

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería Química



Tesis presentada como parte de los requisitos de la Universidad Nacional del Litoral para la obtención del Grado Académico de: Doctor en Ciencia y Tecnología de Alimentos

LAVADO-DESINFECCION POR ASPERSION Y APLICACION DE ATMOSFERAS ESPECIALES EN FRUTILLAS MINIMAMENTE PROCESADAS

Licenciada [María Paula Méndez Galarraga](#)

Directora: Mg. María Elida Pirovani
Co-directora: Mg. Andrea Marcela Piagentini

JURADOS

Dra. Ana Binetti
Dra. Analía Concellón
Dra. Silvia del Carmen Rodriguez

Área de Conservación de Alimentos
Instituto de Tecnología de Alimentos

2020

*Allí donde se cruzan tus talentos
con las necesidades del mundo
está tu misión.*

Aristóteles

A MI FAMILIA, POR SU APOYO

Y AMOR INCONDICIONAL.

AGRADECIMIENTOS

Finalizando esta etapa quisiera agradecer a todas aquellas personas que de alguna u otra manera formaron parte de este largo camino recorrido, contribuyendo a mi formación, brindándome su apoyo y acompañándome.

A mis directoras de tesis, Mariel y Andrea, por haberme dado la oportunidad de hacer mi Tesis doctoral en el Instituto de Tecnología de Alimentos, por haberme transmitido sus conocimientos y haberme acompañado en este camino de formación profesional. Pero sobre todo les agradezco haberme apoyado siempre, tanto profesional como personalmente.

A la Universidad Nacional del Litoral y la Facultad de Ingeniería Química por haberme dado la oportunidad de poder continuar formándome y por los conocimientos que todos sus profesores aportaron a mi carrera profesional.

A la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT) y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por haber financiado a través de becas la realización de la presente tesis.

A la Educación Pública y Gratuita.

A Franco por su dedicación constante, por ayudarme a crecer, tanto profesional como personalmente, por sus consejos y palabras de apoyo, y por transmitirme su pasión por investigar que tanto admiro y tengo de ejemplo.

A mi amiga incondicional Mili, por tantos años de amistad, sin los cuales este camino no hubiese sido el mismo.

A mis amigas Yani y María por ayudarme a crecer, por su amistad, por ser las hermanas mayores que siempre quise tener. Gracias por recorrer conmigo este camino a pesar de los tropiezos.

A los "Chenchinis" por hacer el trabajo divertido, con muchas risas, café y mate. Por bancar mis llantos, mi humor y hacerme ver que todo lo difícil, acompañado de buenas personas es más fácil de llevar adelante.

A Carolina, Laura y Ana que, además de ayudarme a introducirme en el mundo de la docencia y confiar en mí, me transmitieron sus conocimientos y experiencias.

A mis compañeros del ITA, por su calidad humana y profesional, por sus conocimientos y experiencias, por el día a día. Especialmente agradezco a Sara Salsi por abrirme su lugar en Microbiología y dejarme formar parte de él.

Al AfterITA por acompañarme todos estos años, por la amistad, las risas y los buenos momentos.

A mi familia Papá, Mamá, Nico, Azul y Cande por su apoyo constante, por permitirme realizar mis sueños, ayudarme a cumplirlos y levantarme siempre que el camino se haga difícil. Gracias por ser mi ejemplo, mi motor y mi refugio. Los amo.

A Juana, mi compañera incondicional.

A mi abuela Betty que estaría orgullosa de mí y siempre va a ser la estrella que me guía y acompaña.

A mi madrina, mis tíos, mis primos y mis sobrinos por estar siempre y ser mi apoyo en la vida.

A mis amigos de la vida, a los que están cerca y a los que están lejos, por bancarme, apoyarme, escucharme y estar siempre que los necesito. Un especial agradecimiento a Matías, porque a pesar de las caídas siempre estuvo acompañándome en este camino.

“The happiness is only real when shared”-Into the Wild-

El presente trabajo de Tesis dio lugar a las siguientes publicaciones:

Méndez-Galarraga, M. P., Salsi, M. S., Piagentini, A. M. y Pirovani, M. É. (2018). Spray Washing Disinfection with Peracetic Acid in the Processing of Fresh-Cut Strawberries: An Alternative for Dipping Techniques. *International Journal of Fruit Science*, 19(3), 258–275. <https://doi.org/10.1080/15538362.2018.1502722>

Van de Velde, F., Méndez-Galarraga, M. P., Piagentini, A. M., y Pirovani, M. É. (2019). Técnicas amigables con el medio ambiente para la descontaminación de frutas finas. In M. J. Stadnik, A. C. Velho, y S. E. Zorrilla (Eds.), *DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL NA PRODUÇÃO AGROALIMENTAR* (p. 249). ISBN: 978-65-80460-51-9.

Presentaciones en reuniones científicas

Méndez-Galarraga MP; Piagentini AM; Pirovani ME. (2019). Efecto de atmósferas altas en oxígeno sobre la calidad microbiológica y general de frutillas frescas cortadas. ISBN 978-987-1676-88-0. Congreso Argentino de Biología y Tecnología Poscosecha. Santiago del Estero, Argentina.

Méndez-Galarraga MP; Nosedá J; López E; Pirovani ME; Piagentini AM. (2018). Atmósferas altas en oxígeno: efectos sobre la calidad de frutillas frescas cortadas. 7º COSIMP - 7º Congresso de Ciências Farmacêuticas do Mercosul, 7º Simpósio em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Mercosul e 2º Encontro de Pesquisa e Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Cascavel, Paraná. Brasil.

Méndez Galarraga, MP; Nosedá, J; González González, G; Piagentini, AM; Pirovani ME. (2018). Efecto de atmósferas altas en oxígeno sobre el potencial saludable de frutillas frescas cortadas. 5º Congreso Latinoamericano de Ingeniería y Ciencias Aplicadas “CLICAP 2018”. San Rafael, Mendoza.

Méndez Galarraga, MP; Piagentini, AM; Pirovani ME. (2018). Efecto de atmósferas altas en oxígeno con dióxido de carbono sobre la calidad microbiológica de frutillas mínimamente procesadas. 5º Congreso Latinoamericano de Ingeniería y Ciencias Aplicadas “CLICAP 2018”. San Rafael, Mendoza.

Méndez Galarraga MP, Salsi S, Piagentini AM, Pirovani ME. (2017). Lavado-desinfección por aspersion con ácido peracético como método alternativo del lavado por

inmersión en frutillas frescas cortadas. XVI Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

Méndez Galarraga MP, Salsi S, Piagentini AM, Pirovani ME. (2016). Efecto del lavado por aspersión en la calidad de frutillas mínimamente procesadas. ISBN: 978-987-45380-0-0. VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Córdoba, Argentina.

Méndez Galarraga MP, Salsi S, Piagentini AM, Pirovani ME. (2016). Evaluación de la eficacia del lavado-desinfección por aspersión con ácido peracético en frutillas mínimamente procesadas. ISBN: 978-987-45380-0-0. VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Córdoba, Argentina.

Méndez Galarraga MP, Salsi S, Moguilevsky M, Piagentini AM, Pirovani ME. (2015). Impacto del lavado por aspersión en la calidad de frutillas mínimamente procesadas. ISBN: 978-987-45726-2-2. VIII Jornadas Argentinas de Biología y Tecnología Postcosecha. Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

Méndez Galarraga MP, Salsi S, Moguilevsky M, Fenoglio C, Van de Velde F, Piagentini AM, Pirovani ME. (2015). Modelado del lavado-desinfección por aspersión con ácido peracético en frutillas mínimamente procesadas. Modalidad: Resumen. IV Congreso Latinoamericano de Ingeniería y Ciencias Aplicadas a la Industria. ISBN: 978-987 575-119-4. San Rafael, Mendoza, Argentina.

I.INDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN	9
ABSTRACT	11
1. INTRODUCCION	13
1.1 FRUTILLAS. CONSIDERACIONES GENERALES.....	14
1.2 GENERALIDADES SOBRE EL CULTIVO DE FRUTILLAS EN ARGENTINA	15
1.3 COMPUESTOS NUTRICIONALES DE FRUTILLAS	17
1.3.1 Macronutrientes.....	17
1.3.2 Micronutrientes	20
1.4 COMPUESTOS FENÓLICOS	22
1.4.1 Antocianinas.....	24
1.5 ESTRÉS OXIDATIVO Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS FRUTAS.....	25
1.6 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE FRUTAS Y HORTALIZAS FRESCAS CORTADAS	27
1.6.1 Factores que afectan la calidad de las frutas mínimamente procesadas.....	29
1.6.1.1 Factores precosecha	29
1.6.1.2 Factores poscosecha.....	31
1.6.2 Procesamiento de frutas frescas cortadas	31
1.6.2.1 Primeras etapas del procesamiento	33
1.6.2.2 Pelado y corte	33
1.6.2.3 Lavado-desinfección	34
1.6.2.4 Envasado.....	37
1.6.2.5 Almacenamiento y distribución.....	40
1.6.3 Cambios metabólicos y fisiológicos que ocurren en los productos mínimamente procesados41	
1.7 OBJETIVOS	44
1.7.1 Objetivo general	45
1.7.2 Objetivos específicos	45
2. MATERIALES Y METODOS.....	47
2.1 MATERIA PRIMA	48
2.2 ESTUDIO DEL LAVADO-DESINFECCION POR ASPERSION CON ACIDO PERACETICO.....	48
2.2.1 Lavado-desinfección por aspersión.....	50
2.2.1.1 Preparación de soluciones de ácido peracético	50

2.2.2	Efectividad del lavado. Preparación e inoculación con <i>Escherichia coli</i> en las frutillas frescas cortadas.....	51
2.2.3	Diseño experimental	52
2.2.3.1	Ensayo preliminar para determinar el rango de variables	53
2.2.3.2	Diseño Central Compuesto	53
2.2.4	Optimización y validación.....	55
2.2.5	Análisis estadístico	56
2.3	ESTUDIO DEL ALMACENAMIENTO DE FRUTILLAS FRESCAS CORTADAS EN ATMOSFERAS ESPECIALES.....	57
2.3.1	Atmósferas Controladas utilizadas.....	59
2.3.2	Modelado de las curvas de crecimiento de los microorganismos nativos de las frutillas frescas cortadas durante el almacenamiento en atmósferas especiales.	60
2.3.3	Modelado cinético para los cambios de color y la retención de la firmeza.	61
2.3.4	Análisis estadístico	62
2.4	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS	64
2.4.1	Aerobios mesófilos totales	64
2.4.2	Mohos y levaduras	64
2.4.3	<i>Escherichia coli</i>	64
2.4.4	Microorganismos psicrótrofos totales	65
2.5	DETERMINACIONES ANALÍTICAS DE ANTOCIANINAS TOTALES, FENOLES TOTALES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	65
2.5.1	Preparación de los extractos.....	65
2.5.2	Determinación del contenido de antocianinas totales	65
2.5.3	Determinación del contenido de fenoles totales.....	66
2.5.4	Determinación de la capacidad antioxidante.....	66
2.6	DETERMINACIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO Y ÁCIDO ASCÓRBICO TOTAL (VITAMINA C)	67
2.6.1	Preparación de los extractos.....	67
2.6.2	Determinación de ácido ascórbico (AA)	68
2.6.3	Determinación de ácido ascórbico total (AAT) o vitamina C.....	68
2.6.4	Curva de calibrado de ácido ascórbico y ácido ascórbico total.....	69
2.7	DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE ANTOCIANINAS	70
2.7.1	Preparación de los extractos.....	70
2.7.2	Determinación de pelargonidin 3- <i>O</i> -glucósido, cianidin 3- <i>O</i> -glucósido y pelargonidin 3- <i>O</i> -rutinosido.	70
2.8	SÓLIDOS SOLUBLES Y PH.....	71
2.9	DETERMINACIÓN DE COLOR.....	71
2.10	DETERMINACIÓN DE FIRMEZA	72
3.	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	74
3.1	ESTUDIO DEL LAVADO-DESINFECCION POR ASPERSION CON ACIDO PERACETICO.....	75
3.1.1	Calidad general de frutillas antes del lavado desinfección por aspersion.	75

3.1.2	Efecto del lavado desinfección por aspersión con ácido peracético (PAA) sobre la reducción los microorganismos nativos y la reducción de <i>E. coli</i> inoculada en las frutillas mínimamente procesadas.....	77
3.1.3	Efecto del lavado desinfección por aspersión sobre los atributos relacionados con la calidad sensorial de frutillas frescas cortadas.	88
3.1.4	Efecto del lavado desinfección por aspersión sobre la retención de los compuestos bioactivos: fenoles totales, antocianinas totales, ácido ascórbico y vitamina C y de la capacidad antioxidante....	92
3.1.5	Optimización de respuestas múltiples del lavado desinfección por aspersión y validación de los modelos obtenidos	94
3.2	ESTUDIO DEL ALMACENAMIENTO DE FRUTILLAS FRESCAS CORTADAS EN ATMOSFERAS ESPECIALES.....	98
3.2.1	Características de la materia prima.....	98
3.2.2	Modelado de los cambios en los recuentos microbiológicos en función del tiempo de almacenamiento y la composición atmosférica	99
3.2.3	Atributos relacionados a la calidad sensorial en frutillas frescas cortadas almacenadas en diferentes atmósferas	110
3.2.3.1	Cambios en el contenido de sólidos solubles y pH	110
3.2.3.2	Cambios en los parámetros de color	113
3.2.3.3	Cambios en la textura.....	118
3.2.4	Cambios en los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante de frutillas frescas cortadas almacenadas en atmósferas especiales.....	121
3.2.4.1	Fenoles totales.....	122
3.2.4.2	Antocianinas	123
3.2.4.3	Ácido ascórbico y Vitamina C.....	127
3.2.4.4	Capacidad Antioxidante.....	130
4.	CONCLUSIONES	133
5.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	139

RESUMEN

El objetivo general de este trabajo fue desarrollar nuevos aspectos en las tecnologías de la elaboración de frutillas frescas cortadas, buscando maximizar la inocuidad y minimizar el deterioro de los compuestos bioactivos preservando los atributos relacionados a la calidad sensorial.

En una primera etapa, se estudió el lavado desinfección por aspersión de frutillas frescas cortadas con ácido peracético (PAA) con el objetivo de optimizar la operación. Se aplicó un Diseño Central Compuesto, variando la concentración del sanitizante (1 a 240 mg L⁻¹) y el tiempo de aspersión (11 a 138 s), evaluando la calidad microbiológica, los atributos relacionados con la calidad sensorial y los compuestos bioactivos. Además, se utilizó un patógeno modelo (*Escherichia coli*) para determinar la efectividad del método. Se propuso un modelo polinomial de segundo orden para representar las respuestas: reducción de aerobios mesófilos totales (TMCR), mohos (MCR), levaduras (YCR) y *E.coli* (EcoliCR); retención de antocianinas y fenoles totales, ácido ascórbico, vitamina C, capacidad antioxidante, sólidos solubles (SS) y pH, y los cambios relativos de los parámetros de color. Todas las respuestas fueron evaluadas el día del procesamiento (d0) y después de 7 días de almacenamiento a 2°C en envases PET (d7). Al d0, TMCR, MCR, YCR y EcoliCR ajustaron a los modelos propuestos en función de las variables de proceso, mientras que al d7, sólo ajustó YCR. Las otras respuestas no se modificaron significativamente por las variables del proceso, por lo que la mejor estimación fue el valor promedio de las corridas experimentales. Se determinaron las condiciones óptimas del lavado desinfección por aspersión (240 mg L⁻¹ y 97 s), maximizando TMCR, MCR y YCR al d0. Se validaron los modelos en las condiciones óptimas, no encontrándose diferencias significativas entre el valor predicho y el resultado experimental. El lavado desinfección por aspersión con PAA puede considerarse una buena alternativa para la desinfección de frutillas frescas cortadas, debido a las reducciones microbiológicas obtenidas y a los mínimos cambios que produce en los atributos relacionados con la calidad sensorial y nutricional.

Posteriormente, se estudió el efecto del almacenamiento en atmósferas modificadas altas en oxígeno (70-90 kPa) incluyendo distintas concentraciones de dióxido de carbono (0-20 kPa) sobre la calidad de frutillas frescas cortadas (lavadas en condiciones óptimas),

comparando con las atmósferas tradicionales (5 kPa O₂-5 kPa CO₂) y el aire. Para ello, se colocaron las frutillas frescas cortadas en recipientes herméticos con distintas atmósferas y se evaluó la evolución en el tiempo a 5 °C de la microflora nativa, los atributos relacionados con la calidad sensorial (pH, SS, color y firmeza), los compuestos bioactivos (fenoles totales, antocianinas, ácido ascórbico y vitamina C) y la capacidad antioxidante. Las atmósferas superatmosféricas combinadas o no con CO₂ controlaron el desarrollo microbiano por 20 días, siendo las atmósferas con alto contenido O₂ (70-80 kPa) y alto contenido de CO₂ (20 kPa) las que mejor lo hicieron; mientras que 5 kPa O₂-5 kPa CO₂ y el aire no pudieron controlar adecuadamente el crecimiento de los microorganismos en 14 y 7 días, respectivamente. Los SS disminuyeron y el pH se incrementó en todo el almacenamiento, independientemente de la atmósfera utilizada. Los parámetros de color en el almacenamiento fueron siempre diferentes respecto al día 0, siendo 5 kPa O₂-5 kPa CO₂ la que mayor impacto tuvo sobre ellos. Los resultados obtenidos para la firmeza fueron variables, pero las frutillas almacenadas en aire redujeron su firmeza más rápido. Los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante fueron afectados significativamente por las atmósferas empleadas y por el tiempo de almacenamiento. Si bien las retenciones de los compuestos bioactivos fueron variables, la capacidad antioxidante al finalizar la experiencia se mantuvo por encima del 80%. El almacenamiento de frutillas frescas cortadas en atmósferas altas en oxígeno y dióxido de carbono permitió extender la vida útil durante al menos 20 días, mostrando un comportamiento promisorio para el empleo de estas atmósferas en frutas frescas cortadas.

ABSTRACT

The aim of this work was to develop new aspects in the technologies for fresh-cut strawberries production, maximizing safety and minimizing bioactive compounds deterioration, while preserving the attributes related to sensory quality.

In a first stage, spray washing-disinfection with peracetic acid (PAA) of fresh-cut strawberries was studied to optimize the operation. A *Central Composite Design* was applied, varying the sanitizer concentration (1 to 240 mg L⁻¹) and the spraying time (11 to 138 s), evaluating the microbiological quality, the attributes related to the sensory quality and the bioactive compounds. In addition, a model pathogen (*Escherichia coli*) was used to determine the effectiveness of the method. A second order polynomial model was proposed to represent the responses: reduction of total mesophilic microorganisms (TMCR), molds (MCR), yeasts (YCR) and *E.coli* (EcoliCR); bioactive compounds retention: anthocyanins, total phenolics, ascorbic acid, vitamin C and antioxidant capacity; soluble solids (SS) and pH retention, and the relative changes of the color parameters. All responses were evaluated immediately after washing (d0) and after 7 d of storage at 2 °C (d7). TMCR, MCR, YCR and EcoliCR were fit to proposed models based on the process variables at d0, and at d7, just YCR. The other responses were not significantly affected by the process variables, and the best estimation is the average of their retentions within the experimental range. Maximizing the responses of the TMCR, YCR and MCR at d0, the optimum processing conditions achieved were 240 mg L⁻¹ and 97 s. The models were validated, and no significant differences were found between predicted and experimental values. Spray washing-disinfection with PAA could be considered a good alternative for fresh-cut strawberries, due to the microbiological reductions obtained and the minimal changes it produces in the attributes related to sensory and nutritional quality.

Subsequently, the effect of storage in high oxygen (70 - 90 kPa) and carbon dioxide (0 - 20 kPa) atmospheres on quality of fresh-cut strawberries was studied. They were compared to those of fruit stored in air and in a low oxygen plus carbon dioxide (5 kPa O₂ - 5 kPa CO₂) atmosphere. For this, fresh-cut strawberries were placed in hermetic jars with different atmospheres and the evolution of native microflora, the attributes related to sensory quality (pH, SS, color and firmness), the bioactive compounds (total phenolics, anthocyanins, ascorbic acid and vitamin C) and the antioxidant capacity were evaluated over time at 5°C. Microbial growth was best controlled in samples stored in high O₂ (70 - 80 kPa) and high CO₂ (20 kPa) for 20 d at 5°C, while fruit stored in 5 kPa O₂ - 5 kPa CO₂ had no sign of decay for 14 d, and those stored in air maintained good visual quality only for 7 d. The SS decreased and the pH increased throughout storage, regardless of the atmosphere used. Color parameters during storage were always different compared to day 0, being 5 kPa O₂-5 kPa CO₂ the one that had the greatest impact on

them. The results obtained for firmness were variable, but strawberries stored in air reduced faster their firmness. The bioactive compounds and the antioxidant capacity were significantly affected by the atmospheres used and the storage time. Although the retention of bioactive compounds was variable, the antioxidant capacity at the end of the experience remained above 80%. The storage of fresh-cut strawberries in atmospheres high oxygen and carbon dioxide allowed to extend the shelf life for at least 20 days, showing a promising behavior for the use of these atmospheres in fresh cut fruits.

1. INTRODUCCION

1.1 FRUTILLAS. CONSIDERACIONES GENERALES

Las variedades de frutilla cultivadas actualmente se han desarrollado a partir de la especie híbrida *Fragaria x ananassa* Duch., la cual pertenece al género *Fragaria* de la familia Rosaceae y representa el cruce de *Fragaria virginiana* del este de Estados Unidos, notable por su sabor fino, y *Fragaria chiloensis* de Chile, conocida por su gran tamaño. Los cultivos de *Fragaria x ananassa* Duch. han reemplazado en la producción comercial a la frutilla salvaje, *Fragaria vesca*, que era la primera especie cultivada en el siglo XVII (Gündüz, 2015).

Desde el punto de vista botánico, la frutilla es un falso fruto que se origina a partir de los tejidos del receptáculo floral (parte carnosa y comestible del fruto), en la superficie del cual se encuentran los verdaderos frutos o aquenios, los cuales se conectan al interior del receptáculo a través de haces vasculares que le permiten el intercambio de diversas sustancias, incluidas hormonas y distintos nutrientes (Pombo, 2009). Después de la fecundación, los óvulos al convertirse en aquenios estimulan el engrosamiento del receptáculo, el cual puede ser de diferentes formas y tamaños dependiendo de la variedad. En la base del fruto se encuentra el cáliz con sépalos adherentes, libres o reflexos y de color verde (Figura 1.1).

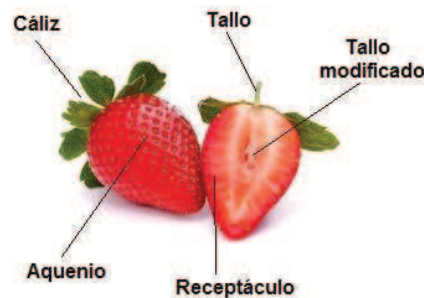


Figura 1.1 Estructura de la frutilla

Por su fisiología, la frutilla se clasifica dentro de los frutos no climatéricos, debido a que la maduración se inicia y progresa sin que se produzca un pico en la producción de etileno ni un aumento en la respiración (Giovannoni, 2001), es por ello que la madurez comercial se alcanza solamente en la planta. Además, esta fruta se caracteriza por presentar una vida postcosecha muy corta debido mayormente a que posee una actividad metabólica relativamente alta, es particularmente sensible a la descomposición por hongos, y es muy susceptible a la pérdida de agua, golpes, y daños

mecánicos debido a su textura suave y a la falta de una corteza protectora (Hernández-Muñoz et al., 2006). Estos problemas llevan a grandes pérdidas económicas y la industria está constantemente buscando tratamientos postcosecha para mantener su calidad y extender su vida útil (Contigiani et al., 2018).

La maduración de las frutas es un proceso muy complejo que se ve influenciado por la síntesis y acción de hormonas, la biosíntesis de pigmentos, el metabolismo de azúcares, ácidos y compuestos volátiles involucrados en el desarrollo del *flavor* (Kafkas et al., 2007). Durante el proceso de maduración de la frutilla se producen cambios de color, tamaño, acumulación de sólidos solubles, disminución de la acidez y cambios en la pigmentación y la textura del fruto. Los distintos estadios de desarrollo y de maduración son comúnmente clasificados según el color externo y tamaño del mismo. De esta manera, los frutos se clasifican en verde pequeño (VP), verde grande (VG), blanco (B), 25 % rojo, 50 % rojo, 75 % rojo y 100 % rojo (Figura 1.2). Los nombres de estos cuatro últimos estadios hacen referencia al porcentaje aproximado de superficie del fruto que presenta color rojo.

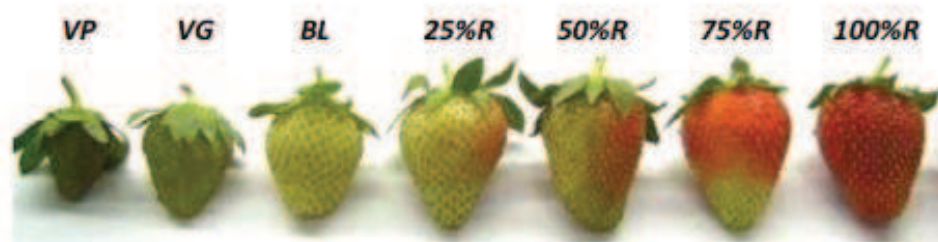


Figura 1.2 Diferentes estadios de maduración de la frutilla. VG, verde grande; BL, blanco; 25 a 100%R, 25 a 100% de superficie roja, respectivamente (adoptado de Pombo, 2009)

1.2 GENERALIDADES SOBRE EL CULTIVO DE FRUTILLAS EN ARGENTINA

Argentina anualmente cultiva entre 1.300 y 1.500 ha. de frutilla con una producción aproximada de 45 mil a 52 mil toneladas anuales. Las regiones de los principales productores de frutilla están dispersas a lo largo y ancho del territorio, con polos frutilleros importantes en Coronda (provincia de Santa Fe), Lules (provincia de Tucumán), área metropolitana de Buenos Aires (provincia de Buenos Aires), Mar del Plata (provincia de Buenos Aires), Perico (provincia de Jujuy), Bella Vista (provincia de

Corrientes) y las provincias patagónicas. Las provincias de Santa Fe, Tucumán y Buenos Aires representan alrededor del 70% de la producción total del país. Aproximadamente el 60% de la fruta se consume fresca y el 40% se procesa. De esta última, sólo una pequeña fracción (1.030 toneladas) se exporta, principalmente a los EE.UU (Kirschbaum, 2017).

En la provincia de Santa Fe, la superficie cultivada de frutilla es de 414 hectáreas, distribuidas en dos zonas de cultivo: la primera de ellas corresponde a Coronda y concentra 308 hectáreas (74% del total), ubicadas en las localidades de Arocena, Desvío Arijón y Coronda. Las restantes 106 hectáreas (26%) se emplazan en la zona de la Costa, comprendida por Arroyo Leyes, Rincón, Santa Rosa de Calchines y Helvecia (Sordo et al., 2017).

El cultivo de frutilla en Santa Fe se caracteriza por la amplia difusión de tecnologías de desinfección de suelo, microtúneles y macrotúneles (Figura 1.3). Con ellas logran, por un lado, reducir incidencia de plagas y enfermedades, uso de agroquímicos, y daños por heladas, granizo y lluvias; y por otro, aumentar la producción de fruta primicia, del rendimiento total, y mejorar la uniformidad de maduración y tamaño de los frutos.

En cuanto a las variedades, la estrategia son los sistemas multivarietales, con el objetivo de tener cantidad y calidad a lo largo de toda la campaña, priorizando la fruta primicia. Se usan las variedades tempranas *Festival*, *Splendor* y *San Andreas*; intermedias *Sabrina*, *Sahara* y *Benicia*; y tardías *Camino Real* y *Merced* (Kirschbaum, 2017).



Figura 1.3 Tecnología de cultivo en macrotúneles utilizada por productores en Coronda

1.3 COMPUESTOS NUTRICIONALES DE FRUTILLAS

La frutilla representa una opción alimenticia saludable debido a su composición nutricional (Tabla 1.1) (Giampieri et al., 2012). En general, la mayoría de las frutas son ricas en agua y pobres en lípidos y proteínas. Con respecto a los hidratos de carbono, es el segundo nutriente, luego del agua, de mayor abundancia en las frutas. Poseen un alto contenido de vitaminas y minerales; y fitoquímicos que presentan potenciales efectos beneficiosos para la salud (Nile y Park, 2013); de hecho, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) recomiendan a través de sus guías alimentarias, consumir frutas y hortalizas al menos 5 veces por día (FAO, 2014).

1.3.1 Macronutrientes

En cuanto a los macronutrientes que poseen las frutas, el agua es el componente más abundante, alcanzando en algunos casos más del 95% de la masa. El porcentaje de agua varía en función de las diferentes estructuras y el estado de desarrollo (Vicente et al., 2014).

Después del agua, los carbohidratos son los constituyentes más abundantes en las frutas y vegetales, y representan entre el 50-80% del peso seco. La glucosa y la fructosa son los principales monosacáridos que se encuentran en las frutas, y varía de una fruta a otra. En cuanto a los oligosacáridos, la sacarosa es el más importante y es el único hallado en frutillas (Tabla 1.1). La glucosa, la fructosa y la sacarosa son solubles en agua y son los principales responsables del sabor dulce. En muchas frutas (manzanas, peras, frutillas) la glucosa y la fructosa son más abundantes que la sacarosa, mientras que, en algunas frutas maduras, como la banana, durazno, o melón, la concentración de sacarosa es mayor (Vicente et al., 2014). Los polisacáridos incluyen el almidón y los que forman parte de la fibra. El almidón se halla en frutas en estado inmaduro, y su concentración disminuye a medida que la fruta madura, a excepción de la banana que presenta una concentración de almidón de 3% (Cano et al., 2005).

Tabla 1.1 Perfil nutricional de frutillas frescas¹

Nutrientes	Por 100 g FF ²
Agua (g)	90.95
Energía (Kcal)	32
Proteínas (g)	0.67
Lípidos totales (g)	0.30
<i>Grasas saturadas (g)</i>	0.015
<i>Grasas monoinsaturadas (g)</i>	0.043
<i>Grasas poliinsaturadas (g)</i>	0.155
Carbohidratos (por diferencia) (g)	7.68
Fibra dietaria (g)	2.0
Azúcares totales (g)	4.89
<i>Glucosa (g)</i>	1.99
<i>Sacarosa (g)</i>	0.47
<i>Fructosa (g)</i>	2.44
Minerales	
Calcio (mg)	16
Hierro (mg)	0.41
Magnesio (mg)	13
Fósforo (mg)	24
Potasio (mg)	153
Sodio (mg)	1
Zinc (mg)	0.14
Cobre (mg)	0.048
Manganeso (mg)	0.386
Selenio (µg)	0.4
Vitaminas	
Vitamina C (mg)	58.8
Tiamina (B1) (mg)	0.024
Riboflavina (B2) (mg)	0.022
Niacina (B3) (mg)	0.386
Ácido pantoténico (mg)	0.125
Vitamina B6 (mg)	0.047
Folato (µg)	24
Colina (mg)	5.7
Betaína (mg)	0.2
Vitamina A, EAR ³ (µg)	1
<i>β-caroteno (µg)</i>	7
Luteína + zeaxantina (µg)	26
Vitamina E (α tocoferol) (mg)	0.29
<i>β-tocoferol</i>	0.01
<i>γ-tocoferol</i>	0.08
<i>δ-tocoferol</i>	0.01
Vitamina K (filoquinona) (µg)	2.2

¹ adaptado de FoodDataCentral-USDA, 2019; ²FF: fruta fresca; ³EAR: equivalente de la actividad de retinol.

Las proteínas representan menos del 1 % de peso fresco de la mayoría de las frutas, y la frutilla no es la excepción (Tabla 1.1), aportando un bajo contenido de compuestos nitrogenados (Vicente et al., 2014).

La concentración de grasas de la mayoría de las frutas y hortalizas suele ser menor al 1% de su peso, aunque hay excepciones como el aguacate. En un grado menor, las frutillas son una fuente de ácidos grasos saludables y esenciales porque el aceite de los aguacates es rico en ácidos grasos insaturados (~72% ácidos grasos poliinsaturados) (Giampieri et al., 2012).

Los ácidos orgánicos, definidos por la presencia de grupos carboxílicos, están divididos en ácidos alifáticos y aromáticos. En las frutas, los ácidos orgánicos más abundantes son el cítrico, el málico y el tartárico. El malato es el principal ácido de los frutos carnosos, mientras que el citrato es abundante en cítricos, berries y tomate, y el tartrato es predominante en uvas. Los ácidos orgánicos aromáticos están en algunas frutas, pero en muy baja concentración. Los ácidos orgánicos juegan un rol importante en el sabor de las frutas. La relación entre los azúcares y los ácidos es usado generalmente como un índice de maduración. El principal valor nutricional de estos ácidos es que actúan como precursores de la síntesis de aminoácidos, además pueden ayudar a estabilizar algunas proteínas y prevenir la oxidación de algunos compuestos fenólicos durante el procesamiento (Vicente et al., 2014).

El término fibra dietaria incluye aquellos constituyentes comestibles de las plantas que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado humano. El interés por los alimentos ricos en fibra viene dado por los efectos beneficiosos en la salud, ya que, a través de estudios epidemiológicos, se observó que la reducción en su consumo provoca estreñimiento, diverticulitis, cáncer en el intestino grueso, como así también el riesgo de obesidad, enfermedades cardiovasculares y diabetes tipo 2 (Champ et al., 2003). Las fibras generalmente se clasifican como solubles e insolubles en función de su solubilidad en agua. Las fibras insolubles incluyen la celulosa, la lignina y algunas hemicelulosas, las cuales no son fermentadas por las bacterias en el colon, lo que provoca una disminución en el tiempo de tránsito intestinal y mejora la regularidad. Por otro lado, las fibras solubles como las pectinas, gomas, β -glucanos y algunas hemicelulosas, se fermentan fácilmente en el colon, produciendo el crecimiento bacteriano y la producción de ácidos grasos de cadena corta y gas (Davison y Temple,

2018). Las frutas se caracterizan por ser una buena fuente de fibra dietaria, y en particular, el contenido de fibra de frutillas conjuntamente con el contenido de fructosa, pueden contribuir a regular los niveles de azúcar en sangre mediante el enlentecimiento de la digestión. Además, la fibra dietaria puede controlar la ingesta calórica, debido a su efecto saciante (Giampieri et al., 2015).

1.3.2 Micronutrientes

Las recomendaciones del consumo de frutas y hortalizas como parte de una dieta saludable se basan en el hecho de que aportan gran cantidad de vitaminas y minerales (FAO, 2014).

- **Vitaminas**

Las vitaminas son compuestos orgánicos esenciales para el funcionamiento fisiológico normal del organismo humano, y no son sintetizadas por el mismo. Por lo tanto, deben ser suministradas a través de la dieta. Actualmente, se conocen trece vitaminas, cada una con una función específica (Combs y McClung, 2016). Las frutas y hortalizas son una fuente vital de vitaminas, pero su concentración varía dependiendo la especie, el cultivo, las condiciones ambientales y las prácticas culturales (Vicente et al., 2014)

En particular, las frutillas contienen vitaminas liposolubles incluyendo carotenoides, vitamina A, E y K, pero uno de los aspectos de mayor relevancia nutricional es el alto contenido de vitamina C (alrededor de 60 mg/100 g de fruta fresca). Aunque en menor medida, también son una buena fuente de otras vitaminas, como la tiamina, riboflavina, niacina y vitamina B6 (Tabla 1.1). Otra característica nutricional importante es la concentración de folato (24 µg / 100 g de fruta fresca). Entre las frutas, las frutillas son una de las fuentes naturales más ricas de este micronutriente indispensable, que representa un factor esencial en la promoción de la salud y la prevención de enfermedades (Giampieri et al., 2015).

La vitamina C se considera como un término global que abarca su forma reducida: el ácido L-ascórbico (AA), el cual es la principal forma biológicamente activa; y su forma oxidada: el ácido L-dehidroascórbico (ADHA), el cual también tiene actividad vitamínica, pero en menor proporción (Amaro et al., 2014). La reacción de oxidación que puede sufrir el AA se debe, en gran medida, a la exposición a altas temperaturas, pH, presencia

de luz, oxígeno o metales y a la acción enzimática. La reacción de oxidación del AA a ADHA es reversible debido a la presencia de dos grupos hidroxilos en su estructura (Figura 1.4). Una oxidación posterior genera ácido dicetogulónico (ADCG) el cual no tiene función biológica y la reacción es irreversible (Nováková et al., 2008).

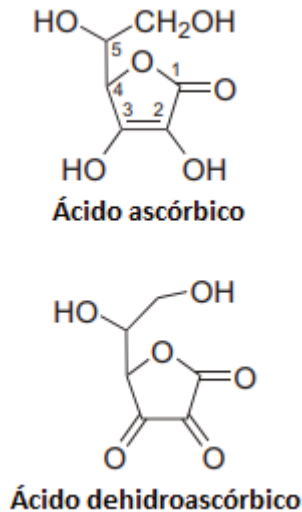


Figura 1.4 Estructura del ácido ascórbico y del ácido dehidroascórbico

En general, las frutas tienden a ser la principal fuente alimenticia de vitamina C (Vicente et al., 2014). El contenido de vitamina C depende de la especie, el cultivar, el estado de madurez y de la manipulación poscosecha (Lee y Kader, 2000). Es una de las vitaminas más inestables, su proceso de destrucción suele comenzar cuando el vegetal es cosechado, aumentando su degradación con el incremento de la temperatura y el tiempo de almacenamiento (de Ancos et al., 2009). Es por ello, que el AA es uno de los indicadores químicos más importantes al evaluar el procesamiento de las frutas (Amaro et al., 2014).

La ingesta diaria recomendada de vitamina C es de 75 y 90 mg por día para hombres y mujeres jóvenes, respectivamente (Vicente et al., 2014).

En cuanto a sus funciones biológicas, la vitamina C, más precisamente el ácido ascórbico, está involucrado en muchos procesos fisiológicos, sobre todo debido a sus propiedades redox, es decir, es capaz de donar electrones fácilmente (agente reductor). Al ser el principal antioxidante soluble en agua es capaz de reaccionar con especies reactivas en el plasma y en tejidos protegiendo los sistemas biológicos (células, ADN, proteínas, lípidos) del daño oxidativo para su correcto funcionamiento; además, actúa reciclando la vitamina E (tocoferol), y aumentando la biodisponibilidad del hierro, favoreciendo la

absorción entérica del mismo. También ayuda a mantener el estado de oxidación de los metales unidos a las enzimas de algunos procesos biológicos, por ejemplo, las encargadas de la biosíntesis de colágeno, la carnitina, la noradrenalina (Combs y McClung, 2016). El daño oxidativo a las proteínas y los lípidos está asociado con enfermedades crónicas degenerativas, incluidas cataratas, cáncer y enfermedades cardíacas, al respecto hay mucha evidencia epidemiológica del rol del AA en la disminución de estas enfermedades (Combs y McClung, 2016).

- **Minerales**

Los minerales son sustancias químicas que el organismo humano necesita para que tengan lugar determinados procesos metabólicos esenciales como la formación de huesos y glóbulos rojos, el crecimiento, el desarrollo de los dientes y para regular determinadas reacciones químicas a nivel celular (Cano et al., 2005). Mas de un tercio de todas las proteínas humanas requieren iones metálicos para funcionar y la carencia de ellos puede tener un significativo impacto en la salud humana. Las frutas son importantes contribuyentes de minerales en la dieta y su contenido depende de la especie, de su estado de maduración, del agua y de las prácticas agrícolas (Mirdehghan y Rahemi, 2007)

En la Tabla 1.1 se presentan los principales minerales encontrados en frutillas. Las frutillas son ricas en manganeso, 150 gramos de frutillas frescas pueden proveer más del 20% de la ingesta diaria de este mineral (cantidad diaria recomendada: 1-10 mg día⁻¹), y el 5% de la ingesta adecuada de potasio (cantidad diaria recomendada: 2000 mg día⁻¹). También las frutillas han sido calificadas como una buena fuente de iodo, magnesio, cobre, hierro y fósforo (Giampieri et al., 2012).

1.4 COMPUESTOS FENÓLICOS

Las dietas ricas en frutas y vegetales tienen efectos beneficiosos sobre la salud humana debido a las altas cantidades de compuestos antioxidantes y bioactivos en estos alimentos, los cuales tienen un rol esencial en la prevención de enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas, patologías relacionadas con la piel, varios tipos de cáncer, entre otros (Giampieri et al., 2014).

Las berries (amplio grupo de especies, incluido *Fragaria ananassa*), en general, han demostrado tener una amplia gama de actividades biológicas como efectos antioxidantes y cardioprotectores, propiedades anti-inflamatorias, reducción del riesgo de diabetes y desórdenes en las funciones cognitivas así como también la inhibición de células tumorales. Todas estas actividades han sido atribuidas a los altos niveles de compuestos fenólicos que poseen estas frutas (Nile y Park, 2013).

En un principio, las propiedades de los compuestos fenólicos asociadas a los beneficios para la salud estaban relacionadas con sus propiedades antioxidantes, pero hay cada vez más evidencia que también actúan como moléculas señal en la modulación de diferentes vías metabólicas, afectando la función celular y la expresión genética (Aaby et al., 2012; Giampieri et al., 2015).

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de las plantas y están compuestos por uno o varios anillos aromáticos unidos a uno o más grupos hidroxilos. En alimentos, se encuentran en un amplio rango de tamaños, pueden ir desde moléculas simples hasta grandes oligómeros, y frecuentemente están glicosilados (Gündüz, 2015). La biosíntesis de los compuestos fenólicos depende de las necesidades de la planta durante su desarrollo, y está influenciado por diversos factores como las diferencias genótípicas, las condiciones climáticas en la precosecha, el manejo de los cultivos y las prácticas poscosecha (Aaby y Remberg, 2014).

