



ESTUDIO DE DIFERENTES TRATAMIENTOS DE CONSERVACIÓN DE LA TRUFA NEGRA (*Tuber melanosporum*)

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Curso: 2023/24

Alumno: Virginia Blanco de la Cruz
Tutor académico: Pedro A. Caballero Calvo
Tutor empresarial: Sofía López Ayúcar

Máster en Calidad, Desarrollo e Innovación de Alimentos
E.T.S. Ingenierías Agrarias, Campus de la Yutera (Palencia)
Universidad de Valladolid

1.	RESUMEN.....	1
2.	INTRODUCCIÓN.....	3
2.1.	Tratamientos de desinfección.....	5
2.2.	Tratamientos de conservación.....	5
1.1.1.	Esterilización.....	6
1.1.2.	Congelación.....	7
1.1.3.	Deshidratación.....	7
1.1.4.	Liofilización.....	7
1.1.5.	Atmósfera modificada.....	8
3.	OBJETIVOS.....	8
4.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
4.1.	Obtención y preparación de la trufa.....	9
4.2.	Deshidratación a bajas temperaturas.....	10
4.3.	Ultracongelación.....	11
4.4.	Liofilización.....	12
4.5.	Análisis sensorial.....	15
4.5.1.	Entrenamiento del panel de cata.....	15
4.5.2.	Sesiones de caracterización finales.....	17
4.6.	Análisis microbiológico.....	18
4.7.	Análisis estadístico.....	18
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	19
5.1.	Aspecto visual y color de las muestras.....	19
5.1.1.	Deshidratación a bajas temperaturas.....	19
5.1.2.	Ultracongelación.....	19
5.1.3.	Liofilización.....	20
5.2.	Análisis microbiológico.....	22
5.3.	Análisis sensorial.....	22
6.	CONCLUSIONES.....	26
7.	BIBLIOGRAFÍA.....	27
8.	ANEXOS.....	30
	ANEXO I: Hojas de cata de los entrenamientos para análisis sensorial.....	30
	ANEXO II: Hoja de cata para la caracterización sensorial (formulario Google).....	31

1. RESUMEN

La trufa negra (*Tuber melanosporum*) es una de las trufas que posee mayor valor económico y gastronómico debido fundamentalmente a las propiedades organolépticas que la caracterizan. Factores como su alta tasa de respiración, la proliferación de microorganismos o la oxidación, entre otros, hace necesaria la utilización de métodos de conservación para alargar la vida útil de este hongo que cuenta con un corto plazo para su consumo desde su recolección, de entre 7 a 10 días bajo refrigeración.

En este trabajo que se llevó a cabo junto a la empresa ID Forest Biotecnología Forestal Aplicada, S.L., se estudiaron diversos tratamientos de conservación que pueden alargar la vida útil de la trufa negra con el objetivo de poder extender su comercialización fuera de su temporada habitual para satisfacer la demanda de este producto a lo largo del año.

Los tratamientos de deshidratación a bajas temperaturas, liofilización y ultracongelación fueron analizados bajo criterios sensoriales y microbiológicos. En los resultados obtenidos, se encontraron mayores similitudes sensoriales en los tratamientos de liofilización y ultracongelación en comparación con la trufa fresca. En el caso del análisis microbiológico, se observaron reducciones decimales de los recuentos microbianos para los tres tratamientos, pero se enfatiza la necesidad de llevar a cabo tratamientos de descontaminación previos a los de conservación.

La liofilización resultó ser el tratamiento más apropiado ya que no requiere el mantenimiento de la cadena de frío, lo que reduciría los costes de la comercialización.

ABSTRACT

The black truffle (*Tuber melanosporum*) is one of the truffles with the greatest economic and gastronomic value, mainly due to the organoleptic properties that characterize it. Factors such as its high respiration rate, the proliferation of microorganisms or oxidation, among others, make it necessary to use preservation methods to extend the shelf life of this fungus, which has a short shelf life of 7 to 10 days under refrigeration.

In this work, which was carried out together with the company ID Forest Biotecnología Forestal Aplicada, S.L., several conservation treatments that can extend the shelf life of

the black truffle were studied with the aim of extending its commercialization outside its usual season to meet the demand for this product throughout the year.

The treatments of dehydration at low temperatures, freeze-drying and ultra freezing at low temperatures were analyzed under sensory and microbiological criteria. In the results obtained, greater sensory similarities were found in the freeze-drying and ultra freezing treatments compared to the fresh truffle. In the case of microbiological analysis, decimal reductions in microbial counts were observed for the three treatments, but the need to carry out decontamination treatments prior to preservation is emphasized.

Freeze-drying turned out to be the most appropriate treatment as it does not require any decontamination, which would reduce marketing costs.

2. INTRODUCCIÓN

La trufa es un hongo que produce su cuerpo fructífero bajo tierra y vive en simbiosis con las raíces de la planta huésped. En esta simbiosis, se forma una estructura llamada micorriza, que permite el intercambio de nutrientes entre ambas especies. Son muchas las especies de trufa que se comercializan y consumen en la actualidad, como las del género *Tuber* (phylum Ascomycota). De las casi 200 especies de trufa que se pueden encontrar, alrededor de 32 se pueden hallar en la región mediterránea, siendo *Tuber melanosporum* (trufa negra) la más demandada. La trufa blanca italiana, *T. magnatum*, se encuentra casi únicamente en pequeñas zonas de Italia, Rumanía y Croacia, hecho que, junto a su calidad y aroma únicos, la convierte en la más cara de las trufas. Otras trufas culinaria y comercialmente relevantes son *T. uncinatum* (trufa de otoño), *T. aestivum* (trufa de verano), y *T. borchii*. (trufa de primavera).



Figura 1: De izquierda a derecha *Tuber uncinatum*, *T. aestivum*, *T. borchii* y *T. melanosporum*. Fuente: (La casa de las setas, 2023)

En concreto, *Tuber melanosporum* forma micorrizas con plantas como encinas (*Quercus ilex*), robles (*Quercus robur*) o avellanos (*Corylus avellana*) (Lamas y Maio, 2020).



Figura 2: *Tuber melanosporum*. Fuente: ID Forest.

El alto valor económico y gastronómico de la trufa fresca radica fundamentalmente en las propiedades organolépticas que caracterizan a estos hongos comestibles. Los aromas emitidos por las trufas difieren en función de las distintas especies de *Tuber* y se caracterizan por aportar olores fuertes y persistentes que son clave para la atracción de animales e insectos que dispersan sus esporas, contribuyendo así a su reproducción (Fischer et al., 2017). El aroma de la trufa es muy particular debido a la compleja composición de sus compuestos volátiles, y por ello, estos componentes han sido ampliamente estudiados (Saltarelli et al., 2008). Además de sus propiedades organolépticas, recientemente se están estudiando otras particularidades de la trufa, como sus beneficios sobre la salud humana. En concreto, se está investigando su composición en diferentes compuestos bioactivos como los β -glucanos o en esteroides como el ergosterol y el brasicasterol (Tejedor-Calvo et al., 2023).

No obstante, debido a su alta tasa de respiración, sumado a otros factores como la proliferación de microorganismos, deshidratación, oxidación o el daño por larvas de insectos, la trufa posee una muy corta vida útil, de entre 7 a 10 días. A causa de esto, se han estudiado diversas tecnologías de conservación a largo plazo, pero su aplicación, en ocasiones, tiene impactos negativos sobre la calidad y las características organolépticas de la trufa (Tejedor-Calvo et al., 2024). En particular, el perfil aromático tiende a sufrir modificaciones debido a procesos de elevada temperatura o reacciones enzimáticas (Palacios et al., 2012).

Por otro lado, *Tuber melanosporum* es recolectada en el momento en el que adquiere intensidad aromática suficiente, es decir, cuando llega a un estado de madurez óptimo, y esto sucede entre el 15 de noviembre al 15 de marzo. En los meses restantes, la trufa negra no es comercializada, factor que apoya la necesidad de desarrollar tratamientos para alargar la vida útil de esta. Dicho problema se observa también en otras especies de trufa, como *Tuber aestivum* o *Tuber borchii*.

