

# EFFECTO DE ANTIOXIDANTES Y pH EN LA CALIDAD Y ACTIVIDAD DE LA POLIFENOL OXIDASA DE BERENJENA (*Solanum melongena* L.) MÍNIMAMENTE PROCESADA

## EFFECT OF ANTIOXIDANTS AND pH ON THE QUALITY AND POLYPHENOL OXIDASE ACTIVITY OF MINIMALLY PROCESSED EGGPLANT (*Solanum melongena* L.)

Diana P. Uscanga-Sosa<sup>1</sup>, María B. Pérez-Gago<sup>2</sup>, Aleida S. Hernández-Cázares<sup>1</sup>, José A. Herrera-Corredor<sup>1</sup>, Fernando C. Gómez-Merino<sup>1</sup>, Adriana Contreras-Oliva<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Campus Córdoba. Colegio de Postgraduados. 94946. Veracruz, México. <sup>2</sup>Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Centro de Tecnología Poscosecha, Moncada, Valencia, España. 46113. (adricon@colpos.mx.)

### RESUMEN

Los vegetales mínimamente procesados permiten reducir el tiempo de elaboración de los alimentos, facilitan su consumo y la adición de antioxidantes alarga su vida útil. Antioxidantes, como el ácido ascórbico (AA) y ascorbato de calcio (AsCa), permiten controlar el pardeamiento enzimático y la pérdida de firmeza de segmentos de frutos frescos de berenjena (*Solanum melongena* L.), mediante el control dependiente del pH. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de AA y AsCa en el color, firmeza, actividad de polifenol oxidasa (PFO) y calidad visual de frutos de berenjena mínimamente procesados y almacenados a 5 °C por 6 d. El diseño experimental fue factorial multinivel, con 17 tratamientos y tres repeticiones, donde n=12 cubos de berenjena por repetición. Los cubos se sumergieron en soluciones 1 % AA (p:v), 1 % AsCa (p:v) y 2 % AsCa (p:v) acuosas y amortiguadoras de pH (3 a 4, 4 a 5 y 7 a 8). Los testigos se sumergieron en agua o en soluciones amortiguadoras, sin antioxidantes, para cada intervalo de pH. El pH y los antioxidantes no tuvieron efecto en la firmeza. Después de 3 d de almacenamiento, el pH ácido y los antioxidantes disminuyeron la actividad PFO, pero a los 6 d no se observaron diferencias significativas. Las soluciones de AsCa con pH 4 a 5 y 7 a 8 y de AA con pH 7 a 8 controlaron efectivamente del pardeamiento enzimático a los 6 d de almacenamiento. El control de pardeamiento y calidad comercial de frutos de berenjena mínimamente procesada puede optimizarse si el pH se mantiene cercanamente neutro.

### ABSTRACT

Minimally processed vegetables make cooking faster and facilitate their consumption, while the addition of antioxidants extends their shelf life. Antioxidants, such as ascorbic acid (AA) and calcium ascorbate (AsCa), can control enzymatic browning and loss of firmness of fresh-cut eggplants (*Solanum melongena* L.) by pH-dependent control. The objective of this study was to evaluate the effect of AA and AsCa on color, firmness, activity of the enzyme polyphenol oxidase (PFO) and visual quality of minimally processed eggplant stored for 6 d at 5 °C. The experimental design was a multilevel factorial with 17 treatments and three replications, where n=12 cubes of eggplant were used per replication. The cubes were submerged in aqueous solutions of 1 % AA (w:v), 1 % AsCa (w:v) and 2 % AsCa (w:v) and pH (3 to 4, 4 to 5 and 7 to 8) buffers. Controls for each pH interval were submerged in water or buffer solutions without antioxidants. pH and antioxidants did not affect firmness. After 3 d of storage, acid pH and antioxidants decreased PFO activity, but on day 6 no significant differences were observed. The solutions of AsCa with pH 4 to 5 and 7 to 8 and of AA with pH 7 to 8 effectively controlled enzymatic browning for 6 d of storage. Control of browning and commercial quality of minimally processed eggplant fruits can be optimized if the pH is maintained close to neutral.

**Key words:** fresh-cut vegetable, IV gama, enzymatic browning, firmness, color.

\* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: julio, 2017. Aprobado: enero, 2018.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 53: 175-189. 2019.

**Palabras clave:** segmentos de vegetal fresco, IV gama, pardeamiento enzimático, firmeza, color.

## INTRODUCCIÓN

El interés de los consumidores por alimentos con preparación fácil y nutritivos, que prevengan enfermedades crónicas, como cáncer, y afecciones cardiovasculares, ha propiciado el desarrollo de productos vegetales mínimamente procesados, denominados también IV gama (Qadri *et al.*, 2015). Estos productos se obtienen mediante operaciones como lavado, desinfección, mondado, troceado y envasado, con lo cual la calidad nutricional y organoléptica es similar a la del producto recién cosechado (Alandes *et al.*, 2011). Sin embargo, las operaciones para la preparación de estos productos producen daños que reducen su periodo de vida útil respecto a los productos frescos. El daño mecánico producido por el mondado y cortado incrementa la respiración de los tejidos que acelera la senescencia, favorece pérdida de peso y firmeza, pardeamiento enzimático y crecimiento microbiano, entre otros efectos (Ghidelli y Pérez-Gago, 2016). El principal desafío para la comercialización de los productos vegetales mínimamente procesados es prolongar su vida útil y conservar su calidad comercial; por lo cual, el desarrollo y aplicación de tecnologías con base en el comportamiento fisiológico del producto es esencial (Pinheiro y Almeida, 2008).

El fruto de la berenjena (*Solanum melongena* L.) lo aprecian los consumidores por su contenido de compuestos fenólicos, que le confieren capacidad antioxidante (Cao *et al.*, 1996). La comercialización de segmentos de esta hortaliza fresca es limitada, porque la pulpa es susceptible al pardeamiento enzimático acelerado por la oxidación de los compuestos fenólicos a *o*-quinonas, que se condensan y forman pigmentos oscuros. Esta reacción la cataliza la polifenol oxidasa (PFO, EC 1.14.18.1) cuando está en contacto con el sustrato durante el corte tisular (Barbagallo *et al.*, 2009; Mishra *et al.*, 2012). Otro factor limitante en la comercialización de berenjena es el ablandamiento del tejido tras el procesado por pérdida de humedad y cambios en la estructura y composición de las paredes celulares, mediada por la acción de enzimas como pectín metilesterasa (PME, EC 3.1.1.11) y la poligalacturonasa (PG, EC 3.2.1.15) (Barbagallo *et al.*, 2012).

## INTRODUCTION

Consumer interest in ready-to-eat nutritious food that can help prevent chronic diseases, such as cancer and cardiovascular disorders, has encouraged the development of minimally processed vegetable products, also known as IV gama (Qadri *et al.*, 2015). These products are obtained by operations such as washing, disinfecting, peeling, cutting and packaging, and their nutritional and organoleptic quality is similar to those of recently harvested produce (Alandes *et al.*, 2011). However, the operations for preparing these products cause damage that reduces their shelf life as compared with fresh produce. Mechanical damage produced by peeling and cutting increases tissue respiration that accelerates senescence and favors loss of weight and firmness, enzymatic browning, and microbial growth, among other effects (Ghidelli and Pérez-Gago, 2016). The main challenge for commercialization of minimally processed vegetables is extending their shelf life and preserving their commercial quality. For this reason, developing and applying technologies based on the product's physiological behavior is essential (Pinheiro and Almeida, 2008).

Eggplant (*Solanum melongena* L.) is appreciated by consumers for its high content of phenolic compounds and antioxidant capacity (Cao *et al.*, 1996). Commercialization of slices of this fresh vegetable is limited because the pulp is susceptible to accelerated enzymatic browning by oxidation of its phenolic compounds to *o*-quinones, which condense and form dark pigments. This reaction is catalyzed by the enzyme polyphenol oxidase (PFO, EC 1.14.18.1) when it is in contact with the substrate during tissue cutting (Barbagallo *et al.*, 2009; Mishra *et al.*, 2012). Another factor limiting commercialization of fresh-cut eggplant is tissue softening after processing because of moisture loss and changes in the structure and composition of cell walls, mediated by the action of enzymes such as pectin methylesterase (PME, EC 3.1.1.11) and polygalacturonase (PG, EC 3.2.1.15) (Barbagallo *et al.*, 2012).

Enzymatic browning of fruit and vegetable slices is controlled by acidulants (e.g. citric acid, ascorbic acid (AA) and peracetic acid), *o*-quinone reducing agents (e.g. AA and its derivatives, cysteine), chelating agents and complexing agents (e.g. EDTA and

El control del pardeamiento enzimático de segmentos de frutas y verduras se realiza mediante acidulantes (e.g. ácido cítrico, ascórbico (AA) y peracético), agentes reductores de las *o*-quinonas (e.g. AA y sus derivados, cisteína), agentes quelantes y complejantes (e.g. EDTA y ciclodextrina) y otros inhibidores específicos de la PFO (e.g. 4-hexilresorcinol) (García y Barrett, 2002). La efectividad de esos compuestos depende del producto y cultivar al que se aplica, la concentración, la sinergia con otros antioxidantes y el pH, entre otros. El AA se ha usado en el control del pardeamiento en extractos y precipitados de alcachofa (*Cynara scolymus* L.) y berenjena, pero no tiene efecto en segmentos de productos (Ghidelli *et al.*, 2013; Ghidelli *et al.*, 2014a). El AA también estimula el pardeamiento de tejidos, lo cual se atribuyó a un posible aumento en la actividad metabólica o la inducción de daño oxidativo. En segmentos de pera (*Pyrus communis* L.) Gomes *et al.* (2012) y Gomes *et al.* (2014) demostraron la importancia del pH en la acción inhibidora de agentes antipardeantes, como AA, cisteína, 4-hexilresorcinol y sales cálcicas, e indicaron que el pH de las diluciones debería ajustarse a 6, o superior, para reducir el pardeamiento de los segmentos.