Los compuestos fenólicos son importantes determinantes de la calidad nutricional y sensorial de los alimentos vegetales (Tarola et al., 2013). En este sentido, participan en la apariencia visual, de hecho, los pigmentos antocianos son responsables de los colores azul, púrpura, rojo y tonos intermedios de los alimentos derivados de vegetales, y en algunos productos hasta aparecen en tonos negruzcos (Allende, et al., 2006). Los compuestos fenólicos son importantes en el sabor de los vegetales; son responsables de los sabores amargo, dulce, pungente o astringente y pueden también contribuir en el aroma. Algunos compuestos fenólicos son extremadamente amargos como las flavanonas de algunos cítricos como los pomelos o las naranjas agrias. En el caso del lúpulo, sus compuestos fenólicos le brindan el sabor amargo característico a la cerveza (Tomás-Barberán y Espín, 2001). Algunos fenoles, especialmente aquellos que son volátiles, pueden contribuir al aroma. Los taninos son responsables de la astringencia de

algunas frutas como las frutillas y frambuesas y de algunos productos derivados de vegetales como el vino (Tomás-Barberán y Espín, 2001).

En frutillas, la principal clase de compuestos fenólicos está representado por los flavonoides, sobre todo por las antocianinas (Figura 1.5) (Giampieri et al., 2014).

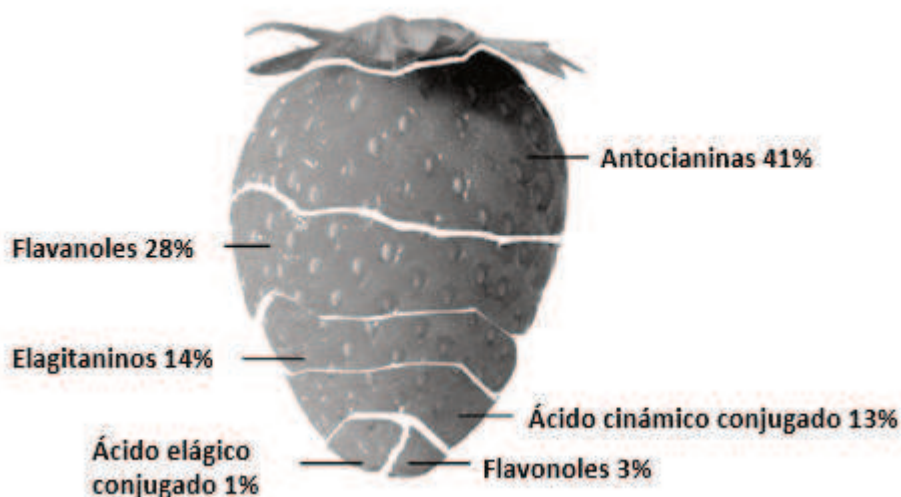


Figura 1.5 Compuestos fenólicos identificados en frutillas (adaptado de Moreno et al., 2014)

1.4.1 Antocianinas

En frutillas, las antocianinas, que pertenecen al grupo flavonoides, son los compuestos más abundantes de la fruta, comprendiendo aproximadamente un 40% de los compuestos fenólicos (Giampieri et al., 2014). Químicamente, están constituidos por una estructura básica, llamada antocianidina, formada por dos anillos aromáticos (A y B) unidos por tres unidades de carbono, generalmente formando parte de un anillo heterocíclico (C) (Figura 1.6) (Moreno et al., 2014). Cuando esta estructura se encuentra esterificada con un azúcar recibe el nombre de antocianina (Ignat et al., 2011). Las diferencias entre las distintas antocianinas están relacionadas con el número y la naturaleza de los grupos sustituyentes y los azúcares unidos a la molécula. Este tipo de compuesto es lo que les da color a varias frutas y, además, protege a la planta de las radiaciones UV y de la contaminación microbiana y viral; también sirven para atraer polinizadores y, posteriormente, dispersar las semillas.

En cuanto a su estabilidad, son pigmentos bastante inestables al pH, al oxígeno, la temperatura y a la acción del SO₂ (dióxido de azufre). La mayor estabilidad se logra en condiciones ácidas. La degradación de las antocianinas puede ocurrir tanto en el procesado como en el almacenamiento de los alimentos (Ruiz López et al., 2010).

Las antocianinas son pigmentos solubles en agua y según el pH puede ser rojas, violetas o azules, y son considerados un parámetro de calidad muy importante. Los compuestos fenólicos, incluyendo las antocianinas, como se dijo anteriormente, exhiben una importante actividad antioxidante, y contribuyen significativamente a la capacidad antioxidante total de las frutas (Lopes da Silva et al., 2007).

Las antocianinas más abundantes en frutillas son pelargonidin 3-*O*-glucósido, seguido por cianidin 3-*O*-glucósido y pelargonidin 3-*O*-rutinosido (Moreno et al., 2014).

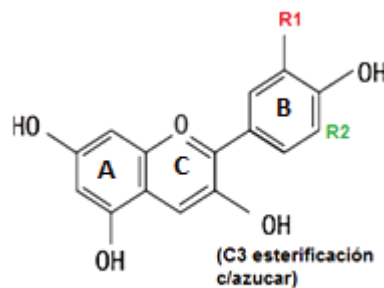


Figura 1.6 Estructura química de las antocianinas. R1 y R2 son los sustituyentes, que dependen del tipo de antocianidina

Más de 25 pigmentos antocianos se han encontrado en diversas variedades de frutillas. Pelargonidin-3-glucósido es la principal antocianina en frutillas, independientemente de los factores genéticos y ambientales; además, la presencia de cianidin 3-glucósido aparece de manera constante, pero en menor cantidad (Lopes da Silva et al., 2007; Giampieri et al., 2012).

1.5 ESTRÉS OXIDATIVO Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS FRUTAS

Un compuesto antioxidante se define como aquel que presente en baja concentración con respecto a un sustrato oxidable, retrasa o inhibe la oxidación de dicho sustrato, y por lo tanto previene de los efectos adversos de especies reactivas sobre las funciones fisiológicas normales en los seres humanos (Karadag et al., 2009). A nivel fisiológico, las

sustancias reactivas que actúan sobre los sustratos oxidables, generando estrés oxidativo, son los radicales libres. Un radical libre es cualquier molécula o átomo que tiene en su última capa uno o más electrones desapareados (número impar). Estos electrones desapareados confieren al radical una enorme reactividad química que lo conducirá a interactuar rápidamente con otras moléculas con las que entra en contacto, generando otro radical químicamente agresivo, resultado una reacción en cadena (Lee et al., 2004). Cuando los sustratos oxidables son lípidos, proteínas y ácido desoxirribonucleico (ADN), los productos de esas interacciones son productos oxidados que terminan dañando membranas celulares, alterando conformaciones espaciales y funcionalidad de proteínas, y alterando estructuras de ADN, lo que puede llevar al desarrollo de enfermedades producto del estrés oxidativo (Karadag et al., 2009).

Los radicales libres pueden generarse debido al metabolismo celular, a través de los procesos de respiración a nivel mitocondrial, lo cual genera especies reactivas de oxígeno (ROS) tales como el anión superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$), el hidroxilo ($\text{OH}\cdot$) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (Lee et al., 2004). También los radicales libres pueden originarse a partir de contaminantes ambientales (toxinas, pesticidas, radiaciones, etc.), otros agentes como el alcohol, tabaco; dietas hipercalóricas o de baja calidad nutricional e insuficiente en antioxidantes, procesos inflamatorios y traumatismo, y durante el ejercicio físico exagerado (Olivares et al., 2010).

El consumo de frutas y vegetales tiene efectos beneficiosos sobre la salud humana, debido al alto contenido de vitaminas, fibras, minerales, compuestos bioactivos, que actúan como receptores de los radicales libres. Por lo tanto, la dieta es un factor de importancia clave para regular el estrés oxidativo (Olivares et al., 2010; De Corato, 2019).

Los diversos compuestos fitoquímicos que posee una fruta específica poseen diferentes capacidades antioxidantes y en conjunto colaboran con la capacidad antioxidante total de la misma (Giampieri et al., 2012). Las frutillas tienen un alto nivel de actividad antioxidante, que está relacionado con el contenido de compuestos fenólicos y antocianinas que poseen (Moreno et al., 2014).

1.6 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE FRUTAS Y HORTALIZAS FRESCAS CORTADAS

De acuerdo con la Asociación Internacional de Productos Frescos Cortados de EE. UU. (IFPA), los productos frescos cortados son definidos como cualquier fruta o vegetal que fueron modificados de su forma original, pero manteniendo su estado de fresco. La principal ventaja de estos productos es que tienen casi las mismas propiedades que los productos enteros, pero requieren mucho menos tiempo de elaboración y poseen una calidad uniforme y consistente. Las técnicas del mínimo procesamiento tienen el desafío de utilizar métodos de conservación que retengan lo máximo posible los niveles de calidad microbiológica, sensorial y nutricional (Artés y Allende, 2015; De Corato, 2019). Las frutas y hortalizas frescas cortadas, también denominados mínimamente procesados (MPFVs), IV gamma o listos para consumir, están definidos como aquellos procesados a partir de una única o varias operaciones unitarias sobre el vegetal entero, tales como pelado, cortado, lavado, exprimido, etc., envasados, y conservados a bajas temperaturas, generando un producto 100% utilizable, sin tratamientos posteriores (Pirovani et al., 2006; De Corato, 2019).

El rápido crecimiento mundial de estos productos a un sector multimillonario es debido, principalmente, a un incremento en la demanda de los consumidores por frutas y hortalizas saludables, convenientes y listos para consumir; son alimentos que combinan funcionalidad y frescura (Qadri et al., 2015; Rodgers, 2016). El efecto beneficioso del consumo de frutas y hortalizas es conocido debido a la divulgación de investigadores, nutricionistas e incluso a nivel gubernamental; esto se debe a la gran cantidad de evidencia científica sobre las propiedades nutricionales y los efectos en la salud, sobre todo por sus efectos antioxidantes, prevención de algunos cánceres y enfermedades cardiovasculares (Artés-Hernández et al., 2013).

La preparación de MPFVs causa diversos daños en los tejidos vegetales lo que provoca desórdenes físicos, químicos y fisiológicos, acelerando el deterioro del producto, haciéndolo susceptible al ingreso de patógenos y reduciendo su vida útil. El deterioro ocurre principalmente por cambios bioquímicos, por la presencia de microorganismos y por el envejecimiento fisiológico, lo que provoca cambios en la respiración, en la emisión de etileno, en la transpiración y en la actividad enzimática de los tejidos vivos después del procesamiento, lo que conlleva a cambios en el color, la textura y el *flavor*

(Artés y Allende, 2015; Oliveira et al., 2015). Por lo tanto, el mínimo procesamiento de frutas y hortalizas tiene como objetivo y desafío mantener el producto fresco, sin perder su valor nutricional y sensorial y, además, mejorar la vida útil por más tiempo, para que, cuando lleguen al consumidor, cumplan con las exigencias y la seguridad de este.

La introducción en los mercados de estos alimentos es una forma de incrementar el consumo de vegetales, gracias a su atractiva presentación, apariencia y sabor (Martín-Belloso y Rojas-Graü, 2005).

Las frutas y hortalizas mínimamente procesadas tienen una gran variedad de microorganismos como bacterias, levaduras y mohos, capaces de producir deterioro. Las frutas, a diferencia de las hortalizas, contienen mayores cantidades de azúcar y un pH más ácido, que junto a los ácidos orgánicos, hace que se inhiba el crecimiento de bacterias y predominen los mohos y las levaduras (Rangel-Marrón y López-Malo, 2012). Las diferentes variedades de frutillas proveen diferentes nichos de microorganismos. La presencia, la especie y el número de microorganismos depende, además, de otros parámetros como las prácticas agrícolas, la geografía, el clima, la cosecha, el transporte, y la manipulación y el procesamiento (Ramos et al., 2013).

Los principales microorganismos causantes de deterioro en la superficie de las frutillas se puede componer de bacterias de diversos géneros, tales como *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Rahnella* y bacterias acidolácticas, tales como *Leuconostoc* sp. y *Lactobacillus* sp. (Jensen et al., 2013). Entre los mohos, los géneros más frecuentes son *Botrytis cinerea*, *Cladosporium* y *Penicillium*. Los géneros de las levaduras *Candida*, *Cryptococcus* y *Rhodotorula* se destacan como microorganismos dominantes en las frutas debido al pH y al alto contenido en azúcar que las mismas poseen (Jensen et al., 2013; Nicolau-lapeña et al., 2019).

Los patógenos transmitidos por frutas y hortalizas han sido responsables de brotes de intoxicación alimentaria, algunos de los cuales han provocado enfermedades graves e incluso la muerte. Además, la presencia de patógenos y organismos de descomposición ha llevado a numerosos retiros de productos de mercado, y publicidad negativa para la industria alimentaria (González-Aguilar et al., 2012).

Según datos epidemiológicos, MPFVs también pueden albergar microorganismos patógenos capaces de causar enfermedades infecciosas en humanos, como *Listeria*

monocytogenes, *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* O157:H7 (Oliveira et al., 2015). La contaminación de patógenos en las frutas puede ocurrir, ocasionalmente, durante la cosecha, la manipulación poscosecha, el procesamiento y durante la distribución. La contaminación precosecha puede ocurrir directa o indirectamente a través de animales, insectos, agua, tierra, equipamiento sucio y manipulación humana. Durante la cosecha, la manipulación poscosecha y el procesamiento, los microorganismos pueden aparecer en los productos por la falta de higiene, tanto de los operarios como de los equipamientos, utensilios y contenedores (Lafarga et al., 2019).

E. coli patógena es el segundo agente causante de enfermedades asociadas a bacterias, siendo el primero *Salmonella* (Ölmez, 2016). En el 2011 fue registrado en EE. UU. Un brote causado por *E coli* O157:H7 con 15 casos, incluyendo 2 muertes, relacionado con el consumo de frutillas, el cual se relacionó al contacto de las mismas en el campo con heces (Laidler et al., 2013). El principal reservorio de *E. coli* O157:H7 es el ganado vacuno por lo que es un riesgo para aquellas *berries* que se cultivan a nivel del suelo, a las que la bacteria puede acceder a través de la fertilización con estiércol no tratado o a través de aguas de riego contaminadas. Adicionalmente, tampoco debe descartarse que se produzcan enfermedades causadas por otras especies bacterianas como *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* o *Bacillus cereus*, que han provocado brotes a través de la ingestión de otros tipos de vegetales frescos (Ölmez, 2016).

1.6.1 Factores que afectan la calidad de las frutas mínimamente procesadas

1.6.1.1 Factores precosecha

La calidad de MPFs depende de una combinación de características, atributos y propiedades, tales como apariencia fresca, textura aceptable, buen sabor y olor, seguridad microbiológica y vida útil suficientemente larga. Muchos factores precosecha, como los genéticos, las prácticas culturales, así como los factores ambientales influyen en el crecimiento, desarrollo y maduración de la fruta y, esto impacta sobre la calidad de la misma (Martín-Belloso y Rojas-Graü, 2005; Tyagi et al., 2017).

Factores genéticos. El cultivar o variedad es el primer factor que determina la prevalencia de los diferentes parámetros de calidad como el color, forma, tamaño,

textura, valor nutritivo. Los parámetros de calidad de las variedades de frutas difieren una de otras debido a su composición genética, lo cual también afecta el período de desarrollo y maduración de los frutos (Tyagi et al., 2017). Por ello, se debe realizar una adecuada selección del cultivar con el fin de obtener productos aceptables por los consumidores. El desarrollo de variedades específicas para productos frescos cortados es muy valioso para lograr un incremento en la diversidad de productos, economía y preferencias de los consumidores. Sin embargo, en países como Argentina, donde la industria del procesado de frutas y hortalizas no está bien desarrollada, es poco frecuente encontrar en el mercado variedades diseñadas especialmente para tal fin, sino que generalmente se usan las ya existentes para mercado en fresco.

Factores ambientales. Dentro de estos factores se encuentran el lugar de crecimiento, el cual influye en el rendimiento de los cultivos y en la calidad nutricional; la estación del año en que se realiza la cosecha, ya que las diferentes condiciones climáticas afectan directamente al fruto (Di Vittori et al., 2018); la exposición y la calidad de la luz influyen en varias vías de síntesis de compuestos bioactivos, por ejemplo en frutilla la exposición a la luz tiene efectos positivos sobre la biosíntesis de flavonoides; por último, la temperatura afecta el desarrollo de las frutas, ya que puede afectar la fotosíntesis, la respiración, la estabilidad de las membranas, los niveles de hormonas, las reacciones bioquímicas (Di Vittori et al., 2018; Tyagi et al., 2017).

Además de los factores precosecha, la cosecha y las condiciones de almacenamiento ejercen influencia en la composición de las frutas frescas. Hay que tener en cuenta los factores involucrados en el momento de la recolección: estado de madurez y fisiología del fruto, carga microbiológica, estación del año. Los frutos deben recolectarse sanos para evitar daños mecánicos durante la manipulación y el procesado, prestando especial atención en las condiciones higiénicas, ya que esto determina la calidad del producto final. El estado de madurez tiene que ver con una serie de cambios bioquímicos y fisiológicos, que modifican las características sensoriales del producto a través de transformaciones físicas, químicas y metabólicas (Martín-Belloso y Rojas-Graü, 2005). Es por ello, que es aconsejable que se realice la recolección antes que se alcance la madurez organoléptica, ya que así la textura es más firme y se minimizan los daños mecánicos durante la manipulación, siempre teniendo en cuenta el punto óptimo de cosecha para que el producto tenga buenas características de sabor, olor y

color (Van de Velde, 2012). Por lo tanto, para frutillas destinadas a “fresca cortada”, se debe elegir un grado de madurez (>75% superficie de color rojo) tal que permita una aceptable vida útil, pero priorizando el que haya alcanzado óptimas características sensoriales (sabor y aroma) (Reyes, 2007).

1.6.1.2 Factores poscosecha

Los productos cosechados están metabólicamente activos, por lo que los procesos de respiración, maduración y senescencia siguen activos. Es por ello, que el manejo poscosecha debe ser óptimo para evitar pérdidas en la calidad de los productos que llegan a las plantas procesadoras de frutas mínimamente procesadas. Independientemente de la materia prima que se quiera transformar, ésta debe ser manipulada con especial cuidado, con el propósito de causar el menor daño posible a los tejidos, evitando desórdenes fisiológicos, así como también la proliferación microbiana que repercute directamente en la pérdida de calidad del fruto (Martín-Belloso y Rojas-Graü, 2005). Dentro de los factores más importantes se encuentran la temperatura y la humedad relativa a la cual se almacenan los frutos antes del procesamiento. La calidad y seguridad de las frutas mínimamente procesadas depende de muchos factores, incluidos aquellos que también afectan la calidad e inocuidad de las frutas intactas (Artés y Allende, 2015), por lo tanto, se debe partir de una materia prima de alta calidad, tanto a nivel sensorial y nutricional, como de seguridad microbiológica.

1.6.2 Procesamiento de frutas frescas cortadas

El procesamiento de frutas frescas cortadas consta de diferentes operaciones que se resumen en la Figura 1.7.

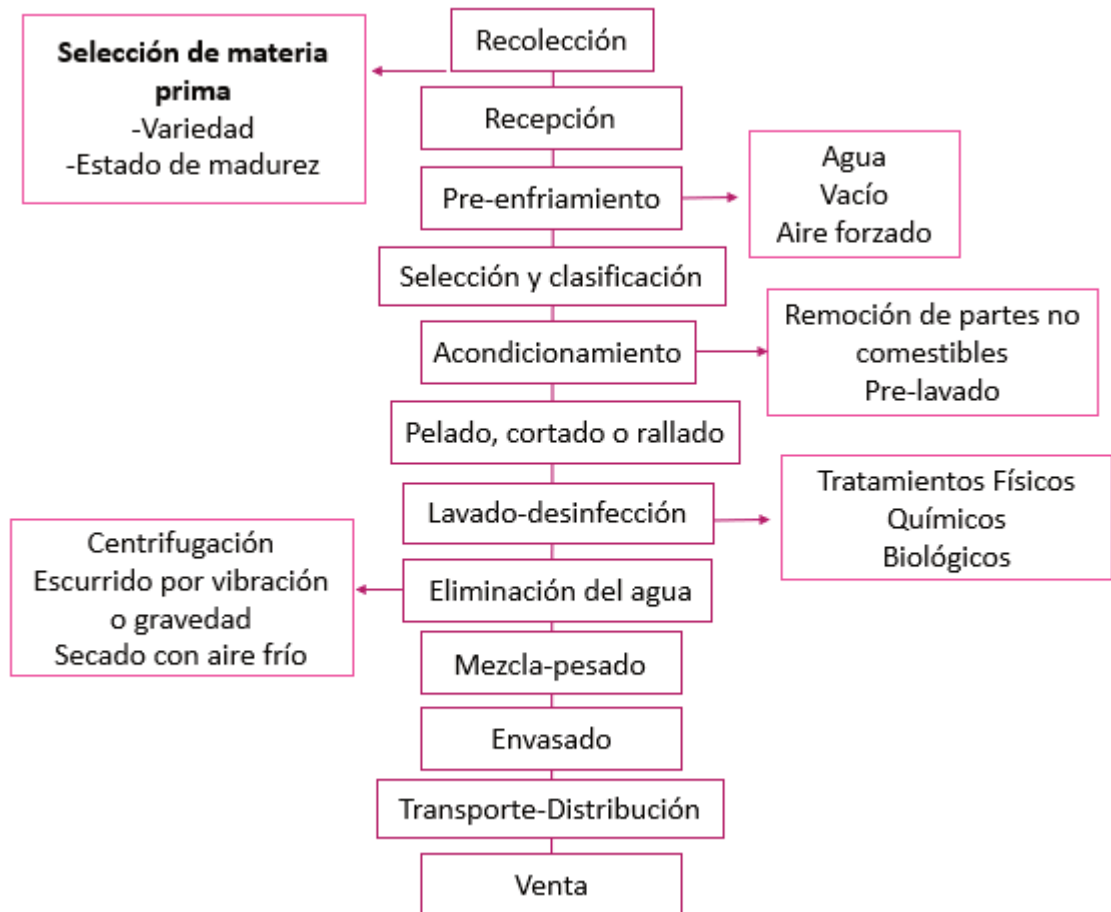


Figura 1.7 Diagrama de flujo para el procesamiento de frutas mínimamente procesadas

El mínimo procesamiento, en general, involucra diferentes operaciones como se muestran en la Figura 1.7, las cuales pueden proporcionar muchas oportunidades de contaminación cruzada; es por eso, que es necesario la prevención y la sanitización como herramienta fundamental para mantener la calidad microbiológica y seguridad de los productos frescos cortados.

Las operaciones de procesamiento de los vegetales frescos cortados, en general, tienen respuestas fisiológicas más aceleradas que los productos enteros. Esto se debe a que la ruptura de los tejidos incrementa la tasa de respiración y transpiración, conduciendo a un rápido deterioro del producto, con pérdida de sus características sensoriales y nutricionales. Generalmente, la extensión de la vida útil depende de la combinación de un manejo apropiado de la temperatura a través de toda la cadena de frío, inmersión en soluciones de anti pardeamiento, condiciones óptimas de envasado, usualmente a

través de envasado en atmósferas modificadas (MAP), y buenas prácticas de fabricación y de manejo en las industrias de los productos frescos cortados (Artés-Hernández et al., 2013).

1.6.2.1 Primeras etapas del procesamiento

Una vez que la materia prima llega a la planta de procesado, en el grado de madurez adecuado, la primera operación que generalmente se realiza es el pre-enfriamiento, que ha de efectuarse con la mayor rapidez. Esta operación se hace con el fin de reducir la temperatura de campo hasta 1-2°C, retrasando los procesos metabólicos, reduciendo el desarrollo de daños y retrasando la senescencia (González y Lobo 2005).

Luego, se procede a la selección y clasificación de la materia prima (Figura 1.8), que tiene como objetivo asegurar su homogeneidad y calidad, descartando aquellos productos que tengan defectos físicos o hayan sufrido daño mecánico en la recolección o transporte.

El siguiente paso es el acondicionamiento, en donde se procede a eliminar las partes del producto que no son comestibles (hojas, pedúnculos). Esta operación se realiza a mano, con cuchillos muy afilados que deben higienizarse periódicamente. También en esta etapa se realiza un pre-lavado, con el fin de que el producto quede libre de restos de la planta, tierra, pesticidas, insectos que pueda encontrarse en la superficie (Soliva-Fortuny y Martín-Belloso 2003; González y Lobo, 2005).



Figura 1.8 Selección y clasificación de la materia prima

1.6.2.2 Pelado y corte

El pelado y el corte constituyen un punto crítico en la higiene de la línea de procesamiento; es por ello, que el material que utilizamos para dichas operaciones debe estar limpio, desinfectado y afilado para evitar la acumulación de residuos orgánicos y

reducir el daño en el producto. Estas etapas tienen un gran impacto en el valor nutricional, calidad global, seguridad y vida útil de las frutas frescas cortadas (Artés y Allende, 2015).

El pelado, en la mayoría de las industrias, se lleva a cabo mecánicamente, con cuchillas o abrasión. Otros métodos de pelado pueden ser el termofísico a alta presión, agua caliente o infrarrojos, químico o cáustico o enzimático. Sin embargo, el método ideal es el pelado manual con cuchillos afilados, ya que es el que menos daños causa al producto. La elección de uno u otro método de pelado, depende del tipo y variedad de los productos a procesar (González y Lobo, 2005).

En la etapa de cortado se procede a la reducción del tamaño o troceado de los productos frutihortícolas. Se deben obtener trozos más pequeños que sean uniformes en forma y tamaño. Este proceso puede ser esencial para mejorar la digestibilidad y conveniencia de consumo. Los procesos de troceado aceleran la respiración, producen daño mecánico y ablandamiento vegetal, por lo que resulta conveniente seleccionar adecuadamente el tipo de corte y el instrumento para llevarlo a cabo (Pirovani et al., 2006).

1.6.2.3 Lavado-desinfección

El lavado-desinfección es el único paso en la cadena de producción de frutas mínimamente procesadas donde se obtiene una reducción de la carga microbiana, incluyendo potenciales patógenos. Este proceso afecta la calidad, seguridad y vida útil del producto final; por lo tanto, se debe optimizar esta etapa para que las pérdidas sean lo menos significativas posibles (Artés y Allende, 2015; Tapia et al., 2015). Además, el lavado también se utiliza para remover los fluidos celulares generados por las operaciones previas de pelado y corte (Pirovani et al., 2006).

Comercialmente, hay una gran cantidad de compuestos químicos que se utilizan para la etapa de lavado-desinfección, pero el cloro y sus derivados son lo más utilizado. Actualmente, más de tres cuartos de la industria de alimentos depende de la aplicación de cloro para matar patógenos y microorganismos que producen deterioro debido principalmente a su disponibilidad y bajo costo (Ali et al., 2018). El rango de microorganismos eliminados o inhibidos por los compuestos a base de cloro es probablemente más amplio que el de cualquier otro desinfectante aprobado. En solución, la eficiencia del cloro puede verse afectada por el pH y la materia orgánica,

pero también por las propiedades de la superficie del producto. Su uso excesivo puede interferir con las propiedades fisiológicas, sensoriales, nutricionales y fitoquímicas, o generar subproductos tóxicos. Es decir, el uso inadecuado del cloro puede afectar la calidad y la vida útil de los productos frescos y mínimamente procesados (Chaidez et al., 2012). Además, el cloro reacciona con la materia orgánica produciendo compuestos cancerígenos como los trihalometanos, representando un problema para la salud humana y el medio ambiente (Silveira et al., 2008). Por lo tanto, se han desarrollado diferentes alternativas para la etapa de lavado-desinfección con el objetivo de garantizar seguridad y calidad en las frutas frescas cortadas, por ejemplo, utilizando agentes antimicrobianos diferentes al cloro, pero con una igual o mejor eficiencia.

El ácido peracético (PAA) es un agente oxidante fuerte y desinfectante que se consigue comercialmente como una mezcla cuaternaria equilibrada de ácido acético, peróxido de hidrógeno, ácido peracético y agua (Figura 1.9) (González-Aguilar et al., 2012).

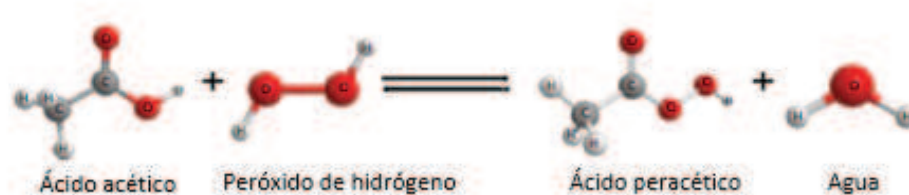


Figura 1.9 Reacción de equilibrio del ácido peracético comercial

El PAA en contacto con sustratos orgánicos se descompone produciendo oxígeno y ácido acético, para finalmente descomponerse en dióxido de carbono y agua. Es por ello que se lo considera amigable con el ambiente, y es una buena alternativa para reemplazar los desinfectantes clorados (Zoellner y Siddiqui, 2018). Otra de las ventajas de este desinfectante es que su actividad está poco influenciada por la presencia de carga orgánica o residuos de alimentos y no depende de factores como el pH o la temperatura (Zoellner y Siddiqui, 2018).

El PAA ha sido aprobado por la U.S. Food and Drug Administration (FDA) para ser usado como sanitizante de equipos que tengan contacto con alimentos y también para el lavado de frutas y vegetales, carne, aves y mariscos (FDA, 2019). Actualmente, no hay reglamentación alguna para el lavado de frutas frescas cortadas lavadas con PAA, pero el Código de Regulaciones Federales de los Estados Unidos (CFR) permite el uso de PAA

en el agua de lavado de frutas y vegetales enteros hasta en una concentración de 80 mg L⁻¹ (FDA-Code of Federal Regulations, 2019). Sin embargo, estudios indicaron que esta concentración en MPFVs no resulta suficiente para obtener una reducción microbiológica sustancial (Vandekinderen et al., 2009; Van de Velde et al., 2014)

La actividad desinfectante del PAA, al ser un agente oxidante fuerte, se basa en la producción de especies reactivas de oxígeno (Luukkonen y Pehkonen, 2017). PAA tiene la capacidad de romper la pared celular de los microorganismos y, de esta manera, ingresar a la célula y modificar sus funciones. PAA es capaz de oxidar las proteínas, las enzimas, el DNA y los metabolitos de los microorganismos, causando una interrupción de todas las funciones vitales y ocasionando la muerte de los mismos (Figura 1.10) (Zoellner y Siddiqui, 2018). La eficacia de PAA depende de la concentración, del tiempo de exposición, de los microorganismos target y de la susceptibilidad del tejido de la fruta (González-Aguilar et al., 2012).

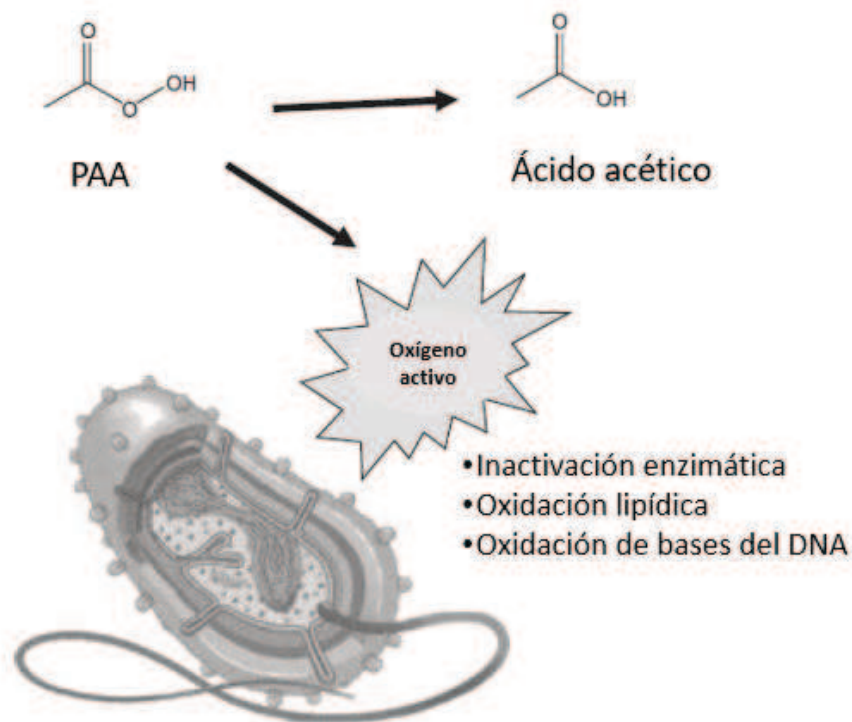


Figura 1.10 Mecanismo antimicrobiano del ácido peracético (PAA) (adaptado de González-Aguilar et al., 2012)

Los efectos antimicrobianos del PAA muestran que es bactericida al 0.001%, fungicida al 0.003% y esporicida al 0.3%. La eficiencia de la desinfección del PAA hacia los

microorganismos puede clasificarse en orden decreciente de la siguiente manera: bacterias> virus> esporas bacterianas> quistes de protozoos (Alvaro et al., 2009).

Otra de las ventajas del PAA es que no afecta significativamente los atributos sensoriales de los materiales vegetales a los que se aplica. Diversos estudios han demostrado este efecto (Silveira et al., 2008; Vandekinderen et al., 2009; Landfeld et al., 2010).

La selección de una técnica adecuada de lavado para reducir la carga microbiológica de frutas y hortalizas depende de muchos factores tales como la carga microbiana inicial en la superficie de los productos, la superficie a tratar, el tipo de desinfectante, ubicación de microorganismos contaminantes, concentración, tiempo y temperatura de exposición al desinfectante (Beuchat et al., 2004; Erickson, 2012) se debe considerar que cuando una operación de lavado no está diseñada y/o realizada adecuadamente, puede crear lesiones en la superficie del tejido vegetal, producir contaminación cruzada y/o internalización de contaminantes microbiológicos y químicos, así como generar pérdidas de pigmentos, vitaminas y compuestos importantes para la salud por oxidación y/o lixiviación (Ayala-Zavala y González-Aguilar, 2009).

En cuanto a las técnicas para llevar a cabo el lavado-desinfección de MPFVs podemos mencionar la inmersión o *dipping* y la aspersion. Muchas de las investigaciones de la aplicación de PAA sobre frutas frescas cortadas se basan en la inmersión (Vandekinderen et al., 2009; Van de Velde et al., 2014; Nicolau-lapeña et al., 2019). Sin embargo, el sistema de aspersion debería considerarse como un buen método para el lavado-desinfección de frutas frescas cortadas ya que puede lograr una reducción considerable de microorganismos debido a que, además del poder desinfectante del antimicrobiano, se le suma una remoción física producida por la presión del aspersor (Chang y Schneider, 2012). En cada una de estas técnicas de lavado se pueden determinar las combinaciones de las variables operativas que permitan lograr la desinfección deseada sin pérdida de calidad y potencial saludable.

1.6.2.4 Envasado

Luego de la etapa de lavado, se recomienda eliminar el exceso de agua que el vegetal haya podido adquirir con el lavado y envasar un producto seco, factor muy importante para prolongar la vida útil del vegetal cortado. La eliminación de agua se puede realizar por escurrido, centrifugado o secado por aire (Pirovani et al., 2006).

El envasado es la última operación en la producción de MPFVs. El envasado en atmósferas modificadas (AM) es una técnica usada para prolongar la vida útil de alimentos frescos o mínimamente procesados. En un sistema de AM, hay un cambio en la concentración de gases en el espacio de cabeza del envase, debido a una interacción dinámica entre los procesos bioquímicos y metabólicos del producto envasado, en donde el oxígeno es consumido y el dióxido de carbono, etileno y vapor de agua es generado, a la vez que se produce una transferencia de todos estos gases a través del envase (Figura 1.11) (Castellanos y Herrera, 2017). Por lo tanto, hay una modificación de la atmósfera en el entorno del alimento dentro del envase (Sandhya, 2010).

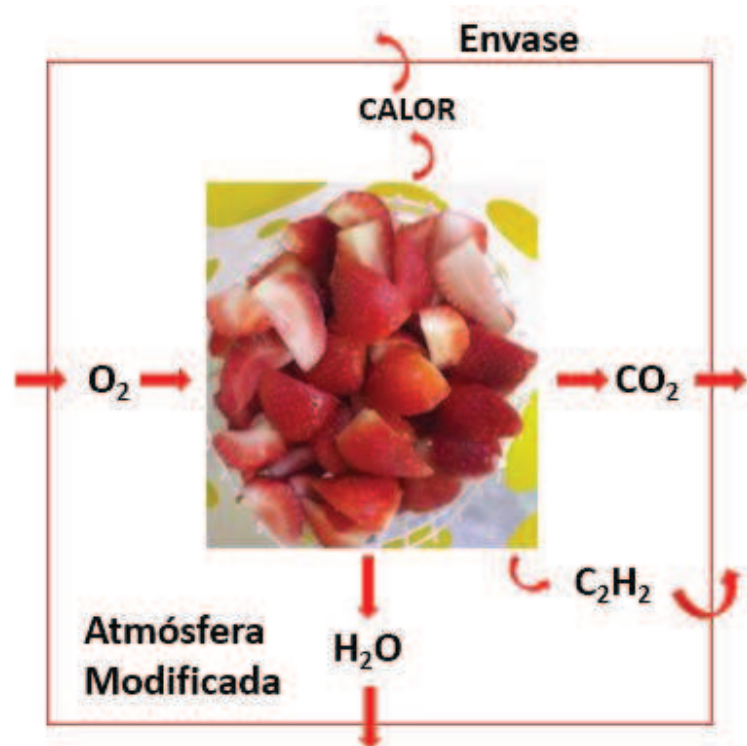


Figura 1.11 Sistema de envasado en atmósfera modificada (AM)

Esta modificación puede ser pasiva o activa. La primera se genera por respiración propia del material vegetal, el cual respira, y el intercambio de gases con la atmósfera exterior del envase a través del *film*, de forma tal que se establece un equilibrio dinámico a través de la película, hasta que se alcanza una atmósfera estacionaria (González y Lobo, 2005). Mientras que las atmósferas modificadas activas se producen por inyección de ciertos gases dentro del envase, generalmente los tres gases más utilizados son oxígeno, dióxido de carbono y nitrógeno. El rol y la importancia de cada uno de ellos está

relacionado con sus propiedades específicas (Del Nobile et al., 2012). El objetivo es crear un balance gaseoso óptimo en el interior del envase, de manera que la actividad respiratoria del producto sea lo más baja posible, siempre que los niveles de los gases presentes no sean perjudiciales para el producto (Pirovani et al., 2006). En todas las técnicas de preservación de alimentos hay parámetros críticos que juegan un rol importante en la prolongación de la vida útil, funcionalidad y efectividad del método. El efecto de la temperatura de almacenamiento, la composición gaseosa, la naturaleza y la forma de presentación (tipo de corte) del producto, y el material de la envoltura son importantes para definir y evaluar las interacciones con el fin de lograr los resultados óptimos de envasado en atmósfera modificada (Caleb et al., 2013).

El almacenamiento en AM de baja concentración de oxígeno combinado con adecuadas concentraciones de CO₂ se ha utilizado como un método para extender la vida útil de frutas y hortalizas mínimamente procesadas, ayudando a reducir la tasa de respiración y la producción de etileno e inhibiendo o retrasando el crecimiento de microorganismos aerobios (Oms-Oliu et al., 2008). Además, la actividad metabólica se reduce debido a la disminución de O₂ (Fonseca et al., 2002), lo cual también ayuda a mantener la calidad de los productos. Sin embargo, niveles excesivamente bajos de O₂ y/o cantidades excesivas de CO₂ en el espacio de cabeza pueden ser perjudiciales, ya que se induce la respiración anaeróbica, conduciendo a procesos fermentativos y, la consecuente, producción de metabolitos indeseables que pueden generar *off-flavors*. Además, pueden proliferar microorganismos anaeróbicos (Soliva-Fortuny et al., 2002; Del Nobile et al., 2012).

El envasado en AM altas en O₂ se propuso como una alternativa a las AM bajas en O₂, ya que pueden inhibir la actividad enzimática, el crecimiento de ciertos microorganismos y la fermentación anaeróbica, previniendo la pérdida de humedad y el deterioro de frutas y hortalizas mínimamente procesadas (Day, 1996). Kader y Ben-Yehoshua (2000) afirmaron que este tipo de AM puede estimular, tener ningún efecto, o reducir la tasa de respiración de vegetales frescos cortados, dependiendo del producto, madurez, concentración de O₂, tiempo, temperatura de almacenamiento y las concentraciones de CO₂. También varios estudios propusieron que altos contenidos de O₂ (≥70%) con altos contenidos de CO₂ (10-20%) proporcionan una mejora adicional en el envasado en AM, generando una apropiada supresión de microorganismos y

prolongando la vida útil de los productos (Van der Steen et al., 2002; Conesa et al., 2007; Zhang et al., 2013; Belay et al., 2017; Van de Velde et al., 2019).

Las altas concentraciones de oxígeno tienen efecto antimicrobiano ya que generan toxicidad en las células microbianas, debido a que se generan especies reactivas de oxígeno, las cuales pueden dañar las macromoléculas celulares vitales, como el DNA; además, el estrés oxidativo por la acumulación de ROS también daña a las células, ya que provoca una saturación del sistema redox (De Corato, 2019). También puede inhibir el pardeamiento enzimático y evitar la pérdida de firmeza (Oms-Oliu et al., 2008; López-Gálvez et al., 2015). Por otro lado, el CO₂ inhibe varias enzimas del ciclo de Krebs, lo cual retrasa los procesos de maduración, disminuye el pH intra y extracelular e interfiere en el metabolismo celular, y su efecto inhibitorio es mayor a bajas temperaturas (Artés-Hernández et al., 2013). La eficacia de cualquiera de los dos gases siempre va a depender del tipo de fruta, de su cultivar, del estado de madurez y de las condiciones de almacenamiento (Falagán y Terry, 2018).

