

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 Magíster en Ciencia y Tecnología de Alimentos.

**“EVALUACIÓN DE LA FACTIBILIDAD DE LA IMPREGNACIÓN POR VACÍO SUAVE
EN LA ELABORACIÓN DE FRUTILLAS Y MANZANAS FRESCAS CORTADAS”**

Autora: Ing. María Auxiliadora Faicán Benenaula

Directora de Tesis: Mg. María Élide Pirovani

Co-Directora de Tesis: Mg. Andrea Marcela Piagentini

Miembros del Jurado:

Dr. Raúl Esteban CIAN

Dra. Silvia del Carmen RODRIGUEZ

Dra. Sonia Cecilia SGROPPO

INSTITUTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

FIQ-UNL

-2021-

“Para mí, llegar a ser alguien no es llegar a un lugar o lograr un determinado objetivo. Para mí, es un movimiento hacia delante, un medio para evolucionar, una forma de alcanzar continuamente un yo mejor. El viaje no termina”

(Michelle Obama)

Partieron durante este caminar, pero su cariño, enseñanzas, recuerdos y risas permanecen intactos en mi corazón y en mi mente.

En memoria de mis queridos abuelos:

Dorinda Pilco y Víctor Faicán

AGRADECIMIENTOS

A mis directoras Mariel Pirovani y Andrea Piagentini, por haberme permitido desarrollar la presente tesis en el laboratorio de Conservación de Alimentos, por guiarme en el desarrollo de mi trabajo de la mejor manera y por trasmitirme sus valiosos conocimientos.

Un agradecimiento especial para Mariel por su dedicación y generosidad. Gracias por la entrega puesta para la culminación del presente trabajo y por haberme dado la oportunidad de dar continuidad a mi formación académica.

A quienes conforman el Instituto de Tecnología de Alimentos, por el apoyo que de una u otra manera han brindado para que este trabajo pueda efectuarse de manera correcta y a los profesores que han sabido transferir sus conocimientos de la manera más adecuada.

A la Universidad Nacional del Litoral y la Facultad de Ingeniería Química por permitirme continuar con mi formación académica y por los medios para ejecutar el presente trabajo de tesis.

Un agradecimiento para Charito, Cecilia, Roberto por su aporte en el desarrollo de la presente tesis y por haber estado siempre prestos a brindarme la ayuda en diferentes aspectos. Muchas gracias

A mis queridos Chenchinis: Gladys, Paula, Johan, Dina, Juan Diego, Franco, cada uno ha tenido de una u otra forma una contribución en el desarrollo de la presente tesis, y porque a más de ser mis compañeros son mis amigos y parte de mi familia aquí, lejos de casa. Gracias por su compañerismo, su apoyo en cualquier circunstancia y por todos lindos los momentos de risa que hacen tanto bien. Les quiero tanto.

A Dios, a mis queridos padres José y Bertha, a mis hermanos Fran, Mary y Angélica, y a mis sobrinos. Su infinito amor, paciencia, apoyo, dedicación, demuestran que no existen barreras físicas para aquello que se ama con el alma. Gracias por esperarme siempre con los brazos abiertos y ser mi ejemplo para seguir adelante y porque son mi soporte más grande.

A las chicas mesa 8 (Anto, Jani, Mica), por ser una compañía linda en este recorrido, gracias por su amistad y a mis amigos, en Argentina y Ecuador, por estar pendientes de mí, de mis pasos y por estar prestos a darme su apoyo y amistad incondicional.

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

Faicán, M. A., Cortez, J. D., Piagentini, A. M., & Pirovani, M. É. (2018). Impregnación por vacío: Impacto de las variables tecnológicas para la obtención de manzanas mínimamente procesadas. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, 19(2).

Cortez J.D, Faican M., Pirovani M., Piagentini A.M. (2018). Determinación de polifenoles en frutas con vitamina C incorporada: Metodología para mejorar la especificidad del ensayo de Folin-Ciocalteu. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, 19 (2), 147-158

Presentaciones en reuniones científicas:

Faicán M, Piagentini A, Pirovani M. Manzanas impregnadas por vacío suave: influencia de miel y adición de ácidos sobre algunos aspectos de calidad. 7° Congreso de Ciencias Farmacéuticas del Mercosur. Cascavel-Brasil. Noviembre del 2018.

Faicán M, Piagentini A, Pirovani M. Evaluación sobre la reposición o incremento de antocianinas en frutillas mínimamente procesadas. VII Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Córdoba-Argentina. Octubre del 2018.

Faicán M, Piagentini A, Pirovani M. Impregnación por vacío suave: aporte de compuestos bioactivos en frutillas mínimamente procesadas. XVII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Buenos Aires-Argentina. Noviembre del 2019.

Faicán M, Piagentini A, Pirovani M. Ensayo preliminar de aplicación de impregnación por vacío sobre frutillas mínimamente procesadas para recuperar antocianinas. III Congreso Argentino de Biología y Tecnología Postcosecha. Santa Fe-Argentina. Julio del 2021

Faicán M, Piagentini A, Pirovani M. Impregnación por vacío suave: cambios en el potencial saludable de manzanas mínimamente procesadas por adición de miel y ácidos. III Congreso Argentino de Biología y Tecnología Postcosecha. Santa Fe-Argentina. Julio del 2021

INDICE

| | |
|---|-----------|
| INDICE DE TABLAS | 3 |
| INDICE DE FIGURAS | 6 |
| RESUMEN..... | 8 |
| 1. INTRODUCCIÓN | 12 |
| 1.1. CULTIVO Y PRODUCCIÓN DE FRUTILLAS, MANZANAS Y MIEL EN ARGENTINA | 13 |
| 1.1.1. Frutilla..... | 13 |
| 1.1.2. Manzana | 14 |
| 1.1.3. Miel..... | 15 |
| 1.2. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL Y BENEFICIOS DEL CONSUMO DE FRUTILLAS, MANZANAS Y MIEL | 16 |
| 1.2.1. Frutilla..... | 16 |
| 1.2.2. Manzana | 23 |
| 1.2.3. Comparación de la composición nutricional y compuestos fenólicos en frutilla y manzana | 28 |
| 1.2.4. Miel..... | 32 |
| 1.3. GENERALIDADES EN EL MÍNIMO PROCESAMIENTO DE FRUTAS Y HORTALIZAS | 35 |
| 1.3.1. Etapas generales de mínimo procesamiento de frutas y hortalizas | 36 |
| 1.4. LA IMPREGNACIÓN POR VACÍO (IV) COMO UN MÉTODO DE CONSERVACIÓN..... | 42 |
| 1.4.1. Generalidades de la impregnación por vacío | 42 |
| 1.4.2. Fundamentos de la impregnación por vacío | 43 |
| 1.4.3. Aplicaciones de la impregnación por vacío en frutas y hortalizas | 45 |
| 2. OBJETIVOS..... | 59 |
| 2.1. OBJETIVO GENERAL..... | 60 |
| 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 60 |
| 3. MATERIALES Y MÉTODOS | 61 |
| 3.1. DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO DE IMPREGNACIÓN POR VACÍO | 62 |
| 3.2. ENSAYOS DE IMPREGNACIÓN POR VACÍO | 63 |
| 3.2.1. Materia Prima | 63 |
| 3.2.2. Ensayos de impregnación por vacío en frutillas..... | 65 |
| 3.2.3. Ensayos de impregnación por vacío en manzanas..... | 67 |

| | |
|---|------------|
| 3.3. DETERMINACIONES ANALÍTICAS PARA FRUTILLAS Y MANZANAS..... | 69 |
| 3.3.1. Determinación de parámetros de transferencia de masa | 69 |
| 3.3.2. Determinación de sólidos Solubles, pH y contenido de humedad | 70 |
| 3.3.3. Determinación de firmeza | 70 |
| 3.3.4. Determinación de parámetros de color | 71 |
| 3.3.5. Determinación de Vitamina C | 73 |
| 3.3.6. Determinación antocianinas totales en frutillas | 78 |
| 3.3.7. Determinación del perfil de antocianinas en frutillas | 79 |
| 3.3.7. Determinación de actividad antioxidante | 80 |
| 3.3.8. Determinación de fenoles totales | 82 |
| 3.4. ANÁLISIS DE DATOS..... | 87 |
| 3.4.1. Expresión de resultados | 87 |
| 3.4.2. Análisis estadístico..... | 87 |
| 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 88 |
| 4.1. ENSAYOS DE IMPREGNACIÓN POR VACÍO EN FRUTILLAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS..... | 89 |
| 4.1.1. Estudio para evaluar la factibilidad de aplicación del proceso de impregnación por vacío en frutillas mínimamente procesadas | 89 |
| 4.1.2. Tratamientos de impregnación por vacío en frutillas mínimamente procesadas con diferentes soluciones osmóticas y tiempos de aplicación del vacío | 106 |
| 4.1.3 Caracterización del potencial saludable de frutillas impregnadas con la solución osmótica de jugo natural de frutilla | 120 |
| 4.2. ENSAYOS DE IMPREGNACIÓN POR VACÍO EN MANZANAS | 123 |
| 5. CONCLUSIONES | 142 |
| 6.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 146 |

INDICE DE TABLAS

| | |
|---|-----|
| Tabla 1.1 Composición nutricional de frutilla y manzana..... | 27 |
| Tabla 1.2 Compuestos fenólicos presentes en frutilla y manzana..... | 28 |
| Tabla 1.3 Aporte nutricional de compuestos más relevantes presentes en frutilla y manzana..... | 30 |
| Tabla 1.4 Contenido nutricional de la miel. | 32 |
| Tabla 1.5 Compuestos fenólicos encontrados en miel. | 33 |
| Tabla 1.6 Mínimo procesamiento de frutillas y manzanas para mantener su calidad y seguridad alimentaria..... | 39 |
| Tabla 3.1. Concentración y pH de las soluciones osmóticas (SO) empleadas en el proceso de impregnación por vacío | 64 |
| Tabla 4.1 Influencia de la solución osmótica y el tiempo de almacenamiento sobre la variación relativa porcentual del contenido de antocianinas en frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío. | 89 |
| Tabla 4.2 Variación relativa de antocianinas totales al día cero y después de 7 días de almacenamiento a 1,5°C, para frutillas frescas cortadas, impregnadas por vacío. | 90 |
| Tabla 4.3 Ganancia de sólidos, pérdida de agua y reducción de peso después del tratamiento de IV de frutillas frescas cortadas..... | 92 |
| Tabla 4.4 Influencia de la solución osmótica y el tiempo de almacenamiento (día) sobre la variación relativa porcentual de sólidos solubles y pH en frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío... .. | 94 |
| Tabla 4.5 Variación relativa de sólidos solubles y pH al día cero y después de 7 días de almacenamiento a 1,5°C, para frutillas frescas cortadas, impregnadas por vacío. | 95 |
| Tabla 4.6 Influencia de la solución osmótica y el tiempo de almacenamiento (día) sobre la variación relativa porcentual de la firmeza en frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío..... | 97 |
| Tabla 4.7 Variación relativa porcentual para firmeza al día cero y después de siete días de almacenamiento a 1,5°C, para frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío. | 98 |
| Tabla 4.8 Influencia de la solución osmótica y el tiempo de almacenamiento (día) sobre la variación relativa porcentual para los parámetros de color (L^* , C^*_{ab} y h_{ab}) para frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío. | 100 |

| | |
|--|-----|
| Tabla 4.9 Variación relativa porcentual para los parámetros de color (L^* , C^*_{ab} y h_{ab}) para frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío en el día cero y después de 7 días de almacenamiento a $1,5^\circ\text{C}$ | 101 |
| Tabla 4.10 Influencia de la solución osmótica y el tiempo de almacenamiento (día) sobre la diferencia total de color de frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío. | 102 |
| Tabla 4.11 Diferencia total de color para frutillas frescas cortadas sometidas a Impregnación por vacío, al día cero y después de 7 días de almacenamiento a $1,5^\circ\text{C}$ | 103 |
| Tabla 4.12 Influencia de la solución osmótica y el tiempo de almacenamiento sobre el contenido de antocianinas de frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío | 106 |
| Tabla 4.13 Variación relativa de antocianinas totales al día cero y después de 7 días de almacenamiento a $1,5^\circ\text{C}$, para frutillas frescas cortadas, impregnadas por vacío. | 107 |
| Tabla 4.14 Influencia de la solución osmótica y el tiempo de vacío (t_v) sobre los parámetros de transferencia de masa: ganancia de sólidos (SG), pérdida de agua (WL) y reducción de peso (WR), para frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío..... | 110 |
| Tabla 4.15 Ganancia de sólidos (SG), pérdida de agua (WL) y reducción de peso (WR) después del tratamiento de IV de frutillas frescas cortadas | 111 |
| Tabla 4.16 Influencia de la solución osmótica (SO), tiempo de vacío (t_v) y tiempo de almacenamiento (t) sobre la variación porcentual de sólidos solubles (ΔSS) y pH (ΔpH), de frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío..... | 113 |
| Tabla 4.17 Variación relativa de sólidos solubles (ΔSS_i) al día cero y después de 7 días de almacenamiento a $1,5^\circ\text{C}$, para frutillas frescas cortadas, impregnadas por vacío. | 114 |
| Tabla 4.18 Variación relativa de pH al día cero y después de 7 días de almacenamiento a $1,5^\circ\text{C}$, para frutillas frescas cortadas, impregnadas por vacío | 116 |
| Tabla 4.19 Variación relativa del perfil de antocianinas: de frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío con la solución osmótica de jugo natural de frutilla (JF) a tiempo de vacío 7,5 min para el día cero y después de 7 días de almacenamiento a $1,5^\circ\text{C}$ | 120 |
| Tabla 4.20 Variación relativa de ácido ascórbico total (ΔAAT_i), capacidad antioxidante (ΔCA_i) y fenoles totales (ΔFT_i) para el día cero y después de 7 días de almacenamiento a $1,5^\circ\text{C}$, para frutillas frescas cortadas, impregnadas por vacío con la solución osmótica de jugo natural de frutilla (JF) a tiempo de vacío 7,5 min | 121 |
| Tabla 4.21 Ganancia de sólidos (SG), pérdida de agua (WL) y reducción de peso (WR) después del tratamiento de IV de manzanas frescas cortadas | 122 |

| | |
|--|-----|
| Tabla 4.22 Influencia de la solución osmótica (SO) y el tiempo de almacenamiento (t) sobre la variación relativa porcentual de sólidos solubles (ΔSS) y pH (ΔpH) en manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío. | 124 |
| Tabla 4.23 Variación relativa de sólidos solubles (ΔSS_i) y ΔpH_i al día cero y después de 7 días de almacenamiento a 1,5°C, para manzanas frescas cortadas, impregnadas por vacío. | 125 |
| Tabla 4.24 Influencia de la solución osmótica y el tiempo de almacenamiento (t) sobre la variación relativa porcentual de la firmeza (ΔF) en manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío. | 127 |
| Tabla 4.25 Variación relativa porcentual para firmeza (ΔF_i) al día cero y después de siete días de almacenamiento a 1,5°C, para manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío. | 128 |
| Tabla 4.26 Influencia de la solución osmótica y el tiempo de almacenamiento (t) sobre la variación relativa porcentual de los parámetros de color (L^* , C^*_{ab} y h_{ab}) en manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío. | 130 |
| Tabla 4.27 Variación relativa porcentual para los parámetros de color (L^* , h_{ab} y C^*_{ab}) para manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío en el día cero y después de 7 días de almacenamiento a 1,5°C..... | 131 |
| Tabla 4.28 Influencia de la solución osmótica y el tiempo de almacenamiento (t) sobre la diferencia total de color (ΔE^*) en manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío. | 132 |
| Tabla 4.29 Diferencia total de color (ΔE^*_{abi}) para manzanas frescas cortadas sometidas a Impregnación por vacío, al día cero y después de siete días de almacenamiento a 1,5°C.... | 133 |
| Tabla 4.30 Influencia de la solución osmótica (SO) y el tiempo de almacenamiento (t) sobre la variación relativa porcentual de ácido ascórbico total (ΔAAT), contenido de fenoles totales (ΔCFT) y capacidad antioxidante (ΔCA) en manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío..... | 135 |
| Tabla 4.31 Variación relativa porcentual del contenido de ácido ascórbico total (ΔAAT_i), contenido de fenoles totales (ΔCFT_i) y capacidad antioxidante (ΔAC_i) para manzanas frescas cortadas sometidas a impregnación por vacío en el día 0 y después de 7 días de almacenamiento a 1,5°C..... | 136 |

INDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1.1 Esqueleto de fenilbenzopirano, estructura básica de los flavonoides... .. | 18 |
| Figura 1.2 Estructura química de las antocianinas..... | 18 |
| Figura 1.3 Compuestos fenólicos identificados en frutillas.... .. | 20 |
| Figura 1.4 Compuestos fenólicos encontrados en manzana..... | 24 |
| Figura 1.5 Efectos benéficos del consumo de miel..... | 34 |
| Figura 1.6 Diagrama de flujo general para la producción de frutas y hortalizas recién cortadas..... | 36 |
| Figura 1.7 Tecnologías de mínimo procesamiento para frutas y hortalizas..... | 38 |
| Figura 3.1 Esquema del equipo de impregnación por vacío diseñado para el desarrollo de la tesis..... | 61 |
| Figura 3.2 Equipo de impregnación por vacío..... | 62 |
| Figura 3.3 Frutillas cultivadas en la localidad de Coronda-Santa Fe..... | 63 |
| Figura 3.4 Manzanas empleadas en el desarrollo del estudio, adquiridas en el mercado local. | 63 |
| Figura 3.5 Proceso de impregnación por vacío correspondiente a ensayos preliminares | 65 |
| Figura 3.6 Diagrama de flujo del proceso de Impregnación por vacío para frutillas frescas cortadas..... | 66 |
| Figura 3.7 Diagrama de flujo del proceso de impregnación por vacío de manzanas frescas cortadas..... | 67 |
| Figura 3.8 Refractómetro portátil digital a), pHmetro b) y medidor de humedad c), utilizados para determinación de sólidos solubles y pH de las muestras | 69 |
| Figura 3.9 a) Texturómetro TA.XT Plus (Stable Micro System) empleado en el análisis, b) curva de penetración fuerza máxima (N) vs tiempo(s) de una muestras de manzana y c) curva de penetración fuerza máxima (N) vs tiempo(s) de una muestra frutillas frescas cortadas..... | 70 |
| Figura 3.10 Coordenadas de color en el sistema Hunter Lab | 72 |
| Figura 3.11 Cromatógrafo líquido de alta resolución SHIMADZU serie LC-20A | 73 |
| Figura 3.12 Curva de calibrado de concentración de AAT (mg L ⁻¹) vs área (mv.s)..... | 75 |

| | |
|---|-----|
| Figura 3.13 Curva de calibrado con AA del porcentaje de DPPH* remanente..... | 81 |
| Figura 3.14 Esquema para corrección del contenido de fenoles totales por sustracción de la actividad reductora del ácido ascórbico..... | 83 |
| Figura 4.1 Soluciones osmóticas empleadas en el proceso de impregnación por vacío de frutillas frescas cortadas. | 111 |
| Figura 4.2 Frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío con diferentes soluciones osmóticas | 112 |
| Figura 4.3 Cromatograma del perfil de antocianinas pelargonidin 3-O-glucósido (P3G), cianidin 3-O-glucósido (C3G) y pelargonidin 3-O-rutinosido (P3R) | 122 |
| Figura 4.4 Manzanas frescas cortadas sin tratar y manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío con diferentes soluciones osmóticas de miel en el día cero y después de siete días de almacenamiento a 1,5 °C..... | 137 |

RESUMEN

El trabajo de tesis tuvo como objetivo evaluar la factibilidad de la aplicación de la tecnología de impregnación por vacío (IV) en frutillas y manzanas mínimamente procesadas, bajo diferentes condiciones de procesamiento, con la finalidad de obtener productos con características de calidad mejoradas, manteniendo su calidad de “fruta fresca”.

Como parte inicial del trabajo se evaluó la factibilidad de aplicación del proceso de IV para recuperar antocianinas, perdidas durante las operaciones previas en el proceso de preparación de frutillas frescas cortadas, para ello se aplicó IV con diferentes soluciones osmóticas ($P=67,7\text{mbar}$; tiempo de vacío= $7,5\text{ min}$, tiempo de relajación= $7,5\text{ min}$, relación fruta: SO $1:10\text{p/p}$, $T=22^\circ\text{C}$). En este caso se usaron 3 soluciones osmóticas (SO): jugo natural de frutilla + 1% ácido ascórbico + 1% ácido cítrico (JF), $JF_2= \text{JF diluido a la mitad}$, $JF_3= \text{JF diluido a la tercera parte}$. Se evaluaron los parámetros de transferencia de masa (%): ganancia de sólidos (SG), pérdida de agua (WL) y reducción de peso (WR). Asimismo, se determinó el contenido de antocianinas totales (AT_i), sólidos solubles (SS), pH, color (L^*_i , C^*_{abi} , h_{abi}) y firmeza (F) tanto en el día de procesamiento ($i=0$) como luego de 7 d de almacenamiento a $1,5^\circ\text{C}$ ($i=7$). Se encontró que el tratamiento de las muestras con JF permitió incrementar el contenido de AT en el día 0, mientras que en el día 7, se obtuvieron disminuciones en todos los casos. En cuanto a los parámetros de transferencia de masa, se produjo ganancia de sólidos y de agua, siendo mayor al emplear la SO JF_2 y JF_3 , asimismo se produjo ganancia de peso en todos los casos. Los sólidos solubles en el día 0 y 7 se vieron disminuidos al aplicar los diferentes tratamientos sin embargo JF generó la menor disminución en el día 7; en cuanto al pH al día 0 se produjeron cambios leves mientras que al día 7 se generaron incrementos. En lo referente al color, se obtuvieron muestras más oscuras al emplear las soluciones JF y JF_2 en los días 0 y 7, mientras que se obtuvo incremento de la luminosidad al trabajar con la solución JF_3 en el día 7, en todos los casos el color fue más apagado después del tratamiento de IV; la solución osmótica JF produjo aumento del tono rojo en el día 0 y día 7. Por su parte, la firmeza disminuyó en todos los casos tanto en el día 0 y 7, produciéndose la mayor disminución en el día 7 al emplear las SO JF y JF_2 . Se consideró que la SO JF es la alternativa más idónea dentro de las ensayadas, aunque la incorporación de antocianinas fue limitada.

En base a los resultados obtenidos antes mencionados y con el objetivo de ampliar el estudio a otras soluciones osmóticas, se estudió el proceso de IV en frutillas frescas cortadas con distintas soluciones osmóticas de sacarosa y jugo natural de frutilla para obtener frutillas mínimamente procesadas con características mejoradas. Se emplearon cinco SO: jugo natural de frutilla (JF), solución de sacarosa 30°Bx (S₃₀), solución de sacarosa 7°Bx (S₇), JF diluido al 50% llevado a 7°Bx con sacarosa (JF₂S₇) y JF llevado a 30°Bx con sacarosa (JFS₃₀); todas las SO tuvieron adición del 1% de ácido ascórbico y 1% de ácido cítrico, se emplearon dos tiempos de vacío (tv1= 7,5min y tv2= 14min), y se determinaron los cambios en el contenido de antocianinas totales, sólidos solubles y pH, en el día cero y después de 7 días de almacenamiento a 1,5°C, asimismo se determinaron los parámetros de transferencia de masa en el día cero. Se evidenció que la solución osmótica y el tiempo de vacío son importantes ya que pueden generar cambios beneficiosos o desfavorables sobre el contenido de antocianinas y otros atributos de calidad de frutillas. En ese sentido, se ratificó que la impregnación de frutillas con jugo natural de frutilla (JF) es una buena alternativa para reponer o incrementar las antocianinas con cambios mínimos en los sólidos solubles y pH. Por su parte, los tratamientos con soluciones osmóticas hipertónicas generaron notables cambios en las muestras impregnadas que presentaron características diferentes a la fruta fresca original, en ese sentido se produjo mayor SG, WL y WR al emplear SO hipertónicas, los sólidos solubles al día 0 tuvieron cambios mínimos al trabajar con SO isotónicas, mientras que al día 7 se produjo mayor incremento de SS con la SO S₃₀ y tv2 (14min), JF y S₇ produjeron disminución de SS bajo las dos condiciones de tv. El pH en el día 0 mostró disminución mientras que al día 7 mostró un incremento promedio menor al 3,2%. Los tratamientos de frutillas con soluciones osmóticas hipertónicas e isotónicas distintos a JF produjeron disminución del contenido de antocianinas totales, por lo que quedan descartados como una opción para mejorar el potencial bioactivo de las mismas. Por otro lado, se pudo verificar que el tiempo de vacío de 7,5 min permitió incrementar las antocianinas totales en una proporción mayor en comparación con 14 min. Para las frutillas tratadas con JF y 7,5 min de tiempo de vacío se determinó el perfil de antocianinas, vitamina C, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante obteniendo mejora del potencial saludable de dicha fruta. Se obtuvo un incremento de las antocianinas: pelargonidin 3-O-glucósido (>13,3%) cianidin 3-O-glucósido (>26%) y pelargonidin 3-O-rutinosido (>32%), por su parte el incremento de vitamina C fue

superior al 72%, para el contenido de fenoles totales un aumento mayor al 12,4% mientras que la capacidad antioxidante incrementó en un 16,2% y 6% en el día 0 y 7 respectivamente.