Mediante la aplicación de agentes texturizantes, principalmente sales de calcio, se controla la pérdida de firmeza en segmentos de productos frescos. Los polímeros pécticos de la pared celular crean una red con los iones de calcio, lo cual fortalece el tejido y aumenta la resistencia a la actividad de la PG (Poovaiah, 1986; Mignani *et al.*, 1995; Alandes *et al.*, 2011). Entre las sales de calcio, el ascorbato de calcio (AsCa) es probablemente una de las más utilizada en producto vegetal fresco segmentado, por su efecto como antioxidante y texturizante. Barbagallo *et al.* (2012) registraron que la inmersión de frutos de berenjena mínimamente procesados en una solución de AsCa a 60 °C conservaron la textura, el color y su calidad intacta hasta el cuarto día de almacenamiento y con calidad aceptable hasta el séptimo día (Barbagallo *et al.*, 2012). Como en el caso de los agentes antipardeantes, la firmeza de los segmentos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) está íntimamente relacionado con el pH de las soluciones, ya que el pH de 4.5 redujo la firmeza de discos de pericarpio de tomate maduro, independiente de la aplicación de AsCa, lo cual se relacionó con la actividad de PG y la

ciclodextrin), and other specific PFO inhibitors (e.g. 4-hexylresorcinol) (García and Barrett, 2002). The effectiveness of these compounds depends on the produce and cultivar to which it is applied, its concentration, its synergy with other antioxidants, and the pH, among others. AA is used to control browning in extracts and precipitates of artichokes (*Cynara scolymus* L.) and eggplant, but it has no effect on sliced produce (Ghidelli *et al.*, 2013; Ghidelli *et al.*, 2014a). AA also stimulates tissue browning, which is attributed to a possible increase in metabolic activity or induction of oxidative damage. In slices of pear (*Pyrus communis* L.), Gomes *et al.* (2012) and Gomes *et al.* (2014) demonstrated the importance of pH in the anti-browning activity of agents, such as AA, cysteine, 4-hexylresorcinol and calcium salts, and indicated that pH of the solutions should be adjusted to 6 or higher to reduce browning.

Applying texturizing agents, mainly calcium salts, can control loss of firmness in fresh-cut produce. The pectic polymers of the cell wall create a network with calcium ions that fortifies the tissues and increases resistance to PG activity (Poovaiah, 1986; Mignani *et al.*, 1995; Alandes *et al.*, 2011). Of the calcium salts, calcium ascorbate (AsCa) is probably one of the most used on fresh-cut produce because of its effect as an antioxidant and texturizer. Barbagallo *et al.* (2012) reported that immersion of minimally processed eggplant fruits in a solution of AsCa at 60 °C preserved the texture, color and maintained the fresh quality up to four days of storage and reached the limit of commercialization on day seven (Barbagallo *et al.*, 2012). As in the case of anti-browning agents, firmness of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) slices was closely related to the pH of the applied solutions; a pH of 4.5 reduced firmness of pericarp discs from ripe tomato, regardless of the application of AsCa. This was related to PG activity and the depolymerization of pectin from the cell wall (Almeida and Huber, 2007; Pinheiro and Almeida, 2008).

Therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of pH on color, firmness, PFO activity and visual quality in fresh-cut eggplant treated with AA and AsCa as antioxidant agents. The hypothesis was that these compounds applied at a suitable pH could favor the conservation and quality of minimally processed eggplant fruits.

disolución y despolimerización de pectina de la pared celular (Almeida y Huber, 2007; Pinheiro y Almeida, 2008).

Con base en lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del pH en el color, la firmeza, la actividad de PFO y la calidad visual en segmentos de berenjena fresca y tratada con AA y AsCa como agentes antioxidantes. La hipótesis fue que estos compuestos, con cierto pH, favorecen la conservación y calidad de berenjena mínimamente.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Tratamientos antioxidantes a distintos pH

El efecto del pH en la calidad de segmentos de berenjena fresca se evaluó con AA 1 % (p/v) y AsCa 1 y 2 % (p/v) (Sigma Aldrich. Steinheim, Alemania) en solución acuosa y soluciones amortiguadoras de fosfato-citrato y Tris-HCl para alcanzar pH finales en los intervalos de 3 a 4, 4 a 5 y 7 a 8. El amortiguador Tris-HCl se utilizó con 1 y 2 % de AsCa y pH 7. El amortiguador Tris-HCl 0.1 M se preparó con tris (hidroximetil)-aminometano (Sigma. St. Louis, MO, USA) a pH 7 con ácido clorhídrico (HCl) concentrado (Scharlau. Sentmenat, España) y HCl 1.0 M. Los otros pH (3 a 4, 4 a 5 y 7 a 8) se consiguieron con solución amortiguadora de fosfato-citrato a partir de soluciones de fosfato de sodio dibásico 0.2 M (Sigma Aldrich. Steinheim, Alemania) y ácido cítrico 0.1 M (Panreac. Barcelona, España). Para ello, el volumen de cada solución se calculó para obtener el pH deseado, entre 3 y 8 (Cuadro 1).

### Material biológico y procesamiento

Los frutos se recolectaron en madurez hortícola en la zona productora de Almería, España, se transportaron en refrigeración al laboratorio del IVIA (Valencia, España) y se procesaron el mismo día. Los frutos se lavaron, desinfectaron con NaClO (150 mg kg<sup>-1</sup>), por 60 s, y secaron sobre papel absorbente a 10 °C. Después de eliminar los extremos de los frutos se seccionaron en cubos de 2 cm, por lado, con un cuchillo. Los cubos de cada berenjena, de todos los tratamientos, se distribuyeron en mallas (un fruto por tratamiento), para asegurar aleatoriedad y reducir el efecto de la variabilidad biológica entre frutos. Los trozos de berenjena se sumergieron en las soluciones acuosas por 2 min, se escurrieron y secaron por 30 min. Doce cubos se envasaron en charolas de polipropileno (17.4×12.9×3.6 cm, 470 mL, Ilpra Systems, Barcelona, España) con película con permeabilidad alta (64 mm de espesor, P12-2050PXNP; Ilpra Systems). La película se perforó con una aguja para evitar que la atmósfera en el envase

## MATERIALS AND METHODS

### Antioxidant treatments at different pH

The effect of pH on quality of fresh-cut eggplant was evaluated with 1 % AA (w/v) and 1 and 2 % AsCa (w/v) (Sigma Aldrich. Steinheim, Germany) in aqueous solution and in buffer solutions of phosphate-citrate and Tris-HCl to reach final pH values in the intervals of 3 to 4, 4 to 5 and 7 to 8. Tris-HCl buffer was used with 1 and 2 % AsCa and pH 7. The buffer Tris-HCl 0.1 M was prepared with tris (hydroxymethyl)-aminomethane (Sigma. St. Louis, MO, USA) at pH 7 with concentrated hydrochloric acid (HCl) (Scharlau. Sentmenat, Spain) and 1.0 M HCl. The other pH (3 to 4, 4 to 5 and 7 to 8) were obtained with a phosphate-citrate buffer solution from 0.2 M dibasic sodium phosphate solutions (Sigma Aldrich. Steinheim, Germany) and 0.1 M citric acid (Panreac. Barcelona, Spain). The volume of each solution was calculated to obtain the desired pH between 3 and 8 (Table 1).

**Cuadro 1. Valores de pH de soluciones acuosas y amortiguadoras, con y sin antioxidante, aplicadas a frutos frescos cortados de berenjena (*Solanum melongena* L.).**

**Table 1. pH values of aqueous and buffer solutions, with and without antioxidant, applied to fresh-cut eggplant (*Solanum melongena* L.) fruits.**

Antioxidante	Solución	pH inicial	pH final con antioxidante
1 % AA	pH 3-4 <sup>†</sup>	7.0	2.6
	B-pH 3-4 <sup>‡</sup>	3.0	2.8
	B-pH 4-5 <sup>‡</sup>	6.0	4.3
	B-pH 7-8 <sup>‡</sup>	8.0	6.5
1 % AsCa	pH 7-8 <sup>†</sup>	7.0	7.1
	B-pH 3-4 <sup>‡</sup>	3.0	3.7
	B-pH 4-5 <sup>‡</sup>	5.0	4.8
	B-pH 7-8 <sup>‡</sup>	7.0	7.2
2 % AsCa	pH 7-8 <sup>†</sup>	7.0	7.8
	B-pH 3-4 <sup>‡</sup>	3.0	3.9
	B-pH 4-5 <sup>‡</sup>	5.0	4.8
	B-pH 7-8 <sup>‡</sup>	7.0	7.2
Testigo	B-pH 3 <sup>‡</sup>	3.0	3.0
	B-pH 5 <sup>‡</sup>	5.0	5.0
	B-pH 7 <sup>‡</sup>	7.0	7.0
	B-pH 8 <sup>‡</sup>	8.0	8.0
	Testigo <sup>†</sup>	7.0	7.0

AA: ácido ascórbico, AsCa: ascorbato de calcio, <sup>†</sup>agua, <sup>‡</sup>amortiguador fosfato-citrato, <sup>§</sup>amortiguador de pH Tris-HCl. ♦ AA: ascorbic acid, AsCa: calcium ascorbate, <sup>†</sup>water, <sup>‡</sup>phosphate-citrate buffer, <sup>†††</sup>Tris-HCl buffer.

se modificara y se evaluara sólo el efecto de las soluciones. Todo el proceso se desarrolló en una cámara de procesado, acondicionada, a 10 °C. Las berenjenas tratadas se almacenaron a 5 °C por 3 y 6 d y se determinaron los parámetros color, calidad visual, firmeza y actividad PFO. Los resultados se compararon con los valores iniciales de fruto recién seccionados.