Por lo tanto, se puede decir que el envasado en AM resulta útil no solo para inhibir el desarrollo microbiano, sino también para mantener la calidad de los atributos sensoriales de las frutas frescas cortadas. En cuanto al potencial saludable, Cisneros-Zevallos (2003) plantea que la aplicación del stress abiótico provocado por la temperatura y la composición gaseosa alterada que rodea el producto puede generar un aumento en la síntesis de compuestos fenólicos y de su capacidad antioxidante, para mejorar el contenido de compuestos bioactivos de los productos frescos cortados.

A pesar de los beneficios que tiene el envasado en AM sobre los productos frescos cortados, tiene una serie de desventajas como el costo de la maquinaria tecnológica, así como también el de los gases (Falagán y Terry, 2018).

1.6.2.5 Almacenamiento y distribución

Finalizado el envasado, las bolsas o bandejas se introducen en cajas, que se paletizan y se colocan en cámaras de temperatura controlada. En estas cámaras de refrigeración (a temperaturas entre 0-1°C) se preparan las cargas, normalmente mixtas, que van a ser distribuidas a los diferentes supermercados o cualquiera sea su destino final. Durante la distribución es importante mantener la cadena de frío, la temperatura de conservación controla el desarrollo de microorganismos y frena los cambios fisiológicos que dan lugar

a los procesos químico-bioquímicos que repercuten en la pérdida de calidad del producto (González y Lobo, 2005).

1.6.3 Cambios metabólicos y fisiológicos que ocurren en los productos mínimamente procesados

Durante el mínimo procesamiento, los tejidos vegetales sufren importantes daños físicos, incluso cuando el procesado haya sido poco agresivo. Esto puede deberse tanto por la pérdida de protección natural como por la ruptura de compartimentos internos que ocasiona exudación de líquidos, aumento de la tasa respiratoria y reacciones indeseables producto de la separación de las enzimas de los sustratos (Artés et al., 2009). La actividad metabólica implicada en los procesos de deterioro se ve profundizada luego de la cosecha y se va incrementando a lo largo de todas las etapas y condiciones de operación (Artés y Allende, 2015).

Desde el punto de vista fisiológico, los procesos utilizados en la preparación de estos productos aceleran las reacciones de deterioro, y ocasionan una serie de reacciones metabólicas en cascada que producen una disminución en la calidad debido a los cambios en la textura, madurez y senescencia aceleradas, presencia de malos olores, decoloración en la superficie cortada, y otros efectos indeseables (Tapia et al., 2015).

Por lo tanto, este tipo de producto se vuelve más vulnerable que el entero, reduciéndose así su vida útil a unos pocos días (Artés et al., 2009).

Dentro de las principales alteraciones se encuentran:

- Incremento de la tasa de respiración como respuesta a los cortes de los tejidos vegetales (Artés et al., 2009; Tapia et al., 2015). La respiración es el proceso mediante el cual las reservas orgánicas de los productos (carbohidratos, proteínas y grasas) son degradadas a compuestos más simples (como CO₂ y agua) con la consiguiente liberación de energía. El aumento en la pérdida de las reservas del material orgánico en la fruta acelera la senescencia, proceso en el cual aparecen reacciones degradativas que conducen al envejecimiento y finalmente a la muerte tisular. Al mismo tiempo, se reduce el valor nutritivo, disminuyen las características sensoriales y se presenta mayor susceptibilidad del producto al ataque de microorganismos. La temperatura también juega un papel importante en la tasa de respiración de los mismos, ya que a mayor

temperatura de almacenamiento mayor tasa respiratoria (De Corato, 2019).

- Pardeamiento enzimático como resultado de la reacción entre los sustratos (compuestos fenólicos o polifenoles) y las enzimas oxidativas, la cual se genera al cortar los tejidos y exponer los mismos al oxígeno (Tapia et al., 2015). La enzima polifenoloxidasasa (PPO) hidroxila los monofenoles transformándolos en difenoles para luego ser convertidos en quinonas incoloras, que polimerizan en compuestos pardos, rojizos o negros (Artés et al., 2009; Ruiz López et al., 2010).
- Aromas y sabores extraños producto de un envasado inadecuado, cuando la atmósfera del envase no es la ideal. Puede ocurrir en casos donde los niveles de O₂ son excesivamente bajos y/o los de CO₂ excesivamente elevados (Artés et al., 2009).
- Aumento de la velocidad de vaporización de compuestos y de deshidratación de la fruta debido a la mayor exposición al ambiente cuando es cortada, lo cual genera una mayor pérdida del aroma y pérdidas de peso (agua) del producto (Pirovani et al., 2006)
- Cambios en la calidad nutricional y potencial saludable producto de la alteración en el contenido de compuestos bioactivos como la vitamina C y/o compuestos fenólicos. En general, el contenido de ácido ascórbico disminuye como consecuencia de las operaciones de pelado y/o corte. Sin embargo, este efecto depende del tipo de vegetal, el mecanismo de corte utilizado y la atmósfera empleada durante su almacenamiento. Por el contrario, los compuestos fenólicos tienden a aumentar durante los procesos de pelado y corte (de Ancos, et al., 2009). Esto ocurre como una respuesta fisiológica a los daños mecánicos con el fin de reducir la pérdida de agua y protegerse del ataque de microorganismos patógenos, dado que estos compuestos están relacionados con el crecimiento, reproducción y resistencia de la planta frente a situaciones adversas. Este incremento de la concentración de fenoles totales va a depender del tipo de tejido vegetal y puede detenerse en función del tipo de atmósfera empleada para su conservación (de Ancos et al., 2009).

Debido a todos estos cambios generados por el mínimo procesamiento, es necesaria la aplicación de estrategias que disminuyan o detengan la velocidad de estos, con el fin de

extender la vida útil y conservar la calidad en los atributos sensoriales, microbiológicos y nutricionales.

1.7 OBJETIVOS

1.7.1 Objetivo general

Desarrollar nuevos aspectos básicos y aplicados de tecnologías en la elaboración de frutillas frescas cortadas, buscando maximizar la inocuidad y minimizar el deterioro de los compuestos bioactivos preservando los atributos relacionados a la calidad sensorial.

1.7.2 Objetivos específicos

- Estudiar el lavado-desinfección por aspersion de frutillas frescas mínimamente procesadas con soluciones de ácido peracético (modificando la concentración del agente activo y el tiempo de exposición) evaluando la calidad microbiológica, el contenido de compuestos bioactivos y los atributos relacionados con la calidad sensorial, tanto en el día de procesamiento como a los 7 días de almacenamiento refrigerado.
- Desarrollar modelos predictivos en base al objetivo anterior que permitan optimizar la operación de lavado-desinfección.
- Estudiar la eficiencia de lavado-desinfección por aspersion con ácido peracético sobre frutillas previamente inoculadas con *Escherichia coli* (patógeno modelo), para evaluar la inocuidad del producto.
- Optimizar y validar la operación de lavado-desinfección por aspersion con ácido peracético de frutillas frescas cortadas, maximizando la calidad microbiológica y minimizando la reducción del potencial bioactivo y los atributos relacionados con la calidad sensorial.
- Estudiar el efecto de las atmósferas modificadas altas en oxígeno (oxígeno superatmosférico) con distintas concentraciones de dióxido de carbono, sobre la calidad microbiológica, el contenido de compuestos bioactivos y los atributos relacionados con la calidad sensorial durante el almacenamiento refrigerado de frutillas frescas cortadas.
- Evaluar el desempeño de las atmósferas enriquecidas en oxígeno frente a las atmósferas activas tradicionales y el aire, sobre la calidad de frutillas frescas cortadas durante el almacenamiento refrigerado.
- Modelar el comportamiento de la microflora nativa, los cambios en el contenido de compuestos bioactivos y los atributos relacionados con la calidad sensorial en las frutillas frescas cortadas durante el almacenamiento refrigerado en cada una

de las atmósferas ensayadas.

- Determinar las mejores condiciones de almacenamiento para extender la vida útil de frutillas frescas mínimamente procesadas.

2. MATERIALES Y METODOS

2.1 MATERIA PRIMA

Se emplearon dos variedades de frutillas (*Fragaria x Ananassa* Duch) cultivadas en la provincia de Santa Fe: *Camarosa* y *Festival* (Figura 2.1). La primera fue adquirida en un local comercial y oriundas de Arroyo Leyes, mientras que la otra fue adquirida directamente del productor en la ciudad de Coronda. Las frutillas se trasladaron hasta el Instituto de Tecnología de Alimentos (ITA). Para la selección, se eligieron aquellas que tenían más del 90% de color rojo en su superficie, sin signos de podredumbre y se mantuvieron en cámara frigorífica a 2°C y 95% HR, por menos de 12 horas, hasta su procesamiento.



Figura 2.1 Materia prima utilizada

2.2 ESTUDIO DEL LAVADO-DESINFECCION POR ASPERSION CON ACIDO PERACETICO

En la Figura 2.2 se presenta el diagrama de obtención de frutillas mínimamente procesadas, destacando las etapas de lavado-desinfección y almacenamiento en envases de tereftalato de polietileno (PET) por 7 días a 2°C, que se estudian en esta primera etapa.

Las frutas fueron seleccionadas como se describió en 2.1. Las frutillas se lavaron con agua de red por 2 minutos y se escurrieron por gravedad sobre papel absorbente (Figura 2.3). Se eliminaron cálices y pedúnculos. Luego se procedió al corte en cuartos.

Las frutillas acondicionadas fueron procesadas en la “zona limpia” de la Planta Piloto del Instituto de Tecnología de Alimentos (ITA-FIQ-UNL) con temperatura controlada a 18°C.

Se cortaron longitudinalmente en cuartos, manualmente, con cuchillo de acero inoxidable de hoja lisa. La etapa de lavado-desinfección por aspersión con ácido peracético (PAA) se realizó en las condiciones de concentración (C) y tiempo de aspersión (t) según lo indicado por el diseño experimental. Luego, se escurrieron por gravedad sobre papel absorbente para eliminar el exceso de solución de lavado.



Figura 2.2 Diagrama de procesamiento seguido para obtener frutillas frescas cortadas



Figura 2.3 Acondicionamiento de la materia prima

Finalmente, las muestras de frutillas frescas cortadas fueron analizadas inmediatamente después del procesamiento (día 0), y el resto se almacenaron en cámara de refrigeración a 2°C por 7 días, para su posterior análisis. Las muestras se almacenaron en envases de tereftalato de polietileno (PET) de 0.42 mm de espesor, con una superficie 0.045 m², una velocidad de transmisión de 4.73 10⁻¹⁵-9.617 10⁻¹⁵ kg m⁻²s⁻¹Pa⁻¹ para O₂ (a 23°C y 0% HR) y 1.3 10⁻⁷-2.08 10⁻⁷ kg m⁻²s⁻¹ para vapor de agua (a 38°C y 90% HR)

2.2.1 Lavado-desinfección por aspersion

Para estudiar el lavado-desinfección por aspersion, se procedió según el diagrama de procesamiento indicado en la Figura 2.2. Luego, lotes de 200 g de frutillas frescas cortadas se colocaron sobre una malla de acero inoxidable. La aspersion se realizó con un aspersor portátil de plástico con una velocidad de flujo de 6.4 mL s⁻¹. La boquilla por donde salía la solución de lavado se encontraba a 19.5 cm sobre la fruta (Figura 2.4).



Figura 2.4 Sistema de lavado-desinfección por aspersion para frutillas frescas cortadas

2.2.1.1 Preparación de soluciones de ácido peracético

En la preparación de las soluciones de lavado-desinfección se utilizó un sanitizante comercial, llamado Oxilac Plus (Indaquim S.A., Santa Fe, Argentina). Oxilac Plus es una mezcla estabilizada de ácido peracético (PAA) (mínimo 5%), peróxido de hidrógeno (mínimo 20%), ácido acético y agua. La concentración de PAA en la mezcla comercial se verificó con una titulación redox doble acuerdo a APHA-AWWA-WEF, 1998. Donde, el contenido de peróxido de hidrógeno se titula primero con una solución normalizada de permanganato de potasio (0.025 eq L⁻¹). Luego de alcanzar el punto final, se agrega a la

mezcla un exceso de solución de yoduro de potasio (500 g L^{-1}), y se continúa titulando con una solución de tiosulfato de sodio (0.005 eq L^{-1}). Finalmente, cuando la mezcla alcanza un color amarillo, se agrega un pequeño volumen de solución de almidón (5 g L^{-1}), que vuelve a la mezcla de un color oscuro amarronado, y se continúa titulando hasta que la mezcla vira al incoloro.

Las diferentes soluciones de PAA utilizadas, de acuerdo al diseño de lavado-desinfección, se prepararon por dilución de cantidades apropiadas de Oxilac Plus con agua de red. Las concentraciones de estas soluciones diluidas se chequearon con el método de titulación redox doble antes descrito.

2.2.2 Efectividad del lavado. Preparación e inoculación con *Escherichia coli* en las frutillas frescas cortadas

Para poder determinar la eficacia del lavado-desinfección por aspersion con PAA, se procedió a la inoculación de *Escherichia coli* en frutillas mínimamente procesadas. Para ello, se utilizó una cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 mantenida a -80°C en 80% de glicerol. El proceso de preparación del inóculo fue adaptado de acuerdo a Martínez-Hernández et al. (2015). Las células crecieron durante toda la noche a 37°C en caldo de infusión cerebro corazón (BHI; Merck). Luego, $20 \mu\text{L}$ de ese cultivo se transfirió a un caldo nutritivo (NB; Merck) y se dejó toda la noche a 37°C . Parte de este último cultivo (1.8 mL) fue transferido a 200 mL de caldo soya tripticasa (TSB, Merck) y se incubó por 24 hs a 37°C . Después de la incubación, el cultivo diluyó con 800 mL de solución buffer fosfato (PBS: 137 mM NaCl , 2.7 mM KCl , $10 \text{ mM Na}_2\text{HPO}_4$, and $2.0 \text{ mM KH}_2\text{PO}_4$; pH 7.4), alcanzando una concentración final de 10^8 UFC mL^{-1} . Para comprobar la concentración del inóculo se realizó un recuento microbiológico en placa (37°C - 48hs) en un medio agar soya tripticasa (TSA, Merck), donde la suspensión de *E. coli* obtenida presentó la concentración deseada.

El objetivo de la inoculación es obtener una carga microbiana importante en los productos a ser tratados posteriormente, para poder valorar el efecto de los tratamientos de desinfección a los que serán sometidos (Beuchat et al., 2001)

Para la inoculación, las frutillas frescas cortadas se sumergieron en la solución de inóculo preparada como anteriormente se mencionó, y se mantuvo bajo agitación por 10 minutos . Luego, las frutillas inoculadas se secaron en una cabina biológica de seguridad

clase II BSC-1300IIA2-X (Biobase, Jinan, China) por 1 hora para promover la adherencia del microorganismo en la superficie de la fruta (Figura 2.5).



Figura 2.5 Inoculación de frutillas frescas cortadas con *Escherichia coli*

Para evaluar el nivel de inoculación inicial alcanzado se procesaron las frutillas según la técnica que se describirá en 2.4.3. Se obtuvo una recuperación de bacterias en el orden de 10^7 UFC g^{-1} , y fueron utilizadas como control para evaluar el grado de desinfección.

2.2.3 Diseño experimental

Para estudiar la operación de lavado-desinfección se utilizó la metodología de superficie respuesta usando un *Diseño Central Compuesto (CCD)*. El número total de experimentos (n) del diseño CCD fue determinado usando la Ecuación 2.1:

$$n=2^k + 2k + n_0 \quad (\text{Ecuación 2.1})$$

Donde k es el número de factores y 2^k , 2k, y n_0 son los puntos factorial, axial y central de las corridas, respectivamente. Los puntos centrales del CCD son usados para calcular el error experimental, y la distancia desde los puntos axiales al punto central es dependiente del número de factores elegidos para el experimento (Montgomery, 2001). La concentración del sanitizante y el tiempo de tratamiento fueron las variables seleccionadas para el presente estudio ($k=2$). Además, n fue calculada usando la ecuación 2.1 y fue igual a $n=11$ corridas experimentales ($n_0=3$). Cada una de las variables fue evaluada en 5 niveles. Se asume que existe una función matemática para cada respuesta estudiada en función de las dos variables del proceso (Ecuación 2.2):

$$Y=f(C,t) \text{ (Ecuación 2.2)}$$

Para modelar la ecuación 2.2 para cada respuesta, se propone una ecuación polinomial de segundo orden, de acuerdo al diseño experimental (Ecuación 2.3):

$$Y(C,t)= a + b \times C + c \times t + d \times C \times t + e \times C^2 + f \times t^2 \text{ (Ecuación 2.3)}$$

Donde a , b , c , d , e y f son los coeficientes de regresión, y C y t son las variables estudiadas.

2.2.3.1 Ensayo preliminar para determinar el rango de variables

Se propuso un rango de concentración y tiempo para ver cómo afectaban las mismas sobre las respuestas. Los niveles de concentración de PAA fueron de 1 a 117 mg L⁻¹, mientras que el tiempo varió de 11 a 138 s. Las respuestas estudiadas (Y) fueron las reducciones del recuento de *Escherichia coli* inoculada en las frutillas frescas cortadas; y los parámetros de calidad general: retención del pH, sólidos solubles y los cambios en los parámetros de color (δL^* , δCab^* , y δhab). Todas las respuestas fueron evaluadas en el día del procesamiento (día 0) y después de 7 días de almacenamiento a 2°C (día 7). Se pudo observar que, con estas concentraciones propuestas, la reducción de *E. coli* no superó los 2 log, mientras que los parámetros de calidad no fueron afectados significativamente por los factores (concentración y tiempo).

2.2.3.2 Diseño Central Compuesto

A partir de los resultados de 2.2.3.1 se determinó que la concentración utilizada no lograba la efectividad requerida. Por lo tanto, se propuso aumentar la concentración del sanitizante, manteniendo los niveles de tiempo; los 5 niveles de concentración fueron los siguientes: 1, 36, 120.5, 205 y 240 mg L⁻¹, mientras que lo de tiempo fueron: 11, 30, 75, 119 y 138 s (Tabla 2.1).

Tabla 2.1 Diseño experimental central compuesto con 11 corridas experimentales.

Corrida	Concentración (mg L ⁻¹)	Tiempo (s)
1	120.5	75
2	240	75
3	205	119
4	120.5	11
5	36	30
6	120.5	75
7	36	119
8	205	30
9	120.5	138
10	120.5	75
11	1	75

Las respuestas estudiadas (Y) fueron la reducción de los recuentos microbiológicos: reducción de microorganismos aerobios mesófilos (TMCR), levaduras (YCR), mohos (MCR) y *E. coli* (EcoliCR); retención porcentual (%) de compuestos bioactivos: fenoles totales (FTR), antocianinas totales (ATR), ácido ascórbico (AAR), vitamina C (VitCR) y capacidad antioxidante (CAR); y los parámetros general de calidad: retención porcentual (%) de sólidos solubles (SSR), pH (pHR) y los cambios relativos en los parámetros de color (Luminosidad (δL_i^*), croma (δC_{abi}^*) y ángulo hue (δh_{abi})). Todas las respuestas fueron evaluadas el día del procesamiento (día 0) y después de 7 días de almacenamiento a 2°C. Las reducciones de microorganismos se expresaron según la siguiente Ecuación (2.4):

$$NR_i = -\log N_i / N_{ci} \quad (\text{Ecuación 2.4})$$

Donde NR_i es TMCR_i, YCR_i, MCR_i o EcoliCR_i, N_i es el recuento de microorganismos de las muestras procesadas en el día i, N_{ci} es el recuento de las muestras control en el día i y i es el día de análisis: 0 o 7.

Las retenciones de los compuestos bioactivos y los parámetros de calidad general se expresaron como la siguiente Ecuación (2.5):

$$QR_i = (Q_i / Q_{ci}) \times 100 \quad (\text{Ecuación 2.5})$$

Donde QR_i es FTR_i, ATR_i, AAR_i, VitCR_i, CAR_i, SSR_i, pHR_i; Q_i y Q_{ci} representan los contenidos de los atributos de las muestras lavadas y de las muestras control en el día i (0 o 7), respectivamente.

Los cambios en los parámetros de color (δL_i^* , δC_{abi}^* y δh_{abi}) se expresaron según la siguiente Ecuación (2.6)

$$\delta Q_i (\%) = (Q_i^* - Q_{ci}^*) / Q_{ci}^* \times 100 \quad (\text{Ecuación 2.6})$$

Donde δQ_i es el porcentaje de la diferencia entre los valores de los parámetros de las muestras lavadas Q_i^* (L_i^* , C_{abi}^* , y h_{abi}) y los valores de los parámetros de las muestras control Q_{ci}^* (L_{ci}^* , C_{abci}^* , y h_{abci}), dividido por este último en el día i (0 o 7).

Para cada corrida experimental se utilizaron como muestras control frutillas enteras sin cálices ni pedúnculos envasadas en los mismos envases que las muestras tratadas (2.2.2). Las muestras control se analizaron tanto el día 0 como a los 7 días de almacenamiento a 2°C.

2.2.4 Optimización y validación

Una vez desarrollados los modelos matemáticos para cada respuesta (Y), en función de la concentración de PAA y el tiempo de aspersión en la operación de lavado-desinfección, se determinaron las condiciones óptimas del proceso. Para lo cual se utilizó la metodología de Optimización de repuestas múltiples (Derringer y Suich, 1980), que permite la optimización simultánea de las respuestas estudiadas.

La optimización de Respuestas Múltiples determina los valores de los factores experimentales (variables independientes, en nuestro caso concentración y tiempo) que cubren las características deseadas para más de una respuesta simultáneamente. Esto se hace por la construcción de la función de deseabilidad, basada en los valores de las variables respuesta (Y), la cual se maximiza o minimiza de acuerdo a la respuesta.

Para usar este procedimiento, primero se deben construir los modelos para cada respuesta en función de las variables independientes en forma individual (polinomio de segundo orden). Luego se define una función de deseabilidad para cada respuesta. La función de deseabilidad varía entre 0, para una respuesta completamente indeseable, y 1, para una respuesta completamente deseable. Esta función toma diferentes formas, dependiendo si la respuesta debe ser maximizada, minimizada o alcanzar un valor objetivo (Statgraphics, 2009).

Un valor D (deseabilidad global) diferente de cero implica que todas las respuestas están simultáneamente en un rango deseable; para un valor de D cercano a 1, la combinación de los diferentes criterios es globalmente óptima.

En la presente tesis, se determinaron la concentración del sanitizante y el tiempo de aspersión óptimos, para maximizar la reducción de microorganismos aerobios totales, mohos y levaduras en el día del procesamiento (día 0).

La validación de los modelos obtenidos para cada respuesta se realizó en las condiciones óptimas de concentración y tiempo determinadas. Para ello, se realizó una nueva corrida experimental como se explicó en la sección (2.2), evaluando la reducción de $TMCR_0$, YCR_0 y MCR_0 . Los resultados experimentales y los valores predichos por los modelos se compararon estadísticamente para determinar diferencias significativas.

2.2.5 Análisis estadístico

Todas las determinaciones fueron realizadas por duplicado o triplicado según corresponda. Los cálculos de media, desviaciones estándares y las representaciones gráficas se realizaron con la planilla de cálculo de Microsoft EXCEL® (Office 2010).

El software estadístico Design Expert® v 7.0.0 (Stat-Easy, inc., Minneapolis, MN) fue usado para comprobar la idoneidad de los modelos propuestos. Asimismo, permitió ajustar las ecuaciones polinomiales de 2° orden a los datos experimentales, graficar las superficies predichas a partir de los modelos y realizar operaciones de optimización en los rangos experimentales ensayados.

El software STATGRAPHICS Centurion XV 15.2.06 (StatPoint Technologies, Inc., Warrenton, Virginia, EE.UU.) se utilizó para realizar el análisis de varianza (ANOVA). La prueba t se realizó para indicar las diferencias significativas en el tiempo de almacenamiento (0 y 7) y entre los valores predichos y experimentales de la validación.

2.3 ESTUDIO DEL ALMACENAMIENTO DE FRUTILLAS FRESCAS CORTADAS EN ATMOSFERAS ESPECIALES

Para esta segunda parte, las frutillas fueron procesadas como se describe en 2.2, pero el lavado-desinfección por aspersion se realizó con el punto óptimo hallado en 2.2.4. El diagrama de procedimiento realizado se muestra en la Figura 2.6. Para el estudio del almacenamiento en atmósferas especiales, se creó un sistema en serie para lograr las diferentes atmósferas dentro de recipientes herméticos con las frutillas mínimamente procesadas (aproximadamente 300g de frutillas por recipiente) (Figura 2.7).



Figura 2.6 Diagrama de procesamiento para estudiar el almacenamiento de las frutillas frescas cortadas en atmósferas especiales

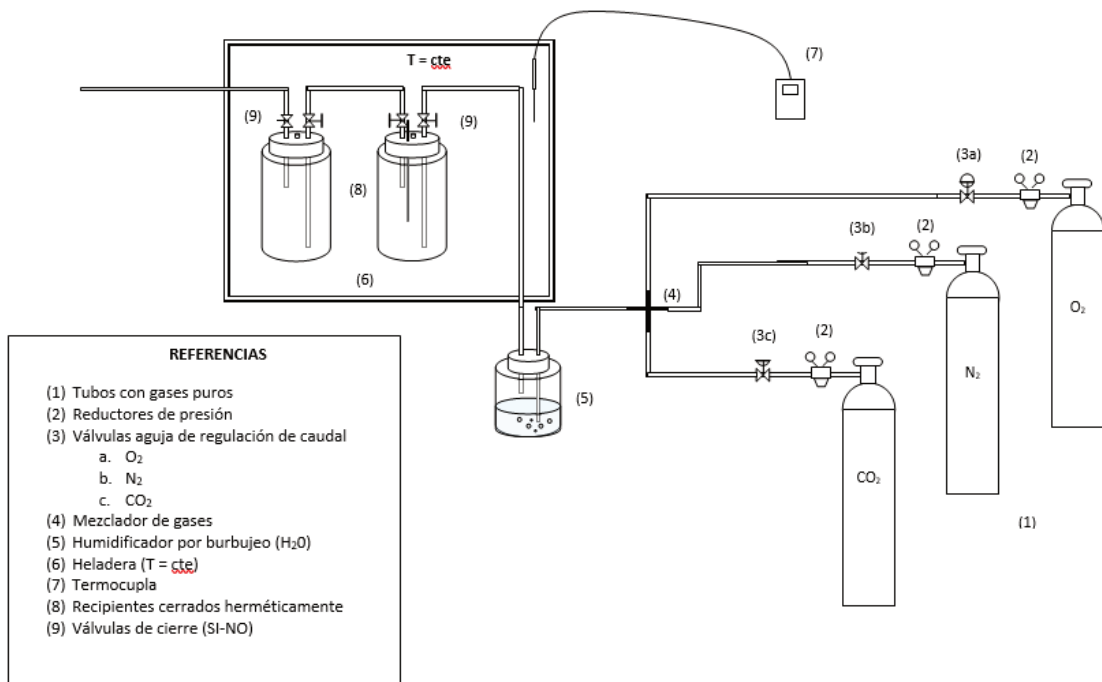


Figura 2.7 Sistema desarrollado para generar las distintas atmósferas en los recipientes

Se prepararon 6 frascos por experiencia, los cuales se conectaron en serie con una mezcladora de gases (MAP Mix Provectus-Dansensor, Ringsted, Dinamarca) capaz de proveer la mezcla gaseosa deseada (Figura 2.8), cuyo flujo fue de 90 mL min^{-1} , y se almacenaron a $5 \text{ }^{\circ}\text{C}$, durante 20 días. También, se colocó un humidificador para mantener las muestras con la humedad relativa necesaria.



Figura 2.8 Mezcladora de gases utilizada para obtener las distintas composiciones gaseosas

2.3.1 Atmosferas Controladas utilizadas

La composición de las mezclas gaseosas se midió diariamente en el espacio de cabeza con un analizador de gas (CheckMate 3, Dansensor, Ringsted, Dinamarca), el cual permite el análisis de oxígeno y dióxido de carbono a través de un sensor de O₂ de zirconio y de CO₂ infrarrojo (Figura 2.9). La composición gaseosa inicial se reestableció diariamente con el fin de que queden constantes en el tiempo. Las composiciones atmosféricas que se utilizaron y evaluaron se presentan en la Tabla 2.2.



Figura 2.9 Muestras de frutillas mínimamente procesadas almacenadas en recipientes con diferentes atmósferas a 5°C y el analizador de gases para medir la composición

Tabla 2.2 Atmósferas empleadas

Atmosferas altas en oxígeno	Atmósfera convencional	Aire
70 kPa O ₂ -20 kPa CO ₂	5 kPa O ₂ -5 kPa CO ₂	20.9 kPa O ₂ -0.03 kPa CO ₂
80 kPa O ₂ -20 kPa CO ₂		
90 kPa O ₂ -10 kPa CO ₂		
70 kPa O ₂ -0 kPa CO ₂		
90 kPa O ₂ -0 kPa CO ₂		

Para cada una de las mezclas gaseosas, se realizaron 7 muestreos correspondientes a los días 0, 1, 2, 7, 12, 14 y 20. Una vez que se tomaron las muestras, la mitad se utilizó para la medición de sólidos solubles, pH, color, firmeza y el análisis microbiológico; el resto, se guardó en freezer de -80°C para el posterior análisis de compuestos bioactivos (ácido ascórbico, vitamina C, antocianinas totales, perfil de antocianinas, fenoles totales) y la capacidad antioxidante.

2.3.2 Modelado de las curvas de crecimiento de los microorganismos nativos de las frutillas frescas cortadas durante el almacenamiento en atmósferas especiales.

Los microorganismos que se determinaron en cada uno de los días de muestreo fueron: aerobios mesófilos totales, psicrótrofos totales, mohos y levaduras. Los recuentos se expresaron en log unidades formadoras de colonia por gramos de muestra (log UFC g⁻¹). Los datos experimentales se ajustaron a un modelo primario (temperatura constante). Para ello, se propuso la ecuación de Baranyi y Roberts, 1994, usando el software online DMFit (ComBase predictor: <https://www.combase.cc/index.php/en>). El modelo se describe a través de la siguiente Ecuación (2.7):

$$y(t) = y_0 + \mu_{max} F(t) - \ln \left(1 + \frac{e^{\mu_{max} - 1}}{e^{(y_{max} - y_0)}} \right) \quad (\text{Ecuación 2.7})$$

Donde $F(t) = t + \frac{1}{v} \ln(e^{-vt} + e^{-h_0} - e^{-vt-h_0})$; $y(t)$ es el log UFC g⁻¹ en el tiempo t ; y_0 es la concentración inicial de microorganismos (log UFC g⁻¹); $\mu_{m\acute{a}x}$ es la máxima velocidad de crecimiento (log UFC g⁻¹día⁻¹); v es la tasa de aumento del sustrato limitante y se asume que es igual a $\mu_{m\acute{a}x}$; h_0 es igual a $\mu_{m\acute{a}x} * \lambda$; and λ es la duración de la fase lag en día.

Esta ecuación permite modelar la evolución de los microorganismos en el tiempo a temperatura constante, para cada mezcla gaseosa.

A través del software online DMFit se pueden estimar los siguientes parámetros:

- **Valor inicial (y_0):** concentración inicial de microorganismos ($\log \text{UFC g}^{-1}$).
- **Fase lag (λ):** duración de la fase lag (día).
- **$\mu_{\text{máx}}$:** máxima velocidad de crecimiento ($\log \text{UFC g}^{-1} \text{día}^{-1}$).
- **Valor final (y_f):** concentración final de microorganismos ($\log \text{UFC g}^{-1}$).
- Errores estándar de estos parámetros.

Cuando se pueden estimar todos los parámetros el modelo es completo (Figura 2.10 a). En el caso de que $\lambda=0$, el modelo se denomina no lag (Figura 2.10 b) y, cuando no se alcanza a determinar y_f en el tiempo ensayado, el modelo se denomina no asintótico (Figura 2.10 c). Por último, cuando $\lambda=0$ y además no se alcanza un valor de y_f el modelo es lineal (Figura 2.10 d).

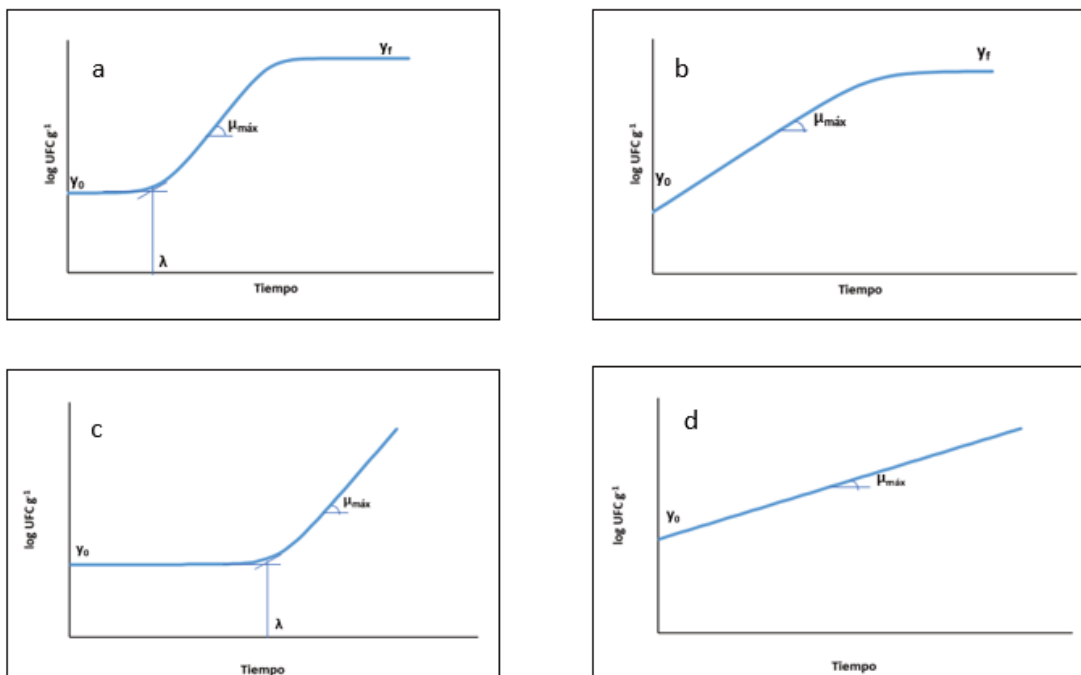


Figura 2.10 Representación de los modelos a) completo; b) no lag; c) no asintótico; d) lineal

2.3.3 Modelado cinético para los cambios de color y la retención de la firmeza.

Los parámetros de color L^* , C_{ab}^* y h_{ab} se expresaron como la siguiente ecuación (2.8)

$$\Delta Q = Q - Q_0 \quad (\text{Ecuación 2.8})$$

Donde ΔQ es el cambio entre los parámetros de color L^* , C_{ab}^* y h_{ab} en los días de muestreos (Q) y los mismos parámetros en el día 0 (Q_0).

Por otro lado, también se evaluó el cambio total de color (ΔE_{ab}^*) con respecto al valor inicial (día 0) durante el almacenamiento, definido a través de la siguiente ecuación (2.9):

$$\Delta E_{ab}^* = (\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{0.5} \quad (\text{Ecuación 2.9})$$

Estos parámetros fueron determinados en las muestras de frutillas frescas cortadas almacenadas en cada una de las mezclas gaseosas.

La firmeza de cada una de las muestras analizadas se expresó como retención según la Ecuación (2.5).

Tanto los datos experimentales de los cambios de color (ΔL^* , ΔC_{ab}^* , Δh_{ab} y ΔE_{ab}^*) como la retención de la firmeza pudieron modelarse a través de la ecuación cinética general (2.10):

$$\pm \frac{dQ}{dt} = k (Q^n) \quad (\text{Ecuación 2.10})$$

Donde Q es el valor del atributo, t es el tiempo (días), k es la constante de velocidad y n es el orden de la reacción.

Los datos experimentales se ajustaron a la reacción de orden 0 para modelar los cambios en función del tiempo para las diferentes mezclas gaseosas (Ecuación 2.11).

$$Q = Q_0 \pm kt \quad (\text{Ecuación 2.11})$$

donde Q_0 es el valor del atributo en el día 0, t es el tiempo en días y k es la constante de velocidad.

Los parámetros del modelo cinético de orden cero (Q_0 y k) fueron determinados a través del software GraphPad Prism v6 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA) así como también el coeficiente de determinación R^2 para evaluar el ajuste de los datos experimentales.

2.3.4 Análisis estadístico

Todas las determinaciones fueron realizadas por duplicado o triplicado según corresponda. Los cálculos de media, desviaciones estándares y las representaciones gráficas se realizaron con la planilla de cálculo de Microsoft EXCEL® (Office 2010).

El software STATGRAPHICS Centurion XV 15.2.06 (StatPoint Technologies, Inc., Warrenton, Virginia, EE.UU.) se utilizó para realizar los siguientes análisis estadísticos: análisis de varianza para determinar el efecto del tiempo y las mezclas gaseosas sobre cada una de las respuestas estudiadas; y para determinar diferencias significativas entre las medias a través del test de rango múltiple, empleando la prueba de Tukey. Por otra parte, se realizó un análisis de correlación de Pearson entre las respuestas determinadas, que es un índice que mide el grado de covariación entre las distintas variables relacionadas linealmente; entre mayor es el valor absoluto del coeficiente de correlación, mayor es la relación lineal entre las dos variables.

2.4 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

2.4.1 Aerobios mesófilos totales

Para la determinación de aerobios mesófilos totales (AMT), se tomaron 10 g de frutillas de forma aséptica y se homogenizaron durante 2 minutos en *stomacher* con 90 mL de agua de peptona 0.1%. A partir de esta suspensión, se realizaron diluciones seriadas en tubos conteniendo 9 mL de agua de peptona 0.1%. De cada dilución, se sembró 1 mL en profundidad, por duplicado, usando como medio de cultivo agar de recuento en placa (PCA, Merck, St Louis, MO, USA). Las placas se incubaron a 30°C durante 48 hs. El resultado se expresó como unidades formadoras de colonias por gramo de frutilla (UFC g⁻¹) (FDA, 2018).

2.4.2 Mohos y levaduras

Para la determinación de mohos (MH) y levaduras (LEV), se tomaron 10 g de frutillas de forma aséptica y se homogenizaron durante 2 minutos en *stomacher* con 90 mL de agua de peptona 0.1%. A partir de esta suspensión, se realizaron diluciones seriadas en tubos conteniendo 9 mL de agua de peptona 0.1%. De cada dilución, se sembró 1 mL en profundidad, por duplicado, usando como medio de cultivo agar extracto de levadura, glucosa y cloranfenicol (YGC, Merck). Las placas se incubaron durante 5 días a 28°C. para poder diferenciar los mohos de las levaduras, se realizó una observación macroscópica y microscópica de las colonias. El resultado se expresó como unidades formadoras de colonias por gramo de frutilla (UFC g⁻¹) (FDA, 2018).

2.4.3 *Escherichia coli*

Para la determinación de *E coli*, se tomaron 10 g de frutillas de forma aséptica y se homogenizaron durante 2 minutos en *stomacher* con 90 mL de agua de peptona 0.1%. A partir de esta suspensión, se realizaron diluciones seriadas en tubos conteniendo 9 mL de agua de peptona 0.1%. De cada dilución, se sembró 1 mL en profundidad, por duplicado, usando como medio de cultivo diferencial agar eosina azul de metileno (EMB, Merck). Las placas se incubaron durante 24 hs a 37°C. El resultado se expresó como unidades formadoras de colonias por gramo de frutilla (UFC g⁻¹).

2.4.4 Microorganismos psicrótrofos totales

Para la determinación de microorganismos psicrótrofos totales (Psicro), se tomaron 10 g de frutillas de forma aséptica y se homogenizaron durante 2 minutos en *stomacher* con 90 mL de agua de peptona 0.1%. A partir de esta suspensión, se realizaron diluciones seriadas en tubos conteniendo 9 mL de agua de peptona 0.1%. De cada dilución, se sembró 1 mL en profundidad, por duplicado, usando como medio de cultivo agar de recuento en placa (PCA, Merck, St Louis, MO, USA). Las placas se incubaron a 5°C durante 10 días. El resultado se expresó como unidades formadoras de colonias por gramo de frutilla (UFC g⁻¹).

2.5 DETERMINACIONES ANALÍTICAS DE ANTOCIANINAS TOTALES, FENOLES TOTALES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

2.5.1 Preparación de los extractos

5 g de frutillas se homogeneizaron con 75 mL de acetona/agua (80:20) y se sonicaron por 15 min en ultrasonido. Luego, se centrifugó a 12.000 g por 20 min a 4°C en centrífuga refrigerada (Heal Force Neofuge 18R, Shangai, China). El sobrenadante fue separado y utilizado para los análisis correspondientes.

2.5.2 Determinación del contenido de antocianinas totales

El contenido de antocianinas totales se determinó con el método de pH diferencial de acuerdo a Jin Heo y Yong Lee (2005). Alícuotas de extracto (2.5.1) se ajustaron a pH 1 con una solución buffer 0.025 mol L⁻¹ de ácido clorhídrico/cloruro de potasio y a pH 4.5 usando una solución buffer 0.4 mol L⁻¹ de ácido acético/acetato de sodio. Se midieron las absorbancias a 510 y 700 nm en espectrofotómetro (Genesys 10S UV-Vis, Thermo Scientific, USA), y los resultados se convirtieron en mg pelargonidin-3-glucósido Kg⁻¹ de fruta fresca, (mg P3G 100 g⁻¹ FF) usando un coeficiente de extinción molar de 22,400 L (mol cm)⁻¹, una masa molecular de 432.2 g mol⁻¹, un camino óptico de 1 cm y una absorbancia (A) (Ecuación. 2.12) de:

$$A = [(A_{510} - A_{700})_{pH1} - (A_{510} - A_{700})_{pH4.5}] \quad (\text{Ecuación. 2.12})$$

Donde, A_{510} y A_{700} son las medidas de absorbancia a pH 1 y 4.5. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

2.5.3 Determinación del contenido de fenoles totales

La determinación de fenoles totales se llevó a cabo usando el reactivo de Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965). A 0.125 mL de extracto (2.5.1) se agregaron 0.25 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu. La mezcla se dejó reaccionar durante 1 minuto. Luego se adicionó 0.5 mL de solución saturada de carbonato de sodio (10%) y se completó a 5 mL con agua destilada. Se agitó en vórtex, se centrifugó durante 15 minutos a 4000 g, y se incubó 15 min en oscuridad. Los blancos de reactivos se prepararon reemplazando el volumen de muestra por solución de extracción. Se midió la absorbancia a 760 nm en espectrofotómetro.

