'enfosquiment enzimàtic i va realitzar l'efecte contrari.

A la **Taula 15** es pot observar els resultats dels diferents paràmetres de color i la seva desviació estàndard durant el període de vida útil.

**Taula 15. Evolució al llarg del període de conservació a 23 °C de les coordenades del color d'acord amb l'espai CIELAB d'albergínia llescada en funció del tractament aplicat. Lletres minúscules diferents dins una mateixa coordenada indiquen diferències significatives entre tractaments per  $\alpha=0.05$  (n=3)**

Bossa	Temps	L		a*		b*	
		MITJANA	DE	MITJANA	DE	MITJANA	DE
Control	0	84.1	1.4	-1.5	1.2	24.5 a	2.4
	1	81.3	3.3	-0.3	1.7	26.4 a	2.0
	3	81.9	2.6	-0.7	1.3	25.6 a	1.8
	7	81.7	1.6	-1.2	0.3	25.4 a	1.1
NS A5	0	81.9	0.9	-1.0	0.8	26.5 b	0.2
	1	82.2	2.0	-2.0	1.7	28.9 b	1.7
	3	80.6	1.3	-0.7	1.5	29.6 b	2.0
	7	81.9	0.5	-0.7	0.4	28.9 b	2.6

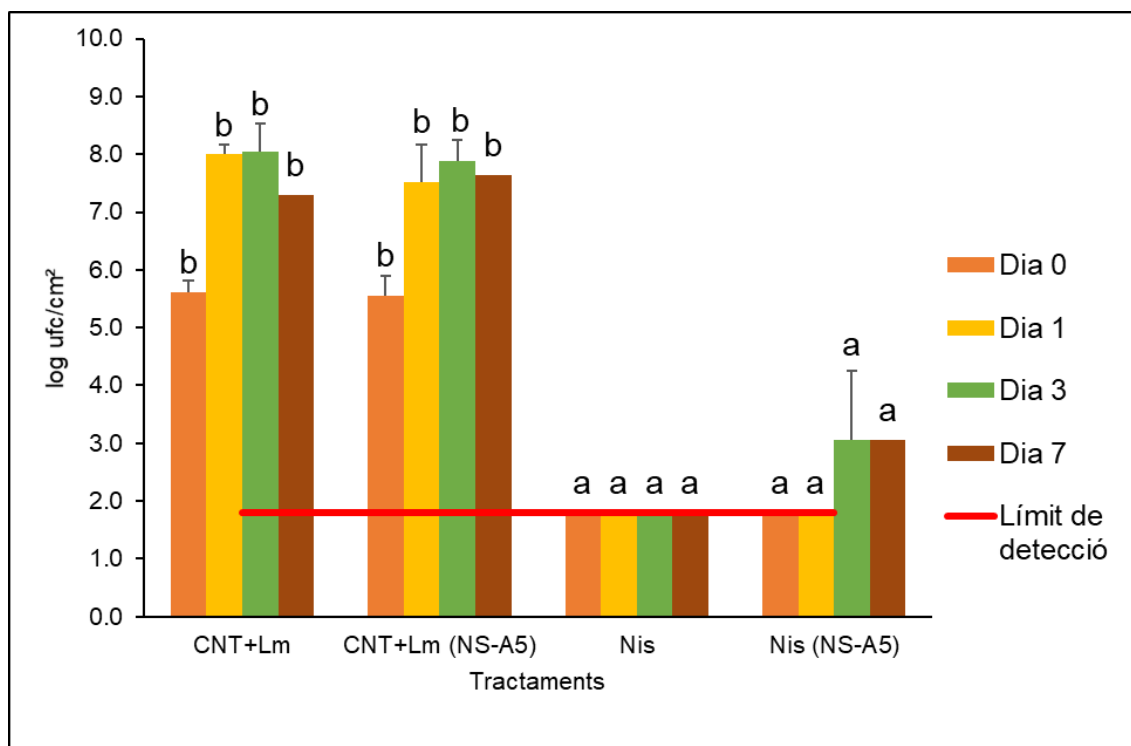
#### 4.4 Combinació de tractaments per a l'obtenció d'albergínia llescada llesta per al seu ús

En la fase final del projecte, es va realitzar un experiment per comprovar els efectes combinats de les diferents estratègies de conservació utilitzades en els assajos anteriors, és a dir, es va assajar els tractaments d'higienització, d'agents bioconservants i d'antienfosquiment alhora. En cada cas es van escollir els tractaments que van resultar més adequats o eficaços. Es va higienitzar l'albergínia amb UV durant 2 min, es va aplicar el producte comercial d'antienfosquiment NatureSeal® A5 (NS-A5) i, per últim, es va tractar l'albergínia llescada amb Nis per controlar el creixement del microorganisme indicador així com també per veure els seus efectes sobre els recomptes de bacteris aerobis mesòfils i de fongs i llevats, i sobre el color del producte final. Com a bioconservant es va escollir la Nis pel fet que té una influència immediata respecte els altres agents sobre el microorganisme indicador inoculat. Igual que en els assajos anteriors, es va fer un seguiment de la composició de l'atmosfera interna.



Per poder saber si el tractament amb NS-A5 interferia amb el tractament amb Nis, el disseny experimental incloïa un control inoculat amb *L. monocytogenes*, un segon control inoculat amb aquest mateix microorganisme indicador però que, a més, era tractat amb l'agent antienfosquiment; un tractament amb Nis; i un tractament amb agent antienfosquiment i nisina (en aquests darrers casos, lògicament, s'havia inoculat el microorganisme indicador). A més, per tal de contrastar els resultats de l'assaig anterior, es van incloure també dos controls no inoculats amb el microorganisme indicador, un tractat amb NS-A5 i l'altre sense tractar.

