Estratègies per a la conservació en fresc de la tòfona negra

A càrrec de Dr. Domingo Blanco Parmo Universitat de Zaragoza

III Jornada de divulgació sobre el conreu i les característiques de la tòfona. Universitat de VIC-UCC, 2014 Coordinació: Dra. Consol Blanch

Material d'arxiu





Prof. Dr. Domingo Blanco Parmo

Grupo de Investigación en Alimentos de Origen Vegetal. Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos.

Facultad de Veterinaria Universidad de Zaragoza dblanco@unizar.es





Grupo de Investigación en Alimentos de Origen Vegetal y Fúngico - Universidad de Zaragoza



Proyectos INIA: "Desarrollo integral de la truficultura de Teruel"



[PET2007-13-C07-06] [2007-10] [RTA2010-0007-C02-02] [2011-13]

"Estrategias para la conservación en fresco de la trufa negra



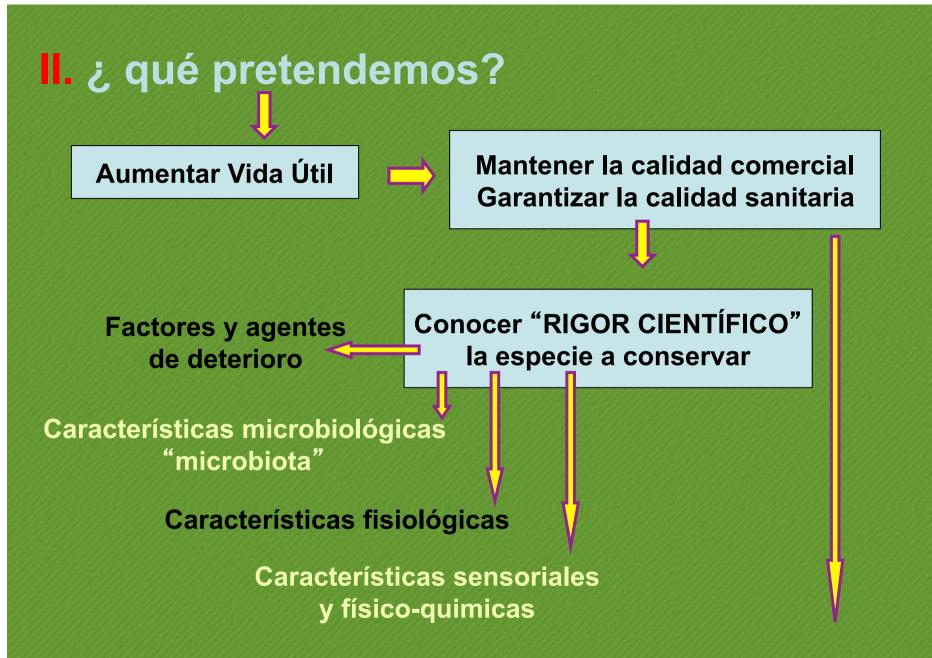
Dra. Eugenia Venturini Crespo Dra. Carmen Rivera Medina Lodo. Pedro Marco Montori Dr. Domingo Blanco Parmo

III Jornada de divulgación del cultivo y las características de la trufa 8 marzo 2014, Vic (Barcelona)

- L. ¿ qué problemas plantea "a priori" instaurar estrategias de conservación en fresco?
- especies de trufas (G° *Tuber*, G° *Terfezia*) que pueden comercializarse en España en fresco:

La experiencia nos indica que cada especie requiere de una estrategia particular

- Son alimentos "naturales": no precisan sistema de conservación No hay "en general" tradición empresarial
 - (3º) El consumidor aun no está preparado para reconocer la calidad
 - 4º Alto % de trufas frescas no sigue los circuitos habituales de comercialización
 - R.D. 30/2009 "Trufa fresca": se ofertan sin ningún tipo de tratamiento excepto la refrigeración; ! no permite el lavado ¡
 - Es y será preciso invertir en I+D+I (trufas, boletos, seta cardo, niscalos, etc.)