Se construyó una curva de calibrado de ácido gálico (AG) en el rango de concentraciones 20-100 ppm AG (Figura 2.11). Las determinaciones se realizaron por triplicado en cada muestra de frutilla y los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico (mg AG Kg⁻¹ FF).

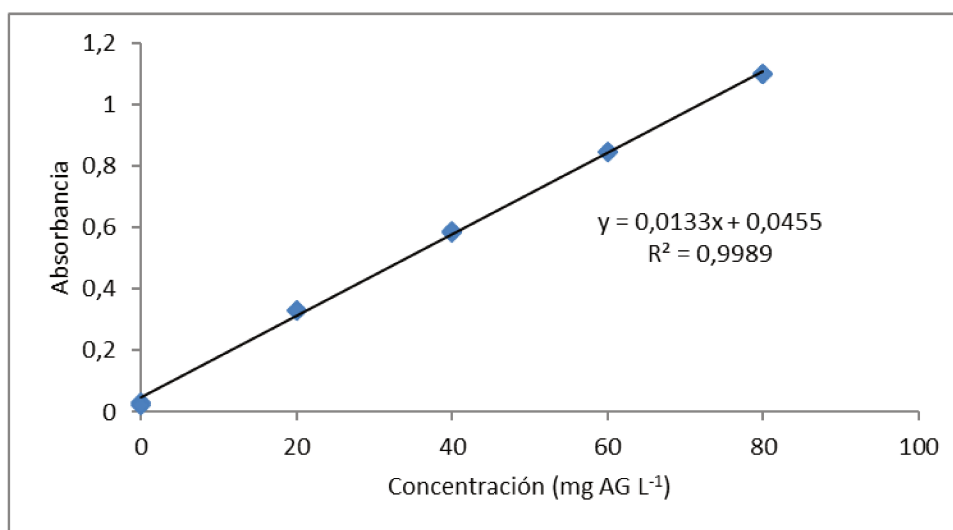


Figura 2.11 Curva de calibrado de ácido gálico para la determinación del contenido de fenoles totales

2.5.4 Determinación de la capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante de las muestras se midió de acuerdo a Sánchez-Moreno et al. (2003). La actividad antirradicalaria se cuantificó por la medida de la disminución de la absorbancia de una solución metanólica del radical libre DPPH* (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) a 517 nm en presencia de alícuotas del extracto de la fruta. La

concentración inicial de DPPH* fue de 0.03 g L⁻¹ y las medidas de absorbancia se realizaron en espectrofotómetro.

Los cálculos se realizaron de acuerdo a la Ecuación 2.12:

$$\%DPPH^*_{\text{remanente}} = \left[\frac{A_{\text{muestra}}}{A_{\text{control}}} \right] \times 100 \quad (\text{Ecuación 2.12})$$

En donde A_{control} es la absorbancia de 3.9 mL de solución de DPPH* adicionado de un volumen de metanol igual al volumen de muestra agregado en el tubo correspondiente y A_{muestra} es la absorbancia de 3.9 mL de DPPH* adicionado con un volumen entre 0.025 y 0.075 mL de extracto. Se calculó el IC₅₀ (muestra) definido como la cantidad de muestra en 1 mL de reacción necesaria para disminuir al 50% la concentración inicial de DPPH*, obtenida de la gráfica de porcentaje de DPPH* remanente vs. concentración (mg de fruta mL⁻¹ de reacción).

Los análisis se realizaron por duplicado y las lecturas se tomaron luego de dejar reaccionar las muestras durante 120 minutos.

Los resultados se expresaron como la capacidad antioxidante equivalente al ácido ascórbico (AEAC) (Lim et al., 2007) (Ecuación 2.13).

$$AEAC \left(\frac{\text{mgAA}}{100\text{g de fruta fresca}} \right) = \frac{IC_{50(AA)}}{IC_{50(muestra)}} \times 10^5 \quad (\text{Ecuación 2.13})$$

Donde: IC₅₀(AA) es la cantidad de ácido ascórbico en 1 mL de reacción necesaria para disminuir al 50% la concentración inicial de DPPH*, obtenida de la gráfica de % DPPH* remanente vs. concentración (mg de AA mL⁻¹ reacción).

Para calcular el IC₅₀(AA) se preparó una curva de calibrado de ácido ascórbico (AA) (0 – 0.207 mg mL⁻¹), se mezclaron 3.9 mL de solución de DPPH* con 0.1 mL de cada dilución y se midieron los valores de absorbancia luego de media hora de reacción (tiempo que la reacción alcanza un estado estacionario luego de la adición de AA). La curva se realizó por triplicado y se calculó el valor de IC₅₀(AA) = 4.04 10⁻³ mg mL⁻¹.

2.6 DETERMINACIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO Y ÁCIDO ASCÓRBICO TOTAL (VITAMINA C)

2.6.1 Preparación de los extractos

2 g de frutillas se homogeneizaron con 10 mL de una solución extractante de ácido metafosfórico (3%) y ácido acético (8%). Luego, se sonicaron por 15 minutos en

ultrasonido y se centrifugaron a 12000 g durante 20 minutos en centrifuga refrigerada a 4°C; se separaron los sobrenadantes.

2.6.2 Determinación de ácido ascórbico (AA)

La determinación de ácido ascórbico se realizó de acuerdo a Van de Velde et al. (2012). Se tomó 1 mL de extracto (2.6.1) y se agregó 5 mL de fase móvil (A: solución buffer 0.03 mol L⁻¹ de acetato de sodio/ácido acético, metanol 5% (pH 5.8)), se homogenizó y se filtró con una membrana Millipore de 0,45µM, para inyectar en HPLC (SHIMADZU LC-20AT, USA). El equipo de cromatografía líquida posee un detector de arreglo de diodo y está equipado con una columna de fase reversa Gemini 5µ C18/110A unida a un guarda-columna (Phenomenex Inc., CA. EE.UU.). Las muestras se inyectaron en forma manual y se trabajó bajo condiciones isocráticas y a temperatura ambiente. La velocidad de flujo fue de 1.15 mL min⁻¹ y las mediciones se hicieron a 265 nm. Se registraron las áreas y los resultados se expresaron en mg AA Kg⁻¹ FF (Figura 2.12).

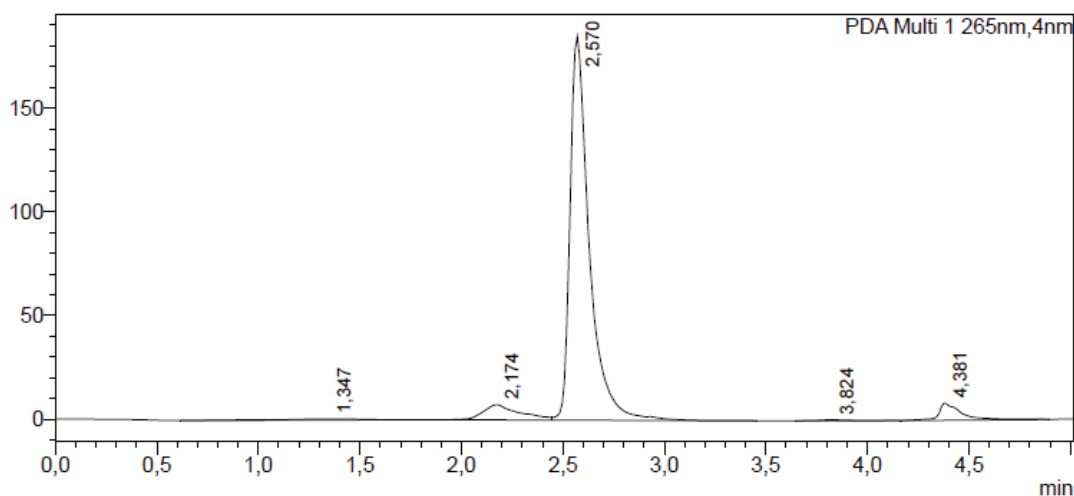


Figura 2.12 Cromatograma de ácido ascórbico obtenido para frutillas frescas cortadas

2.6.3 Determinación de ácido ascórbico total (AAT) o vitamina C

Para la determinación de vitamina C, se tomó 1 mL de extracto (2.6.1) y se agregó 0.2 mL de DL-ditiotreitol (DTT: 5g/L, preparado en fosfato de potasio dibásico, K₂HPO₄ 2,58M), y se dejó reaccionar por 2hrs en la oscuridad a temperatura ambiente. Se agregó 4.8 mL de fase móvil A y se procedió de igual manera que el punto 2.6.2 (Van de Velde et al., 2012). Se registraron las áreas y los resultados se expresaron en mg AAT Kg⁻¹ FF.

2.6.4 Curva de calibrado de ácido ascórbico y ácido ascórbico total

Se preparó una solución madre de ácido ascórbico (AA) 4g/L a partir de AA, previamente secado durante 1hr en estufa a 105°C, disuelto en la misma solución extractante descrita en 2.6.1.

Para la especie AA: se tomó 4ml de la solución madre y se diluyó en 10 ml de fase móvil A.

Para la especie AAT: se tomó 4mL de la solución madre y se agregó 1,3mL de solución de DL-ditiotreitol (preparado de igual manera que en 2.6.3). Se dejó reaccionar por 2hrs en la oscuridad a temperatura ambiente. Finalmente se diluyó esta solución en 10mL de fase móvil A.

A partir las soluciones para AA y AAT se realizaron las diluciones con fase móvil A para obtener soluciones estándares de 0 a 80ppm. Se filtraron dichas soluciones en membranas millipore 0,45µM y se inyectaron en el HPLC. Luego se graficaron las áreas en función de las concentraciones para obtener la curva de calibrado (Figura 2.13 y 2.14)

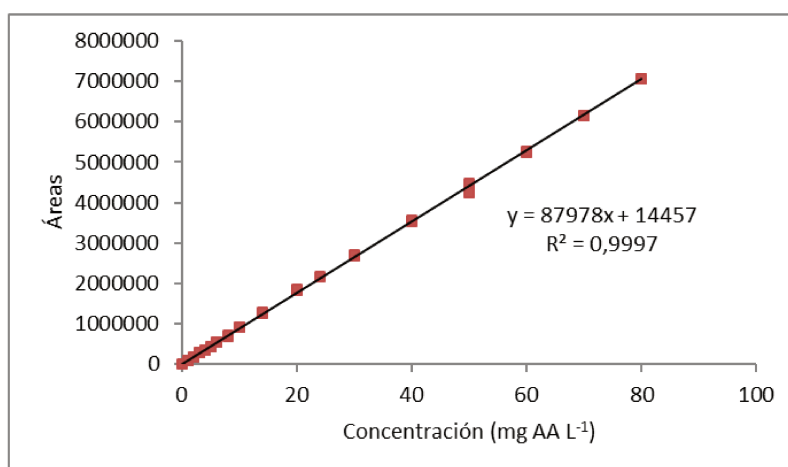


Figura 2.13 Curva de calibrado de ácido ascórbico (AA)

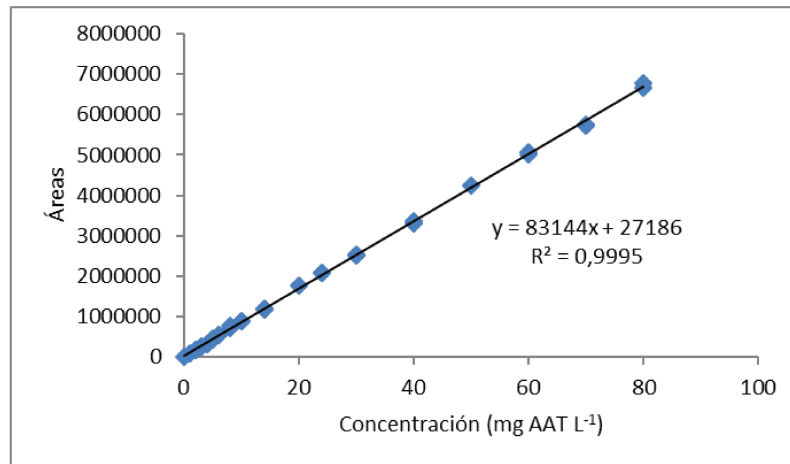


Figura 2.14 Curva de calibrado de ácido ascórbico total (AAT)

2.7 DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE ANTOCIANINAS

2.7.1 Preparación de los extractos

5 g frutilla se homogenizaron con 3.5 mL de una solución extractante de metanol/agua (80:20) y 0.5% ácido acético. La mezcla fue sonicada por 15 min a 50°C y se centrifugó en centrifuga refrigerada a 12000 g por 20 min; se recogió el sobrenadante en matraz de 25 mL. La extracción del pellet se repitió dos veces más (agregando 8 mL de solución extractante), se combinaron los sobrenadantes y se llevó a volumen final de 25 mL con el solvente de extracción. Las extracciones se realizaron por duplicado.

2.7.2 Determinación de pelargonidin 3-*O*-glucósido, cianidin 3-*O*-glucósido y pelargonidin 3-*O*-rutinosido.

La separación de las 3 antocianinas que se determinaron (pelargonidin 3-*O*-glucósido, cianidin 3-*O*-glucósido y pelargonidin 3-*O*-rutinosido) se realizó por HPLC según Van de Velde et al. (2016). Para ello, se utilizó una columna en fase reversa Gemini 5 μ C18/110A unida a un guarda-columna (Phenomenex Inc., CA. EE.UU.). La fase móvil consistió en ácido fórmico 5% en agua (A) y metanol 100% (B). La velocidad de flujo fue de 1 mL min⁻¹ con un gradiente binario que consiste en 10, 15, 20, 25, 30, 60, 100, 10% de solvente B en 0, 5, 15, 20, 25, 40, 42, 45 min, respectivamente. Se registraron las áreas a 520 nm (Figura 2.15) y los resultados se expresaron como (g Kg⁻¹ de fruta fresca), usando como referencia una curva de calibrado con estándares de pelargonidin 3-*O*-glucósido (0.025-1 mg mL⁻¹) y cianidin 3-*O*-glucósido (0.05-1 mg mL⁻¹).

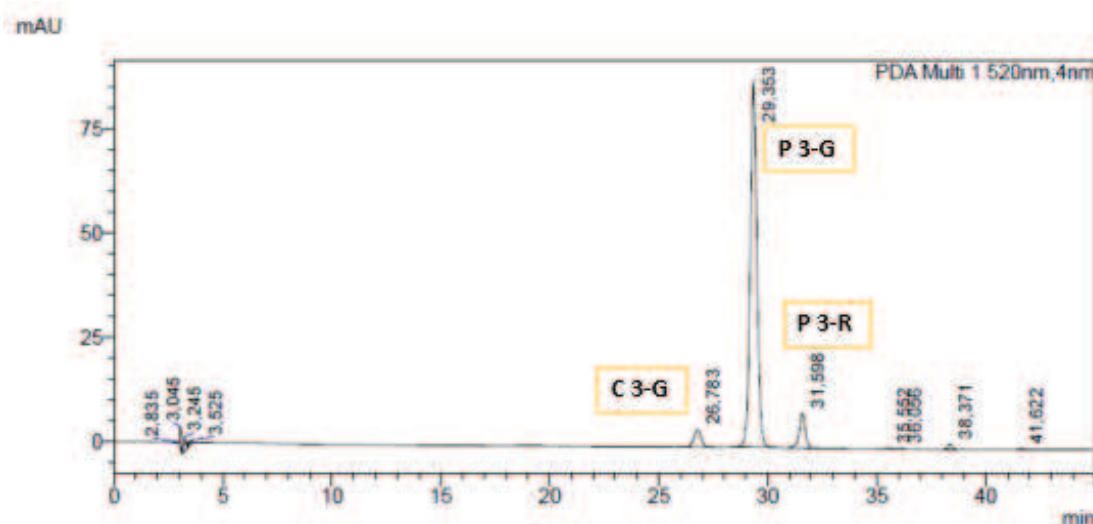


Figura 2.15 Cromatograma del perfil de antocianinas pelargonidin 3-*O*-glucósido (P 3-G), cianidin 3-*O*-glucósido (C 3-G) y pelargonidin 3-*O*-rutinosido (P 3-R)

2.8 SÓLIDOS SOLUBLES Y PH

La determinación de los sólidos solubles se realizó por refractometría, usando un refractómetro digital de mano (Pal-alfa, Atago, Japón) con compensación automática de temperatura, sobre muestras de frutillas homogeneizadas. Los análisis se realizaron por triplicado y los resultados expresados como %.

El pH de las muestras se determinó con un pHmetro (TwinpHmeter B-213, Horiba, Japón) por triplicado.

2.9 DETERMINACIÓN DE COLOR

La evaluación instrumental del color se realizó de acuerdo a Piagentini et al. (2012), utilizando un colorímetro (Minolta CM 508-d, Tokyo, Japan), en las siguientes condiciones: iluminante D65, ángulo del observador 10°, SCE (componente especular excluido), y se calibró usando un estándar color blanco. La medición se realizó sobre la superficie de las frutillas (10 lecturas por muestra).

Se evaluaron los parámetros CIELab y sus índices derivados: ángulo de tono y croma. La luminosidad (L^*) varía de 0 a 100 (negro-blanco); el parámetro a^* indica el grado de componente rojo ($a^*>0$) o verde ($a^*<0$); y el parámetro b^* determina el grado de componente amarillo ($b^*>0$) o azul ($b^*<0$) (Figura 2.16). Por otro lado, los índices derivados C_{ab}^* (croma) y h_{ab} (ángulo de tono) usan el mismo diagrama que el espacio

$L^*a^*b^*$ (coordenadas rectangulares) pero en coordenadas cilíndricas, y son definidos a partir de a^* y b^* . $C_{ab}^* = (a^{*2} + b^{*2})^{0.5}$ y $h_{ab} = \arctg(b^*/a^*)$ (0° : rojo; 90° : amarillo; 180° : verde; 270° : azul).

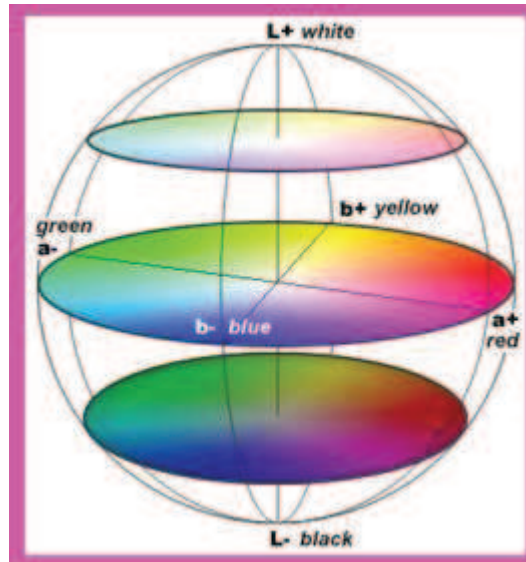


Figura 2.16 Espacio de color del sistema CIE $L^*a^*b^*$ y $L^* C^* h$

2.10 DETERMINACIÓN DE FIRMEZA

Para determinar la firmeza de las frutas se empleó un texturómetro TA. XT Plus Stable Microsystems (Godalming, UK) (Figura 2.17). Se tomaron 10 cuartos por muestra, se realizó una prueba de penetración utilizando una punta de 11mm de largo y 4mm de diámetro, con una celda de carga de 5 Kg, con distancia de penetración de 6 mm a una velocidad de test de 1mm/s. Se utilizó el software Exponent para determinación de fuerza máxima expresada en Newtons (N).

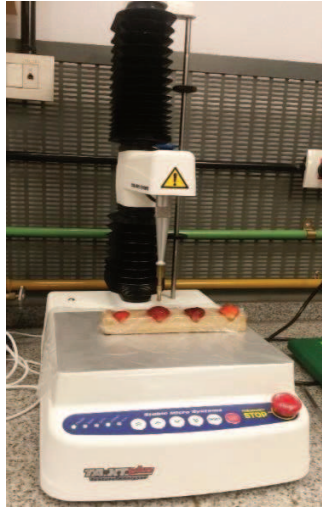


Figura 2.17 Texturómetro TA. XT Plus Stable Microsystems con punta de 11mm de largo y 4mm de diámetro

3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1 ESTUDIO DEL LAVADO-DESINFECCION POR ASPERSION CON ACIDO PERACETICO

3.1.1 Calidad general de frutillas antes del lavado desinfección por aspersión.

La calidad y seguridad de las frutas mínimamente procesadas dependen de muchos factores, incluyendo aquellos que afectan la calidad y seguridad de las frutas intactas o enteras (Artés y Allende, 2015). Previo al procesamiento es necesario realizar una adecuada selección del material vegetal (variedad de la fruta, óptimo estado de maduración), de manera que tenga las mejores aptitudes para el mínimo procesamiento (González y Lobo, 2005; Cheng et al., 2009).

Las frutas y hortalizas contienen una diversa microflora nativa, y dado que los vegetales mínimamente procesados se consumen crudos, la seguridad microbiológica juega un rol fundamental para minimizar el riesgo de los consumidores (Tapia et al., 2015). La calidad microbiológica de las frutas en general depende de la variedad, la forma de recolección, la temporada de cosecha, entre otros. Los controles microbiológicos realizados en las frutillas variedad “*Camarosa*” sin lavar (control) se realizaron tanto en el día del procesamiento como después de 7 días de almacenamiento a 2°C. El recuento inicial de microorganismos aerobios mesófilos totales fue 3.28 ± 0.03 log UFC g⁻¹. Y el de mohos y levaduras fue de 3.65 ± 0.07 y 3.60 ± 0.16 log UFC g⁻¹, respectivamente. Después de 7 días a 2°C, los recuentos no cambiaron significativamente ($P > 0.05$). Estos resultados están dentro de los rangos aceptables de microorganismos nativos y son comparables con los reportados por Alexandre et al., 2012; Van de Velde et al., 2016; Nicolau-lapeña et al., 2019.

Los microorganismos patógenos no son parte de la población microbiana de frutas y hortalizas, pero debido a las prácticas de producción cambiantes, incluyendo el aumento del consumo de vegetales mínimamente procesados, la presencia y la importancia de patógenos humanos en los productos frescos debe ser considerado (Gil y Allende, 2012). En las frutillas enteras sin lavar utilizadas en la presente tesis (muestras control) hubo ausencia de *E. coli*.

Por otro lado, el contenido de compuestos bioactivos y las características sensoriales de la materia prima son de gran importancia en los productos mínimamente procesados. El contenido de antocianinas totales (AT), fenoles totales (FT), ácido ascórbico (AA) y vitamina C (VitC), y la capacidad antioxidante (CA), además de las características

generales de calidad (sólidos solubles, pH y los parámetros de color (L^* , C_{ab}^* , h_{ab})) de la materia prima en el día 0 y 7 se muestran en la Tabla 3.1. Se puede observar que el almacenamiento por 7 días a 2°C solo redujo significativamente a AT y FT. Estos resultados muestran que el almacenamiento a 2°C afecta el contenido fenólico en las frutas enteras como ha sido reportado por otros autores (Ayala-Zavala et al., 2004; Van de Velde et al., 2016).

Tabla 3.1 Atributos fisicoquímicos y bioactivos de las frutillas control en el día 0 y después de 7 días de almacenamiento a 2°C.

Atributos	Tiempo (d)	
	0	7
Sólidos solubles (%)	7.5a	7.4a
pH	3.7a	3.6a
Parámetros de color		
L^*	28.9a	28.1a
C_{ab}^*	20.7a	21.3a
h_{ab}	18.0a	18.2a
Contenido de compuestos bioactivos ($mg\ Kg^{-1}$)		
Fenoles totales	3000a	2670b
Antocianinas totales	530a	470b
Ácido ascórbico	490a	500a
Vitamina C	550a	550a
Capacidad Antioxidante ($mg\ Kg^{-1}$)	4680a	4430a

Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$) por t-test.

3.1.2 Efecto del lavado desinfección por aspersión con ácido peracético (PAA) sobre la reducción los microorganismos nativos y la reducción de *E. coli* inoculada en las frutillas mínimamente procesadas.

- **Efecto sobre la reducción de los microorganismos nativos: aerobios mesófilos totales, mohos y levaduras.**

Los resultados experimentales de la reducción de microorganismos aerobios mesófilos (TMCR), mohos (MCR), levaduras (YCR) y *E. coli* (EcoliCR) en el día 0 y a los 7 días de almacenamiento a 2°C bajo las condiciones del diseño experimental se muestra en la Tabla 3.2. Previo a realizar el ANOVA, se comprobó la idoneidad del modelo elegido para cada respuesta, con los test de diagnósticos basados en los residuos. Los resultados de los test diagnósticos (no mostrados) indican que se cumple adecuadamente con las suposiciones de homogeneidad de la varianza, independencia y normalidad de los errores. En la Tabla 3.3 y 3.4 se muestran los análisis de varianza de los modelos propuestos para cada respuesta.

Tabla 3.2 Resultados experimentales de las reducciones microbiológicas y de *E. coli* en frutillas frescas cortadas lavadas por aspersión con PAA el día del procesamiento (día 0) y después de 7 días a 2°C.

Corrida	Concentración (mg L ⁻¹)	Tiempo (s)	i (d)	TMCR _i (-logNi/Nci)	MCR _i (-logNi/Nci)	YCR _i (-logNi/Nci)	EcoliCR _i (-logNi/Nci)
1	120.5	75	0	1.16	1.91	2.30	1.72
			7	1.65	2.41	2.48	2.41
2	240	75	0	1.15	2.48	3.60	2.82
			7	1.82	2.41	2.57	3.91
3	205	119	0	1.30	1.84	2.20	2.94
			7	1.12	3.59	2.70	2.45
4	120.5	11	0	0.75	0.59	0.73	1.47
			7	1.61	1.59	1.56	1.97
5	36	30	0	0.22	0.52	0.95	2.01
			7	1.48	1.41	1.50	1.56
6	120.5	75	0	1.07	2.26	2.30	1.60
			7	1.78	1.84	1.94	1.88
7	36	119	0	0.70	0.26	1.36	1.22
			7	1.33	1.25	0.49	1.58
8	205	30	0	0.94	1.91	2.43	1.12
			7	1.95	2.41	2.22	2.00
9	120.5	138	0	1.15	2.00	2.18	1.82
			7	1.58	2.05	2.00	3.90
10	120.5	75	0	1.20	1.51	1.95	2.18
			7	1.30	1.26	1.41	2.96
11	1	75	0	0.43	1.40	1.19	1.06
			7	0.86	2.19	1.50	1.71

TMCR_i: reducción de aerobios mesófilos totales en el día i; MCR_i: reducción de mohos en el día i; YCR_i: reducción de levaduras en el día i; EcoliCR_i: reducción de *E. coli* en el día i; N_i es el recuento de microorganismos viables en el día i; N_{ci} es el recuento de microorganismos viables en las muestras control en el día i; i es el análisis en el día 0 o 7.

Tabla 3.3 Análisis de varianza para el modelo de la reducción de microorganismos aerobios totales total (TMCR₀), levaduras (YCR₀), mohos (MCR₀) y *E. coli* (EcoliCR₀) en el día 0.

Atributos	gl	Suma de cuadrados			
		TMCR ₀	MCR ₀	YCR ₀	EcoliCR ₀
A: Concentración	1	0.68***	2.53*	4.10***	1.38**
B: Tiempo	1	0.25**	0.35	0.62	0.29
AA	1	0.22**	0.054	0.019	0.021
BB	1	0.08**	0.99	0.96*	0.042
AB	1	0.004	0.009	0.10	1.70**
Residuos	5	0.043	1.69	0.74	0.56
Lack of fit	3	0.034	1.41	0.66	0.38
Error puro	2	0.009	0.28	0.083	0.18
R-cuadrado		96.5	70.0	89.0	85.9

gl: grados de libertad; *P≤0.05; **P≤0.01; ***P≤0.001

En el día de procesamiento, el modelo para la TMCR₀ fue afectado por la concentración del sanitizante y el tiempo de aspersión a través de los términos lineales y cuadráticos (P ≤0.01; Tabla 3.3). Se puede observar, a través del diagrama de Pareto (Figura 3.1), que el efecto de la concentración y del tiempo es positivo (a través de los términos lineales); es decir, que a medida que aumentan estos factores la reducción de los microorganismos aerobios mesófilos es mayor.

El modelo reducido se muestra en la Ecuación (3.1):

$$TMCR_0 = -0.29 + 0.01 \times C + 0.012 \times t - 2.7 \times 10^{-5} \times C^2 - 5.7 \times 10^{-5} \times t^2 \quad (3.1)$$

Siendo TMCR₀: reducción log; C: mg L⁻¹ y t: s.

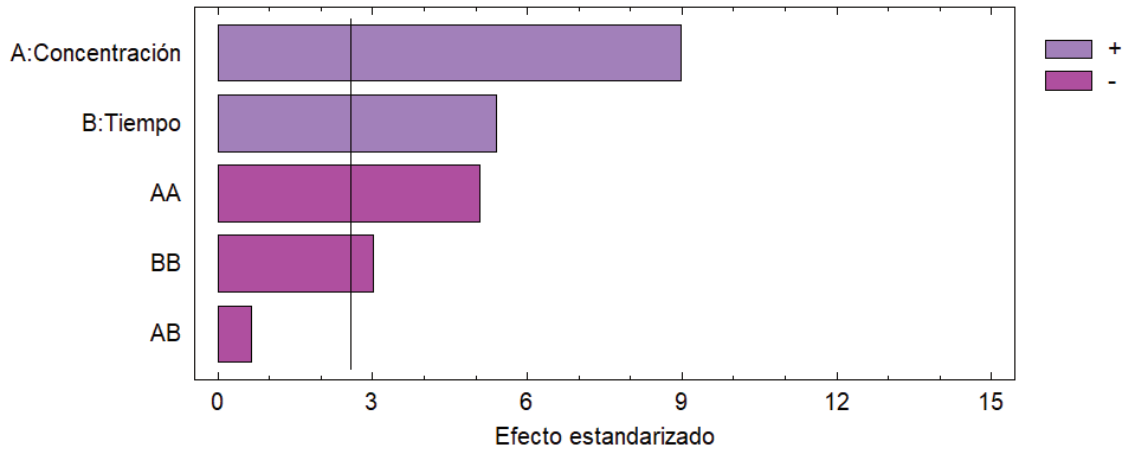


Figura 3.1 Diagrama de Pareto estandarizado para el modelo $TMCR_0$.

En la Figura 3.2 se observa la superficie de respuesta para el modelo $TMCR_0$ en función de la concentración de PAA y el tiempo de aspersion. De acuerdo a esto, la reducción de microorganismos mesófilos totales es mayor a medida que aumenta la concentración y el tiempo. Reducciones de aproximadamente 1.2-1.3 log pueden lograrse a concentraciones y tiempo de aspersion superiores a 160 mg L^{-1} y 70 s.

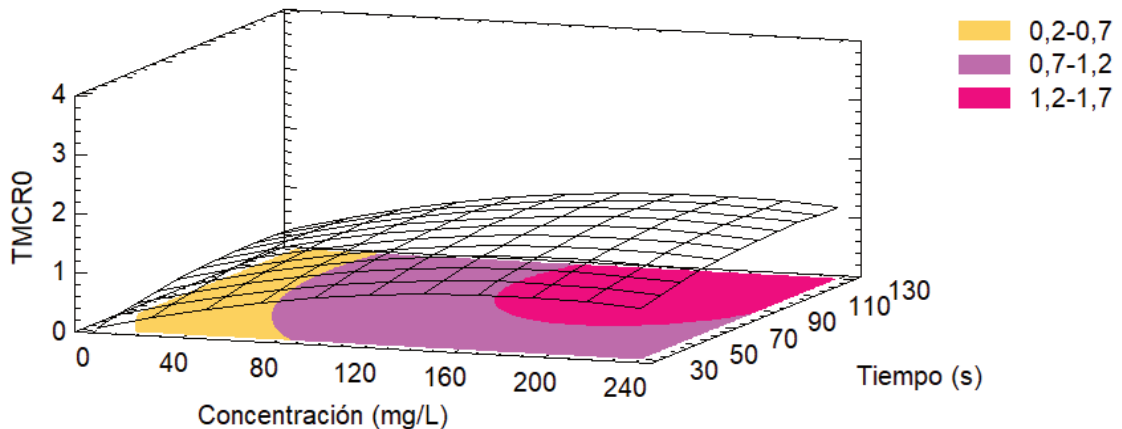


Figura 3.2 Superficie de respuesta y gráfica de contorno de la reducción de microorganismos mesófilos totales ($TMCR_0$) en el día 0 de frutillas mínimamente procesadas.

El modelo MCR_0 mostró una dependencia lineal positiva con la concentración de ácido peracético (PAA), siendo este el único término significativo ($P < 0.05$) (Tabla 3.3). En la Figura 3.3 (Diagrama de Pareto), se muestra el efecto positivo de la concentración, indicando que a medida que aumenta la concentración de PAA, mayor es la reducción

de mohos. Lo mismo puede observarse a través de la gráfica de superficie respuesta mostrada en la Figura 3.4.

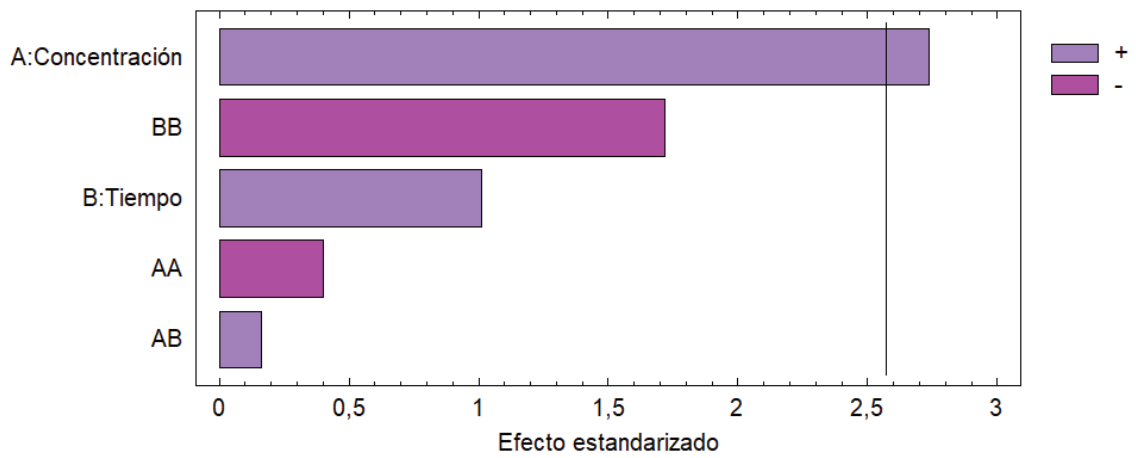


Figura 3.3 Diagrama de Pareto estandarizado para el modelo MCR₀.

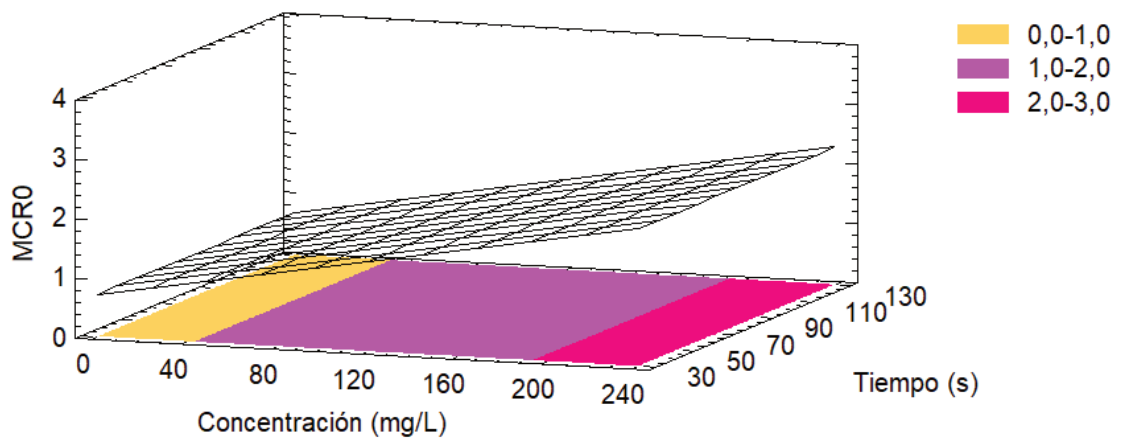


Figura 3.4 Superficie de respuesta y gráfica de contorno de la reducción de mohos (MCR₀) en el día 0 de frutillas mínimamente procesadas.

El modelo reducido se muestra en la Ecuación (3.2):

$$MCR_0 = 0.71 + 6.6 \cdot 10^{-3} \times C \quad (3.2)$$

Siendo MCR₀: reducción log; C: mg L⁻¹.

Por otro lado, el modelo YCR₀ fue afectado por la concentración a través del término lineal (P≤0.001) y por el tiempo de aspersión a través del término cuadrático (P ≤0.05; Tabla 3.3). En el diagrama de Pareto (Figura 3.5), puede verse que la concentración

afecta de manera positiva la reducción de levaduras, es decir que, a medida que aumenta la concentración de PAA mayor es la reducción; mientras que el tiempo, al estar afectado por el término cuadrático, la reducción aumenta hasta un valor máximo. La superficie respuesta obtenida para este modelo se muestra en la Figura 3.6, donde se observa que reducciones mayores a 2 log pueden lograrse a concentraciones y tiempo superiores a 120 mg L⁻¹ y 50 s.

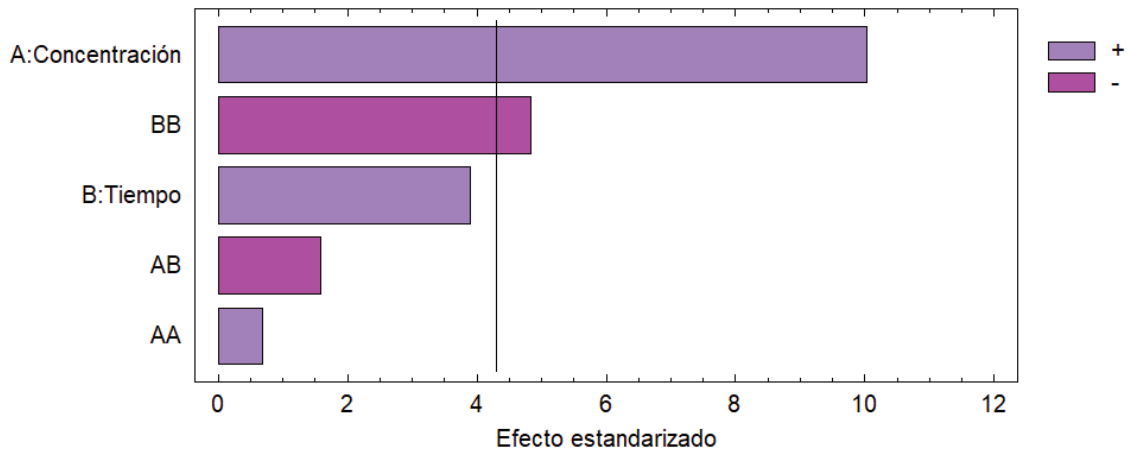


Figura 3.5 Diagrama de Pareto estandarizado para el modelo YCR₀.

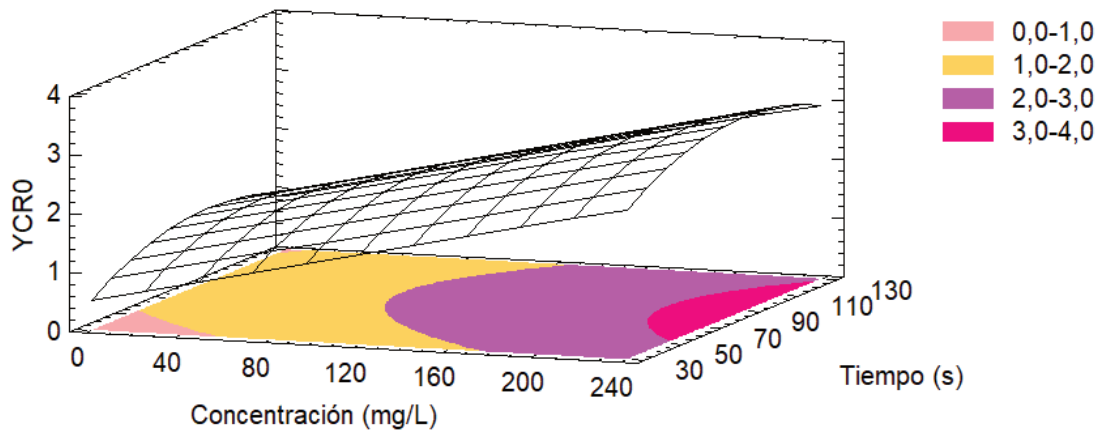


Figura 3.6 Superficie de respuesta y gráfica de contorno de la reducción de levaduras (YCR₀) en el día 0 de frutillas mínimamente procesadas.

El modelo reducido se muestra en la Ecuación (3.3):

$$YCR_0 = -0.43 + 8.5 \cdot 10^{-3} \times C + 3.8 \cdot 10^{-2} \times t - 2.12 \cdot 10^{-4} \times t^2 \quad (3.3)$$

Siendo YCR₀: reducción log; C: mg L⁻¹ y t: s.

Puede determinarse a partir de estos resultados que la concentración de PAA tuvo más efecto sobre los modelos $TMCR_0$, MCR_0 e YCR_0 , que el tiempo de aspersión. El máximo valor predicho obtenido de los modelos reducidos para cada una de las respuestas $TMCR_0$, MCR_0 e YCR_0 fueron de 1.3 (183 mg L⁻¹ y 108.9 s), 2.3 (240 mg L⁻¹) y 3.3 log (240 mg L⁻¹ y 90 s), respectivamente.