Por otra parte, se estudió el proceso de impregnación por vacío en manzanas mínimamente procesadas con solución osmótica de miel variando la concentración de ácido ascórbico y cítrico con el objetivo de determinar los cambios en contenido de vitamina C, sólidos solubles, pH, parámetros de IV, parámetros de color y firmeza. Se emplearon 3 soluciones osmóticas de miel a 30° Brix con y sin adición de ácido cítrico y ácidos ascórbico: M_0 = solución osmótica de miel (SM); $M_{0,5}$ = SM + 0.5% AC + 0.5% AA y M_1 = SM + 1% AC + 1% AA. Para ello, cubos de manzana fueron impregnados ($P=67,7$ mbar, tiempo de vacío=14min, tiempo de relajación=7,5min, relación fruta: SO 1:10p/p, $T=22^\circ\text{C}$). Los resultados más favorables se obtuvieron con la solución osmótica de miel a 30° Brix (M_1), con adición de 1% de ácido ascórbico más 1% de ácido cítrico. El tipo de solución osmótica empleada tuvo influencia sobre diferentes atributos de calidad de la fruta. Si bien todas las soluciones generaron incremento en el contenido de sólidos solubles y disminución de la firmeza, únicamente las SO con ácidos ($M_{0,5}$ y M_1) produjeron disminución de pH y ayudaron a mantener de mejor manera el color de las frutas tratadas por impregnación. Respecto a los cambios de color generados, se considera que el tratamiento con M_1 fue la mejor alternativa para mantener el color del producto, evitando su pardeamiento; mientras que se ha observado que el tratamiento sin adición de ácidos (M_0) genera cambios no deseados sobre el color ya que la miel por sí sola no inhibió el pardeamiento. De la misma manera, el tratamiento de la fruta con M_1 produjo mayor incremento en el contenido de Vitamina C (> 3000% en el día 0 y >2306% en el día 7), por lo que se considera una buena alternativa para mejorar el potencial saludable del producto. En ese sentido se concluyó que M_1 es la mejor alternativa para mejorar y mantener las características visuales de la fruta con incremento en el dulzor y mejora del potencial saludable del producto.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. CULTIVO Y PRODUCCIÓN DE FRUTILLAS, MANZANAS Y MIEL EN ARGENTINA

1.1.1. Frutilla

La producción mundial de frutillas es de 395 844t, siendo China el mayor productor, seguido de EEUU y España. Asia es el continente con mayor producción (45,2%), seguido del continente americano con el 25%, Europa con el 24,4%, África con el 4,9% y Oceanía con 0,5% de la producción (FAOSTAT, 2017).

Por su parte, Argentina anualmente cultiva entre 1300 y 1500 ha. de frutilla (*Fragaria x ananassa* Duch.), con una producción aproximada de 45000 a 52000t anuales. La masa crítica significativa de productores de frutilla está dispersa 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 (en los valles con riego y cordones periurbanos de las principales ciudades). 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 (1030 t) se exporta, principalmente a los EE.UU. El sector frutillero argentino emplea más de 1 000 000 de jornales / año, constituyendo una enorme fuente de empleo para las provincias donde se desarrolla la actividad (Kirschbaum y Pacheco, 2017).

La situación de la frutilla a nivel internacional indica que la demanda en el mundo va en aumento, no sólo por su sabor, sino por los beneficios que por sus propiedades nutracéuticas aportan a la salud del consumidor. El cultivo de frutilla en la provincia de Santa Fe, se realiza en la zona de Coronda y en la zona de la costa, donde se ubican además numerosas agroindustrias dedicadas a su procesamiento, elaborándose pulpas, congelados, mermeladas y dulces. La superficie plantada con frutilla en esta provincia se ubica en torno a las 350 ha (141 productores), de las cuales, el 85 % corresponde a la zona de Coronda,

donde además están radicadas numerosas agroindustrias dedicadas al procesamiento de la fruta. El cultivo de frutilla en Santa Fe se caracteriza por la amplia difusión de tecnologías de desinfección de suelo, micro túneles y macro túneles (Sordo *et al.*, 2017).

1.1.2. Manzana

La manzana, es uno de los cultivos frutales de mayor importancia a nivel mundial; siendo así que en el 2017 su producción fue de 83 139 326t, el mayor productor es China, seguido de Estados Unidos y Turkia. Asia produce el 58,2% de la producción mundial, Europa 23,5%, Américas 14%, África 3,1% y Oceanía el 1,2% (FAOSTAT, 2017). Sin embargo, la producción mundial de manzana, en la campaña 2017/18 bajó, debido a que heladas fuera de temporada afectaron los huertos en EEUU generando disminuciones que son superiores a los incrementos en China y se espera que la pérdida de producción afecte el consumo. En cuanto al valor de las exportaciones de manzanas, Argentina ocupa el lugar número 11 con un 1,9% del total mundial, muy lejos de Chile que ocupa el 4to lugar con el 10,5% (FAO, 2013). En Argentina, la provincia de mayor producción es Rio Negro, seguida de Neuquen y Mendoza. Las principales variedades son Red Delicious y sus clones (84%), Granny Smith (4%) y otras (12%) (principalmente Gala) (INTA, 2016).

La producción de Argentina se proyecta en más de 563.000t, así como continúe la disminución de las hectáreas y debido a que algunas fincas fueron golpeadas por un frío septiembre. Las principales variedades de manzanas que se producen en Argentina son: Red Delicious, Ganny Smith, Fuji, Royal Gala, Rome Beauty, Red Chief, Braeburn. Dentro de la producción de manzana, el 41% se destina a la industria, como materia prima, el 42% al mercado interno y el 17% a la exportación (Danasa, 2018).

La principal limitante para el cultivo de manzano en regiones más templadas de Argentina como la región central de la Provincia de Santa Fe, es el requerimiento de horas de frío. Las variedades menos exigentes originalmente necesitan un mínimo de 700 horas de frío al año, pero como resultado del mejoramiento genético, existen variedades con

exigencias menores a las 400-500 horas de frío. Actualmente existe una gran variedad de cultivares de manzanos de bajos requerimientos de frío que fueron desarrollados principalmente en Israel, EEUU, Japón, Brasil y México. Los principales cultivares de bajo requerimiento de frío utilizados en Argentina son Anabela, Caricia, Eva y Princesa, todos desarrollados en Brasil. La producción se distribuye en las provincias de Córdoba, Misiones, y Santa Fe como una alternativa productiva para la región. Su producción y superficie cultivada es pequeña, sin embargo, es posible observar un aumento paulatino de la misma. Dichas variedades tienen la ventaja de que se cosechan en verano, pero antes que las de otras regiones, época en que disminuye la oferta de manzanas provenientes del sur del país (Río Negro y Neuquén) (Rodríguez-Arzuaga *et al.*, 2015)

1.1.3. Miel

La producción mundial de miel natural tuvo un crecimiento del 52,4% entre los años 1990 y 2016. La evolución de la producción mundial de miel de los últimos 20 años, destaca a China como primer productor mundial y el principal exportador, seguida por Argentina que ocupa el segundo lugar con respecto al volumen de exportación. Por su parte, México, India, Vietnam y Ucrania, son actores relativamente nuevos en el negocio y disputan el segundo puesto con volúmenes exportados entre los 25 y 45 mil toneladas. (Sanchez *et al.*, 2018). Argentina cuenta con 2 600 000 colmenas y más de 20 000 apicultores con un promedio de producción de 65 000 toneladas de miel al año. Cerca del 95% (60 000 t) de la miel parte hacia los mercados externos. Se pone de manifiesto el bajo consumo interno respecto de grandes consumidores como Alemania, Estados Unidos y Japón que superan ampliamente el kilogramo per cápita, mientras que en Argentina no llega a los 250 g, según estimaciones (Secretaría de Agroindustria, 2019). En el mundo el consumo de miel ha aumentado de la mano del incremento de una alimentación más saludable. Sea en fresco, así como también incorporada a productos para darles ese toque de endulzante natural. Comparado con otros habitantes del mundo, y teniendo en cuenta que Argentina es uno de los protagonistas de la producción mundial, los argentinos no son grandes consumidores de

miel. Con apenas 250 gramos está lejos de los europeos que están en el rango de 1,5 kilos/habitante/año, ni hablar de los eslovenos que están en 4,5 kilos per cápita (Martinez, 2019).

Buenos Aires es la provincia con mayor concentración de la producción, tiene alrededor de 915 mil colmenas, según fuentes oficiales de la Secretaría de Agroindustria de la Nación, seguida por Entre Ríos con aproximadamente unas 572 mil colmenas, Santa Fe cuenta con alrededor de 295, Córdoba con números similares (alrededor de 255 mil) y La Pampa con aproximadamente 208 mil. El rendimiento promedio de miel, a nivel país, es de alrededor de 25 kilogramos por colmena, por año. Estos niveles de productividad presentan una alta variabilidad a lo largo del territorio; por un lado, debido a la distinta oferta regional de néctar, y por otro, debido a la brecha tecnológica entre los distintos productores. La región central es la que concentra mayor número de productores y de colmenas. Representa el 70% del total de la producción; es la región que más aporta a la actividad. También es la región que cuenta con mayor número de salas de extracción y plantas de procesamiento (Sanchez *et al.*, 2018).

1.2. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL Y BENEFICIOS DEL CONSUMO DE FRUTILLAS, MANZANAS Y MIEL

1.2.1. Frutilla

Generalidades

Las frutillas contienen muchos elementos dietarios incluyendo vitaminas, minerales, folato y fibra además es una rica fuente de compuestos fitoquímicos, en su mayoría representados por los polifenoles. En ese sentido, las frutillas representan una opción de consumo saludable. En primer lugar, por su fibra dietaria y contenido de fructosa que contribuye a la regulación de los niveles de azúcar en la sangre por digestión lenta, su alto contenido en fibra contribuye al control de la ingesta de calorías debido a su efecto saciante. En un grado menor, las frutillas son una fuente de ácidos grasos saludables; el aceite

proveniente de los aquenios, llamados comúnmente semillas, es rico en ácidos grasos insaturados ($\approx 72\%$); asimismo se ha reportado la presencia de carotenoides y tocoferoles (Tabla 1.1) (Giampieri *et al.*, 2012).

Se ha desarrollado un gran interés en esta fruta debido a su alto contenido de vitamina C, lo cual la convierte en un gran recurso de esta vitamina para la nutrición humana. Juntos, la presencia de vitamina C, y de folato juegan un papel importante; esta fruta es uno de los recursos naturales más ricos en este último micronutriente esencial; su contenido está considerado en el rango de 20 a 25 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ de peso fresco. De acuerdo a los datos disponibles, la ingesta de folato dietario mediante el consumo de frutillas es interesante, por ejemplo, 250 g de frutillas ($\approx 60\ \mu\text{g}$ de folato en promedio), pueden suplir el 30% de la ración diaria de folato recomendada en Europa y EEUU. Asimismo, la frutilla, aunque en menor proporción, es una fuente de algunas otras vitaminas como tiamina, riboflavina, niacina, vitamina B6, vitamina K, vitamina A y vitamina E.

Esta fruta además es rica en manganeso, entonces, una porción correspondiente a 8 frutos de tamaño medio, equivalen a 144 g y pueden proveer más de 20% de la ingesta diaria adecuada para este mineral. La misma porción de frutillas puede abastecer alrededor del 5% de la ingesta adecuada de potasio, y ha sido calificada como una buena fuente de yodo, magnesio, cobre, hierro y fósforo. Además de estos compuestos nutritivos las frutillas contienen una variedad de compuestos no nutritivos como los fitoquímicos fenólicos (flavonoides, ácidos fenólicos, lignanos y taninos) (Giampieri *et al.*, 2012).

Los ácidos orgánicos son los componentes menores en frutillas, pero son importantes para el sabor, que, en combinación con los azúcares, tienen un impacto importante en la calidad sensorial de las frutillas. Existen varias diferencias en el contenido de ácidos orgánicos entre los distintos genotipos. Los dos principales ácidos orgánicos presentes en las frutillas son málico y cítrico. El ácido cítrico se encuentra en mayor cantidad (entre 82-84%) (Gündüz, 2015).

El contenido de azúcar es importante para el sabor de las frutillas y está altamente correlacionada con la aceptación por parte del consumidor. Glucosa, fructosa y sacarosa son por lejos los componentes solubles más abundantes en las frutillas; se ha visto que los niveles de sacarosa son muy bajos, y sus niveles son bajos en comparación con fructosa y glucosa. Las cantidades de fructosa y glucosa en la fruta son un tanto diferentes, dependiendo del genotipo (Gündüz, 2015).

Compuestos fenólicos

Las frutillas se constituyen en una buena fuente de compuestos fitoquímicos, la mayoría representados por los polifenoles. Los compuestos fenólicos son producto del metabolismo de las plantas y son conocidos por su actividad antioxidante, dichos compuestos están conformados por uno o más anillos aromáticos, unido a uno o más grupos hidroxilo (Figura 1.1). Se encuentran en los alimentos en un rango de tamaño que va desde moléculas simples a oligómeros grandes. Están generalmente como glucósidos y los azúcares adjuntos hacen a estos compuestos más solubles en el agua (Gündüz, 2015). Los flavonoides, y en particular las antocianinas, comprenden aproximadamente el 40% del total de los compuestos fenólicos en frutillas. Como se indicó anteriormente, los compuestos fenólicos están glucosilados, en ese sentido, las antocianidinas en la naturaleza están invariablemente glucosiladas, formando antocianinas, la mayoría de glucosilaciones ocurren en el carbono 3, aunque también son comunes en los carbonos 7 y 5. No presentan un grupo cetona en el carbono 4 y poseen un OH en el C3, y dos dobles enlaces en el anillo C; debido a sus características estructurales son los únicos flavonoides iónicos. El esqueleto básico de las antocianidinas es el catión flavilo, lo que confiere a estos flavonoides propiedades únicas: constituyen el grupo más grande y probablemente el más importante de pigmentos vegetales solubles en agua y su color cambia en relación al pH de la matriz como se puede ver en la Figura 1.2. (Laura *et al.*, 2019). Las antocianinas más abundantes en las frutillas son pelargonidina-3-Glucósido, junto con cianidina-3-glucósido y pelargonidina-3-rutinosido (Moreno *et al.*, 2014).

Las antocianinas dan coloración a diferentes frutas que pueden ir desde el color rojo hasta el azul (Moreno *et al.*, 2014), dependiendo del pH toman distintos colores; un bajo pH produce color rosa; en condiciones neutras se genera un color púrpura y en condiciones básicas, el color es amarillo verdoso; volviéndolas un indicador natural de pH. Si el pH es muy alcalino, son incoloras (Laura *et al.*, 2019).

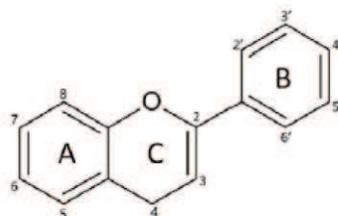
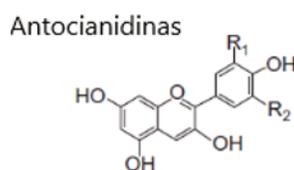


Figura 1.1: Esqueleto de fenilbenzopirano, estructura básica de los flavonoides



| | R1 | R2 |
|---------------|------------------|------------------|
| Pelargonidina | H | H |
| Cianidina | OH | H |
| Delfinidina | OH | OH |
| Peonidina | OCH ₃ | H |
| Petunidina | OCH ₃ | OH |
| Malvidina | OCH ₃ | OCH ₃ |

Figura 1.2: Estructura química de las antocianinas.

Adaptado de: Laura *et al.*, 2019

Las antocianinas, a más de dar color a las frutas, protegen a la planta de los efectos de la radiación UV y contra la contaminación viral y microbiana; además atraen a los polinizadores y por ende sus semillas se dispersan. Adicionalmente, se conoce que las antocianinas juegan un rol importante en tratamientos de prevención de enfermedades

cardiovasculares, cáncer, diabetes, entre otras; asimismo tienen beneficios antiinflamatorios sobre la salud humana (Moreno *et al.*, 2014).

Los compuestos fenólicos en general, incluyendo las antocianinas, presentan alta actividad antioxidante; diferentes estudios han demostrado su contribución significativa sobre la capacidad antioxidante total. Las frutas ricas en compuestos fenólicos (principalmente antocianinas), a menudo contienen las capacidades antioxidantes más altas. Asimismo, existe una fuerte correlación entre el contenido de fenoles totales, antocianinas, mientras más altos son sus valores, la capacidad antioxidante es mayor. La concentración de antocianinas en las diferentes variedades de frutillas es distinta, asimismo se han encontrado diferencias notables en muestras de la misma variedad, dependiendo de la fecha de cosecha, indicando la fuerte influencia del grado de madurez, factores climáticos y almacenamiento postcosecha sobre el contenido de antocianinas.

La importancia de la capacidad antioxidante de este tipo de elementos radica en que, los antioxidantes neutralizan las moléculas que se generan después del metabolismo de productos en el cuerpo humano, que, aunque son de vida corta, tienen efectos negativos, estos son llamados radicales libres. Si los radicales libres se producen en gran cantidad, generan daños en el grado de citoblastos y pueden causar tumores que a su vez generan cáncer, como resultado de algunas clases de activación de enzimas. Es así que una dieta rica en antioxidantes disminuye este riesgo. Los flavonoides de las frutillas son una fuente importante de compuestos fenólicos con capacidad antioxidante (Gündüz, 2015).

De igual forma, a más de las antocianinas, existen otros compuestos fenólicos en las frutillas, tales como flavonoles, que se encuentran en grandes cantidades, incluida la quercetina 3-O-glucorónido; asimismo se pueden encontrar monómeros de flavan-3-ols como la catequina, epicatequina, galocatequina, galato, epicatequingalato y galato de epilocatequina, junto con proantocianidinas, los cuales son dímeros o polímeros que son conocidos como taninos condensados; también están presentes los elegitaninos y conjugados del ácido elágico, conjugados del ácido cinámico (Figura 1.3) (Moreno *et al.*, 2014).

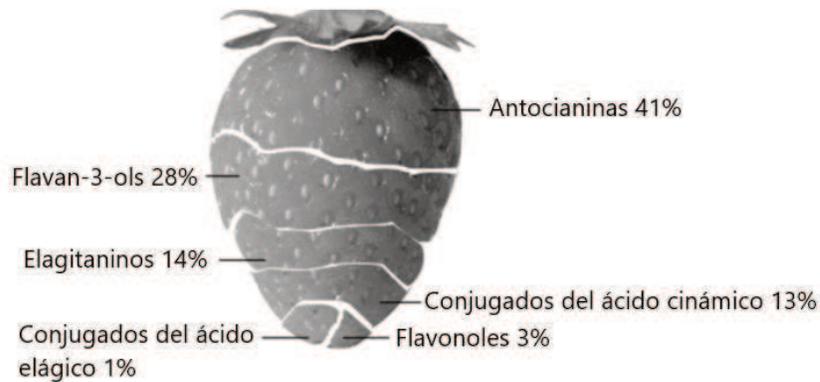


Figura 1.3: Compuestos fenólicos identificados en frutillas.

Adaptado de: Moreno *et al.*, 2014

Beneficios sobre la salud

Los compuestos antioxidantes presentes en la frutilla tienen la capacidad de combatir el estrés oxidativo y en ese sentido se ha reportado que el consumo de frutillas puede tener un potencial efecto benéfico en la salud humana. Se han reportado de manera particular en estudios de intervención en humanos que el consumo de frutillas está asociado con una disminución en la prevalencia de enfermedades cardiovasculares, como lo demuestran las mejoras en varios marcadores plasmáticos, como el colesterol LDL y la lipemia postprandial, entre otros (Moreno *et al.*, 2014). Van de Velde *et al.*, (2019); estudiaron las propiedades antiinflamatorias de compuestos fenólicos en extractos obtenidos de frutillas *var* San Andrés y zarzamoras *var* Black Satin; se evaluaron extractos enriquecidos con antocianinas (AEF) y enriquecidos con proantocinidinas (PEF), los extractos PEF mostraron alta reducción de las especies reactivas de oxígeno, en comparación con los AEF. De igual forma, los extractos con polifenoles de frutilla fueron más activos en contra de la expresión genética de las citosinas proinflamatorias IL-1 β y IL-6; en comparación con las zarzamoras; siendo a su vez los PEF más activos que los AEF, suprimiendo la expresión genética de las citoquinas mencionadas en un 75%, asimismo PEF tuvo una fracción más activa en contra de óxido nítrico sintasa, inhibiendo en un 50% su expresión genética. Por otra parte, en la evaluación

del proceso de cicatrización de heridas, se observó que los AEF para las dos frutas estudiadas, generaron una migración de fibroblastos de alrededor del 50% de lo registrado para el control positivo, lo que indica una mejoría en el proceso de cicatrización, siendo los compuestos polifenólicos de estas frutas, una alternativa natural para la cicatrización, por lo tanto, a investigación en esta área merece ser explorada más a fondo. En otro estudio, Van de Velde *et al*, (2019), evaluaron los cambios en la capacidad antioxidante, antiinflamatoria y las propiedades de curación de heridas de frutillas después del almacenamiento en atmósferas enriquecidas en O₂ y CO₂; en ese sentido, se ha indicado que el uso de atmósferas con altas concentraciones de estos compuestos, extienden la vida útil de frutillas pero también, se ha visto que atmósferas con concentración de O₂ superior al 60%, promueven la síntesis de compuestos fenólicos por parte de la fruta como una respuesta fisiológica al estrés por activación del mecanismo fenilpropanoide, en relación a esto, los investigadores encontraron que el almacenamiento de frutillas con 70% O₂ + 20% CO₂ mantuvieron o disminuyeron ligeramente las propiedades de antioxidantes, antiinflamatorias, después 20 días de almacenamiento. Sin embargo, al trabajar con atmósferas 90% O₂ + 10% CO₂ se obtuvo mejoría de la capacidad antioxidante, se incrementó la reducción de la expresión de genes proinflamatorios, tales como Cox-2 e iNOS, asimismo se promovió una mayor migración de fibroblastos mejorando la cicatrización de heridas, después de 5 y 10 días de almacenamiento, esto indica que a más de las propiedades beneficiosas inherentes a la fruta fresca, existen diferentes alternativas para mejorar la bioactividad de las frutillas.

1.2.2. Manzana

Generalidades

Se conoce que la manzana es una fruta bien tolerada por la mayoría de personas y puede combinarse sin problemas con cualquier otro alimento; a más de ello se sabe de la existencia y la función de algunos de los componentes de esta fruta que le confieren su carácter antioxidante, en ese sentido, es recomendada en dietas de prevención de riesgo cardiovascular, degenerativas y cáncer. Desde el punto de vista nutritivo, la manzana es una de las frutas más completas y enriquecedoras en la dieta y, su consumo habitual, en fresco, reporta grandes beneficios para la salud. Es rica en fibra y entre su contenido mineral sobresale el potasio, necesario para la transmisión, generación del impulso nervioso y para la actividad muscular normal, e interviene en el equilibrio de agua fuera y dentro de la célula (Boyer y Liu, 2004).

El 85% de la composición de una manzana es agua y dentro la fracción sólida, entre el 12 y 14% corresponde a carbohidratos, siendo este el macro componente mayoritario en el fruto. Aproximadamente el 80% de los carbohidratos presentes en las manzanas son azúcares solubles y el contenido total de fibra dietaria es de alrededor del 2% (Sinha *et al.*, 2012). Los azúcares contribuyen a la calidad nutricional y sensorial de las manzanas. Fructosa, glucosa, sacarosa y sorbitol son los predominantes, y en menor medida están presentes otros compuestos como D-Xilosa, galactosa, arabinosa, manosa y maltosa (Fuleki y Palabay, 1994). Por otra parte, la manzana contiene sustancias pécticas, entre el 0,5-1%. El contenido de proteínas es bajo, se ha identificado que juega un rol importante en la fisiología de maduración del fruto. Por otra parte, los principales aminoácidos esenciales que se encuentran en esta fruta son: alanina, aspartato, serina y ácido glutámico (Wu *et al.*, 2007).

El contenido total de lípidos presentes en la manzana es de aproximadamente 0,17%, siendo los ácidos grasos de mayor predominancia el palmítico y el linoléico con un contenido de entre el 70-80% (Jihong, 2007). En un estudio sobre la composición lipídica en

la semilla de distintas variedades se identificó que los ácidos grasos presentes en mayor proporción son el ácido palmítico (5,8–8,3%), oléico (20,7–29%) y linoléico (59,4–68%) y se encontró también fitoesteroles y escualeno (isoprenoide con actividad antioxidante y precursor de esteroides, colesterol y vitamina D) (Gornás y Seglina, 2014).

En cuanto a su composición de ácidos orgánicos, el ácido málico representa aproximadamente el 90% del contenido de ácido de las manzanas; los ácidos cítrico, succínico, y trazas de otros ácidos conforman el resto (Ackermann y Amado, 1992)

La manzana además es una fuente de vitaminas, el tipo y la cantidad de vitaminas en esta fruta, depende de la variedad, siendo la vitamina C la de mayor importancia. Se reportó que variedades producidas en Alemania tienen mayor contenido de vitamina C (hasta 26,4 mg/100 mg) (Hulme, 1970).

Las manzanas también contienen Vitamina A, y se han identificado pequeñas cantidades de vitaminas del complejo B como ácido pantoténico, ác. Nicotínico, tiamina. Es también una fuente discreta de vitamina E (Hulme, 1970).

Los minerales son muy importantes en la bioquímica de la manzana. El potasio, el fósforo y el calcio son los minerales de mayor importancia y su deficiencia afecta notablemente el comportamiento fisiológico del fruto. La función del potasio es la regulación de la acidez; variedades con mayor acidez tienen un contenido más alto. El fósforo participa en la generación de compuestos de energía para procesos de síntesis. El calcio, se ha relacionado con la firmeza del fruto (Dražeta, 2002).