Normativa legal aplicable

III. Estrategias para conservar la trufa negra fresca y preservar su aroma

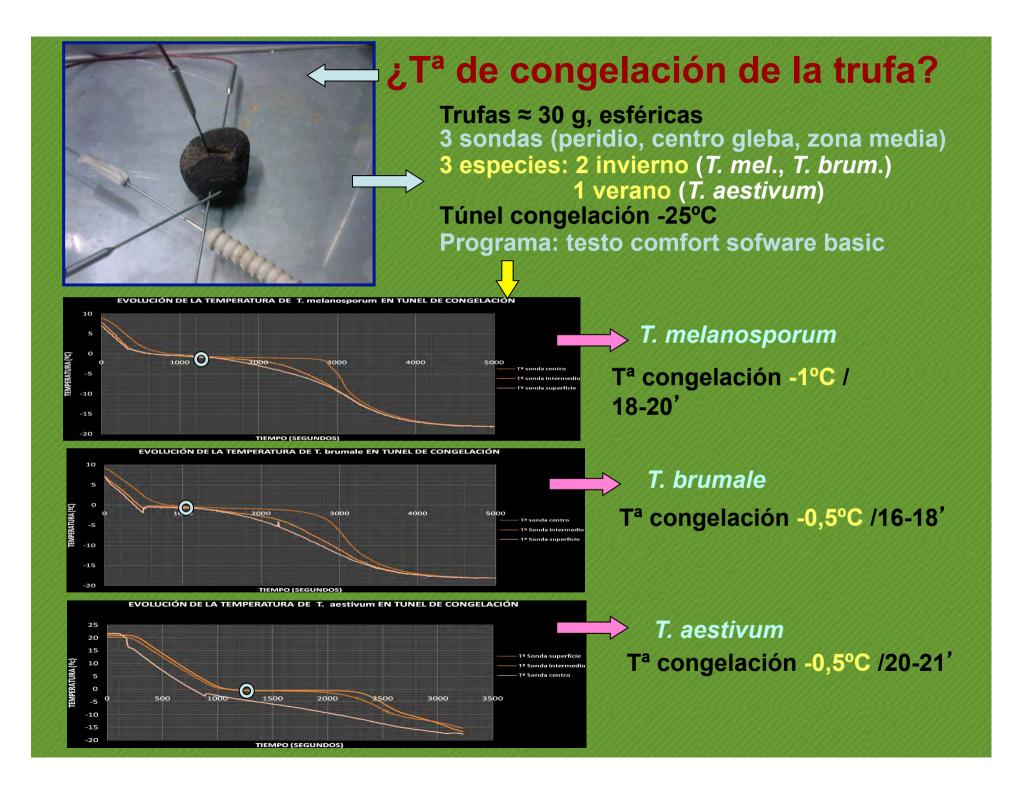
1º Refrigeración inmediata tras la recolección

2º Eliminación tierra de cobertura +
3º Selección de materia prima

4º Descontaminación microbiana

5º Envasado en atmósferas modificadas

Selección atmósfera (% O₂, % CO₂) Selección película plástica



1º Refrigeración inmediata y contínua (0°C a 4°C) Cadena del frío

△ vida comercial de la trufa

- Actividad respiratoria
- Metabolismo ("huele menos")
- Consumo nutrientes
- ↓ Actividad microbiana:
 - m.o. alterantes
 - m.o. patógenos
- ↓ Actividad de parásitos (larvas)



¡Actividad respiratoria es máxima cuando la trufa está madura!

¿Pero cuánto respira una trufa?



Agaricus bisporus

7 días / 5°C

7 días / 15°C



Determinación actividad respiratoria [Ro2, Rco2]

T. melanosporum vs. T. aestivum







R= ml / Kg / h Similar 4 y 10°C Diferente 23°C:

! T.m. >> T.a.;

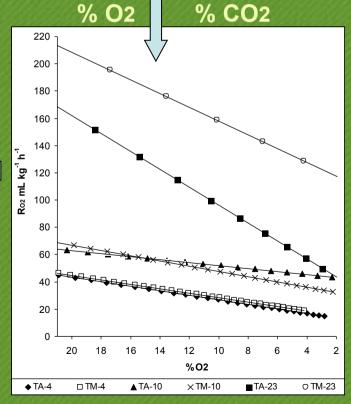
Stres

postrecolección

Ta, aire, Eh+, luz

| Especie | T ^a | R_{o2} | R_{CO2} | |
|-----------------|----------------|----------|-----------|---|
| T. aestivum | 4°C | 45 | 61 | |
| | 10°C | 65 | 80 | |
| | 23°C | 168 | 176 | u |
| T. melanosporum | 4°C | 45 | 61 | |
| | 10°C | 71 | 72 | |
| | 23°C | 217 | 265 | |

A.R. ∆ conforme aumenta la T^a Ro2 y Rco2 muy elevada Relación lineal A.R. y %O2







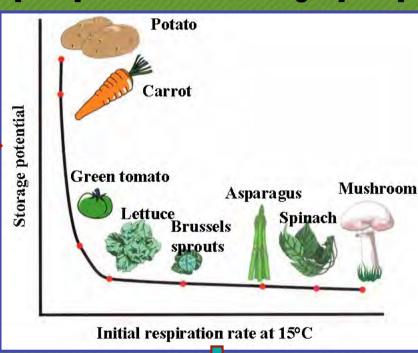


42 ml CO₂ /Kg/h [10° C] $< 10^{\circ}$ ml CO₂ /Kg/h [10° C] < 355 ml CO₂ /Kg/h [10° C]

Trufas ≈ 70-80 ml CO₂ /Kg/h [10°C]
60 " [4°C]

| Tasa respiratoria a 5ºC (ml CO ₂ /Kg/h) | Especie | |
|--|-----------------------------------|--|
| Muy baja: <5 | Frutos secos, calabaza, cebolla | |
| Baja: 5-10 | Manzana, cítricos, patata, tomate | |
| Moderada: 11-20 | Zanahoria, cereza, melocotón | |
| Alta: 21-30 | Alcachofa, endibia, lechuga | |
| Muy alta: >30 | Champiñón, espinaca, espárrago | |

Debemos reducir la T^a
Debemos reducir la [O₂]



Trufas son frutos altamente perecederos



Vida útil en fresco muy reducida

Cosechadas en plena madurez, próximas a la senescencia



Mushroom Description

Truffle

Tuber

Shelf Life

5 Days



Wild or Cultivated

Wild

Description

Strong aromatics dense nut meat like texture

Ausencia de tecnologías post-cosecha: sólo se aplica el frío y eventualmente



2º. Eliminación tierra de cobertura



Agua potable (mejor < Ta) + cepillado suave + ultrasonidos

3º. Selección materia prima (La conservación nunca mejora la

calidad) Eliminar

A. Presencia abundante de mohos y trufas senescentes o "pasadas"





B. Traumatismos manifiestos (por cuchillo y/o perro)

Siembran microorganismos; liberan nutrientes Incrementan la actividad respiratoria; destrucción peridio barrera física antimicrobiana