Los modelos $TMCR_7$, MCR_7 e YCR_7 representan el impacto de las variables operativas del lavado desinfección por aspersión sobre las reducciones microbianas de frutillas frescas cortadas después de 7 días de almacenamiento a 2°C. Los modelos $TMCR_7$ y MCR_7 no fueron afectados por las variables del proceso (concentración del sanitizante y tiempo de aspersión) (Tabla 3.4). La mejor estimación de la reducción de aerobios mesófilos totales y de mohos es el promedio de todas las corridas experimentales en el día 7, los cuales fueron 1.5 y 2.0 log, respectivamente. Sin embargo, YCR_7 fue afectado por la concentración de sanitizante a través del término lineal ($P \leq 0.05$) (Tabla 3.4). Se puede observar que a medida que aumenta la concentración del sanitizante, mayor es la reducción de levaduras luego de 7 días a 2°C (Figura 3.7 y Figura 3.8).

Tabla 3.4 Análisis de varianza de la reducción de microorganismos aerobios totales total ($TMCR_7$), mohos (MCR_7), levaduras (YCR_7) y *E. coli* ($EcoliCR_7$) en el día 7.

Atributos	gl	Suma de cuadrados			
		$TMCR_7$	MCR_7	YCR_7	$EcoliCR_7$
A: Concentración	1	0.33	1.67	2.46*	2.45
B: tiempo	1	0.15	0.34	0.001	1.27
AA	1	0.074	0.38	0.000	0.013
BB	1	0.000	0.002	0.09	0.001
AB	1	0.12	0.45	0.55	0.046
Residuos	5	0.37	1.86	1.05	3.53
Lack of fit	3	0.25	1.19	0.48	2.95
Error puro	2	0.12	0.67	0.57	0.58
R-cuadrado		64.65	60.76	74.77	51.77

gl: grados de libertad; * $P \leq 0.05$

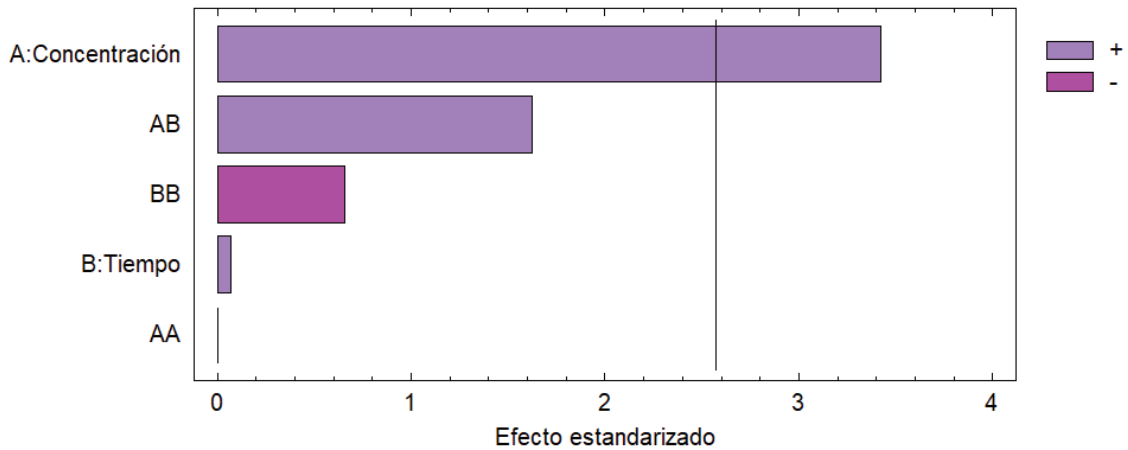


Figura 3.7 Diagrama de Pareto estandarizado para el modelo YCR₇.

El modelo reducido de YCR₇ se muestra en la Ecuación (3.4):

$$YCR_7 = 1.06 + 6.57 \cdot 10^{-3} \times C \quad (3.4)$$

Siendo YCR₇: reducción log; C: mg L⁻¹.

Basado en la Ecuación (3.4), el máximo valor predicho por el modelo YCR₇ es 2.6 log a la máxima concentración del sanitizante (240 mg L⁻¹).

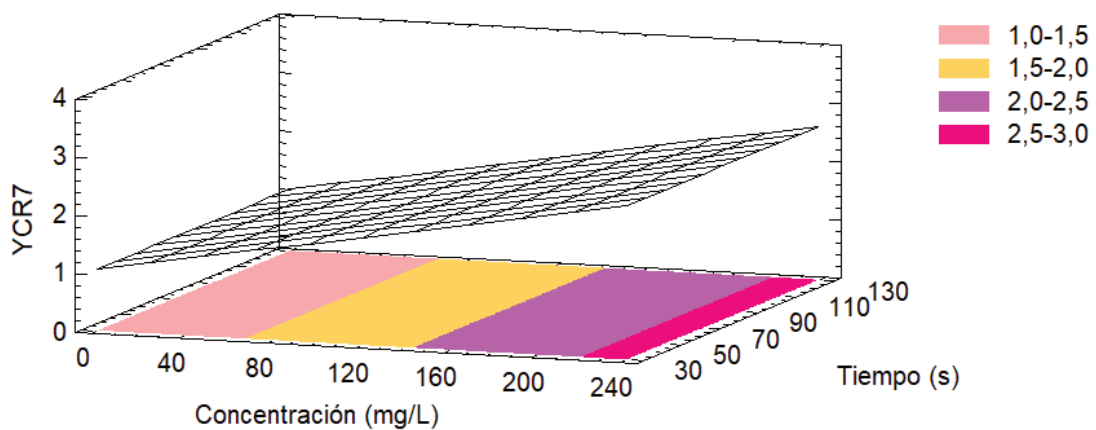


Figura 3.8 Superficie de respuesta y gráfica de contorno de la reducción de levaduras (YCR₇) en el día 7 de frutillas mínimamente procesadas.

Van de Velde et al. (2014) estudiaron el lavado desinfección por inmersión de frutillas frescas cortadas en cuartos y encontraron que con un tratamiento de 100 mg L⁻¹ de PAA durante 120 s se reduce 2.6 log de microorganismos mesófilos totales. Sin embargo, en esas condiciones, con el lavado por aspersion, la reducción predicha es menor (1.1 log).

Estas diferencias pueden deberse a la gran área de contacto que hay entre la solución sanitizante y la fruta fresca cortada en el método por inmersión. Por su parte, Rodgers et al. (2004) reportaron que un tratamiento por inmersión de frutillas enteras lavadas con 80 mg L^{-1} de PAA durante 5 min fue capaz de reducir 1.1 y 1 log de mohos y levaduras, respectivamente. En nuestro estudio, a la misma concentración de PAA, pero menos tiempo (2.3 min), se obtuvieron similares reducciones (1.2 y 1.5 log de mohos y levaduras, respectivamente).

La diferente sensibilidad de los microorganismos al procedimiento de lavado depende de los géneros que existen en la microflora nativa de las frutas, ya que hay diferencias interespecíficas de cómo el ácido peracético afecta las distintas estructuras celulares (Nicolau-lapeña et al., 2019).

- **Efecto sobre la reducción de *Escherichia coli* inoculada.**

En cuanto a los ensayos de inoculación, el recuento inicial de *E coli* en las frutillas frescas cortadas inoculadas fue de $7.2 \pm 0.02 \text{ log UFC g}^{-1}$, y luego del almacenamiento (7 d, 2°C), decreció 1 log ($6.4 \pm 0.05 \text{ log UFC g}^{-1}$) (muestras control inoculadas).

El modelo $E\text{ColiCR}_0$ fue afectado significativamente por la concentración del sanitizante, a través del término lineal, y la interacción con el tiempo ($P \leq 0.01$) (Tabla 3.3). Se puede observar en el diagrama de Pareto (Figura 3.9) que la interacción entre la concentración del sanitizante y el tiempo de aspersion es positiva, es decir que a medida que aumentan estos factores, mayor es la reducción de *E. coli*. El modelo reducido se muestra en la Ecuación (3.5).

$$E\text{coliCR}_0 = 2.37 - 7.38 \cdot 10^{-3} \times C - 0.01 \times t + 1.62 \cdot 10^{-4} \times C \times t \quad (3.5)$$

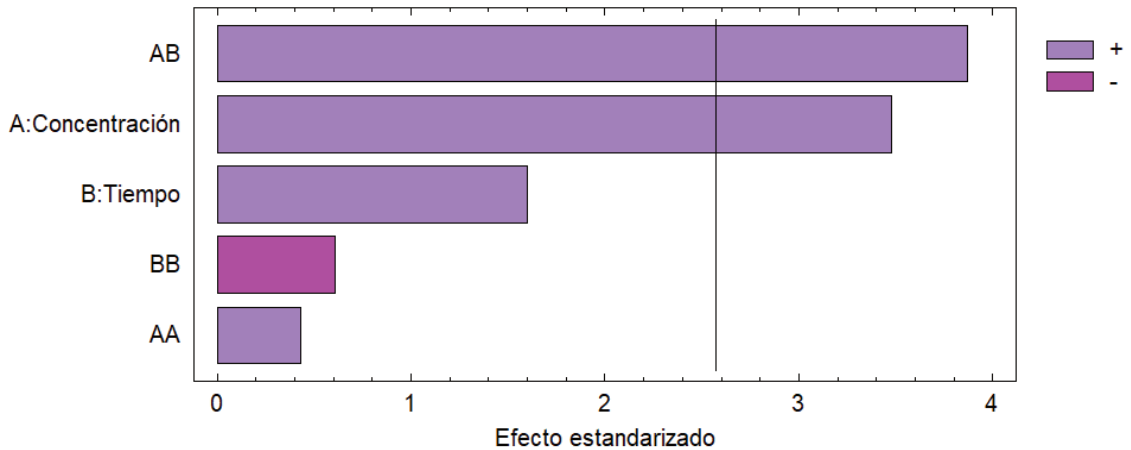


Figura 3.9 Diagrama de Pareto estandarizado para el modelo EcoliCR₀.

En la gráfica de superficie respuesta (Figura 3.10) y en la gráfica de interacción (Figura 3.11) se muestra que, a bajas concentraciones de PAA, la reducción de *E. coli* es alrededor de 1-2 log a cualquier tiempo de aspersion, mientras que, a altas concentraciones de PAA, la reducción se incrementa con el tiempo de aspersion. El máximo valor predicho por el modelo es 3.9 log en las máximas condiciones ensayadas del lavado desinfección por aspersion (240 mg L⁻¹ y 138 s).

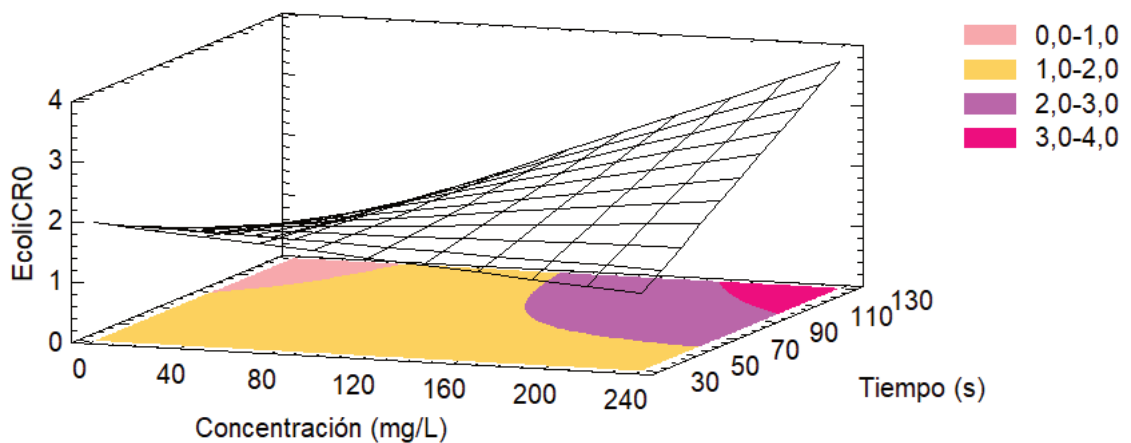


Figura 3.10 Superficie de respuesta y gráfica de contorno de la reducción de *E. coli* (EcoliCR₀) en el día 0 de frutillas mínimamente procesadas.

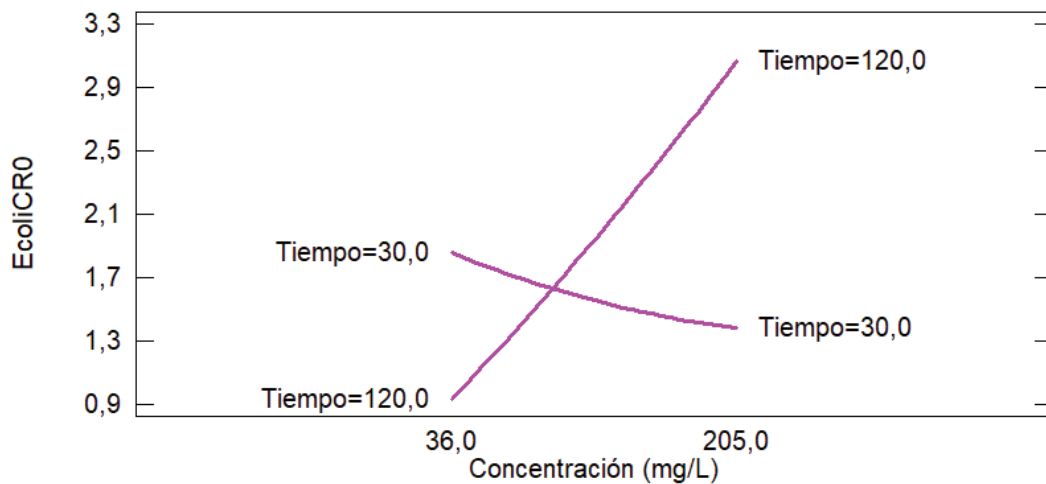


Figura 3.11 Gráfica de interacción para EcoliCR0 de frutillas frescas cortadas lavadas con ácido peracético.

En la Tabla 3.4, se puede observar que después de 7 días de almacenamiento a 2°C, las variables de proceso (concentración y tiempo) no afectaron la reducción de *E. coli*. El promedio de las reducciones de todas las muestras tratadas fue de 2.4 log. Como se puede observar en la Figura 3.12, el recuento de *E. coli* en el día 7 fue generalmente menor que el recuento de las mismas muestras al día 0 ($P \leq 0.05$). Dependiendo la corrida experimental, la reducción en el almacenamiento estuvo en el rango de 1.2 (R11) y 2.9 log (R9). La eficacia de los métodos de descontaminación no solo se refleja a través de la reducción microbiológica obtenida inicialmente, sino también a través del mantenimiento de esta reducción en el almacenamiento (Abadias et al., 2011). El lavado desinfección por aspersion con PAA no solo reduce la población de *E. coli* inoculada en frutillas frescas cortadas, sino que también previene el incremento de la misma durante el almacenamiento por 7 días. Esto ocurre probablemente porque las bacterias no pueden reparar el daño producido por la acción germicida de PAA, donde el agente desinfectante interrumpe la función celular mediante la oxidación de las proteínas, enzimas, el ADN y los metabolitos de las bacterias, lo cual genera una muerte celular (Zoellner et al, 2018).

Adicionalmente, las muestras control inoculadas con *E. coli* mostraron una disminución del recuento de esta bacteria (1 log) en el almacenamiento (2°C); esto se debe probablemente al efecto de la baja temperatura, que reduce el crecimiento de microorganismos y el deterioro microbiano de los productos (Luo et al., 2010).

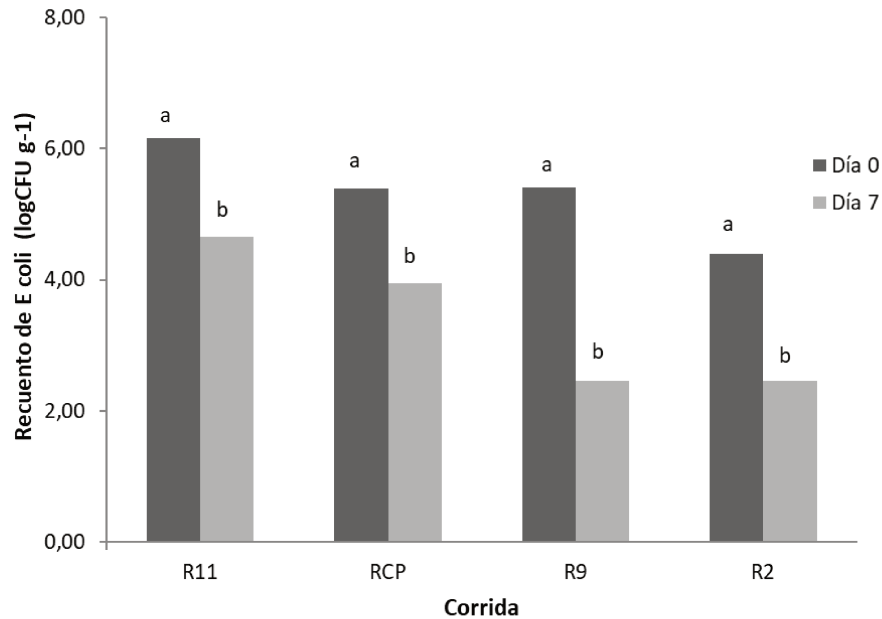


Figura 3.12 Efecto del tiempo de almacenamiento a 2 °C de frutillas frescas cortadas inoculadas con *E. coli* lavadas por aspersion con PAA. R11: muestras tratadas con 1 mg L⁻¹ y 75 seg; RCP: promedio de las corridas experimentales del punto central (120.5 mg L⁻¹-75 seg); R9: muestras tratadas con 120.5 mg L⁻¹ y 138 seg; R2: muestras tratadas con 240 mg L⁻¹ y 75 seg). Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas (P<0.05).

3.1.3 Efecto del lavado desinfección por aspersion sobre los atributos relacionados con la calidad sensorial de frutillas frescas cortadas.

La calidad de las frutas frescas cortadas determina el valor para el consumidor; esto es una combinación de parámetros que incluyen apariencia, textura, sabor y valor nutricional (Kader, 2002).

El color se considera un parámetro fundamental para la elección, preferencia y aceptación de los alimentos (Rico et al., 2007). El lavado-desinfección de las frutas y hortalizas en general y de las frutillas en particular, pueden traer aparejados algunos problemas. Principalmente, podría ocurrir pérdida de pigmentos, vitaminas y otros compuestos (como sólidos solubles) por oxidación y/o lixiviación. Esto puede producir como consecuencia un efecto perjudicial sobre el color al inducir al pardeamiento o la decoloración del tejido vegetal (Vandekinderen et al., 2008). Por lo tanto, la operación

de lavado-desinfección puede afectar los atributos relacionados a la calidad sensorial del producto.

Se determinaron los cambios porcentuales en los parámetros de color: Luminosidad (δL^*), Cromaticidad (δCab^*) y ángulo de hue (δhab) y las retenciones de los sólidos solubles (SSR) y pH (pHR) en las frutillas mínimamente procesadas lavadas con PAA por aspersión según el diseño experimental (Tabla 3.5).

Los ANOVA de los modelos predictivos de δL^* , δCab^* y δhab , y de SSR y pHR de las frutillas tratadas mostraron que los factores del tratamiento (concentración de PAA y tiempo de aspersión) no influyeron significativamente sobre las respuestas, por lo cual, no pudieron modelarse con ecuaciones polinomiales de 2º orden.

Es por ello, que la mejor estimación de las mismas en el rango ensayado de las variables es el valor promedio de todas las corridas experimentales, tanto en el día de procesamiento (día 0) como a los 7 días de almacenamiento a 2°C (Tabla 3.6).

Tabla 3.5 Resultados experimentales de los cambios en los parámetros de color L*, Cab* y hab, y de las retenciones de sólidos solubles y pH en frutillas frescas cortadas lavadas por aspersión con PAA el día del procesamiento (0) y después de 7 días a 2°C.

Corrida	Concentración (mg L ⁻¹)	Tiempo (s)	i (d)	δLi^*	$\delta Cabi^*$	$\delta habi$	SSRi (%)	pHRi (%)
1	120.5	75	0	-0.87	21.03	14.34	96.88	99.27
			7	-1.44	20.66	12.39	95.96	98.99
2	240	75	0	-1.43	28.00	12.35	99.55	99.45
			7	-0.73	6.86	1.42	104.04	99.54
3	205	119	0	-1.16	23.10	14.19	102.23	99.36
			7	-2.03	10.18	10.62	97.31	99.82
4	120.5	11	0	-0.03	30.55	19.78	99.55	99.18
			7	-1.82	14.07	26.61	98.21	98.53
5	36	30	0	-1.20	24.80	14.63	99.55	100.18
			7	-0.54	4.87	1.83	97.76	100.83
6	120.5	75	0	-0.75	39.45	6.92	101.34	96.45
			7	-1.22	10.61	11.61	100.00	100.00
7	36	119	0	-2.47	23.67	14.86	99.55	96.00
			7	-1.35	21.27	11.78	99.10	100.92
8	205	30	0	-2.65	32.74	19.50	105.36	98.91
			7	-1.90	0.68	0.57	98.21	100.0
9	120.5	138	0	-0.75	24.88	13.11	93.75	96.45
			7	-1.74	9.59	12.73	96.41	100.55
10	120.5	75	0	-0.91	34.69	19.12	94.64	96.09
			7	-0.02	6.74	6.93	96.41	99.91
11	1	75	0	-1.20	11.16	7.61	98.66	99.91
			7	-1.52	17.96	9.10	98.21	101.01

δLi^* : cambio de luminosidad en el día i; $\delta Cabi^*$: cambio de chroma en el día i; $\delta habi$: cambio de hue en el día i; SSRi: retención de sólidos solubles en el día i; pHRi: retención de pH en el día i; i es el día de análisis, 0 o 7.

Tabla 3.6 Promedios de los cambios en los parámetros de color (δL^* , δCab^* y δhab) y de las retenciones de sólidos solubles y pH en frutillas frescas cortadas después del lavado desinfección por aspersión con PAA en el día 0 y después de 7 días de almacenamiento a 2°C.

Atributos	Tiempo (d)	
	0	7
δLi^*	-1.4a	-1.3a
$\delta Cabi^*$	26.7b	11.2a
$\delta habi$	14.2a	9.6a
SSRi	99.2a	98.4a
pHRi	98.4a	100b

Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$) por t-test.

δLi^* : cambio de luminosidad en el día i; $\delta Cabi^*$: cambio de chroma en el día i; $\delta habi$: cambio de hue en el día i; SSRi: retención de sólidos solubles en el día i; pHRi: retención de pH en el día i; i es el día de análisis, 0 o 7.

Como se puede ver en la Tabla 3.6, el cambio de luminosidad (δL^*) fue negativo indicando que las frutillas frescas cortadas fueron ligeramente más oscuras (~1%) que las frutillas control, y dicha diferencia se mantuvo luego de 7 días a 2°C. Los valores positivos de $\delta Cabi^*$ indican que el color de las frutillas lavadas fue más intenso que el de las frutillas control (~20%), y esta diferencia disminuyó significativamente después de 7 días a 2°C. Valores positivos de δhab indican que las frutillas frescas cortadas fueron menos rojas que las frutillas control (~12%) y dicha diferencia no se modificó.

Los sólidos solubles y del pH luego del lavado desinfección por aspersión con PAA se modificaron levemente, con retenciones de 99 y 98%, respectivamente (Tabla 3.6). Por otro lado, el promedio de las retenciones de sólidos solubles si bien disminuyó ligeramente en el almacenamiento, este cambio no fue significativo, mientras que la retención de pH aumentó de manera significativa después de 7 días ($P < 0.05$) (Tabla 3.6). La fruta mínimamente procesada tiene mayor actividad metabólica, presentando una mayor velocidad de respiración que la fruta entera; como consecuencia se produce un mayor consumo de azúcares y de ácidos orgánicos en el tiempo, generando cambios en su composición (Rico et al., 2007).

3.1.4 Efecto del lavado desinfección por aspersion sobre la retención de los compuestos bioactivos: fenoles totales, antocianinas totales, ácido ascórbico y vitamina C y de la capacidad antioxidante

En la Tabla 3.7 se muestran los resultados experimentales de las retenciones porcentuales de los fenoles totales (FTR), las antocianinas totales (ATR), el ácido ascórbico (AAR) y la vitamina C (VitCR), además de la retención de la capacidad antioxidante (CAR), según el diseño experimental realizado.

Tabla 3.7 Resultados experimentales en frutillas frescas cortadas lavadas por aspersion con PAA el día del procesamiento (0) y después de 7 días a 2°C.

Corrida	Concentración (mg L ⁻¹)	Tiempo (s)	i (d)	FTRi (%)	ATRI (%)	AARI (%)	VitCRI (%)	CARI (%)
1	120.5	75	0	93.3	79.5	65.4	72.1	92.1
			7	94.3	81.6	73.2	81.1	100.9
2	240	75	0	93.9	77.5	71.2	82.7	94.9
			7	96.4	83.6	85.2	89.5	95.2
3	205	119	0	100	80.1	81.5	81.8	101.2
			7	101.6	77.9	74.0	85.6	109.6
4	120.5	11	0	98.9	82.3	73.7	79.0	103.1
			7	96.2	66.4	72.8	83.1	90.2
5	36	30	0	99.8	87.1	75.1	88.0	110.1
			7	97.6	81.6	84.8	90.8	100.2
6	120.5	75	0	92.6	74.0	69.7	84.6	95.0
			7	96.6	83.3	70.0	85.4	100.8
7	36	119	0	94.9	75.3	89.4	86.1	98.1
			7	95.5	89.3	70.4	79.6	76.3
8	205	30	0	92.6	80.0	80.6	81.2	109.0
			7	95.4	80.1	86.0	90.4	97.1
9	120.5	138	0	89.7	78.2	62.5	87.5	91.2
			7	100.5	77.4	70.1	87.4	102.5
10	120.5	75	0	95.3	70.7	74.5	80.2	93.5
			7	97.2	71.9	84.3	86.3	109.7
11	1	75	0	97.5	82.4	76.1	89.6	91.6
			7	96.7	79.9	71.3	82.9	87.6

FTRi: retención de fenoles totales en el día i; ATRI: retención de antocianinas totales en el día i; CARI: retención de capacidad antioxidante en el día i; AARI: retención de ácido ascórbico en el día i; VitCRI: retención de vitamina C en el día i. i es el día de análisis, 0 o 7.

Los ANOVA de los modelos predictivos de FTR, ATR, AAR, VitCR y CAR de las frutillas tratadas mostraron que los factores del tratamiento (concentración de PAA y tiempo de

aspersión) no influyeron significativamente sobre las respuestas, por lo cual, no pudieron modelarse con ecuaciones polinomiales de 2º orden.

Es por ello, que la mejor estimación de las mismas en el rango ensayado de las variables es el valor promedio de todas las corridas experimentales, tanto en el día de procesamiento (día 0) como a los 7 días de almacenamiento a 2°C (Tabla 3.8).

Van de Velde et al. (2014) maximizó la retención de ácido ascórbico y antocianinas totales con una reducción moderada de microorganismos (2 log) a través de un lavado desinfección de frutillas frescas cortadas por inmersión con 20 mg L⁻¹ de PAA y 52 s. Estas condiciones mostraron una retención de 93.3% para ácido ascórbico y 87.2% para antocianinas totales. La retención de AA y AT en el sistema de lavado por aspersión con PAA realizado en el presente trabajo fue menor (~74% y 79%, respectivamente). Sin embargo, la retención de vitamina C total (L-ácido ascórbico + L-ácido dehidroascórbico) fue alrededor del 84%, 10% superior a la retención de AA, indicando que hubo una oxidación parcial de L-ácido ascórbico a L-ácido dehidroascórbico debida al ácido peracético, pero igualmente ambos compuestos tienen actividad biológica (Hernández et al., 2006). Paralelamente, hubo una retención importante de la capacidad antioxidante (~98%). Esto puede deberse, probablemente, a la retención lograda en los compuestos fenólicos (~96%).

Tabla 3.8 Promedios de la retención de fenoles totales, antocianinas totales, ácido ascórbico y vitamina C y de la capacidad antioxidante en frutillas frescas cortadas después del lavado desinfección por aspersión con PAA en el día 0 y después de 7 días de almacenamiento a 2°C.

Atributos (%)	Tiempo (d)	
	0	7
FTRi	95.3a	97.1a
ATRi	78.8a	79.4a
AARi	74.1a	76.5a
VitCRi	83.0a	85.5a
CARi	98.2a	97.3a

Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$) por t-test.

FTRi: retención de fenoles totales en el día i; ATRi: retención de antocianinas totales en el día i; CARi: retención de capacidad antioxidante en el día i; AARi: retención de ácido ascórbico en el día i; VitCRi: retención de vitamina C en el día i. i es el día de análisis, 0 o 7.

3.1.5 Optimización de respuestas múltiples del lavado desinfección por aspersión y validación de los modelos obtenidos

Las reducciones de los microorganismos aerobios mesófilos y los mohos al día 0 y la reducción de las levaduras en el día 0 y 7 fueron las únicas respuestas afectadas por las variables del proceso (concentración de PAA y tiempo). Por ello, se planteó una optimización de respuestas múltiples para encontrar las variables del sistema donde se maximice la reducción de microorganismos, a través de la función de Deseabilidad.

Maximizando las respuestas $TMCR_0$, YCR_0 y MCR_0 , se obtuvieron las condiciones óptimas del proceso de lavado desinfección por aspersión con PAA: 240 mg L⁻¹ y 97 s, alcanzando un valor de deseabilidad global (D): 0.915 (Figura 3.13).

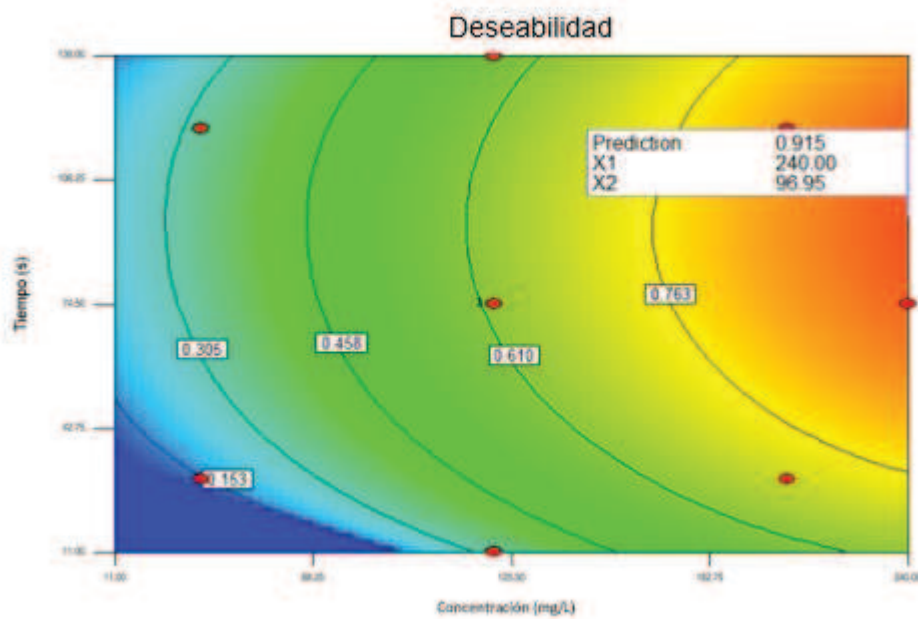


Figura 3.13 Gráfico de contorno de la deseabilidad obtenido a través de la optimización de respuestas múltiples para el proceso de lavado desinfección por aspersión de frutillas frescas cortadas.

Se realizó la validación de los modelos obtenidos en las condiciones óptimas de concentración de PAA (240 mg L⁻¹) y tiempo de aspersión (97 s). Los resultados de la experiencia de la validación en las condiciones óptimas del proceso se presentan en la Tabla 3.9. No existen diferencias significativas entre los resultados experimentales obtenidos y los valores predichos por los modelos. Esto muestra que los modelos obtenidos pueden considerarse válidos.

Tabla 3.9 Resultados experimentales y predichos de lavado-desinfección por aspersión con ácido peracético en frutillas frescas cortadas bajo las condiciones óptimas (240 mg L⁻¹ y 97 s)

Respuesta	Tiempo (d)			
	0		7	
	Predicho	Experimental	Predicho	Experimental
TMCRi (-logN _i /N _c _i)	1.2a	1.0a	1.5*a	2.0a
MCRi (-logN _i /N _c _i)	2.3a	2.4a	2.0*a	2.0a
YCRi (-logN _i /N _c _i)	3.3a	2.6a	3.0a	2.7a

TMCRi: reducción de microorganismos mesófilos totales en el día i; MCRi: reducción de mohos en el día i; YCRi: reducción de levaduras en el día i; i es el día del análisis, 0 o 7; *valores promedio de las corridas experimentales. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (P≤0.05) por t-test.

Los atributos relacionados con la calidad sensorial y los compuestos bioactivos no fueron afectados por las condiciones del lavado como se dijo anteriormente. Por lo tanto, después de la validación se evaluaron los mismos y se comprobó que los resultados fueron similares al promedio determinado previamente de todas las corridas experimentales. En la Tabla 3.10 se muestran los valores de los cambios de color, retención de sólidos solubles, pH, fenoles totales, antocianinas totales, ácido ascórbico y vitamina C y capacidad antioxidante de las frutillas frescas cortadas lavadas por aspersión con ácido peracético en las condiciones óptimas: 240 mg L⁻¹ y 97 s.

Tabla 3.10 Resultados de los cambios en los parámetros de color (δL^* , δCab^* y δhab) y de las retenciones de sólidos solubles y pH, fenoles totales, antocianinas totales, ácido ascórbico y vitamina C y de la capacidad antioxidante en frutillas frescas cortadas luego del lavado desinfección por aspersión con PAA en las condiciones óptimas (240 mg L⁻¹ y 97 s) y después de 7 días de almacenamiento a 2°C.

Atributos	Tiempo (d)	
	0	7
δLi^*	-1.5	-1.4
$\delta Cabi^*$	25.3	13.9
$\delta habi$	12.3	10.1
SSRi	100.0	99.5
pHRi	99.7	99.2
FTRi	95.7	96.8
ATRi	80.8	81.8
AARi	77.3	75.6
VitCRi	80.3	80.5
CARi	98.6	98.2

δLi^* : cambio de luminosidad en el día i; $\delta Cabi^*$: cambio de chroma en el día i; $\delta habi$: cambio de hue en el día i; SSRi: retención de sólidos solubles en el día i; pHRi: retención de pH en el día i; FTRi: retención de fenoles totales en el día i; ATRi: retención de antocianinas totales en el día i; CARi: retención de capacidad antioxidante en el día i; AARi: retención de ácido ascórbico en el día i; VitCRi: retención de vitamina C en el día i es el día de análisis, 0 o 7.

3.2 ESTUDIO DEL ALMACENAMIENTO DE FRUTILLAS FRESCAS CORTADAS EN ATMOSFERAS ESPECIALES

Luego de optimizar la etapa de lavado desinfección, se procedió al estudio de la etapa de almacenamiento refrigerado en diferentes atmósferas de frutillas frescas cortadas.

3.2.1 Características de la materia prima

En la Tabla 3.11 se muestra la carga microbiológica nativa de las frutillas variedad "Festival" utilizadas en esta parte de la presente Tesis. Como se mencionó anteriormente, es fundamental la selección de una adecuada materia prima para obtener frutillas mínimamente procesadas de buena calidad. La reducción de microorganismos después del lavado desinfección por aspersión es similar al hallado en la optimización realizada en el punto 3.1.4.

Tabla 3.11 Calidad general de frutillas variedad "Festival"

Atributo	
Carga microbiológica (log UFC g⁻¹)	
Aerobios mesófilos totales	3.6 ± 0.7
Psicrótrofos totales	3.9 ± 0.5
Mohos	3.6 ± 0.4
Levaduras	3.5 ± 0.7
Parámetros de color	
L*	31.9 ± 2.1
Cab*	28.5 ± 4.6
hab	24.8 ± 3.1
Sólidos solubles (%)	7.8 ± 0.9
pH	3.5 ± 0.06
Firmeza (N)	2.9 ± 0.3
Contenido de compuestos bioactivos (mg Kg⁻¹)	
Fenoles totales	613.7 ± 68.2
Antocianinas Totales	271.5 ± 45.5
Cianidin 3-O-glucósido	7.9 ± 1.1
Pelargonidin 3-O-glucósido	274.0 ± 34.0
Pelargonidin 3-O-rutinósido	28.4 ± 2.8
Ácido ascórbico	389.0 ± 38.7
Vitamina C	446.3 ± 47.3
Capacidad Antioxidante (mg Kg⁻¹)	3736.6 ± 302.1

También en la Tabla 3.11 se muestran los valores de los parámetros de color (L^* , Cab^* y hab), de pH, sólidos solubles, firmeza, el contenido de compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante de las frutillas variedad "*Festival*" utilizadas.

Comparada con la materia prima utilizada en la etapa de lavado (variedad *Camarosa*), no se observan diferencias notables con respecto a la microflora nativa y a los atributos relacionados con la calidad sensorial. Sin embargo, el contenido de compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante fue menor. Resultados similares fueron reportados por Buendía et al. (2010), donde analizaron los compuestos fenólicos de 15 variedades de frutillas.

3.2.2 Modelado de los cambios en los recuentos microbiológicos en función del tiempo de almacenamiento y la composición atmosférica

En la Tabla 3.12 se muestran los recuentos de microorganismos aerobios mesófilos y psicrótrofos totales, mohos y levaduras de frutillas mínimamente procesadas almacenadas en distintas atmósferas gaseosas por 20 días a 5°C. Los recuentos microbiológicos fueron afectados significativamente por la mezcla gaseosa y el tiempo de almacenamiento ($P < 0.001$).

Tabla 3.12 Recuentos de microorganismos aerobios mesófilos totales y psicrótrofos totales, mohos y levaduras de frutillas mínimamente procesadas almacenadas en distintas atmósferas gaseosas por 20 días a 5°C.

Microorganismos (log UFC g ⁻¹)	Tiempo (d)	Composición gaseosa (kPa O ₂ - kPa CO ₂)						
		70-0	70-20	80-20	90-0	90-10	5-5	21-0
TMC	0	1.7 a AB	1.8 a AB	1.5 a A	2.0 a B	2.6 a C	2.0 a B	2.8 a C
	7	2.4 b B	1.9 ab AB	1.5 a A	3.4 b C	4.3 b D	3.4 b C	7.3 b E
	14	4.4 c C	2.1 b A	1.9 a A	4.1 d B	6.9 d E	4.7 c D	DO
	20	6.7 d D	2.1 b A	3.0 b B	4.0 c C	6.7 c D	DO	DO
MC	0	1.3 a AB	2.0 b BC	2.0 a C	2.0 a C	1.8 b BC	1.1 a A	1.7 a ABC
	7	2.5 b C	1.8 a B	1.8 a B	2.0 a BC	1.0 a A	3.4 b D	4.2 b E
	14	4.8 c D	2.3 c B	2.0 a B	2.0 a B	1.0 a A	3.4 b C	DO
	20	5.6 c C	2.7 d B	2.7 b B	2.7 b B	1.0 a A	DO	DO
YC	0	1.7 a BC	1.4 a AB	1.9 b CD	2.0 a D	2.0 a D	1.1 a A	2.0 a D
	7	3.0 b C	2.2 b B	1.2 a A	3.5 b D	3.8 b D	2.5 b B	5.8 b E
	14	4.8 c D	2.0 b B	1.8 b A	4.4 c C	6.3 c E	4.5 c C	DO
	20	6.8 d C	2.1 b A	3.5 c B	3.6 b B	7.0 d C	DO	DO
PSIC	0	1.7 a B	2.0 a C	2.0 a C	2.0 a C	2.5 a D	1.0 a A	2.5 a D
	7	4.0 b D	1.9 a A	1.9 a A	3.6 b C	3.4 b C	2.5 b B	6.5 b E
	14	5.4 c D	2.2 a A	2.0 a A	3.7 b B	6.7 d E	4.3 c C	DO
	20	5.9 d C	2.3 a A	3.1 b A	4.0 c B	6.3 c C	DO	DO

TMC: microorganismos aerobios mesófilos totales; MC: mohos; YC: levaduras; PSIC: microorganismos psicrótrofos totales; valores promedios en la misma columna con diferentes letras minúscula son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$) a lo largo de la duración del almacenamiento; valores promedios en la misma fila con diferentes letras mayúsculas son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$) entre tratamientos.

DO: deterioro observado.

Los microorganismos aerobios mesófilos totales presentes en las frutillas frescas cortadas almacenadas en las distintas atmósferas pudieron modelarse en función del tiempo (Figura 3.14). Los datos experimentales ajustados a través del modelo de Baranyi y Roberts (1994) muestran valores de R^2 adecuados (>0.86) (Tabla 3.13).

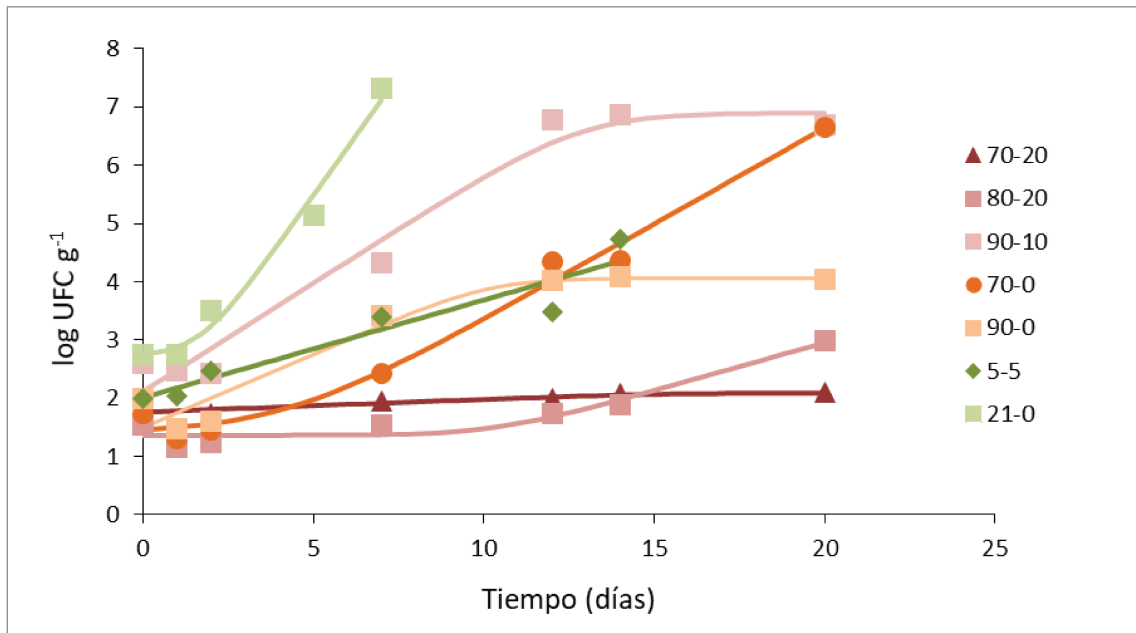


Figura 3.14 Recuentos de microorganismos aerobios mesófilos totales de frutillas frescas cortadas en función del tiempo almacenadas a diferentes atmósferas.