El principal tratamiento de conservación al que es habitual someter a la trufa es la refrigeración, al estar ampliamente demostrado que el frío contribuye a ralentizar su actividad metabólica, habiéndose observado que la tasa respiratoria de la trufa en refrigeración es casi 5 veces menor, lo que se traduce en un menor consumo de nutrientes (Marco, 2015). Aun así, la trufa fresca refrigerada tiene una vida útil máxima de 2 semanas, lo que hace que este tratamiento no sea suficiente para cubrir la temporada baja (Phong et al., 2022).

2.1. Tratamientos de desinfección

Como hongo hipogeo, la trufa se desarrolla bajo la tierra, lo que hace que la limpieza post cosecha sea vital para su posterior conservación.

Algunos de los diferentes tratamientos de desinfección y/o descontaminación que se han descrito utilizan descontaminantes químicos como etanol, hipoclorito sódico, peróxido de hidrógeno u ozono; o descontaminantes físicos como la aplicación de altas presiones hidrostáticas, radiaciones ultravioleta o radiaciones ionizantes (Parmo, 2014).

En cuanto a las radiaciones ionizantes, se han descrito dosis capaces de prolongar la vida útil de las trufas hasta aproximadamente un mes, siendo las modificaciones aromáticas y químicas del hongo imperceptibles. No obstante, en España, según el Real Decreto 348/2001, la aplicación de esta tecnología está únicamente permitido en hierbas aromáticas secas, especias y condimentos vegetales, impidiendo por tanto su uso en trufas (Marco et al., 2019).

2.2. Tratamientos de conservación

Existen, además de la refrigeración, múltiples técnicas que se llevan a cabo para la conservación de la trufa, como la congelación, envasado en atmósfera modificada, o incluso irradiación con rayos gamma; aunque uno de los obstáculos que presentan estos tratamientos es la necesidad de conservar el producto tratado en condiciones de refrigeración o congelación (Palacios et al., 2012), impidiendo por tanto el almacenamiento y comercialización del producto a temperatura ambiente.

A continuación, se describen algunos de los tratamientos de conservación estudiados y aplicados con anterioridad. Estos tratamientos se pueden clasificar en:

- Tratamientos térmicos: esterilización y pasteurización.
- Tratamientos basados en la eliminación de calor: refrigeración y congelación.
- Deshidratación: secado convectivo (método tradicional de secado con aire caliente) y liofilización.
- Atmósferas modificadas.

En la tabla 1 se puede ver un resumen de los tratamientos descritos.

Tabla 1: Resumen tratamientos de conservación. Adaptada de Phong et al., 2022.

Tratamiento	Ventajas	Desventajas
Esterilización	<ul style="list-style-type: none"> • Económico • Rápido 	<ul style="list-style-type: none"> • Pérdida general de calidad notoria
Refrigeración	<ul style="list-style-type: none"> • Reduce el deterioro 	<ul style="list-style-type: none"> • Corto periodo de vida útil (14 días)
Congelación	<ul style="list-style-type: none"> • Económico • Rápido 	<ul style="list-style-type: none"> • Pérdidas aromáticas significativas • Pérdida de textura • Necesidad de cadena de frío
Deshidratación	<ul style="list-style-type: none"> • Económico • Se reduce contenido de agua y crecimiento microbiano • Sin necesidad de cadena de frío 	<ul style="list-style-type: none"> • Pérdidas aromáticas significativas
Liofilización	<ul style="list-style-type: none"> • Se mantienen aromas propios de la trufa fresca. • Sin necesidad de cadena de frío 	<ul style="list-style-type: none"> • Poco económico
Atmósfera modificada	<ul style="list-style-type: none"> • Se reduce contenido de agua y crecimiento microbiano 	<ul style="list-style-type: none"> • Necesidad de cadena de frío • Poco económico

1.1.1. Esterilización

Este proceso consiste en el envasado de la trufa en recipientes con agua y sal y su posterior esterilización en el autoclave a temperaturas de entre 115 y 116°C, permitiendo su distribución y conservación a temperatura ambiente. Existen en el mercado numerosos productos comercializados bajo este tratamiento, lo que comúnmente se denomina trufa en conserva, pero en general la pérdida de calidad de estas es notoria: debido a la aplicación de calor, muchos de los compuestos volátiles se pierden e incluso otros nuevos, con aromas desagradables, aparecen (Marco et al., 2019).

1.1.2. Congelación

Uno de los tratamientos más utilizados para alargar la vida útil tanto de la trufa como de otros hongos es la congelación, donde se han observado tanto pérdidas de color y nutrientes (Jaworska y Bernas, 2009), como la reducción sustancial del aroma característico de trufa fresca a partir de los 15 días de almacenamiento a temperaturas de congelación (Culleré et al., 2013).

Es importante destacar que, en la composición de la trufa, alrededor del 75 % es agua y su punto de congelación está comprendido entre -0.5°C y -1.5°C , por lo que, si se quiere aplicar la congelación a este producto, se recomienda realizar el proceso lo más rápido posible y a temperatura que alcance los -18°C , para evitar cristales grandes de hielo que puedan provocar daños celulares y, por consiguiente, pérdidas significativas de textura (Marco et al., 2019).

Del mismo modo, Zambonelli et al. (2016), encontraron que, como consecuencia de la congelación, la textura de la trufa se ve afectada negativamente, por lo que el tratamiento de congelación a bajas temperaturas o ultracongelación (por debajo de -40°C) puede ser útil para reducir esas pérdidas significativas.

1.1.3. Deshidratación

Otro método de conservación convencional es la deshidratación o secado convectivo, con la cual se consigue una reducción de la actividad del agua y, a su vez, del crecimiento microbiano (Al-Ruqaie, 2006).

Esta técnica se suele llevar a cabo con aire caliente a temperaturas de entre 40 y 60°C y, además de limitar el crecimiento de microorganismos alterantes, ralentiza las actividades químicas y enzimáticas al eliminar el agua del producto. Aun con esto, este tratamiento puede otorgar al producto deshidratado degradaciones tanto de aroma como de color y textura, esto debido principalmente a la oxidación (Marco et al., 2019).

1.1.4. Liofilización

La liofilización es un proceso por el cual el producto se somete a una congelación a bajas temperaturas y posteriormente a una evaporación al vacío reduciendo por sublimación casi todo el contenido en agua (Orrego, 2008). La liofilización constituye un proceso de estabilización que, en general, no altera la estructura fisicoquímica del producto y, al mismo tiempo, permite la conservación indefinida de este con muy baja humedad, alta estabilidad microbiológica y sin necesidad de cadena de frío (Ramírez Navas. 2006).

En el estudio de Campo et al. (2017) se estudiaron diferentes métodos de conservación de la trufa negra con el objetivo de observar los efectos de estos sobre el perfil aromático de la trufa. En dicho estudio se trató la trufa bajo cuatro técnicas diferentes: congelación, deshidratación, envasado en conserva con tratamiento térmico (esterilización) y liofilización. Los resultados se analizaron mediante olfatometría por cromatografía de gases y a través de un análisis sensorial descriptivo, considerándose el tratamiento de liofilización como más idóneo para la conservación de la trufa, al ser capaz de retener compuestos volátiles clave característicos de la trufa negra fresca. Phong et al. (2022) obtuvieron resultados similares en su estudio donde, aunque se encontraron diferencias químicas y sensoriales significativas entre la trufa fresca y la liofilizada, no se encontraron preferencias por parte del panel de consumidores.

1.1.5. Atmósfera modificada

Como ya se ha comentado, la corta vida útil de la trufa se debe en parte a su alta actividad respiratoria, lo que convierte a la tecnología de atmósfera modificada en una estrategia clave para su conservación. Para llevar a cabo este tratamiento, se altera la composición gaseosa de la atmósfera del envase, extrayendo aire de este y posteriormente inyectando un nuevo gas o una mezcla de gases para conseguir una atmósfera específica para la conservación del producto (Garfías González, 2017). Este tipo de envasado en atmósferas modificadas, a las que se pueden añadir además de O₂ y CO₂, otros gases inertes como el nitrógeno, origina una reducción de la actividad metabólica de la trufa y, al mismo tiempo, hace que no pierdan agua, retrasando por tanto la proliferación microbiana hasta días (Rivera et al., 2011). Las ventajas que posee esta técnica se contraponen, al igual que otras tecnologías, con la necesidad de la preservación de la cadena de frío del producto tratado a lo largo de su vida útil.