El contenido de fibra es de alrededor del 2%, existiendo fibra soluble y no soluble compuesta generalmente por polisacáridos (Pectinas, hemicelulosa y celulosa). Un estudio determinó que el contenido de fibra es mayor en la cáscara que en la pulpa. La fibra principalmente está compuesta por ácido galacturónico (32,5% de fibra insoluble total) y glucosa (43,1% de fibra soluble total) y seguido de arabinosa (6-9%) (Renard, 1991).

Compuestos fenólicos

La manzana presenta alta actividad antioxidante que se debe principalmente a su contenido en fenoles y flavonoides, la presencia de estos compuestos fitoquímicos tiene beneficios importantes sobre la salud. La concentración de estos compuestos dependerá de factores como: variedad, cosecha, almacenamiento, procesamiento y también varía entre la piel y la pulpa. Los componentes encontrados en la cáscara son: procianidinas, catequina, epicatequina, ácido clorogénico, floridzina, y conjugados de quercetina. En la pulpa existen algunas catequinas, procianidinas, epicatequinas y floridzina, en bajas concentraciones en relación con la cáscara. Los conjugados de quercetina se encuentran exclusivamente en la cáscara, por lo tanto, ésta tendrá mayor actividad antioxidante y alta bioactividad (Figura 1.4) (Boyer y Liu, 2004). Por otra parte, según Vrhovsek *et al.*, (2004), existe gran diferencia en el contenido de polifenoles totales entre las distintas variedades de manzana y encontraron que el contenido total en 8 variedades está entre 66,2 -219,9 mg/100 g de fruta fresca. El almacenamiento en general, no afecta de manera significativa el contenido de fitoquímicos, sin embargo, el procesamiento de la manzana para obtención de jugo resulta en una disminución significativa de compuestos fenólicos, ya que quedan retenidos en la cáscara que es eliminada en el proceso (Boyer y Liu, 2004; Piagentini y Pirovani, 2017).

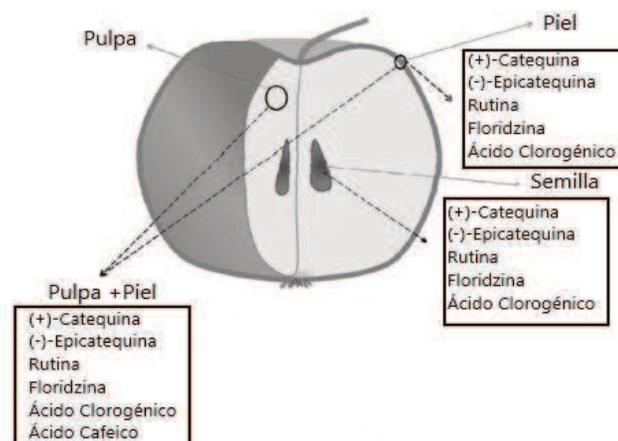


Figura 1.4: Compuestos fenólicos encontrados en manzana.

Adaptado de: Francini y Sebastiani, 2013

Beneficios sobre la salud

Las manzanas son populares, debido a la gran cantidad de formas en las que pueden ser consumidas, su conveniencia y durabilidad, esta fruta se ha convertido en un símbolo de salud: “An apple a day keeps the doctor away”, es un aforismo que hace referencia al aporte positivo a la salud por parte de este fruto (Janick y James N, 1996). En ese sentido, existe una asociación positiva entre los compuestos presentes en las manzanas y los beneficios sobre la salud. La ingesta generalizada y creciente de manzanas y jugos o productos de manzana y su rico perfil fitoquímico sugieren su importante potencial sobre la salud de las poblaciones que los consumen. Existen estudios *in vitro* e *in vivo* que indican que estas frutas pueden reducir el riesgo de enfermedades crónicas por varios mecanismos, incluyendo actividad antioxidante, antiproliferativa y efectos sobre la señalización celular (Hyson, 2011). Existen diferentes estudios que han demostrado los efectos quimiopreventivos de los polifenoles dietéticos, especialmente las subclases más abundantes, que incluyen los flavonoides (60% del total de polifenoles) y los ácidos fenólicos (30% del total) (Shih *et al.*,2017).

Shih *et al.*,2017, encontraron que adicional a la capacidad antioxidante de las manzanas, sus compuestos fenólicos tienen efectos significativos sobre las vías de señalización que controlan la supervivencia, crecimiento y proliferación celular y, han demostrado que el flavonoide floretina, presente en esta fruta, inhibe la proliferación e induce la apoptosis de células de cáncer de pulmón, dependiendo de la dosis; asimismo, la floretina potencia significativamente el ADN inducido por paclitaxel (medicamento utilizado para tratar diferentes tipos de cáncer), en la formación de células de hepatoma humano, asimismo encontraron que este polifenol inhibe el cáncer colorectal y las células cancerígenas del hígado, mediante la inhibición del transportador de glucosa GLUT2, proporcionando evidencia adicional de la hipótesis que plantea que la terapia de privación de glucosa tiene efectos beneficiosos sobre el tratamiento del cáncer. Para probar este supuesto, se evaluó la actividad antiproliferativa de zumos de manzana *in vitro* sobre células

de cáncer de mama, los resultados del estudio mostraron que el jugo de manzana “Pelingo” de tiene efectos prometedores para inhibir la proliferación de las células de este tipo de cáncer. De la misma manera, varios estudios han demostrado que tanto la floretina como la floridzina tiene efectos antidiabéticos al inhibir la absorción de glucosa (Xi *et al.*, 2008)

El consumo de manzana también tiene efectos positivos sobre enfermedades cardiovasculares, asma y enfermedad de Alzheimer. Su consumo puede estar asociado con mejores resultados relacionados al deterioro cognitivo del envejecimiento normal, diabetes, manejo del peso, salud de los huesos, función pulmonar y protección gastrointestinal (Hyson, 2011). Fathy *et al.*, 2015, estudiaron los efectos protectores del jugo de manzana Ana egipcia y el extracto de cáscara de manzana sobre la peroxidación lipídica, las enzimas antioxidantes y el estado inflamatorio en el páncreas de ratas Wistar diabéticas, para ello alimentaron las ratas con jugo de manzana (15 mL/kg) y extracto de cáscara de manzana (1g/kg) por 21 días, al final del estudio, se midieron los parámetros del perfil lipídico y nivel de peroxidación lipídica en muestras de suero, la actividad enzimática antioxidante y nivel de inflamación se evaluaron en muestras de tejido pancreático. El estudio concluyó que la suplementación con jugo de manzana y el extracto puede tener efectos protectores contra complicaciones nocivas de diabetes mellitus debido a sus efectos antioxidantes, mostrando efectos antihiper glucémicos al reducir la respuesta inflamatoria, mitigar el estrés oxidativo y normalizar el perfil lipídico alterado, siendo una alternativa para su uso como agentes terapéuticos útiles en la protección contra la diabetes mellitus.

1.2.3. Comparación de la composición nutricional y compuestos fenólicos en frutilla y manzana

La Tabla 1.1. muestra una comparación de la composición nutricional entre frutilla y manzana:

Tabla 1.1: Composición nutricional de frutilla y manzana

| Nutrientes | Frutilla (por 100 g de FF¹) | Manzana (por 100 g de FF¹) |
|---|---|--|
| Agua (g) | 89,6 | 85,56 |
| Proteínas (g) | 0,7 | 0,26 |
| Lípidos (g) | 0,5 | 0,17 |
| Carbohidratos (g) | 7,0 | 13,81 |
| Fibra (g) | 2,2 | 2,4 |
| Tiamina (mg) | 0,02 | 0,017 |
| Riboflavina (mg) | 0,04 | 0,026 |
| Equivalentes de niacina (mg) | 0,6 | 0,091 |
| Vitamina B6 (mg) | 0,06 | 0,041 |
| Folato (µg) | 20,0 | 3,0 |
| Vitamina C (mg) | 60,0 | 4,6 |
| Vitamina A: equivalente de retinol (µg) | 1,0 | 3,0 |
| Caroteno provitamina A (µg) | 4,0 | 27,0 |
| Vitamina E (mg) | 0,2 | 0,18 |
| Calcio (mg) | 25,0 | 6,0 |
| Hierro (mg) | 0,8 | 0,12 |
| Magnesio (mg) | 12,0 | 5,0 |
| Zinc (mg) | 0,1 | 0,04 |
| Sodio (mg) | 2,0 | 1,0 |
| Potasio (mg) | 190,0 | 107,0 |
| Fósforo (mg) | 26,0 | 11,0 |
| Selenio (µg) | Tr | 0,0 |

Fuente: USDA, 2019; ¹ FF: fruta fresca

A continuación, se muestra la Tabla 1.2 comparativa del contenido de los compuestos fenólicos presentes frutilla y manzana:

Tabla 1.2: Contenido promedio de compuestos fenólicos presentes en frutilla y manzana

| | Frutillas (mg/100g FF¹) | | Manzanas (mg/100 g FF¹) | |
|-------------------------|---|----------|---|-------|
| Flavonoides | | | | |
| Antocianinas | Cianidina | 0,50 | Cianidina 3-O-arabinosido | 0,06 |
| | Cianidina 3-O-(6"-succinil-glucósido) | 1,22 | Cianidina 3-O-galactosido | 0,81 |
| | Cianidina 3-O-glucósido | 2,88 | Cianidina 3-O-xilosido | 0,06 |
| | Pelargonidina | 4,31 | | |
| | Pelargonidina 3-O-(6"-malonyl-glucósido) | 4,78 | | |
| | Pelargonidina 3-O-(6"-succinil-glucósido) | 10,44 | | |
| | Pelargonidina 3-O-arabinosido | 0,42 | | |
| | Pelargonidina 3-O-glucósido | 47,14 | | |
| | Pelargonidina 3-O-rutinosido | 1,32 | | |
| Flavanoles | (+)-Catequina | 6,36 | (+)- Catequina | 1,22 |
| | (+)-Galocatequina | 0,05 | (-)-Epicatequina | 8,37 |
| | (-)-Epicatequina | 7,50e-03 | Dímero de procianidina B2 | 14,56 |
| | (-)-Epicatequina 3-O-gallato | 0,28 | | |
| | (-)-Epigalocatequina | 0,06 | | |
| | Dímero de procianidina B1 | 0,62 | | |
| | Dímero de procianidina B2 | 0,03 | | |
| | Dímero de procianidina B3 | 1,10 | | |
| | Dímero de procianidina B4 | 0,13 | | |
| | Trímero de procianidina EEC | 0,50 | | |
| Flavonoles | Kampferol 3-O-glucósido | 0,32 | Quercetina | 0,13 |
| | Kampferol 3-O-glucorónido | 0,20 | Quercetina 3-O-arabinosido | 1,40 |
| | Morin | 0,06 | Quercetina 3-O-galactosido | 2,36 |
| | Quercetina 3-O-glucorónido | 1,74 | Quercetina 3-O glucósido | 0,64 |
| | | | Quercetina 3-O ramnosido | 1,33 |
| | | | Quercetina 3-O rutinosido | 0,22 |
| | | | Quercetina 3-O xilosido | 0,78 |
| Dihidrochalconas | | | 3-hidroxifloretin 2'-O-glucósido | 0,11 |
| | | | Floretin 2'-o- xilosil-glucósido | 2,58 |
| | | | Floridzina | 2,69 |
| Ácidos fenólicos | | | | |

Introducción

| | | | | |
|-------------------------|---|------|---|-------|
| Ácidos hidroxibenzoicos | 4-ácido hidroxibenzoico 4-O-glucósido | 1,53 | Ácido gentisico | 0,22 |
| | 5-O-Ácido galloilquinico | 0,05 | Ácido siríngico | 0,90 |
| | Ácido Elágico | 1,24 | | |
| | Glucósido del ácido elágico | 2,85 | | |
| Ácidos hidroxicinámicos | Ácido 5- cafeoilquinico (ácido Clorogénico) | 1,93 | Ácido 5- cafeoilquinico (ácido Clorogénico) | 13,37 |
| | Cafeoil glucosa | 0,10 | Ácido 4- cafeoilquinico | 0,54 |
| | Ácido cinámico | 0,22 | Ácido 4-p-cumaroilquinico | 2,25 |
| | Feruloil glucosa | 0,10 | Ácido-5-p-cumaroilquinico | 1,05 |
| | Ácido p-cumárico | 0,21 | Ácido cafeico | 0,33 |
| | Ácido p-cumárico 4-O-glucósido | 0,15 | Ácido Ferúlico | 0,07 |
| | p-Cumaroil glucosa | 4,36 | Ácido cumárico | 0,27 |
| Estilbenos | | | | |
| Estilbenos | Resveratrol | 0,35 | | |

Fuente: <http://phenol-explorer.eu/contents/food/23>; ¹ FF: fruta fresca

Si comparamos ambas frutas con la información incluida en las Tablas 1.1 y 1.2 encontramos diferencias interesantes que se ilustran en la Tabla 1.3. Se puede ver que el contenido de carbohidratos es superior en manzanas. En lo referente al contenido de vitaminas, se puede observar que la cantidad de folato en frutilla supera ampliamente al contenido presente en manzanas, lo mismo ocurre con la vitamina C, sin embargo, la manzana cuenta con mayor proporción de vitamina A. En cuanto a los minerales, las frutillas presentan un alto contenido de calcio en comparación con la manzana, lo mismo ocurre con la cantidad de magnesio y fósforo. De la misma manera, el aporte de compuestos fenólicos varía entre las dos frutas, destacándose el aporte de antocianinas en las frutillas, principalmente la pelargonidina 3-O- glucósido, así como también el aporte de epicatequina, quercetina 3-O glucorónido, glucósido del ácido elágico y resveratrol; mientras que los compuestos fenólicos mayoritarios presentes en manzana son ácido clorogénico como el principal, así como también catequina, dímero de procianidina B2, quercetina 3-O-galactósido, floridzina, y floretín 2'-O-xilosil-glucósido.

Tabla 1.3. Aporte nutricional de compuestos más relevantes presentes en frutilla y manzana

| Compuesto | Frutilla | Manzana |
|---|-----------------|----------------|
| Carbohidratos | Menor aporte | Mayor aporte |
| Folato | Mayor aporte | Menor aporte |
| Vitamina C | Mayor aporte | Menor aporte |
| Vitamina A | Menor aporte | Mayor aporte |
| Calcio | Mayor aporte | Menor aporte |
| Magnesio | Mayor aporte | Menor aporte |
| Fósforo | Mayor aporte | Menor aporte |
| Flavanoles: | | |
| (+)- Catequina | Menor aporte | Mayor aporte |
| (-)- Epicatequina | Mayor aporte | Menor aporte |
| Dímero de procianidina B2 | Menor aporte | Mayor aporte |
| Flavonoles: | | |
| Quercetina 3-O-galactosido | No aporta | Aporta |
| Quercetina 3-O-glucorónido | Mayor aporte | Menor aporte |
| Antocianinas: | | |
| Cianidina 3-O-glucósido | Aporta | No aporta |
| Pelargonidina 3-O-(6"-succinil-glucósido) | Aporta | |
| Pelargonidina 3-O-glucósido | Aporta | |
| Ácidos fenólicos: | | |
| Glucósido del ácido elágico | Aporta | No aporta |
| Ácido clorogénico | Menor aporte | Mayor aporte |

| Dihidrochalconas: | | |
|----------------------------------|-----------|-----------|
| Floretin 2'-o- xilosil-glucósido | No aporta | Aporta |
| Floridzina | No aporta | Aporta |
| Estilbenos: | | |
| Resveratrol | Aporta | No aporta |

1.2.4. Miel

Generalidades

La miel es un alimento dulce y de buen sabor, que se consume desde hace mucho tiempo debido a su alto valor nutricional y sus efectos beneficiosos sobre salud humana. Es una solución natural sobresaturada de azúcares como fructosa (38%) y glucosa (31%). De igual forma, este producto contiene pequeñas cantidades de otros constituyentes tales como minerales, proteínas, vitaminas, ácidos orgánicos, flavonoides, ácidos fenólicos, enzimas y otros fitoquímicos que contribuyen a sus efectos antioxidantes. Los componentes responsables de la actividad antioxidante son los flavonoides, ácidos fenólicos, ácido ascórbico, catalasa, peroxidasa, carotenoides y productos de la reacción de Maillard. Sin embargo, la cantidad de estos componentes varía ampliamente, dependiendo de su origen floral y geográfico. Adicionalmente, el procesamiento, la manipulación y el almacenamiento de la miel pueden influenciar en su composición. En ese sentido es importante determinar el potencial antioxidante de los tipos de miel, los que pueden variar, dependiendo de la fuente. Los ácidos fenólicos y flavonoides son considerados como potenciales marcadores para conocer su origen botánico y son importantes debido a sus potenciales usos terapéuticos en medicina alternativa. La presencia de compuestos fenólicos y flavonoides particulares en la miel, determinan su color, aroma y potenciales efectos benéficos sobre la salud humana. Se cree que la miel tiene diferente actividad biológica basada en el contenido de compuestos fenólicos. Alimentos como la miel, que contiene antioxidantes, puede jugar

un rol esencial en la prevención de enfermedades cardiovasculares, cáncer, enfermedades neurodegenerativas, incluyendo Parkinson y Alzheimer, así también problemas inflamatorios generados por el envejecimiento celular y cutáneo (Afroz *et al.*, 2015) (Tabla 1.4).

Tabla 1.4: Contenido nutricional de la miel

| Compuesto | Cantidad |
|--------------------------------|-----------------|
| Agua (g/100 g) | 17,1 |
| Energía (Kcal/100 g) | 304 |
| Proteína (g/100g) | 0,3 |
| Lípidos totales (g/100 g) | 0,0 |
| Carbohidratos (g/100 g) | 82,4 |
| Fibra dietaria total (g/100 g) | 0,2 |
| Azúcares (g/100 g) | 82,12 |
| Calcio (mg/100 g) | 6 |
| Hierro (mg/100 g) | 0,42 |
| Magnesio(mg/100g) | 2 |
| Fósforo(mg/100 g) | 4 |
| Potasio (mg/100 g) | 52 |
| Sodio(mg/100 g) | 4 |
| Zinc(mg/100 g) | 0,22 |
| Cobre(mg/100 g) | 0,036 |
| Selenio (µg/100 g) | 0,8 |
| Vitamina C (mg/100 g) | 0,5 |
| Tiamina(mg/100 g) | 0 |
| Riboflavina (mg/100 g) | 0,038 |
| Niacina (mg/100 g) | 0,121 |
| Vitamina B-6 (mg/100 g) | 0,024 |
| Folatos totales (mg/100 g) | 2 |
| Cloro (mg/100 g) | 2,2 |

Fuente: USDA (2019)

Compuestos fenólicos

El contenido de compuestos fenólicos en la miel depende principalmente de su origen floral; por lo tanto, esto puede ser usado como una herramienta para su clasificación y autenticación, especialmente en el caso de variedades uniflorales. Los compuestos

fenólicos más comunes en la miel, se muestran en la Tabla 1.5; es posible comparar los compuestos fenólicos identificados en diferentes tipos de miel.

Tabla 1.5: Compuestos fenólicos encontrados en miel

| Flavonoides | |
|---------------------------------|---|
| Apigenina | C ₁₅ H ₁₀ O ₅ |
| Catequina | C ₁₅ H ₁₄ O ₆ |
| Crisina | C ₁₅ H ₁₀ O ₄ |
| Galangina | C ₁₅ H ₁₀ O ₅ |
| Genisteína | C ₁₅ H ₁₀ O ₅ |
| Isoramnetina | C ₁₆ H ₁₂ O ₇ |
| Kampferol | C ₁₅ H ₁₀ O ₆ |
| Luteolina | C ₁₅ H ₁₀ O ₆ |
| Miricetina | C ₁₅ H ₁₀ O ₈ |
| Pinobanksina | C ₁₅ H ₁₂ O ₅ |
| Pinocembrina | C ₁₅ H ₁₂ O ₄ |
| Quercetina | C ₁₅ H ₁₀ O ₇ |
| Rutina | C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆ |
| Ácidos fenólicos | |
| 2-cis, 4- trans ácido abscísico | C ₁₅ H ₁₀ O ₅ |
| 2-ácido hidroxicinámico | C ₉ H ₈ O ₃ |
| Ácido cafeico | C ₉ H ₈ O ₄ |
| Ácido clorogénico | C ₁₆ H ₁₈ O ₉ |
| Ácido cinámico | C ₉ H ₈ O ₂ |
| Ácido Elágico | C ₁₄ H ₆ O ₈ |
| Ácido ferúlico | C ₁₀ H ₁₀ O ₄ |
| Ácido gálico | C ₇ H ₆ O ₅ |
| Ácido <i>p</i> -cumárico | C ₉ H ₈ O ₃ |
| Ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico | C ₇ H ₆ O ₃ |
| Ácido protocatecuico | C ₇ H ₆ O ₄ |
| Ácido sinápico | C ₁₁ H ₁₂ O ₅ |
| Ácido siringico | C ₉ H ₁₀ O ₅ |
| Ácido vanílico | C ₈ H ₈ O ₄ |

Fuente:Cianciosi *et al.*, (2018)

Beneficios sobre la salud

La miel es un producto natural formado a partir del néctar de flores por las abejas mieleras (*Apis mellifera*; Familia: Apidae). La miel ha sido utilizada por los humanos desde tiempos antiguos, hace aproximadamente 5500 años. Diferentes civilizaciones la han

consumido por su valor nutricional y sus propiedades medicinales. La miel es el único producto natural derivado de insectos con valor industrial, nutricional, cosmético y terapéutico. No necesita refrigerarse, no se deteriora, se puede almacenar sin abrir a temperatura ambiente en un lugar seco. La miel ha sido utilizada como endulzante natural debido a su alto nivel de fructosa. Existe evidencia que sugiere que este producto tiene diferentes efectos beneficiosos sobre la salud; presenta beneficios al actuar como agente antioxidante, antiinflamatorio, antibacterial, antidiabético, además de presentar efectos sobre el sistema respiratorio, gastrointestinal, cardiovascular y efectos protectores sobre el sistema nervioso (Figura 1.5) (Samarghandian y Samini, 2017).



Figura 1.5: Efectos benéficos del consumo de miel.

Adaptado de: Cianciosi *et al.*, (2018)

1.3. GENERALIDADES EN EL MÍNIMO PROCESAMIENTO DE FRUTAS Y HORTALIZAS

Las frutas y hortalizas frescas cortadas que presentan ventajas sobre la salud del consumidor y mantienen su calidad de producto “fresco”, han ganado popularidad entre los consumidores, siendo uno de los mayores segmentos en crecimiento en los establecimientos de venta de alimentos, sin embargo, estos productos aún se encuentran bajo estudio debido a las dificultades en el mantenimiento de su calidad de “fresco” durante periodos prolongados de tiempo ya que se deterioran de manera rápida en relación

con otro tipo de productos sometidos a otros procesamientos (Soliva-Fortuny y Martín Belloso, 2003; Ma *et al.*, 2017). Los diferentes métodos de mínimo procesamiento tales como pelado, corte, trituración, etc, generan daños en el alimento, disminuyendo su tiempo de vida útil y su calidad, debido a la presencia de una serie de problemas como ablandamiento del tejido, amarronamiento de la superficie cortada, disminución del valor nutricional, presencia de off-flavors o daño microbiológico durante el almacenamiento (Pirovani *et al.*, 2006, Ma *et al.*, 2017). En general, los métodos tradicionales de conservación de frutas y hortalizas frescas cortadas, se pueden clasificar en tres categorías: tecnologías de conservación física, tecnologías de conservación química y tecnología de biopreservación (Ma *et al.*, 2017). Una vez que las tecnologías tradicionales de procesamiento han sido capaces de lograr vegetales mínimamente procesados microbiológicamente seguros con características de calidad aceptable, el siguiente paso es diseñar nuevos tratamientos suaves y confiables con la finalidad de obtener productos con calidad de “frescos” con alto valor nutricional. La creciente demanda de productos mínimamente procesados con las mismas garantías de inocuidad que aquellos obtenidos por métodos tradicionales de conservación, han instado a los investigadores en enfocar sus esfuerzos en estudiar nuevas formas de extensión de la vida útil para estos productos (Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2003).

1.3.1. Etapas generales de mínimo procesamiento de frutas y hortalizas

El término “mínimamente procesado” hace referencia al uso de uno o más métodos, técnicas o procedimientos para transformar alimentos derivados de plantas en productos listos para el consumo manteniendo sus características nutricionales y sensoriales del producto fresco. La aplicación exitosa del mínimo procesamiento, retrasa la pérdida de nutrientes y los cambios indeseables en la textura, el color, el sabor y el aroma, relacionados con la maduración o el deterioro microbiano (Velderrain-Rodríguez *et al.*, 2019). El mínimo procesamiento incluye varias operaciones tales como selección y clasificación, lavado, pelado y/o corte, lavado y desinfección, secado, envasado, almacenamiento, como se puede observar en el siguiente diagrama de flujo:

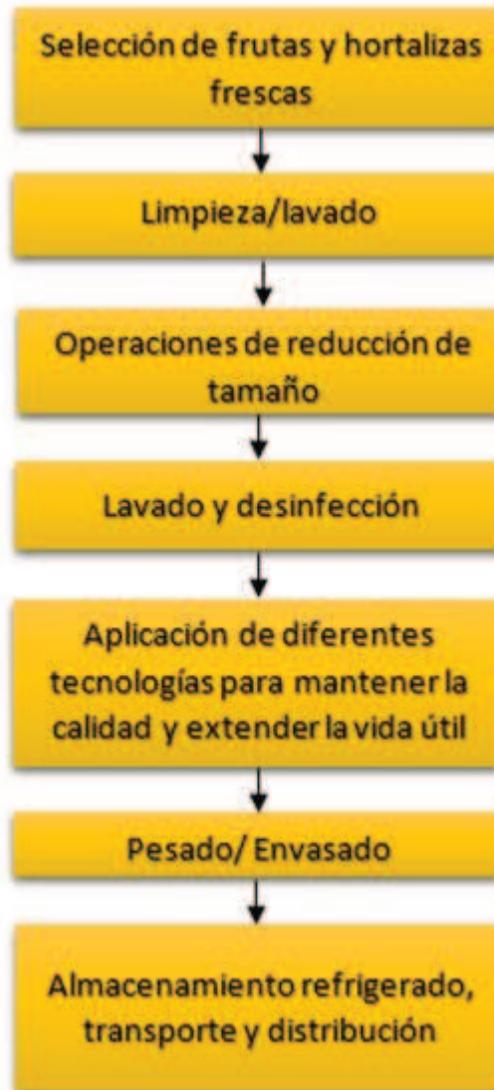


Figura 1.6: Diagrama de flujo general para la producción de frutas y hortalizas recién cortadas.