Las muestras almacenadas en aire (21 kPa O₂-0 kPa CO₂) tuvieron los mayores recuentos de microorganismos aerobios mesófilos luego de los 7 días (7.3 log UFC g⁻¹; Tabla 3.12), con una velocidad máxima de crecimiento de 0.8 log UFC g⁻¹d⁻¹ (Tabla 3.13). En cambio, las muestras almacenadas en las atmósferas bajas en oxígeno (5 kPa O₂-5 kPa CO₂) tuvieron una duración de 14 días antes del desarrollo visible de mohos. El crecimiento de los microorganismos en esta atmósfera ajustó a una cinética lineal, con una velocidad de crecimiento de 0.17 UFC g⁻¹d⁻¹ (Tabla 3.13).

Las muestras almacenadas a 5°C en atmósferas altas en O₂ con diferentes concentraciones de CO₂ tuvieron una duración de 20 días. El comportamiento de los microorganismos aerobios mesófilos en cada una de ellas fue diferente. Las atmósferas que resultaron menos efectivas son 70 kPa O₂-0 kPa CO₂ y 90 kPa O₂-10 kPa CO₂, con las mayores velocidades máximas de crecimiento y los mayores recuentos al finalizar las experiencias (Tabla 3.13; Figura 3.14). La atmósfera 70 kPa O₂-20 kPa CO₂ generó la menor velocidad máxima de crecimiento para los aerobios mesófilos totales (0.02 log UFC g⁻¹d⁻¹), con un incremento de tan solo 0.3 log luego de 20 días a 5°C (Tabla 3.12). El comportamiento de estos microorganismos con la mezcla gaseosa 80 kPa O₂-20 kPa CO₂ fue diferente, mostrando una velocidad mayor ($\mu_{\text{máx}}=0.16$ UFC g⁻¹d⁻¹), pero una fase lag de aproximadamente 10 días (Tabla 3.13).

Tabla 3.13 Parámetros estimados del modelo de Baranyi y Roberts para el crecimiento de aerobios mesófilos totales en frutillas frescas cortadas almacenadas a diferentes composiciones gaseosas a 5°C.

	Composición gaseosa (kPa O ₂ -kPa CO ₂)						
	70-0	70-20	80-20	90-0	90-10	5-5	21-0
Modelo	no asintótico	no lag	no asintótico	no lag	no lag	lineal	no asintótico
y_0	1.45 ± 0.18	1.76 ± 0.03	1.36 ± 0.09	1.49 ± 0.24	2.11 ± 0.29	2.00 ± 0.21	2.75 ± 0.28
λ	4.31 ± 1.34	0.00	10.34 ± 1.50	0.00	0.00	0.00	1.69 ± 0.88
$\mu_{\text{máx}}$	0.33 ± 0.03	0.02 ± 0.00	0.16 ± 0.03	0.25 ± 0.06	0.37 ± 0.05	0.17 ± 0.02	0.82 ± 0.13
$y_{\text{máx}}$		2.09 ± 0.05		4.06 ± 0.22	6.90 ± 0.39		
R ²	0.98	0.86	0.91	0.91	0.96	0.89	0.97
ES	0.29	0.05	0.18	0.36	0.45	0.35	0.34

y_0 es la concentración inicial de células en log UFC g⁻¹; $y_{\text{máx}}$ es la máxima concentración celular en log UFC g⁻¹; $\mu_{\text{máx}}$ es la velocidad máxima de crecimiento en log UFC g⁻¹d⁻¹; λ es la duración de la fase lag en días. ES: error estándar del modelo.

Los mohos presentes en las frutillas frescas cortadas almacenadas en las distintas atmósferas pudieron modelarse en función del tiempo (Figura 3.15). Los datos experimentales ajustados a través del modelo de Baranyi y Roberts (1994) muestran valores de R² (>0.77) adecuados (Tabla 3.14).

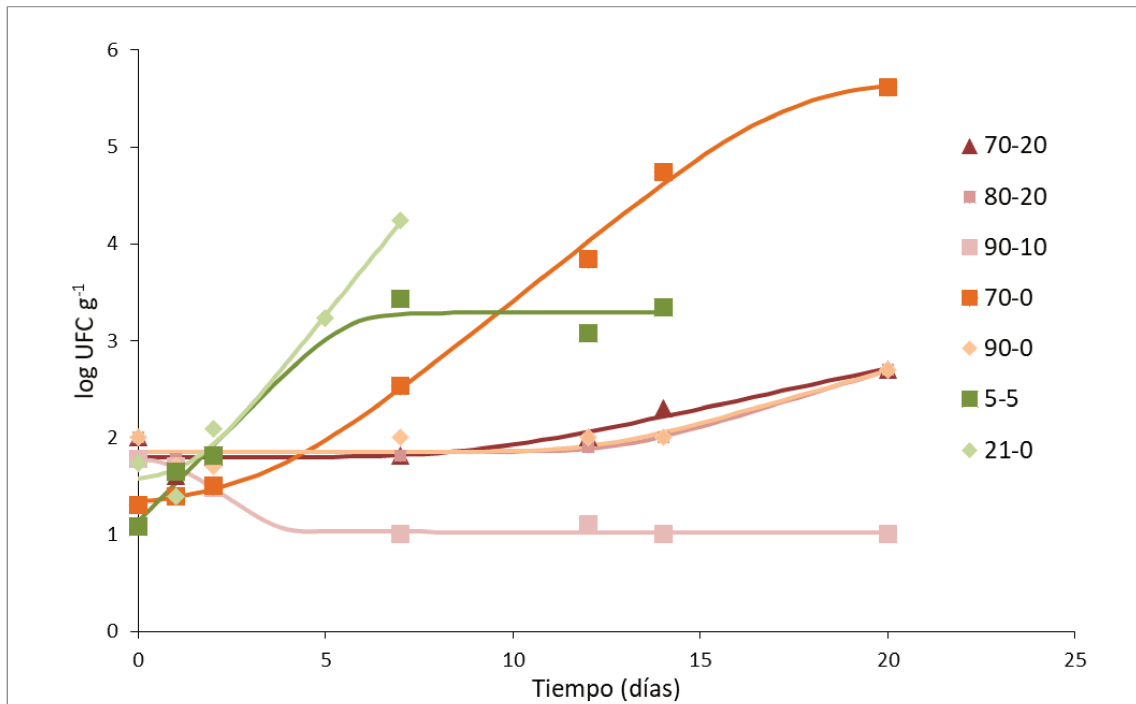


Figura 3.15 Recuentos de mohos de frutillas frescas cortadas en función del tiempo almacenadas a diferentes atmósferas.

Las frutillas frescas cortadas almacenadas en 21 kPa O₂-0 kPa CO₂ alcanzaron recuentos de mohos de 4.2 log UFC g⁻¹ a los 7 días, significativamente mayor que los recuentos en las otras atmósferas ensayadas (Tabla 3.12), con una velocidad máxima de crecimiento de 0.5 UFC g⁻¹d⁻¹ (Tabla 3.14). Los mohos presentes en las frutillas almacenadas en 5 kPa O₂-5 kPa CO₂ crecieron exponencialmente hasta aproximadamente los 7 días, con una velocidad de 0.4 log UFC g⁻¹ d⁻¹ (Tabla 3.14) y, luego, la población se mantuvo constante hasta el día 14 (Tabla 3.12; Figura 3.15).

Por otro lado, la atmósfera 70 kPa O₂-0 kPa CO₂ fue la que menos efecto tuvo sobre el crecimiento de los mohos en las frutillas frescas cortadas en 20 días, alcanzando un recuento de 5.7 log UFC g⁻¹, con una alta velocidad máxima de crecimiento (0.3 log UFC g⁻¹d⁻¹) (Tabla 3.14).

Los mohos almacenados en las atmósferas 70 kPa O₂-20 kPa CO₂, 80 kPa O₂-20 kPa CO₂ y 90 kPa O₂-0 kPa CO₂ tuvieron un comportamiento muy similar, con una velocidad máxima de crecimiento de 0.08, 0.12 y 0.11 log UFC g⁻¹d⁻¹, respectivamente. Además, el crecimiento fue retrasado entre 9 y 12 días, tiempo de duración de la fase lag. La atmósfera 90 kPa O₂-10 kPa CO₂ fue la única capaz de reducir el recuento inicial de los mohos en las frutillas frescas cortadas, inhibiendo su crecimiento.

Tabla 3.14 Parámetros estimados del modelo de Baranyi y Roberts para el crecimiento de mohos en frutillas frescas cortadas almacenadas a diferentes composiciones gaseosas a 5°C.

Modelo	Composición gaseosa (kPa O ₂ -kPa CO ₂)						
	70-0	70-20	80-20	90-0	90-10	5-5	21-0
	completo	no asintótico	no asintótico	no asintótico	completo	no lag	no asintótico
y_0	1.34 ± 0.09	1.79 ± 0.08	1.85 ± 0.04	1.86 ± 0.08	1.78 ± 0.05	1.13 ± 0.17	1.58 ± 0.22
λ	3.39 ± 0.89	9.02 ± 2.6	12.88 ± 1.20	12.39 ± 2.2	0.84 ± 0.53	0.00	1.49 ± 1.12
$\mu_{\text{máx}}$	0.31 ± 0.03	0.08 ± 0.03	0.12 ± 0.03	0.11 ± 0.04	-0.26 ± 0.11	0.39 ± 0.13	0.48 ± 0.09
$y_{\text{máx}}$	5.69 ± 0.17				1.02 ± 0.02	3.29 ± 0.11	
R ²	0.99	0.83	0.92	0.77	0.98	0.96	0.95
ES	0.13	0.15	0.09	0.16	0.05	0.19	0.26

y_0 es la concentración inicial de células en log UFC g⁻¹; $y_{\text{máx}}$ es la máxima concentración celular en log UFC g⁻¹; $\mu_{\text{máx}}$ es la velocidad máxima de crecimiento en log UFC g⁻¹días⁻¹; λ es la duración de la fase lag en días. ES: error estándar del modelo.

Las levaduras presentes en las frutillas frescas cortadas almacenadas en las distintas atmósferas gaseosas pudieron modelarse en función del tiempo (Figura 3.16). Los datos experimentales ajustados a través del modelo de Baranyi y Roberts (1994) muestran valores de R² adecuados (>73%) (Tabla 3.15).

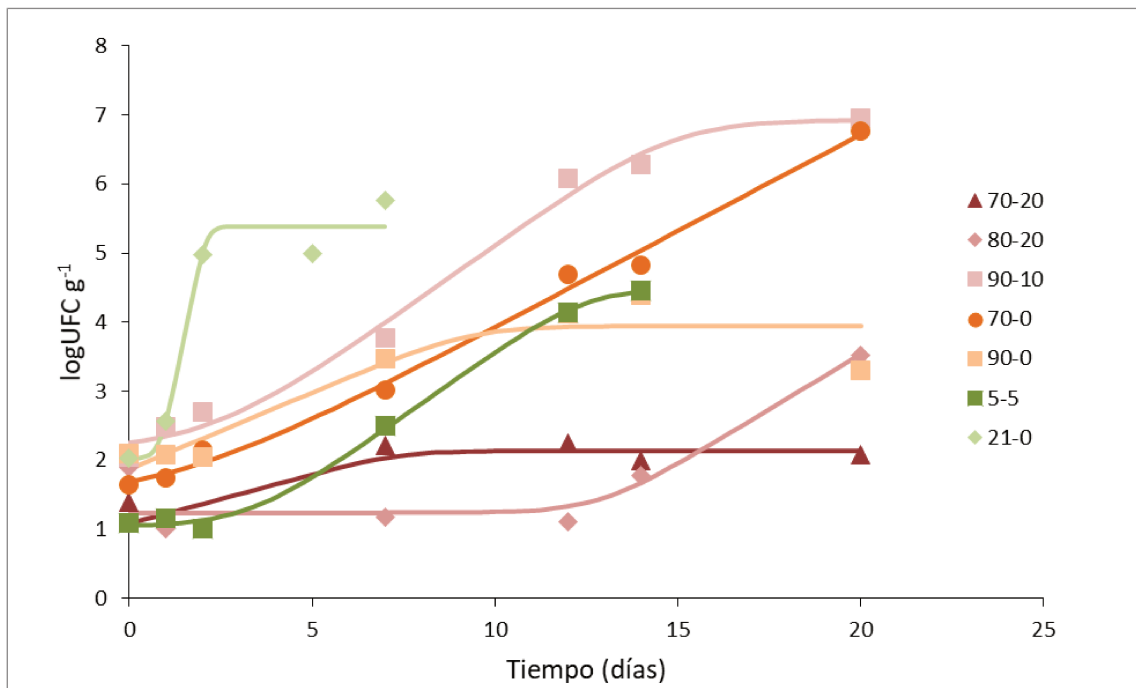


Figura 3.16 Recuentos de levaduras de frutillas frescas cortadas en función del tiempo almacenados a diferentes atmósferas.

Las levaduras presentes en las frutillas almacenadas en aire tuvieron un recuento significativamente mayor que en las otras atmósferas ensayadas a los 7 días (6 log UFC g^{-1}), con una velocidad máxima de crecimiento igual a 2.7 log UFC $g^{-1}d^{-1}$.

La atmósfera 5 kPa O₂-5 kPa CO₂ pudo demorar el crecimiento de levaduras por 3 días (fase lag), pero luego tuvo un crecimiento exponencial con una velocidad máxima de 0.38 log UFC $g^{-1}d^{-1}$ (Figura 3.16; Tabla 3.15).

Entre las atmósferas especiales, las atmósferas con 90 kPa O₂-10 kPa CO₂ y 70 kPa O₂-0 kPa CO₂ fueron las que menos controlaron el crecimiento de las levaduras en los 20 días, alcanzando un recuento de 7 log UFC g^{-1} , aproximadamente.

La atmósfera 80 kPa O₂-20 kPa CO₂ pudo controlar el crecimiento de las levaduras hasta los 12 días, luego el crecimiento fue exponencial con una velocidad máxima de 0.32 log UFC $g^{-1}d^{-1}$, con un recuento final de 3.5 log UFC g^{-1} (Tabla 3.12). Por otro lado, las levaduras almacenadas en la atmósfera 70 kPa O₂-20 kPa CO₂ tuvieron la menor velocidad de crecimiento (0.14 log UFC $g^{-1}d^{-1}$) y aumentaron solo 1 log en los 20 días de almacenamiento a 5°C (Tabla 3.12).

Tabla 3.15 Parámetros estimados del modelo de Baranyi y Roberts para el crecimiento de levaduras en frutillas frescas cortadas almacenadas a diferentes composiciones gaseosas a 5°C.

Modelo	Composición gaseosa (kPa O ₂ -kPa CO ₂)						
	70-0	70-20	80-20	90-0	90-10	5-5	21-0
	no asintótico	no lag	no asintótico	no lag	completo	completo	completo
y_0	1.69 ± 0.14	1.08 ± 0.2	1.23 ± 0.19	1.87 ± 0.3	2.26 ± 0.21	1.05 ± 0.08	2.02 ± 0.54
λ	2.00 ± 1.16	0.00	12.83 ± 1.95	0.00	2.47 ± 1.60	3.31 ± 0.77	0.84 ± 0.43
$\mu_{\text{máx}}$	0.28 ± 0.02	0.14 ± 0.08	0.32 ± 0.1	0.22 ± 0.09	0.38 ± 0.06	0.38 ± 0.05	2.66 ± 1.09
$y_{\text{máx}}$		2.13 ± 0.16		3.94 ± 0.27	6.93 ± 0.30	4.50 ± 0.17	5.38 ± 0.38
R ²	0.99	0.73	0.81	0.81	0.98	0.99	0.89
ES	0.19	0.27	0.40	0.44	0.28	0.19	0.54

y_0 es la concentración inicial de células en log UFC g⁻¹; $y_{\text{máx}}$ es la máxima concentración celular en log UFC g⁻¹; $\mu_{\text{máx}}$ es la velocidad máxima de crecimiento en log UFC g⁻¹días⁻¹; λ es la duración de la fase lag en días. ES: error estándar del modelo.

Los microorganismos psicrótrofos totales presentes en las frutillas frescas cortadas almacenadas en las distintas atmósferas gaseosas pudieron modelarse en función del tiempo (Figura 3.17). Los datos experimentales ajustados a través del modelo de Baranyi y Roberts (1994) muestran valores de R² adecuados (>0.67) (Tabla 3.16).

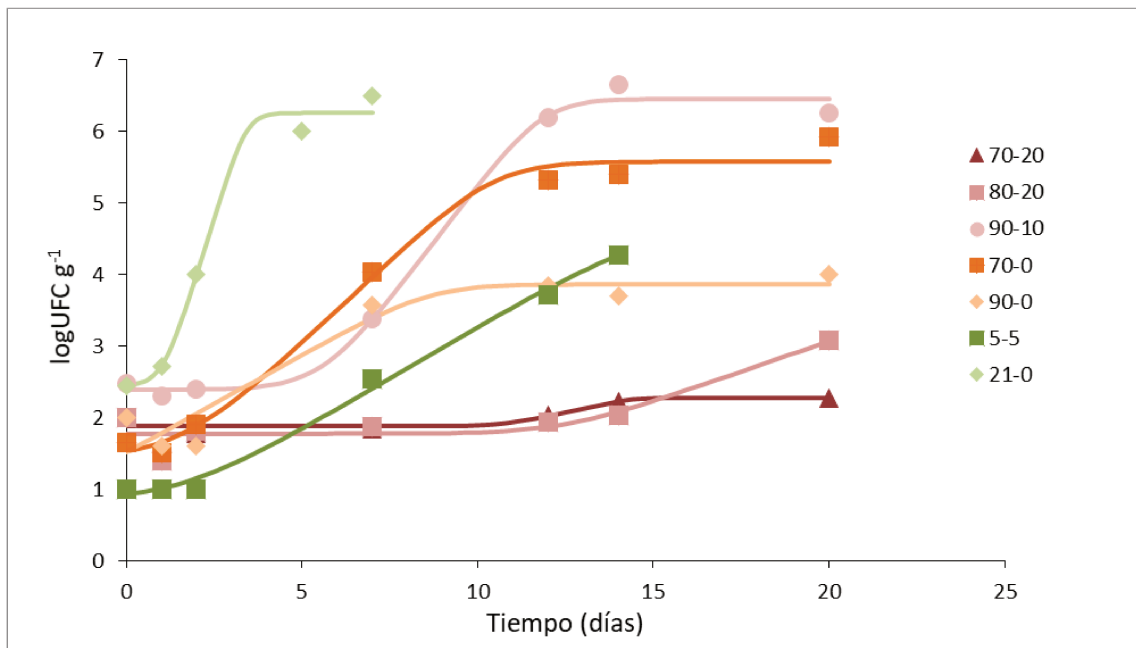


Figura 3.17 Recuentos de microorganismos psicrótrofos totales de frutillas frescas cortadas en función del tiempo almacenados a diferentes atmósferas.

Las frutillas frescas cortadas almacenadas en 21 kPa O₂-0 kPa CO₂ tuvieron un recuento de microorganismos psicrótrofos totales de 6.5 log UFC g⁻¹ a los 7 días, significativamente mayor que los recuentos en las otras atmósferas ensayadas (Tabla 3.12), con una velocidad máxima de crecimiento de 1.6 log UFC g⁻¹d⁻¹ (Tabla 3.16). Mientras que, el almacenamiento en 5 kPa O₂-5 kPa CO₂ permitió un crecimiento de psicrótrofos de aproximadamente 4 log después de 14 días (Tabla 3.12), con una velocidad de 0.3 log UFC g⁻¹d⁻¹ (Tabla 3.16).

Con respecto a las atmósferas altas en oxígeno, se observó que los microorganismos psicrótrofos totales en las atmósferas 70 kPa O₂-0 kPa CO₂ y 90 kPa O₂-10 kPa CO₂ tuvieron la mayor velocidad de crecimiento, 0.47 y 0.65 log UFC g⁻¹d⁻¹, respectivamente, con un aumento de 4 log al finalizar los 20 días de almacenamiento (Tabla 3.12; Tabla 3.16).

Las atmósferas 70 kPa O₂-20 kPa CO₂ y 80 kPa O₂-20 kPa CO₂ fueron las que mejor controlaron el desarrollo de psicrótrofos totales en el almacenamiento, con una fase lag de 10 y 12 días, respectivamente. Además, la velocidad máxima de crecimiento de estos microorganismos en las mencionadas atmósferas fue la más baja, con valores de 0.11 y 0.17 log UFC g⁻¹d⁻¹, respectivamente (Tabla 3.16).

Tabla 3.16 Parámetros estimados del modelo de Baranyi y Roberts para el crecimiento de microorganismos psicrótrofos totales en frutillas frescas cortadas almacenadas a diferentes composiciones gaseosas a 5°C.

Modelo	Composición gaseosa (kPa O ₂ -kPa CO ₂)						
	70-0	70-20	80-20	90-0	90-10	5-5	21-0
	completo	completo	no asintótico	no lag	completo	completo	completo
y_0	1.53 ± 0.24	1.88 ± 0.06	1.78 ± 0.11	1.52 ± 0.26	2.39 ± 0.10	0.92 ± 0.14	2.45 ± 0.36
λ	1.76 ± 1.69	10.72 ± 2.18	12.40 ± 2.10	0.00	5.59 ± 0.50	1.89 ± 1.38	1.04 ± 0.70
μ_{\max}	0.47 ± 0.13	0.11 ± 0.1	0.17 ± 0.05	0.27 ± 0.08	0.65 ± 0.10	0.29 ± 0.05	1.61 ± 1.00
y_{\max}	5.59 ± 0.17	2.27 ± 0.11		3.86 ± 0.17	6.45 ± 0.13	4.64 ± 0.99	6.26 ± 0.25
R ²	0.98	0.70	0.80	0.89	0.98	0.99	0.96
ES	0.27	0.11	0.23	0.37	0.18	0.17	0.36

y_0 es la concentración inicial de células en log UFC g⁻¹; y_{\max} es la máxima concentración celular en log UFC g⁻¹; μ_{\max} es la velocidad máxima de crecimiento en log UFC g⁻¹d⁻¹; λ es la duración de la fase lag en días. ES: error estándar del modelo

Una de las principales causas en la disminución de la vida útil de frutillas es el deterioro causado por mohos y levaduras (Zhen et al., 2007). En este trabajo, las poblaciones de levaduras prevalecieron en el almacenamiento de frutillas frescas cortadas comparado con los mohos, independientemente de la atmósfera utilizada (Figura 3.18), con excepción de la atmósfera 70 kPa O₂-20 kPa CO₂, en que ambas poblaciones presentaron recuentos similares y menor que el resto de las atmósferas ensayadas. Las levaduras no son capaces de romper la epidermis e infectar los tejidos internos de frutas enteras (Tournas y Katsoudas, 2005). En nuestro caso, ante la exposición de los tejidos internos debido al mínimo procesamiento, el deterioro microbiano fue debido principalmente al desarrollo de levaduras.

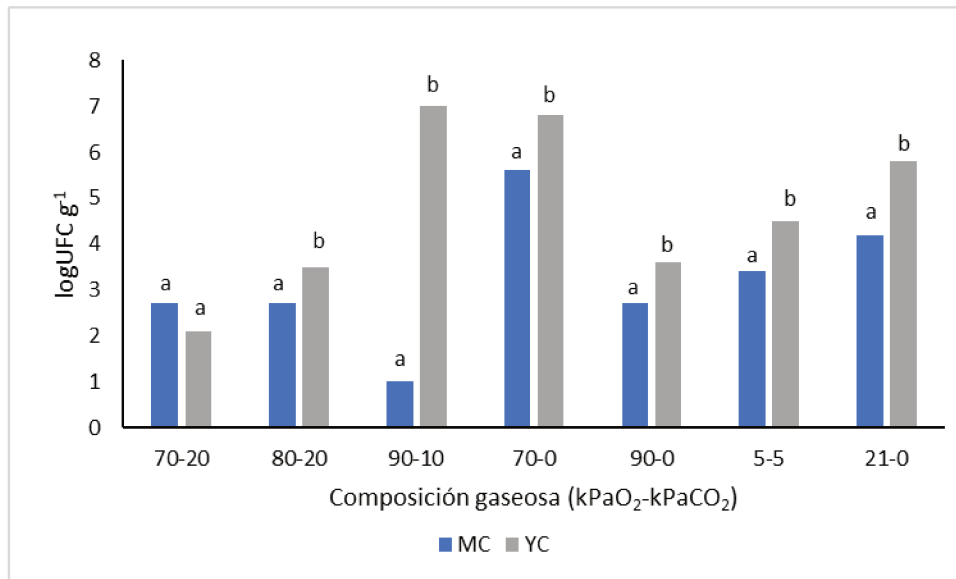


Figura 3.18 Recuentos de mohos (MC) y levaduras (YC) en frutillas frescas cortadas luego del almacenamiento por 20 días a 5°C para las diferentes atmósferas.

El uso de atmósferas altas en oxígeno (>60 kPa O₂) ha sido mostrado como efectivo para inhibir el crecimiento microbiano y el deterioro de frutas durante el almacenamiento (Jacxsens et al., 2001; Zheng et al., 2008). Estos autores mostraron que, a mayor concentración de oxígeno, mayor es la inhibición de microorganismos. Wszelaki y Mitcham (2000) en concordancia con esto, almacenaron frutillas a diferentes concentraciones de O₂, siendo la de 100 kPa de O₂ la más efectiva en inhibir el crecimiento del micelio de mohos por 14 días a 5°C.

Por otro lado, se pudo observar que las atmósferas con alto contenido de oxígeno (70-80 kPa) y alto contenido de dióxido de carbono (20 kPa) fueron las que mejor controlaron todas las poblaciones microbianas. Estos resultados son consistentes con varias investigaciones realizadas tanto en frutas enteras como mínimamente procesadas (Oms-Oliu et al., 2008; Zhang et al., 2013; Belay et al., 2017; Van De Van de Velde et al., 2019). De acuerdo a Jacxsens et al., (2001) y Pérez y Sanz (2001), la aplicación combinada de alta concentración de O₂ y alta concentración de CO₂ tuvo un mejor efecto en la inhibición del crecimiento microbiano de frutillas y otros vegetales mínimamente procesados que los mismos gases utilizados individualmente. Las atmósferas altas en oxígeno son capaces de reducir el recuento microbiano en productos vegetales, probablemente debido a la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS, O₂⁻, H₂O₂,

OH⁻) (Zhang et al., 2013). Estas ROS pueden dañar componentes celulares vitales y reducir la viabilidad de las células cuando el estrés oxidativo excede los sistemas de protección celular (Oms-Oliu et al., 2008). A su vez, combinado con altos niveles de dióxido de carbono se puede producir un efecto sinérgico. El efecto antimicrobiano del dióxido de carbono está asociado con su penetración en las membranas celulares de los microorganismos, lo que produce un cambio en el pH intracelular, o la formación de ácido carbónico, generando un efecto bacteriostático (Zhang et al., 2013; Banda et al., 2015; Van de Velde et al., 2019).

3.2.3 Atributos relacionados a la calidad sensorial en frutillas frescas cortadas almacenadas en diferentes atmósferas

3.2.3.1 Cambios en el contenido de sólidos solubles y pH

En la Tabla 3.17 se muestran las retenciones de los sólidos solubles de frutillas frescas cortadas almacenadas en diferentes atmósferas durante 20 días o hasta que se observó deterioro. Los sólidos solubles disminuyeron en todo el almacenamiento, independientemente de la atmósfera utilizada.

Tabla 3.17 Retención de sólidos solubles (%) de frutillas mínimamente procesadas almacenadas a 5°C en diferentes atmósferas.

Tiempo (d)	Composición gaseosa (kPa O ₂ -kPa CO ₂)						
	70-0	70-20	80-20	90-0	90-10	5-5	21-0
0	100 d A	100 b A	100 bcd A	100 d A	100 bc A	100 b A	100 a A
1	96.4 c A	101.1 b B	103.8 d B	98.2 d A	100 bc B	92.7 a A	101.3 a B
2	94.9 b A	101.1 b B	101.6 cd B	95.1 c A	101.3 c B	94.8 a A	101.3 a B
7	90.9 a A	101.1 b C	98.4 bc C	93.3 c A	97.8 b BC	94.3 a AB	99.1 a C
12	DO	89.4 a A	97.3 b B	89.8 b A	92.1 a A	91.7 a A	DO
14	DO	90.5 a B	91.4 a BC	83.1 a A	93.4 a D	93.2 a CD	DO
20	DO	87.7 a A	90.9 a B	85.8 a A	92.1 a B	DO	DO

Letras minúsculas diferentes dentro de una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$) y letras mayúsculas diferentes dentro de una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0.05$), por el test de Tukey.

DO: deterioro observado.

Se puede observar que las muestras almacenadas en aire, después de 7 días, no disminuyeron significativamente el contenido de sólidos solubles ($P > 0.05$). El resto de las atmósferas disminuyeron entre un 9 y 17% la retención de sólidos solubles de las frutillas frescas cortadas al finalizar el almacenamiento, siendo la atmósfera 90 kPa O₂-0 kPa CO₂ la que mayor disminución generó (Tabla 3.17). Este comportamiento también fue reportado por Pérez y Sanz (2001), donde mostraron que el contenido de sólidos solubles en frutillas almacenadas en 80 kPa O₂-20 kPa CO₂ y en 90 kPa O₂-10 kPa CO₂ fue significativamente menor que aquellas almacenadas en aire y en bajo contenido de oxígeno (5 kPa O₂-20 kPa CO₂) después de 9 días a 5°C. El contenido de sólidos solubles habitualmente se toma como un índice del contenido de azúcar total, por lo tanto, el almacenamiento en atmósferas modificadas reduce los azúcares de las frutillas frescas cortadas en el almacenamiento, probablemente debido a una mayor tasa de respiración (Pérez y Sanz, 2001). La respuesta de las frutas frescas a los niveles de oxígeno superatmosféricos puede ser variable; puede estimular, no tener efecto o reducir la tasa de respiración, dependiendo el producto, la etapa de maduración, la concentración de O₂, el tiempo y temperatura de almacenamiento, y la concentración de CO₂ y de etileno (Kader y Ben-Yehoshua, 2000). Wszelaki y Mitcham (2000) también reportaron mayores tasas de respiración y una paralela disminución de sólidos solubles en frutillas expuestas a atmósferas altas en O₂ durante 14 días a 5°C.

Por otro lado, los valores de pH de las frutillas frescas cortadas mostraron un incremento significativo durante el almacenamiento en las diferentes atmósferas a 5°C (Tabla 3.18), sugiriendo una disminución de la acidez en el tiempo. Los valores de pH de las frutillas frescas cortadas almacenadas en baja concentración de O₂ (5 kPa O₂-5 kPa CO₂) incrementaron significativamente su valor (16%) durante los 14 días de almacenamiento comparado con las demás atmósferas. Por otro lado, la atmósfera 90 kPa O₂-0 kPa CO₂ fue capaz de mantener el pH inicial de las frutillas frescas cortadas durante al menos 7 días, con un 8% de incremento al finalizar el almacenamiento (día 20).

Tabla 3.18 Retención de pH (%) de las frutillas mínimamente procesadas almacenadas a 5°C en diferentes atmósferas.

Tiempo (d)	Composición gaseosa (kPa O ₂ -kPa CO ₂)						
	70-0	70-20	80-20	90-0	90-10	5-5	21-0
0	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A	100 a A
1	99.9 a A	100.3 a ABC	102.2 b D	100.1 a AB	101.1 b BCD	106.6 b E	101.4 b CD
2	101.6 b D	100.6 a B	102.6 b F	99.8 a A	102.2 c E	110.4 c G	101.2 b C
7	103.7 c C	107.4 c E	103.8 c C	100 a A	106.2 e D	110.4 c F	102.8 c B
12	DO	106.1 b B	103.9 c A	106.4 b B	106.1 e B	113.2 d C	DO
14	DO	108 d B	107.7 d C	106.7 b B	103.6 d A	116 e D	DO
20	DO	108.8 e B	110 e D	108 b B	102.6 c A	DO	DO

Letras minúsculas diferentes dentro de una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$) y letras mayúsculas diferentes dentro de una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0.05$), por el test de Tukey.

DO: deterioro observado.

La atmósfera 80 kPa O₂-20 kPa CO₂ incrementó significativamente el pH de las frutillas frescas cortadas después de 20 días de almacenamiento (10%). Van de Velde et al. (2019) reportaron un incremento de entre 8 y 14% en el pH de frutillas almacenadas por 20 días en atmósferas altas en oxígeno y dióxido de carbono (70 kPa O₂-20 kPa CO₂ y 90 kPa O₂-10 kPa CO₂). Las atmósferas con concentraciones altas de CO₂ podrían disminuir el pH de los tejidos por disolución del gas, pero debido a la capacidad buffer y a la oxidación de ácidos orgánicos durante la respiración del producto sucede lo contrario y el pH en los tejidos se incrementa. En concordancia con esto, Pérez y Sanz (2001) reportaron una disminución en el contenido de ácido cítrico en frutillas almacenadas en atmósferas con baja y alta concentración de O₂ en combinación con altos niveles de CO₂ comparados con el aire, después de 9 días a 5°C, lo que puede estar asociado con el incremento del pH en estas frutas.

Los diferentes patrones de cambio, tanto en el pH como en los sólidos solubles, puede deberse a los variados efectos que se producen en la tasa de respiración de las frutas por los distintos niveles de O₂ (Zheng et al., 2007).

3.2.3.2 Cambios en los parámetros de color

En las Tablas 3.19, 3.20, 3.21 y 3.22 se muestran los cambios en los parámetros L^* (luminosidad; ΔL^*), C_{ab}^* (cromaticidad; ΔC_{ab}^*), h_{ab} (ángulo de tono; Δh_{ab}) y ΔE_{ab}^* (cambio total de color) con respecto a su valor inicial (día 0) de frutillas frescas cortadas almacenadas en diferentes atmósferas durante 20 días o hasta que se observó deterioro.

Tabla 3.19 Cambios en la luminosidad (ΔL^*) de frutillas frescas cortadas almacenadas en diferentes atmósferas a 5°C.

Tiempo (d)	Composición gaseosa (kPa O ₂ -kPa CO ₂)						
	70-0	70-20	80-20	90-0	90-10	5-5	21-0
0	0.00 ab A	0.00 a A	0.00 ab A	0.00 a A	0.00 ab A	0.00 a A	0.00 ab A
1	2.41 b AB	0.07 a A	0.98 a A	1.85 a AB	4.48 ab B	0.72 a A	3.22 b B
2	0.75 ab A	0.40 a A	1.07 a A	1.76 a A	3.39 a A	1.21 a A	1.02 a A
7	1.21 a A	1.47 a B	1.47 b B	1.60 a AB	4.51 ab B	2.78 a B	2.86 ab B
12	DO	1.73 a A	1.95 a A	0.66 a A	5.89 b B	1.38 a A	DO
14	DO	1.62 a AB	-0.33 a A	0.12 a A	3.65 ab B	2.35 a AB	DO
20	DO	0.45 a AB	-0.37 a A	0.44 a AB	1.82 a B	DO	DO

Letras minúsculas diferentes dentro de una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$) y letras mayúsculas diferentes dentro de una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0.05$), por el test de Tukey.

DO: deterioro observado.

Tabla 3.20. Cambios en la cromaticidad (ΔC_{ab}^*) de frutillas frescas cortadas almacenadas en diferentes atmósferas a 5°C.

Tiempo (d)	Composición gaseosa (kPa O ₂ -kPa CO ₂)						
	70-0	70-20	80-20	90-0	90-10	5-5	21-0
0	0.00 a A	0.00 c A	0.00 b A	0.00 c A	0.00 c A	0.00 a A	0.00 a A
1	-0.84 a B	-1.39 b B	-1.04 ab B	-0.83 c C	0.78 c C	-6.97 b A	0.62 a C
2	-0.73 a C	-1.89 ab B	-0.31 b C	-1.58 b B	-1.28 b B	-8.07 b A	-0.74 a C
7	-1.30 b C	-1.62 b C	-1.66 ab C	-2.08 b C	-1.56 b C	-8.61 b A	-3.45 b B
12	DO	-2.70 ab C	-4.83 a B	-3.14 b B	-1.81 b C	-9.64 b A	DO
14	DO	-4.61 ab B	-4.72 a B	-3.88 b B	-3.04 b B	-11.50 c A	DO
20	DO	-6.72 a A	-5.20 a A	-7.83 a A	-6.60 a A	DO	DO

Letras minúsculas diferentes dentro de una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$) y letras mayúsculas diferentes dentro de una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0.05$), por el test de Tukey.

DO: deterioro observado.

Tabla 3.21 Cambios en el ángulo de tono (Δh_{ab}) de frutillas frescas cortadas almacenadas en diferentes atmósferas a 5°C.

Tiempo (d)	Composición gaseosa (kPa O ₂ -kPa CO ₂)						
	70-0	70-20	80-20	90-0	90-10	5-5	21-0
0	0.00 b A	0.00 c A	0.00 b A	0.00 c A	0.00 c A	0.00 c A	0.00 b A
1	0.16 b B	0.05 c B	0.00 b B	0.16 c B	0.61 c B	-4.97 b A	0.16 b B
2	-0.49 a C	-0.37 b C	0.12 b C	-0.02 c C	-1.84 b B	-5.46 b A	0.73 b C
7	-0.81 a C	-0.46 b D	-0.89 b C	-0.94 b C	-1.97 b B	-6.65 ab A	-2.13 a B
12	DO	-0.70 b C	-1.36 a B	-1.10 ab B	-2.33 ab B	-5.81 b A	DO
14	DO	-3.77 a B	-2.76 a B	-2.22 a B	-3.00 a B	-7.80 a A	DO
20	DO	-3.52 a A	-2.17 a A	-3.93 a A	-4.38 a A	DO	DO

Letras minúsculas diferentes dentro de una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$) y letras mayúsculas diferentes dentro de una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0.05$), por el test de Tukey.

DO: deterioro observado.

Tabla 3.22 Cambio total de color (ΔE^*) de frutillas frescas cortadas almacenadas en diferentes atmósferas a 5°C.

Tiempo (d)	Composición gaseosa (kPa O ₂ -kPa CO ₂)						
	70-0	70-20	80-20	90-0	90-10	5-5	21-0
0	0.00 a A	0.00 a A	0.00 a A	0.00 a A	0.00 a A	0.00 a A	0.00 a A
1	1.30 b A	1.18 b A	1.20 b A	2.20 b BA	3.70 b B	8.88 b C	1.87 b A
2	2.10 c B	2.07 b B	1.11 b A	2.62 b B	3.95 b C	7.99 b D	3.07 b BC
7	2.56 c A	2.96 cb A	4.68 c B	3.87 b BA	4.66 b B	10.47 c C	4.30 c B
12	DO	3.37 c C	4.94 c B	2.79 b A	5.23 cb B	13.18 c C	DO
14	DO	5.15 c B	4.57 c AB	3.68 b A	5.41 cb B	11.86 c C	DO
20	DO	6.71 c B	4.90 c A	7.74 c B	6.34 c B	DO	DO

Letras minúsculas diferentes dentro de una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$) y letras mayúsculas diferentes dentro de una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0.05$), por el test de Tukey.

DO: deterioro observado.

ΔC_{ab}^* , Δh_{ab} y ΔE_{ab}^* pudieron modelarse a través de la cinética de reacción de orden cero, basados en el parámetro de ajuste R^2 (Tabla 3.23). El cambio de luminosidad ΔL^* en función del tiempo de las frutillas frescas cortadas almacenadas en las diferentes atmósferas no pudo modelarse con la ecuación cinética de orden cero (Tabla 3.23).

Tabla 3.23 Parámetros cinéticos de los cambios en los parámetros de color de frutillas frescas cortadas almacenadas en diferentes atmósferas a 5°C.

		Composición gaseosa (kPa O ₂ -kPa CO ₂)						
Parámetros		70-0	70-20	80-20	90-0	90-10	5-5	21-0
ΔL^*	Q ₀	0.97	0.27	0.84	1.30	3.13	0.70	1.43
	k	0.05 a	0.05 a	-0.04 a	-0.05 a	0.03 a	0.12 a	0.23 a
	R ²	0.02	0.33	0.10	0.20	0.02	0.50	0.20
ΔC_{ab}^*	Q ₀	-0.35	-0.48	-0.24	-0.16	0.40	-4.40	0.50
	k	-0.15 b	-0.28 a	-0.29 a	-0.32 a	-0.29 a	-0.51 c	-0.55 c
	R ²	0.71	0.88	0.90	0.91	0.85	0.60	0.92
Δh_{ab}	Q ₀	0.03	0.25	0.10	0.35	-0.20	-3.20	0.57
	k	-0.13 a	-0.19 a	-0.14 a	-0.19 a	-0.20 a	-0.32 b	-0.35 b
	R ²	0.77	0.75	0.84	0.91	0.84	0.50	0.76
ΔE_{ab}^*	Q ₀	0.75	0.72	1.06	1.16	2.45	5.09	1.02
	k	0.30 a	0.30 a	0.25 a	0.26 a	0.22 a	0.61 b	0.52 b
	R ²	0.66	0.93	0.76	0.72	0.65	0.60	0.77

Letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($P < 0.05$); Q₀ es el valor del atributo en el día 0; k es la constante de velocidad (Δ día⁻¹).