Conociendo estos antecedentes, este trabajo de fin de máster buscó desarrollar un estudio donde se contrastara la calidad sensorial (visual, olfativa y gustativa) y microbiológica de trufa fresca y trufa sometida a tres tratamientos de conservación distintos.

3. OBJETIVOS

Este trabajo de fin de máster se ha desarrollado junto con el equipo de IDForest Biotecnología Forestal Aplicada, S.L., quienes manifestaron su interés por extender la

comercialización de la trufa negra fuera de su temporada habitual para poder satisfacer la demanda de este producto a lo largo del año.

Por lo tanto, el objetivo principal de este trabajo es el estudio de diferentes técnicas de conservación que permiten alargar la vida útil de la trufa negra (*Tuber melanosporum*), manteniendo y garantizando su calidad. Para ello, se plantearon los siguientes objetivos secundarios:

- Evaluar la repercusión de los diferentes tratamientos sobre los atributos sensoriales de la trufa negra.
- Evaluar la repercusión de los diferentes tratamientos sobre la calidad microbiológica de la trufa negra.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Obtención y preparación de la trufa

Las trufas (*Tuber melanosporum*) se recolectaron en dos ocasiones durante el mes de febrero de 2024 en truferas cultivadas bajo encinas en Tórtoles de Esgueva (Burgos, España). Las trufas utilizadas para llevar a cabo las distintas pruebas fueron de categoría I y categoría II. La trufa fresca se clasifica en tres categorías, definidas por la UNECE (Comisión Económica de las Naciones Unidas para Europa) en el estándar FFV-53 relativo a la comercialización y control de calidad comercial de las trufas de 2023. La trufa de categoría I debe ser de buena calidad, permitiéndose defectos leves que no afecten a la apariencia y calidad del producto; como ligeros defectos de forma, coloración o pequeños hematomas o magulladuras superficiales, siendo el peso mínimo de esta categoría de 10 gramos. En la categoría II se incluye aquella trufa con un peso mínimo de 5 gramos y que no puede ser clasificada en las categorías anteriores: categoría extra (calidad superior y peso mínimo de 20 gramos) y categoría I.

A continuación de la recolección, se procedió a su limpieza mediante cepillado y enjuagado con agua bajo el grifo.

Tras realizar una revisión bibliográfica y, teniendo en cuenta el objetivo principal del estudio, se decidió llevar a cabo tres tratamientos de conservación: deshidratación a baja temperatura, ultracongelación tras envasado al vacío y liofilización. La tecnología de envasado en atmósfera modificada se decidió testar en estudios posteriores, ya que IDForest tiene previsto realizar pruebas similares con otra especie de trufa, trufa de verano o *Tuber aestivum*, la cual, debido a su menor valor económico en comparación

con *T. melanosporum*, hace que sea más sencillo y viable realizar pruebas con dicha especie.

Todos los tratamientos que se llevaron a cabo se desarrollaron en las instalaciones del CETECE (Centro Tecnológico de Cereales en Palencia, Castilla y León, España).

Para los tres tratamientos de conservación que se llevaron a cabo, las trufas fueron procesadas de la misma manera. Todos los ascocarpos de *T. melanosporum* se laminaron consiguiendo un grosor de aproximadamente 1 milímetro y un peso de alrededor de 1 gramo.



Figura 3: Laminado de las muestras de trufa negra.

4.2. Deshidratación a bajas temperaturas

Las láminas de trufa se colocaron sobre bandejas y se introdujeron en un horno (Horno ICombi® Pro10-1/1 eléctrico, Rational, Cornellá, España). Las muestras se repartieron en dos lotes y se secaron bajo dos condiciones diferentes, como se puede observar en la tabla 2. Todas estas condiciones se establecieron a partir del análisis de estudios similares desarrollados por otros equipos de investigación.

Tabla 2: Condiciones de secado para deshidratación a baja temperatura.

	Tratamiento D1	Tratamiento D2
Temperatura (°C)	50	60
Tiempo (minutos)	120	90
Intensidad del flujo de aire	Media	Alta

Tras el procesado, las muestras se introdujeron en botes de cristal herméticos hasta llevar a cabo los análisis para evitar la absorción de humedad.

4.3. Ultracongelación

El tratamiento de ultracongelación se desarrolló principalmente para satisfacer la necesidad que existe en el mercado de trufa natural laminada y envasada.

Para ello, se colocaron entre 10 a 15 láminas del producto en bandejas de plástico y se pulverizaron con aceite de girasol alto oleico. La adición de aceite en el producto se atribuye a su función como crioprotector y, por otro lado, la elección de aceite de girasol alto oleico se debe a su sabor neutro que no opaca el sabor y aroma de la trufa negra, el cual sí que se vería afectado con la utilización de aceite de oliva.



Figura 4: Láminas de trufa colocadas en las bandejas para envasado al vacío.

Tras esto, se sellaron las bandejas de las láminas de trufa en blísteres de plástico en envasadora al vacío (SU-420, Sammic, Guipúzcoa, España). Se hicieron diferentes pruebas hasta conseguir el sellado deseado para el cual las condiciones de envasado fueron: 95 % de vacío, 5 segundos de sellado y 9 segundos de extracción de aire.



Figura 5: Bandejas de trufa en envasadora al vacío

Por último, se introdujeron las muestras selladas al vacío en el congelador (SE40-45, Eurofred, Barcelona, España) durante 2 horas a $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se conservaron a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ para su caracterización posterior.

4.4. Liofilización

Para la liofilización, se establecieron inicialmente 4 tratamientos diferentes. Para ello, se colocaron las muestras de trufa laminada en bandejas y se llevaron a congelación en el congelador (SE40-45, Eurofred, Barcelona, España) bajo las condiciones que se describen en la tabla 3. Finalmente se sometieron a tratamiento en el liofilizador (LYOEPIC-55, Coolvaccum, Barcelona, España).



Figura 6: Muestras de trufa en el tratamiento de liofilización.

Se llevaron a cabo pruebas del tratamiento de liofilización en dos días diferentes. Durante el primer día, se desarrollaron 4 tratamientos, bajo las condiciones que se pueden observar en la tabla mostrada a continuación (tabla 3):

Tabla 3: Condiciones de los cuatro tratamientos iniciales de liofilización.

	Condiciones de congelación		Condiciones de liofilización		
	Tiempo	Temperatura	Tiempo	Temperatura	Presión
Tratamiento L1	15'	-49°C	2h	-5 °C	0.01mbar
			4h	0°C	
			4h	5 °C	
			4h	10 °C	
			4h	15 °C	
			4h	20°C	
			4h	25°C	
Tratamiento L2	30'	-20°C	2h	-5 °C	0.01mbar
			4h	0°C	
			4h	5 °C	
			4h	10 °C	
			4h	15 °C	
			4h	20°C	
			4h	25°C	
Tratamiento L3	15'	-49°C	2h	-5 °C	6.50 mbar
			3h	0°C	
			3h	5 °C	
			3h	10 °C	
			3h	15 °C	
			3h	20°C	
			3h	25°C	
Tratamiento L4	30'	-20°C	2h	-5°C	6.50 mbar
			3h	0°C	
			3h	5°C	
			3h	10°C	
			3h	15°C	
			3h	20°C	
			3h	25°C	

Tras observar los resultados de las cuatro primeras pruebas, se apreciaron pérdidas de color significativas de las muestras para los cuatro tratamientos, como se puede observar en la figura 7. Por ello, se decidió ajustar alguno de los parámetros para optimizar el procesado.



Figura 7: Muestras de trufa laminada tras el tratamiento L4 de liofilización.

Además de ajustar los tiempos y temperaturas del procesado, se obtuvieron láminas de trufa de un mayor grosor, con el fin de conseguir una menor oxidación y una deshidratación más gradual. Por último, se procedió a colocar las bandejas con las muestras en la parte superior del liofilizador ya que se encontraron menores pérdidas de color en comparación con aquellas muestras colocadas en la parte inferior. El segundo tratamiento de liofilización al que se sometió a las muestras laminadas de trufa se dio bajo las condiciones que se indican en la tabla 4 que se muestra a continuación.

Tabla 4: Condiciones del tratamiento final de liofilización.