#### Determinación de color

El color inicial se midió en 15 cubos por tratamiento con un colorímetro (Konica Minolta, CR-400, Osaka, Japón), equipado con iluminante C y observador de 2°, y ya calibrado con una placa blanca de calibración estándar. Los parámetros evaluados fueron  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , *chroma* ( $C^* = ((a^*)^2 + (b^*)^2)^{1/2}$ ) y ángulo °HUE ( $h = \text{ArcTan}(b^*/a^*)$ ) en el sistema CIE  $L^*a^*b^*$ . El índice de pardeamiento (IP) se calculó con la ecuación 1 (Pilon *et al.*, 2013):

$$IP = 100 (x - 0.31) / 0.172 \quad (1)$$

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

#### Determinación de firmeza

La firmeza se determinó con un texturómetro Instron Universal Machine (Modelo 4301, Instron Corp., Canton, MA, USA), el cual representó la fuerza necesaria para penetrar 5 mm el tejido, con un punzón de 7 mm de diámetro, a 2 mm s<sup>-1</sup>. La firmeza se obtuvo en dos lados de cada cubo, en 15 trozos por tratamiento y se expresó en Newton (N).

#### Calidad visual

La calidad visual de la berenjena mínimamente procesada se evaluó de acuerdo con el nivel de pardeamiento y deshidratación (aspecto visual) por un panel de nueve evaluadores, quienes usaron una escala visual de frescura de cinco puntos: 1 fue malo, por debajo del límite de consumo; 3 fue adecuado, límite de consumo; 5 fue bueno, límite de comercialización; 7 fue muy bueno, bastante fresco; y 9 fue excelente, recién seccionado (Gorny *et al.*, 1999; Barbagallo *et al.*, 2012; Ghidelli *et al.*, 2014a, 2014b). Los evaluadores fueron hombres y mujeres con 25 a 45 años de edad, entrenados en cinco sesiones de 30 min cada una. En el entrenamiento se les mostró producto real como referencia a los puntos de la escala de calidad visual. Los evaluadores dispusieron de una fotografía de muestras diferentes de berenjena fresca y seccionada, que ejemplificaron cada nivel de la escala. Las muestras se presentaron aleatoriamente, se numeraron con tres dígitos e iluminaron con luz blanca uniforme para evitar variabilidad.

#### Biological material and processing

Fruits were collected at horticultural maturity in the producing area of Almería, Spain. They were then transported under refrigeration to the IVIA laboratory (Valencia, Spain) and processed the same day. Fruits were washed, disinfected with NaClO (150 mg kg<sup>-1</sup>) for 60 s, and dried on absorbent paper at 10 °C. After eliminating the ends of the fruit, they were cut into 2 cm cubes with a knife. The cubes of each eggplant fruit were distributed on meshes (one cube per treatment in all treatments) to assure randomness and reduce the effect of biological variability among the fruits. The eggplant cubes were submerged in the antioxidant aqueous solutions for 2 min, drained and dried for 3 min. Twelve cubes were packaged in polypropylene trays (17.4 × 12.9 × 3.6 cm, 470 mL, Ilpra Systems, Barcelona, Spain) and covered with highly permeable film (64 mm thick, P12-2050PXNP; Ilpra Systems). The film was perforated with a needle to prevent the atmosphere in the package from modifying so that only the effect of the antioxidant solutions would be evaluated. The entire process took place in a conditioned processing chamber at 10 °C. The treated eggplant cubes were stored at 5 °C for 3 and 6 d, and the parameters color, visual quality, firmness and PFO activity were determined. The results were compared with the initial values of recently cut fruit.

#### Color determinación

Initial color was measured in 15 cubos per treatment with a colorimeter (Konica Minolta, CR-400, Osaka, Japan) equipped with an illuminating C and 2° observer and calibrated with a white plate of standard calibration. The evaluated parameters were  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , *chroma* ( $C^* = ((a^*)^2 + (b^*)^2)^{1/2}$ ) and °hue angle ( $h = \text{ArcTan}(b^*/a^*)$ ) in the system CIE  $L^*a^*b^*$ . The browning index (IP) was calculated with equation 1 (Pilon *et al.*, 2013):

$$IP = 100 (x - 0.31) / 0.172 \quad (1)$$

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

#### Determination of firmness

Firmness was determined using an Instron Universal Machine texturometer (Modelo 4301, Instron Corp. Canton, MA, USA), which measured the force necessary for a 7 mm diameter probe to penetrate 5 mm into the tissue at 2 mm s<sup>-1</sup>. Firmness was measured on two sides of each cube, with 15 cubos per treatment, and expressed in Newtons (N).

### Determinación de la actividad de la PFO

El método propuesto por Sanchís *et al.* (2016), ligeramente modificado, se usó para evaluar la actividad PFO (EC 1.14.18.1). La evaluación incluyó tres réplicas por tratamiento. Para ello, se homogeneizaron 10 g de berenjena con 30 mL de amortiguador de fosfato-citrato, a pH 6.5, de Mcllvaine, al cual se le añadió cloruro de sodio (NaCl) 1.0 M (Panreac. Barcelona, España) y 4-metilcatecol y polivinilpirrolidona (PVP) al 5 % (Sigma Aldrich. Steinheim, Alemania). El homogeneizado se filtró a vacío, con filtro de 41  $\mu\text{m}$ , y se centrifugó 15 min a 9961.38 g y 4 °C. El sobrenadante se recuperó y colocó en baño de hielo, como paso previo a la determinación de la actividad enzimática. La actividad PFO se midió en un espectrofotómetro (modelo UV1, Thermo Electron Corporation, Rugby, Reino Unido), añadiendo en la cubeta 100  $\mu\text{L}$  del extracto enzimático y 2.9 mL de 4-metilcatecol 0.05 M como sustrato. La absorbancia se midió a 420 nm, por 2 min a intervalos de 5 s, y a 20 °C. Las evaluaciones incluyeron dos mediciones por réplica. Como blanco se utilizó el sustrato a la misma concentración. Una unidad de PFO se definió como el cambio de 0.001 Abs  $\text{min}^{-1}$  (Zambrano-Zaragoza *et al.*, 2014).

### Diseño y análisis estadístico

El diseño experimental fue factorial (tres factores) y multinivel: pH (tres niveles: 3 a 4, 4 a 5 y 7 a 8), antioxidante (cuatro niveles: 1 % AA, 1 % AsCa, 2 % AsCa, y testigo) y tiempo de almacenamiento (dos niveles: 3 y 6 d). Las variables evaluadas fueron color, firmeza, y actividad de PFO en 17 tratamientos y tres repeticiones ( $n=3$  charolas con 12 cubos cada una). Los resultados se analizaron con ANDEVA, se determinaron las diferencias significativas entre los tratamientos y las interacciones. ANDEVA de una vía se obtuvieron por nivel y las diferencias entre las medias se determinaron con la prueba de Diferencia Mínima Significativa (DMS) de Fisher ( $p \leq 0.05$ ). Los análisis se efectuaron con el programa estadístico Statgraphics Centurion XVI. Los resultados de calidad visual se analizaron con la prueba de Friedman, una alternativa no-paramétrica al ANDEVA de una vía (Lawless y Heymann, 1998) utilizando XLStat, v. 2018.5 (Addinsoft, París, Francia). La comparación entre medias se realizó con la prueba Nemenyi.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Efecto de antioxidantes y pH en el color de berenjena fresca cortada

Los antioxidantes no afectaron el índice de pardeamiento ni los parámetros de color  $L^*$ ,  $b^*$  y  $C^*$ .

### Visual quality

Visual quality of minimally-processed eggplant was evaluated for level of browning and dehydration (visual aspect) by a panel of nine judges, who used a 5-point visual freshness scale: 1 was poor, below the limit for consumption; 3 was adequate, at the limit for consumption; 5 was good, at the limit for commercialization; 7 was very good, quite fresh; and 9 was excellent, recently cut (Gorny *et al.*, 1999; Barbagallo *et al.*, 2012; Ghidelli *et al.*, 2014a, 2014b). The panelists were men and women between 25 and 45 years old, trained in five 30-min sessions. During training, they were shown cut eggplant corresponding to the different points of the scale, as reference. During the analysis, they were also given a photograph of the different samples of fresh-cut eggplant fruits that exemplified each level of the scale. The samples, numbered with three digits and illuminated with even white light to avoid variability, were presented randomly.

### Determination of PFO activity

The method proposed by Sanchís *et al.* (2016), slightly modified, was used to evaluate PFO activity (EC 1.14.18.1). The evaluation included three replications per treatment. Ten grams of eggplant was homogenized with 30 mL Mcllvaine phosphate-citrate buffer at pH 6.5, to which was added 1.0 M sodium chloride (NaCl) (Panreac. Barcelona, Spain), 4-methylcatechol and 5 % polyvinylpyrrolidone (PVP) (Sigma Aldrich. Steinheim, Germany). The homogenate was vacuum filtered through a 41  $\mu\text{m}$  filter and centrifuged 15 min at 9961.38 g and 4 °C. The supernatant was recovered and placed in an ice bath as a step prior to determination of enzymatic activity. PFO activity was measured in a spectrophotometer (model UV1, Thermo Electron Corporation. Rugby, United Kingdom), adding 100  $\mu\text{L}$  of the enzyme extract and 2.9 mL of 4-methylcatechol 0.05 M as substrate. Absorbance was measured at 420 nm for 2 min at intervals of 5 s and at 20 °C. The evaluations included two measurements per replication. As a blank, we used the substrate at the same concentration. The PFO activity was defined as the change of 0.001 Abs  $\text{min}^{-1}$  (Zambrano-Zaragoza *et al.*, 2014).