Adaptado de Pirovani *et al.*, (2015), (Yousuf, B *et al.*, (2020)

Selección y clasificación de materia prima

Esta etapa tiene por objeto asegurar la homogeneidad y calidad de la materia prima. Se descartan aquellos productos que presentan defectos físicos o que hayan sufrido daño mecánico durante la recolección o transporte. La calidad final y vida útil de los productos

frescos cortados depende directamente de la calidad de la materia prima (Sinha *et al.*, 2012; Pirovani *et al.*, 2015; Artes y Allende, 2016).

Limpieza y lavado

Generalmente las frutas y verduras posterior a la cosecha pueden estar cubiertas con tierra, barro, arena, etc.; por lo tanto, deben ser cuidadosamente limpiadas antes de procesar, el lavado debe ser ejecutado antes del pelado y/o corte 2004; (Ahvenainen, 1996).

Pelado, corte y reducción de tamaño

Esta etapa incluye procesos de pelado y/o corte; en el corte, 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. Existen diferentes formatos: rodajas, cubos, tiras, esferas, mitades, cuartos. 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 (Van de Velde, 2014). El pelado puede ser llevado a cabo de forma mecánica, química o mediante peladoras de vapor a altas presiones (Ahvenainen, 1996).

Lavado y desinfección

El lavado y desinfección después del pelado y/o son críticos en la cadena de producción ya que son los únicos pasos en donde se puede reducir en la carga microbiana, minimizando las poblaciones de patógenos potenciales, está indicado para remover fluidos celulares producidos por las operaciones de pelado y corte, para remover suciedades, residuos de pesticidas (Artes y Allende, 2005, Van de Velde, 2014, Pirovani *et al.*, 2006). El lavado puede efectuarse con diferentes desinfectantes como hipoclorito de sodio/calcio o cloro (gas); peróxido de hidrógeno, ácido peracético, dióxido de cloro, ozono, agua electrolizada (IFPA , 2003)

Remoción de agua

Tiene por objetivo reducir el contenido de humedad y eliminar células que promueven el crecimiento microbiano, es un proceso que debe realizarse con cuidado para evitar daño en el tejido vegetal (Pirovani *et al.*, 2003). Los sistemas de remoción incluyen drenaje, absorción, secado con centrifuga, bastidores vibratorios, transportadores rotativos, hidrotamices, aire forzado y túneles de secado (Artes y Allende, 2005)

Aplicación de diferentes tecnologías de mínimo procesamiento para mantener la calidad y extender la vida útil

Se han investigado diferentes métodos no convencionales para el mínimo procesamiento de frutas y hortalizas. En la Figura 1.7 se muestran diferentes tecnologías de conservación en mínimo procesamiento de frutas y hortalizas.

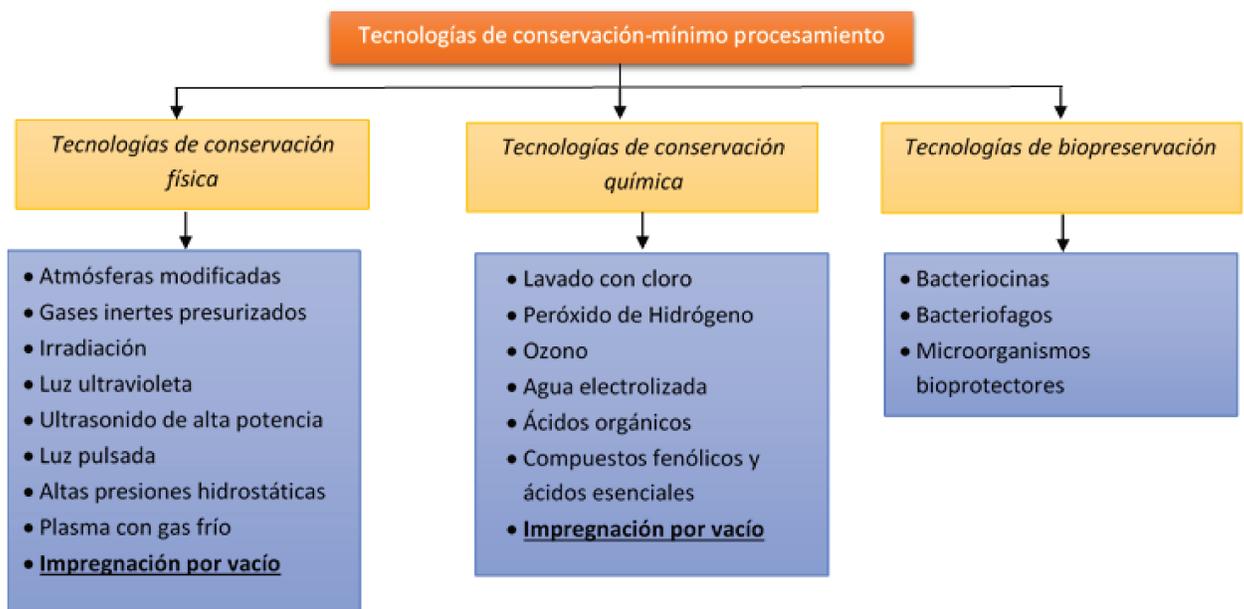


Figura 1.7: Tecnologías de mínimo procesamiento para frutas y hortalizas.

Fuente: Pirovani *et al.*, 2006; Ma *et al.*, 2017; De Corato, 2019; Ali *et al.*, 2018; Yousuf, B *et al.*, 2020

Diferentes autores han empleado distintas tecnologías de mínimo procesamiento para la conservación y extensión de la vida útil de frutillas y manzanas, la Tabla 1.6 muestra un resumen de diferentes estrategias empleadas para las frutas mencionadas.

Tabla 1.6: Estrategias de mínimo procesamiento de frutillas y manzanas para mantener su calidad y seguridad alimentaria

| TRATAMIENTO | FRUTA | EFEECTO BUSCADO | AUTOR |
|---|--------------|---|---|
| Luz UV | Manzana | Reducción significativa de reacciones generadas durante el almacenamiento | Yousuf, B <i>et al.</i> , (2020); Ma <i>et al.</i> , (2017) |
| Luz pulsada | Manzana | Inhibición efectiva del amarronamiento y crecimiento microbiano | Yousuf, B <i>et al.</i> , (2020) |
| Plasma frío | Manzana | 65% de reducción del área de amarronamiento | |
| Recubrimiento comestible | Frutilla | Reducción del recuento de microorganismos | |
| Gases inertes presurizados (Ar+Xe) | Manzana | Extensión de la vida útil, disminución del crecimiento de <i>E. Coli</i> y <i>S. cerevisiae</i> | Ma <i>et al.</i> , (2017) |
| Luz pulsada + recubrimiento comestible | Manzana | Retraso efectivo del deterioro microbiano y mantenimiento de la calidad sensorial | |
| Plasma frío | Frutilla | Reducción del recuento microbiano (hongos y levaduras) | |
| Agua ácida electrolizada | Manzana | Inactivación efectiva de microorganismos | |
| Aplicación de nanotecnología (nano partículas de ZnO en recubrimiento de cloruro de polivinilo) | Manzana | Inhibición del crecimiento microbiano, retraso del proceso de maduración al disminuir la pérdida de masa y el ablandamiento | |
| Nanopartículas de quitosano tripolifosfato | Manzana | Actividad antimicrobiana efectiva sobre hongos y levaduras, bacterias mesófilas y psicrotrofas | |
| Ozono | Manzana | Reducción del recuento total de bacterias y reducción en la | |

Introducción

| | | | |
|--|-----------|---|---|
| | | producción de etileno y la actividad de la PPO y POD | |
| Bacteriofagos | Manzana | Descontaminación, sin embargo no elimina todos los patógenos transmitidos por alimentos | |
| Bacteriocinas | Manzana | Reducción significativa de <i>L. monocytogenes</i> | |
| Uso de microorganismos bioprotectores (bacterias LAB) | Manzana | Inhibición de Salmonella | |
| Ozono | Frutilla | Disminución de la carga microbiana y extensión de la vida útil | De Corato, (2019) |
| Peróxido de hidrógeno | Frutilla | Agente desinfectante | |
| Soluciones a base de Ca (Lactato de Calcio) | Frutilla | Agente reafirmante | |
| Uso de aceites esenciales y compuestos fenólicos | Manzana | Prolongación de la vida útil, disminución de la carga microbiana | |
| Envasado en atmósferas modificadas altas en O ₂ | Frutillas | Efectiva extensión de la vida útil | De Corato, (2019),, Van de Velde <i>et al.</i> ,(2019). |
| Tratamientos con quitosano + aceites esenciales | Frutilla | Disminución de la carga microbiana | De Corato, (2019) |
| Agua electrolizada | Manzana | Reducción de la carga microbiana | Ali <i>et al.</i> , (2018) |
| Ultrasonido | Frutilla | Eficiente descontaminación y reducción de la carga microbiana | |
| Película comestible | Manzana | Incremento en la producción de compuestos volátiles de aroma por adición de isoleucina en la película | |

Envasado

Esta etapa se considera, después de la disminución de la temperatura del producto, una etapa crucial para prolongar la vida comercial de las frutas y hortalizas cortadas. Prácticamente todos los productos recién cortados se refrigeran bajo atmósferas modificadas para alcanzar una vida útil adecuada. El diseño y la selección de la película

polimérica adecuada para las bandejas o envases, así como para el sellado, son cruciales (Van de Velde, 2014; Artes y Allende, 2005).

Almacenamiento

El conocimiento sobre las condiciones de tiempo y temperatura en la cadena de frío de frutas y hortalizas mínimamente procesadas es importante para evitar la pérdida de calidad y reducción de la vida útil del producto. Generalmente en todos los productos de la cadena de distribución deben mantenerse a 1–5 ° C para garantizar la calidad y la vida útil (Pirovani *et al.*, 2006; Artes y Allende, 2005).

1.4. LA IMPREGNACIÓN POR VACÍO (IV) COMO UN MÉTODO DE CONSERVACIÓN

1.4.1. Generalidades de la impregnación por vacío

La impregnación por vacío (IV) es una tecnología que permite la introducción de ingredientes alimentarios, directamente en el producto a través de sus poros, en una forma controlada, de acuerdo al modelo del mecanismo hidrodinámico (MHD) (Fito, 1994; Zhao y Xie, 2004; Andrés *et al.*, 2001; Radziejewska *et al.*, 2014; Fito *et al.*, 2001). La IV ha sido ampliamente utilizada como tratamiento previo complementario a otras etapas de procesamiento tales como secado, congelado, envasado y freído. En algunos casos, permite modificar la composición del alimento para el desarrollo de nuevos productos con una disminución significativa en el tiempo de procesamiento, dependiendo de la porosidad efectiva y las propiedades mecánicas del producto (Andrés *et al.*, 2001; Zhao y Xie, 2004). El proceso de IV es rápido en comparación con la deshidratación osmótica (DO) a presión atmosférica ya que puede durar unos minutos en comparación con la DO que puede llevar horas. Durante la IV, la solución que contiene diferentes elementos penetra en el tejido de la matriz alimentaria, lo que puede mejorar o cambiar de manera significativa las propiedades del alimento; los componentes son introducidos en los espacios intercelulares y capilares para generar distintas ventajas: incremento en el valor nutritivo (enriquecimiento con polifenoles, probióticos, vitaminas, minerales, etc.), extensión de la

vida útil (reducción del pH, aw, antimicrobianos, conservantes, etc.) o modificación de los atributos sensoriales (introducción de azúcar, edulcorantes, mejoradores de textura).

Es esencial determinar el potencial de esta técnica para modificar las características físico-químicas y los atributos sensoriales de los productos, asimismo es importante seleccionar los parámetros adecuados para asegurar el efecto deseado (Andrés, *et al.*, 2001; Zhao y Xie, 2004; Radziejewska *et al.*, 2014). La IV es una tecnología que puede aplicarse en el mínimo procesamiento de frutas y hortalizas, como una alternativa de conservación de dichos productos o para mejorar las propiedades nutricionales y sensoriales, ya que el tejido vegetal tiene espacios intercelulares que pueden contener una fase de gas o líquido que son susceptibles a la impregnación con una solución externa. Por lo tanto, la estructura porosa de las frutas y vegetales los hace idóneos para desarrollar productos de alta calidad (Zhao y Xie, 2004).

La principal ventaja de la IV en la elaboración de frutas y hortalizas mínimamente procesadas es que la transferencia de masa es más rápida debido al MHD, que aumenta la superficie de contacto con la fase líquida. Otra ventaja de esta tecnología es que es efectiva a temperaturas bajas, próximas a la temperatura ambiente, lo cual minimiza el daño térmico que puede ocasionar en las propiedades organolépticas (color, sabor, textura) y además reduce el daño sobre cualquier nutriente sensible al calor. Asimismo, la alta concentración de soluto circundante evita la decoloración en el producto final (Zhao y Xie, 2004).

1.4.2. Fundamentos de la impregnación por vacío

Como se ha indicado anteriormente, la IV permite la introducción de diferentes elementos en el interior de una matriz alimentaria porosa de manera controlada; durante el proceso de IV se llenan los espacios libres del alimento debido a la diferencia de presión inducida de forma mecánica. El proceso consiste en dos etapas: la fase de presión reducida y la fase de presión atmosférica. La impregnación del material ocurre como consecuencia de dos fenómenos: mecanismo hidrodinámico (HDM) y el fenómeno de deformación-

relajación (DRP), que permite el llenado de los capilares intracelulares (Radziejewska *et al.*, 2014).

Las cinéticas de transferencia de masa son mucho más rápidas en los procesos de deshidratación osmótica bajo condiciones de vacío, en comparación con procesos llevados a cabo a presión atmosférica. Estos resultados pueden entenderse si se toma en cuenta la estructura porosa de las frutas, junto con la existencia de espacios intercelulares, en los cuales existe cierta cantidad de gas ocluido, que es comprimido cuando el líquido exterior (solución osmótica SO) penetra como resultado del efecto combinado de la acción capilar y los gradientes de presión impuestos al sistema. La penetración del líquido, generado por los gradientes de presión que actúan como fuerza motora, es reversible y es controlado por la compresión o expansión del gas ocluido en los espacios intercelulares. Este fenómeno de transferencia de masa es llamado mecanismo hidrodinámico (Fito y Pastor, 1994).

El HDM ocurre cuando las estructuras porosas son sumergidas en una fase líquida. Esto implica el ingreso del líquido externo a través de los poros capilares, controlado por la expansión/compresión del gas interno. Este mecanismo es responsable del proceso de IV de productos porosos cuando se aplican presiones bajas en el sistema sólido-líquido (etapa de vacío, tiempo de vacío, t_v), seguida de una restauración de la presión atmosférica (etapa de relajación, tiempo de relajación, t_r). Durante la etapa de vacío, el gas al interior de los poros del producto se expande y sale parcialmente. Todo esto está relacionado con la penetración capilar como función de la tensión interfacial del líquido y el diámetro de los poros. En la etapa de presión atmosférica, el gas residual es comprimido y el líquido externo fluye hacia el interior de los poros en función del grado de compresión (Fito y Pastor, 1994). Sin embargo, los cambios en la presión pueden promover deformaciones del producto debido a las propiedades viscoelásticas de la matriz sólida. La relación del HDM con el fenómeno de Deformación-Relajación (DRP) de la matriz sólida del producto ha sido descrito y modelado por varios investigadores (Andrés, *et al.*, 2001; Fito *et al.*, 1996), quienes mostraron que el volumen cambia al final de las etapas de vacío y de presión atmosférica, y que también la porosidad efectiva afecta la fracción volumétrica del producto

impregnado con el líquido externo. Mujica *et al.*, (2003) analizaron diferentes frutas, encontraron que los valores de la fracción volumétrica de muestra impregnada (X) y, consecuentemente, la porosidad efectiva (ϵ_e), están influenciados por el número y diámetro de poro así como las propiedades mecánicas de la matriz alimentaria. Por esta razón, frutas como la manzana no solo presentan valores altos de ϵ_e sino que también su respuesta a la aplicación de vacío es lineal, lo que significa que la matriz sólida sufre menor deformación debido a los cambios de presión. Frutas con menor porosidad que la manzana, tales como papaya y melón, también presentan bajos problemas de deformación mecánica. Por el contrario, la estructura de la banana, durazno, mamey y mango, muestran mayor deformación cuando incrementa el nivel de vacío, reduciendo o incrementando de esta forma la capacidad de impregnación.

Son varios los factores del proceso (Fito *et al.*, 1996), así como las características propias del material a impregnar que influyen en el desarrollo del proceso y en las características de producto final obtenido luego de aplicar la tecnología de IV:

- Estructura del tejido (poros y distribución del tamaño)
- El tiempo de vacío y relajación
- Propiedades mecánicas del material
- Tasa de transporte de HDM como función de la estructura (tamaño y forma de los poros) y de la viscosidad de la solución.
- Tamaño y forma de la muestra
- Presión de vacío

1.4.3. Aplicaciones de la impregnación por vacío en frutas y hortalizas

Como ya se ha mencionado, la existencia de espacios intracelulares en el tejido de frutas y hortalizas, hace posible introducir en su interior diferentes elementos: crioprotectores, agentes antipardeantes, enzimas, componentes que compactan el tejido e inhiben el ablandamiento, elementos que reducen la actividad de agua, compuestos nutricionales y/o bioactivos, etc. A continuación, se presentan algunos resultados obtenidos por la aplicación de estos elementos en frutas y hortalizas sometidas a IV.

Cambios en las propiedades fisicoquímicas

Las frutas y vegetales tienen gran parte de su volumen interno ocupado por gas (Bauman y Henze, 1983; Calbo y Sommer, 1987). En base a ello, se pueden obtener productos con diferentes características, lo que conlleva cambios en distintas propiedades de la matriz alimentaria.

- pH

El principal factor que influye en la seguridad microbiológica de un alimento está asociado al pH. La reducción del pH disminuye la resistencia térmica de los microorganismos y su tasa de crecimiento, mientras que previene el crecimiento de esporas. La introducción de ácidos orgánicos al tejido vegetal por IV facilita la reducción de pH en la materia prima (Radziejewska *et al.*, 2014, Derossi *et al.*, 2013).

Métodos de disminución de pH tales como escaldado utilizando soluciones con diferente concentración de iones de hidrógeno en relación a la materia prima, comprende tiempos de proceso frecuentemente largos, especialmente el remojo; mientras que por su parte, la IV mejora la porosidad del tejido debido a la expansión del gas atrapado en los poros haciendo que un mayor volumen de materia prima esté disponible en el proceso de impregnación al restablecer la presión atmosférica (Radziejewska *et al.*, 2014), lo que permite acortar los tiempos de disminución de pH por ingreso de la solución circundante en la matriz alimentaria porosa debido a la aplicación de dicha tecnología.

Derossi *et al.*, (2010) observaron que la reducción de pH en rodajas de pimiento tratadas con ácido láctico por IV fue mucho mayor que la generada por inmersión a presión atmosférica. Se observó una correlación directa entre la disminución de pH y la duración del tiempo de vacío y de relajación; cuando incrementa el tv de 2 a 5 min y el tr de 10 a 30 min el pH disminuyó, aplicando una presión de vacío 20k Pa. Los autores explican que este fenómeno ocurre por incremento en la tasa de difusión de iones hidrógeno como resultado del aumento en la superficie de contacto de la solución de ácido láctico y el tejido de la materia prima

Derossi *et al.*,(2013), estudiaron la aplicación de IV para reducción de pH en champiñones con una solución de impregnación de ácido láctico (pH 3,05) a 20 y 40 kPa de presión de vacío con un $t_v= 2\text{min}$ y $t_r= 20-720\text{ min}$ y observaron que en todas las condiciones del proceso se genera acidificación de las muestras; lo cual puede deberse a la porosidad efectiva alta de los champiñones (37%) que facilita el ingreso de la SO_2 , de igual manera, el nivel de vacío se correlacionó directamente con la reducción del pH y el aumento de la velocidad de difusión inicial del hidrógeno del tratamiento de acidificación.

Derosi *et al.*,(2011), estudiaron la IV en zucchini (porosidad efectiva \approx 9%), a dos presiones de vacío 20 y 40 kPa, con tiempo de vacío de 2min y tiempos de relajación de 20 a 720 min, se observó una disminución de pH mayor que aquella producida con aplicación de tratamientos tradicionales de inmersión a presión atmosférica; sin embargo, no se observaron diferencias significativas sobre la acidificación del producto por influencia de la presión o el tiempo de relajación, lo cual se atribuye a la baja porosidad y rigidez del tejido de este producto. La rigidez de los tejidos biológicos podría minimizar el fenómeno de relajación y deformación por lo tanto el aumento de los niveles de vacío sobre la variación de los valores de pH durante los tratamientos de IV son despreciables.

La acidificación por IV es útil para mejorar la reducción de pH en diferentes alimentos ya que favorece el incremento del área de contacto entre el tejido vegetal y la solución ácida, sin embargo, la estructura del tejido de la materia prima, la distribución de los espacios intercelulares y la porosidad efectiva, influyen en el efecto de disminución del pH ya que estructuras con una porosidad alta tienen un mayor espacio de ingreso de la solución de impregnación, permitiendo un mayor llenado de los espacios intracelulares durante el t_v mientras que, frutas con mayor tortuosidad tienden a retener en menor manera la solución de impregnación.(Derosi *et al.*, 2010; Derosi *et al.*, 2011).

- Actividad de agua (aw), Pérdida de agua (WL), Ganancia de sólidos (SG), Reducción de peso (WR).

Como se había indicado anteriormente, la IV ha sido utilizada como un pretratamiento para la aplicación de diferentes procesos tecnológicos tales como secado, deshidratación, congelación, etc. ya que su aplicación permite la obtención de alimentos parcialmente deshidratados; esta tecnología permite mejorar el intercambio de masa y el flujo capilar, pudiendo ocasionar disminución de a_w y dependiendo de las condiciones del proceso, ganancia o pérdida de agua.

Existen diferentes estudios en donde se ha determinado la influencia de las condiciones del proceso de IV sobre estos parámetros. Mujica-Paz *et al.*, (2003) estudiaron el efecto de la presión de vacío y la concentración de la SO en diferentes frutas, notando que en manzanas *var Golden Delicious*, las condiciones de vacío produjeron una mayor disminución en los valores de a_w al trabajar con una SO de concentración alta (50°Bx) mientras que, al trabajar con SO de bajas concentraciones, la presión de vacío tuvo una influencia menor sobre la disminución de a_w . Asimismo, los investigadores obtuvieron valores positivos y negativos de WL, los valores negativos indican ganancia de agua, generada por la impregnación de la SO en el tejido; este fenómeno se genera al emplear $SO < 50^\circ\text{Brix}$ ya que el sistema operativo de baja viscosidad se impregna de forma masiva en el producto y resulta en una ganancia de agua. Por el contrario, al trabajar con SO de concentraciones $> 50^\circ\text{Brix}$, el sistema operativo es de alta viscosidad y tiene dificultad de penetrar en los poros del tejido vegetal y con una mayor presión osmótica se favorece la salida de agua del producto. Paes *et al.*, (2007), obtuvieron mayor WL en manzanas *var. Gala* tratadas con una solución osmótica de 50°Bx y un tiempo de vacío alto, mientras que aquellas tratadas con una solución de 21,8°Bx presentaron ganancia de agua, siendo esta ganancia mayor con un $t_v = 10$ min y $t_r = 30$ min.

Para frutas como papayas frescas cortadas, Moreno *et al.*, (2004), encontraron que la mayor reducción de a_w se generó en aquellas frutas tratadas con una SO de 65°Brix, en comparación con las tratadas a 55°Brix; independientemente del tratamiento aplicado, es decir que ese comportamiento se observó tanto en procesos de DO a presión atmosférica así como en tratamientos con impregnación por vacío.;. Por su parte, Tapia *et al.*, (1999),

determinaron que papayas frescas cortadas sometidas a IV con presión de 60 mbar presentaron un gran incremento en el nivel de sólidos solubles y una mayor WL y disminución de aw que aquella fruta tratada por DO. Los investigadores determinaron una gran reducción de aw al aplicar la tecnología de IV con un tiempo total de tratamiento mayor a=20 min; en comparación con los tratamientos de DO (180 a 240 min). Los valores de aw alcanzados luego de la IV fueron: 0,972; 0,965; 0,974; 0,966; 0,969 y 0,966 con tv= 5, 10, 15, 20, 25 y 30 min respectivamente; mientras que la fruta tratada por DO presentó un aw de 0,976 en el tiempo máximo de tratamiento a 240 min.