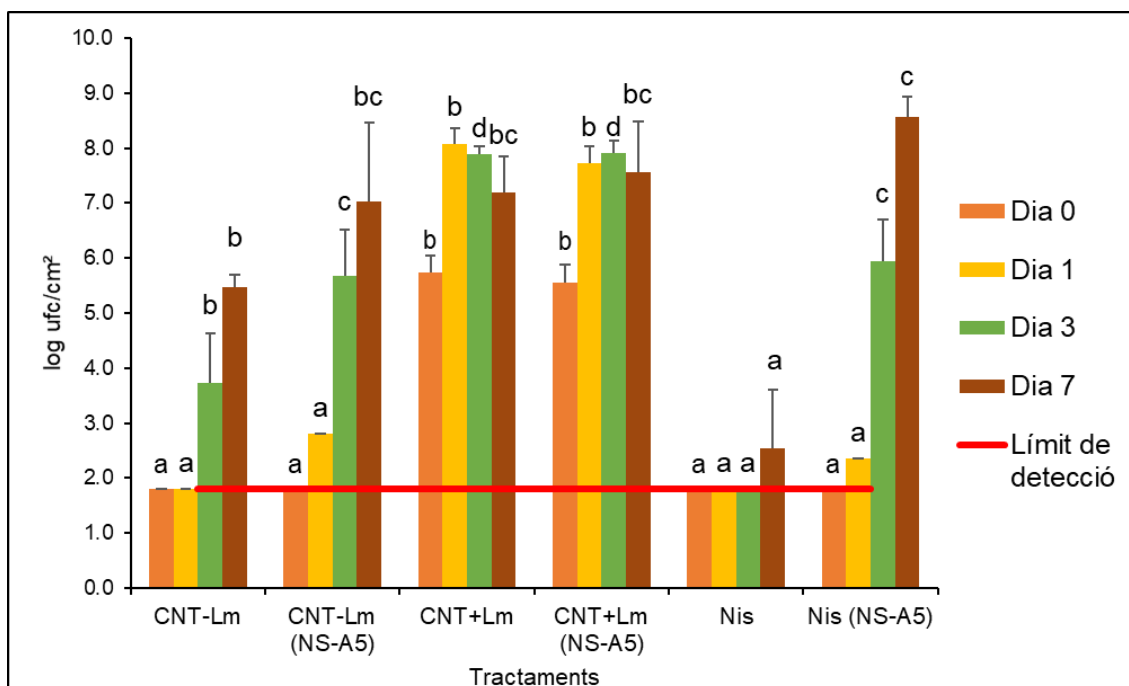
A la **Figura 25** es poden comparar els valors dels recomptes de *L. monocytogenes* obtinguts per als diferents tractaments al llarg del període de conservació a 23 °C. L'anàlisi estadística va mostrar que la interacció entre els dos factors estudiats, tractament i temps, era significativa ( $p < 0.05$ ). Per això es va analitzar l'efecte del tractament a cada temps de mostreig per separat.



**Figura 25.** Efecte dels tractaments amb NS-A5, Nis i/o la seva combinació en els recomptes de *L. monocytogenes* durant el període de conservació d'albergínia llescada mantinguda a 23 °C. Mitjana  $\pm$  de (n=3). Límit de detecció: 1.8 log ufc/cm<sup>2</sup>. Lletres minúscules diferents indiquen diferències significatives entre tractaments dins de cada mostreig per  $\alpha = 0.05$

Els resultats obtinguts indiquen que, en els controls no tractats però inoculats amb *L. monocytogenes*, els recomptes d'aquest microorganisme per a qualsevol moment al llarg del període de conservació van ser sempre significativament ( $p < 0.05$ ) superiors als dels tractaments amb Nis. En el cas dels tractaments controls, l'aplicació de l'agent antienfosquiment NS-A5 pràcticament no comportava cap canvi en relació a la seva absència. D'altra banda, i tal i com era d'esperar, en els tractament amb Nis els recomptes de *L. monocytogenes* es van trobar per sota del límit de detecció al llarg de tot el període de conservació; en presència de l'agent antienfosquiment el comportament era molt similar al d'aquell amb la seva absència tot i que presentava un lleuger increment en els recomptes els dies 3 i 7, que no era significatiu ( $p > 0.05$ ) en cap cas. Tot i això, aquest fet no interessa perquè en el cas d'un patògen com *L. monocytogenes* la seva presència pot comportar riscos elevats per determinats sectors de la població. Per tant, sembla que el tractament amb l'agent antienfosquiment altera molt lleugerament l'efecte de l'agent biconservant.

A la **Figura 26** es poden observar els recomptes de bacteris aerobis mesòfils obtinguts durant el període de conservació del producte. L'anàlisi estadística va mostrar que hi havia una interacció significativa ( $p < 0.05$ ) entre tractament i temps, de manera que es va determinar com variava el comportament dels diferents tractaments per dia de mostreig.



**Figura 26.** Efecte dels tractaments amb NS-A5, nisina i/o la seva combinació en els recomptes d'aerobis mesòfils totals durant el període de conservació d'albergínia llescada mantinguda a 23 °C. Mitjana  $\pm$  de (n=3). Límit de detecció: 1.8 log ufc/cm<sup>2</sup>. Lletres minúscules diferents indiquen diferències significatives entre tractaments dins de cada dia de mostreig per  $\alpha = 0.05$

Tal i com es pot observar, l'evolució dels bacteris aerobis mesòfils totals va presentar moltes diferències al llarg del temps. Els baixos recomptes obtinguts inicialment en el tractament CNT -Lm (dies 0 i 1: per sota del límit de detecció) semblaven indicar que s'havia realitzat una bona higienització. Tanmateix, a diferència del que s'havia obtingut en l'E-1 i més en consonància amb els resultats obtinguts en l'E-2, els recomptes incrementaven significativament ( $p < 0.05$ ) a partir del dia 3, assolint valors significativament més elevats al final del període de conservació (entre  $10^5$  i  $10^6$  ufc/cm<sup>2</sup>). Els resultats d'aquest assaig també estarien d'acord amb els resultats de l'assaig anterior (E-3) en el sentit de que el tractament només amb NS-A5 tendia a comportar un lleuger increment en el recompte de bacteris aerobis mesòfils en relació al control no tractat amb aquest compost, tot i que de manera significativa ( $p > 0.05$ ) en la majoria de temps de mostreig.

