

## Inhibition of ethylene production in broccoli by essential oil vapors released from active packaging

## Inhibición de la producción de etileno del brócoli mediante vapores de aceites esenciales de envases activos

A. Navarro-Martínez\*, G.B. Martínez Hernández, A. López-Gómez

Grupo de Ingeniería del Frío y la Seguridad Alimentaria, Departamento de Ingeniería Agronómica, Universidad Politécnica de Cartagena, Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena. Spain.

\*alejandra.navarro@upct.es

### **Abstract**

**Broccoli is an inflorescence whose useful life can be highly reduced during its post-harvest storage due to the high sensitivity of this Brassica to ethylene. The most obvious visual effect due to ethylene is the yellowing of this vegetable. The ethylene production in broccoli could be reduced with essential oils (EOs), even at low concentrations. In this Thesis, the effect of encapsulated essential oils (inclusion complexes formed with  $\beta$ -cyclodextrin) released from an active package will be studied on the ethylene production of broccoli. The expected results are: decrease of the ethylene production (understanding the gene expression of the key enzymes of the ethylene biosynthesis pathway) and extension of the broccoli shelf life with the active packaging with EOs.**

**Keywords:** carvacrol; inclusion complex; quality; *Brassica oleracea* var. italica.

### **Resumen**

**El brócoli es una inflorescencia cuya vida útil puede verse altamente reducida durante su conservación postcosecha debido a la alta sensibilidad de esta Brassica al etileno. El efecto visual más evidente debido al etileno es el amarilleamiento de esta hortaliza. La producción de etileno del brócoli podría ser reducida con aceites esenciales (AES), incluso a bajas concentraciones. En esta Tesis se estudiará el efecto de aceites esenciales (complejos de inclusión formados con  $\beta$ -ciclodextrina) liberados de un envase activo sobre la producción de etileno del brócoli. Los resultados esperados son: un descenso en la producción de etileno (y conocimiento de la expresión génica de las enzimas claves en la ruta de biosíntesis del etileno) y un aumento de la vida útil del brócoli con el envase activo con aceites esenciales.**

**Palabras clave:** carvacrol; complejo de inclusión; calidad; *Brassica oleracea* var. italica.

## **1. INTRODUCCIÓN**

En la actualidad se estiman unas pérdidas del 45-55 % de frutas y hortalizas (1). Dichas pérdidas se deben principalmente a las pérdidas por calidad postcosecha, y en gran medida a la aceleración de la senescencia por la acción del etileno (conocida como la hormona de la maduración en las plantas) (2). El etileno es clave en los mecanismos que controlan el crecimiento y desarrollo de las plantas. En general, la acción del etileno no es deseada (excepto algunos usos como en la desverdización de cítricos) ya que reduce la vida útil de los productos hortofrutícolas al acelerar su maduración y senescencia. En particular, la acción del etileno en plantas induce la aparición de brotes y floración, separación de la cáscara y liberación del fruto o destrucción de la clorofila, fundamentalmente. Algunas hortalizas como el brócoli producen poco etileno, pero son

muy sensibles a él. En particular, el efecto del etileno más característico en el deterioro de la calidad del brócoli es el amarilleamiento de las pellas o inflorescencias, lo que provoca un rechazo por parte del consumidor (3). Por otro lado, se produce una pérdida de la calidad bioactiva del brócoli, que es rico en compuestos bioactivos (p.e., glucosinolatos, compuestos fenólicos, vitamina C, carotenoides, etc.) (4). Además, el perfil del consumidor actual se caracteriza por exigir productos naturales saludables sin aditivos, seguros y con una larga vida útil (5), produciéndose éstos mediante procesos sostenibles con envases biodegradables que reduzcan el uso del plástico. Por lo tanto, son necesarias técnicas de postcosecha efectivas y sostenibles para extender la vida útil de productos hortofrutícolas sensibles a la acción del etileno, como es el caso del brócoli.

Los aceites esenciales (AEs) son extractos naturales de plantas, ampliamente aceptados por el consumidor, los cuales poseen elevadas propiedades antimicrobianas y antioxidantes. Dichas propiedades antimicrobianas están vinculadas a sus compuestos mayoritarios, entre los que se encuentran terpenos, terpenoides y compuestos aromáticos/alifáticos de bajo peso molecular (6). En concreto, el AE de orégano se compone principalmente de carvacrol y timol. La alta actividad antimicrobiana *in vitro* de los AEs y sus principales componentes frente a varios microorganismos alterantes y patógenos ha sido previamente estudiada (6,7).