C. Presencia masiva de larvas de dípteros y coleópteros micófagos (Técnica de flotación)







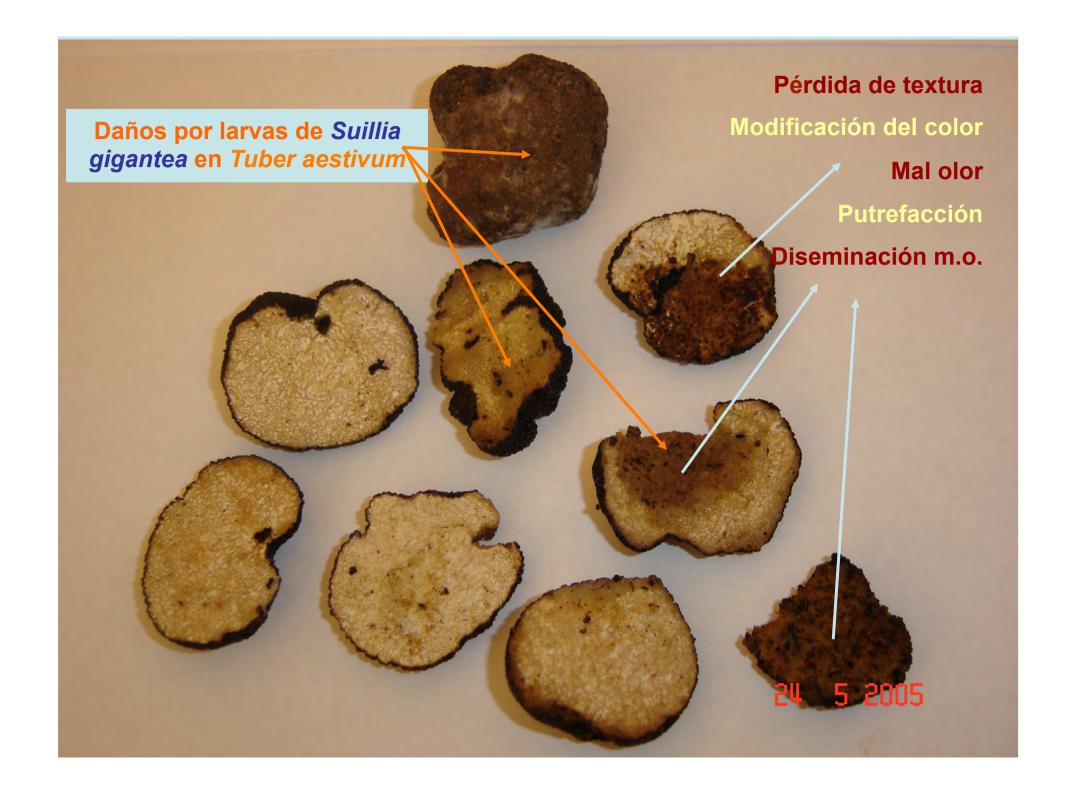
Helomyza tuberivora o Suillia gigantea (mosca de la trufa)







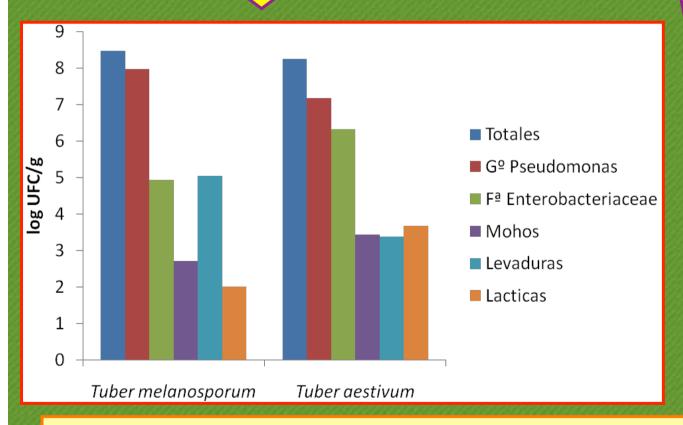
Leiodes cinnamomea (escarabajo de la trufa)



4º. Descontaminación microbiana

Elevada carga microbiana "superficial" en trufa negra y trufa de verano

iii10⁸ m.o. / g = 100.000.000 microorganismos / gramo !!!



- Reducir microorganismos alterantes
- Eliminar microorganismos peligrosos consumidor:

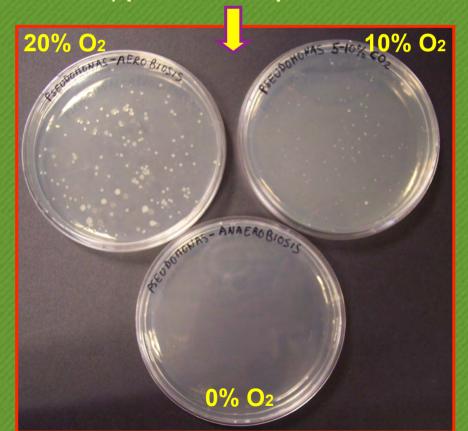
"consumo en crudo"

! Desinsectación ¡

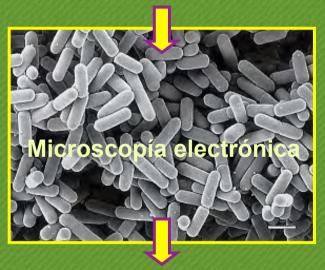
¡ Una trufa sana no tiene microorganismos ni larvas en su interior!