En els tractaments CNT +Lm i CNT +Lm (NS-A5) el comportament va ser molt similar, de manera que es pot concloure que l'agent antienfosquiment no afectava el creixement ni del microorganisme indicador (com ja s'havia observat) ni del bacteris contaminants presents. Finalment, el tractament amb Nis va inhibir el creixement

microbiològic, amb recomptes pràcticament sempre per sota del nivell de detecció. L'eficàcia de la nisina enfront els bacteris mesòfils aerobis va ser variable en els diferents experiments realitzats, aquesta diferència es podrien explicar perquè els microorganismes presents en l'albergínia podrien ser diferents. Tanmateix, l'addició de nisina conjuntament amb l'aplicació de l'agent antienfosquiment va comportar un increment significatiu ( $p < 0.05$ ) i molt rellevant dels recomptes bacteris aerobis mesòfils al llarg del període de conservació. En el tractament amb Nis i l'agent antienfosquiment els valors assolits al final de l'assaig eren de l'ordre de  $10^8$  i  $10^9$  ufc/cm<sup>2</sup>, diferint significativament ( $p < 0.05$ ) només del tractament amb Nis i del CNT -Lm.

A la **Figura 27** es mostren els resultats dels recomptes de fongs i llevats durant el període de conservació. L'anàlisi estadística va mostrar que hi havia diferències significatives ( $p < 0.05$ ) entre els factors analitzats de tractament i temps, per això es va procedir a realitzar l'anàlisi de l'efecte dels tractaments per cada valor de temps per separat.

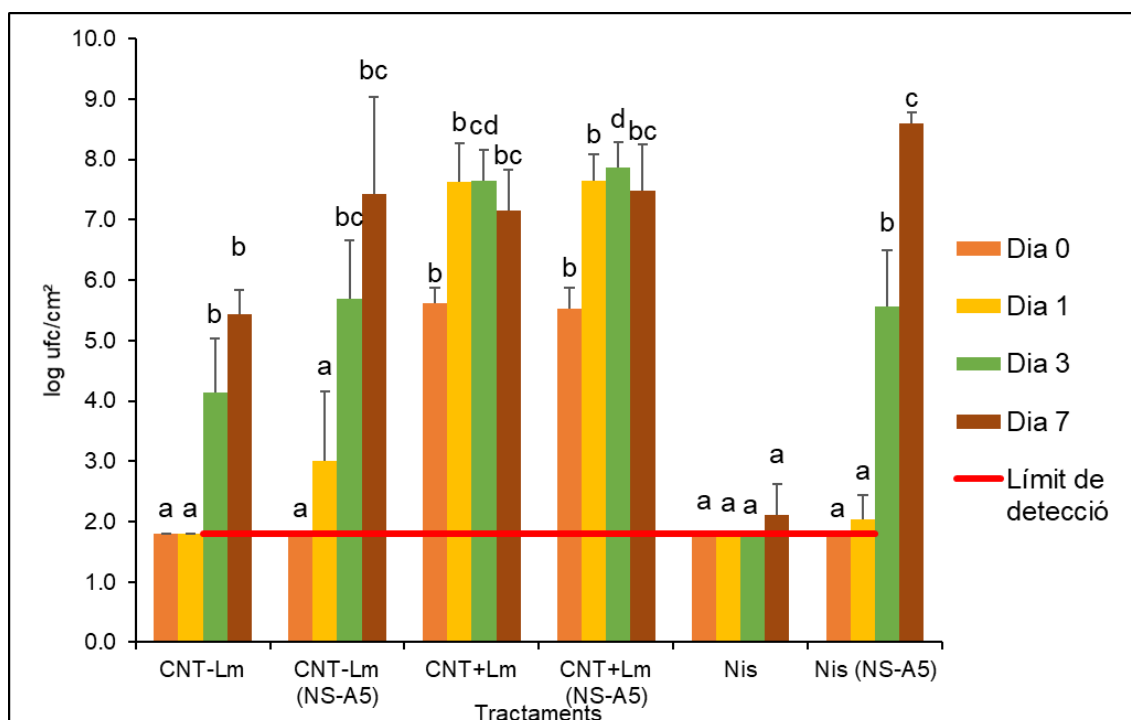


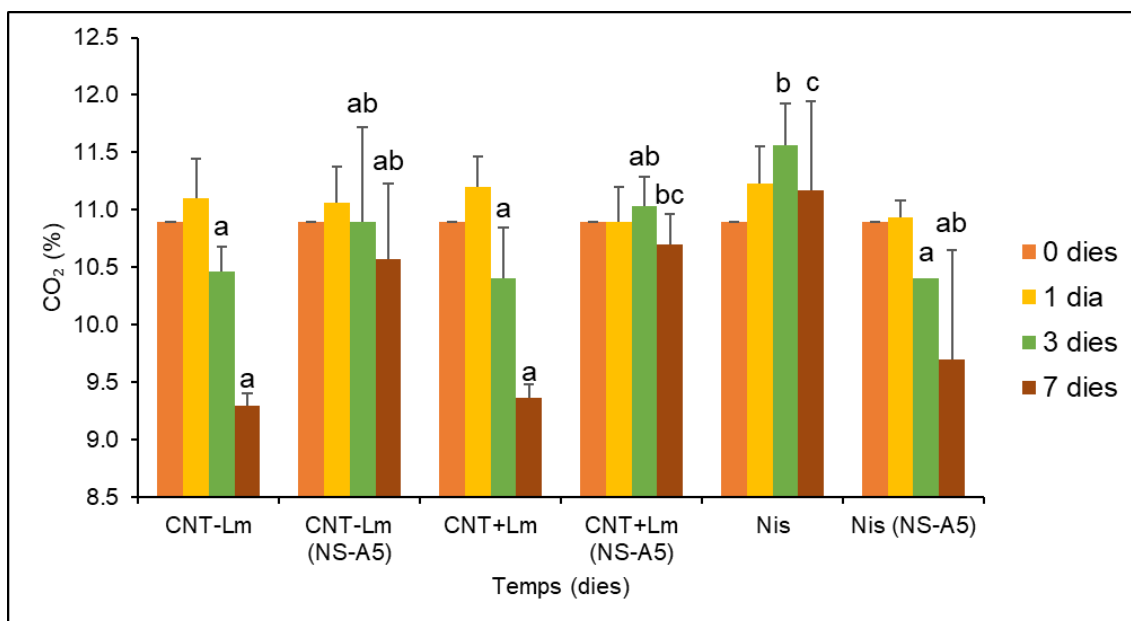
Figura 27. Efecte dels tractaments amb NS-A5, nisina i/o la seva combinació en els recomptes dels fongs totals durant el període de conservació d'albergínia llescada mantinguda a 23 °C. Mitjana  $\pm$  de (n=3). Límit de detecció: 1.8 log ufc/cm<sup>2</sup>. Lletres minúscules diferents indiquen diferències significatives entre tractaments dins de cada dia de mostreig per  $\alpha = 0.05$

Els recomptes mostrats van tenir un comportament similar als representats a la **Figura 26**, corresponents als recomptes de bacteris aerobis mesòfils, de manera similar al que ja s'havia observat en l'experiment anterior (E-3).