Durante el almacenamiento, ΔL^* fue variando y, en general, las muestras en los distintos días fueron ligeramente más claras que en el día 0 (Tabla 3.19). Al final del almacenamiento de cada una de las muestras, en las distintas atmósferas, no hubo cambios significativos con respecto al día 0. Una respuesta similar fue hallada por Pérez y Sans (2001), quienes informaron la ausencia de diferencias significativas en la luminosidad de frutillas de la especie *Camarosa* almacenadas a 8°C en diferentes atmósferas durante 9 días.

Como se puede observar en la Tabla 3.23, el cambio de cromaticidad (ΔC_{ab}^*) y del ángulo de tono (Δh_{ab}) disminuyeron en el almacenamiento ($k < 0$), es decir que el color de las frutillas fue menos intenso y con menor ángulo de tono (más rojas) que las frutillas frescas cortadas del día 0.

En las Figuras 3.19, 3.20 y 3.21 vemos la evolución de los cambios en los parámetros de color C_{ab}^* , h_{ab} y ΔE_{ab}^* a través del tiempo, respectivamente. La atmósfera 5 kPa O₂-5

kPa CO₂ fue la que mayor repercutió sobre los mismos. Asimismo, en la Tabla 3.19 se observa que la velocidad de decaimiento de estos parámetros también fue significativamente mayor que en las frutillas almacenadas en las otras atmósferas. Esto puede deberse, probablemente, a que las atmósferas bajas en O₂ no previenen la decoloración enzimática (Amanatidou et al., 2000). Tian et al. (2004) reportaron que las atmósferas altas en O₂ fueron capaces de mantener el color de cerezas debido a la inhibición de la actividad de las enzimas relacionadas al pardeamiento: polifenol oxidasa PPO y peroxidasa POD.

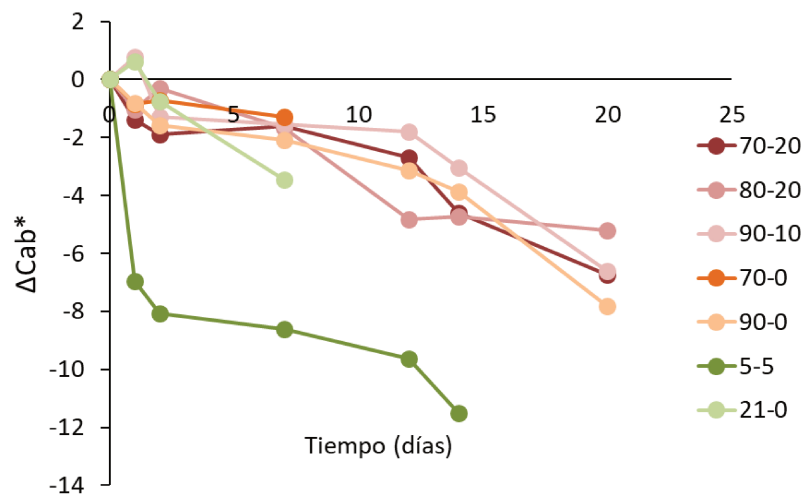


Figura 3.19 Evolución del cambio del parámetro C_{ab}^* (ΔC_{ab}^*) de frutillas frescas cortadas en función del tiempo de almacenamiento a 5°C en las diferentes atmósferas.

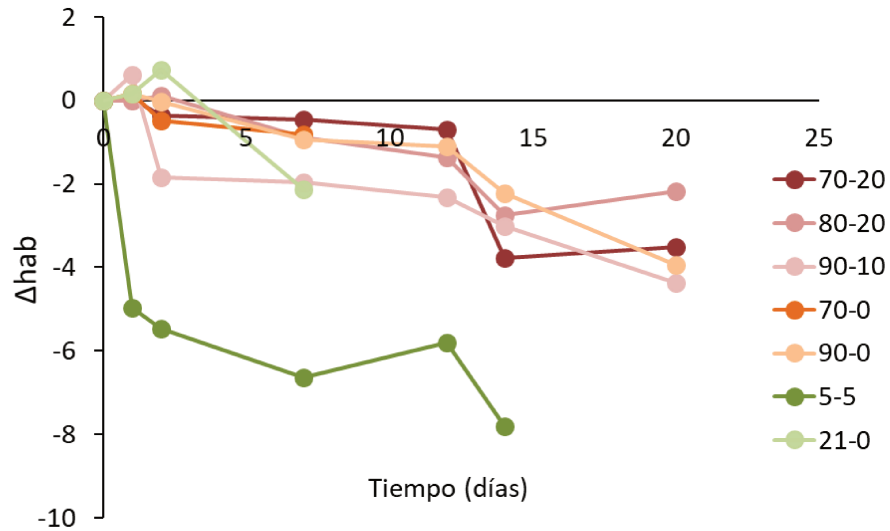


Figura 3.20 Evolución del cambio del parámetro hab (Δhab) de frutillas frescas cortadas en función del tiempo de almacenamiento a 5°C en las diferentes atmósferas.

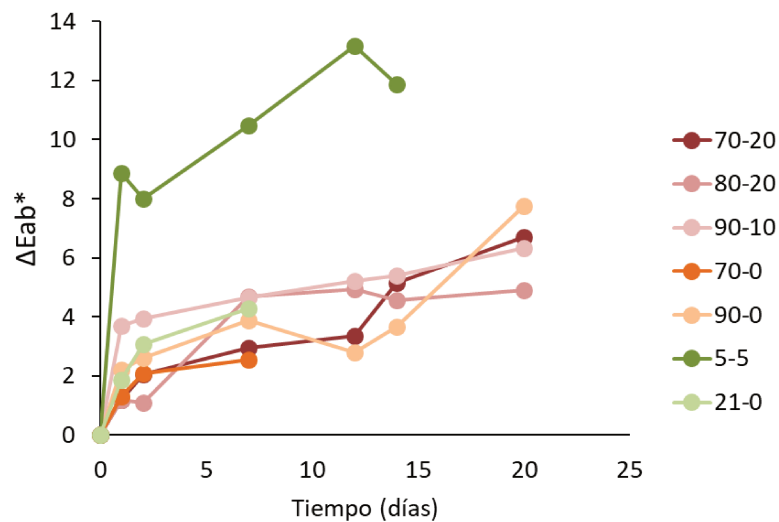


Figura 3.21 Evolución del cambio total de color (ΔEab^*) de frutillas frescas cortadas en función del tiempo de almacenamiento a 5°C en las diferentes atmósferas.

3.2.3.3 Cambios en la textura

La textura de las frutillas frescas cortadas se evaluó a través de la retención de la firmeza que tenían las mismas en el almacenamiento a 5°C en las diferentes composiciones gaseosas (Tabla 3.24).

Tabla 3.24 Retención porcentual de firmeza de frutillas frescas cortadas almacenadas en diferentes atmósferas a 5°C.

Tiempo (d)	Composición gaseosa (kPa O ₂ -kPa CO ₂)						
	70-0	70-20	80-20	90-0	90-10	5-5	21-0
0	100 a A	100 a A	100 c A	100 ab A	100 a A	100 a A	100 ab A
1	93.8 a A	94.2 a AB	99.3 b AB	119.4 b B	90.0 a A	99.9 a AB	91.7 b A
2	100.5 a BC	100 a B	96.8 b B	122.8 b C	92.4 a AB	99.4 a B	76.3 ab A
7	107.3 a BC	108.9 a C	95.2 ab ABC	134.6 bc D	88.1 a AB	104.3 a BC	67.3 a A
12	DO	102.4 a AB	94.1 b AB	131.5 c C	88.7 a A	109.8 a B	DO
14	DO	107.9 a A	87.9 ab A	138.9 bc B	85.9 a A	107.8 a A	DO
20	DO	96.0 a B	70.7 a A	145.9 bc C	83.6 a AB	DO	DO

Letras minúsculas diferentes dentro de una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$) y letras mayúsculas diferentes dentro de una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0.05$), por el test de Tukey.

DO: deterioro observado.

Se pudo modelar el cambio en el tiempo a través de la ecuación cinética de orden cero, basados en el parámetro de ajuste R^2 (Tabla 3.25). Los únicos datos que no pudieron modelarse a través de esta cinética son los obtenidos a partir del almacenamiento de frutillas frescas cortadas en la atmósfera 70 kPa O₂-20 kPa CO₂, sugiriendo que la retención de la firmeza se mantuvo constante en el tiempo, con una retención del 96% al finalizar el almacenamiento a 5°C (20 días) (Tabla 3.24).

Por otro lado, se puede observar que la mayor velocidad de cambio de la retención de la firmeza ($-4.24 \text{ \% día}^{-1}$) se produce en las frutillas frescas cortadas almacenadas en aire, las cuales además solo tuvieron una vida útil de 7 días (Figura 3.22), sugiriendo que el almacenamiento de las frutas en atmósferas especiales puede retener la firmeza más tiempo que las almacenadas en aire. Luego, aquellas frutas almacenadas en atmósferas altas en O₂ y en CO₂ (80 kPa O₂-20 kPa CO₂ y 90 kPa O₂-10 kPa CO₂), disminuyeron la retención de la firmeza con una velocidad de cambio de -1.25 y $-0.57 \text{ \% día}^{-1}$, respectivamente. Mientras que, aquellas muestras almacenadas en altos niveles de O₂ (sin CO₂) y las almacenadas en 5 kPa O₂-5 kPa CO₂ aumentaron la firmeza, siendo la de 90 kPa O₂-0 kPa CO₂ la que mayor velocidad de incremento tuvo (1.74 \% día^{-1}) (Tabla 3.25).

Tabla 3.25 Parámetros cinéticos de los cambios en la retención de la firmeza de frutillas frescas cortadas almacenadas en diferentes atmósferas a 5°C.

Composición gaseosa (kPa O ₂ -kPa CO ₂)							
Parámetros	70-0	70-20	80-20	90-0	90-10	5-5	21-0
Q ₀	96.8	100.4	101.7	113.6	94.7	99.2	94.4
k	1.45 b	0.12 b	-1.21 c	1.74 a	-0.57 c	0.72 b	-4.24 d
R ²	0.66	0.03	0.81	0.76	0.68	0.92	0.80

Letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($P < 0.05$); Q₀ es el valor del atributo en el día 0; k es la constante de velocidad (Δ día⁻¹).

Los cambios en la firmeza que se pueden producir dependen de las modificaciones en los polisacáridos que componen las paredes celulares, los cuales están relacionados a la actividad enzimática y a la proliferación de microorganismos productores de enzimas pectinolíticas (Amanatidou et al., 2000; Wang et al., 2014).

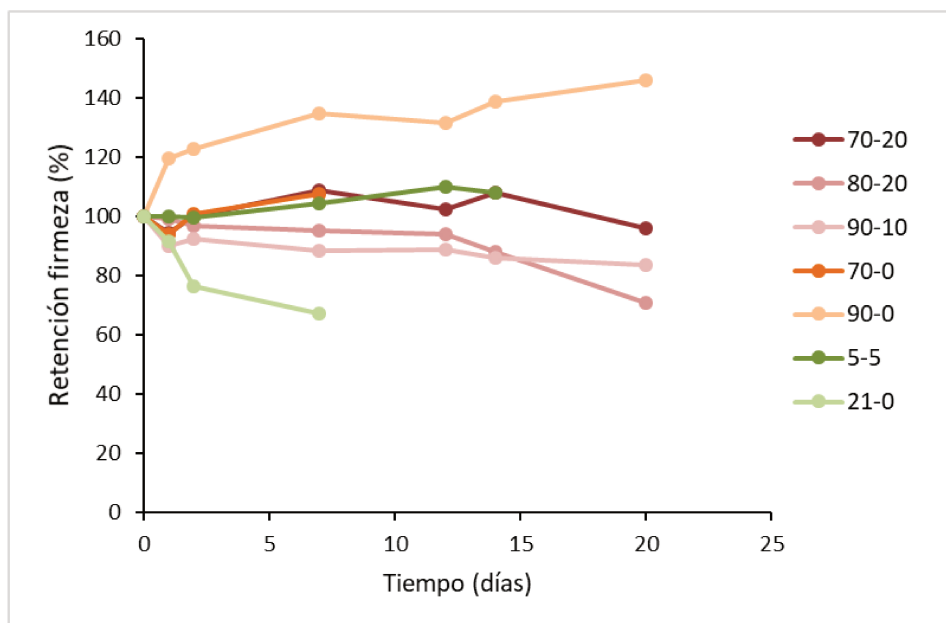


Figura 3.22 Evolución de la retención de la firmeza de frutillas frescas cortadas en función del tiempo de almacenamiento a 5°C, en las diferentes atmósferas.

3.2.4 Cambios en los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante de frutillas frescas cortadas almacenadas en atmósferas especiales

Se evaluó la influencia de las variables estudiadas (atmósferas gaseosas y tiempo de almacenamiento) sobre la retención de los compuestos bioactivos (fenoles totales; antocianinas totales e individuales más abundantes en frutillas: cianidin-3-*O*-glucósido, pelargonidin-3-*O*-glucósido y pelargonidin-3-*O*-rutinósido; ácido ascórbico y vitamina C) y la retención de la capacidad antioxidante de frutillas frescas cortadas (Tabla 3.26).

Tabla 3.26 Influencia de las atmósferas gaseosas y el tiempo sobre la retención de los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante de frutillas frescas cortadas.

Retención de atributos (%)	Atmósferas	Tiempo (d)
Fenoles totales	***	***
Antocianinas totales	***	***
Cianidin-3- <i>O</i> -glucósido	***	***
Pelargonidin-3- <i>O</i> -glucósido	***	***
Pelargonidin-3- <i>O</i> -rutinósido	***	***
Ácido ascórbico	***	***
Vitamina C	***	***
Capacidad antioxidante	***	***

*** P<0.001

Como se puede observar en la Tabla 3.26, tanto las mezclas gaseosas empleadas como el tiempo de almacenamiento influyeron significativamente sobre el contenido de los compuestos bioactivos determinados y la capacidad antioxidante. Estos resultados concuerdan con los de otros autores (Ayala-Zavala et al., 2007; Belay et al., 2017; Van de Velde et al., 2019), donde diferentes frutas fueron afectadas por la mezcla gaseosa y el tiempo de almacenamiento; dicho efecto va a depender del tipo de producto, de las concentraciones de gases empleadas, del tiempo de almacenamiento y de la temperatura.

3.2.4.1 Fenoles totales

En la Tabla 3.27 se muestran las retenciones porcentuales respecto al día 0 de los fenoles totales de frutillas frescas cortadas almacenadas en diferentes atmósferas a 5°C durante 20 días o hasta que se observó deterioro.

Las muestras almacenadas en 70 kPa O₂-20 kPa CO₂ no sufrieron pérdidas en el contenido de fenoles totales, ya que al finalizar la experiencia (día 20) la retención fue de aproximadamente 100%. Sin embargo, al día 7, se produjo un incremento significativo transitorio de un 12% con respecto al día 0 (Tabla 3.27). Zheng et al. (2005), encontraron resultados similares, mostrando que las frutillas almacenadas con concentraciones elevadas de O₂ (60-100 kPa), aumentaron su contenido de compuestos fenólicos durante los primeros 7 días de almacenamiento.

Tabla 3.27 Retención de fenoles totales (%) de frutillas mínimamente procesadas almacenadas a 5°C en diferentes atmósferas.

Tiempo (d)	Composición gaseosa (kPa O ₂ -kPa CO ₂)						
	70-0	70-20	80-20	90-0	90-10	5-5	21-0
0	100.0 a A	100.0 a A	100.0 c A	100.0 d A	100.0 c A	100.0 a A	100.0 b A
1	102.3 bc B	103.1 a B	85.6 b A	84.9 b A	86.2 a A	117.5 b C	103.2 ab B
2	103.5 c EF	101.4 a E	84.7 b B	88.8 c C	81.2 a A	106.4 ab F	94.2 b D
7	100.8 ab D	112.0 b E	86.2 b B	84.7 b AB	82.1 a A	103.3 a D	93.8 b C
12	DO	101.2 a B	85.2 b A	82.2 b A	84.4 a A	103.9 a B	DO
14	DO	102.9 a D	79.2 a B	74.3 a A	90.4 b C	100.7 a D	DO
20	DO	100.9 a D	77.4 a B	75.2 a A	99.6 c C	DO	DO

Letras minúsculas diferentes dentro de una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$) y letras mayúsculas diferentes dentro de una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0.05$), por el test de Tukey.

DO: deterioro observado.

Las muestras almacenadas en 80 kPa O₂-20 kPa CO₂ y 90 kPa O₂-0 kPa CO₂, disminuyeron su contenido de fenoles totales alrededor de un 15% luego de 1 día de almacenamiento a 5°C y la retención luego se mantuvo relativamente constante hasta el día 14, con una reducción de aproximadamente 25% al finalizar el almacenamiento (día 20). Estas dos condiciones de almacenamiento fueron las que más degradaron los fenoles totales presentes en las frutillas frescas cortadas. Por otro lado, las frutillas almacenadas en 90

kPa O₂-10 kPa CO₂, si bien disminuyeron el contenido de fenoles totales durante el almacenamiento (~14%), luego de los 14 días, el contenido se incrementó hasta alcanzar el contenido inicial a los 20 días (Tabla 3.27).

Por último, las frutillas frescas cortadas almacenadas en aire no variaron significativamente la concentración de fenoles totales en 7 días de almacenamiento, mientras que, las almacenadas en baja concentración de oxígeno (5 kPa O₂-5 kPa CO₂) incrementaron el contenido de fenoles totales en los primeros días y luego disminuyeron hasta alcanzar su contenido inicial al día 14. Belay et al., (2017) mostraron un incremento en los fenoles totales (~120%) en granadas almacenadas en bajas concentraciones de O₂, asociándolo con un incremento en la actividad de la vía fenilpropanoide bajo estas condiciones de estrés.

El efecto de las altas concentraciones de O₂ en los compuestos fenólicos puede variar según el producto, genotipo, concentración de oxígeno, el tiempo de almacenamiento y la temperatura (Zheng et al., 2007). Otros autores han demostrado que, en frutillas, concentraciones de O₂ elevadas pueden inducir la acumulación de compuestos fenólicos durante los primeros días de almacenamiento, pero también pueden promover la oxidación de los mismos luego de un tratamiento prolongado (Zheng et al., 2007). El incremento de los compuestos fenólicos puede ser causado por el estrés abiótico que sufre la fruta al exponerse a niveles superatmosféricos de O₂, lo que provoca un aumento en la biosíntesis de estos compuestos (Cisneros-Zevallos, 2003). Mientras que la pérdida de los mismos, durante el almacenamiento bajo estas condiciones, podría deberse a la concomitante oxidación que pueden sufrir en estas condiciones y más aún aquellos fenoles presentes en la superficie de frutas cortadas, lo cual aumenta el área de exposición al O₂ (Oms-Oliu et al., 2008).

3.2.4.2 Antocianinas

En primer lugar, se determinaron las retenciones porcentuales respecto al día 0 de las antocianinas totales presentes en las frutillas frescas cortadas almacenadas en distintas atmósferas a 5°C durante 20 días o hasta que se observó deterioro (Tabla 3.28). Luego, se realizó un perfil de las principales antocianinas (cianidin-3-*O*-glucósido (C-3-G), pelargonidin-3-*O*-glucósido (P-3-G) y pelargonidin-3-*O*-rutinósido(P-3-R)) presentes en

frutillas y se evaluaron las retenciones de las mismas en el almacenamiento respecto al día 0 (Tabla 3.29, 3.30 y 3.31).

Las frutillas frescas cortadas almacenadas en aire (21 kPa O₂-0 kPa CO₂) o en las atmósferas 5 kPa O₂-5 kPa CO₂ no sufrieron cambios significativos en el contenido de antocianinas totales durante los 7 y 14 días de almacenamiento, respectivamente (Tabla 3.24), en coincidencia con lo obtenido para fenoles totales. Este resultado coincide con el de Odriozola-Serrano et al., (2010), quienes encontraron que el contenido de antocianinas en frutillas mínimamente procesadas se mantuvo constante durante los primeros 9 días de almacenamiento en atmósferas bajas en oxígeno y a 21 kPa O₂.

Las frutillas almacenadas en 70 kPa O₂-20 kPa CO₂ incrementaron un 30 y un 20% al día 1 y 2 de almacenamiento, respectivamente. Luego, el contenido fue disminuyendo, alcanzando al final del almacenamiento (día 20) una retención del 85% (Tabla 3.28).

Con respecto a las muestras almacenadas en 80 kPa O₂-20 kPa CO₂, 90 kPa O₂-10 kPa CO₂ y 90 kPa O₂-0 kPa CO₂, todas disminuyeron la retención de las antocianinas totales al finalizar el almacenamiento, siendo las frutillas almacenadas en la atmósfera 90 kPa O₂-0 kPa CO₂, la que menor pérdida produjo (~20%) (Tabla 3.28).

Tabla 3.28 Retención de antocianinas totales (%) de frutillas mínimamente procesadas almacenadas a 5°C en diferentes atmósferas.

Tiempo (d)	Composición gaseosa (kPa O ₂ -kPa CO ₂)						
	70-0	70-20	80-20	90-0	90-10	5-5	21-0
0	100.0 a A	100.0 b A	100.0 e A	100.0 d A	100.0 d A	100.0 a A	100.0 a A
1	98.3 a A	131.7 d B	90.3 d A	93.4 bcd A	97.3 d A	107.7 b A	108.7 a A
2	107.7 b C	121.7 c D	87.9 cd AB	94.4 cd B	82.4 c A	113.0 c CD	104.8 a C
7	103.3 ab E	101.3 b E	78.1 bc A	85.6 ab BC	79.0 bc AB	99.4 a DE	92.5 a CD
12	DO	106.3 b C	72.0 ab A	86.6 abc B	81.3 c AB	103.4 ab C	DO
14	DO	117.1 c D	65.2 a A	81.0 a B	73.7 a B	102.6 a C	DO
20	DO	85.0 a C	62.9 a A	84.2a C	75.5 ab B	DO	DO

Letras minúsculas diferentes dentro de una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$) y letras mayúsculas diferentes dentro de una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0.05$), por el test de Tukey.

DO: deterioro observado.

Estos comportamientos pueden explicarse a través de los contenidos de O₂ y CO₂, los cuales afectan de diferentes maneras a las antocianinas. Por un lado, la degradación de antocianinas se ve influenciada por el pH, que se ve afectado por la presencia de CO₂. Existe un equilibrio químico entre 4 especies de antocianinas: una base quinoidal, un cation flavilium de color rojo, una pseudobase incolora o carbitol y las chalconas (Odriozola-Serrano et al., 2010). Si bien es esperable que una atmósfera con una concentración de CO₂ alta alrededor de los tejidos disminuya el pH por solubilización intracelular y formación de ácido carbónico, en general, los sistemas buffers de los tejidos vegetales pueden neutralizar ese efecto (Van de Velde et al., 2019). Sin embargo, la presencia de CO₂ en altas concentraciones puede afectar el metabolismo de los ácidos orgánicos y aumentar el pH por consumo de los mismos, tal como lo determinado en esta tesis, llevando el equilibrio de las antocianinas hacia la formación de carbitol incoloro, resultando en una pérdida de antocianinas coloreadas (Odriozola-Serrano et al., 2010; Van de Velde et al., 2019). Por otro lado, la exposición de los tejidos a atmósferas altas en O₂ puede provocar una acumulación de antocianinas, como es el caso de las frutillas expuestas a 70 kPa O₂-20 kPa CO₂ al principio del almacenamiento, probablemente debido al efecto predominante de la exposición de los tejidos a atmósferas superoxigenadas sobre la actividad de la enzima PAL (fenilalanina amonio liasa) y, por lo tanto, la concomitante síntesis de *novo* de compuestos fenólicos, en este caso de antocianinas (Van de Velde et al., 2019). Por lo tanto, se puede decir que la concentración de antocianinas está determinada por el balance de los dos fenómenos anteriormente mencionados, la degradación producida por las altas concentraciones de CO₂ y la síntesis en respuesta a la activación de PAL causada por la composición gaseosa modificada, especialmente a altas concentración de O₂.

Diferentes estudios muestran efectos variables sobre el contenido de antocianinas en frutillas almacenadas en atmosferas modificadas (Zhen et al., 2007; Odriozola-Serrano et al., 2010; Belay et al., 2017; Van de Velde et al., 2019).

Con respecto a las antocianinas individuales (Tabla 3.29, 3.30 y 3.31), el comportamiento fue similar considerando, además, que la correlación entre las antocianinas totales y las individuales son positivas y significativas, con un coeficiente de correlación de 0.70 para C-3-G, de 0.84 para P-3-G y 0.81 para P-3-R.

Las muestras almacenadas en 80 kPa O₂-20 kPa CO₂ y en 90 kPa O₂-10 kPa CO₂ fueron las que más degradaron las antocianinas de las frutillas frescas cortadas, mientras que 70 kPa O₂-20 kPa CO₂ y 90 kPa O₂-0 kPa CO₂ pudieron mantener e incluso aumentar el contenido de las mismas.

Tabla 3.29 Retención de cianidin-3-*O*-glucósido, (%) de frutillas mínimamente procesadas almacenadas a 5°C en diferentes atmósferas.

Tiempo (d)	Composición gaseosa (kPa O ₂ - kPa CO ₂)						
	70-0	70-20	80-20	90-0	90-10	5-5	21-0
0	100.0 a A	100.0 b A	100.0 g A	100.0 e A	100.0 g A	100.0 bc A	100.0 c A
1	113.1 b D	172.4 d E	75.0 f A	83.0 c B	83.5 f B	95.7 b C	94.4 b C
2	112.2 b E	124.2 c F	73.1 e B	115.6 f E	51.0 b A	104.5 c D	100.0 c C
7	89.1 a D	102.2 b E	64.1 d A	71.5 b B	59.0 c A	77.8 a C	85.9 a D
12	DO	89.5 a D	50.3 b A	88.0 cd D	68.8 d B	77.9 a C	DO
14	DO	126.6 c D	56.8 c B	53.5 a B	45.2 a A	78.1 a C	DO
20	DO	85.0 a C	45.6 a A	90.3 d D	75.9 e B	DO	DO

Letras minúsculas diferentes dentro de una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$) y letras mayúsculas diferentes dentro de una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0.05$), por el test de Tukey.

DO: deterioro observado.

Tabla 3.30 Retención de pelargonidin-3-*O*-glucósido, (%) de frutillas mínimamente procesadas almacenadas a 5°C en diferentes atmósferas.

Tiempo (d)	Composición gaseosa (kPa O ₂ - kPa CO ₂)						
	70-0	70-20	80-20	90-0	90-10	5-5	21-0
0	100.0 b A	100.0 bc A	100.0 c A	100.0 bc A	100.0 e A	100.0 bc A	100.0 a A
1	84.1 a A	139.1 e E	81.1 b A	102.8 bc C	97.7 e B	102.0 c BC	112.9 a D
2	96.2 b B	124.9 d E	96.9 c B	103.6 c C	84.5 d A	111.4 d D	108.2 a CD
7	85.6 a B	99.1 b D	81.2 b AB	96.8 b CD	78.6 c A	93.1 b C	113.4 a E
12	DO	106.8 c C	67.3 a A	105.6 c C	70.8 a A	77.5 a B	DO
14	DO	124.2 d D	67.4 a A	90.2 a C	70.1 a A	82.3 a B	DO
20	DO	85.2 a C	65.4 a A	102.6 bc D	74.8 b B	DO	DO

Letras minúsculas diferentes dentro de una misma columna indican diferencias significativas ($P<0.05$) y letras mayúsculas diferentes dentro de una misma fila indican diferencias significativas ($P<0.05$), por el test de Tukey.

DO: deterioro observado

Tabla 3.31 Retención de pelargonidin-3-*O*-rutinósido (%) de frutillas mínimamente procesadas almacenadas a 5°C en diferentes atmósferas.

Tiempo (d)	Composición gaseosa (kPa O ₂ - kPa CO ₂)						
	70-0	70-20	80-20	90-0	90-10	5-5	21-0
0	100.0 b A	100.0 b A	100.0 d A	100.0 bc A	100.0 e A	100.0 b A	100.0 a A
1	82.4 a A	139.6 d D	84.0 c A	109.5 d C	100.2 e B	113.2 c C	103.4 a B
2	93.5 b AB	127.3 c E	100.5 d C	106.1 cd CD	93.3 d A	111.4 c D	100.7 a BC
7	87.1 a C	103.1 b E	81.1 c B	94.5 ab D	76.7 bc A	105.4 b F	111.5 a G
12	DO	105.4 b D	65.0 a A	96.8 b C	67.1 a A	90.8 a B	DO
14	DO	128.9 c C	70.4 b A	87.7 a B	74.5 b A	91.5 a B	DO
20	DO	91.4 a C	69.1 b A	104.8 cd D	78.7 c B	DO	DO

Letras minúsculas diferentes dentro de una misma columna indican diferencias significativas ($P<0.05$) y letras mayúsculas diferentes dentro de una misma fila indican diferencias significativas ($P<0.05$), por el test de Tukey.

DO: deterioro observado.

3.2.4.3 Ácido ascórbico y Vitamina C

En la Tabla 3.32 y 3.33 se muestran las retenciones porcentuales respecto al día 0 del ácido ascórbico y la vitamina C, respectivamente, que se obtuvieron durante el

almacenamiento en distintas atmósferas a 5°C durante 20 días o hasta que se observó deterioro.

Las atmósferas 70 kPa O₂-20 kPa CO₂, 80 kPa O₂-20 kPa CO₂ y 90 kPa O₂-10 kPa CO₂ fueron las que más afectaron el ácido ascórbico presente en las frutillas frescas cortadas, con una pérdida de aproximadamente 45, 33 y 34%, respectivamente. En cambio, las muestras almacenadas en las atmosferas sin CO₂ o con bajo contenido tuvieron la capacidad de retener más el contenido de ácido ascórbico, disminuyendo aproximadamente entre un 3 a un 20%, o incluso manteniéndose constante (5 kPa O₂-5 kPa CO₂).

Tabla 3.32 Retención de ácido ascórbico (%) de frutillas mínimamente procesadas almacenadas a 5°C en diferentes atmósferas.

Tiempo (d)	Composición gaseosa (kPa O ₂ -kPa CO ₂)						
	70-0	70-20	80-20	90-0	90-10	5-5	21-0
0	100.0 a A	100.0 g A	100.0 d A	100.0 b A	100.0 b A	100.0 ab A	100.0 c A
1	105.1 b B	88.3 f A	96.9 d AB	90.5 ab AB	96.6 b AB	95.5 a AB	94.0 b AB
2	100.6 ab D	84.3 e A	88.6 c AB	89.4 ab B	99.3 b D	106.4 c E	93.8 b C
7	97.5 a D	78.5 d AB	73.9 b A	87.8 ab C	100.9 b DE	106.1 c E	82.3 a BC
12	DO	60.5 b A	71.0 ab B	84.0 ab C	99.2 b D	103.1 bc D	DO
14	DO	63.5 c A	67.5 a A	80.5 a B	65.0 a A	103.6 bc C	DO
20	DO	54.9 a A	66.9 a B	75.7 a C	66.7 a B	DO	DO

Letras minúsculas diferentes dentro de una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$) y letras mayúsculas diferentes dentro de una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0.05$), por el test de Tukey.

DO: deterioro observado.

El ácido ascórbico es un sustrato oxidable, siendo el oxígeno uno de los principales agentes oxidantes. La reducción del contenido de ácido ascórbico en productos almacenados en altas concentraciones de O₂ está ampliamente reportado (Oms-Oliu et al., 2008; Maghoumi et al., 2014; Belay et al., 2017; Van de Velde et al., 2019). Sin embargo, como podemos observar en nuestros resultados, el dióxido de carbono cumple un rol muy importante en la pérdida de este compuesto en el almacenamiento. Las altas concentraciones de CO₂ podría permitir la oxidación del ácido ascórbico debido a la estimulación de la enzima ascorbato peroxidasa, que cataliza el proceso de

oxidación, o mediante la inhibición de la reducción de ácido dehidroascórbico a ácido ascórbico (Oms-Oliu et al., 2008; Belay et al., 2017).

Las frutillas frescas cortadas experimentaron una reducción sustancial en la concentración de vitamina C en el almacenamiento, independientemente de la composición gaseosa (Tabla 3.33).

Tabla 3.33 Retención de vitamina C (%) de frutillas mínimamente procesadas almacenadas a 5°C en diferentes atmósferas.

Tiempo (d)	Composición gaseosa (kPa O ₂ -kPa CO ₂)						
	70-0	70-20	80-20	90-0	90-10	5-5	21-0
0	100.0 a A	100.0 g A	100.0 b A	100.0 b A	100.0b A	100.0 a A	100.0 b A
1	113.8 c B	88.6 e A	96.1 b A	96.7 b A	94.6 b A	99.8 a A	98.6 b A
2	103.8 b D	90.4 f A	97.6 b BC	96.4 b BC	95.0 b AB	96.8 a BC	101.2b CD
7	98.3 a C	82.4 d A	83.8 a AB	97.9 b C	99.5 b C	94.7 a BC	87.0 a ABC
12	DO	75.6 b A	81.5 a AB	82.9 ab B	94.6 b C	97.7 a C	DO
14	DO	80.6 c B	81.0 a B	79.0 a B	66.3 a A	97.5 a C	DO
20	DO	65.8 a A	80.9 a C	75.6 a B	65.8 a A	DO	DO

Letras minúsculas diferentes dentro de una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$) y letras mayúsculas diferentes dentro de una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0.05$), por el test de Tukey.

DO: deterioro observado.

La magnitud de la degradación de vitamina C puede estar relacionada con la concentración de O₂ dentro del envase (Soliva Fortuny et al., 2002). Es por este motivo, que las muestras que se almacenan en atmósferas altas en oxígeno tienen un mayor deterioro de esta vitamina que cuando se las almacena en bajas concentraciones de oxígeno. Resultados similares fueron reportados por Odriozola-Serrano et al. (2010) con frutillas frescas cortadas almacenadas en altas concentraciones de O₂ en comparación con las almacenadas en baja concentración de O₂ y el aire. Efectos similares se observaron en otras frutas frescas cortadas (Oms-Oliu et al., 2008; Montero-Calderón et al, 2010).

Resultados similares a los obtenidos para el ácido ascórbico se determinaron para la vitamina C, la cual es la suma de ácido ascórbico y ácido dehidroascórbico. El contenido de vitamina C se reduce a altas concentraciones de CO₂, particularmente en frutillas (Lee

y Kader, 2000). Como se mencionó anteriormente, altos niveles de CO₂ podrían aumentar la pérdida de vitamina C acelerando los procesos de oxidación catalizados por la enzima ascorbato peroxidasa. Por lo tanto, el CO₂ estimularía la oxidación irreversible de la vitamina C a ácido 2,3-dicetogulónico, provocando la reducción en el contenido de la misma.

3.2.4.4 Capacidad Antioxidante

Se evaluó la capacidad antioxidante de las frutillas frescas cortadas almacenadas en diferentes atmósferas a 5°C durante 20 días o hasta que se observó deterioro (Tabla 3.34).

Las muestras almacenadas en la atmósfera 70 kPa O₂-20 kPa CO₂ mantuvieron la capacidad antioxidante hasta el segundo día de almacenamiento, y luego disminuyó aproximadamente un 13% hasta el final de la experiencia (día 20). Para las frutillas almacenadas en 80 kPa O₂-20 kPa CO₂ no hubo cambios significativos en todo el almacenamiento con respecto al día 0, con una pérdida del 10% en el día 20 (Tabla 3.34).

Las muestras almacenadas en 90 kPa O₂-0 kPa CO₂ y 90 kPa O₂-10 kPa CO₂ mantuvieron la capacidad antioxidante hasta el día 2 y 7, respectivamente. Luego, la capacidad antioxidante disminuyó aproximadamente 16% (Tabla 3.34).

Las frutillas frescas cortadas almacenadas en 70 kPa O₂-0 kPa CO₂, 5 kPa O₂-5 kPa CO₂ y 21 kPa O₂-0 kPa CO₂ no disminuyeron de manera significativa la capacidad antioxidante inicial en el tiempo de almacenamiento (Tabla 3.34).

Tabla 3.34 Retención de la capacidad antioxidante (%) de frutillas mínimamente procesadas almacenadas a 5°C en diferentes atmósferas.

Tiempo (d)	Composición gaseosa (kPa O ₂ - kPa CO ₂)						
	70-0	70-20	80-20	90-0	90-10	5-5	21-0
0	100.0 a A	100.0 b A	100.0 b A	100.0 d A	100.0b A	100.0 a A	100.0 a A
1	114.9 b BC	104.8 b ABC	99.0 b AB	93.1 cd A	96.7 bc A	118.4 b C	107.5 a ABC
2	106.3 a BC	104.9 b BC	90.7 a A	94.8 cd A	97.9 b AB	107.6 ab C	106.9 a C
7	104.3 a C	87.5 a A	89.5 a A	89.2 bc A	97.7 b AB	103.9 ab B	97.5 a AB
12	DO	85.6 a AB	95.2 ab BC	83.7 ab A	97.7 b C	89.6 a ABC	DO
14	DO	84.3 a AB	92.2 ab C	79.3 a A	81.5 a AB	88.9 a BC	DO
20	DO	87.9 a A	89.4 a A	83.6 ab A	84.7 ab A	DO	DO

Letras minúsculas diferentes dentro de una misma columna indican diferencias significativas ($P<0.05$) y letras mayúsculas diferentes dentro de una misma fila indican diferencias significativas ($P<0.05$), por el test de Tukey.

DO: deterioro observado.

Los cambios en la capacidad antioxidante en frutas en función del tiempo de almacenamiento pueden estar asociados a las variaciones de los compuestos bioactivos individuales, como los flavonoides, ácidos fenólicos, aminoácidos, ácido ascórbico, tocoferoles y pigmentos, que contribuyen a esta capacidad en las frutas (Chu et al., 2000; Odriozola-Serrano et al., 2010). Odriozola-Serrano et al. (2010) mostraron que la capacidad antioxidante de frutillas frescas cortadas almacenadas en bajo-O₂ o en atmosferas pasivas fue significativamente mayor que las de las muestras almacenadas en alta concentración de O₂.

En el resto de las atmósferas estudiadas en este trabajo, si bien hubo variaciones en el contenido de los compuestos individuales estudiados, como los fenoles totales, las antocianinas, el ácido ascórbico y la vitamina C, al final del almacenamiento, la capacidad antioxidante de las muestras disminuyó alrededor de un 10-15%. Zheng et al. (2007) encontraron una buena relación entre el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante ($r=0.964$), así como también entre el contenido de antocianinas y la capacidad antioxidante ($r=0.778$) durante el almacenamiento de frutillas bajo condiciones superatmosféricas. En nuestro estudio, los coeficientes de correlación entre los fenoles y las antocianinas totales y la capacidad antioxidante fueron de 0.841 y 0.719,

respectivamente. Los fenoles totales contribuyen más a la capacidad antioxidante que las antocianinas. Esto se debe a que, si bien las antocianinas son los compuestos mayoritarios en las frutillas, hay otros fenoles que aportan a la actividad antioxidante de la fruta, como por ejemplo los elagitaninos, las proantocianidinas, los flavonoles (quercetina y kaempferol glucosilados) y los ácidos fenólicos, entre otros (Van de Velde et al., 2019).

4. CONCLUSIONES

Se estudió el lavado desinfección por aspersión de frutillas frescas mínimamente procesadas con soluciones de ácido peracético (1-240 mg L⁻¹ de ácido peracético y 11-138 segundos de aspersión) evaluando la calidad microbiológica, el contenido de compuestos bioactivos y los atributos relacionados con la calidad sensorial, tanto en el día de procesamiento como a los 7 días de almacenamiento a 2°C. Las experiencias se realizaron siguiendo un diseño central compuesto y se obtuvieron los siguientes resultados:

- Se obtuvo un modelo matemático para la reducción de microorganismos aerobios mesófilos, mohos y levaduras en función de las variables del proceso (concentración y tiempo) en el día de procesamiento (Día 0).
- La reducción de microorganismos aerobios mesófilos y de las levaduras en el día 0 fueron afectados por la concentración del sanitizante y por el tiempo de aspersión. Mientras que la reducción de mohos solo fue afectada por la concentración del sanitizante. Las máximas reducciones predichas por los modelos fueron de 1.3 log para microorganismos aerobios mesófilos, 2.3 log para mohos y 3.3 para levaduras.
- Después de 7 días de almacenamiento a 2°C, las variables del proceso (concentración y tiempo) afectaron de igual manera la reducción de microorganismos aerobios mesófilos y de mohos, obteniéndose, en el rango experimental, una reducción promedio de 1.5 y 2 log, respectivamente. Sin embargo, para la reducción de levaduras, se obtuvo un modelo que permitió obtener una reducción máxima de 2.6 log para una concentración de 240 mg L⁻¹ independientemente del tiempo de aspersión.
- La concentración del sanitizante y el tiempo de aspersión afectaron significativamente la reducción de *E.coli* inoculada en frutillas frescas cortadas en el día de procesamiento. Se obtuvo un modelo matemático predictivo para cuantificar dicha reducción, obteniendo una reducción máxima de 3.9 log (240 mg L⁻¹ y 138s).
- En el almacenamiento por 7 días a 2°C, las variables del proceso (concentración y tiempo) no afectaron significativamente la reducción de *E coli* inoculada; sin embargo, la reducción promedio de todas las corridas experimentales fue de 2.4

log, sugiriendo un escenario positivo desde el punto de vista de inocuidad del producto.