### Design and statistical analysis

The experimental design was factorial (three factors) and multi-level: pH (three levels: 3 to 4, 4 to 5 and 7 to 8), antioxidant (four levels: 1 % AA, 1 % AsCa, 2 % AsCa, and control), and storage time (two levels: 3 and 6 d). The variables evaluated were color, firmness, and PFO activity in 17 treatments and three replications ( $n=3$  trays with 12 cubes each). The results were analyzed using ANOVA, and significant differences between treatments and interactions were determined. A one-way

Pero el pH afectó significativamente los parámetros de color e IP. El tiempo de almacenamiento tuvo efecto significativo en IP y en los parámetros  $a^*$ ,  $b^*$  y ángulo de tono *hue* (Cuadro 2). El aumento del pardeamiento del tejido de berenjena durante el almacenamiento o como consecuencia de algunos tratamientos estuvo acompañado por aumento en los parámetros de color  $a^*$  y  $b^*$  y disminución de  $L^*$  y *hue*. En el testigo, con agua, los valores de  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  y *hue* en el momento de corte fueron  $88.04 \pm 3.29$ ,  $-4.71 \pm 1.03$ ;  $21.67 \pm 3.04$  y  $102.47 \pm 2.94$ , y a los 6 d de almacenamiento fueron  $85.26 \pm 1.50$ ,  $-1.28 \pm 1.51$ ,  $23.79 \pm 1.51$  y  $93.14 \pm 1.85$ , respectivamente. Los antioxidantes en los intervalos de pH afectaron el color del tejido y el pH de las soluciones fue el factor más determinante. El efecto del pH fue significativo en los parámetros del color ( $p \leq 0.001$ ); el tratamiento antioxidante tuvo efecto significativo en el parámetro  $a^*$  y el ángulo *hue*. El IP se tomó como parámetro representativo del cambio de color de las muestras. El IP fue mayor en el pH 3 a 4 respecto a los pH mayores, pero la diferencia no fue significativa entre los otros intervalos de pH (Figura 1 A). El efecto negativo del pH ácido en el tejido de berenjena fue similar al documentado por Ghidelli *et al.* (2014a), quienes observaron que concentraciones de AA menores a 0.8 % redujeron el pardeamiento en berenjena fresca comparada con el testigo, y concentraciones superiores oscurecieron y originaron

ANOVA was performed by treatment and differences between their means were determined using the Fisher Minimum Significant Difference (MSD) test ( $p \leq 0.05$ ). Analyses were conducted with the statistical software Statgraphics Centurion XVI. Results of visual quality were analyzed with the Friedman test, a non-parametric alternative to one-way ANOVA (Lawless and Heymann, 1998) using XLStat, v. 2018.5 (Addinsoft. Paris, France). Means were compared with the Nemenyi test.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Effect of antioxidants and pH on fresh-cut eggplant color

The antioxidants did not affect the browning index (IP) nor the color parameters  $L^*$ ,  $b^*$  and  $C^*$ . However, IP and the color parameters  $b^*$  were significantly affected by pH. Storage time had a significant effect on IP and on the parameters  $a^*$ ,  $b^*$  and hue angle (Table 2). The increase in eggplant tissue browning during storage or due to some of the treatments was accompanied by an increase in the  $a^*$  and  $b^*$  color parameters and a decrease in  $L^*$  and hue angle. The control with water at the time of cutting had  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  and °hue of  $88.04 \pm 3.29$ ,  $-4.71 \pm 1.03$ ;  $21.67 \pm 3.04$  and  $102.47 \pm 2.94$ , and after 6 d of storage these values were  $85.26 \pm 1.50$ ,  $-1.28 \pm 1.51$ ,  $23.79 \pm 1.51$  and  $93.14 \pm 1.85$ ,

**Cuadro 2. Análisis de varianza del efecto de antioxidantes (AOx), pH y tiempo (t) de almacenamiento a 5 °C y sus interacciones con los parámetros de color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , *chroma* ( $C^*$ ), ángulo de tono (*b*), índice de pardeamiento (IP)), actividad de la polifenol oxidasa (PFO) y firmeza de segmentos de frutos frescos de berenjena (*Solanum melongena* L.).**

**Table 2. Analysis of variance of the effect of antioxidants (AOx), pH and time (t) of storage at 5 °C and their interactions with color parameters ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , *chroma* ( $C^*$ ), hue angle (*b*), browning index (IP), polyphenol oxidase activity (PFO) and firmness of fresh-cut eggplant (*Solanum melongena* L.).**

Fuente de variación	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*$	<i>b</i>	IP	PFO (Abs min <sup>-1</sup> )	Firmeza (N)
Aox	2.48 <sup>NS</sup>	12.20***	0.90 <sup>NS</sup>	0.53 <sup>NS</sup>	8.00***	1.04 <sup>NS</sup>	6.32***	3.63*
pH	24.44***	9.39***	8.31***	9.50***	8.27***	11.22***	0.82 <sup>NS</sup>	0.09 <sup>NS</sup>
T	0.09 <sup>NS</sup>	88.88***	6.08*	3.06 <sup>NS</sup>	73.52***	13.38***	269.77***	106.79***
AOx*pH	2.03 <sup>NS</sup>	1.18 <sup>NS</sup>	1.16 <sup>NS</sup>	0.99 <sup>NS</sup>	0.84 <sup>NS</sup>	0.50 <sup>NS</sup>	9.97***	4.81***
pH*t	4.60*	1.38 <sup>NS</sup>	4.59*	3.52*	0.50 <sup>NS</sup>	5.35**	12.37***	1.06 <sup>NS</sup>
t*Aox	2.75*	1.67 <sup>NS</sup>	1.13 <sup>NS</sup>	1.17 <sup>NS</sup>	1.69 <sup>NS</sup>	2.75*	22.01***	1.85 <sup>NS</sup>
AOx*pH*t	3.24**	3.47**	2.19*	1.66 <sup>NS</sup>	3.80***	3.49**	4.33***	2.59*

Valores de F para cada fuente de variación. Los asteriscos muestran diferencia significativa a valores de  $p \leq 0.05$  (\*),  $p \leq 0.01$  (\*\*),  $p \leq 0.001$  (\*\*\*). NS: no hay diferencia significativa. ♦ Values of F for each source of variation. \* $p \leq 0.05$ ; \*\* $p \leq 0.01$ ; \*\*\* $p \leq 0.001$ . NS: not significant  $p > 0.05$ .

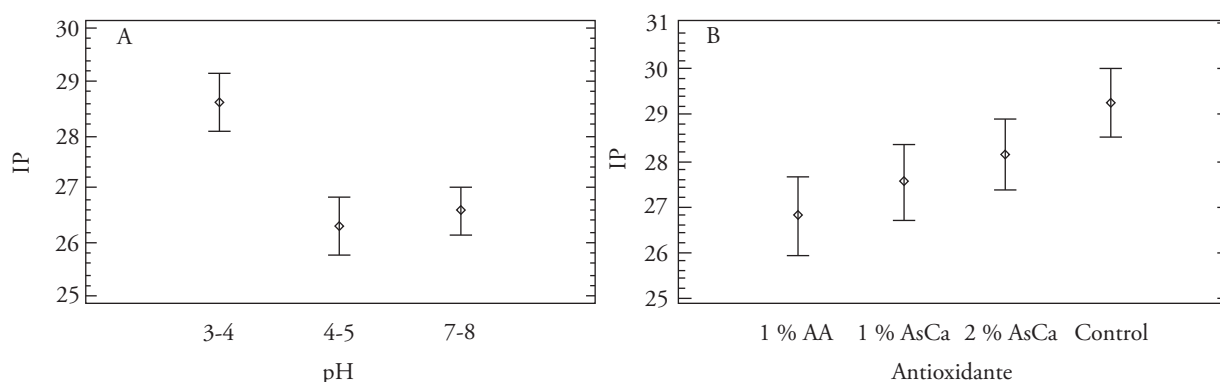


Figura 1. Medias e intervalos de confianza de diferencia mínima significativa (DMS;  $p \leq 0.05$ ) del índice de pardeamiento (IP) en frutos de berenjena mínimamente procesada (*Solanum melongena* L.) almacenados por 6 d a 5 °C en función de los distintos: A), intervalos de pH evaluados al aplicar los agentes antioxidantes, y B) tratamientos antioxidantes y controles (ácido ascórbico (AA), ascorbato de calcio (AsCa), soluciones amortiguadoras sin antioxidante y testigo).

Figure 1. Means and confidence intervals of minimum significant difference (DMS;  $p \leq 0.05$ ) of the browning index (IP) in minimally processed eggplant fruits (*Solanum melongena* L.) stored for 6 d at 5 °C in function of A) pH intervals of applied antioxidant agents, and B) antioxidant treatments and controls (ascorbic acid (AA), calcium ascorbate (AsCa), buffer solutions without antioxidant and control).

pardeamiento del tejido (menor  $L^*$  y mayor  $a^*$ ), probablemente debido a daño oxidativo. A concentraciones superiores a 0.8 % de AA, el pH de la solución antioxidante fue menor a 3, por lo cual en nuestro estudio los antioxidantes con pH 3 a 4 originaron pardeamiento de los tejidos de la berenjena. Según Gomes *et al.* (2012), soluciones de AA y sales cálcicas con pH 7 controlaron el pardeamiento enzimático de segmentos de pera, pero a pH 3 el efecto fue opuesto. En segmentos de pera 'Rocha' fresca el efecto de AsCa en solución amortiguadora pH 7 en la reducción de cambios de color fue significativo, durante los 6 d del periodo de almacenamiento a 5 °C, en comparación con la solución amortiguadora a pH 3. Además, la interacción entre los factores pH y antioxidante fue significativa. Incluso en ausencia de antioxidantes, el pardeamiento de secciones de pera se intensifica con soluciones amortiguadoras con pH 3, respecto a pH 7 (Gomes *et al.*, 2010).