De manera global, els resultats obtinguts en aquest experiment permeten concloure que l'aplicació de Nis com a agent de bioconservació és molt eficaç enfront de *L. monocytogenes* així com de la microbiota contaminant present, probablement llevats tot i que s'hauria de comprovar. Tanmateix, en presència de l'agent antienfosquiment no s'inhibeix el creixement d'aquests .

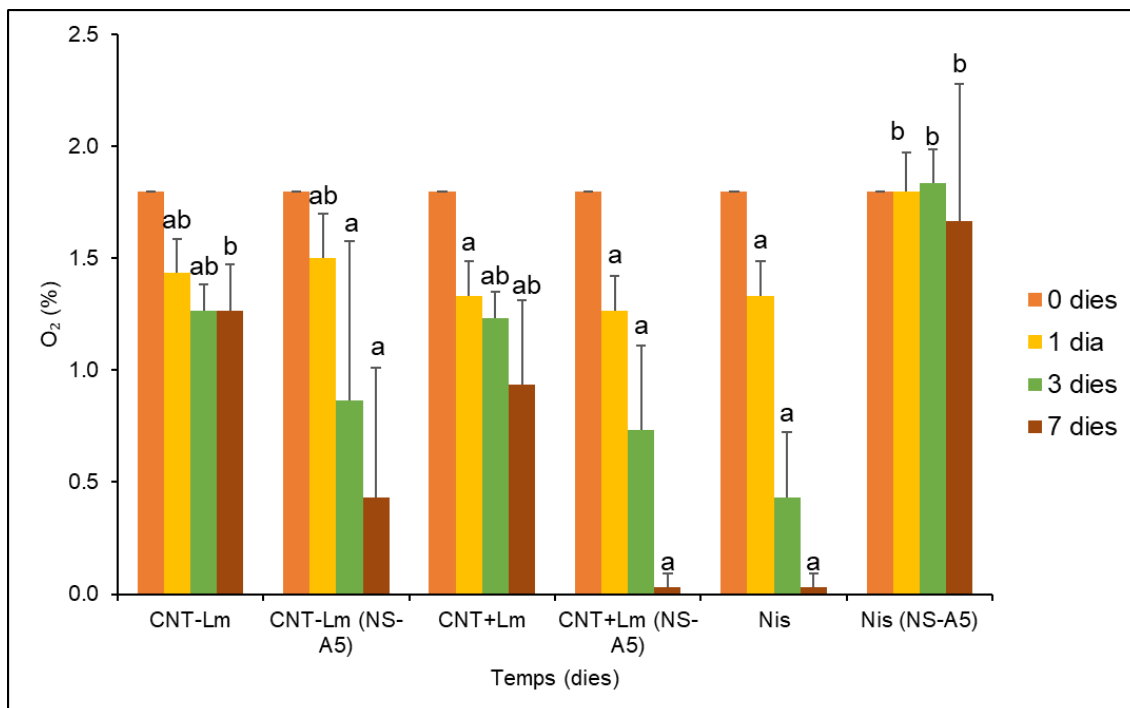
Com en els assaigs anteriors, es va seguir l'evolució de l'atmosfera protectora per comprovar l'efecte del tractament combinat sobre la composició dels gasos. L'anàlisi estadística dels resultats va indicar que tant per a la variable dependent CO<sub>2</sub> com per a la variable dependent O<sub>2</sub> existia una interacció significativa ( $p < 0.05$ ) entre els factors tractament i temps analitzats; per això es va analitzar la influència de cada tractament a cada temps per separat. A temps inicial, es van agafar els mateixos valors, tant per l'O<sub>2</sub> com pel CO<sub>2</sub>, que en els assaigs anteriors.

A la **Figura 28** es mostren els resultats equivalents a la variable CO<sub>2</sub>. Tal i com es pot observar, a temps inicial i a temps dia 1, no es donaven diferències significatives ( $p > 0.05$ ) entre els tractaments aplicats. En canvi, en els temps 3 i 7 dies sí que es van observar diferències significatives ( $p < 0.05$ ) entre els tractaments. En la majoria de tractaments, el percentatge de CO<sub>2</sub> tendia a disminuir al llarg del període de conservació, especialment a partir del dia 3, de manera molt evident en els tractaments CNT -Lm, i CNT +Lm. L'únic que no mostrava aquesta tendència era el tractament amb Nis, en el qual incrementava almenys fins al dia 3. Donat que s'ha observat que la Nis inhibia el creixement dels microorganismes, podria ser que aquest compost provoqués algun canvi fisiològic en l'albergínia que estimulés la respiració. En el tractament Nis (NS-A5) s'observava un comportament més similar al comentat anteriorment. En el cas dels tractaments CNT -Lm (NS-A5) i CNT -Lm (NS-A5), no es donava massa variació al llarg del període de conservació. Seria interessant, en un estudi posterior, aprofundir en el mecanisme d'actuació de l'agent antienfosquiment.