Por su parte, Shi y Fito, (1993), encontraron que en frutas como albaricoque, frutilla y piña frescas cortadas sometidas a IV, la WL puede ser más rápida en sistemas de baja presión (IV) en comparación con DO a presión atmosférica. Los tratamientos de IV permitieron un importante incremento en la WL: 24,3% en piña; 24,2% en durazno y 15,2% en frutilla en comparación con los tratamientos de DO. Los tratamientos de vacío fueron beneficiosos para acelerar la difusión de agua con menor tiempo de reducción del contenido de agua en la fruta. Esto corrobora los resultados obtenidos por otros autores respecto a la diferencia entre la DO a presión atmosférica y la IV, la cual, permite mejorar la deshidratación con un tiempo lo menor posible. Los resultados distintos de WL obtenidos para cada fruta se deben a que los tratamientos de vacío son más efectivos en la difusión de agua de las frutas con mayor porosidad debido a la rápida eliminación del gas intercelular, en ese sentido la piña tuvo mayor WL. Para otras frutas, Mújica *et al.*, (2003) determinaron que los niveles más bajos de aw en mango se obtuvieron al impregnar la fruta con una SO de 50°Bx y una presión de vacío de 674 mbar; y en melón con una SO de 57°Bx y una presión de 593 mbar. Los valores de WL, incrementaron, a medida que la concentración de la SO fue mayor.

En lo referente a la ganancia de sólidos (SG), Paes *et al.*, (2007), estudiaron la influencia de la concentración de la SO y los tiempos de vacío y relajación sobre diferentes características de manzanas mínimamente procesadas tratadas por IV y observaron que la SO de mayor concentración (50° Brix) generó mayor SG (máximo aproximado del 23%), en

comparación con una SO de 21,8° Brix en donde la SG no superó el 10%, lo cual concuerda con los resultados obtenidos para los sólidos solubles, ya que al emplear la SO de concentración alta, hubo mayor incremento en su contenido. La ganancia de sólidos más alta se dio con una combinación de $t_v = 25$ min y un $t_r = 15$ min con SO de 50 °Brix.

Por otro lado, Mujica *et al.*,(2003) observaron que en manzanas frescas cortadas e impregnadas por vacío, el valor de SG incrementó bajo ciertas condiciones; se determinó que a una presión de vacío máxima (647 mbar) y una concentración de SO= 47°Brix se alcanzó el valor más alto de SG (10%), y con concentraciones más bajas de SO se produjo menor incremento de SG. El melón por su parte presenta la máxima SG con una presión de vacío alta (647 mbar) y una SO de concentración alta (60° Brix), esto puede deberse a una deformación del tejido durante el t_v por aplicación de una alta presión que permite el ingreso de una SO de alta viscosidad, que no saldrá de la fruta durante el tiempo de relajación; en el caso del mango se presenta un comportamiento similar al melón, pero al aplicar una baja presión de vacío difícilmente la SO penetrara en el tejido debido a la baja porosidad de esta fruta; este hecho se corrobora con lo descrito por Shi y Fito, (1993), quienes determinaron que la SG en frutas dependerá en gran parte de sus características biológicas y que la SG está estrechamente relacionada con la porosidad de las frutas; ellos determinaron que aquellas frutas con una mayor porosidad efectiva presentan mayor SG, en ese sentido, la piña que tiene alta porosidad (mayor que durazno y frutilla), recepta más cantidad de azúcar en el tejido al trabajar con SO hipertónicas de sacarosa. Las frutas con una porosidad alta son más idóneas para la aplicación de tratamientos de impregnación por vacío

En cuanto a la reducción de peso (WR); Paes *et al.*,(2007) determinaron que manzanas frescas cortadas tratadas por IV (40 mbar), con $t_v = 15$ min, $t_r = 25$ min y una SO isotónica de sacarosa a 21,8°Brix; dio como resultado valores de WR negativos, lo cual indica que existió ganancia de peso, los autores observaron que a pesar de que una cantidad de líquido nativo sale de la muestra en el transcurso del t_v , al restaurar la presión atmosférica durante el t_r , gran cantidad de SO ingresa en el tejido, lo cual es predecible ya que la SO isotónica tiene

mayor proporción de agua e ingresa con mayor facilidad al tejido. Por otra parte, también corroboraron que, al emplear una solución isotónica, con un tv alto (40 min) y tr de 0min se generó una WR cercana al 5%, esto puede deberse a la pérdida del líquido nativo en un periodo de vacío largo y, al no existir un tr, no se produce recuperación del líquido; esto concuerda con la WL alcanzada bajo estas mismas condiciones que fue la más alta obtenida en el estudio.

Shi y Fito, (1993), encontraron una mayor WR en piñas, albaricoques y frutillas mínimamente procesadas, tratadas por IV en comparación con aquellas sometidas a DO; debido al intercambio sólido líquido generado durante el proceso de IV que permite tener una mejor transferencia de masa. Se obtuvieron incrementos de WR del 32,34% para piña, 29,32% para albaricoque y 15,88% para frutillas, esta diferencia puede atribuirse a la porosidad de las frutas, que como se había indicado anteriormente, es mayor para la piña, por lo tanto, la WR es más alta.

Por otro lado, Mujica *et al.*,(2003), observaron que la WR de manzana, melón y mango frescos cortados sometidos a IV es dependiente de la concentración de la SO, a medida que esta incrementa, la WR es mayor, aunque en manzanas se observan valores negativos para WR, es decir ganancia de peso, cuando la SO tuvo baja concentración, ellos concluyeron que este comportamiento se debe a la porosidad alta de la manzana, que permite un mayor ingreso de la SO cuanto esta es más diluida, no ocurre lo mismo con melón y mango que tienden a deshidratarse debido a su baja porosidad.

Textura, sabor y color

Los procesos internos generados por la aplicación de la tecnología de IV en una matriz alimentaria porosa pueden inducir diferentes cambios celulares que conllevan a la modificación de la estructura y el tejido, en algunos casos se generar mejoras, dependientes de los elementos que componen la SO, o por el contrario, las condiciones del proceso

aplicadas producen una disminución de la calidad sensorial de las frutas u hortalizas debido a cambios desfavorables en su textura.

Las condiciones de procesamiento de IV deben ser las adecuadas para evitar la pérdida de calidad ya que la textura se constituye en uno de los atributos más importantes para determinar la aceptabilidad de frutas frescas por parte de los consumidores. En ese sentido, Faicán *et al.*, (2018) estudiaron la influencia de las variables del proceso en la obtención de manzanas mínimamente procesadas sometidas a IV con SO de sacarosa a 30°Brix y determinaron que manzanas impregnadas a presión de vacío alta (667,3 mbar) perdieron aproximadamente el 31% de la firmeza, independientemente del tiempo de tratamiento ($t_v/t_r = 3$ min y $t_v/t_r = 10$ min) pero observaron que una combinación de presión de vacío baja (66,7 mbar) y tiempos de vacío y relajación cortos (3 min), generaron un incremento leve de la firmeza ($\approx 1\%$) lo cual puede deberse a que una presión de vacío alta genera mayor deformación del tejido, por ruptura de las membranas celulares e incremento de los espacios intercelulares lo que hace que la fruta pierda la resistencia a la fuerza aplicada sobre ella, en cambio una presión de vacío baja mantiene de mejor manera la textura de la fruta. De la misma forma, Faicán *et al.*, (2018), estudiaron el impacto del t_v y t_r sobre la textura de manzanas frescas cortadas tratadas por IV ($P = 67,7$ mbar y $SO = 30^\circ\text{Brix}$, t_v y t_r en un rango de 1,14 a 14 min). Mediante optimización de respuestas múltiples establecieron que las condiciones del proceso adecuadas para evitar cambios desfavorables en la fuerza máxima (firmeza) y distancia lineal (textura crujiente), implicaron un t_v intermedio = 7,4 min y t_r bajo = 1,5 min. De la misma manera, encontraron que tiempos de vacío altos generaron efectos negativos en la textura, ya que los valores de las respuestas estudiadas disminuyeron luego de aplicar los tratamientos de IV.

Por otra parte, Zhao y Xie, (2004), determinaron que la textura de los alimentos sometidos a IV depende del tipo de SO aplicada, ellos observaron que soluciones isotónicas o hipotónicas no generan cambios de firmeza en manzanas frescas cortadas, pero encontraron que la firmeza se reduce al trabajar con soluciones hipertónicas ya que se genera deshidratación del producto de manera simultánea, con pérdida de turgor y

elasticidad, asimismo altera la resistencia celular. El incremento de su carácter viscoso, genera cambios en las fracciones de aire y líquido en el producto y en la forma y tamaño del mismo. La pérdida de presión de la turgencia se debe a la plasmólisis o la ruptura del tonoplasto y plasmalema de las células vegetales. La pérdida de la elasticidad se debe al intercambio aire-líquido durante las operaciones de vacío (Alzamora *et al.*, 1997).

La impregnación por vacío puede usarse como una tecnología para mejorar la textura y limitar el goteo del líquido celular. En este caso, se aplica como pre tratamiento en la materia prima mediante la introducción de iones calcio dentro del tejido. El mecanismo de este proceso se explica por la quelación de los iones calcio por los grupos carboxilo de la pectina, lo cual permite la formación de un gel a bajo pH. Se ha observado que la IV puede facilitar la impregnación de los iones calcio de manera más efectiva en el tejido en comparación con tratamientos de escaldado o de inmersión (Radziejewska *et al.*, 2014).

En este mismo sentido, Quintanilla *et al.*, (2018), indicaron que la mayor concentración de pectina está presente en la laminilla media del tejido, donde el calcio juega un papel importante en el mantenimiento de la estructura de la pared celular formando una estructura firme similar a un gel. La pectina de bajo metoxilo (LMP) forma un gel en presencia de calcio, que actúa como un puente entre los pares de grupos carboxilo de las moléculas de pectina sobre las cadenas de polímeros adyacentes muy cercanos. Las interacciones entre los iones Ca^{2+} y los grupos carboxilo de la pectina se describen por el modelo de la caja de huevos. La pectinmetilesterasa (PME) que es una enzima nativa en frutas y hortalizas, también puede aumentar la firmeza de estos alimentos mediante la desmetilación de la pectina endógena, que formaría LMP que será fácilmente entrecruzada por el calcio. En ese sentido, estos autores estudiaron diferentes agentes para mejorar la firmeza de frambuesas rojas por aplicación de la tecnología de IV, ya que estas frutas tienen un tejido frágil que las vuelve fácilmente perecibles. Para ello usaron varias soluciones de impregnación a diferentes concentraciones: pectina de bajo metoxilo (LMP) (10g LMP/Kg de solución); Cloruro de calcio (30 g Ca/Kg de pectina diluida en agua); pectinmetilesterasa (PME) (10 g/Kg de solución) y Cloruro de Calcio (10 g Ca/Kg de solución). Evaluaron tres

presiones de vacío = 33,9 kPa; 50,8 kPa y 67,8 kPa, tres t_v = 5, 7 y 15 min y dos temperaturas = 20 y 40°C. Definieron que un nivel de vacío de 50,8 kPa con un t_v = 7 min a una temperatura de 20°C en la solución de cloruro de calcio en pectina, son la mejor alternativa para mejorar la firmeza e integridad de las frambuesas y este tratamiento puede ser usado como un pretratamiento para la congelación de estos frutos. Por su parte, Xie y Zhao,(2003), evaluaron la firmeza de manzanas frescas cortadas sometidas a IV con jarabe de maíz de alta fructosa (HFCS) a dos concentraciones de SO (20 y 50%), más adición de una mezcla de gluconato de calcio más lactato de calcio al 5,24% y 7,5% (GC) y un SO del 0,04% de lactato de Zinc (LZ). Las muestras tratadas con SO de 50% de concentración generaron una reducción de la fuerza máxima de las manzanas, mientras que aquellas tratadas con SO al 20% resultaron menos afectadas. De la misma forma, la integración del 5,4% de GC en la SO incrementó significativamente la fuerza máxima de la fruta, obteniéndose un valor similar a la manzana fresca. La adición de GC generó un incremento en la resistencia mecánica de los tejidos, debido a un mejoramiento de la cohesión celular y aumento de la integridad de la pared celular. Según los autores, la pérdida de elasticidad en manzana sometida a IV en una solución isotónica se atribuye al intercambio líquido-aire durante la operación de vacío; mientras que la IV con SO hipertónicas genera descenso de la firmeza de forma significativa debido a la pérdida de turgor celular generada por la desunión celular y reducción del módulo mecánico de los tejidos vegetales.

De la misma manera, Guillermin *et al.*,(2008), observaron que la tecnología de IV puede ser empleada para adicionar pectinmetilesterasa en piezas de fruta de manera más rápida y homogénea que al usar tratamientos como el escaldado, con la finalidad de mejorar la firmeza de manzanas tratadas térmicamente. Degraeve *et al.*, (2003) estudiaron el efecto de fortalecimiento de la estructura de manzana, frutillas y frambuesas frescas cortadas que posteriormente fueron pasteurizadas; para ello se aplicó un tratamiento previo de IV con una solución de pectinmetilesterasa (PME) e iones calcio, observándose que las frutillas y las manzanas son buenas candidatas para la aplicación del tratamiento de IV con la finalidad

de reducir la pérdida de firmeza luego de aplicar tratamientos de pasteurización en las frutas.

Senturk *et al.*, (2018), estudiaron la aplicación de un recubrimiento comestible basado en una solución de alginato de sodio, aplicado a melón fresco cortado, por un tratamiento de inmersión y por la tecnología de IV llevada a cabo bajo tres presiones=50, 100 y 150 mbar, tiempos de vacío de 4, 10 y 15 min y $t_r = 15$ min; obteniéndose el mayor incremento de firmeza (13,4%) con una presión de 100 mbar y $t_v = 10$ min, mientras que el mayor incremento de la firmeza por el tratamiento de inmersión fue del 9,3%. Los investigadores concluyeron que los dos procesos mejoraron la firmeza de las frutas, sin embargo, la aplicación de IV generó mejores resultados.

Por otra parte, se conoce que la IV puede modificar los atributos sensoriales como el sabor y el aroma, y dependiendo de la naturaleza del alimento se pueden emplear diferentes soluciones osmóticas, en general para las frutas se usan azúcares y para hortalizas, sales. Blanda *et al.*, (2008), aplicaron un tratamiento de IV en manzanas frescas cortadas con soluciones hipertónicas que contenían dextrosa, sacarosa, ácido ascórbico, cloruro de calcio y cloruro de sodio. Después de la IV las muestras fueron congeladas. Se generó un incremento importante en el dulzor de las manzanas y aquellas que no fueron impregnadas no fueron sensorialmente aceptadas, además sufrieron pérdidas de los jugos celulares.

Radziejewska *et al.*, (2014), observaron una extensión del tiempo en el cual se mantenía el sabor de lichi sometido a IV con SO hipertónicas de sacarosa, cisteína, ácido ascórbico y 4-hexilresorcinol; la aceptabilidad en cuanto al sabor del fruto sometido a IV con las diferentes SO se mantuvo después de 4 días de almacenamiento, mientras que muestras sometidas a DO a presión atmosférica en una SO de agua, disminuyeron su aceptabilidad.

Roble *et al.*, (2011); Ferreira *et al.*, (2010) y Martin-Belloso *et al.*, (2005), observaron que manzanas frescas cortadas sin ningún tratamiento adicional, tienen la peculiaridad de presentar pardeamiento enzimático, afectando así las características sensoriales y

bioquímicas; concluyendo así que el uso de tratamientos a base de ácido cítrico (AC) (reductor de pH y quelante de Cu^+) y AA (agente reductor y secuestrante de oxígeno) son indispensables para mantener o mejorar la calidad “de fresco” de vegetales frescos cortados. El pardeamiento enzimático es uno de principales procesos de deterioro en la calidad de frutas y hortalizas frescas cortadas. Es ocasionado por la oxidación enzimática de fenoles y quinonas por acción de enzimas, típicamente polifenoloxidasas, en presencia de oxígeno. Las quinonas se forman y luego son sometidas a nuevas reacciones, induciendo a la generación de pigmentos coloreados oscuros (Ozoglu y Bayindirli, 2002). Sustancias químicas como AA, AC y sulfitos, son usados tradicionalmente para prevenir reacciones de pardeamiento indeseables, sin embargo, también existe interés en identificar agentes anti pardeantes naturales, en ese sentido, la miel, ha sido investigada por su actividad antioxidante y sus potenciales aplicaciones como agente anti pardeante natural en alimentos. La miel posee actividad antioxidante que se atribuye a una variedad de fuentes e ingredientes funcionales que incluyen vitamina C, péptidos pequeños, flavonoides y otros compuestos fenólicos, enzimas (glucosa oxidasa y catalasa), y su bajo pH (Jeon y Zhao, 2005). Oszmianski y Lee, (1990), sugirieron que la miel no solamente inhibe la oxidación enzimática de polifenoles, sino también convierte una parte de las *o*-quinonas en sus polifenoles originales. Se conoce que este tipo de reacción ocurre con ácido ascórbico, el cual rápidamente invierte las *o*-quinonas a polifenoles. Se espera que los compuestos fenólicos de la miel, inactiven eficientemente varias especies reactivas de oxígeno con alto potencial (Robards *et al.*, 1999). A pesar de que estos compuestos fenólicos tienen doble rol, como antioxidantes y como sustratos para reacciones oxidativas de oscurecimiento, existe un gran interés en su influencia positiva sobre la reacción de pardeamiento enzimático. Las enzimas en la miel también pueden actuar como antioxidantes promoviendo la remoción de oxígeno. Un péptido de peso molecular de 600 en miel puede además contribuir al efecto inhibitorio de la actividad de la polifenoloxidasa en uvas blancas y manzanas frescas cortadas (Oszmianski y Lee, 1999). El contenido antioxidante de la miel

está influenciado por la región geográfica de la fuente floral (Chen *et al.*, 2000; Gheldof *et al.*, 2002).

Jeon y Zhao, (2004), observaron que los tratamientos de IV favorecen el ingreso de miel en el interior de las frutas haciendo más efectivo el proceso de prevención del pardeamiento enzimático, en comparación con una simple inmersión de la fruta; sin embargo también corroboraron que al usar una miel oscura, se puede generar una reducción inicial en los valores de L*, causando un problema potencial en frutas de color claro como la manzana ya que la fruta llega a tornarse de un color similar a la miel. Por su parte Chen *et al.*, (2000), trabajaron con manzanas frescas Red Delicious, las cuales fueron trituradas y homogenizadas en un stomacher con 1% de miel y otros antioxidantes como AA (0.1%) para corroborar la inhibición del pardeamiento y vieron que la miel con AA generó una inhibición del pardeamiento 3 veces superior a aquella obtenida con adición de miel sola.

Mejora del potencial saludable

la IV puede ser empleada con la finalidad de incorporar nuevos compuestos y/o restituir pérdidas o retener elementos nutritivos y/o bioactivos, que se pierden durante las operaciones de procesamiento y almacenamiento.

Tappi *et al.*, (2017), estudiaron la calidad y estabilidad de manzanas mínimamente procesadas sometidas a IV con diferentes SO, con y sin adición de extracto de té verde (GTE), las soluciones empleadas fueron: a) sacarosa, b) sacarosa + GTE, c) sacarosa + AA y sacarosa + AA +GTE. Los investigadores encontraron que el contenido de fenoles totales fue más alto en manzanas impregnadas con GTE, lo mismo ocurrió con la actividad antioxidante en la cual se obtuvieron valores 10 a 20 veces más altos en comparación con la fruta tratada con las SO sin GTE. Esto puede deberse al alto contenido de flavonoides presentes en el té verde a los cuales se les atribuye una alta capacidad antioxidante.

Hironaka *et al.*, (2011) estudiaron el enriquecimiento de papas enteras con AA por IV usando una SO con AA al 10% con presión de vacío=70 cmHg a diferentes tiempos de vacío

(entre 0-60 min), encontrando que la concentración de AA de las papas aumentó a medida que incrementó el tiempo de vacío (máx. 150 mg / 100 g a 60 min) obteniéndose un contenido de AA 21 veces más alto en comparación con la materia prima. Además, un estudio de cocción mostró que 100 g de papas sometidas a IV y cocidas al vapor por 25 min podían proporcionar a los adultos entre el 90 y el 100% de cantidad diaria recomendada de AA (por 100 mg), sin embargo, se observó una reducción del 42% del contenido inicial de AA (150 mg/100 g) luego del proceso de cocción; de igual forma, el estudio demostró que las papas tenían una concentración de AA relativamente alta (50 mg / 100 g) a los 14 días de almacenamiento a 4 ° C. El tratamiento IV fue útil para enriquecer las papas con AA.

Por su parte Lin *et al.*, (2006), aplicaron la tecnología de IV (P= 100 mmHg, t_v = 15 min y t_r = 30 min) en peras frescas cortadas con una SO de miel más adición de vitamina E, con la finalidad de enriquecer la fruta con dicha vitamina; la SO consistió en una dilución de miel en agua al 20% con adición del 0,4-0,8% de α -tocoferol acetato, tocoferol libre y α -tocoferol acetato soluble en agua. Los investigadores encontraron que el contenido de vitamina E en las peras se incrementó de 80 a 100 veces respecto al contenido de la fruta sin impregnar y luego de dos semanas de almacenamiento las frutas presentaron una retención de la vitamina del 65-80%.

Por otro lado, Cortez *et al.*, (2018), estudiaron el impacto de los tiempos de vacío y relajación sobre el potencial saludable de manzanas frescas cortadas sometidas a IV con SO de sacarosa más adición del 1% de AA y 1% de AC y observaron un incremento de la actividad antioxidante a medida que t_v y t_r aumentaron, alcanzando incrementos superiores al 100%, con respecto a la fruta sin impregnar; lo mismo ocurrió con el contenido de fenoles totales obteniéndose un incremento máximo aproximado del 60%. El contenido de AA en la fruta tratada obtuvo incrementos muy grandes (7000%) al aplicar t_v altos

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la factibilidad de la aplicación de la tecnología de impregnación por vacío en frutillas y manzanas mínimamente procesadas, bajo diferentes condiciones de procesamiento, con la finalidad de obtener productos con características de calidad mejoradas, manteniendo su calidad de “fruta fresca”

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la factibilidad de aplicación del proceso de impregnación por vacío para recuperar antocianinas perdidas durante las operaciones previas en el proceso de preparación de frutilla mínimamente procesadas
- Estudiar el proceso de impregnación por vacío en frutillas mínimamente procesadas con distintas soluciones osmóticas de sacarosa y jugo natural de frutilla a distintos tiempos de vacío, determinando los cambios en el contenido de antocianinas totales, sólidos solubles, pH, y los parámetros de transferencia de masa
- Estudiar el proceso de impregnación por vacío en manzanas mínimamente procesadas con solución osmótica de miel variando la concentración de ácido ascórbico y cítrico y determinando los cambios en contenido de vitamina C, fenoles totales, capacidad antioxidante, sólidos solubles, pH, parámetros de IV, parámetros de color y firmeza.
- Estudiar el comportamiento de ambas matrices vegetales frente a los tratamientos aplicados en ensayos de almacenamiento refrigerado durante 7 días valorando los atributos de calidad de los productos.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO DE IMPREGNACIÓN POR VACÍO

Las Figuras 3.1 y 3.2 muestran el equipo de impregnación por vacío utilizado en las experiencias. Consiste en un sistema con una bomba de vacío ① (Bombacio 31 042/169), conectada a una primera válvula de dos vías ② que controla la generación de vacío en la primera parte del sistema, es decir el intervalo que va desde el punto ② hasta el punto ④; a su vez, la bomba va conectada a un kitasato que contiene sílica gel con el objetivo de proteger la bomba del paso de humedad. El kitasato ③ se conecta a un desecador de vacío ⑥, en donde se llevará a cabo el proceso de impregnación. Este contenedor tiene una válvula a la entrada ④ que regula el nivel de vacío que se genera en su interior. El sistema cuenta con un vacuómetro ⑤ para controlar el nivel de vacío. El desecador tiene una capacidad total de 6L y en su interior se coloca una canastilla construida con malla plástica ⑦ que va a contener el material vegetal ⑨ a impregnar. La solución osmótica a emplear en el proceso rodea la malla ⑧.



Figura 3.1: Esquema del equipo de impregnación por vacío diseñado para el desarrollo de la tesis



Figura 3.2: Equipo de impregnación por vacío

3.2. ENSAYOS DE IMPREGNACIÓN POR VACÍO

3.2.1. Materia Prima

Frutilla

En el estudio se emplearon frutillas de la variedad *Festival*, obtenidas en la localidad de Coronda, Provincia de Santa Fe (Figura 3.3). Las frutillas se almacenaron en cámara de frío a una temperatura de 1,5°C por un periodo de 24h, hasta el momento de efectuar los ensayos. Las frutas fueron seleccionadas, descartando las que se encontraban en mal estado, se acondicionaron eliminando el cáliz y pedúnculo, luego se realizó un primer lavado por inmersión con agua de red por un tiempo de 2min y posterior escurrido; después las frutillas se cortaron en mitades y se sometieron a un segundo lavado y desinfección por inmersión, empleando ácido peracético a 20mg/L por 52s, en condiciones óptimas de procesamiento (maximizando retención de compuestos bioactivos con 2 log de reducción de microorganismos aerobios mesófilos) según Van De Velde *et al.*, (2012).