La reducción del pardeamiento enzimático de la berenjena con AA y AsCa, con pH superiores a 3, se acompañó con valores menores de  $a^*$  y mayores de  $hue$ , comparados con los testigos. Después de 6 d de almacenamiento a 5 °C ambos antioxidantes a  $pH > 3$  redujeron similarmente el IP, respecto a los testigos sin antioxidantes ( $p \leq 0.05$ ) (Figura 1b).

respectively. The antioxidants in the different pH intervals affected tissue color, pH of the solutions being the most determining factor. The pH of the solutions significantly affected all the color parameters ( $p \leq 0.001$ ), whereas the antioxidant treatment had a significant effect on the parameter  $a^*$  and hue angle. The IP was taken as the representative parameter of the color change of the sample. The IP was higher at pH 3 to 4 compared with higher pH values, but the differences were not significant among the other pH intervals (Figure 1 A). The negative effect of acid pH on eggplant tissue was similar to that documented by Ghidelli *et al.* (2014a), who observed that AA concentrations below 0.8 % reduced browning in fresh eggplant, as compared with the control, while higher concentrations induced tissue browning (lower  $L^*$  and higher  $a^*$ ), likely due to oxidative damage. At AA concentrations above 0.8 %, the pH of the antioxidant solution was below 3; thus, in our study the antioxidants with pH 3 to 4 caused eggplant tissue to brown. According to Gomes *et al.* (2012), AA solutions and calcium salts at pH 7 controlled enzymatic browning of pear slices, but at pH 3 the effect was the opposite. In fresh-cut 'Rocha' pear, AsCa in pH 7 buffer solution significantly reduced color change over 6 d of storage at 5 °C,



### Efecto del pH y antioxidantes en la firmeza en segmento de berenjena fresca

La firmeza es otro factor de la calidad de los segmentos de vegetales frescos. El ablandamiento de los tejidos después del corte y durante el almacenamiento se atribuye a cambios en la turgencia y estructura y composición de la pared celular. Para evitar o reducir estos cambios se utilizan sales de calcio como el AsCa, lactato cálcico, propionato cálcico y otros. Los iones de calcio forman puentes entre los grupos carboxilo de las cadenas de pectina, lo que aumenta la resistencia de la pared celular (Wehr *et al.*, 2004; Gomes *et al.*, 2010). En nuestro estudio se observó un efecto opuesto, ya que la firmeza en los trozos de berenjena aumentó a los 6 d, respecto a los 3 d en almacenamiento (Cuadro 3). Además, las diferencias no fueron significativas entre tratamientos. Estos resultados pueden deberse a la heterogeneidad de los tejidos de la berenjena, que son más porosos y menos firmes en la zona central del fruto, donde están las semillas, que en la zona cercana al epicarpio. En manzana (*Malus domestica*), berenjena, o piel de naranja (*Citrus sinensis*) la porosidad puede ser entre 20 y 30 %, y la berenjena es heterogénea entre los tejidos (Taylor, 2004). Esto se observa con el aumento de peso de segmentos de vegetales frescos después de mantenerlos en infusión, al vacío, en agua a 20 °C. En este caso la berenjena casi duplica su peso (180 %), en comparación con la manzana (32 %), banana (*Musa paradisiaca*) (17 %), naranja (3 %) y zanahoria (*Daucus carota*) (6 %) (Jongen, 2002). Cada tratamiento

comparado con su aplicación en una solución buffer a pH 3. Además, la interacción entre los factores pH y antioxidante fue significativa. En ausencia de los antioxidantes, el oscurecimiento enzimático de las rodajas de pera fue más intenso con soluciones buffer a pH 3 que con la solución a pH 7 (Gomes *et al.*, 2010).

Reducción del oscurecimiento enzimático de los cubos de berenjena con AA y AsCa con pH por encima de 3 estuvo acompañada por valores más bajos de  $a^*$  y valores más altos de  $bue$  que los controles. Después de 6 d de almacenamiento a 5 °C, ambos antioxidantes a pH >3 redujeron el IP de una manera similar, en relación con los controles sin antioxidantes ( $p \leq 0.05$ ) (Figura 1 B).

### Efecto de pH y antioxidantes sobre la firmeza de berenjena fresca

Firmeza es otro factor importante de calidad de los vegetales frescos. El ablandamiento de los tejidos después del corte y durante el almacenamiento se atribuye a cambios en la turgencia, estructura y composición de la pared celular. Para prevenir o reducir estos cambios, sales de calcio, como AsCa, lactato de calcio, propionato de calcio y otros, se utilizan. Los iones de calcio forman puentes entre los grupos carboxilo de las cadenas de pectina, lo que aumenta la resistencia de la pared celular (Wehr *et al.*, 2004; Gomes *et al.*, 2010). En nuestro estudio, sin embargo, se observó el efecto opuesto. La firmeza de los cubos de berenjena aumentó después de 6 d, en comparación con los 3 d de almacenamiento (Tabla 3). Además, las diferencias no fueron significativas entre los tratamientos. Estos resultados pueden deberse a la heterogeneidad de los tejidos de la berenjena, que son más porosos y

**Cuadro 3. Firmeza (N) de frutos de berenjena mínimamente procesadas (*Solanum melongena* L.) tratados con ácido ascórbico (AA) o ascorbato de calcio (AsCa) a distintos pH con soluciones amortiguadoras y almacenados por 3 y 6 d a 5 °C.**

**Table 3. Firmness (N) of minimally processed eggplant (*Solanum melongena* L.) fruits treated with ascorbic acid (AA) or calcium ascorbate (AsCa) at different pH with buffer solutions and stored for 3 and 6 d at 5 °C.**

Antioxidante	3 días			6 días		
	pH 3-4	pH 4-5	pH 7-8	pH 3-4	pH 4-5	pH 7-8
1 % AA	13.13±0.59 <sup>aA</sup>	14.19±0.96 <sup>aA</sup>	13.71±0.93 <sup>aA</sup>	18.21±1.21 <sup>aA</sup>	17.92±1.57 <sup>aA</sup>	17.81±1.47 <sup>aA</sup>
1 % AsCa	12.91±0.57 <sup>aA</sup>	13.76±0.75 <sup>aA</sup>	14.12±0.64 <sup>aA</sup>	14.94±0.72 <sup>aA</sup>	16.74±1.34 <sup>aA</sup>	19.17±1.24 <sup>aA</sup>
2 % AsCa	14.25±0.72 <sup>aA</sup>	12.55±1.60 <sup>aA</sup>	15.51±0.63 <sup>aA</sup>	17.21±1.62 <sup>aA</sup>	19.05±1.59 <sup>aA</sup>	18.46±1.21 <sup>aA</sup>
Testigo	14.45±0.83 <sup>aA</sup>	14.25±0.98 <sup>aA</sup>	13.75±0.46 <sup>aA</sup>	22.87±1.71 <sup>bB</sup>	21.43±2.16 <sup>aB</sup>	16.33±0.50 <sup>aA</sup>

Media ± error estándar. Testigos: soluciones tampón sin antioxidantes. Para cada intervalo de pH, letras minúsculas diferentes por columna indican diferencias significativas entre antioxidantes. Para un mismo tratamiento (antioxidantes y testigo) y periodo de almacenamiento, letras mayúsculas diferentes por fila muestran diferencias significativas entre intervalos de pH. ♦ Mean ± standard error. Controls: tampon solutions without antioxidants. For each pH interval, different lower-case letters in a column indicate significant differences between antioxidants ( $p \leq 0.05$ ). For the same treatment (antioxidants and control) and storage period, different upper-case letters in a row indicate significant differences between pH intervals ( $p \leq 0.05$ ).

contenía cubos de diferentes zonas del fruto, debido a la aleatoriedad, lo cual generó desviaciones estándar relativamente altas (hasta 8 N), que disminuyen la posibilidad de detectar diferencias significativas entre tratamientos. Un análisis del perfil de textura de medidas de dureza, gomosidad, masticabilidad, elasticidad y cohesividad podría ayudar a determinar el efecto de los antioxidantes y el pH en un tejido poroso y heterogéneo como el de la berenjena.

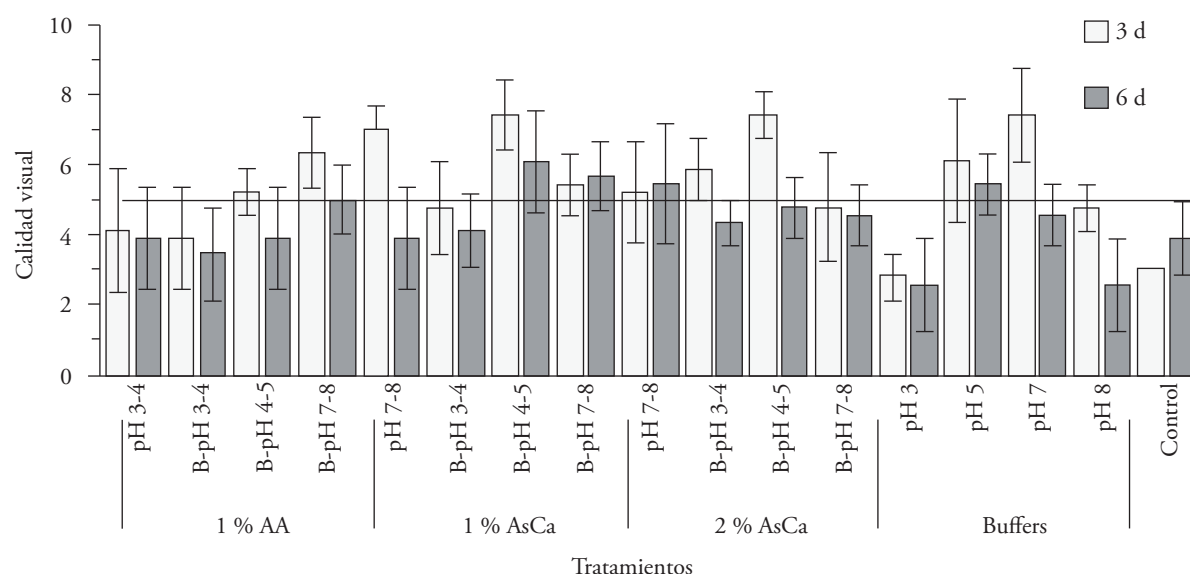
### Efecto del pH y antioxidantes en la calidad visual de segmentos de berenjena fresca