**Figura 28.** Efecte dels tractaments amb NS-A5, nisina /o la seva combinació sobre la variació en el percentatge de CO<sub>2</sub> a l'interior de l'envàs amb albergínia lleescada mantinguda a 23 °C. Mitjana ± de (n=3). Lletres minúscules diferents indiquen diferències significatives entre tractaments dins de cada dia de mostreig per  $\alpha= 0.05$

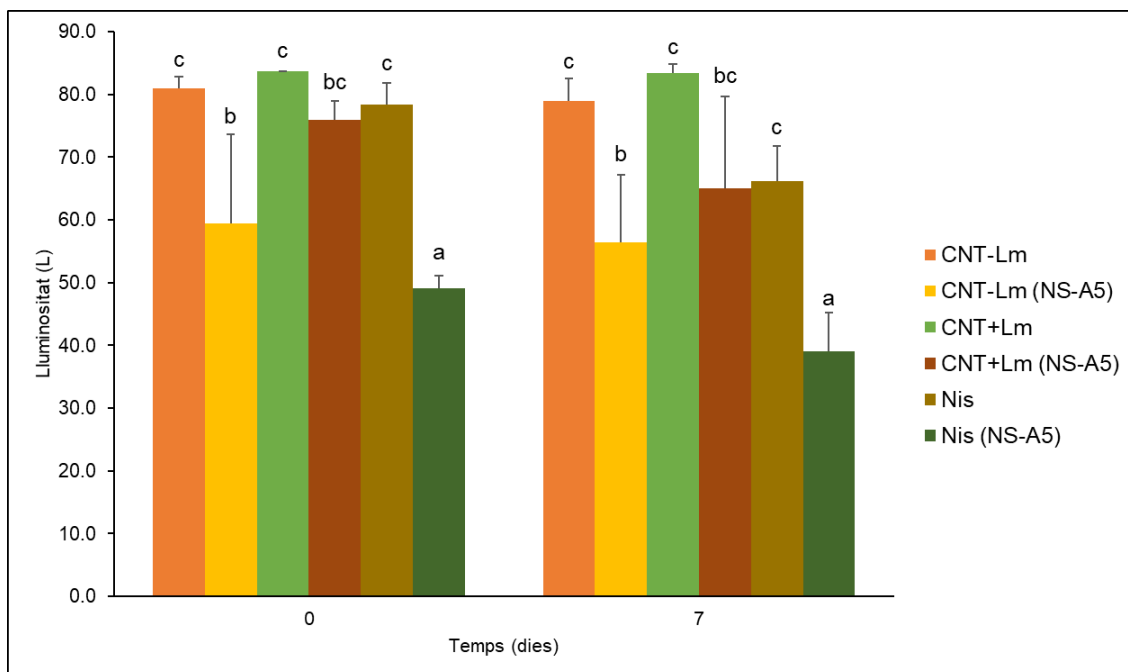
A la **Figura 29** es pot observar els resultats del percentatge d'O<sub>2</sub>. Excepte en el temps inicial, es van mostrar diferències significatives ( $p < 0.05$ ) entre tots els tractaments aplicats al llarg del temps. Ens tots els tractaments es va observar una tendència a disminuir de manera més o menys marcada el percentatge d'O<sub>2</sub>, excepte en el tractament Nis (NS-A5), el qual va mantenir el percentatge d'O<sub>2</sub> pràcticament al mateix nivell que l'inicial. Aquests resultats coincideixen amb els observats prèviament.



**Figura 29.** Efecte dels tractaments amb NS-A5, nisina /o la seva combinació sobre la variació en el percentatge de O<sub>2</sub> a l'interior de l'envàs amb albergínia llescada mantinguda a 23 °C. Mitjana ± de (n=3). Lletres minúscules diferents indiquen diferències significatives entre tractaments dins de cada dia de mostreig per  $\alpha=0.05$

Finalment, per tal de conèixer la influència de l'agent antienfosquiment, es va determinar el color a partir del espai de color CIELAB. L'anàlisi estadística va mostrar que el paràmetre de lluminositat (L) presentava diferències significatives ( $p<0.05$ ) en el factor tractament i les coordenades a\* i b\* van mostrar diferències significatives ( $p<0.05$ ) en la interacció entre els factors tractament i temps; per tant, es va analitzar l'evolució d'aquestes dues darreres coordenades en funció del tractament al llarg del temps. En les **Figures 30, 31 i 32**, es poden observar els resultats obtinguts de cada paràmetre analitzat.

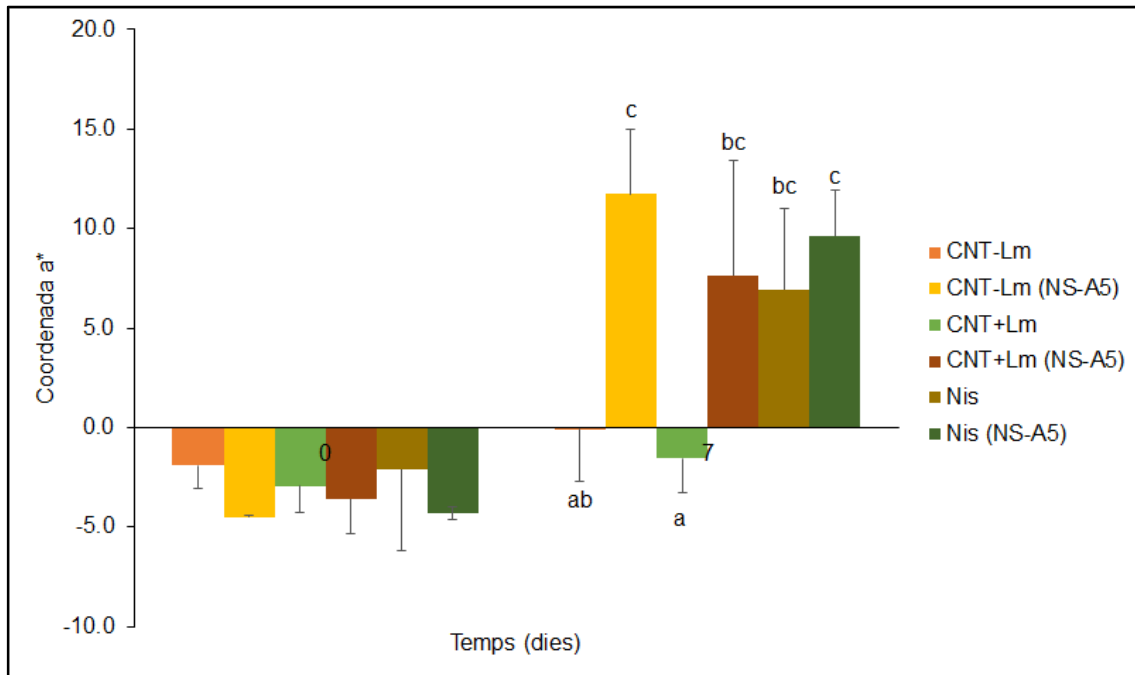
A la **Figura 30** es mostren les dades de lluminositat (L) obtingudes durant el període de conservació de l'albergínia llescada. Tal i com ja s'ha esmentat, es van trobar diferències significatives ( $p<0.05$ ) entre els tractaments aplicats però cap diferència significativa ( $p>0.05$ ) al llarg del període de conservació; és a dir, la lluminositat es va mantenir des de l'inici fins al final, mostrant valors més baixos en els tractaments amb NS-A5; per tant, l'agent antienfosquiment va disminuir el valor de la lluminositat en el producte.