Gº Pseudomonas

- ≈ 80-90% microorganismos asociados a la trufa
- Favorecen el desarrollo de la trufa (rizosfera)
- Tras la recolección, pueden comportarse como alterantes
- Principales microorganismos alterantes de carnes, pescados, huevos, leche, verduras y setas: fuertemente proteolíticas
- Crecen bien a T^a de refrigeración y en medios pobres en nutrientes (ej. truferas) pero solo en presencia de aire



Más importante Ps. fluorescens



Citterio (2001) T. magnatum

> 50% quitinasas y celulasas

Colonias de pseudomonas en Agar CFC (25°C / 3 días)

Trufas alteradas por pseudomonas fluorescentes



Trufas expuestas a luz ultravioleta 365 nm

Trufas sanas,
no
deterioradas

F_a Enterobacteriaceae

≈100.000 / gramo trufa
Participan en el deterioro biótico
Crecen mal bajo refrigeración
Proteolíticas y fermentativas

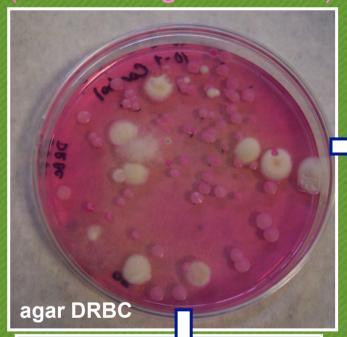


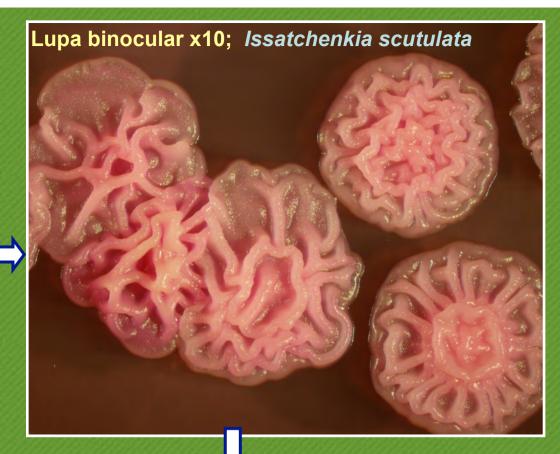




Colonias enterobacterias en agar VRBG

Levaduras (≈10.000 / gramo trufa)









Fermentativas
Aerobias facultativas
Crecen T^a ambiente
Volumen 1000 veces
superior bacterias
¿Aportan aromas?
DMS, DMDS

Mohos (≈1000/gramo trufa) : crecen Tª ambiente, solo en presencia aire, equipo enzimático muy diverso (celulasas y quitinasas).





Gº Trichoderma



Gº Penicillium



Gº Cladosporium





G^o Aspergillus

Procesos descontaminación microbiana ensayados [T. aestivum]



- > > 20.000 vibraciones / segundo [sonicación]
- Eliminan tierra residual
- Facilitan la disgregación de biopelículas o asociaciones microbianas
- Disminuyen la carga microbiana por acción física

Agentes descontaminantes químicos (4°C)

- Hipoclorito sódico (500 mg/L)
- Etanol 50 y 70% **
- Peróxido de hidrógeno (5%)
- Ozono

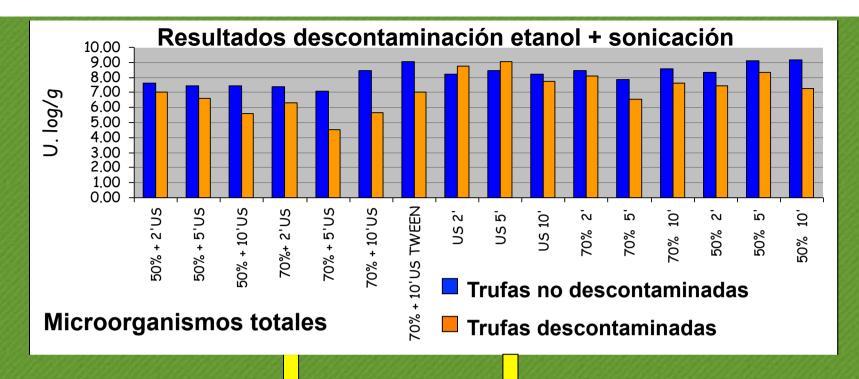
Agentes descontaminantes físicos

- Altas presiones hidrostáticas (100-300 Mpa)
- Radiaciones ultravioletas C (254 nm, 10min)
- Radiaciones ionizantes (1,5 y 2,5 KGy)**
 ¡Larvas de insectos altamente sensibles!