La susceptibilidad de la berenjena al pardeamiento enzimático se determinó con la calidad visual de las muestras testigo, ya que estuvieron debajo del límite de comercialización, después de 3 y 6 d de almacenamiento. En ambos casos los antioxidantes con su pH original, sin solución amortiguadora, AsCa al 1 y 2 % con pH 7.1 y 7.8, mantuvieron la calidad de los segmentos de berenjena mejor que AA 1 % con pH 2.6. La solución de AA 1 %, con amortiguadores de pH entre 4 y 5 y 7 y 8 mantuvo la calidad visual en el límite de comercialización por 3 y 6 d, respectivamente. Opuesto a la reducción del pH, las soluciones de AsCa con pH de 3 a 4 afectaron negativamente la calidad visual de los cubos del fruto y este efecto sobresalió con las soluciones amortiguadoras con AsCa 1 %. Este antioxidante, en esta concentración, en las soluciones amortiguadoras B-pH 4 a 5 y B-pH 7 a 8 mantuvo la calidad comercial de las muestras ligeramente superior al límite de comercialización en los 6 d de almacenamiento; en contraste, al 2 % en la solución amortiguadora B-pH 7 a 8 la calidad visual se redujo ligeramente respecto a la aplicación de la solución acuosa del antioxidante (pH 7.8) sin diferencias significativas. Las soluciones amortiguadoras de fosfato-citrato a pH 5 y el amortiguador Tris-HCl a pH 7 sin antioxidantes también mantuvieron la calidad visual de las muestras en el límite de comercialización por 6 d en almacenamiento, mientras que el amortiguador fosfato-citrato a pH 8 mantuvo el límite por 3 d (Figura 2). Este efecto de los amortiguadores de pH en el control del pardeamiento enzimático pudo deberse al efecto antioxidante ligero del ácido cítrico (quelante del  $\text{Cu}^{+2}$  de PFO) o el HCl (el ion cloro actúa como inhibidor ligero de PFO) y el pH que previene el deterioro por estrés fisiológico provocado por pH bajos (Gomes *et al.*, 2014).

less firm in the central part of the fruit, where the seeds are, rather than in the area near the epicarp. In apple (*Malus domestica*), eggplant, or orange peel (*Citrus sinensis*) porosity can range between 20 and 30 %; of these fruits, eggplant has the most heterogeneous tissues (Taylor, 2004). This was observed with an increase in weight of fresh-cut vegetables after they were kept under vacuum impregnation in water at 20 °C. In this case, eggplant almost duplicates its weight (180 %), compared with apple (32 %), banana (*Musa paradisiaca*) (17 %), orange (3 %) and carrots (*Daucus carota*) (6 %) (Jongen, 2002). In our experiment, each treatment contained cubes of different parts of the fruit to maintain randomness, but this type of sampling generated relatively high standard deviations (up to 8 N), reducing the possibility of detecting significant differences among treatments. An analysis of the texture profile with measurements of hardness, gumminess, chewability, elasticity and cohesiveness could help to determine the effect of the antioxidants and the pH in porous heterogeneous tissues such as those of eggplant.

### Effect of pH and antioxidants on visual quality of fresh-cut eggplant

Susceptibility of eggplant to enzymatic browning was determined by visual quality of the control samples, which were below the commercialization limit after 3 and 6 d of storage. In both cases, the antioxidants at their natural pH without buffer solution (AsCa at 1 and 2 % with pH 7.1 and 7.8, respectively) maintained the quality of the eggplant cubes better than 1% AA with pH 2.6. The 1 % AA, with buffers, at pH 4 to 5 and 7 to 8 maintained visual quality at the commercialization limit for 3 and 6 d, respectively. In contrast, reduced pH in solutions of AsCa (pH 3 to 4) negatively affected visual quality of the fruit cubes and this effect was greater with the buffer solutions with 1 % AsCa than with 2 %. This antioxidant, at this concentration, in the buffer solutions B-pH 4 to 5 and B-pH 7 to 8 maintained commercial quality of the samples slightly above the commercialization limit after 6 d of storage. In contrast, at 2 % in the buffer solution B-pH 7 to 8, visual quality decreased slightly, relative to the application of the aqueous solution of the antioxidant (pH 7.8) with no significant differences.



**Figura 2.** Calidad visual de frutos de berenjena mínimamente procesada (*Solanum melongena* L.), tratados con ácido ascórbico (AA) o ascorbato de calcio (AsCa), pH distinto y almacenados 3 d y 6 d a 5 °C. Se usó una escala visual de frescura de cinco puntos, donde 1: malo, por debajo del límite de consumo; 3: adecuado, límite de consumo; 5: bueno, límite de comercialización; 7: muy bueno, bastante fresco y 9: excelente, recién cortado. La línea divisoria indica el límite de comercialización del producto (valor 5 en la escala). Medias  $\pm$  desviaciones estándar.

**Figure 2.** Visual quality of minimally processed eggplant (*Solanum melongena* L.) fruits treated with ascorbic acid (AA) or calcium ascorbate (AsCa), different pH values and stored 3 and 6 d at 5 °C. A five-point visual scale was used, where 1: poor, below the limit for consumption; 3: adequate, limit for consumption; 5: good, limit for commercialization; 7: very good, quite fresh, and 9: excellent, recently cut. The dividing line indicates the limit for commercializing the product (5 on the scale). Means  $\pm$  standard deviation.

Así, los tratamientos con o sin antioxidantes a pH 3 mostraron efecto similar al testigo (agua). Otro grupo correspondió a los tratamientos con o sin antioxidantes, a pH entre 5 y 7 (Figura 2). La prueba no paramétrica de Friedman, al final de los 6 d de almacenamiento a 5 °C indicó que los tratamientos mejores fueron AsCa 1 % - B - pH 4 a 5 y 7 a 8 y AsCa 2 % (sin amortiguador) y el amortiguador fosfato-citrato a pH 5, sin diferencias significativas con otros tratamientos a pH 7. Barbagallo *et al.* (2012) aplicaron citrato de calcio y AsCa en cubos de berenjena; ellos observaron que AsCa fue más efectivo para mantener la calidad visual de la berenjena intacta durante 4 d de almacenamiento. Los resultados del presente estudio indican que el periodo de comercialización de segmentos de berenjena puede incrementarse si se controla el pH entre 5 y 7 en las soluciones antioxidantes para el control del pardeamiento enzimático.

The buffer solutions of phosphate-citrate at pH 5 and the buffer Tris-HCl at pH 7 with no antioxidant also maintained visual quality of the samples at the limit of commercialization for 6 d in storage, while the buffer phosphate-citrate at pH 8 maintained the limit for 3 d (Figure 2). This effect of the pH buffers in the control of enzymatic browning could be due to the slight antioxidant effect of the citric acid (chelate of  $\text{Cu}^{+2}$  of PFO) or the HCl (the chlorine ion acts as a slight inhibitor of PFO) and the pH that prevents deterioration by physiological stress caused by low pH (Gomes *et al.*, 2014).

Treatments with or without antioxidants at pH 3 showed an effect similar to the control (water). Another group corresponded to the treatments with or without antioxidants at pH 5 to 7 (Figure 2). The Friedman non-parametric test, at the end of 6 d of storage at 5 °C, indicated that the best treatments were 1 % AsCa - B - pH 4 to 5 and 7 to 8 and 2 % AsCa

### Efecto del pH y antioxidantes en la actividad PFO de segmentos de berenjena fresca

En el presente estudio, la actividad de PFO aumentó con el tiempo de almacenamiento en todos los tratamientos (Cuadro 4), como se observó en otros estudios (Jeong *et al.*, 2008; Ali *et al.*, 2015). Este aumento puede deberse a exposición de PFO y polifenoles sustratos liberados con el corte tisular, que reaccionan en presencia de oxígeno y originan el pardeamiento de vegetal mínimamente procesado. El incremento de la tasa respiratoria acelera la senescencia y en consecuencia el daño celular, lo cual incrementa la liberación y actividad de PFO con el tiempo de almacenamiento de los productos mínimamente procesados (Barbagallo *et al.*, 2012). Independientemente del procesamiento mínimo y del tiempo de almacenamiento, la actividad de PFO está condicionada por factores como especie y variedad del vegetal, edad de los frutos, cantidad y naturaleza de los compuestos fenólicos, temperatura ambiental, disponibilidad de oxígeno, presencia de compuestos reductores o inhibidores de la enzima y del pH del medio (Carbonaro y Mattera, 2001; Mishra *et al.*, 2013; Gomes *et al.*, 2014; Ng y Wong, 2015). Aunque el pH del medio regula la actividad PFO, en el presente estudio, solo los tratamientos antioxidantes con pH 3 a 4 (AA 1 %, AsCa 1 y 2 %) disminuyeron la actividad PFO a los 3 d de almacenamiento. Esto puede deberse a que la actividad PFO en berenjena es óptima en pH entre 4 y 9 (Pérez-Gilabert y García, 2000). Sin embargo,

(without buffer) and the phosphate-citrate buffer at pH 5, with no significant differences from other treatments at pH 7. Barbagallo *et al.* (2012) applied calcium citrate and AsCa on eggplant cubes; they observed that AsCa was more effective in maintaining visual quality of intact eggplant over 4 d of storage. The results of the present study indicate that the period of commercialization of eggplant cubes can increase if pH is controlled between 5 and 7 in the antioxidant solutions to control enzymatic browning.