Figura 3.3: Frutillas cultivadas en la localidad de Coronda-Santa Fe

Manzana

Se emplearon manzanas variedad *Granny Smith* obtenidas en el mercado local (Figura 3.4), y se almacenaron en cámara de frío a una temperatura de 1,5°C hasta el momento de los ensayos. Posteriormente las manzanas fueron seleccionadas verificando que no presenten daños y se colocaron en mesada hasta que alcancen la temperatura ambiente de alrededor de 22°C; luego se pelaron, descorazonaron, cortaron en cubos de 1,5 cm de lado y finalmente fueron pesadas previa ejecución del tratamiento de impregnación por vacío (IV).



Figura 3.4: Manzanas empleadas en el desarrollo del estudio, adquiridas en el mercado local

3.2.2. Ensayos de impregnación por vacío en frutillas

Ensayos preliminares para la determinación de la factibilidad en el uso de jugo de frutilla para impregnación por vacío

Se efectuaron ensayos de impregnación con 3 soluciones osmóticas diferentes: jugo natural de frutilla + 1% ácido ascórbico + 1% ácido cítrico (JF), jugo natural diluido a la mitad (JF₂) y Jugo natural de frutilla diluido a la tercera parte (JF₃) Tabla 3.1.

Tabla 3.1: Concentración y pH de las soluciones osmóticas (SO) empleadas en el proceso de impregnación por vacío

| SO | ° Brix | pH |
|-----------------|----------|----------|
| JF | 7,0±0,06 | 3,0±0,00 |
| JF ₂ | 3,5±0,05 | 3,2±0,05 |
| JF ₃ | 2,3±0,05 | 3,3±0,05 |

Los ensayos de impregnación por vacío se realizaron a temperatura ambiente (22°C), con presión de vacío de 67,8 mbar, con tiempo de relajación (tr=7,5min), tiempo de vacío (tv= 7,5min) y con relación fruta: SO de 1:10p/p. Finalmente, las frutillas se ubicaron en una malla durante 1min para escurrir la SO de la superficie y luego sobre papel absorbente para retirar el excedente de SO, 30s de un lado y 30s del otro (Figura 3.5).

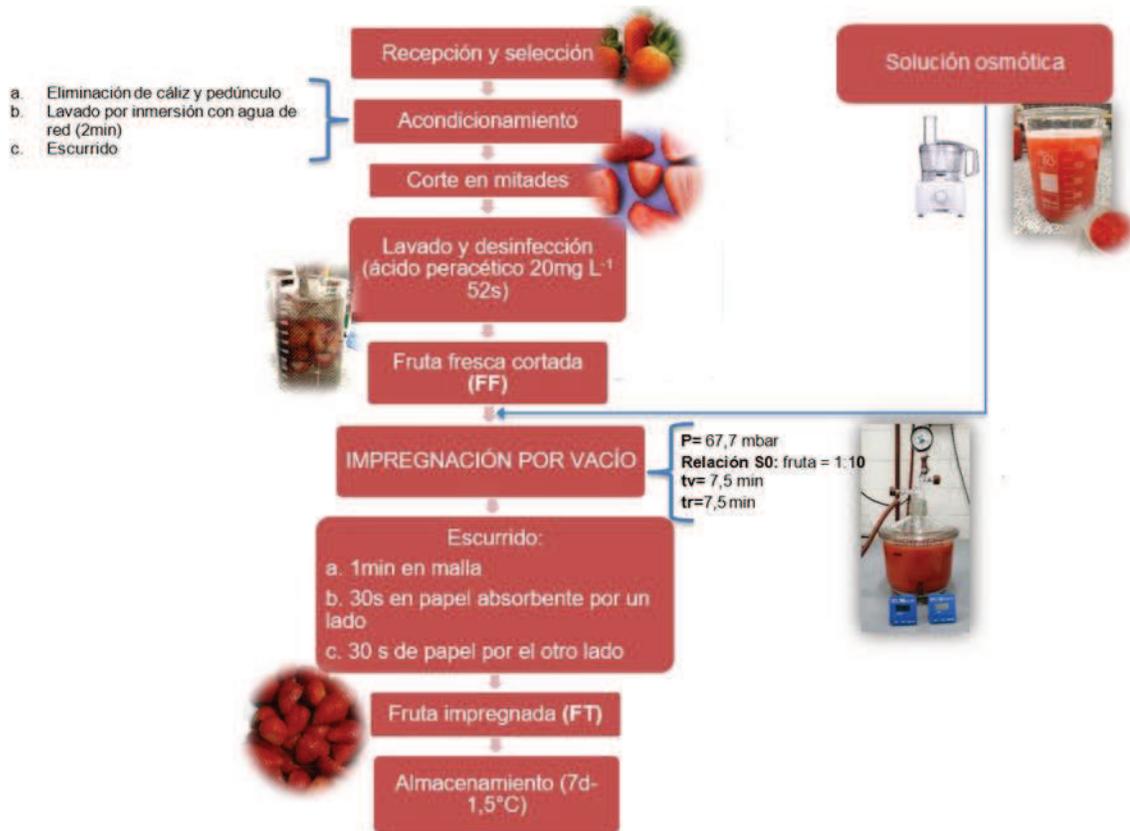


Figura 3.5: Proceso de impregnación por vacío correspondiente a ensayos preliminares

Los ensayos de impregnación se realizaron a temperatura ambiente (22°C), con presión de vacío de 67,8 mbar y tiempo de relajación fijo ($t_r=7,5\text{min}$), a dos tiempos de vacío ($t_{v1}=7,5\text{min}$ y $t_{v2}=14\text{min}$), usando distintas soluciones osmóticas: jugo natural de frutilla (JF), solución de sacarosa 30°Bx (S_{30}), solución de sacarosa 7°Bx (S_7), JF diluido al 50% llevado a 7°Bx con sacarosa (JF_2S_7) y JF llevado a 30°Bx con sacarosa (JFS_{30}); todas las SO tuvieron adición del 1% de ácido ascórbico y 1% de ácido cítrico, para el proceso se empleó una relación fruta:SO de 1:10p/p. Al final del tratamiento, las frutillas se colocaron en una malla por un periodo de 1min con la finalidad de eliminar el exceso de jugo presente en la superficie, finalmente el líquido localizado de la parte externa fue retirado ubicando la fruta

sobre papel absorbente, por un tiempo de 30s para cada lado, luego se pesó la muestra (Figura 3.6).

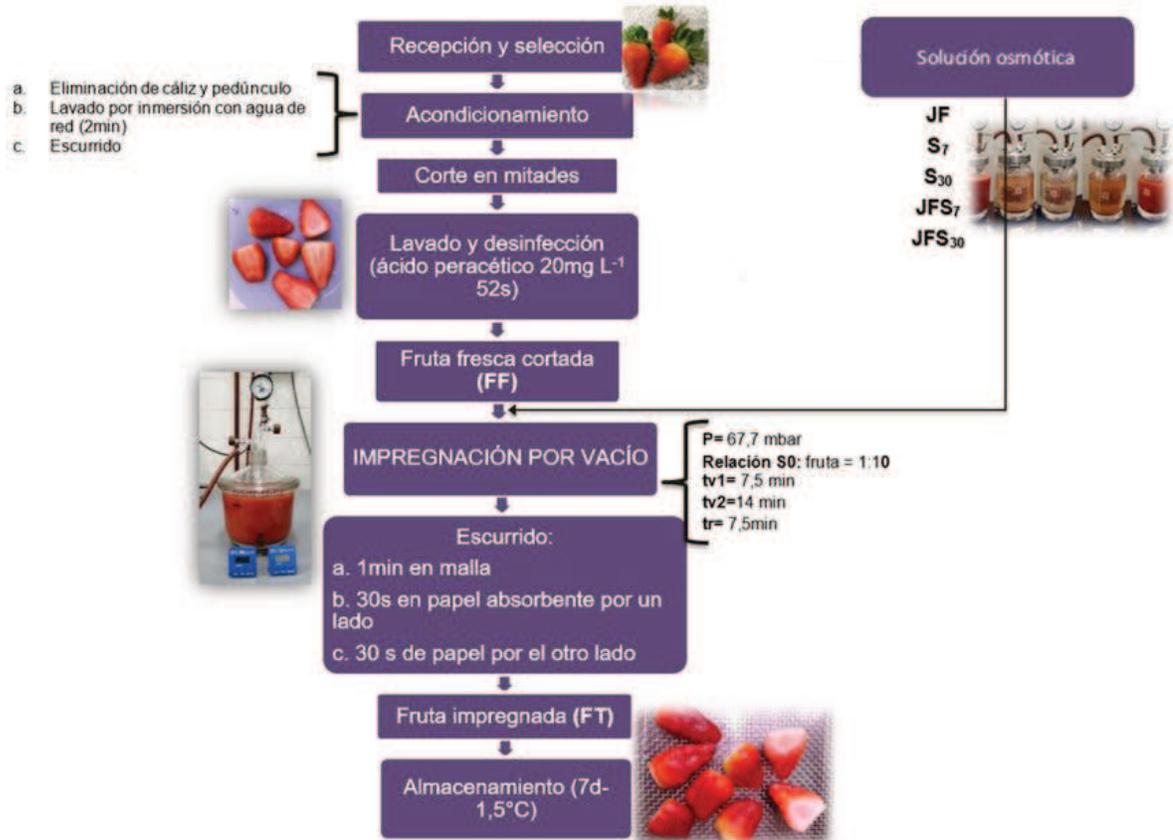


Figura 3.6: Diagrama de flujo del proceso de Impregnación por vacío para frutillas frescas cortadas

3.2.3. Ensayos de impregnación por vacío en manzanas

Manzanas *Granny Smith* fueron seleccionadas, lavadas, peladas, descorazonadas y cortadas en cubos de 1.5cm de lado. Se efectuaron ensayos de IV con $t_v = 14$ min y $t_r = 7.5$ min, con presión de vacío suave (67.7mbar) y relación fruta:SO 1:10p/p a 22°C. Los tratamientos se realizaron empleando tres SO de miel a 30°Bx con y sin adición de ácido cítrico (AC) y ácido ascórbico (AA):

M_0 = solución osmótica de miel (SM); $M_{0,5}$ = SM+0.5% AC + 0.5% AA y M_1 = SM + 1% AC + 1% AA. Finalmente, los cubos se ubicaron en una malla durante 1min para escurrir la SO de la superficie y luego sobre papel absorbente para retirar el excedente de SO,30s de un lado y 30s del otro (Figura 3.7).

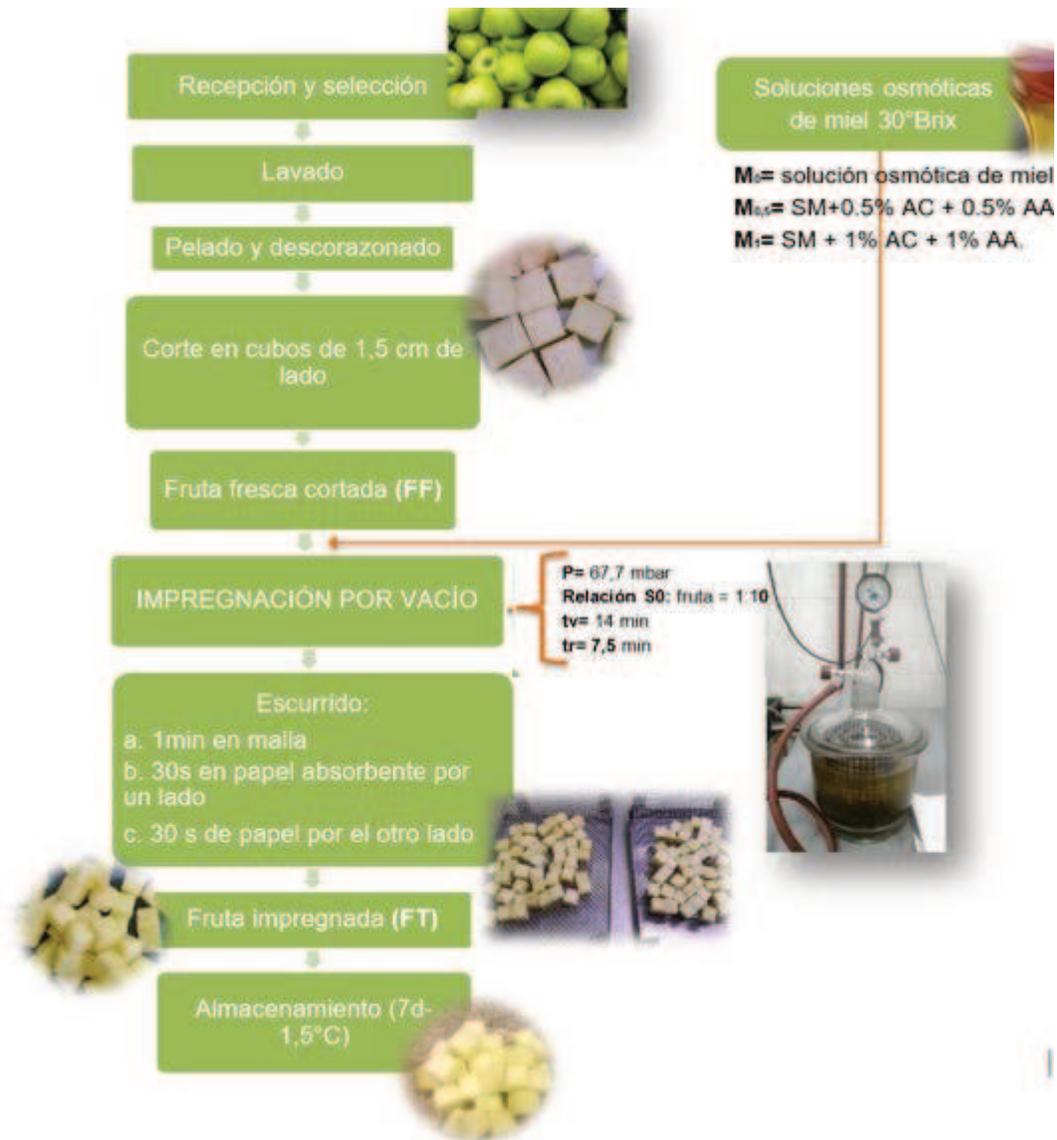


Figura 3.7: Diagrama de flujo del proceso de impregnación por vacío de manzanas frescas cortadas

3.3. DETERMINACIONES ANALÍTICAS PARA FRUTILLAS Y MANZANAS

Diferentes determinaciones analíticas se efectuaron en las frutas, en el día de aplicación de los tratamientos de impregnación por vacío (día cero) y después del período de almacenamiento (día 7). El almacenamiento se efectuó en cámara frigorífica a 1,5°C por 7 días en recipientes de plásticos PET de 0,42mm de espesor, área superficial de 0,045m², con permeabilidad para O₂= 4,73 x 10⁻¹⁵ – 9,617 x 10⁻¹⁵ Kg m⁻² s⁻¹ Pa⁻¹ (a 23°C y 0% de humedad relativa) y para vapor de agua= 1,3x10⁻⁷ – 2,08x10⁻⁷ Kg m⁻² s⁻¹ Pa⁻¹ a 38°C y 90% de humedad relativa; para posterior análisis. Los análisis se efectuaron sobre la fruta fresca cortada (FF) y fruta fresca cortada tratada por IV (FT).

3.3.1. Determinación de parámetros de transferencia de masa

Los parámetros de transferencia de masa: ganancia de sólidos (SG), pérdida de agua (WL) y reducción de peso (WR) fueron determinados en base a las ecuaciones 2, 3 y 4 respectivamente:

$$\%SG = \frac{M_f (100 - H_f) - M_i (100 - H_i)}{M_i} \quad (1)$$

$$\%WL = \frac{(M_i \times H_i) - (M_f \times H_f)}{M_i} \quad (2)$$

$$\%WR = WL - SG \quad (3)$$

Donde:

M_i = peso de fruta fresca cortada (FF) (g)

M_f = peso de la fruta fresca cortada tratada por IV (FT) (g)

H_i = humedad relativa de fruta fresca (%)

H_f = humedad relativa de fruta tratada (%)

Valores negativos para SG, WL y WR indican que existe pérdida de sólidos, ganancia de agua e incremento de peso, respectivamente.

3.3.2. Determinación de sólidos Solubles, pH y contenido de humedad

Para la determinación de sólidos solubles (SS), pH y humedad relativa se trituraron las muestras en un homogenizador. La medición de SS se realizó con un refractómetro portátil digital PAL-ALFA (Atago, Tokio, Japón). Para la determinación del pH se utilizó un pHmetro Cardy Twin B-113 (Horiba Ltd. Kyoto, Japón) (Figura 3.10). Para la determinación del contenido de humedad se utilizó un analizador de humedad PMR50 (RADWAG, Polonia). Las determinaciones se realizaron por triplicado

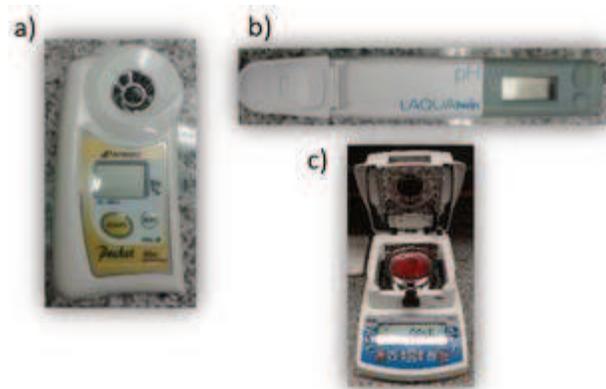


Figura 3.8: Refractómetro portátil digital a), pHmetro b) y medidor de humedad c), utilizados para determinación de parámetros de transferencia de masa sólidos solubles y pH de las muestras, respectivamente.

3.3.3. Determinación de firmeza

Para efectuar la determinación de firmeza, se empleó un analizador de textura TA.XT Plus (Stable Micro System). Se realizó un test de penetración utilizando una punta cilíndrica de 11 mm de largo y 4mm de diámetro, con una celda de carga de 5Kg. La distancia de penetración para muestras de frutilla fue de 6 mm, mientras que para las manzanas se empleó una celda de carga de 50Kg y una distancia de penetración de 8 mm; en los dos

casos, la velocidad de test fue de 1 mm s^{-1} . Se utilizó el software *Exponent* para determinación de fuerza máxima (F) expresada en Newton (N). El valor F representa el punto máximo de fuerza ejercida por la punta para penetrar en la muestra (Figura 3.9). Se midieron 10 muestras por cada fruta y se informó el valor medio.

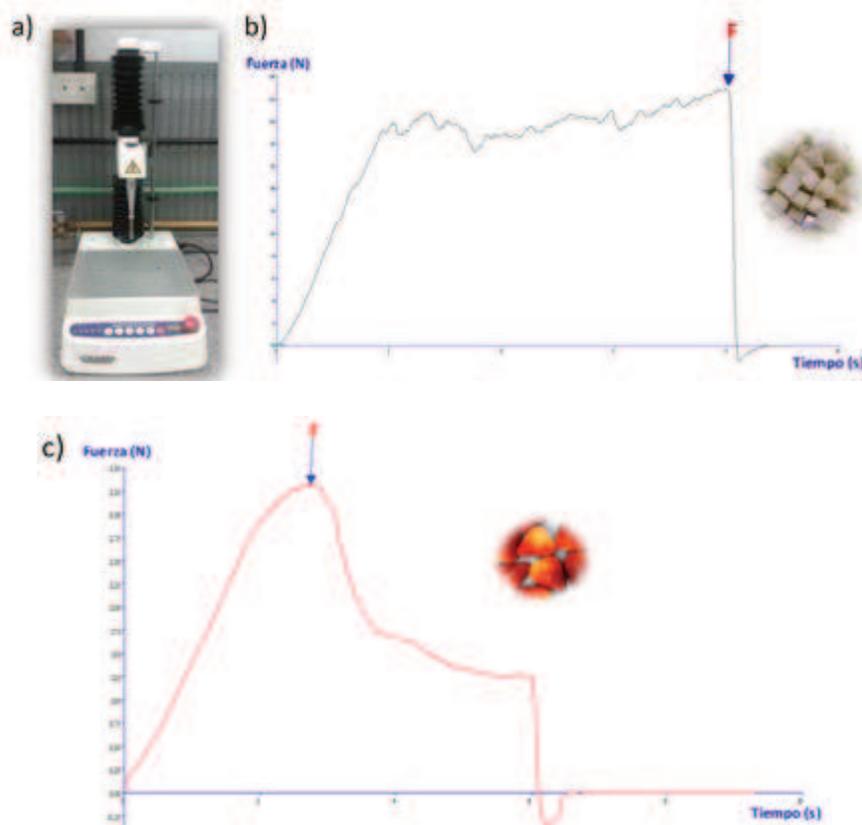


Figura 3.9: Determinación de Firmeza. a) Texturómetro TA.XT Plus (Stable Micro System) empleado en el análisis, b) curva de penetración fuerza máxima (N) vs tiempo(s) de una muestras de manzana y c) curva de penetración fuerza máxima (N) vs tiempo(s) de una muestra frutillas frescas cortadas.

3.3.4. Determinación de parámetros de color

La medición del color para las muestras se realizó con un espectrofotómetro Minolta CM 508-d con ángulo del observador de 10° con iluminante D65 y SCE (componente especular excluido) (Piagentini y Pirovani, 2017). Los parámetros de color evaluados fueron

L^* , a^* , b^* , h_{ab} , C^*_{ab} y la diferencia total de color (ΔE^*_{ab}). La luminosidad varía de $L^*=100$ (blanco) a $L^*=0$ (negro); el parámetro C^*_{ab} indica la cromaticidad o saturación, h_{ab} es el ángulo de tono, 0° (rojo), 90° (amarillo), 180° (verde) y 270° (azul) (Figura 3.10). Se midieron 10 muestras individuales para cada fruta y se informó el valor medio obtenido.

La diferencia total de color ΔE^*_{ab} se define a través de la siguiente ecuación:

$$\Delta E^*_{ab} = \sqrt{(\delta L^*)^2 + (\delta a^*)^2 + (\delta b^*)^2} \quad (4)$$

Donde:

$$\delta L^* = L^*_{FTi} - L^*_{FF}$$

$$\delta a^* = a^*_{FTi} - a^*_{FF}$$

$$\delta b^* = b^*_{FTi} - b^*_{FF}$$

Donde:

FF= Fruta fresca cortada

FT_i= Fruta fresca cortada tratada por impregnación por IV

i= día de ejecución de análisis, día cero (0) corresponde al día en el que se efectuó el tratamiento, y día siete (7) corresponde al tiempo de almacenamiento a $1,5^\circ\text{C}$.

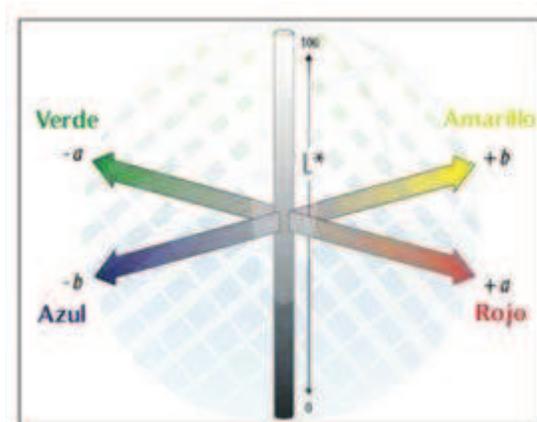


Figura 3.10: Coordenadas de color en el sistema Hunter Lab.

3.3.5. Determinación de Vitamina C

El ácido L-ascórbico (AA) es la principal forma bioactiva de la vitamina C, este es oxidado de manera reversible a ácido L- dehidroascórbico (ADHA). Esta última forma también exhibe actividad biológica pero una oxidación posterior e irreversible genera ácido dicetoglicónico, que no tiene actividad biológica. Por lo tanto, la vitamina C, como el ácido ascórbico total (AAT) en las frutas, puede asumirse igual a la suma de los contenidos de AA y ADHA (Van de Velde *et al.*, 2012).

Para la determinación de Vitamina C se empleó un cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC) SHIMADZU serie LC-20A equipado con una columna de fase reversa Gemini 5 μ C18 110A de 250 x 4,6 mm, unida a un guarda columna Phenomenex (Phenomenex Inc., CA, USA) y un detector SPD-M20A (Figura 3.11).



Figura 3.11: Cromatógrafo líquido de alta resolución SHIMADZU serie LC-20A

El análisis se llevó a cabo a temperatura ambiente (25°C), con un flujo de 1,150 mL min⁻¹ con un tiempo total de corrida en el HPLC de 5 min. La fase móvil (FM) empleada fue una solución buffer 0,03M de acetato de sodio/ácido acético pH= 5,8 (95%), metanol (5%). La FM fue filtrada mediante un filtro Millipore de 0,45 μ m y desgasificada empleando vacío.

3.3.5.1. Puesta a punto de la técnica

En primer lugar, se secó AA durante un periodo de 1h a 105°C y se preparó una solución estándar de AA de 4g L⁻¹ en solución extractante (SE) de ácido metafosfórico 30 g L⁻¹ + ácido acético 80 g L⁻¹. Posteriormente se realizó una dilución tomando 0,5mL de la solución de AA + SE y se agregaron 10mL de SE.

Para la curva de calibrado se tomaron 4mL de la mezcla anterior y se agregaron 1,3 mL de solución de DL-ditiotreitol (DTT) de 5g L⁻¹, preparada en fosfato de potasio dibásico, K₂HPO₄ 2,58M. Se dejó esta solución durante 2h en la oscuridad a temperatura ambiente.