**Figura 30.** Efecte dels tractaments amb NS-A5, nisina /o la seva combinació sobre la lluminositat (L) d'albergínia llescada mantinguda a 23 °C. Mitjana  $\pm$  de (n=3). Lletres minúscules diferents indiquen diferències significatives entre tractaments dins de cada dia de mostreig per  $\alpha= 0.05$

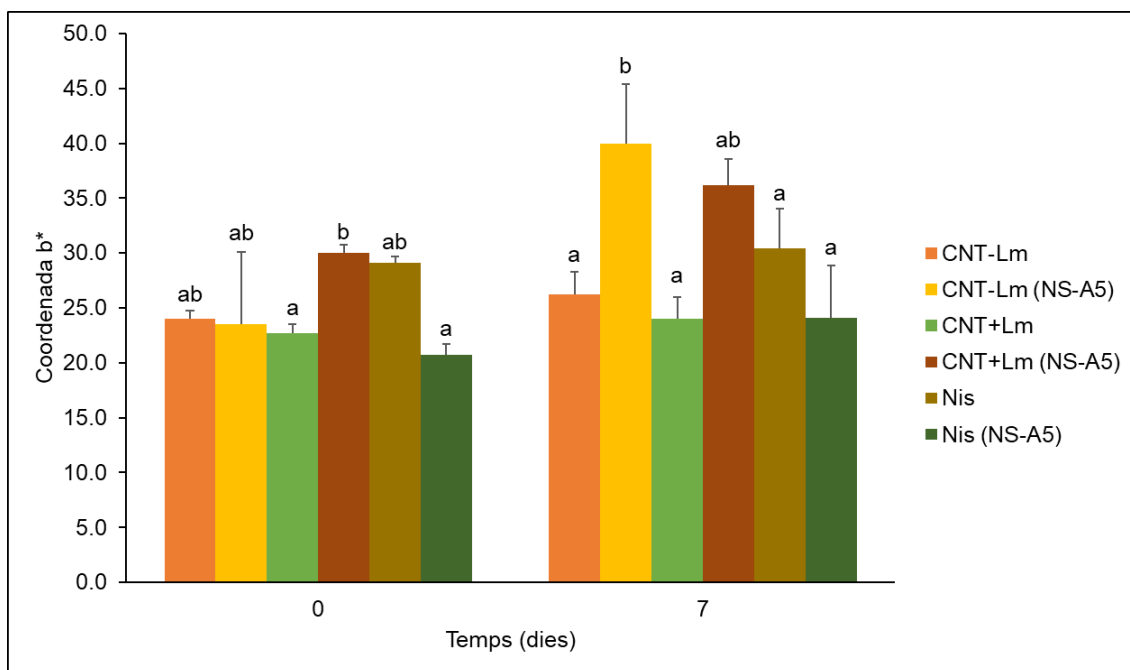
A la **Figura 31** es mostren els valors de la coordenada  $a^*$  obtinguts en el temps inicial i al final del període de conservació del producte de IV gamma. A temps inicial no es van trobar diferències significatives ( $p>0.05$ ) entre els tractaments; per tant es partia d'una tonalitat uniforme, d'acord amb el diagrama representat a la **Figura 9**, presentava un to verd. A temps final si que es van trobar diferències significatives ( $p<0.05$ ) entre els tractaments, mostrant que l'addició tant de NS-A5 com de Nis, fins i tot en combinació, incrementava significativament ( $p<0.05$ ) el valor d'aquesta coordenada. Els tractaments CNT-Lm i els tractaments CNT+Lm van ser els que van mantenir el to verd, en canvi, els altres tractaments van fer el viratge cap al to vermell.





**Figura 31.** Efecte dels tractaments amb NS-A5, nisina /o la seva combinació sobre la coordenada a\* d'albergínia llescada mantinguda a 23 °C. Mitjana ± de (n=3). Lletres minúscules diferents indiquen diferències significatives entre tractaments dins de cada dia de mostreig per  $\alpha= 0.05$

A la **Figura 32** es mostren els resultats de la coordenada b\* obtinguts al llarg de la vida útil. Es van trobar diferències significatives ( $p<0.05$ ) tant a l'inici com al final del període de conservació, amb tendència a augmentar els valors de la coordenada b\* però, en la totalitat dels tractaments la tonalitat predominant va ser el groc. En tots els casos es partia de valors Es pot veure que els tractaments amb NS-A5 van ser el que van incrementar més aquest valor respecte els altres, excepte en el cas del tractament combina Nis (NS-A5) posant una vegada més de manifest la interacció entre aquests dos compostos.



**Figura 32. Efecte dels tractaments amb NS-A5, nisina /o la seva combinació sobre la coordenada b\* d'albergínia llescada mantinguda a 23 °C. Mitjana ± de (n=3). Lletres minúscules diferents indiquen diferències significatives entre tractaments dins de cada dia de mostreig per  $\alpha= 0.05$**

A grans trets, col·locant les dades obtingudes dels diferents paràmetres de color (coordenades a\* i b\*) es pot detectar que el color ha passat d'un verd-groc a un marronós, per tant, es pot assegurar que el tractament antienfosquiment no ha estat efectiu per a cap tractament, al contrari, ha empitjorat aquest enfosquiment ja que el tractament amb NS-A5 ha mostrat valors més pròxims al marró que la resta. A més a més, la combinació amb l'agent bioconservant ha potenciat aquest enfosquiment.