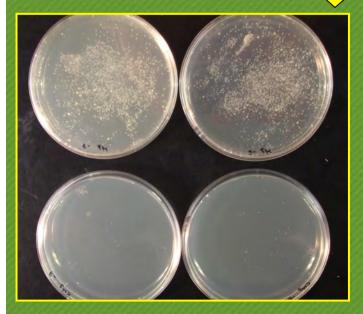
Descontaminación interna ** Tratamientos más eficaces



Aclarado y secado





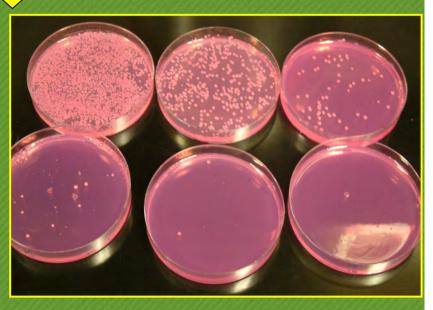


Trufa negra no descontaminada

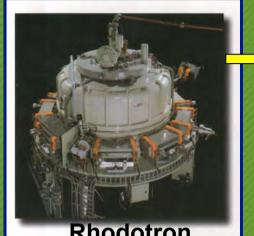
Trufa negra descontaminada

[70% Etanol + 10 'Ultrasonidos]

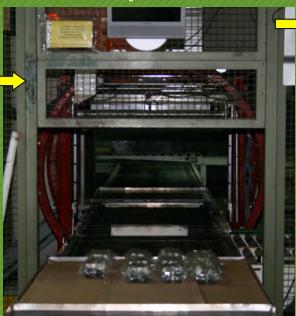
Levaduras



Descontaminación / desinsectación por radiaciones ionizantes (radiaciones β o electrones acelerados)

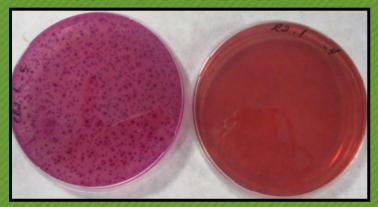


Rhodotron



1,5 kGy y 2,5 kGy

Reducción de 100 millones de m.o. a sólo 100



Irradiados 2kGy No irradiados







Efecto de radiaciones ß sobre Agaricus bisporus y Pleurotus ostreatus







Irradiados y mantenidos en envases con plástico retractilable



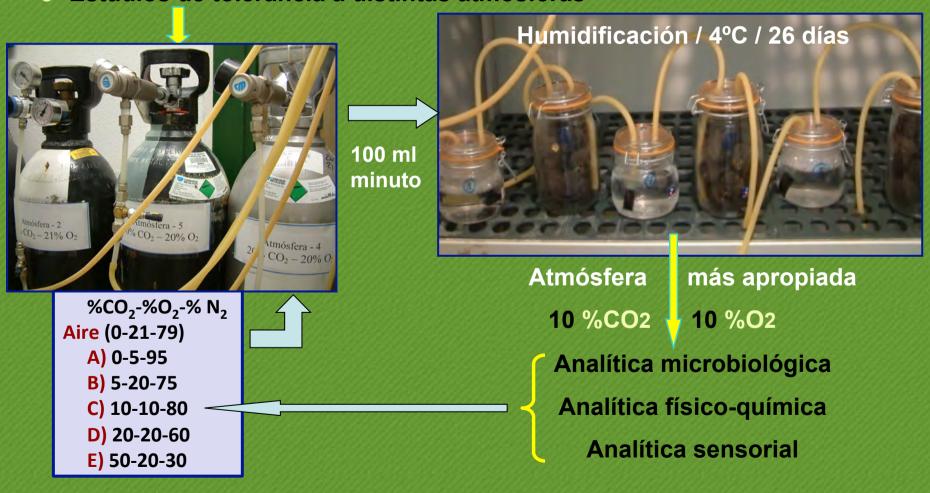
Descontaminación altas presiones hidrostáticas (3000 atm./ 10 min.)



Ablandamiento, pérdida CRA, trufas "Iloran" Inactivación larvas de insectos

5° Envasado en atmósferas modificadas o protectoras Premisas

- 1ª Establecer carga microbiana y grupos m.o. potencialmente alterantes
- 2ª Conocer la actividad respiratoria de la trufa
- 3ª Estudios de tolerancia a distintas atmósferas



4ª Elección de la película plástica más adecuada

Análisis Microbiológico

- Aerobios mesófilos tot.) (ISO:4833:2003)
- ♣ G°Pseudomonas (ISO: 13720:2001)
- FaEnterobacteriaceae (ISO:21528:2:2004)
- Mohos y Levaduras (ISO:7954:1998)
- Listeria monocytogenes (ISO:11290:1:2004)





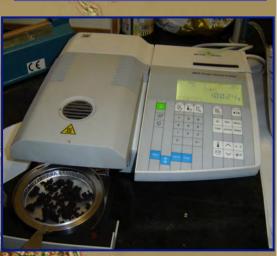


Análisis Fisico-químico

- Color (colorímetro Minolta)
- Textura (Texturómetro)
- pH (Crison Basic 20)
- Humedad (analizador automático humedad)
- Pérdida peso o merma







Análisis sensorial

1º Crear y adiestrar panel de catadores (5-8 catadores)

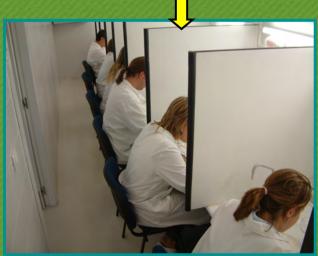






2º Realizar análisis sensorial sala de catas (rellenar ficha)





Valoración global externa (1 a 9):

Color, textura, forma intensidad aromática, defectos

Valoración global interna (1 a 9):

Color, aroma, sabor, aspecto, defectos

- ♣ De los resultados obtenidos podemos concluir que atmósferas reducidas en O₂ y enriquecidas en CO₂ son beneficiosas para la conservación de trufas frescas, al impedir el crecimiento microbiano, reducir la actividad respiratoria y mantener durante bastante tiempo el nivel de calidad exigido a dicho alimento.
- Además atmósferas con ≈ 10% CO₂-10 O₂% son relativamente fáciles de conseguir con una adecuada película plástica; el envasado de trufas frescas en AMP se considera casi como una técnica de conservación / comercialización de obligado cumplimiento en el futuro.