A partir de esta solución se efectuaron diluciones con FM de 0 a 80 ppm de concentración, las soluciones fueron filtradas e inyectadas en el HPLC. Posteriormente se elaboró una curva de calibrado de área para AAT (mv.s) vs concentración de AAT, (mg AAT L⁻¹) (Figura 3.12), finalmente, mediante regresión lineal se obtuvo la ecuación de la curva, con los coeficientes correspondientes (Ecuación 5).

$$A = 83.144x + 27.186 \quad (5)$$

Donde:

A= área (mv.s)

x= concentración de AAT (mg AAT L⁻¹)

Ordenada al origen= 27.186

Pendiente= 83.144

Para la obtención del contenido de AAT se despeja el valor de x de la ecuación 5, obteniéndose:

$$AAT(mgAAT Kg_{frutilla}^{-1}) = \left\{ \left(\frac{A - 27.186}{83.144 \times d} \div 1000 \right) \times \left(\frac{VSE}{pm} \times 1000 \right) \right\} \quad (6)$$

Donde:

d= factor de dilución (vol extracto (mL)/vol total de reacción (mL))

1000= factor de conversión de L a mL

VSE= volumen de solución extractante (mL)

pm= peso de la muestra (g)

1000= factor de conversión de g a Kg

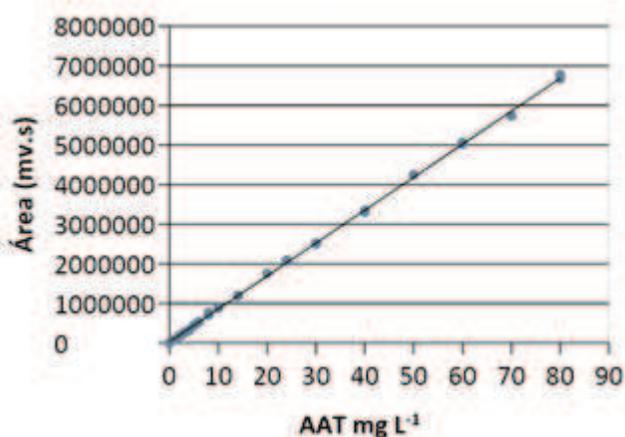


Figura 3.12: Curva de calibrado de concentración de AAT (mg L⁻¹) vs área (mv.s)

3.3.5.2. Obtención de extractos para las muestras de frutilla

Para la extracción, se tomó una cantidad representativa de muestra (100 g) y se trituró en un homogenizador. Se tomaron 2g de muestra triturada, se agregaron 10mL de solución extractante (30 g L⁻¹ de ácido metafosfórico y 80 g L⁻¹ de ácido acético) y se homogeneizó la mezcla durante 1 min en un Vortex V-1 plus BOECO y se sonicó en un ultrasonido TESTLAB por 15 min y se centrifugó a 12000G durante 20 min en centrífuga refrigerada de alta velocidad Heal Force Nefuge 18R a 4 °C. Se separó el sobrenadante que será usado para los análisis de vitamina C (Rodriguez Arzuaga et al, 2020).

Alícuotas de sobrenadante fueron pretratadas con una solución de DTT (0,005 g L⁻¹ preparado en 2,58 mol L⁻¹ de fosfato de potasio dibásico). Las muestras se filtraron en membranas Millipore de 0,45µm para posteriormente ser inyectadas en HPLC. Los extractos fueron realizados por duplicado.

- **Cuantificación de AAT**

Para cuantificar el ácido ascórbico total (AAT) o Vitamina C, se tomó 1mL de extracto y se agregó 0,2mL de DL-ditiotreitol (0,005 g L⁻¹ preparado en 2,58 mol L⁻¹ de fosfato de potasio dibásico) y se dejó reaccionar la mezcla por 2 horas en la oscuridad, pasado el tiempo se agregaron 4,8 mL de fase móvil y se filtró a través de membrana Millipore de 0,45µm para inyectar en el sistema cromatográfico. El contenido de AAT se obtiene empleando la ecuación 6, reemplazando los valores de área bajo la curva obtenidos para cada muestra, considerando factores de dilución y pesos de muestra. Los resultados se expresan como mg AAT Kg⁻¹ de frutilla.

3.3.5.3. Obtención de extractos de las muestras de manzana

Para la extracción, se tomó una cantidad representativa de muestra (100 g) y se trituró en un homogenizador. Se tomaron 12,5 g de muestra triturada, se agregaron 25 mL de solución extractante (30 g L⁻¹ de ácido metafosfórico y 80 g L⁻¹ de ácido acético), se homogenizó la mezcla durante 1 min, se sonicó en un ultrasonido por 15 min y se centrifugó a 12000 G durante 20 min en centrífuga refrigerada a 4 °C.

- Cuantificación de AAT para FF

Se tomó 1ml de extracto y se agregó 0,5mL de solución de DL-ditiotreitol (0,005 g L⁻¹ preparado en 2,58 mol L⁻¹ de fosfato de potasio dibásico), se dejó reaccionar la mezcla por 2 horas en la oscuridad, se tomó 1mL de esta mezcla y se agregó 1 mL de fase móvil, finalmente se filtró a través de membrana Millipore de 0,45µm para inyectar en el sistema cromatográfico.

- Cuantificación de AAT para FT

Para las muestras M₀ y M_{0,5}, se tomó 1mL de extracto y se agregó 0,5mL de solución de DTT, se dejó reaccionar la mezcla por 2 horas en la oscuridad, se tomó 1mL de esta mezcla y se agregó 4 mL de FM; en el caso de las muestras M₁ se agregaron 9 mL de FM. Finalmente, las muestras fueron filtradas a través de membrana Millipore para posterior inyección en el HPLC. El contenido de AAT se obtiene empleando la ecuación 6, reemplazando los valores de área bajo la curva obtenidos para cada muestra, considerando factores de dilución y pesos de muestra. Los resultados se expresan como mg AAT Kg⁻¹ de fruta fresca cortada.

3.3.6. Determinación antocianinas totales en frutillas

Obtención de extracto

Se trituró 100g de muestra y se tomaron 5 g y se colocaron 75 mL de una solución de acetona agua 80:20. Esta mezcla se agitó por 1 min, posteriormente se centrifugó en una centrífuga de alta velocidad, refrigerada Heal Force, Neofuge 18R (Shangai,China) a 4°C y 12000 G de velocidad por un tiempo de 20 min. Se tomó el sobrenadante para realizar las determinaciones correspondientes.

Cuantificación de antocianinas totales

La determinación del contenido de antocianinas, se realizó mediante el método diferencial de pH según Ho Jin Heo y Yong Lee, (2005). Se tomó parte del extracto y se ajustó el pH a 1 con una solución 0,1M de cloruro de potasio/ácido clorhídrico; por otro lado, se tomó otra parte del extracto y se ajustó a pH 4,5 con una solución buffer 0,4 M de ácido acético/acetato de sodio. Posteriormente se midió la absorbancia de las muestras a dos longitudes de onda 510 y 700 nm en el espectrofotómetro (Thermo Scientific modelo Genesys 10S UV-Vis); los resultados se expresaron en mg de pelargonidin-3-glucósido /Kg de fruta (mg P3G Kg⁻¹ fruta) (Ecuación 7).

$$AT \left(mgP3G \text{ Kg}_{frutilla}^{-1} \right) = \left\{ \left[(A_{510} - A_{700})_{pH=1} \times \frac{1}{d1} - (A_{510} - A_{700})_{pH=4,5} \times \frac{1}{d2} \right] \times \frac{PM \times V \times 1000 \times 1000}{E \times L \times m} \right\} \quad (7)$$

Donde:

d1 y d2= factor de dilución (vol extracto (mL)/vol total de reacción (mL))

L= camino óptico (1cm)

E= coeficiente de extinción molar del pelargonidin-3-glucósido ($22400\text{L mol}\cdot\text{cm}^{-1}$)

V= volumen de extracto (L)

m= masa de frutilla (g)

1000= factor de conversión de g a mg

1000= factor para expresar el resultado por Kg de frutilla

A_{510} = medida de absorbancia a 510 nm

A_{700} = medida de absorbancia a 700 nm

3.3.7. Determinación del perfil de antocianinas en frutillas

Obtención de extracto

Se trituró 100g de muestra y se tomaron 5 g y se colocaron en tubos falcon de 15 mL, se agregaron 3,5mL de solución extractante (80% metanol, 0,5% de ácido acético y agua). Se agitó la mezcla en un vortex y se llevó a ultrasonido (50°C, 15 min), posteriormente se centrifugó (20 min a 12000 g). Se recolectó el sobrenadante y se colocó en un balón de aforo de 25 mL, luego se adicionó 8mL de solución extractante en el tubo falcon que contenía el pellet restante; este proceso se repitió una vez más a partir de la adición de los 8 mL de solución extractante. Finalmente, se completó a 25 mL en el balón de aforo con solución extractante. Para inyectar, las muestras fueron filtradas de manera previa con membrana millipore de $0,45\mu\text{m}$

Cuantificación

La determinación del perfil de antocianinas fue llevada a cabo según Van de Velde et al. (2016). La fase móvil consistió en un 5% de ácido fórmico, en agua (A) y metanol al 100% (B). La tasa de flujo fue constante durante el análisis de HPLC a 1mL min^{-1} con un gradiente

escalonado de 10, 15, 20, 25, 30, 60, 10 y 10% de disolvente B a 0, 5, 15, 20, 25, 45, 47 y 60 min, respectivamente. La cuantificación de antocianinas fue realizada a partir de las áreas de pico registradas a 520 nm con referencia a la curva de calibración estándar externa obtenida con pelargonidin- 3-O-glucósido (0,125 a 0,5 mg mL⁻¹) y cianidin-3-O-glucósido (0,125-0,375 mg mL⁻¹).

La separación de antocianinas se efectuó empleando un cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC) SHIMADZU serie LC-20A equipado con una columna de fase reversa Gemini 5 μ C18 110A de 250 x 4.6 mm, unida a un guarda columna Phenomenex (Phenomenex Inc., CA, USA) y un detector SPD-M20A. Los resultados se expresaron como g Kg⁻¹ de fruta fresca.

3.3.7. Determinación de actividad antioxidante

Obtención de extractos

Se trituró 100g de muestra, tanto de frutilla como manzana y se tomaron 5 g de frutilla y 2,5 g de manzana, y se colocaron 75 mL y 25 mL para frutilla y manzana respectivamente de una solución de acetona agua 80:20. Esta mezcla se agitó por 1 min, posteriormente se centrifugó en una centrífuga de alta velocidad, refrigerada Heal Force, Neofuge 18R (Shanghai,China) a 4°C y 12000 G de velocidad por un tiempo de 20 min. Se tomó el sobrenadante para realizar las determinaciones correspondientes.

Cuantificación

La capacidad antioxidante se midió de acuerdo a Brand-Williams W. et al (1995), empleando el radical libre DPPH* (2.2-Difenil 1-1 picrilhidrazilo). En primer lugar, se preparó una solución metanólica de DPPH* de 0,03 g/L, para cada muestra se evaluaron diferentes concentraciones, para ello se hicieron reaccionar tres volúmenes de extracto para frutilla: (FF: 0,03; 0,06 y 0,09 mL); (FT: 0,025; 0,05; 0,075 mL) y para manzana: (FF: 0,05; 0,1 y 0,5 mL); (FT: 0,02; 0,05; 0,075; 0,1 mL) con 3,9 mL de una solución metanólica de DPPH* en

tubos falcon de 15ml; los blancos de reacción se prepararon sustituyendo los volúmenes de extracto con metanol y se realizó la misma reacción, se agitó la mezcla en un Vortex V-1 plus BOECO y luego se colocaron los tubos en la oscuridad durante un tiempo de 30 min para que se lleve a cabo la reacción; finalmente se midió la absorbancia de las muestras a una longitud de onda 517 nm en un espectrofotómetro Genesys 10S UV-VIS Thermo Scientific. Las reacciones se realizaron por triplicado. La actividad antioxidante fue expresada como capacidad antioxidante equivalente al ácido ascórbico (AEAC) para ello se empleó la siguiente ecuación:

$$\text{AEAC (mg AA } 100 \text{ g}^{-1} \text{ de muestra)} = (\text{IC}_{50}(\text{AA}) / \text{IC}_{50}(\text{muestra})) * 10^5 \quad (8)$$

Donde:

$\text{IC}_{50}(\text{AA})$ = 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 versus la concentración (mg AA mL⁻¹ de reacción).

$\text{IC}_{50}(\text{muestra})$ = 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 versus la concentración (mg AA mL⁻¹ de reacción)

Para el cálculo del IC_{50} (AA) se realizó una curva de calibrado empleando soluciones estándar de AA a diferentes concentraciones (0; 0,0010; 0,0021; 0,0031; 0,0041 y 0,0052 mg AA mL⁻¹ de reacción); se trabajó con 0,1mL de solución estándar y 3,9 mL de la solución metanólica de DPPH*, la curva se graficó como DPPH* remanente vs concentración (mg AA mL⁻¹ de reacción).

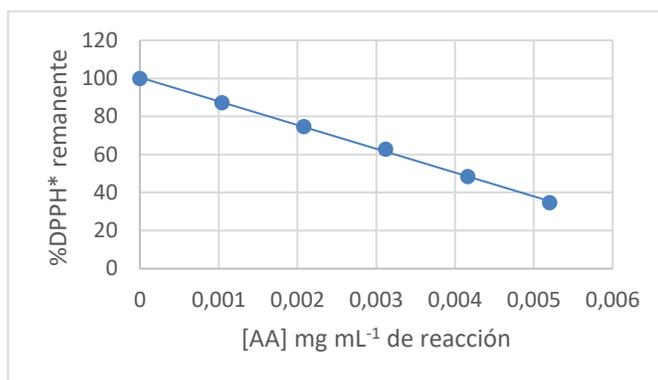


Figura 3.13: Curva de calibrado con AA del porcentaje de DPPH* remanente

El valor determinado para IC50 (AA) fue de 0,00404 mg/mL, este valor se obtuvo a partir de la curva de DPPH* remanente vs concentración (Figura 3.13) que se efectuó para cada solución estándar (Ecuación 9).

$$\%DPPH*remanente = \left(\frac{A_{muestra}}{A_{control}} \right) \cdot 100 \quad (9)$$

Donde:

$A_{muestra}$ = absorbancia de la muestra

$A_{control}$ = absorbancia del control (metanol)

3.3.8. Determinación de fenoles totales

Los extractos se obtuvieron como se indica en el punto 3.3.7.

La determinación del contenido de fenoles totales se realizó según Cortez et al. (2018), empleando el método Folin-Ciocalteu (F-C) (Singleton y Rossi, 1965), a través de una metodología para mejorar la especificidad del ensayo, misma que permite realizar una corrección en el contenido de fenoles, generada por sustancias que interfieren en el

resultado tales como azúcares, aminas aromáticas, dióxido de azufre, ácido ascórbico, otros enediolos y reductonas, hierro (II).

La metodología propuesta para determinar el contenido de fenoles totales de una muestra sin interferencia del ácido ascórbico se presenta en la Figura 3.14

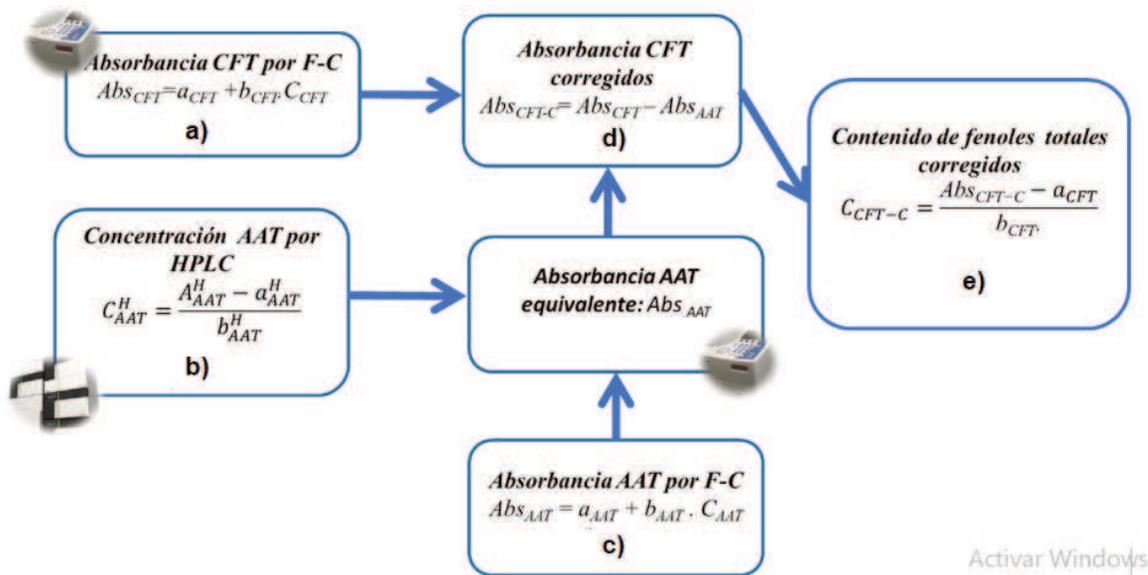


Figura 3.14: Esquema para corrección del contenido de fenoles totales por sustracción de la actividad reductora del ácido ascórbico

Adaptado de: Cortez et al. (2018)

Para llevar a cabo dicha metodología es necesario determinar experimentalmente:

1. Abs_{CFT} = Absorbancia correspondiente a la muestra por ensayo de Folin-Ciocalteu para contenido de fenoles totales (Figura 3.13 a))
2. C_{AAT}^H = Concentración de ácido ascórbico total de la muestra determinado por HPLC ($mg\ AAT\ L^{-1}$) (Figura 3.13 b))

Posteriormente, con el valor obtenido para C_{AAT}^H y la ecuación c. de la Figura 3.14 se determina el valor de Abs_{AAT} .

Después se efectúa la corrección correspondiente a la actividad reductora del ácido ascórbico realizando la diferencia entre las absorbancias como se puede ver en la ecuación d) de la Figura 3.14; donde Abs_{CFT-C} = absorbancia corregida por la actividad reductora del ácido ascórbico.

Con este valor obtenido de Abs_{CFT-C} y la ecuación a) (Figura 3.14), se determina el contenido de fenoles totales corregidos por la actividad reductora del ácido ascórbico (C_{CFT-c}) en mg de AGE L⁻¹. Con las ecuaciones a), b), c) y d) (Figura 3.14), se obtiene la siguiente ecuación general (Ecuación 10):

$$C^*_{CFT-c} (mg\ AGE\ Kg^{-1}_{fruta}) = \left[\frac{\left(\left(Abs_{CFT-C} - a_{AAT} + b_{AAT} \left(\frac{A^H_{AAT} - a^H_{AAT}}{b^H_{AAT}} \right) \right) \frac{1}{d} \frac{V_{eHPLC}}{m_{fHPLC}} \right) \frac{m_{fCFT}}{V_{eCFT}} - a_{CFT}}{b_{CFT}} \right] \cdot \frac{V_{eCFT}}{m_{fCFT}} \quad (10)$$

Donde:

C^*_{CFT-c} = contenido de fenoles totales corregidos [mg AGE Kg⁻¹]

Abs_{CFT} = Absorbancia de la muestra por F-C

a_{AAT} = ordenada al origen de la curva de calibrado para el contenido de ácido ascórbico total por F-C

b_{AAT} = pendiente de la curva de calibrado para el contenido de ácido ascórbico total por F-C.

A^H_{AAT} = Área de ácido ascórbico total obtenida del análisis por HPLC.

a^H_{AAT} = Ordenada al origen de la curva de calibrado para ácido ascórbico total por HPLC

b^H_{AAT} = Pendiente de la curva de calibrado para ácido ascórbico total por HPLC

d = Dilución realizada por el método de HPLC (Extracto: Fase Móvil)

V_{eHPLC} = Volumen de solución extractante usada para determinación de AAT por método HPLC

m_{fHPLC} = masa de muestra usada para determinación de AAT por método HPLC

m_{fCFT} = masa de muestra usada para determinación por método F-C

V_{eCFT} = volumen de solución extractante para determinación de CFT por método F-C

a_{CFT} = ordenada al origen de la curva de calibrado para el contenido de fenoles totales por F-C

b_{CFT} = pendiente de la curva de calibrado para el contenido de fenoles totales por F-C

Curva de calibrado de Ácido Gálico por el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu

Se preparó una solución madre de ácido gálico (AG) de 100 mg L⁻¹, a partir de esta se prepararon soluciones estándar con concentraciones de 20-80 ppm, se tomaron alícuotas de 250 µL de cada una de las soluciones en tubos falcon y se adicionaron 250 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu (F-C), 1500 µL de agua destilada (V1) + 500 µL de Na₂CO₃ al 10% + 2500 µL agua destilada (V2). Se agitaron los tubos en un Vortex V-1 plus BOECO, posteriormente se centrifugaron a 4000 rpm por 15 min y se dejaron reposar en la oscuridad por 15 min. Finalmente se midió la absorbancia de las muestras en espectrofotómetro Genesys 10S UV-VIS a 760 nm, obteniéndose por regresión lineal la curva de calibrado de absorbancia (Abs_{CFT}) vs concentración de ácido gálico, C_{CFT} [mg AG L⁻¹] (Ecuación a, Figura 3.14)

Curva de calibrado de ácido ascórbico total (AAT) por HPLC

El proceso para la obtención de esta curva se describió en el punto 3.3.5.1. Se determinaron las áreas de cada solución estándar a partir de las cuales se obtuvo una curva de calibrado de área, A^H_{AAT} [mv s] vs concentración de AAT, C^H_{AAT} [mg AAT L⁻¹] (Ecuación b, Figura 3.14).

Curva de calibrado para la determinación de ácido ascórbico total (ATT), por el método espectrofotométrico de F-C

Se realizó una curva de calibrado para ácido ascórbico en las mismas condiciones que la curva realizada con ácido gálico por el método de F-C. Se prepararon soluciones estándares de ácido ascórbico de concentraciones de 20-140 ppm, se tomaron alícuotas de 250 µL de cada una de las soluciones en tubos falcon y se adicionaron 250 µL del reactivo de Folin-Ciocateu (F-C), 1500 µL de agua destilada (V1) + 500 µL de Na₂CO₃ al 10% + 2500 µL agua destilada (V2). Se agitaron los tubos en un Vortex V-1 plus BOECO, posteriormente se centrifugaron a 4000 rpm por 15 min y se dejaron reposar en la oscuridad por 15 min. Finalmente, se midió la absorbancia de las muestras en espectrofotómetro Genesys 10S UV-VIS a 760 nm, obteniéndose por regresión lineal la curva de calibrado de absorbancia (Abs AAT) vs concentración de AAT, CAAT [mg AAT L⁻¹] (Ecuación c, Figura 3.14)

Determinación del contenido de fenoles totales corregidos en matrices vegetales con diferente contenido de vitamina C

Para evaluar la metodología propuesta, se obtuvieron cinco muestras de manzanas mínimamente procesadas con diferente contenido en ácido ascórbico mediante la tecnología de impregnación por vacío (IV). Posteriormente, en cada una de dichas muestras se determinaron el contenido de ácido ascórbico total, el contenido de fenoles totales sin realizar la corrección, y el contenido de fenoles totales corregidos (con sustracción de la actividad reductora del ácido ascórbico, (de acuerdo a la ecuación 10) terminándose el incremento en el valor del CFT determinado por F-C debido al AAT (Ecuación 11).

$$I_{AAT}(\%) = \left[\left(\frac{C_{CFC}^* - C_{CFC-C}^*}{C_{CFC-C}^*} \right) \cdot 100 \right] \quad (11)$$

3.4. ANÁLISIS DE DATOS

3.4.1. Expresión de resultados

Los resultados para las respuestas sólidos solubles, pH, firmeza y parámetros de color (L^* , C^*_{ab} , h_{ab}) fueron expresadas como la variación relativa porcentual de cada atributo Q ($\Delta Q, \%$) con respecto a la fruta fresca cortada sin tratar (Ecuación 8):

$$\Delta Q_i(\%) = \left(\frac{Q_{TFi} - Q_{FF}}{Q_{FF}} \right) \times 100 \quad (8)$$

Donde:

Q_{FF} = atributo de fruta fresca cortada sin tratar (FF)

Q_{FT} = atributo de fruta fresca cortada tratada (FT)

i = día de ejecución de análisis, día cero (0) corresponde al día en el que se efectuó el tratamiento, y día siete (7) corresponde al tiempo de almacenamiento a 1,5°C.

Debido al elevado incremento en el contenido de vitamina C de las manzanas sometidas a impregnación por vacío, los resultados se expresarán como como mg de AAT kg^{-1} .

3.4.2. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los resultados, se realizó un ANOVA multifactorial para determinar cómo afectan los factores a las respuestas evaluadas. Posteriormente se efectuó un ANOVA de una vía y un análisis de rango múltiple con el test de Tukey, para determinar diferencias significativas entre tratamientos ($\alpha \leq 0.05$). Para el análisis se empleó el programa estadístico Statgraphics Centurion.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. ENSAYOS DE IMPREGNACIÓN POR VACÍO EN FRUTILLAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS

4.1.1. Estudio para evaluar la factibilidad de aplicación del proceso de impregnación por vacío en frutillas mínimamente procesadas

La porosidad de las frutas y hortalizas es un factor importante en el proceso de IV ya que frutas con porosidad efectiva alta son más idóneas para la aplicación de dicha tecnología; por ejemplo, frutas como la manzana presentan valores altos de porosidad efectiva y su respuesta a la aplicación de vacío es lineal, lo que significa que la matriz sólida sufre menor deformación debido a los cambios de presión; mientras que frutas con menor porosidad podrían presentar problemas de deformación mecánica al incrementar el nivel de vacío, reduciendo o incrementando la capacidad de impregnación (Mujica et al., 2003); la porosidad efectiva de la manzana *Granny Smith* es aproximadamente 6 veces más alta en comparación con frutillas de la variedad *Chandler* (Fito et al., 2001).