	Condiciones de congelación		Condiciones de liofilización		
	Tiempo	Temperatura	Tiempo	Temperatura	Presión
Tratamiento F	30'	-20°C	2h	-5°C	6.50 mbar
			3h	0°C	
			3h	5°C	
			3h	10°C	
			3h	15°C	
			3h	20°C	
			3h	20°C	

Finalmente, las muestras tratadas se almacenaron en botes de cristal herméticos hasta los análisis.

4.5. Análisis sensorial

Para llevar a cabo el análisis sensorial, se seleccionaron 13 jueces; 10 de ellos expertos en trufa y parte del equipo de ID Forest, y 3 pertenecientes al panel de cata del CETECE. El panel de cata se entrenó y finalmente se realizaron tres sesiones de caracterización sensorial del producto utilizando una ficha de cata desarrollada para tal fin.

4.5.1. Entrenamiento del panel de cata

Con el objetivo de mejorar y desarrollar la sensibilidad y la habilidad para reconocer, identificar y/o cuantificar atributos sensoriales de la trufa negra, se llevaron a cabo varias sesiones de entrenamiento de los jueces. La cronología de estas sesiones se puede observar en la figura 8.

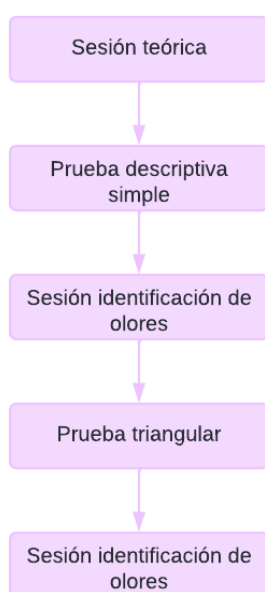


Figura 8: Cronología de sesiones de entrenamiento

En primer lugar, se realizó una sesión teórica a todos los jueces donde se expuso el planteamiento y objetivo del trabajo, junto con una explicación de las sesiones de análisis sensorial que se realizarían en un futuro. A continuación, se llevó a cabo una prueba descriptiva simple donde se identificaron y describieron múltiples atributos de la trufa negra en fresco. En esta sesión, se logró generar un gran número de descriptores, que fueron puestos en común para identificar aquellos más repetidos para ser utilizados posteriormente en las sesiones de cata. En la figura 9, se puede observar los descriptores que aparecieron un mayor número de veces y su porcentaje.

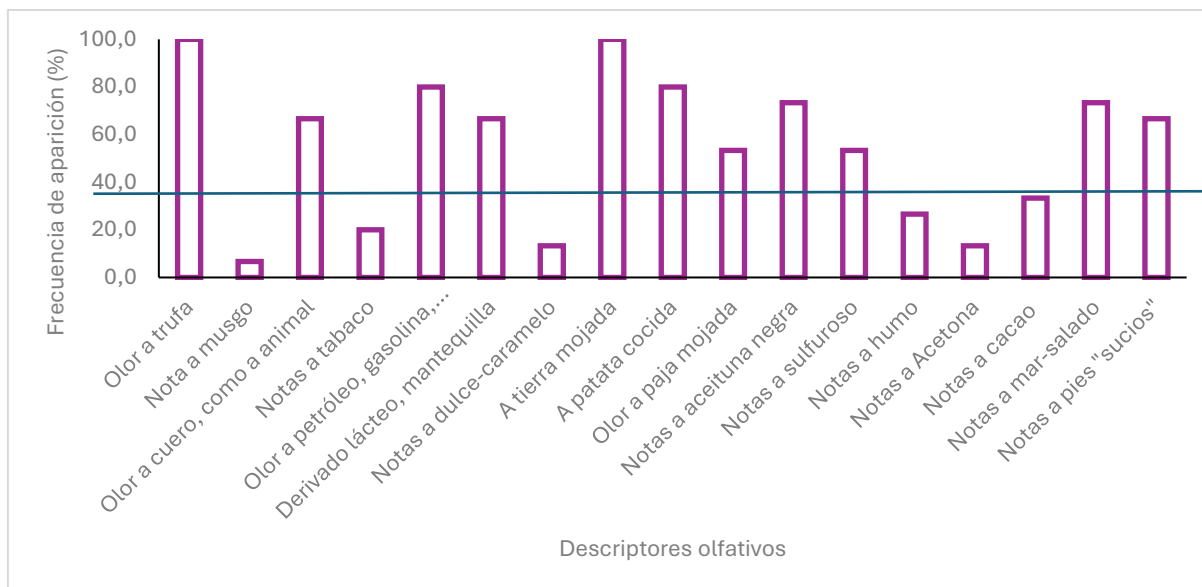


Figura 9: Selección de los descriptores sensoriales para la trufa negra tras la prueba descriptiva simple.

Una vez seleccionados los descriptores, se llevaron a cabo varias sesiones de identificación de olores. El número de muestras a evaluar se fijó según la norma UNE-ISO 5496:2006, que recomienda no presentar más de 10 sustancias olorosas por sesión.

Para estas pruebas, se utilizaron productos como aceitunas negras, queso curado, champiñones, sopa de sobre, gas, verdura cocida, etc.



Figura 10: Escalas utilizadas para el entrenamiento sensorial.

Además, se desarrolló una prueba triangular, siguiendo la norma UNE-EN ISO 4120:2022 donde los jueces recibieron una tríada de muestras, informándoles de que dos de las muestras eran iguales (*Tuber melanosporum*) y una diferente (*Tuber brumale*, especie de trufa muy similar a *T. melanosporum*), pidiéndoles que distinguieran la diferente. En el anexo I se pueden observar las hojas de cata utilizadas para las distintas sesiones de entrenamiento sensorial.

4.5.2. Sesiones de caracterización finales

Con el objetivo de conocer las características sensoriales globales (olfativas, gustativas y visuales) de las muestras y, considerando para el perfil olfativo los resultados de la prueba descriptiva simple llevada a cabo durante el entrenamiento del panel de cata, para las diferentes sesiones de cata los descriptores finales que se seleccionaron fueron los siguientes, los cuales se pueden clasificar en cuatro grupos:

- Fase visual:
 - Color oscuro externo: Visualmente se valora el producto dentro de una escala de 5 puntos donde 1 es gris oscuro y 5 es muy oscuro casi negro.
 - Veteado interno: Visualmente se valora el veteado interno. Aunque es una variable de calidad, también varía en función de la madurez de la trufa. La escala va de 1 (veteado ausente) a 5 (veteado muy pronunciado).
- Fase olfativa: Mediante rápidas y cortas aspiraciones sobre la superficie de la trufa se valoran las siguientes notas aromáticas. Todas ellas en una escala de 5 puntos de intensidad entre 1 nada intenso a 5 muy intenso.
 - Intensidad a trufa,
 - olor animal-cuero,
 - olor alquitrán-butanal,
 - olor mantequilla madura,
 - olor a tierra mojada,
 - olor a patata cocida,
 - olor a aceituna negra,
 - olor intensidad a champiñón,
 - olor a queso maduro y
 - olor a mar-alga.
- Fase gustativa:
 - Sabor fundamental umami: Teniendo en cuenta los sabores fundamentales, se ha considerado que la trufa, ni dulce ni salada ni ácida ni amarga, siendo el umami el sabor más representativo. La escala iría de 1 nada apreciable a 5 muy intenso.
 - Aromas propios en boca: Aunque la trufa posee más características olfativas que gustativas, es necesario confirmar su aroma propio tras la ingestión. La escala va de 1 completamente nula a 5 bastante apreciable.
 - Aromas extraños en boca: En el caso de que en boca se aprecie alguna nota extraña. La escala iría de 1 nada apreciable a 5 muy intenso.

- Calidad global: Equilibrio global de todas las variables sensoriales. Es una nota en el conjunto de la percepción sensorial del producto. No es un valor hedónico. La escala va de 1 mala a 5 muy correcta.

Para llevarlo a cabo, se utilizó una escala de intensidad de 5 puntos (desde 1=nada apreciable a 5=muy intenso) no permitiéndose valores intermedios, es decir, únicamente números enteros. En el anexo II se puede observar el cuestionario entregado a los jueces para realizar las catas, el cual fue cumplimentado a través de la aplicación Google Forms.