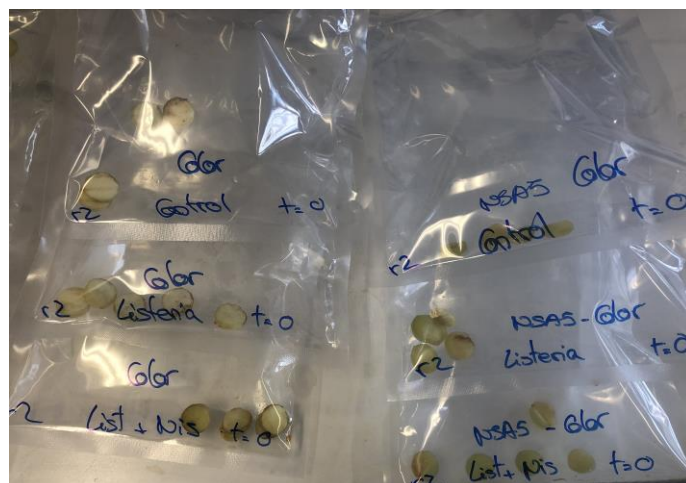


Figura 33. Colors inicials dels discs d'albergínies en els diferents tractaments amb (dreta) i sense (esquerra) agent antienfosquiment, respectivament (CNT-Lm, CNT+Lm i Nis)



Figura 34. Colors finals dels discs d'albergínies en els diferents tractaments amb (dreta) i sense (esquerra) agent antienfosquiment, respectivament (CNT-Lm, CNT+Lm i Nis)

## 5. APLICABILITAT

L'albergínia llescada, com a producte de quarta gamma, pot ésser d'utilitat a nivell del consumidor per tal d'evitar una feina laboriosa per a consumir el producte. És a dir, poder comprar les albergínies netes i tallades que només s'hagin de sotmetre a un tractament tèrmic, facilita la seva preparació i alhora el seu consum.

El present projecte ha volgut demostrar que la utilització dels agents de bioconservació pot ser una eina per afavorir la conservació dels productes de IV gamma pel que fa a la qualitat a nivell microbiològic. Tanmateix, l'albergínia és un producte sensible a patir enfosquiment enzimàtic; per tant, s'ha vist necessari assajar un producte comercial per reduir aquest enfosquiment i poder solucionar aquest efecte comercialment negatiu.

Els assoliments d'aquest projecte poden aportar nova informació pel que fa a la bioconservació dels productes de IV gamma mitjançant els diferents agents bioconservants.

## 6. CONCLUSIONS

Un cop finalitzat el treball es pot concloure que s'han assolit tots els objectius proposats a l'inici. Les conclusions del present treball es detallen a continuació:

1. Tots els protocols d'higienització assajats va permetre obtenir nivells de contaminació microbiana per sota del límit de detecció (1.8 ufc/cm<sup>2</sup>); es va escollir el tractament amb UV durant 2 min per cada cara per la facilitat d'aplicació.
2. Els agents bioconservants nisina, àcid làctic i *Leuconostoc mesenteroides* (BAL-160) van aconseguir inhibir el creixement de *Listeria monocytogenes* en albergínia llescada llesta per al seu ús. Els tractaments de bioconservació més eficaços enfront el microorganisme indicador van la nisina sola i la seva combinació amb qualsevol dels dos altres agents de bioconservació assajats. Per als experiments posteriors es va escollir la nisina sola com a agent de bioconservació per major facilitat d'aplicació.
3. El tractament per inhibir l'activitat de la polifenoloxidassa mitjançant l'agent d'antienfosquiment comercial NatureSeal® A5 (NS-A5) no va ser efectiu ja que no va aportar els valors de color esperats per a la possible comercialització del producte. L'eficàcia del tractament combinat nisina + NS-A5 sobre la contaminació microbiana s'ha mostrat variable en els diferents experiments realitzats, probablement degut a tractar-se de microorganismes diferents.
4. En qualsevol dels experiments es va garantir la presència d'O<sub>2</sub> a l'atmosfera interna fins al final de l'assaig.

## BIBLIOGRAFIA

- Agrovademecum. (sense data). *Agrovademecum*. Recollit de <https://www.agrovademecum.com/berenjena>
- AINIA, R. (2010). *Ainia*. Recollit de Ainia: <https://www.ainia.es/noticias/seguridad-alimentaria/las-10-cosas-que-debes-saber-de-la-iv-gama/>
- Armengol, M. A. (2015). Bacteriosines.
- Benedito Borrás, A. (2012). Las poliamidas en films para envas alimentario. València.
- Beristain-Bauza, S., Palou, E., & López-Malo, A. (2012). Bacteriosinas: antimicrobioanos naturales y su aplicación en los alimentos. Mèxic.
- Bertó Navarro, R. (14 / Febrer / 2017). *Betelgeux*. Recollit de <http://www.betelgeux.es/blog/2017/02/14/539/>
- Calvo, M. (2004). *Bioquímica de los Alimentos*. Recollit de <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/enzimas/tirosinasa.html>
- Cámara Hurtado, M., Sánchez Mata, M. d., & Torija Isasa, M. E. (2008). Frutas y verduras, fuentes de salud. Madrid.
- Canet, J. J. (19 / Gener / 2016). *Betelgeux*. Recollit de <http://www.betelgeux.es/blog/2016/01/19/escherichia-coli-caracteristicas-patogenicidad-y-prevencion-i/>
- Catalá, R. H.-M., López-Carballo, G., & Gavara, R. (2009). Materiales para el envasado de frutas y hortalizas con tratamientos mínimos. La Rioja.
- Choudhary, T. (2 / Maig / 2019). *Stylecraze*. Recollit de <https://www.stylecraze.com/articles/amazing-benefits-of-eggplantbrinjal/#gref>
- Comité de Frutas y Hortalizas preparadas de FEPEX. (2012). Guía. Buenas Prácticas de Producción. Frutas y Hortalizas Preparadas. Espanya.
- Concha Meyer, A. A. (2008). Evaluación de una biopelícula con bacterias ácido lácticas y nisina para la inhibición de *Listeria monocytogenes* en salmón ahumad. Valdivia, Chile.
- Conesa, C. (Gener / 2019). Envases y materiales para envasado en atmósfera modificada. Valencia.
- DARP. (2017). *Generalitat de Catalunya*. Recollit de Departament d'Agricultura, Remadaria, Pesca i Alimentació: <http://agricultura.gencat.cat/ca/departament/estadistiques/agricultura/estadistiques-definitives-conreus/>
- El Español. (17 / Novembre / 2018). *Estos son los alimentos de IV gama: años consumiéndolos y no conoces sus riesgos*. Recollit de [https://www.elespanol.com/ciencia/nutricion/20181117/alimentos-iv-anos-consumiendolos-no-conoces-riesgos/353715269\\_0.html](https://www.elespanol.com/ciencia/nutricion/20181117/alimentos-iv-anos-consumiendolos-no-conoces-riesgos/353715269_0.html)
- FAOSTAT. (2017). *FAO*. Recollit de <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- FEN. (2013). *Fundación Espanyola de Nutrición*. Recollit de <http://www.fen.org.es/mercadoFen/pdfs/berenjena.pdf>
- FEPEX. (2019). *FEPEX*. Recollit de <http://www.fepex.es/datos-del-sector/exportacion-importacion-esp%C3%B1ola-frutas-hortalizas>