4^a Elección película plástica de envasado



 $\uparrow \mathsf{CO}_2, \downarrow \mathsf{O}_2$

Plástico poco permeable



 $\downarrow CO_2, \uparrow O_2$

Plástico muy permeable



10% CO₂, 10% O₂
Plástico permeabilidad adecuada

ANTECEDENTES DETERMINADOS

Pseudomonas, mohos e insectos principales alterantes

Alimentos con una elevada actividad respiratoria, incluso a T^a de refrigeración

Estudios de tolerancia demuestran los beneficios de una atmósfera reducida en O2 y enriquecida en CO2

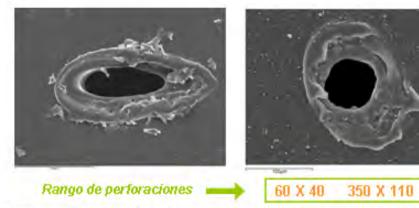




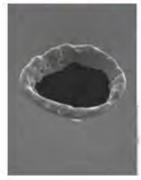
Película plástica microperforada

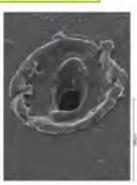
Elección película plástica de envasado







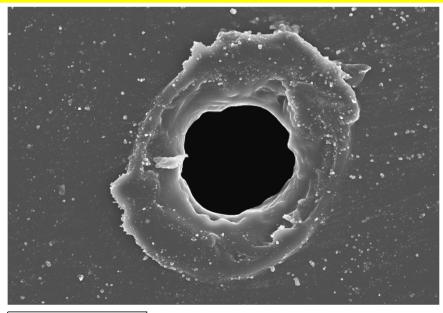




Película plástica microperforada mediante laser:

Capa polietileno 40 µm

Capa de poliéster 12 µm



100µm

Estrategia para conservar y comercializar la trufa negra en fresco y preservar su aroma

1º Refrigeración inmediata tras la recolección (Ta<5°C)

٠

2º Eliminación total tierra de cobertura (agua fría + cepillado suave + ultrasonidos)

+

3º Selección de materia prima (empleo equipos ópticos)

٠

4º Descontaminación microbiana
Etanol 70%+ us Radiaciones ionizante
[aclarado] [presencia larvas]

5º Envasado en atmósferas modificadas película plástica microperforada

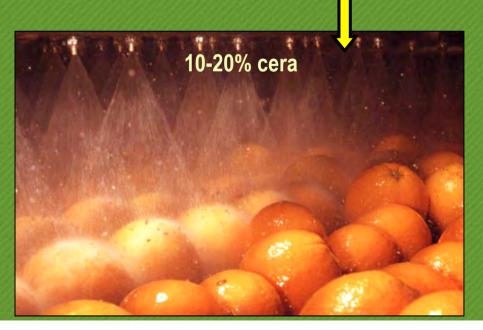
4 semanas vida útil

5-6 semanas vida útil

4°) Aportaciones a la conservación en fresco de las trufas:

"Aplicación de recubrimientos (películas) comestibles" a) Antecedentes

- CHINA (s. XII): ceras para retardar desecación frutas
- EEUU: parafinas para frutas
- ACTUALMENTE aplicación habitual de ceras y aceites en cítricos para:
 - Mejorar apariencia (brillo, suavidad, color)
 - Retardar pérdidas humedad
 - Controlar su maduración



b) Definición: Fina capa de material comestible aplicada alrededor del alimento mediante pulverización, inmersión, etc. y que puede ser consumido como parte del producto

"Aplicación de recubrimientos comestibles"

- c) Posibles funciones en las trufas frescas
- Prevenir la pérdida de humedad y de peso (hielo en trufas congeladas)
 - Reducir la pérdida o absorción de compuestos volátiles
- Reducir la difusión y el contacto con el oxígeno
 - Ralentizar el metabolismo o reducir la actividad respiratoria
- Reducir el crecimiento microbiano (pseudomonas y mohos)
 - Protección microbiológica (acción antimicrobiana).
- Mejorar el aspecto externo (brillo, limita deshidratación)

!!! Aumentar la vida útil ¡¡¡

d) tipos de recubrimientos comestibles

Matriz principal

Proteínas: colágeno, caseína, gluten, soja

Polisacáridos: almidón, celulosa, pectina, quitosán, alginato, carragenano

Lípidos: ceras, resinas ! MEZCLAS i

Plastificantes: glicerina, sorbitol

Agentes antimicrobianos

A. orgánicos: sórbico, propiónico

Extractos plantas: tomillo, clavo,

ajo, mostaza

Otros: nisina, lisozima, EDTA, etc.