- En cuanto a los parámetros relacionados con la calidad sensorial, las dos variables de proceso estudiadas (concentración de sanitizante y tiempo de aspersión) no afectaron el cambio de luminosidad (δL^*), de cromaticidad (δCab^*) y el ángulo de tono (δhab), ni la retención de sólidos solubles y pH, en el rango experimental ensayado.
- Las frutillas frescas cortadas lavadas por aspersión con ácido peracético fueron ligeramente más oscuras ($\delta L^* \approx -1\%$) que las frutillas sin lavar, más vívidas ($\delta Cabi^* \approx 20\%$) y menos rojas ($\delta hab \approx 14\%$). Luego de 7 días de almacenamiento a $2^\circ C$, solo la cromaticidad disminuyó significativamente.
- Los sólidos solubles y el pH de las frutillas frescas cortadas no cambiaron con respecto a la muestra sin lavar, con retenciones de entre 98 y 100%. En el almacenamiento tampoco hubo cambios significativos de estos parámetros.
- Los cambios en los compuestos bioactivos (fenoles totales, antocianinas totales, el ácido ascórbico y la vitamina C) y la capacidad antioxidante como consecuencia del proceso de lavado desinfección por aspersión, en el rango ensayado, no pudieron modelarse con las ecuaciones polinomiales de 2° orden, debido a que las variables del sistema (concentración de PAA y tiempo de aspersión) no influyeron significativamente sobre estas respuestas.
- Comparando el contenido de los compuestos bioactivos de las frutillas frescas antes e inmediatamente después de la operación de lavado desinfección por aspersión con ácido peracético, se determinó que las antocianinas totales y el ácido ascórbico fueron los compuestos que más se vieron afectados por dicha operación, con pérdidas de 21 y 26 %, respectivamente. Para el resto de los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante se obtuvieron retenciones por encima del 80%. Durante el almacenamiento de 7 días a $2^\circ C$, no hubo cambios significativos en las retenciones de ninguno de los compuestos estudiados ni en la capacidad antioxidante.
- A partir de los modelos matemáticos obtenidos para los microorganismos aerobios mesófilos, los mohos y las levaduras en el día de procesamiento (día 0),

se realizó la optimización de respuestas múltiples, que permitió encontrar las óptimas condiciones de lavado desinfección por aspersión con ácido peracético, maximizando la reducción de los microorganismos.

- Las condiciones óptimas del proceso de lavado desinfección por aspersión con ácido peracético obtenidas fueron una concentración de 240 mg L⁻¹ y un tiempo de 97 s, alcanzando un valor de deseabilidad global (D): 0.915.
- Los ensayos experimentales adicionales realizados para la validación de los modelos obtenidos en las condiciones óptimas permiten concluir que los mismos son satisfactorios.

El lavado desinfección por aspersión con ácido peracético puede considerarse una buena alternativa para la desinfección de frutillas frescas cortadas, no solo por las altas reducciones de la carga microbiana obtenida, sino que además favorece la remoción física de los agentes extraños por efecto de la presión del aspersor, y solo produce ligeras pérdidas en la calidad y los compuestos bioactivos. Se puede considerar una tecnología amigable con el ambiente debido a que la técnica de aspersión podría generar menor cantidad de agua residual que las técnicas de inmersión y, además, la descomposición del ácido peracético no genera residuos tóxicos.

Con las condiciones optimizadas del lavado-desinfección, se estudió el efecto de las atmósferas modificadas altas en oxígeno (oxígeno superatmosférico) incluyendo distintas concentraciones de dióxido de carbono, obteniéndose las siguientes conclusiones:

- El crecimiento de los microorganismos nativos de las frutillas frescas cortadas almacenadas en las distintas atmósferas ensayadas pudo modelarse a través del modelo de Baranyi y Roberts. A partir de estos modelos, se determinó que la atmósfera 80 kPa O₂-20 kPa CO₂ provocó mayor extensión de la fase lag para los microorganismos aerobios mesófilos y psicrótrofos, mohos y levaduras. Mientras que, la atmósfera 70 kPa O₂-20 kPa CO₂ fue la que más redujo la velocidad máxima de crecimiento de los microorganismos, permitiendo un crecimiento más lento de los mismos.
- Las frutillas frescas cortadas almacenadas en atmósferas bajas en oxígeno (5 kPa O₂-5 kPa CO₂) y en aire no pudieron controlar adecuadamente el crecimiento de los microorganismos en 14 y 7 días, respectivamente. En cambio, las atmósferas

altas en oxígeno combinadas o no con dióxido de carbono controlaron el desarrollo microbiano por 20 días a 5°C.

- Las atmósferas con alto contenido de oxígeno (70-80 kPa) y alto contenido de dióxido de carbono (20 kPa) fueron las que mejor controlaron todas las poblaciones microbianas.
- Los sólidos solubles disminuyeron durante el almacenamiento a 5°C, independientemente de la atmósfera utilizada. Mientras que los valores de pH mostraron un incremento en el almacenamiento, lo que implica una disminución de la acidez y reducción en el contenido de ácidos orgánicos.
- Los cambios en la cromaticidad (ΔC_{ab}^*), ángulo de tono (Δh_{ab}) y el cambio total de color (ΔE_{ab}^*) pudieron modelarse a través de una cinética de orden cero; mientras que, el cambio en la luminosidad (ΔL^*) no pudo modelarse y, en general, las muestras fueron ligeramente más claras que en el día 0.
- A través de los modelos cinéticos, se pudo observar que la atmósfera 5 kPa O₂-5 kPa CO₂ fue la que mayor efecto tuvo sobre los cambios de los parámetros de color, con velocidades significativamente mayores que las otras atmósferas, incluso más que el aire.
- En cuanto a la retención de la firmeza se pudo modelar su cambio en el tiempo a través de una ecuación cinética de orden cero. Los únicos datos de firmeza que no pudieron modelarse a través de esta cinética fueron los obtenidos para las frutillas almacenadas en la atmósfera 70 kPa O₂-20 kPa CO₂, debido a que la firmeza se mantuvo prácticamente constante durante 20 días a 5°C.
- Las frutillas almacenadas en aire fueron las que más rápido disminuyeron su firmeza, en cambio las frutillas almacenadas en 90 kPa O₂-0 kPa CO₂ incrementaron la firmeza de manera significativa con una velocidad de 1.74 % día⁻¹.
- Los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante fueron afectados significativamente por las atmósferas empleadas y por el tiempo de almacenamiento.
- Los fenoles totales fueron afectados significativamente por las atmósferas 80 kPa O₂-20 kPa CO₂ y 90 kPa O₂-0 kPa CO₂, disminuyendo el contenido inicial en,

aproximadamente, un 25% luego de 20 días a 5°C. Los fenoles totales de las frutillas frescas cortadas almacenadas en 70 kPa O₂-20 kPa CO₂ no sufrieron pérdidas en el contenido de fenoles totales, ya que al finalizar la experiencia (día 20) la retención fue de aproximadamente 100%.

- Las frutillas frescas cortadas almacenadas en aire (21 kPa O₂-0 kPa CO₂) o en las atmósferas 5 kPa O₂-5 kPa CO₂ no sufrieron cambios significativos en el contenido de antocianinas durante los 7 y 14 días de almacenamiento, respectivamente. Las muestras almacenadas en 80 kPa O₂-20 kPa CO₂ y en 90 kPa O₂-10 kPa CO₂ fueron las que más degradaron las antocianinas de las frutillas frescas cortadas, mientras que 70 kPa O₂-20 kPa CO₂ y 90 kPa O₂-0 kPa CO₂ mantuvieron e incluso aumentaron el contenido de las mismas.
- El ácido ascórbico de las frutillas frescas cortadas fue el compuesto más afectado por las atmósferas altas en oxígeno. Las atmósferas 70 kPa O₂-20 kPa CO₂, 80 kPa O₂-20 kPa CO₂ y 90 kPa O₂-10 kPa CO₂ fueron las que más afectaron el contenido de ácido ascórbico naturalmente presente en las frutillas frescas cortadas, con una pérdida de aproximadamente 45, 33 y 34%, respectivamente.
- Las frutillas frescas cortadas experimentaron una reducción significativa en la concentración de vitamina C durante el almacenamiento a 5 °C, independientemente de la composición gaseosa.
- La retención de la capacidad antioxidante de las frutillas almacenadas en las distintas atmósferas se mantuvo por encima del 80% del valor inicial luego del almacenamiento a 5°C. A pesar de las diferencias encontradas en la retención de compuestos bioactivos éstas se compensaron, obteniéndose una capacidad antioxidante, al final del almacenamiento, prácticamente del mismo orden para todas.

El almacenamiento en atmósferas altas en oxígeno y dióxido de carbono pudieron controlar el desarrollo de microorganismos, permitiendo extender la vida útil de las frutillas frescas cortadas durante al menos 20 días a 5°C, además de mantener e incluso aumentar los compuestos bioactivos. Estos resultados muestran un comportamiento promisorio que motiva a continuar investigando acerca del empleo de atmósferas superatmosféricas para la conservación de frutas frescas cortadas.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Aaby, K., Mazur, S., Nes, A., y Skrede, G. (2012). Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits: Composition in 27 cultivars and changes during ripening. *Food Chemistry*, 132(1), 86–97. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2011.10.037>
- Aaby, K., y Remberg, S. F. (2014). Strawberry Phenolics and Impact of Ripening. In *Processing and Impact on Active Components in Food*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404699-3.00019-6>
- Abadias, M., Alegre, I., Usall, J., Torres, R., y Viñas, I. (2011). Evaluation of alternative sanitizers to chlorine disinfection for reducing foodborne pathogens in fresh-cut apple. *Postharvest Biology and Technology*, 59(3), 289–297. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.09.014>
- Alexandre, E. M. C., Brandão, T. R. S., y Silva, C. L. M. (2012). Efficacy of non-thermal technologies and sanitizer solutions on microbial load reduction and quality retention of strawberries. *Journal of Food Engineering*, 108(3), 417–426. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.09.002>
- Ali, A., Yeoh, W. K., Forney, C., y Siddiqui, M. W. (2018). Advances in postharvest technologies to extend the storage life of minimally processed fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(15), 2632–2649. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1339180>
- Allende, A., Tomás-Barberán, F. A., y Gil, M. I. (2006). Minimal processing for healthy traditional foods. *Trends in Food Science and Technology*, 17, 513–519. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.04.005>
- Alvaro, J. E., Moreno, S., Dianez, F., Santos, M., Carrasco, G., y Urrestarazu, M. (2009). Effects of peracetic acid disinfectant on the postharvest of some fresh vegetables. *Journal of Food Engineering*, 95(1), 11–15. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.05.003>
- Amanatidou, A., Slump, R. A., Gorris, L. G. M., y Smid, E. J. (2000). High Oxygen and High Carbon Dioxide Modified Atmospheres for Shelf-life Extension of Minimally Processed Carrots. *Journal of Food Science*, 65(1), 61–66. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb15956.x>
- Amaro, A., Pereira, M., Colelli, G., y Pintado, M. (2014). IMPACT OF MINIMAL PROCESSING AND STORAGE ON STRAWBERRY FUNCTIONAL AND NUTRITIONAL QUALITY. In N. Malone (Ed.), *STRAWBERRIES CULTIVATION, ANTIOXIDANT PROPERTIES AND HEALTH BENEFITS* (p. 55). New York: Nova Science Publishers, Inc.
- APHA-AWWA-WEF. (1998). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (7 Edition). Washington, D.C., E.E.U.U..
- Artés-Hernández, F., Gómez, P. A., Aguayo, E., Tomás-Callejas, A., y Artés, F. (2013). Sustainable Processing of Fresh-Cut Fruit and Vegetables. *Sustainable Food Processing*, 219–268. <https://doi.org/10.1002/9781118634301.ch10>
- Artés, F., y Allende, A. (2015). Processing Lines and Alternative Preservation Techniques

- to Prolong the Shelf-life of Minimally Lines and Alternative Preservation Processing long the Shelf-life of Minimally Fresh Processed to Pro Techniques Leafy Vegetables, *70*(5), 231–245.
- Artés, F., Gómez, P., Aguayo, E., Escalona, V., y Artés-Hernández, F. (2009). Sustainable sanitation techniques for keeping quality and safety of fresh-cut plant commodities. *Postharvest Biology and Technology*, *51*, 287–296. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.10.003>
- Ayala-Zavala, F. J., y González-Aguilar, G. A. (2009). El envase como protector de la calidad sensorial y nutricional de frutas y hortalizas frescas cortadas. In *Aspectos nutricionales y sensoriales de vegetales frescos cortados*. (pp. 283–306). DF, México: Trillas, S.A. de C.V.
- Ayala-Zavala, J. F., Wang, S. Y., Wang, C. Y., y González-Aguilar, G. A. (2004). Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. *LWT - Food Science and Technology*, *37*(7), 687–695. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.03.002>
- Banda, K., Caleb, O. J., Jacobs, K., y Opara, U. L. (2015). Effect of active-modified atmosphere packaging on the respiration rate and quality of pomegranate arils (cv. Wonderful). *Postharvest Biology and Technology*, *109*, 97–105. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.06.002>
- Baranyi, J., y Roberts, T. A. (1994). A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *International Journal of Food Microbiology*, *23*(3–4), 277–294. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)90157-0](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)90157-0)
- Belay, Z. A., Caleb, O. J., y Opara, U. L. (2017). Impacts of low and super-atmospheric oxygen concentrations on quality attributes, phytonutrient content and volatile compounds of minimally processed pomegranate arils (cv. Wonderful). *Postharvest Biology and Technology*, *124*, 119–127. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.10.007>
- Beuchat, L., Farber, J., Garrett, E., Harris, L., Parish, M., Suslow, T., y Busta, F. (2001). Standardization of a Method To Determine the Efficacy of Sanitizers in Inactivating Human Pathogenic Microorganisms on Raw Fruits and Vegetables. *Journal of Food Protection*, *64*(7), 1079–1084. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2003.tb00034.x>
- Beuchat, L. R., Adler, B. B., y Lang, M. M. (2004). Efficacy of Chlorine and a Peroxyacetic Acid Sanitizer in Killing *Listeria monocytogenes* on Iceberg and Romaine Lettuce Using Simulated Commercial Processing Conditions. *Journal of Food Protection*, *67*(6), 1238–1242. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-67.6.1238>
- Buendía, B., Gil, M. I., Tudela, J. A., Gady, A. L., Medina, J. J., Soria, C., y Tomás-Barberán, F. A. (2010). HPLC-MS analysis of proanthocyanidin oligomers and other phenolics in 15 strawberry cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(7), 3916–3926. <https://doi.org/10.1021/jf9030597>

- Caleb, O. J., Mahajan, P. V, Al-said, F. A., y Opara, U. L. (2013). Transpiration rate and quality of pomegranate arils as affected by storage conditions, *11*(3), 199–207. <https://doi.org/10.1080/19476337.2012.721807>
- Cano, M. P., Sánchez-Moreno, C., De Pascual-Teresa, S., y De Ancos, B. (2005). Procesado mínimo y valor nutricional. Nuevas Tecnologías de Conservación de Productos vegetales Frescos Cortados. In *Logiprint Digital S. de R. L. de C. V.* (González-A, pp. 289–312). Guadalajara, México.
- Castellanos, D., y Herrera, A. (2017). Modified Atmosphere Packaging: Design and Optimization Strategies for Fresh Produce. In *Postharvest Handling* (p. 85). <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.68498>
- Chaidez, C., Castro-del Campo, N., Heredia, J. B., Contreras-Angulo, L., González-Aguilar, G., y Ayala-Zavala, F. (2012). Chlorine. In V. Gómez-López (Ed.), *Decontamination of Fresh and Minimally Processed Produce* (First Edit). New Jersey, EEUU: John Wiley & Sons, Ltd., Publication.
- Champ, M., Langkilde, A., Brouns, F., Kettlitz, B., Le, Y., y Collet, B. (2003). Advances in dietary fibre characterisation . 1 . Definition of dietary fibre , physiological relevance , health benefits and analytical aspects, *16*(1), 71–82. <https://doi.org/10.1079/NRR200254>
- Chang, A. S., y Schneider, K. R. (2012). Evaluation of overhead spray-applied sanitizers for the reduction of salmonella on tomato surfaces. *Journal of Food Science*, *77*(1). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02486.x>
- Cheng, G., Jiang, Y., Duan, X., Macnish, A., You, Y., y Li, Y. (2009). Effect of oxygen concentration on the biochemical and chemical changes of stored longan fruit. *Journal of Food Quality*, *32*(1), 2–17. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2008.00232.x>
- Cisneros-Zevallos, L. (2003). The use of controlled postharvest abiotic stresses as a tool for enhancing the nutraceutical content and adding-value. *Journal of Food Science*, *68*(5), 1560–1565. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb12291.x>
- Combs, Jr, G. F., y McClung, J. P. (2016). *The vitamins: fundamental aspects in nutrition and health*. San Diego, CA: Academic Press, Inc.
- Conesa, A., Artés-Hernández, F., Geysen, S., Nicolai, B., y Artés, F. (2007). High oxygen combined with high carbon dioxide improves microbial and sensory quality of fresh-cut peppers. *Postharvest Biology and Technology*, *43*(2), 230–237. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.08.016>
- Contigiani, E. V, Jaramillo-sánchez, G., Castro, M. A., Gómez, P. L., y Alzamora, S. M. (2018). Postharvest Quality of Strawberry Fruit (*Fragaria x Ananassa Duch cv . Albion*) as Affected by Ozone Washing : Fungal Spoilage , Mechanical Properties , and Structure.
- da Silva, F. L., Escribano-Bailón, M. T., Pérez Alonso, J. J., Rivas-Gonzalo, J. C., y Santos-Buelga, C. (2007). Anthocyanin pigments in strawberry. *LWT - Food Science and*

- Technology*, 40(2), 374–382. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2005.09.018>
- Davison, K., y Temple, N. (2018). Cereal fiber, fruit fiber, and type 2 diabetes: Explaining the paradox. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 32(2), 240–245. <https://doi.org/10.1016/J.JDIACOMP.2017.11.002>
- Day, B. (1996). High oxygen modified atmosphere packaging for fresh prepared produce. *Postharv. News. Inform.*, 7, 31N-34N. Retrieved from <http://ci.nii.ac.jp/naid/10012529066/en/>
- de Ancos, G., Sánchez-Moreno, C., y Cano, M. (2009). Aspectos nutricionales y saludables de vegetales frescos cortados. (Ed. Trillas S. A. de C. V.) México, D.F. p. 120- 154. In S. A. de C. V. Trillas (Ed.), *Aspectos Nutricionales y Sensoriales de Vegetales Frescos Cortados*. (pp. 120–154). México, D.F.
- De Corato, U. (2019). Improving the shelf-life and quality of fresh and minimally-processed fruits and vegetables for a modern food industry: A comprehensive critical review from the traditional technologies into the most promising advancements. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 0(0), 1–36. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1553025>
- Del Nobile, M., Conte, A., Mastromatteo, M., Mastromatteo, M., y Marcella. (2012). Modified atmosphere packaging. In V. M. Gómez-López (Ed.), *Decontamination of Fresh and Minimally Processed Produce* (First Edit, p. 453). New Jersey, EEUU: John Wiley & Sons, Ltd., Publication.
- Delgado Olivares, L., Betanzos Cabrera, G., y Sumaya Martínez, M. (2010). Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. *Investigación y Ciencia: De La Universidad Autónoma de Aguascalientes*, (50), 10–15.
- Derringer, G., & Suich, R. (1980). Several Response Variables. *Journal of Quality Technology*, 12(4), 214–219.
- Di Vittori, L., Mazzoni, L., Battino, M., y Mezzetti, B. (2018). Pre-harvest factors influencing the quality of berries. *Scientia Horticulturae*, 233(July 2017), 310–322. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.01.058>
- Erickson, M. C. (2012). Internalization of Fresh Produce by Foodborne Pathogens. *Annual Review of Food Science and Technology*, 3(1), 283–310. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101211>
- Falagán, N., y Terry, L. A. (2018). Recent Advances in Controlled and Modified Atmosphere of Fresh Produce. *Johnson Matthey Technology Review*, 62(1), 107–117. <https://doi.org/10.1595/205651318X696684>
- FAO. (2014). *EL ESTADO DE LAS GUÍAS ALIMENTARIAS BASADAS EN ALIMENTOS EN AMÉRICA LATINA Y EL CARIBE*.
- FDA. (2018). Bacteriological Analytical Manual (BAM). Retrieved November 7, 2019, from <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam>

- FDA, y Code of Federal Regulations. (2019a). INDIRECT FOOD ADDITIVES: ADJUVANTS, PRODUCTION AIDS, AND SANITIZERS. Retrieved November 5, 2019, from <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=178.1010>
- FDA, y Code of Federal Regulations. (2019b). SECONDARY DIRECT FOOD ADDITIVES PERMITTED IN FOOD FOR HUMAN CONSUMPTION. Retrieved November 5, 2019, from <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=173.370>
- Fonseca, S. C., Oliveira, F. A. R., y Brecht, J. K. (2002). Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: A review. *Journal of Food Engineering*, 52(2), 99–119. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(01\)00106-6](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(01)00106-6)
- FoodDataCentral, y USDA. (2019). Strawberry, raw. Retrieved November 6, 2019, from <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/341668/nutrients>
- Giampieri, F., Alvarez-suarez, J. M., Battino, M., Agrarie, S., Ambientali, A., Politecnica, U., y Ranieri, V. (2014). Strawberry and Human Health : Effects beyond Antioxidant Activity. <https://doi.org/10.1021/jf405455n>
- Giampieri, F., Forbes-Hernandez, T. Y., Gasparini, M., Alvarez-Suarez, J. M., Afrin, S., Bompadre, S., y Battino, M. (2016). Strawberry as a health promoter: An evidence based review. *Food and Function*, 6(5), 1386–1398. <https://doi.org/10.1039/c5fo00147a>
- Giampieri, F., Tulipani, S., Alvarez-Suarez, J. M., Quiles, J. L., Mezzetti, B., y Battino, M. (2012). The strawberry: Composition, nutritional quality, and impact on human health. *Nutrition*, 28(1), 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2011.08.009>
- Gil, M. I., y Allende, A. (2012). Minimal Processing. *Decontamination of Fresh and Minimally Processed Produce*, (FEBRUARY 2012), 105–120. <https://doi.org/10.1002/9781118229187.ch6>
- Giovannoni, J. (2001). MOLECULAR BIOLOGY OF FRUIT MATURATION AND RIPENING. *Annual Review of Plant Biology*, 52(1), 725–749.
- González-Aguilar, G., Ayala-Zavala, F., Chaidez-Quiroz, C., Heredia, J. B., y Castro-del Campo, N. (2012). Peroxyacetic acid. In V. M. Gómez-López (Ed.), *Decontamination of Fresh and Minimally Processed Produce* (First edit, p. 215). New Jersey, EEUU: John Wiley & Sons, Ltd., Publication.
- González, M., y Lobo, G. M. (2005). Técnicas de Procesamiento. In G. A. G. Aguilar, A. Gardea, & F. Cuamea-Navarro (Eds.), *Nuevas Tecnologías de Conservación de Productos Vegetales Frescos Cortados*. (pp. 97–115). Guadalajara, México: Logiprint Digital S. de R. L. de C. V.
- Gündüz, K. (2015). *Strawberry: Phytochemical Composition of Strawberry (Fragaria × ananassa). Nutritional Composition of Fruit Cultivars*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-408117-8.00030-1>

- Hernández-Muñoz, P., Almenar, E., Ocio, M. J., y Gavara, R. (2006). Effect of calcium dips and chitosan coatings on postharvest life of strawberries (*Fragaria x ananassa*). *Postharvest Biology and Technology*, 39(3), 247–253. <https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2005.11.006>
- Ignat, I., Volf, I., y Popa, V. I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 126(4), 1821–1835. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.026>
- Jacxsens, L., Devlieghere, F., Van der Steen, C., y Debevere, J. (2001). Effect of high oxygen modified atmosphere packaging on microbial growth and sensorial qualities of fresh-cut produce. *International Journal of Food Microbiology*, 71, 197–210. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00616-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00616-X)
- Jensen, B., Knudsen, I. M. B., Andersen, B., Nielsen, K. F., Thrane, U., Jensen, D. F., y Larsen, J. (2013). Characterization of microbial communities and fungal metabolites on field grown strawberries from organic and conventional production. *International Journal of Food Microbiology*, 160(3), 313–322. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2012.11.005>
- Jin Heo, H., y Yong Lee, C. (2005). Strawberry and its anthocyanins reduce oxidative stress-induced apoptosis in PC12 cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1984–1989. <https://doi.org/10.1021/jf048616l>
- Kader, A. A. (2002). Quality parameters of fresh-cut fruit and vegetable products. In O. Lamikanra (Ed.), *Fresh-cut fruits and vegetables. Science, technology and market* (pp. 11–20). Florida: CRC Press, Boca Raton.
- Kader, A. A., y Ben-Yehoshua, S. (2000). Effects of superatmospheric oxygen levels on postharvest physiology and quality of fresh fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 20(1), 1–13. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(00\)00122-8](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(00)00122-8)
- Kafkas, E., Koşar, M., Paydaş, S., Kafkas, S., y Başer, K. H. C. (2007). Quality characteristics of strawberry genotypes at different maturation stages. *Food Chemistry*, 100(3), 1229–1236. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2005.12.005>
- Karadag, A., Ozcelik, B., y Saner, S. (2009). Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. *Food Analytical Methods*, 2(1), 41–60. <https://doi.org/10.1007/s12161-008-9067-7>
- Kirschbaum, et al. (2017). Panorama del cultivo de Frutilla en junio de 2017, (July), 1–11. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.30332.64645>
- Lafarga, T., Colás-medà, P., Abadías, M., Aguiló-aguayo, I., y Bobo, G. (2019). Strategies to reduce microbial risk and improve quality of fresh and processed strawberries : A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 52, 197–212. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.12.012>
- Laidler, M. R., Tourdjman, M., Buser, G. L., Hostetler, T., Repp, K. K., Leman, R., y Keene, W. E. (2013). *Escherichia coli* O157:H7 Infections Associated With Consumption of

- Locally Grown Strawberries Contaminated by Deer. *Clinical Infectious Diseases*, 57(8), 1129–1134. <https://doi.org/10.1093/cid/cit468>
- Landfeld, A., Erban, V., Kováříková, E., Houška, M., Kýhos, K., Pruchová, J., y Novotná, P. (2010). Decontamination of cut carrot by Persteril® agent based on the action of peroxyacetic acid. *Czech Journal of Food Sciences*, 28(6), 564–571. <https://doi.org/10.17221/212/2008-cjfs>
- Lee, J., Koo, N., y Min, D. B. (2004). Reactive Oxygen Species, Aging, and Antioxidative Nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3, 21–33. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2004.tb00058.x>
- Lee, S. K., y Kader, A. A. (2000). Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops, 20, 207–220.
- López-Gálvez, F., Ragaert, P., Haque, M. A., Eriksson, M., van Labeke, M. C., y Devlieghere, F. (2015). High oxygen atmospheres can induce russet spotting development in minimally processed iceberg lettuce. *Postharvest Biology and Technology*, 100, 168–175. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.10.001>
- Luo, Y., He, Q., y McEvoy, J. L. (2010). Effect of storage temperature and duration on the behavior of Escherichia coli O157:H7 on packaged fresh-cut salad containing romaine and iceberg lettuce. *Journal of Food Science*, 75(7), 390–397. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01722.x>
- Luukkonen, T., y Pehkonen, S. O. (2017). Peracids in water treatment: A critical review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 47(1), 1–39. <https://doi.org/10.1080/10643389.2016.1272343>
- Maghoughi, M., Mostofi, Y., Zamani, Z., Talaie, A., Boojar, M., y Perla, A. G. (2014). Influence of hot-air treatment, superatmospheric O₂ and elevated CO₂ on bioactive compounds and storage properties of fresh-cut pomegranate arils, 153–159. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12290>
- Martín-Belloso, O., y Rojas-Graü, M. (2005). Factores que afectan la calidad. In G. A. González-Aguilar, A. A. Gardea, & F. Cuamea-Navarro (Eds.), *Nuevas Tecnologías de Conservación de Productos Vegetales Frescos Cortados*. (pp. 77–93). Guadalajara, México: Logiprint Digital S. de R. L. de C. V.
- Martínez-Hernández, G. B., Huertas, J. P., Navarro-Rico, J., Gómez, P. A., Artés, F., Palop, A., y Artés-Hernández, F. (2015). Inactivation kinetics of foodborne pathogens by UV-C radiation and its subsequent growth in fresh-cut kailan-hybrid broccoli. *Food Microbiology*, 46, 263–271. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.08.008>
- Mirdehghan, S. H., y Rahemi, M. (2007). Seasonal changes of mineral nutrients and phenolics in pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit. *Scientia Horticulturae*, 111(2), 120–127. <https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2006.10.001>
- Montero-Calderón, M., Rojas-Graü, M. A., Aguiló-Aguayo, I., Soliva-Fortuny, R., y Martín-Belloso, O. (2010). Influence of modified atmosphere packaging on volatile compounds and physicochemical and antioxidant attributes of fresh-cut pineapple

- (Ananas comosus). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 5042–5049. <https://doi.org/10.1021/jf904585h>
- Montgomery, D. C. (2001). *Design and analysis of experiments*. John Wiley & Sons, Ltd., Publication.
- Moreno, J., Petzold, G., Pavez, C., y Zuñiga, P. (2014). Strawberries: Antioxidant Properties, Health Benefits and Innovative Technologies. In N Malone (Ed.), *Strawberries: Cultivation, Antioxidant Properties and Health Benefits* (p. 189). New York: Nova Science Publishers, Inc.
- Nicolau-lapeña, I., Abadias, M., Bobo, G., Aguiló-aguayo, I., Lafarga, T., y Viñas, I. (2019). Strawberry sanitization by peracetic acid washing and its effect on fruit quality. *Journal Of Food Microbiology*, 83(April), 159–166. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.05.004>
- Nile, S., y Park, S. (2013). Edible berries : Review on bioactive components and their effect on human health. *Nutrition*, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2013.04.007>
- Nováková, L., Solich, P., y Solichová, D. (2008). HPLC methods for simultaneous determination of ascorbic and dehydroascorbic acids. *Trends in Analytical Chemistry*, 27(10), 942–958. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2008.08.006>
- Odriozola-Serrano, I., Soliva-Fortuny, R., y Martín-Belloso, O. (2010). Changes in bioactive composition of fresh-cut strawberries stored under superatmospheric oxygen, low-oxygen or passive atmospheres. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(1), 37–43. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2009.07.007>
- Oliveira, M., Abadias, M., Usall, J., Torres, R., Teixidó, N., y Viñas, I. (2015). Application of modified atmosphere packaging as a safety approach to fresh-cut fruits and vegetables – A review. *Trends in Food Science & Technology*, 46(1), 13–26. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2015.07.017>
- Ölmez, H. (2016). Foodborne pathogenic bacteria in fresh-cut vegetables and fruits. In *Food Hygiene and Toxicology in Ready-to-Eat Foods* (pp. 151–166). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801916-0.00009-1>
- Oms-Oliu, G., Odriozola-Serrano, I., Soliva-Fortuny, R., y Martín-Belloso, O. (2008). Antioxidant Content of Fresh-Cut Pears Stored in High-O₂ Active Packages Compared with Conventional Low-O₂ Active and Passive Modified Atmosphere Packaging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(3), 932–940. <https://doi.org/10.1021/jf071210z>
- Oms-Oliu, G., Raybaudi-Massilia Martínez, R. M., Soliva-Fortuny, R., y Martín-Belloso, O. (2008). Effect of superatmospheric and low oxygen modified atmospheres on shelf-life extension of fresh-cut melon. *Food Control*, 19(2), 191–199. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2007.03.009>
- Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., y Martín-Belloso, O. (2008). Physiological and microbiological changes in fresh-cut pears stored in high oxygen active packages

- compared with low oxygen active and passive modified atmosphere packaging. *Postharvest Biology and Technology*, 48, 295–301. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.10.002>
- Pérez, A. G., y Sanz, C. (2001). Effect of high-oxygen and high-carbon-dioxide atmospheres on strawberry flavor and other quality traits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(5), 2370–2375. <https://doi.org/10.1021/jf001438l>
- Piagentini, A., Martín, L., Güemes, D., y Pirovani, M. (2012). Color Changes in Fresh-Cut Fruits as Affected by Cultivar, Chemical Treatment, and Storage Time and Temperature 28. In J. L. Caivano & M. P. Buera (Eds.), *Color in food: technological and psychophysical aspects*. (pp. 263–270). Florida: CRC, Boca Raton.
- Pirovani, M., Güemes, D., y Piagentini, A. (2006). *Procesamiento de vegetales frescos cortados*. Santa Fe: Universidad Nacional del Litoral.
- Pombo, M. (2009). *Irradiación de frutillas con UV-C: efecto sobre la síntesis de proteínas, degradación de la pared celular y mecanismos de defensa*.
- Qadri, O. S., Yousuf, B., y Srivastava, A. K. (2015). Fresh-cut fruits and vegetables: Critical factors influencing microbiology and novel approaches to prevent microbial risks- A review. *Cogent Food & Agriculture*, 1(1), 1–11. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1121606>
- Ramos, B., Miller, F. A., Brandão, T. R. S., Teixeira, P., y Silva, C. L. M. (2013). Fresh fruits and vegetables - An overview on applied methodologies to improve its quality and safety. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 20, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.07.002>
- Rangel-Marrón, M., y López-Malo, M. (2012). Cambios en frutas tropicales frescas , cortadas y empacadas en atmósfera modificada durante su almacenamiento en refrigeración. *Temas Selectos En Ingeniería de Alimentos*, 6, 94–109.
- Reyes, S. (2007). *Efecto de la variedad y del procesamiento sobre la vida útil de frutillas mínimamente procesadas*. Universidad Nacional del Litoral.
- Rico, D., Martín-Diana, A. B., Barat, J. M., y Barry-Ryan, C. (2007). Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. *Trends in Food Science and Technology*, 18, 373–386. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.03.011>
- Rodgers, S. (2016). Minimally Processed Functional Foods: Technological and Operational Pathways. *Journal of Food Science*, 81(10), R2309–R2319. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13422>
- Rodgers, S. L., Cash, J. N., Siddiq, M., y Ryser, E. T. (2004). A comparison of different chemical sanitizers for inactivating Escherichia coli O157:H7 and Listeria monocytogenes in solution and on apples, lettuce, strawberries, and cantaloupe. *Journal of Food Protection*, 67(4), 721–731. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.4.721>
- Ruiz López, M., y García-Villanova Ruiz, B Abellán Ballesta, P. (2010). Frutas y productos

- derivados. In A. Gil (Ed.), *Tratado de Nutrición tomo II Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos*. (pp. 167–197). Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Sánchez-Moreno, C., Plaza, L., de Ancos, B., y Cano, M. P. (2003). Quantitative bioactive compounds assessment and their relative contribution to the antioxidant capacity of commercial orange juices. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *83*(5), 430–439. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1392>
- Sandhya. (2010). Modified atmosphere packaging of fresh produce: Current status and future needs. *LWT - Food Science and Technology*, *43*(3), 381–392. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.05.018>
- Silveira, A. C., Conesa, A., Aguayo, E., y Artes, F. (2008). Alternative sanitizers to chlorine for use on fresh-cut “galia” (cucumis melo var. catalupensis) melon. *Journal of Food Science*, *73*(9), 405–411. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00939.x>
- Singleton, V. L., y Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, *16*(3), 144 LP – 158. Retrieved from <http://www.ajevonline.org/content/16/3/144.abstract>
- Soliva-Fortuny, R C, Oms-Oliu, G., y Martín-Belloso, O. (2002). Effects of Ripeness Stages on the Storage Atmosphere, Color, and Textural Properties of Minimally Processed Apple Slices. *Journal of Food Science*, *67*(5), 1958–1963. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08752.x>
- Soliva-Fortuny, Robert C, y Martín-Belloso, O. (2003). New advances in extending the shelf-life of fresh-cut fruits: a review. *Trends in Food Science & Technology*, *14*(9), 341–353. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(03\)00054-2](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(03)00054-2)
- Sordo, M. H., Travadelo, M., y Pernuzzi, C. (2017). Evolución del cultivo de frutilla en la provincia de Santa Fe (Argentina) en los últimos 50 años, *36*(90), 13–24.
- Statgraphics. (2009). Centurion XVI User manual, 305.
- Tapia, M. R., Aguilar, G. A. G., Zavala, J. F. A., Shafi, M., y Siddiqui, M. W. (2015). Minimally Processed Foods, 57–78. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-10677-9>
- Tarola, A. M., Van de Velde, F., Salvagni, L., y Preti, R. (2013). Determination of Phenolic Compounds in Strawberries (*Fragaria ananassa* Duch) by High Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection. *Food Analytical Methods*, *6*(1), 227–237. <https://doi.org/10.1007/s12161-012-9431-5>
- Tian, S., Jiang, A., Xu, Y., y Wang, Y. (2004). Food Chemistry Responses of physiology and quality of sweet cherry fruit to different atmospheres in storage, *87*, 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.10.014>
- Tomás-Barberán, F. A., y Espín, J. C. (2001). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *81*(9), 853–876. <https://doi.org/10.1002/jsfa.885>

- Tyagi, S., Sahay, S., Imran, M., y Rashmi, K. (2017). Pre-harvest Factors Influencing the Postharvest Quality of Fruits: A Review, 23(4), 1–12. <https://doi.org/10.9734/BJAST/2017/32909>
- Van de Velde, F. (2012). *Cambios en el potencial saludable y la calidad nutricional y sensorial de frutillas mínimamente procesadas como consecuencia de las condiciones de procesamiento, la temperatura y el tiempo de almacenamiento*. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe. Argentina. Retrieved from <http://hdl.handle.net/11185/475>
- Van de Velde, F., Vaccari, M. C., Piagentini, A. M., y Pirovani, M. E. (2016). Optimization of strawberry disinfection by fogging of a mixture of peracetic acid and hydrogen peroxide based on microbial reduction, color and phytochemicals retention. *Food Science and Technology International*. <https://doi.org/10.1177/1082013215625696>
- Van de Velde, Franco, Grace, M. H., Pirovani, M. É., y Lila, M. A. (2016). Impact of a new postharvest disinfection method based on peracetic acid fogging on the phenolic profile of strawberries. *Postharvest Biology and Technology*, 117, 197–205. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.03.005>
- Van de Velde, Franco, Güemes, D. R., y Pirovani, M. É. (2014). Optimization of the peracetic acid washing disinfection of fresh-cut strawberries based on microbial load reduction and bioactive compounds retention. *International Journal of Food Science and Technology*, 49, 634–640. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12346>
- Van de Velde, Franco, Méndez-Galarraga, M. P., Grace, M. H., Fenoglio, C., Ann, M., y Pirovani, M. E. (2019). Changes due to high oxygen and high carbon dioxide atmospheres on the general quality and the polyphenolic profile of strawberries. *Postharvest Biology and Technology*, 148, 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.10.015>
- Van de Velde, Franco, Méndez-Galarraga, M. P., Grace, M. H., Fenoglio, C., Lila, M. A., y Pirovani, M. É. (2019). Changes due to high oxygen and high carbon dioxide atmospheres on the general quality and the polyphenolic profile of strawberries. *Postharvest Biology and Technology*, 148, 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.10.015>
- Van de Velde, Franco, Pirovani, M. E., Cámara, M. S., Güemes, D. R., y Bernardi, C. M. D. H. (2012). Optimization and Validation of a UV-HPLC Method for Vitamin C Determination in Strawberries (*Fragaria ananassa* Duch.), Using Experimental Designs. *Food Analytical Methods*, 5, 1097–1104. <https://doi.org/10.1007/s12161-011-9347-5>
- Van der Steen, C., Jacxsens, L., Devlieghere, F., y Debevere, J. (2002). Combining high oxygen atmospheres with low oxygen modified atmosphere packaging to improve the keeping quality of strawberries and raspberries. *Postharvest Biology and Technology*, 26, 49–58.
- Vandekinderen, I., Van Camp, J., Devlieghere, F., Ragaert, P., Veramme, K., Bernaert, N.,

- y De Meulenaer, B. (2009). Evaluation of the use of decontamination agents during fresh-cut leek processing and quantification of their effect on its total quality by means of a multidisciplinary approach. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10(3), 363–373. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.02.002>
- Vandekinderen, I., Van Camp, J., Devlieghere, F., Veramme, K., Denon, Q., Ragaert, P., y De Meulenaer, B. (2008). Effect of decontamination agents on the microbial population, sensorial quality, and nutrient content of grated carrots (*Daucus carota* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 5723–5731. <https://doi.org/10.1021/jf800681a>
- Vicente, A. R., Manganaris, G. A., Ortiz, C. M., Sozzi, G. O., & Crisosto, C. H. (2014). Nutritional Quality of Fruits and Vegetables 5, 69–122. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-408137-6.00005-3>
- Wang, S., Chen, Y., Xu, Y., Wu, J., Xiao, G., y Fu, M. (2014). Super Atmospheric O₂ Packaging Maintains Postharvest Quality of Cherry (*Prunus avium* L.) Fruit. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(4), 2037–2046. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12181>
- Wszelaki, a. L., y Mitcham, E. J. (2000). Effects of superatmospheric oxygen on strawberry fruit quality and decay. *Postharvest Biology and Technology*, 20, 125–133. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(00\)00135-6](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(00)00135-6)
- Zhang, B. Y., Samapundo, S., Pothakos, V., Sürengil, G., y Devlieghere, F. (2013). Effect of high oxygen and high carbon dioxide atmosphere packaging on the microbial spoilage and shelf-life of fresh-cut honeydew melon. *International Journal of Food Microbiology*, 166(3), 378–390. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.08.002>
- Zheng, Y., Wang, S. Y., Wang, C. Y., y Zheng, W. (2007). Changes in strawberry phenolics, anthocyanins, and antioxidant capacity in response to high oxygen treatments. *LWT - Food Science and Technology*, 40, 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.08.013>
- Zheng, Y., Yang, Z., y Chen, X. (2008). Effect of high oxygen atmospheres on fruit decay and quality in Chinese bayberries, strawberries and blueberries. *Food Control*, 19, 470–474. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.05.011>
- Zoellner, C., y Siddiqui, M. W. (2018). *Peracetic Acid in Disinfection of Fruits and Vegetables. Postharvest Disinfection of Fruits and Vegetables*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812698-1.00002-9>