Se llevaron a cabo tres sesiones de cata separadas en 5 días cada una, teniendo en cuenta que los jueces habían sido entrenados y conocían los aspectos sensoriales de la muestra en cuestión. Cabe destacar que las sesiones no se separaron en mayor distancia de tiempo para evitar que las muestras evolucionaran y se deterioraran.

4.6. Análisis microbiológico

Las muestras de *T. melanosporum* se pesaron y se homogeneizaron junto con agua de peptona estéril durante 1 minuto para preparar la disolución madre. Tras esto, se realizaron diluciones decimales. Para el recuento de aerobios a 30°C, se vertió 1 mL de cada dilución en agar de recuento en placa (PCA) y se incubó a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 72 horas. Para enterobacterias, se utilizó VRBG (agar violeta rojo bilis glucosa) y se incubó a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 horas. En el caso de *Escherichia coli*, se inoculó sobre Agar triptona bilis X glucurónido (TBX) y se incubó a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 h. Para *Listeria monocytogenes*, se inoculó en agar ALOA (Listeria Ottaviani Agosti) y se procedió a la incubación durante 24 ± 2 horas en aerobiosis en estufa regulada a $37^\circ \pm 1^\circ\text{C}$. En el caso de *Salmonella*, se analizó en el sistema VIDAS® a través del método ELISA.

4.7. Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza unidireccional (ANOVA) utilizando la aplicación IBM SPSS v.25 seguido de una prueba de Tukey post-hoc (para aquellos descriptores con diferencias significativas) para muestras balanceadas (mismo número de catadores y de muestras en cada sesión) con un nivel de significación del 95%. Todos los datos se expresaron como media \pm error estándar.

Además, se realizaron diagramas radiales con ayuda de la herramienta Excel con el objetivo de visualizar los resultados del análisis sensorial de cada tratamiento en comparación con la trufa fresca.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



5.1. Aspecto visual y color de las muestras

Uno de los factores que determina la calidad de las trufas es su aspecto visual, por lo que a continuación se exponen los resultados que se obtuvieron para cada tratamiento realizado.

5.1.1. Deshidratación a bajas temperaturas

En la tabla 5, podemos observar unas imágenes de dos de las muestras que fueron sometidas a los distintos tratamientos de deshidratación.

Tabla 5: Aspecto visual de las muestras de trufa sometidas a deshidratación a baja temperatura.

		Tratamiento D1	Tratamiento D2
Producto final			
Condiciones de secado	Temperatura	50°C	60°C
	Tiempo	120'	90'
	Intensidad del flujo de aire	Media	Alta

Se observó que el color de las láminas se mantuvo en comparación con la trufa fresca para los dos tratamientos de deshidratación a los que se sometió a la trufa. Por otro lado, se percibió un fuerte olor a quemado en todas las muestras deshidratadas. En comparación, el tratamiento D1 obtuvo mejores resultados al poseer una textura más blanda y un menor olor y sabor a quemado. Esto se puede deber a la utilización de menor temperatura en dicho tratamiento.

Estos resultados concuerdan con lo obtenidos por Al-Ruqaie (2006) quien apunta que la deshidratación no es una técnica de conservación óptima debido a que la aplicación de calor afecta negativamente a la calidad de la trufa, principalmente debido a la oxidación (Marco et al., 2019).

5.1.2. Ultracongelación

Tras el proceso de ultracongelación, se obtuvieron muestras de trufa que conservaron el color característico de la trufa fresca, como se puede observar en la figura 12.






Figura 11: Aspecto visual de las muestras de trufa sometidas a ultracongelación.


Por otro lado, se observó una pérdida notable del veteado característico de la trufa fresca. Esta pérdida de las vetas de las láminas de trufa puede deberse a la ruptura de la estructura celular que tiene lugar a causa de la formación de cristales de hielo en el interior de las paredes celulares, tal y como apuntan Marco et al. (2019) en la justificación de la pérdida de textura con este tratamiento de conservación.

5.1.3. Liofilización

Se puede observar en la tabla 6 los resultados de los cuatro primeros tratamientos de liofilización que se llevaron a cabo.

Tabla 6: Aspecto visual de las muestras de trufa sometidas a liofilización.

	Condiciones de congelación		Condiciones de liofilización	Producto final
	Tiempo	Temperatura	Presión	
Tratamiento L1	15'	-49°C	0.01mbar	
Tratamiento L2	30'	-20°C	0.01mbar	
Tratamiento L3	15'	-49°C	6.50 mbar	

Tratamiento L4	30'	-20°C	6.50 mbar	
-------------------	-----	-------	-----------	---

A continuación, se muestran dos imágenes comparativas de dos diferentes tratamientos de liofilización (figuras 13 y 14); la primera de ellos muestra el tratamiento L2 (30', -20°C y 0.01mbar) y la segunda el tratamiento final (30', -20°C, 6.50 mbar).



Figura 12: Aspecto visual de las muestras L2.

Figura 13: Aspecto visual de las muestras F.

Se puede observar la diferencia sustancial de color en ambas muestras, siendo en el tratamiento final donde se conserva completamente el perfil de la trufa fresca, ya que se aprecia el color marrón casi negro de la carne y las vetas blancas marcadas, aspecto muy característico de *T. melanosporum*.

Las muestras sometidas a menor presión sufrieron mayores pérdidas de color que en las sometidas a mayor presión. La pérdida de color de las muestras se debe a que una baja presión hace que la etapa de sublimación del proceso de liofilización se lleve a cabo a una gran velocidad, dañando la estructura celular y permitiendo la oxidación de los pigmentos. En cambio, a una presión superior, la sublimación ocurre más lenta, preservando la estructura celular y, por tanto, los pigmentos (Ramírez Navas. 2006) (Orrego, 2008). En el caso de la temperatura, se observaron pérdidas de color en todas las muestras, siendo más aguda en aquellas muestras tratadas a mayor temperatura en la etapa inicial de congelación, lo que coincide con estudios que afirman que una

temperatura baja en la congelación permite preservar mejor la calidad global (Marco et al., 2019).

5.2. Análisis microbiológico

Los resultados de los análisis microbiológicos realizados para los cuatro tipos de muestra analizados se presentan en la tabla 7.

Tabla 7: Resultados análisis microbiológico.

Tratamiento	Aerobios a 30°C (u.f.c./g)	*Enterobacterias (u.f.c./g)	<i>Escherichia coli</i> (u.f.c./g)	*Salmonella	<i>Listeria monocytogenes</i> (u.f.c./g)
Trufa fresca	$> 3,0 \times 10^7$	$1,1 \times 10^6$	$< 1,0 \times 10^1$	ND*	$< 1,0 \times 10^2$
Deshidratación (D1)	$5,5 \times 10^5$	$< 1,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^1$	ND	$< 1,0 \times 10^1$
Liofilización (LF)	$> 3,0 \times 10^6$	$7,4 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^1$	ND	$< 1,0 \times 10^1$
Ultracongelación	$5,3 \times 10^5$	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^1$	ND	$< 1,0 \times 10^1$

*ND: No Detectado. Todas las unidades se presentan en u.f.c./g excepto para salmonella que se presenta en peso analizado.

En este trabajo, se observó una reducción en aerobios, enterobacterias y *Listeria monocytogenes* para los tres tipos de tratamiento, siendo la ultracongelación el método que logró la mayor reducción en aerobios y la deshidratación en enterobacterias.

Aun así, no se puede afirmar que ninguno de los tratamientos sea eficaz para eliminar toda carga microbiana, pero cabe destacar que, actualmente, no existe legislación alimentaria que establezca criterio microbiológico para comercializar la trufa (Phong et al., 2022).

5.3. Análisis sensorial

Los diferentes tratamientos de conservación sobre la trufa fresca afectan a las propiedades sensoriales. Si se comparan las trufas tras los tratamientos térmicos (deshidratado, liofilizado y ultracongelado) con la muestra de trufa fresca, se aprecian los cambios sensoriales.

En la tabla 8 se presentan los valores medios de todas las sesiones de cata que se han realizado, en el momento en el que se obtuvo un coeficiente de variación inferior al 15%, se finalizaron las sesiones.