- Filiberto, E., Aranda, S., Toledano, M., Morales, J., & Pérez, J. (2016). Eñaboración de Col Fermentada. Palma del Río, Andalucía.
- Garcia, G., & Vázquez, L. (2015). *Guia de pràctiques correctes d'higiene per a vegetals i derivats, frescos, pelats, trossejats o envasats*. Garceloa: Agència de Salut Pública de Catalunya.
- Gisbert, M. (2015). *Ainia*. Recollit de <https://www.ainia.es/tecnolimentalia/tecnologia/estudios-de-vida-util-y-microbiologia-predictiva-pueden-ayudarte-con-las-fechas-de-caducidad/>
- GO GREEN. (15 / Juliol / 2019). *COcopeat*. Recollit de <https://www.cocopeat.lk/plantation/for-vegetable-growers/eggplant/>
- Guerrero Eraso, C. A. (2009). Inhibición de la actividad enzimática de la polifenol oxidasa extraída del banano (cavendish valery) mediante sistemas bifásicos acuosos con isoespintanol y ácido ascórbico. Medellín.
- Herrador, Z., Gherasim, A., López-Vélez, R., & Benito, A. (2019). *Listeriosis in Spain based on hospitalisation records, 1997 to 2015: need for greater awareness*. Euro Surveill.
- Institute, D. T. (2008). Guide. Packaging Fresh Fruit and Vegetables. Dinamarca.
- IRTA. (2013). Innovació tecnològica al sector de productes alimentaris locals i de qualitat. Monells.
- Juneja, V. K., Dwivedi, H. P., & Yan, X. (2012). Novel Natural Food. Estats Units.
- Karpinski, T., & Szkaradkiewicz, A. (9 / Agost / 2013). *Characteristic of Bacteriocines and their Application*. Recollit de [https://www.researchgate.net/publication/259914092\\_Characteristic\\_of\\_Bacteriocines\\_and\\_their\\_Application](https://www.researchgate.net/publication/259914092_Characteristic_of_Bacteriocines_and_their_Application)
- Keepcool. (2016). *Keepcool*. Recollit de <https://keep-cool.es/bioconservacion-que-es-y-en-que-consiste/>
- Konica Minolta. (2018). *Konica Minolta Sensing Americas*. Recollit de <http://sensing.konicaminolta.com.mx/2014/09/entendiendo-el-espacio-de-color-cie-lab/>
- KYPRIANOU, M. (15 / Novembre / 2005). *Comisión Europea*. Recollit de <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32005R2073&from=ES>
- Lavilla, M. (11 / Setembre / 2018). *Azti tecnalia*. Recollit de <https://www.azti.es/challenge-tests-para-garantizar-la-seguridad-microbiologica-en-el-desarrollo-de-productos/>
- Lobo, M. G., & González, M. (2006). Estado actual de los productos mínimamente procesados en España. Tenerife.
- Mangione, J. L., & Sánchez, G. (2004). *Interempresas*. Recollit de <http://www.interempresas.net/Horticola/Articulos/75506-Cultivo-y-manejo-poscosecha-de-berenjena.html>
- MAPA. (2017). *Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación*. Recollit de <https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/agricultura/superficies-producciones-anuales-cultivos/>
- Martín, F. (11 / Maig / 2016). *Restauración Colectiva*. Recollit de <https://www.restauracioncolectiva.com/n/responsabilidad-de-las-enzimas-en-el-pardeamiento-de-frutas-y-verduras-y-ii>
- MERCASA. (2018). *Alimentación en España 2018*. Madrid: Editorial MIC.

- Mollejo, V. (2018). *Alimente*. Recollit de [https://www.alimente.elconfidencial.com/gastronomia-y-cocina/2018-10-01/frutas-verduras-climatericas\\_1621330/](https://www.alimente.elconfidencial.com/gastronomia-y-cocina/2018-10-01/frutas-verduras-climatericas_1621330/)
- Oms, G. (2007). Alternativas de envasado de pera y melón frescos cortados en atmósfera modificada. Lleida.
- Organització de les Nacions Unides per a l'Agricultura i l'Alimentació. (2019). *FAOSTAT*. Recollit de <http://www.fao.org/faostat>
- Pal Singh, V. (2018). Recent approaches in food bio-preservation - a review. India.
- Parzanese, M. (Octubre / 2012). Vegetales mínimamente procesados. Buenos Aires, Argentina.
- Pinto Mosquera, N., de la Vega, J. C., & Cañarejo, M. (5 / Agost / 2016). Utilización del método de conservación bajo atmósferas controladas en frutas y hortalizas. Ecuador.
- Plaza, L. (2015). Aspectos generales del procesado de frutas y hortalizas de IV Gama (IRTA). Montblanc.
- Rulis Ph.D., A. M. (2001). *Food and Drug Administration*. Recollit de <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=65>
- Sibel, R. (2003). *Natural Antimicrobials for the Minimal Processing of Foods*. Cambridge i Boca Raton: Woodhead Publishing Limited i CRC Press LLC.
- United States Department of Agriculture. (Abril / 2018). National Nutrient Database for Standard Reference Legacy Release (USDA). Washinton, Estats Units.
- Wittgas. (2019). *Analizador OXYBABY - Wittgas*. Recollit de <http://www.wittgas.com>
- Zumágarra, M., & Barbero, F. (2013). *Pediococcus* como bacteria alterante del vino. Guserbiot.