### Effect of pH and antioxidants on PFO activity in fresh-cut eggplant

In our study, PFO activity increased with storage time in all the treatments (Table 4), as reported in other studies (Jeong *et al.*, 2008; Ali *et al.*, 2015). This increase may be due to the exposure of the PFO enzyme and the polyphenols released when tissue was cut and subsequently react in the presence of oxygen and cause browning in the minimally processed vegetable. The increase in respiration rate accelerates senescence and, consequently, cell damage, which increases PFO release and activity with storage time (Barbagallo *et al.*, 2012). Regardless of the minimal processing and storage time, PFO activity is conditioned by factors such as species and cultivar of the vegetable, age of the fruits, quantity and nature of the phenolic compounds, environmental temperature, availability of oxygen, presence of enzyme-reducing or inhibiting compounds, and on

**Cuadro 4. Actividad PFO ( $\Delta A_{420} \text{ min}^{-1} \text{ mL}^{-1}$ ) de frutos frescos cortados de berenjena (*Solanum melongena* L.), tratados con ácido ascórbico (AA) o ascorbato de calcio (AsCa) a distintos pH con soluciones amortiguadoras y almacenada 3 y 6 d a 5 °C.**  
**Table 4. PFO activity ( $\Delta A_{420} \text{ min}^{-1} \text{ mL}^{-1}$ ) in fresh-cut eggplant (*Solanum melongena* L.) fruits treated with ascorbic acid (AA) or calcium ascorbate (AsCa) at different pH with buffer solutions and stored for 3 and 6 d at 5 °C.**

Antioxidante	3 días			6 días		
	pH 3-4	pH 4-5	pH 7-8	pH 3-4	pH 4-5	pH 7-8
1 % AA	0.033±0.009 <sup>aA</sup>	0.038±0.006 <sup>bB</sup>	0.065±0.013 <sup>cA</sup>	0.059±0.010 <sup>aA</sup>	0.056±0.014 <sup>aA</sup>	0.069±0.005 <sup>aA</sup>
1 % AsCa	0.035±0.008 <sup>abA</sup>	0.063±0.011 <sup>cb</sup>	0.043±0.019 <sup>bA</sup>	0.071±0.010 <sup>bA</sup>	0.056±0.013 <sup>aA</sup>	0.062±0.011 <sup>aA</sup>
2 % AsCa	0.045±0.007 <sup>bA</sup>	0.062±0.016 <sup>cb</sup>	0.032±0.010 <sup>aA</sup>	0.077±0.004 <sup>bb</sup>	0.068±0.007 <sup>aA</sup>	0.066±0.006 <sup>aA</sup>
Testigos	0.026±0.009 <sup>aA</sup>	0.024±0.006 <sup>aA</sup>	0.027±0.009 <sup>aA</sup>	0.076±0.003 <sup>bA</sup>	0.068±0.011 <sup>aA</sup>	0.074±0.012 <sup>aA</sup>

Media ± desviación estándar. Testigos: soluciones amortiguadoras sin antioxidantes. Para cada intervalo de pH, letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre antioxidantes ( $p \leq 0.05$ ). Para un mismo tratamiento (antioxidantes y testigos sin antioxidante) y periodo de almacenamiento, letras mayúsculas diferentes muestran diferencias significativas entre intervalos de pH ( $p \leq 0.05$ ).  
 ♦ Mean ± standard deviation. Controls: buffer solutions without antioxidants. For each pH interval, different lower-case letters indicate significant differences between antioxidants ( $p \leq 0.05$ ). For the same treatment (antioxidants and controls without antioxidant) and storage period, different upper-case letters indicate significant differences between pH intervals ( $p \leq 0.05$ ).

dependiendo del cultivar y sustrato (compuesto fenólico en el que se determina la actividad de la enzima), el pH óptimo de actividad PFO está en pH entre 4.8 y 7 (Dogân *et al.*, 2002; Concellón *et al.*, 2004; Todaro *et al.*, 2011). El pH no mostró diferencia entre 3 y 6 d de almacenamiento en la actividad PFO. Además, la correlación entre la actividad PFO y el pardeamiento enzimático con los distintos pH y antioxidantes no fue significativa. Estos resultados reflejan la presencia de otros factores, independientes al pH, implicados en la actividad de la PFO. Uno puede ser el tiempo de almacenamiento, ya que el efecto inhibitorio en los tratamientos a pH 3-4 se perdió a los 6 d de almacenamiento.

Los agentes reductores o inhibidores de PFO, como AA o AsCa, pueden coadyuvar a controlar el pardeamiento, ya que actúan como reductores de *o*-quinonas a *o*-difenoles. En el caso de AA la reducción del pH del medio reduce la actividad PFO (Ng y Wong, 2015). En el presente estudio el efecto de los antioxidantes ( $p \leq 0.001$ ) fue significativo y su interacción con el pH fue significativa en la actividad PFO ( $p \leq 0.001$ ). Así, a los 3 d de almacenamiento, AA 1 % disminuyó la actividad PFO (0.038) con pH 4 a 5 en contraste con AsCa 1 y 2% al mismo pH; aunque, con pH 7 a 8, AsCa 1 y 2 % disminuyeron la actividad PFO respecto a AA 1 %. Este efecto se mantuvo hasta 6 d, ya que AA 1 % con pH 3 a 4 presentó actividad PFO menor que 1 y 2 % AsCa con pH 3 a 4 y entre tratamientos con pH 4 a 5 y 7 a 8 en el mismo tiempo de almacenamiento no hubo diferencia significativa.

Otros parámetros diferentes a la actividad PFO pueden ser mejores para predecir el pardeamiento enzimático en segmentos de frutos de berenjena o la pera, independientemente de los antioxidantes utilizados. Ghidelli *et al.* (2014a) reportaron comportamiento distinto a AA en el control del pardeamiento en extractos de berenjena (*in vitro*) y en tejido de berenjena (*in vivo*). Así la aplicación de AA 0.35 % inhibió completamente la formación de pigmentos marrones solubles e insolubles en extractos de berenjena, lo que se atribuyó a la inhibición de PFO a pH inferiores al óptimo ( $pH < 4$ ). Sin embargo, en tejido de berenjena, la aplicación de concentraciones altas de AA estimuló el pardeamiento, por lo que no se identificó su relación con el pH en la inhibición de PFO. Gomes *et al.* (2014) mostraron discrepancias en la dependencia del pardeamiento enzimático, el

pH of the medium (Carbonaro and Mattera, 2001; Mishra *et al.*, 2013; Gomes *et al.*, 2014; Ng and Wong, 2015).

Although the pH of the medium regulates PFO activity, in our study, only those antioxidant treatments with pH 3 to 4 (1 % AA, 1 and 2 % AsCa) decreased PFO activity after 3 d of storage. This may be because PFO activity in eggplant is optimal in pH between 4 and 9 (Pérez-Gilabert and García, 2000). However, depending on the cultivar and substrate (phenolic compound in which activity of the enzyme is determined), the optimal pH for PFO activity is between 4.8 and 7 (Dogân *et al.*, 2002; Concellón *et al.*, 2004; Todaro *et al.*, 2011). But, the pH did not cause a difference in PFO activity between 3 and 6 d of storage. Moreover, the correlation between PFO activity and enzymatic browning with different pH and antioxidants was not significant. These results indicate the presence of other factors, regardless of pH, implicated in PFO activity. One of these factors may be storage time since the inhibitory effect in the treatments at pH 3 to 4 was lost after 6 d of storage. PFO-reducing or -inhibiting agents, such as AA or AsCa, can contribute to control browning by reducing *o*-quinones to *o*-diphenols. In the case of AA, a reduction of the pH of the medium decreased PFO activity (Ng and Wong, 2015). In our study, the effect of the antioxidants was significant ( $p \leq 0.001$ ) and their interaction with pH was significant in PFO activity ( $p \leq 0.001$ ). Thus, after 3 d of storage, 1 % AA decreased PFO activity (0.038) at pH 4 to 5 compared with 1 and 2 % AsCa at the same pH. However, at pH 7 to 8 with 1 and 2 % AsCa, PFO activity decreased more than with 1 % AA. This effect continued up to 6 d, when 1 % AA at pH 3 to 4 exhibited lower PFO activity than 1 and 2 % AsCa. Other parameters different from PFO activity may be better predictors of enzymatic browning in fresh-cut eggplant or pear fruits, regardless of the antioxidants used. Ghidelli *et al.* (2014a) reported different AA behavior in the control of browning in eggplant extracts (*in vitro*) and in eggplant tissue (*in vivo*). Thus, application of 0.35 % AA completely inhibited formation of soluble and insoluble brown pigments in eggplant extracts, attributed to inhibition of PFO at pH lower than the optimal ( $pH < 4$ ). However, in eggplant tissue, application of high concentrations of AA stimulated browning, and for this reason, no relationship was observed between pH and

pH y la actividad PFO en segmentos de pera. Estos autores mostraron que no existe una relación simple y directa entre la actividad PFO y los cambios de color en esos tejidos, puesto que el pH y el sustrato tuvieron efecto diferenciado en esas variables. La actividad PFO en los segmentos de pera con AsCa fue mayor en soluciones amortiguadoras a pH 3 que a pH mayor, pero este antioxidante fue igualmente efectivo para controlar el pardeamiento a pH 3 y 7 (Gomes *et al.*, 2010, 2014).

### CONCLUSIONES

El pardeamiento enzimático de frutos de berenjena mínimamente procesados son dependientes del pH del medio. Valores ácidos inducen estrés oxidativo en el tejido y aceleran las reacciones de pardeamiento; por lo cual, la aplicación de ácido ascórbico como antioxidante requiere que el pH se ajuste a valores cercanos a 7. La actividad PFO no se correlaciona significativamente con los cambios de color en el tejido del fruto de berenjena procesado; por lo cual, no se puede usar para predecir el pardeamiento. La firmeza no muestra diferencias significativas con los antioxidantes aplicados, pero el pH ácido acelera el pardeamiento enzimático y limita el efecto del antioxidante. El ascorbato de calcio es una alternativa para extender la vida útil de frutos de berenjena mínimamente procesados, hasta 6 d cuando el almacenamiento se mantiene a 5 °C.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la colaboración del Departamento de Tecnología Poscosecha del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA, España), al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca de manutención (Núm. 291062). También agradecen el apoyo de la LGAC-2: Innovación y Desarrollo de Procesos Agroalimentarios para el Bienestar Social, del programa de Innovación Agroalimentaria Sustentable del Colegio de Postgraduados Campus Córdoba.