Cabe destacar que las condiciones de los tratamientos utilizadas para llevar a cabo este análisis estadístico fueron: Tratamiento “D1” de deshidratación (50°C, 120’ y con una intensidad del flujo de aire media), Tratamiento “F” de liofilización (congelación de 30’ a -20°C y una presión de 6.50 mbar) y una temperatura de -50 °C para la ultracongelación.

Tabla 8: Valores medios obtenidos durante las catas finales.

	FRESCO	DESHIDRATADO	LIOFILIZADO	CONGELADO	ANOVA
OSCURO LÁMINA	5,0 ^b	4,6 ^b	4,1 ^a	4,8 ^b	DS*
INTERNO VETEADO	5,0 ^c	3,9 ^b	4,1 ^b	1,8 ^a	DS
OLOR TRUFA	5,0 ^c	2,9 ^a	3,9 ^b	4,3 ^b	DS
CUERO-ANIMAL	1,8	2,2	2,1	2,3	NDS*
QUÍMICO-HIDROCARBUR O-ALQUITRÁN	2,0 ^a	3,0 ^b	2,2 ^a	2,3 ^a	DS
MANTEQUILLA-LÁCTEO	2,4 ^c	1,3 ^a	1,3 ^a	1,8 ^b	DS
TIERRA MOJADA	2,9 ^b	2,2 ^a	3,0 ^b	2,8 ^b	DS
VERDURA-PATATA COCIDA	2,1	1,8	1,8	1,8	NDS
OLOR INTENSIDAD CHAMPIÑÓN	2,4	2,2	2,3	2,3	NDS
ACEITUNA NEGRA	3,2 ^b	2,2 ^a	2,5 ^a	3,0 ^b	DS
QUESO DURO MADURO	2,4	2,2	2,5	2,5	NDS
A MAR /ALGA	1,5 ^a	2,2 ^b	1,8 ^a	1,7 ^a	DS
UMAMI	2,0 ^a	2,5 ^{ab}	2,7 ^b	2,1 ^a	DS
AROMAS PROPIOS	2,8	2,7	3,2	3,2	NDS
AROMAS EXTRAÑOS	1,4 ^a	2,5 ^b	1,4 ^a	1,6 ^a	DS
CALIDAD GLOBAL	4,9 ^c	2,9 ^a	4,2 ^b	4,1 ^b	DS

*DS ($p < 0.05$) indica que existen diferencias significativas. Las diferencias que existen son estadísticamente significativas para un 95% de confianza.

**NDS ($p > 0.05$) indica que no existen diferencias significativas.

Tras el análisis estadístico, se observaron diferencias significativas en los siguientes descriptores: Oscuro de la lámina, interno veteado, olor a trufa, olor químico-hidrocarburo, olor a mantequilla, olor a tierra mojada, olor a aceituna negra, olor a mar-alga, umami, aromas extraños y calidad global.

Por otro lado, se realizó el test de Tukey para cada descriptor con diferencias significativas, cuyos resultados también se muestran en la tabla 8.

Para el descriptor “oscuro lámina”, se obtuvieron dos grupos homogéneos diferentes (a y b), indicando que las muestras fresco, deshidratado y ultracongelado pertenecen al mismo subconjunto y que la muestra liofilizada no pertenece al mismo subconjunto que

ninguna otra y que, por lo tanto, existen diferencias significativas entre esta muestra y las demás. Esto concuerda con los resultados expuestos en el apartado 5.1, donde se observó una mayor pérdida de color en las muestras liofilizadas que puede deberse al proceso de sublimación que sufre la trufa.

En el caso del descriptor “interno vetado”, se obtuvieron tres grupos homogéneos diferentes (a, b y c). Se encontró que las muestras deshidratado y liofilizado pertenecen a un mismo subconjunto, por lo tanto, no presentan diferencias estadísticamente significativas entre sí. Mientras que las muestras fresco y ultracongelado, al encontrarse en subconjuntos diferentes, presentan diferencias estadísticamente significativas tanto entre ellas como con las otras dos muestras (deshidratado y liofilizado). Como ya se ha comentado, la aplicación de calor, presión o frío resulta en una pérdida de la calidad global de la trufa. En este caso, las muestras tratadas con calor y presión como son las deshidratadas y liofilizadas, no presentan diferencias estadísticamente significativas, lo que puede deberse a que ambas muestras son sometidas a procesos en los que se produce una eliminación del agua en su interior.

En cuanto a los descriptores olfativos, para el descriptor “olor a trufa”, se obtuvieron dos grupos homogéneos diferentes (a y b). En esta ocasión, las muestras fresco, liofilizado y ultracongelado pertenecen al mismo subconjunto y la muestra deshidratada no, indicando que existen diferencias significativas entre esta muestra y las demás. En la misma línea, para los descriptores “químico-hidrocarburo”, “tierra mojada”, “mar-alga”, y en el descriptor del perfil gustativo “aromas extraños”, se obtienen resultados similares, concordando con los resultados expuestos en este trabajo que manifiestan la notoria pérdida sensorial que se produce con el tratamiento de deshidratación.

Por último, el descriptor de “calidad global” presentó tres grupos homogéneos diferentes (a, b y c) en el que se diferenciaron la muestra deshidratado (a), las muestras liofilizado y congelado (b) y finalmente la muestra fresca (c) la cual obtuvo la mayor puntuación. Este resultado reflejó que las muestras liofilizado y ultracongelado, aún con mejor puntuación que el tratamiento de deshidratación, presentan diferencias estadísticamente significativas con la muestra de trufa fresca.

En los diagramas siguientes (figuras 15, 16 y 17) se observan los resultados sensoriales de los tres tratamientos comparados con la trufa fresca.

Se puede observar las diferencias significativas entre la trufa fresca y la deshidratada (Figura 15), donde únicamente se presentaron características similares en el color oscuro interno de la lámina. Como ya se ha comentado, este tratamiento permite reducir el contenido de agua y el crecimiento microbiano, pero no queda exento de una notoria

pérdida sensorial y pérdida de intensidad en compuestos aromáticos (Campo et al., 2017).

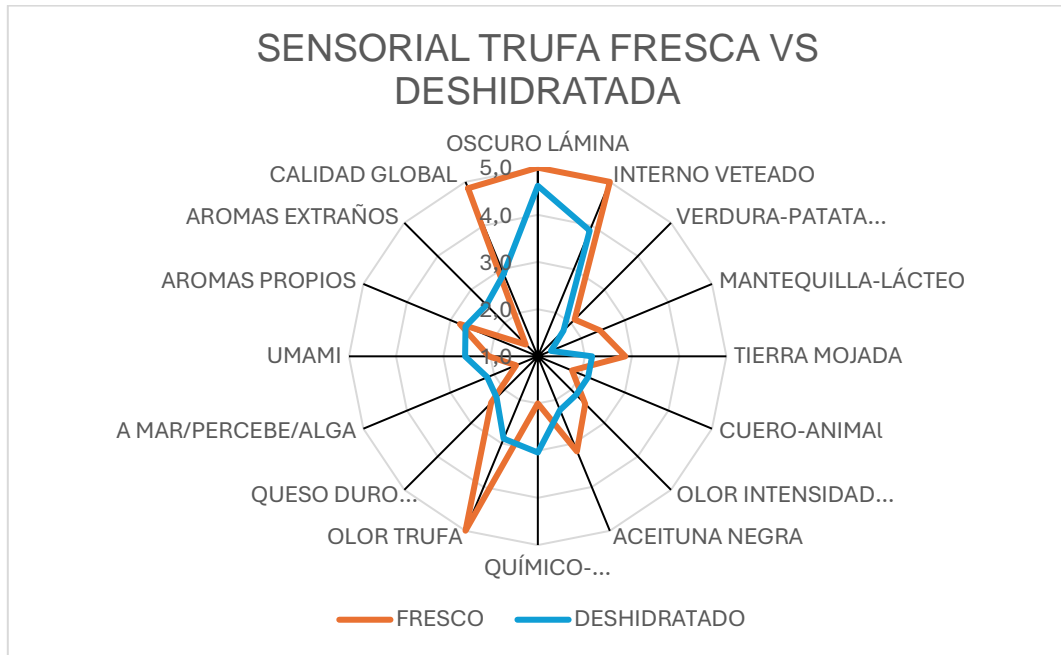


Figura 14: Diagrama de araña comparativo trufa fresca-trufa deshidratada.