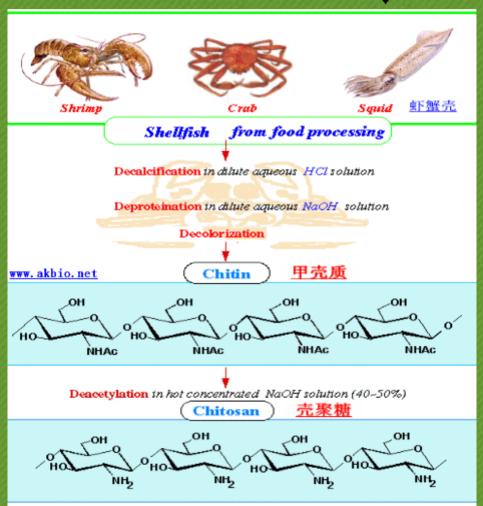


"Aplicación de recubrimientos comestibles"

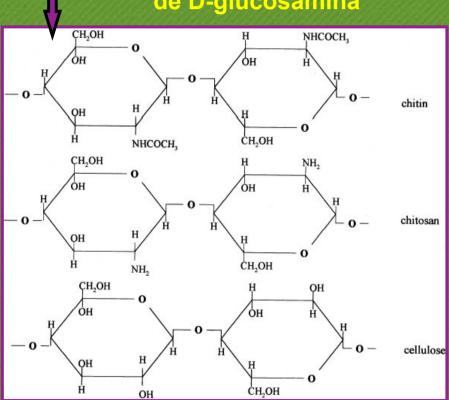
e) Matriz seleccionada:

quitosán o quitosano





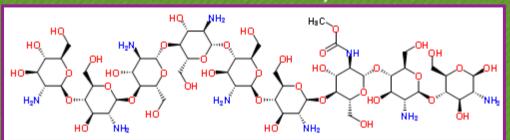
Polímero lineal de unidades de D-glucosamina



!!! Muy parecido a la quitina y a la celulosa ¡¡¡

"Aplicación de recubrimientos comestibles"

e) Matriz seleccionada:



Quitosán

1-2% quitosán

1-2% a. acético

Agua Agitación 12 h.

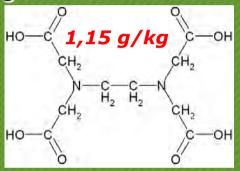
Fungicida y Bactericida Reduce Actividad Respiratoria

f) Agentes antimicrobianos:

Sorbato Potásico [E-202]

₩ Fungicida (Mohos)



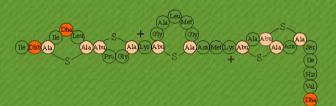


EDTA [E-385]

Quelante de metales
Bacterias (G° Pseudomonas)



6,7 mg/kg

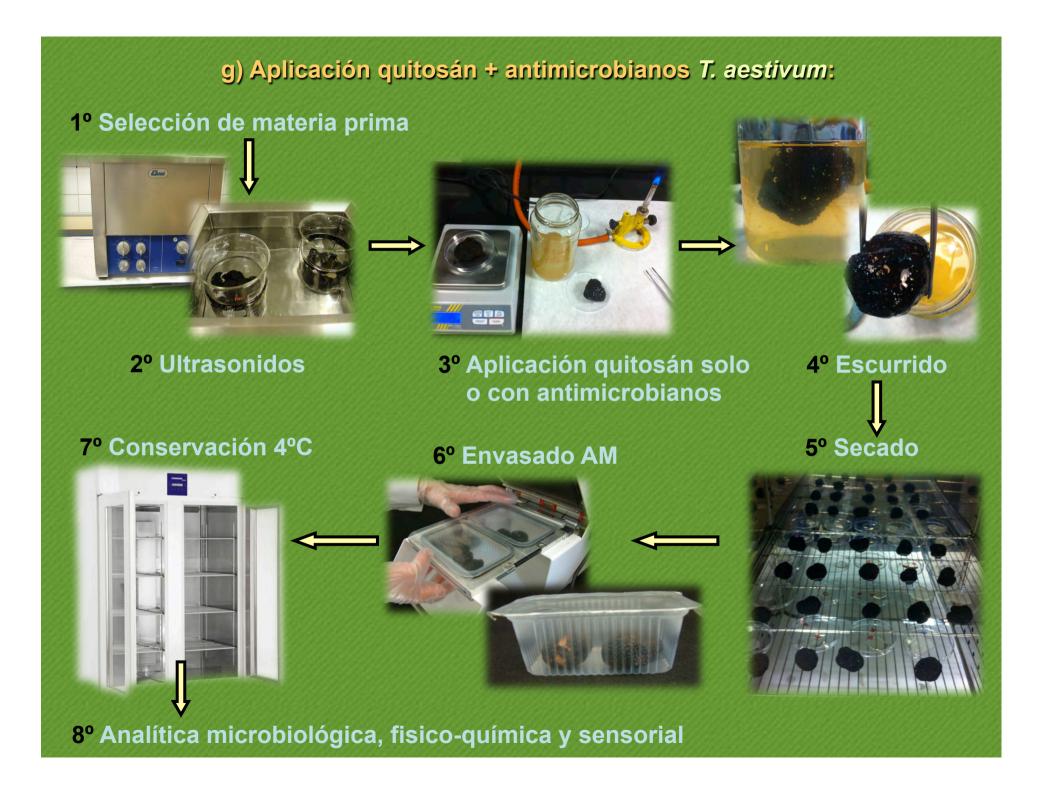


+ Efecto sinérgico Nisina [E-234] (*Lactococcus lactis*)

Bactericida

Bacterias Gram+

Listeria monocytogenes
Bacillus cereus
Presentes tierra



h) Aplicación quitosán + antimicrobianos T. aestivum:

- Analítica microbiológica + sensorial 5 lotes conclusiones



Control Aire
14 días



Control AM 28 días



AM + Q + Sorbato K 35 días



AM + Quitosán 28 días



AM + Q + E + Nis35 días



AM + Q + Sorbato K 42 días

GRACIAS DE TODO...