### LITERATURA CITADA

Alandes, L., A. Quiles, I. Pérez-Munuera, and I. Hernando. 2011. Fresh-cut apple treated with natural additives: quality and structural aspects. *CyTA J. Food* 9: 17-24.

Ali, H. M., A. M. El-Gizawy, R. E. I. El-Bassiouny, and M. A. Saleh. 2015. Browning inhibition mechanisms by cysteine, ascorbic acid and citric acid, and identifying PPO-catechol-cysteine reaction products. *JFST* 52: 3651-3659.

PFO inhibition. Gomes *et al.* (2014) also reported discrepancies among enzymatic browning, pH and PFO activity in pear slices. These authors showed that there is no simple direct relationship between PFO activity and color changes in these tissues since pH and the substrate had different effects on these variables. PFO activity on pear slices treated with AsCa was higher in buffer solutions at pH 3 than at higher pH, but this antioxidant was equally effective in controlling browning at pH 3 and 7 (Gomes *et al.*, 2010, 2014).

### CONCLUSIONS

Enzymatic browning of minimally processed eggplant fruits is dependent on the pH of the medium. Acid values induce oxidative stress in the tissue and accelerate browning reactions. For this reason, application of ascorbic acid as an antioxidant requires that pH be adjusted to values close to 7. PFO activity did not significantly correlate with color changes in processed eggplant fruit tissue, and therefore, cannot be used to predict enzymatic browning. Firmness was not significantly affected by the applied antioxidants, but acid pH accelerated enzymatic browning and limited the effect of the antioxidant treatment. Calcium ascorbate is an alternative that can extend the shelf life of minimally processed eggplant fruits up to 6 d when stored at 5 °C.

—End of the English version—



Almeida, D. P. F., and D. J. Huber. 2007. Polygalacturonase-mediated dissolution and depolymerization of pectins in solutions mimicking the pH and mineral composition of tomato fruit apoplast. *Plant Sci.* 172: 1087-1094.

Barbagallo, R. N., M. Chisari, and G. Spagna. 2009. Enzymatic browning and softening in vegetable crops: studies and experiences. *Ital. J. Food Sci.* 21: 3-16.

Barbagallo, R. N., M. Chisari, and G. Caputa. 2012. Effects of calcium citrate and ascorbate as inhibitors of browning and softening in minimally processed “Birgah” eggplants. *Postharvest Biol. Technol.* 73: 107-114.

Cao, G., E. Sofic, and R. L. Prior. 1996. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 44: 3426-3431.

Carbonaro, M., and M. Mattera. 2001. Polyphenoloxidase activity and polyphenol levels in organically and conventionally

- grown peach (*Prunus persica* L., cv. Regina bianca) and pear (*Pyrus communis* L., cv. Williams). *Food Chem.* 72: 419-424.
- Concellón, A., M. C. Añón, and A. R. Chavez. 2004. Characterization and changes in polyphenol oxidase from eggplant fruit (*Solanum melongena* L.) during storage at low temperature. *Food Chem.* 88: 17-24.
- Dogân, M., O. Arslan, and S. Dogân. 2002. Substrate specificity, heat inactivation and inhibition of polyphenol oxidase from different aubergine cultivars. *Int. J. Food Sci Technol.* 37: 415-423.
- García, E., and D. M. Barrett. 2002. Preservative treatments for fresh-cut fruits and vegetables. In: Lamikanra, O. (ed). *Fresh-cut Fruits and Vegetables: Science, Technology and Market*. CRC Press (Ed). Boca Raton, FL. pp: 267-304.
- Ghidelli, C., M. Mateos, C. Rojas-Argudo, and M. B. Pérez-Gago. 2013. Antibrowning effect of antioxidants on extract, precipitate, and fresh-cut tissue of artichokes. *LWT Food Sci. Technol.* 51: 462-468.
- Ghidelli, C., M. Mateos, C. Rojas-Argudo, and M. B. Pérez-Gago. 2014a. Effect of antioxidants on enzymatic browning of eggplant extract and fresh-cut tissue: control of enzymatic browning of cut eggplants. *J. Food Process Preserv.* 38: 1501-1510.
- Ghidelli, C., M. Mateos, C. Rojas-Argudo, and M. B. Pérez-Gago. 2014b. Extending the shelf life of fresh-cut eggplant with a soy protein-cysteine based edible coating and modified atmosphere packaging. *Postharvest Biol. Technol.* 95: 81-87.
- Ghidelli, C., and M. B. Pérez-Gago. 2016. Recent advances in modified atmosphere packaging and edible coatings to maintain quality of fresh-cut fruits and vegetables. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 58: 662-679.
- Gomes, M. H., J. F. Fundo, S. Santos, A. L. Amaro, and D. P. F. Almeida. 2010. Hydrogen ion concentration affects quality retention and modifies the effect of calcium additives on fresh-cut "Rocha" pear. *Postharvest Biol. Technol.* 58: 239-246.
- Gomes, M. H., J. F. Fundo, M. F. Poças, and D. P. F. Almeida. 2012. Quality changes in fresh-cut "Rocha" pear as affected by oxygen levels in modified atmosphere packaging and the pH of antibrowning additive. *Postharvest Biol. Technol.* 74: 62-70.
- Gomes, M. H., T. Vieira, J. F. Fundo, and D. P. F. Almeida. 2014. Polyphenoloxidase activity and browning in fresh-cut 'Rocha' pear as affected by pH, phenolic substrates, and antibrowning additives. *Postharvest Biol. Technol.* 91: 32-38.
- Gorny, J. R., B. Hess-Pierce, and A. A. Kader. 1999. Quality changes in fresh-cut peach and nectarine slices as affected by cultivar, storage atmosphere and chemical treatments. *J. Food Sci.* 64: 429-432.
- Jeong, L. H., W. J. Jin, D. M. Kwang, and J. P. Kee. 2008. Effects of anti-browning agents on Polyphenoloxidase activity and total phenolics as related to browning of fresh-cut 'Fuji' apple. *ASEAN Food J.* 15: 79-87.
- Jongen, W. 2002. *Fruit and Vegetable Processing: Improving Quality*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Elsevier Science, <https://books.google.com.mx/books?id=Jq-jAgAAQBAJ>
- Lawless, H.T., and Heymann, H. 1998. *Sensory Evaluation of Food – Principles and Practices*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York. 827 p.
- Mignani, I., L. C. Greve, R. Ben-Arie, H. U. Stotz, C. Li, K. Shackel, and J. Labavitch. 1995. The effects of GA3 and divalent cations on aspects of pectin metabolism and tissue softening in ripening tomato pericarp. *Physiol. Plant.* 93: 108-115.
- Mishra, B. B., S. Gautam, and A. Sharma. 2012. Browning of fresh-cut eggplant: impact of cutting and storage. *Postharvest Biol. Technol.* 67: 44-51.
- Mishra, B. B., S. Gautam, and A. Sharma. 2013. Free phenolics and polyphenol oxidase (PPO): the factors affecting post-cut browning in eggplant (*Solanum melongena*). *Food Chem.* 139: 105-114.
- Ng, A. W. R., and C. W. Wong. 2015. Partial purification and characterization of polyphenol oxidase from round brinjal (*S. melongena* var. depressum). *Int. Food Res. J.* 22: 833-838.
- Pérez-Gilbert, M., and F. García C. 2000. Characterization of catecholase and cresolase activities of eggplant polyphenol oxidase. *J. Agric. Food Chem.* 48: 695-700.
- Pilon, L., P. C. Spricigo, D. de Britto, O. B. G. Assis, A. G. Calbo, A. S. Ferraudo, and M. D. Ferreira. 2013. Effects of antibrowning solution and chitosan-based edible coating on the quality of fresh-cut apple. *IJPTI* 3: 151-164.
- Pinheiro, S. C. F., and D. P. F. Almeida. 2008. Modulation of tomato pericarp firmness through pH and calcium: implications for the texture of fresh-cut fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 47: 119-125.
- Poovaiah, B. W. 1986. Role of calcium in prolonging storage life of fruits and vegetables. *Food Technol.* 40: 86-89.
- Qadri, O. S., B. Yousuf, and A. K. Srivastava. 2015. Fresh-cut fruits and vegetables: critical factors influencing microbiology and novel approaches to prevent microbial risks: a review. *Cogent Food Agric.* 1: 1-11. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/23311932.2015.1121606>. (Consulta: diciembre 2017).
- Sanchís, E., S. González, C. Ghidelli, C. C. Sheth, M. Mateos, L. Palou, and M. B. Pérez-Gago. 2016. Browning inhibition and microbial control in fresh-cut persimmon (*Diospyros kaki* Thunb. Cv. Rojo Brillante) by apple pectin-based edible coatings. *Postharvest Biol. Technol.* 112: 186-193.
- Taylor, S. 2004. *Advances in Food and Nutrition Research*. Academic Press. <https://books.google.com.mx/books?id=NiBqKYo4llwC>.
- Todaro, A., R. Cavallaro, S. Argento, F. Branca, and G. Spagna. 2011. Study and characterization of polyphenol oxidase from eggplant (*Solanum melongena* L.). *J. Agric. Food Chem.* 59: 11244-11248.
- Wehr, J. B., W. M. Neal, and F. P. C. Blamey. 2004. Inhibition of cell-wall autolysis and pectin degradation by cations. *Plant Physiol. Biochem.* 42: 485-492.
- Zambrano-Zaragoza, M. L., E. Gutiérrez-Cortez, A. Del Real, R. M. González-Reza, M. J. Galindo-Pérez, and D. Quintana-Guerrero. 2014. Fresh-cut Red Delicious apples coating using tocopherol/mucilage nanoemulsion: effect of coating on polyphenol oxidase and pectin methylesterase activities. *Food Res. Int.* 62: 974-983.