Por otro lado, se presentan mejores resultados en el perfil olfativo-aromático en las muestras ultracongeladas (figura 16), la cual se asemeja más a la trufa fresca, se contrapone con una pérdida casi completa del veteado interno como ya se explicó con anterioridad.

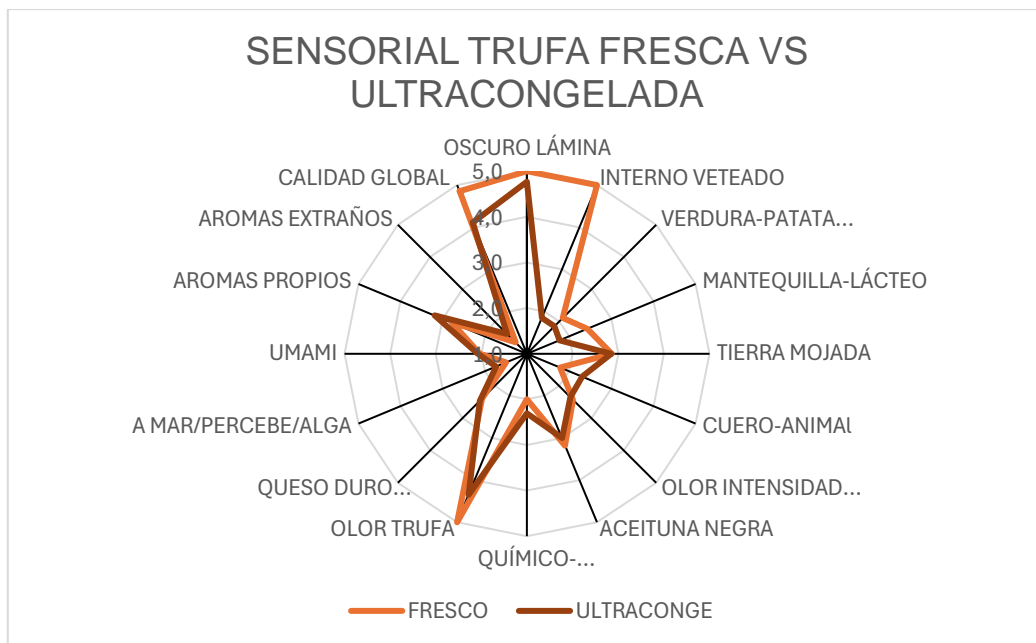


Figura 15: Diagrama de araña comparativo trufa fresca-trufa ultracongelada.

Por último, se observó una similitud notoria entre el aspecto interno de la trufa tratada con liofilización y la trufa fresca. Además, se encontraron los descriptores olfativos característicos de la trufa fresca, pero en menor intensidad. Estos resultados se alinean con estudios realizados, como el de Campo et al. de 2017 quienes encontraron que, aún con reducción en la intensidad del aroma, la liofilización era el tratamiento más eficaz para conservar el aroma de la trufa fresca.

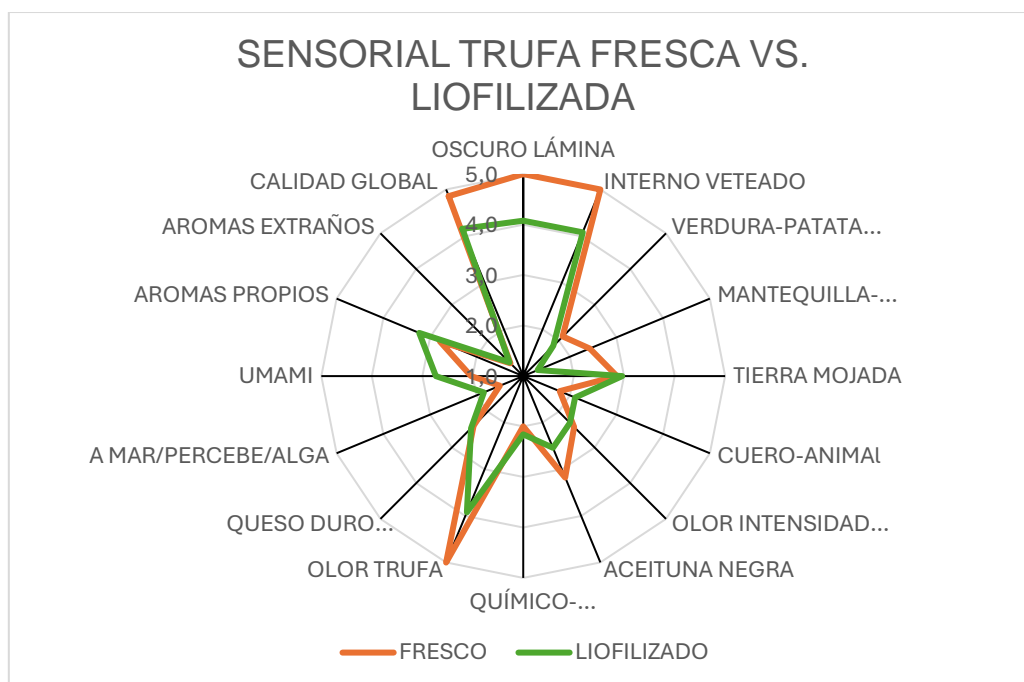


Figura 16: Diagrama de araña comparativo trufa fresca-trufa liofilizada.

6. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente estudio permitieron la obtención de las siguientes conclusiones:

- Los tratamientos de liofilización y ultracongelación demostraron ser los más adecuados para mantener la calidad de la trufa negra al encontrarse mayores similitudes sensoriales en comparación con la trufa fresca, alineándose estos resultados con la bibliografía.
- En el aspecto visual, el tratamiento de ultracongelación resultó ser el más adecuado para preservar el color propio de la trufa negra, mientras que el tratamiento de liofilización es el indicado para conservar el veteado característico del hongo.

- Teniendo en cuenta el deseo de la empresa ID Forest de optimizar la comercialización de la trufa negra, el tratamiento de liofilización resulta ser el más conveniente, al no requerir de la preservación de la cadena de frío.
- Se han observado reducciones decimales de los recuentos microbianos en los tres tipos de tratamientos, pero teniendo en cuenta que el deterioro microbiano es la principal razón de la corta vida útil de la trufa negra, sería necesario desarrollar tratamientos de descontaminación superficial de la trufa en combinación con los tratamientos de conservación.
- Para el análisis sensorial, lo ideal sería analizar los mismos descriptores en diferentes cosechas y temporadas, con el fin de obtener resultados más robustos. Además, es necesario seguir formando y entrenando el panel de cata para mejorar y establecer un aprendizaje continuo.
- En perspectiva de futuro, sería interesante estudiar otro tipo de tratamiento de conservación, como el envasado en atmósfera modificada. Además, realizar un estudio de vida útil en tiempo real donde se analizaran los parámetros microbiológicos, sensoriales y físico químicos de cada tratamiento a lo largo de su ciclo de vida, sería idóneo para asegurar y garantizar el nivel de calidad adecuado de la trufa a lo largo del tiempo.

7. BIBLIOGRAFÍA

Al-Ruqaie, IM (2006). Effect of different treatment processes and preservation methods on the quality of truffles: I. Conventional methods (drying/freezing). *Journal of Food Processing and Preservation*, 30(3), 335–351. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2006.00069.x>

Asociación Española de Normalización y Certificación. (2006). UNE-ISO 5496:2006. Análisis sensorial. Metodología. Iniciación y entrenamiento de un grupo de jueces en la detección y reconocimiento de olores.

Asociación Española de Normalización. (2022). UNE-EN ISO 4120:2022. Análisis sensorial. Metodología. Prueba triangular.

Benucci, GMN., & Bonito, G. (2016). El microbioma de la trufa: efectos de las especies y la geografía sobre las bacterias asociadas con los cuerpos fructíferos de los Pezizales hipogeos. *Microbial Ecology*, 72, 4–8. <https://doi.org/10.1007/s00248-016-0755-3>

Campo, E., Marco, P., Oria, R., Blanco, D., & Venturini, M.E. (2017). What is the best method for preserving the genuine black truffle (*Tuber melanosporum*) aroma. An olfatometric and sensory approach. *LWT*, 80, 84-91. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.02.009>

Culleré, L., Ferreira, V., Venturini, M.E., Marco, P., & Blanco, D. (2013). Chemical and sensory effects of the freezing process on the aroma profile of black truffles (*Tuber melanosporum*). *Food Chemistry*, 136, 518-525. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.030>

Fischer, C.R., Oliach, D., Bonet, J.A., & Colinas, C. (2017). Best Practices for Cultivation of Truffles. Forest Sciences Centre of Catalonia, Solsona, Spain; Yaşama Dair Vakıf, Antalya, Turkey.