Además, la actividad antimicrobiana de los componentes de los AEs se incrementa cuando se combina con su AE completo en un 10-30 % (por ejemplo, carvacrol: AE de orégano, 80:20) (6-9). Sin embargo, otros potenciales beneficios de los AEs para mantener la calidad de frutas y hortalizas, extendiendo su vida útil, aún no han sido estudiadas. En concreto, en un experimento puntual que se realizó con manzanas se disminuyó su producción de etileno (hasta un 50-72 %) mediante la exposición a diferentes AEs (linalool, citral, geraniol, citronela, p-cieno,  $\beta$ - pineno, 1-octanal, etc.) (10). Por otra parte, se ha demostrado a nivel genético que los AEs compiten por los sitios activos de enzimas pardeantes en lechuga, quedando así inhibida la actividad de dichas enzimas (11). Sin embargo, no se han estudiado en detalle el mecanismo de inhibición de la producción de etileno mediante los AEs. Por lo tanto, es de gran interés el estudio en profundidad (expresión enzimática/genética) de la respuesta en la producción de etileno a los AEs, para así desarrollar un envase activo de liberación controlada de AEs y poder extender así la vida útil de productos hortofrutícolas sensibles al etileno, como es el caso del brócoli.

Los objetivos de la tesis son: 1. Estudio del efecto de varios aceites esenciales (AEs) (individuales o combinados) liberados de envases activos, a diferentes dosis y temperaturas de conservación, sobre la producción de etileno del brócoli. 2. Obtención de un modelo matemático para optimizar la dosis y combinación óptima de AEs en los envases activos a diferentes temperaturas. 3. Determinación de los cambios en la calidad del brócoli envasado en los envases activos optimizados a diferentes temperaturas de conservación. 4. Determinación de la extensión de la vida útil del brócoli con el envase activo optimizado a diferentes temperaturas de conservación. 5. Difusión de resultados, innovación y transferencia de tecnología al sector industrial.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

Se llevarán a cabo las siguientes Tareas, con la metodología que se indica: Determinación de la producción de etileno del brócoli mediante cromatografía de gases (4). Determinación de la actividad de las enzimas implicadas en la biosíntesis de etileno en brócoli (12). Determinación de la expresión génica de los factores de transcripción de las enzimas involucradas en la biosíntesis de etileno y los receptores de membrana de etileno del brócoli (13). Desarrollo de un modelo predictivo que se ajuste a la liberación de AEs del envase activo. Análisis microbiológicos durante la conservación del brócoli con el envase activo (3). Análisis de parámetros físico-químicos (pérdida de peso, incidencia de pudriciones, color, contenido de sólidos solubles, pH y acidez titulable) durante la conservación del brócoli con el envase activo (3). Análisis sensorial del

brócoli durante su conservación con el envase activo. Determinación de la calidad bioactiva del brócoli (glucosinolatos, compuestos fenólicos, carotenoides y capacidad antioxidante) durante su conservación con el envase activo (14). Desarrollo de modelos matemáticos para describir los cambios en los atributos del producto (microbiano, fisicoquímico, sensorial y bioactivo) (15). Aplicación de modelos matemáticos para predecir la vida útil del brócoli (16). Difusión de resultados, innovación y transferencia de tecnología al sector industrial.

### 3. RESULTADOS ESPERADOS

Entre los resultados esperados en este estudio se enumera: Efecto de los aceites esenciales sobre la producción del brócoli a nivel enzimático y expresión génica, reducción de la producción de etileno en brócoli con un envasado activo con liberación controlada de aceites esenciales y mejora de la calidad del brócoli y aumento de su vida útil.

### 4. AGRADECIMIENTOS

Quería agradecer a mi director de Tesis Antonio López Gómez por brindarme esta oportunidad y a mi codirector Ginés Benito Martínez Hernández por guiarme en este camino tan apasionante.