Por vuestra atención

Investigación Subvencionada por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. INIA-PET2007-013-C07

Ami hijo

2º Objetivo principal

Encontrar el método que nos permita incorporar con la mayor eficacia y rendimiento posible los componentes aromáticos de la trufa a distintas matrices alimentarias, especialmente al aceite de oliva.

Objetivos parciales

- a) Descubrir cuales son los compuestos responsables (descriptores) del aroma de la trufa (T. m. vs. T. a.)
- b) Desarrollar técnicas de elaboración de aceites trufados: mayor rendimiento, más seguros, más duraderos
- c) Estudio de la vida útil del aceite trufado
- d) Estudio aromático de los aceites trufados comerciales y esencias artificiales
- e) Aptitud de otros aceites: ej. girasol





a) Obtención del perfil aromático de Tuber melanosporum y T. aestivum por espacio de cabeza dinámico N₂: 100ml / min / 450 min. Cartucho resinas 20g trufa troceada Diclorometano + 5% metanol gas 🔱 cromatografía T^a ambiente (25°C) Cromatograma 8000000 7000000 aroma de trufa Olfatometría 6000000 negra 5000000 6 miembros 4000000 entrenados 3000000 2000000 1000000

Sistema GC-Olfatometría

Inyección aroma o extracto de trufa sin concentrar

FISONS

6 olfateadores entrenados

Tiempo ensayo ≈ 40 min.

Tipo de aroma detectado

Intensidad: baja, madia, alta

Columna polar DB-WAX

Estudio Olfatométrico de *Tuber melanosporum*

| I.R. (Segundos) | descriptor | compuesto | % F.M. |
|-----------------|---------------------|----------------------------|--------|
| <<1000 | trufa | Dimethyl sulfide | 87 |
| <<1000 | Humedad / trufa | Dimethyl disulfide | 86 |
| <1000 | Fresa / Nata | Isobutirato de etilo | 78 |
| 1044-1052 | Frutal | Butirato etilo | 63 |
| 1069-1073 | Anisado | 3-Metilbutirato etilo | 33 |
| 1093-1100 | Champiñón / Terroso | 1-Hexen-3-one | 33 |
| 1216-1221 | Oleoso / Plátano | Alcohol isoamílico | 65 |
| 1332-1337 | Fritos / Maiz | 2-Metil-3-Furantiol | 33 |
| 1434-1440 | Champiñón / polvo | 1-Octen-3-ol | 31 |
| 1472-1482 | Aceite / cremoso | Diallyl disulfide | 33 |
| 1517-1522 | Gasoil / Humo | 1,2-dimercaptocyclopentane | 47 |
| 2035-2039 | Tostado | Furaneol | 41 |
| 2092-2099 | Fenol / Carne Cerdo | p-Cresol | 33 |
| 2125-2156 | Tostado | Norfuraneol | 35 |
| 2189-2191 | Regaliz / Caramelo | Soloton | 31 |
| 2251-2258 | Betún | 2,6-dimethoxyphenol | 39 |

En la tabla se presentan los 16 odorantes o descriptores más importantes.

[&]quot;%FM": frecuencia modificada (intensidades puntuadas por cada catador y frecuencias).

[%]FM ≥ 30% se considera odorante importante.

[%]FM < 30% se considera ruido.

Otros aspectos ya desarrollados:



Perfil compuestos aromáticos del aceite de oliva

Perfil compuestos aromáticos de aceites de oliva trufados comerciales

Perfil compuestos aromáticos de aromatizantes o esencias artificiales de trufa

Perfil compuestos aromáticos de aceites de oliva trufados por nosotros (5 procedimientos diferentes)

Otros aspectos a desarrollar:

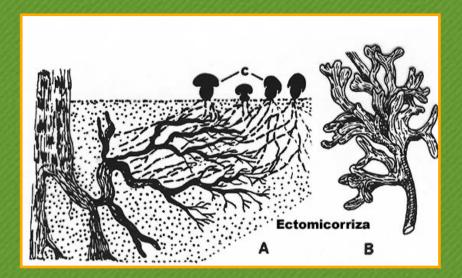


Descriptores del aroma de T. aestivum

Descriptores del aroma de T. indicum

fraudes

I. Go Tuber: hongos micorrícicos



Simbiosis con árboles

- a- △ absorción de nutrientes y agua
- **b-** Δ defensa frente a enfermedades
- c- Favorece la adaptación en situaciones de estrés (sequía)



Encina

T. melanosporum





Avellano

Roble

Simbiosis con microorganismos (rizosfera): Gº Pseudomonas

Reino Plantae + Reino Fungi + Reino Monera + Reino Animalia + ...