Garfias González, M.J. (2017). Packaging activo para el hongo *Tuber melanosporum* (Trufa negra). Tesis. Universidad de Chile (Chile). <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/153262>

Jaworska, G., & Bernas, E. (2009). The effect of preliminary processing and period of storage on the quality of frozen *Boletus edulis* mushrooms. *Food Chemistry*, 113, 936-943. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.023>

Lamas, A.M., & Maio, S. (2020). Aptitud climática para la producción de trufa negra (*Tuber melanosporum*) en Argentina. *Agrometeoros*, Passo Fundo. <http://dx.doi.org/10.31>

Marco, P. (2015). Caracterización bromatológica y microbiológica del Gº *Tuber* y aplicación de procesos combinados para su conservación. Tesis. Universidad de Zaragoza (España). <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=203442>

Marco, P., Campo, E., Oria, R., Blanco, D., & Venturini, M. (2016). Efecto de la liofilización en el aroma de la trufa negra (*Tuber melanosporum*): Una comparación con otros tratamientos de conservación a largo plazo (congelación y esterilización). Ponencia presentada en el VIII Simposio Internacional de Postcosecha: Mejorando la cadena de suministro y los beneficios para el consumidor-Cuestiones éticas y tecnológicas 1194.

Marco, P., Igual Ibáñez, R., & Aguilar Oliveros, C. (2019). La Trufa Negra, mucho más que un aroma (1st ed.). Atruter. Teruel, España.

Orrego, A.E.O. (2008). Congelación y liofilización de alimentos (1st ed.). Gobernación de Caldas. Caldas, Colombia.

Palacios, I., Guillarmón, E., García-Lafuente, A., & Villares, A. (2012). Efectos de la liofilización sobre el aroma de la trufa. *Revista de procesamiento y conservación de alimentos*, 38, 768-773. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12028>

Parmo, D.B. (2014). Estratègies per a la conservació en fresc de la tòfona negra. *III Jornada de divulgació sobre el conreu i les característiques de la tòfona*. Vic, España: Universitat de VIC-UCC.

Phong, W.N., Sung, B., Cao, Z., Gibberd, M., Dykes, G.A., Payne, A.D., & Coorey, R. (2022). Impact of different processing techniques on the key volatile profile, sensory and consumer acceptance of black truffle (*Tuber melanosporum*). *Journal of Food Science*, 87(9), 4174-4187. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16275>

Phong, W.N., Payne, A.D., Dykes, G.A., & Coorey, R. (2023). Postharvest decontamination of fresh black truffle: Effects on microbial population and organoleptic qualities. *Postharvest Biology and Technology*, 197. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2022.112191>

Ramírez Navas, J.S. (2006). Liofilización de alimentos. *Revista ReCiTeIA*, 6-12.

Rivera, C.S. (2009). Caracterización, descontaminación y conservación de *Tuber melanosporum* (trufa negra) y *Tuber aestivum* (trufa de verano). Tesis. Universidad de Zaragoza (España).

Rivera, C.S., Venturini, M.E., Oria, R., & Blanco, D. (2010). Selection of a decontamination treatment for fresh *Tuber aestivum* and *Tuber melanosporum* truffles packaged in modified atmospheres. *Food Control*, 22, 626-632. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.10.015>

Rivera, C.S., Venturini, M.E., Oria, R., & Blanco, D. (2011). Selection of a decontamination treatment for fresh *Tuber aestivum* and *Tuber melanosporum* truffles packaged in modified atmospheres. *Food Control*, 22, 626-632. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.10.015>

Saltarelli, R., Ceccaroli, P., Cesari, P., Barbieri, E., & Stocchi, V. (2008). Effect of storage on biochemical and microbiological parameters of edible truffle species. *Food Chemistry*, 109, 8-16. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.075>

Tejedor-Calvo, E., Marco, P., Spègel, P., & Soler-Rivas, C. (2023). Extraction and trapping of truffle flavoring compounds into food matrices using supercritical CO₂. *Food Research International*, 164. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112422>

Tejedor-Calvo, E., Baquero-Aznar, V., Vega-Diez, S., Salvador, M.L., Sanz, M.A., Sánchez, S., Marco, P., García-Barreda, S., & González-Buesa, J. (2024). Potential of a smart gelatine hydrogel-based package to extend fresh black truffle (*Tuber melanosporum*) shelf-life preserving its aroma profile. *Food Hydrocolloids*, 151. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.109874>

UNECE. (2023). UNECE STANDARD FFV-53 concerning the marketing and commercial quality control of truffles. https://unece.org/sites/default/files/2024-03/FFV-53_Truffles_2023_e.pdf. Accessed May 15, 2024.

Zambonelli, A, Lotti, M. & Murat, C. (2016). True truffle (*Tuber* spp.) in the world: Soil ecology, systematics and biochemistry (1st ed., Vol. 47). Springer International Publishing. Cham, Germany.

8. ANEXOS

ANEXO I: Hojas de cata de los entrenamientos para análisis sensorial

PRUEBA IDENTIFICACIÓN DE OLORES - TRUFA NEGRA						
Nombre del juez:						
Código de Muestra	¿Percibe un olor?		¿Reconoce este olor?		Nombre del olor, descripción del olor o asociación	Comentarios
	Sí	No	Sí	No		
121						
345						
852						
951						
745						
658						
849						
278						
936						
667						

PRUEBA TRIANGULAR - TRUFA NEGRA	
Nombre del juez:	
<p>Se presentan 3 muestras de trufa de las cuales dos son de la misma especie y una es diferente. Debes decir cuál de ellas es única en función del olor y el sabor.</p> <p>Evalúa las muestras presentadas de izquierda a derecha e indica el código de la muestra diferente en el cuadro inferior.</p>	
Código de la muestra diferente:	<input type="text"/>
Observaciones:	

ANEXO II: Hoja de cata para la caracterización sensorial (formulario Google).

* Obligatoria

1. TIPO DE TRATAMIENTO *

- FRESCA-REFERENCIA
- DESHIDRATADA
- LIOFILIZADA (LÁMINAS)
- ULTRACONGELADA

2. ASPECTO INTERNO VETEADO (Veteado blanco sobre negro: De 1 nada a 5 muy marcado) *

3. COLOR OSCURO DE LA LÁMINA (De 1 gris-blanquecino a 5 muy oscuro casi negro) *

4. OLOR TRUFA CARACTERÍSTICO (De 1 nada intenso a 5 muy intenso) *

5. OLOR CUERO-ANIMAL (De 1 nada intenso a 5 muy intenso) *

6. OLOR TIERRA MOJADA (De 1 nada intenso a 5 muy intenso) *

7. OLOR INTENSIDAD CHAMPIÑÓN (De 1 nada intenso a 5 muy intenso) *

8. OLOR QUÍMICO-HIDROCARBURO-ALQUITRÁN (De 1 nada intenso a 5 muy intenso) *

9. OLOR INTENSIDAD VERDURA-PATATA COCIDA (De 1 nada intenso a 5 muy intenso) *

10. **OLOR INTENSIDAD A QUESO DURO MADURO** (A PIÉS) (De 1 nada intenso a 5 muy intenso) *

11. **OLOR INTENSIDAD A MAR/PERCEBE/ALGA** (De 1 nada intenso a 5 muy intenso) *

12. **OLOR INTENSIDAD MANTEQUILLA-LÁCTEO** (De 1 nada intenso a 5 muy intenso) *

13. **OLOR INTENSIDAD ACEITUNA NEGRA** (De 1 nada intenso a 5 muy intenso) *

14. **SABOR UMAMI** *

15. **AROMAS PROPIOS EN BOCA** *

16. **AROMAS EXTRAÑOS EN BOCA** *

17. **CALIDAD GLOBAL** *

18. **COMENTARIOS**