### 5. REFERENCIAS

1. Crisosto CH, Mitchell FG. Postharvest handling systems: Small fruits (I. Table Grapes). In: Kader AA, editor. *Postharvest Technology of Horticultural Crops* [Internet]. Davis CA (USA): Center, UC Postharvest Technology; 2002 [cited 2020 Apr 17]. p. 535. Available from: [http://postharvest.ucdavis.edu/Bookstore/Postharvest\\_Technology\\_of\\_Horticultural\\_Crops](http://postharvest.ucdavis.edu/Bookstore/Postharvest_Technology_of_Horticultural_Crops)
2. Kader AA. *Postharvest Technology of Horticultural Crops - An Overview from Farm to Fork*. J Appl Sci Technol. 2013;1(1):1-8.
3. Martínez-Hernández GB, Gómez PA, Pradas I, Artés F, Artés-Hernández F. Moderate UV-C pretreatment as a quality enhancement tool in fresh-cut Bimi® broccoli. *Postharvest Biol Technol*. 2011;62(3):327-37.
4. Martínez-Hernández GB, Artés-Hernández F, Gómez PA, Artés F. Induced changes in bioactive compounds of kailan-hybrid broccoli after innovative processing and storage. *J Funct Foods*. 2013;5(1):133-43.
5. AECOSAN. Las tendencias del consumo y del consumidor en el siglo XXI [[http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/web/noticias\\_y\\_actualizaciones/noticias/2018/jornada\\_dialogo\\_nacional.htm](http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/web/noticias_y_actualizaciones/noticias/2018/jornada_dialogo_nacional.htm)], 2018.
6. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int J Food Microbiol*. 2004;94(3):223-53.
7. López-Gómez A, Ros-Chumillas M, Antolinos V, Buendía-Moreno L, Navarro-Segura L, Sánchez-Martínez MJ, et al. Fresh culinary herbs decontamination with essential oil vapours applied under vacuum conditions. *Postharvest Biol Technol*. 2019;156:110942.
8. Buendía-Moreno L, Ros-Chumillas M, Navarro-Segura L, Sánchez-Martínez MJ, Soto-Jover S, Antolinos V, et al. Effects of an Active Cardboard Box Using Encapsulated Essential Oils on the Tomato Shelf Life. *Food Bioproc Tech*. 2019;12(9):1548-58.
9. Buendía-Moreno L, Sánchez-Martínez MJ, Antolinos V, Ros-Chumillas M, Navarro-Segura L, Soto-Jover S, et al. Active cardboard box with a coating including essential oils entrapped within cyclodextrins and/or halloysite nanotubes. A case study for fresh tomato storage. *Food Control*. 2020;107:106763.
10. Rabbany, A.B.M.G., Mizutani, F., Effect of essential oils on ethylene production and ACC content in apple fruit and peach seed tissues. *Engei Gakkai zasshi*, 1996;65:7-13.
11. Chen X, Ren L, Li M, Qian J, Fan J, Du B. Effects of clove essential oil and eugenol on quality and browning control of fresh-cut lettuce. *Food Chem*. 2017;214:432-9.

12. Kato M, Kamo T, Wang R, Nishikawa F, Hyodo H, Ikoma Y, et al. Wound-induced ethylene synthesis in stem tissue of harvested broccoli and its effect on senescence and ethylene synthesis in broccoli florets. *Postharvest Biol Technol.* 2002;24(1):69-78.
13. Mallona I, Lischewski S, Weiss J, Hause B, Egea-Cortines M. Validation of reference genes for quantitative real-time PCR during leaf and flower development in *Petunia hybrida*. *BMC Plant Biol.* 2010;10(1):4.
14. Castillejo N, Martínez-Hernández GB, Gómez PA, Artés F, Aguayo E, Sánchez-Álvarez C, et al. Quality changes of green vegetable smoothies during shelf-life. *Acta Hortic.* 2016;(1141):145-52.
15. González-Tejedor GA, Martínez-Hernández GB, Garre A, Egea JA, Fernández PS, Artés-Hernández F. Quality Changes and Shelf-Life Prediction of a Fresh Fruit and Vegetable Purple Smoothie. *Food Bioproc Tech.* 2017;10(10):1892-904.
16. Coroller L, Jeuge S, Couvert O, Christieans S, Ellouze M. Extending the gamma concept to non-thermal inactivation: A dynamic model to predict the fate of Salmonella during the dried sausages process. *Food Microbiol.* 2015;45:266-75.