Para realizar este estudio, como se detalla en Materiales y Métodos (Tabla 3.1), se eligió para los ensayos de impregnación 3 soluciones osmóticas: jugo natural de frutilla más adición del 1% de ácido cítrico y el 1% de ácido ascórbico (JF) de 7,03° Brix \pm 0,06, JF diluido a la mitad (JF₂) y JF diluido a la tercera parte (JF₃).

Efecto de impregnación por vacío sobre la incorporación de antocianinas

El contenido de antocianinas totales para frutillas frescas cortadas sin tratar fue de 30,93 \pm 3,69 mg P3G Kg⁻¹.

La Tabla 4.1 presenta un resumen de ANOVA correspondiente a la evaluación de la influencia de la solución osmótica (SO) y el tiempo de almacenamiento (t) sobre la variación

relativa porcentual del contenido de antocianinas totales en frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío. La solución osmótica mostró influencia significativa ($p \leq 0,01$) y el tiempo tuvo influencia altamente significativa ($p \leq 0,001$) sobre el atributo evaluado. Sin embargo, la interacción entre SOxt no fue un factor significativo sobre el contenido de antocianinas totales ($p \geq 0,05$).

Tabla 4.1: Influencia de la solución osmótica y el tiempo de almacenamiento sobre la variación relativa porcentual del contenido de antocianinas en frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío

| Fuente de variación | GL | F-calculados |
|------------------------|----|-----------------|
| | | ΔAT (%) |
| Solución osmótica (SO) | 2 | 17,18** |
| Almacenamiento (t) | 1 | 135,66*** |
| SOxt | 2 | 2,01 ns |
| Error | 6 | |

GL: grados de libertad, ns: no significativo ($p \geq 0,05$), ***: significativo a ($p \leq 0,001$), **: significativo a ($p \leq 0,01$), *: significativo a ($p \leq 0,05$).

En la tabla 4.2 se presentan los resultados obtenidos de la variación relativa porcentual de antocianinas totales (ΔAT_i) en las frutillas sometidas a impregnación por vacío. La variación porcentual de antocianinas totales para el día cero y día siete (ΔAT_0 y ΔAT_7) resultaron función de la solución osmótica empleada en el proceso ($p \leq 0,05$).

Tabla 4.2: Variación relativa de antocianinas totales (AT_i) al día cero y después de 7 días de almacenamiento a 1,5°C, para frutillas frescas cortadas, impregnadas por vacío

| SO | ΔAT_0 (%) | ΔAT_7 (%) |
|-----------------|---------------------------------|----------------------------------|
| JF | 2,9 ^A _a | -33,4 ^A _b |
| JF ₂ | -4,8 ^A _a | -55,9 ^{AB} _b |
| JF ₃ | -17,2 ^B _a | -76,2 ^B _b |

Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos y letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre días de análisis, determinadas por el test de Tukey ($p \leq 0,05$). SO= solución osmótica. JF= jugo natural de frutilla + 1% ácido cítrico + 1% ácido ascórbico, JF₂= JF diluido a la mitad, JF₃= JF diluido a la tercera parte. i= día cero o día siete. Condiciones de impregnación por vacío: temperatura= 22°C; presión de vacío= 67,7 mbar; tiempo de vacío= 7,5 min; tiempo de relajación= 7,5min

En el día cero, se observó que el tratamiento de frutillas con JF permitió incrementar el contenido de antocianinas totales de las frutillas tratadas por IV, mientras que los tratamientos JF₂ y JF₃, generaron reducción en su contenido; siendo JF₃ la solución osmótica que produjo mayor disminución.

Analizando los cambios durante el almacenamiento, se evidenciaron diferencias significativas entre el día cero y siete para todos los tratamientos ($p \leq 0,05$); en el caso de JF, a diferencia del día cero en donde se generó incremento en el contenido de antocianinas, al día 7 se produjo disminución de este compuesto; en cuanto a los otros tratamientos al día 7 se produjo una reducción en el contenido de antocianinas superior a aquel obtenido en el día cero que fue 11,6 y 4,4 veces superior a la disminución producida en el día cero para F₂ y F₃, respectivamente.

La incorporación de antocianinas en la fruta fresca cortada impregnada con JF se debe a que la solución de jugo natural de frutilla tiene un contenido de antocianinas similar a la fruta fresca, por lo tanto, al generarse el proceso de impregnación, se suman a la matriz

alimentaria, mientras que las soluciones osmóticas hipotónicas podrían producir dilución de este compuesto al momento del ingreso del líquido en el interior de la fruta.

Tappi et al. (2017) estudiaron la aplicación de la tecnología de impregnación por vacío en manzanas mínimamente procesadas con el objetivo de obtener un producto nutricionalmente fortificado, para ello emplearon una solución osmótica isotónica de extracto de té verde, la SO contenía sacarosa, ácido ascórbico y extracto de té verde. El té verde es una gran fuente de flavonoides, en particular de catequina, que incluye principalmente epicatequina, epigallocatequina, epicatequina-galato. La SO que contenía el extracto de té verde permitió una buena impregnación de las manzanas mínimamente procesadas que dio lugar a un gran incremento en el contenido de la actividad antioxidante y los compuestos bioactivos. El enriquecimiento de las manzanas con catequinas del extracto de té verde y ácido ascórbico parece ser prometedor en el sentido de obtener un producto de fruta enriquecido nutricionalmente, incluso si los resultados obtenidos en este estudio son solo un primer paso en esta dirección. La identificación cualitativa de los compuestos fenólicos durante el almacenamiento y su relación con la actividad antioxidante, junto con experimentos in vitro e in vivo, serán necesarios llevar a cabo para la evaluación de las propiedades antioxidantes. Esto concuerda con los resultados obtenidos en la presente tesis, en donde vemos un incremento en el contenido de flavonoides, en este caso de antocianinas, al aplicar la solución osmótica de jugo natural de frutilla (JF), habiendo más adelante que profundizar en el estudio.

Efecto de la impregnación por vacío sobre parámetros de transferencia de masa y otros atributos de calidad

La Tabla 4.3 muestra los valores obtenidos para los parámetros de transferencia de masa para frutillas frescas cortadas sometidas a impregnación por vacío suave. Las respuestas ganancia de sólidos (SG), pérdida de agua (WL) y reducción de peso (WR) resultaron función de la solución osmótica empleada en el proceso ($p \leq 0,05$), tal como lo indica el ANOVA (no mostrado). Los resultados con signo negativo indican ganancia de agua y ganancia de peso, para WL y WR, respectivamente

Tabla 4.3: Ganancia de sólidos (SG), pérdida de agua (WL) y reducción de peso (WR) después del tratamiento de IV de frutillas frescas cortadas

| SO | SG (%) | WL (%) | WR (%) |
|-----------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| JF | 0,24 ^C | 0,20 ^A | -0,05 ^A |
| JF ₂ | 0,30 ^B | -0,50 ^C | -0,79 ^B |
| JF ₃ | 0,72 ^A | -0,37 ^B | -1,10 ^C |

Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos, determinadas por el test de Tukey ($p \leq 0.05$). **SO**= solución osmótica. **JF**= jugo natural de frutilla + 1% ácido cítrico + 1% ácido ascórbico, **JF₂**= JF diluido a la mitad, **JF₃**= JF diluido a la tercera parte. Condiciones de impregnación por vacío: temperatura= 22°C; presión de vacío= 67,7 mbar; tiempo de vacío= 7,5 min; tiempo de relajación= 7,5min

Se puede observar que en todos los casos existe ganancia de peso, siendo mayor la obtenida con los tratamientos JF₂ y JF₃. Schulze et al., (2012) estudiaron la influencia de la impregnación por vacío en la incorporación de derivados de quercetina en el parénquima de manzana fresca cortada, empleando soluciones osmóticas isotónicas de jugo de manzana y soluciones hipotónicas de agua. En ambos casos se experimentó sin adición de pectina y con una adición de 0,8 y 1,2% de pectina más el 0,3% de quercetina de cáscara de manzana. El proceso de impregnación se llevó a cabo a diferentes presiones: 100-800 mbar

con $t_v=5$ min y $t_r= 10$ min. Los investigadores encontraron que el uso de fluidos hipotónicos permitió incrementar la penetración de las soluciones de quercetina en la fruta, debido a la presión osmótica, el líquido hipotónico pasa el plasmalema de la célula hacia el citoplasto hipertónico. La transferencia de masa en las células se ve mejorada por la impregnación por vacío y se produce también incremento del turgor celular. Asimismo, los investigadores observaron que la IV de quercetina en la manzana a 100 mbar, empleando una solución de jugo de manzana enriquecido con pectina, permitió una incorporación de la quercetina en una proporción 50% menor, en comparación con la incorporación generada por la IV realizada con la solución de pectina en agua (menor cantidad de SS); se atribuye este fenómeno a la diferencia de presión osmótica de los fluidos. Paes et al. (2007) sometieron a un proceso de impregnación por vacío a manzanas frescas cortadas ($11,5^\circ$ Brix) con soluciones osmóticas de 0 a 65° Brix y observaron que incluso empleando soluciones osmóticas hipotónicas se generó ganancia de sólidos; asimismo se produjo ganancia de agua, la cual fue más alta cuando emplearon soluciones osmóticas hipotónicas, ellos trabajaron con $P=40$ mbar, $t_v= 15$ min y $t_r= 25$ min. En la presente tesis se obtuvieron resultados similares ya que también se generó ganancia de agua con las soluciones osmóticas hipotónicas JF₂ y JF₃. De la misma manera, se obtuvo ganancia de peso en todos los casos.

En cuanto a la reducción de peso (WR), Paes et al. (2007) determinaron que una SO isotónica de sacarosa ($21,8^\circ$ Brix) generó como resultado valores de WR negativos, lo cual indica que existió ganancia de peso. Los investigadores observaron que a pesar de que una cantidad de líquido nativo sale de la muestra en el transcurso del proceso bajo vacío, al restaurar la presión atmosférica durante el tiempo de relajación, gran cantidad de solución osmótica ingresa en el tejido, lo cual es predecible ya que la solución isotónica tiene mayor proporción de agua e ingresa con mayor facilidad al tejido, respecto a soluciones más concentradas; este hecho concuerda con los resultados de WR obtenidos en la presente tesis, en donde se produjo incremento de peso.

Con respecto a los sólidos solubles y pH, las frutillas Festival frescas cortadas, presentaron un contenido de sólidos solubles promedio de $7,00 \pm 0,40$ °Brix, y un valor de pH de $3,48 \pm 0,02$.

La Tabla 4.4 muestra el resumen de ANOVA correspondiente a la evaluación de la influencia de la solución osmótica (SO) y el tiempo de almacenamiento (t) sobre la variación relativa porcentual del contenido de sólidos solubles (ΔSS) y ΔpH en frutillas frescas cortadas sometidas a impregnación por vacío. Los sólidos solubles fueron fuertemente influenciados por la solución osmótica ($p \leq 0,001$), mientras que el tiempo de almacenamiento influyó con un nivel de significancia del ($p \leq 0,01$). De la misma manera, la interacción entre SOxt es un factor significativo para la variación porcentual de SS ($p \leq 0,05$). Por su parte, la SO, t y la interacción SOxt tuvieron una fuerte influencia significativa sobre la variación porcentual del pH.

Tabla 4.4: Influencia de la solución osmótica (SO) y el tiempo de almacenamiento (t) sobre la variación relativa porcentual de sólidos solubles (ΔSS) y pH (ΔpH) en frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío.

| Fuente de variación | GL | F-calculados | |
|------------------------|----|-----------------|-----------------|
| | | ΔSS (%) | ΔpH (%) |
| Solución osmótica (SO) | 2 | 11,89*** | 59,59*** |
| Almacenamiento (t) | 1 | 8,96** | 147,15*** |
| SOxt | 2 | 5,46* | 84,53*** |
| Error | 12 | | |

GL: grados de libertad, ns: no significativo ($p \geq 0,05$), ***: significativo a ($p \leq 0,001$), **: significativo a ($p \leq 0,01$), *: significativo a ($p \leq 0,05$).

La Tabla 4.5 muestra las variaciones relativas porcentuales de sólidos solubles en función de las soluciones usadas en el día cero (ΔSS_0) y luego de 7 días de almacenamiento a 1,5°C (ΔSS_7). Las variaciones relativas porcentuales de sólidos solubles al día cero y siete, presentaron signo negativo, es decir que se produjo una disminución de los sólidos solubles después de la aplicación de los tratamientos. El cambio porcentual en los sólidos solubles de las frutillas ensayadas bajo impregnación por vacío en el día cero (ΔSS_0) no resultó función de la solución osmótica ($p \geq 0,05$) sin embargo a los siete días la SO si tuvo influencia significativa ($p \leq 0,05$) sobre el contenido de sólidos solubles, se produjo pérdida en todos los casos, siendo JF aquella que generó la menor pérdida. En cuanto a ΔSS_7 , se produjo mayor disminución de su valor cuando se trabajó con las soluciones osmóticas hipotónicas (JF₂ y JF₃) estas generaron una disminución de SS de 8 a 9 veces más en relación con lo producido al emplear el jugo natural (JF).

Tabla 4.5: Variación relativa de sólidos solubles (ΔSS_i) y ΔpH_i al día cero y después de 7 días de almacenamiento a 1,5°C, para frutillas frescas cortadas, impregnadas por vacío

| SO | ΔSS_0 (%) | ΔSS_7 (%) | ΔpH_0 (%) | ΔpH_7 (%) |
|-----------------|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| JF | -1,8 ^A _a | -0,7 ^A _a | -0,1 ^{AB} _a | 5,5 ^A _b |
| JF ₂ | -1,1 ^A _a | -6,6 ^B _b | -0,6 ^A _a | 2,9 ^B _b |
| JF ₃ | -4,7 ^A _a | -7,5 ^B _a | 0,3 ^B _a | -0,8 ^C _b |

Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos y letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre días de almacenamiento del producto a 1,5°C, determinadas por el test de Tukey ($p \leq 0,05$). **SO**= solución osmótica. **JF**= jugo natural de frutilla + 1% ácido cítrico + 1% ácido ascórbico, **JF₂**= JF diluido a la mitad, **JF₃**= JF diluido a la tercera parte. i= día cero o día siete. Condiciones de impregnación por vacío: temperatura= 22°C; presión de vacío= 67,7 mbar; tiempo de vacío= 7,5 min; tiempo de relajación= 7,5min

Al analizar los cambios en función del tiempo para las variaciones porcentuales de SS, se obtuvieron diferencias significativas entre el día cero y siete, únicamente para el tratamiento JF₂ ($p \leq 0,05$), reportándose una disminución de los SS de aproximadamente 6 veces más en el día siete en relación a la reducción obtenida en el día cero.

En lo referente al pH, las variaciones relativas porcentuales obtenidas en las frutillas tratadas por IV, (ΔpH_0 y ΔpH_7) resultaron función de la solución osmótica ($p \leq 0,05$). En el día cero, se obtuvieron cambios mínimos en el pH de la fruta tratada. Los tratamientos JF y JF₂ así como JF y JF₃ resultaron estadísticamente iguales entre ellos ($p \geq 0,05$), mientras que los tratamientos JF₂ y JF₃, resultaron estadísticamente diferentes. Después del tiempo de almacenamiento, se observó incremento en los valores de pH de la fruta impregnada con JF y JF₂ y una reducción mínima producida por JF₃ (<1%).

Al analizar los cambios de pH en el tiempo, se obtuvieron diferencias significativas entre el día cero y el día siete en todos los casos ($p \leq 0,05$).

Con respecto a la firmeza, la misma fue de $3,08 \pm 1,01$ N para las frutillas frescas cortadas sin aplicación del tratamiento de IV. La Tabla 4.6 muestra el resumen de ANOVA correspondiente a la evaluación de la influencia de la solución osmótica (SO) y el tiempo de almacenamiento (t) sobre la variación relativa porcentual de la firmeza (ΔF) de frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío. La solución osmótica tuvo influencia altamente significativa ($p \leq 0,001$) sobre el atributo evaluado. Por otra parte, el tiempo de almacenamiento, así como la interacción entre SO y el tiempo de almacenamiento (t) no presentaron influencia significativa sobre la variación porcentual de la firmeza ($p \geq 0,05$).

Tabla 4.6: Influencia de la solución osmótica y el tiempo de almacenamiento (t) sobre la variación relativa porcentual de la firmeza (ΔF) en frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío.

| Fuente de variación | F-calculados | |
|------------------------|--------------|----------------|
| | GL | $\Delta F(\%)$ |
| Solución osmótica (SO) | 2 | 6,09*** |
| Almacenamiento(t) | 1 | 0,4 ns |
| SOxt | 2 | 5,46 ns |
| Error | 16 | |

GL: grados de libertad, ns: no significativo ($p \geq 0,05$), ***: significativo a ($p \leq 0,001$), **: significativo a ($p \leq 0,01$), *: significativo a ($p \leq 0,05$).

La tabla 4.7. presenta los resultados obtenidos para la variación relativa porcentual de firmeza (ΔF_i), en frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío en el día de aplicación del tratamiento y después de siete días de almacenamiento. En todos los casos se obtuvo disminución de la firmeza. La variación relativa porcentual de firmeza en el día cero (ΔF_0) no resultó función de la solución osmótica ($p \geq 0,05$), mientras que después de los 7 días de almacenamiento, ΔF_7 se vio influenciada por la SO empleada en el proceso ($p \leq 0,05$). La mayor disminución de la firmeza al día 7 se produjo al trabajar con las soluciones osmóticas JF y JF₂.

Tabla 4.7: Variación relativa porcentual para firmeza (ΔF_i) al día cero y después de siete días de almacenamiento a 1,5°C, para frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío

| SO | ΔF_0 (%) | ΔF_7 (%) |
|-----------------|---------------------------------|----------------------------------|
| JF | -35,6 ^A _a | -44,1 ^A _a |
| JF ₂ | -23,8 ^A _a | -27,7 ^{AB} _a |
| JF ₃ | -16,1 ^A _a | -15,1 ^B _a |

Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos y letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre días de almacenamiento del producto a 1,5°C, determinadas por el test de Tukey ($p \leq 0,05$). **SO**= solución osmótica. **JF**= jugo natural de frutilla + 1% ácido cítrico + 1% ácido ascórbico, **JF₂**= JF diluido a la mitad, **JF₃**= JF diluido a la tercera parte. i= día cero o día siete. Condiciones de impregnación por vacío: temperatura= 22°C; presión de vacío= 67,7 mbar; tiempo de vacío= 7,5 min; tiempo de relajación= 7,5min

Zhao y Xie (2004) indicaron que al emplear soluciones isotónicas en el proceso de impregnación por vacío, las células no se encogen ni se hinchan, mientras que soluciones hipotónicas generan hinchazón de las células de la matriz alimentaria, debido al ingreso del fluido en su interior (aumenta la turgencia), sin embargo, la impregnación por vacío con soluciones hipotónicas implica un mayor nivel de estrés en la relajación, debido al flujo de salida del líquido intracelular como consecuencia de la ruptura celular promovida por turgencia excesiva.

Martinez-Monzo et al. (1998), impregnaron al vacío manzanas frescas cortadas con diferentes soluciones osmóticas: soluciones isotónicas como referencia, soluciones hipotónicas de agua más pectina, soluciones isotónicas de mosto de uva más pectina y soluciones hipertónicas de mosto de uva; empleando una presión de vacío de 50 mbar con $t_v = 5$ min y $t_r = 25$ min. Los autores verificaron los cambios en las propiedades mecánicas, efectuando un test de relajación del estrés, para ello se realiza una compresión de la muestra a determinada presión y velocidad; la fuerza de resistencia por parte de la muestra en relación estrés aplicado va disminuyendo y eso se va registrando en el tiempo. Los

investigadores obtuvieron diferentes valores de estrés máximo (este valor es más alto al inicio de la compresión y va disminuyendo a medida que va alcanzando la distancia de compresión especificada en el test). En ese sentido, determinaron que las soluciones hipotónicas y las isotónicas de referencia, produjeron cambios mínimos en estrés máximo de la fruta tratada por IV, respecto a la fruta fresca, obteniéndose disminuciones de 5 y 5,5 % respectivamente. Por otra parte, la solución isotónica de mosto de uva con adición de pectina, generó mayor disminución del estrés en la muestra (-54%), esta solución fue más viscosa, por lo tanto, al restablecer la presión atmosférica se dificultó el flujo externo del líquido hacia los poros de la manzana, así, el cambio de presión resultó en una deformación de la estructura celular de las muestras. Esta deformación dañó las uniones celulares y las células se desprendieron de la muestra, afectando el comportamiento mecánico. Al realizar una comparación de los resultados del estudio y la presente tesis se puede evidenciar que las soluciones osmóticas de concentración más alta generan mayor daño en la textura, disminuyendo la fuerza máxima que soporta la muestra en los distintos test aplicados (test de relajación del estrés y el test de penetración efectuado en la presente tesis), es así que la menor disminución de firmeza se generó al aplicar el tratamiento JF₃.

Con respecto a los parámetros de color obtenidos para frutillas frescas cortadas, antes del tratamiento de impregnación por vacío, los mismos fueron $L^* = 34,71 \pm 1,01$; $C^*_{ab} = 30,04 \pm 5,36$ y $h_{ab} = 25,24 \pm 4,65$. La Tabla 4.8 muestra el resumen de ANOVA correspondiente a la evaluación de la influencia de la solución osmótica (SO) y el tiempo de almacenamiento (t) sobre los parámetros de color (L^* , C^*_{ab} y h_{ab}) de frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío. La solución osmótica presentó fuerte influencia significativa sobre el parámetro L^* ($p \leq 0,001$) así también el tiempo de almacenamiento presentó influencia significativa ($p \leq 0,05$) sobre L^* . Por su parte, el parámetro h_{ab} , resultó influenciado por el tiempo de almacenamiento (t) ($p \leq 0,01$) y la SO ($p \leq 0,05$). mientras que C^*_{ab} no se vio influenciado por ninguno de los factores estudiados ($p \geq 0,05$). En cuanto a la interacción entre SOxt, esta no generó influencia significativa sobre ninguno de los parámetros de color.

Tabla 4.8: Influencia de la solución osmótica y el tiempo de almacenamiento (t) sobre la variación relativa porcentual para los parámetros de color (L^* , C^*_{ab} y h_{ab}) para frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío.

| Fuente de variación | GL | F-calculados | | |
|------------------------|----|---------------------|--------------------------|------------------------|
| | | ΔL^* (%) | ΔC^*_{ab} (%) | Δh_{ab} (%) |
| Solución osmótica (SO) | 2 | 79,79*** | 2,18 ns | 4,17 ns |
| Almacenamiento(t) | 1 | 9,82* | 0,11 ns | 10,01** |
| SOxt | 2 | 1,14 ns | 1,34 ns | 0,84 ns |
| Error | 26 | | | |

GL: grados de libertad, ns: no significativo ($p \geq 0,05$), ***: significativo a ($p \leq 0,001$), **: significativo a ($p \leq 0,01$), *: significativo a ($p \leq 0,05$).

Los porcentajes de variación relativa para los parámetros de color en el día de procesamiento y después de siete de almacenamiento se muestran en la Tabla 4.9.

Resultados con signo negativo indican disminución en el valor del parámetro con respecto a la fruta fresca cortada sin tratar.

Las respuestas ΔC^*_{ab0} , ΔC^*_{ab7} , Δh_{ab0} y Δh_{ab7} no se vieron influenciadas significativamente por la solución osmótica ($p \geq 0,05$), mientras que, ΔL^*_0 , ΔL^*_7 , resultaron función de la SO ($p \leq 0,05$).

Tabla 4.9: Variación relativa porcentual para los parámetros de color (L^* , C^*_{ab} y h_{ab}) para frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío en el día cero y después de 7 días de almacenamiento a 1,5°C.

| SO | ΔL^*_i (%) | | ΔC^*_{abi} (%) | | Δh_{abi} (%) | |
|-----------------|---------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | 0 | 7 | 0 | 7 | 0 | 7 |
| JF | -11,6 ^B _a | -6,6 ^B _a | -20,4 ^A _a | -13,0 ^A _a | -27,9 ^A _a | -21,7 ^A _a |
| JF ₂ | -15,2 ^B _a | -8,7 ^B _a | -25,0 ^A _a | -24,6 ^A _a | -27,4 ^A _a | -12,1 ^A _b |
| JF ₃ | 14,5 ^A _a | 27,6 ^A _a | -20,01 ^A _a | -24,7 ^A _a | -33,6 ^A _a | -26,9 ^A _a |

Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos y letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre días de almacenamiento del producto a 1,5°C, determinadas por el test de Tukey ($p \leq 0,05$). **SO**= solución osmótica. **JF**= jugo natural de frutilla + 1% ácido cítrico + 1% ácido ascórbico, **JF₂**= JF diluido a la mitad, **JF₃**= JF diluido a la tercera parte. **i**= día cero o día siete. Condiciones de impregnación por vacío: temperatura= 22°C; presión de vacío= 67,7 mbar; tiempo de vacío= 7,5 min; tiempo de relajación= 7,5min

La luminosidad en las frutillas impregnadas por vacío para los tratamientos JF y JF₂, disminuyó tanto en el día cero, así como después del almacenamiento, en relación a la frutilla fresca cortada sin tratar, es decir que las muestras tratadas resultaron más oscuras. Por su parte el tratamiento JF₃ generó incremento en el valor de L^* en los días cero y siete lo cual significa que la muestra es más clara que la frutilla fresca cortada sin tratar.

Como se mencionó anteriormente, los parámetros C^*_{ab} y h_{ab} no se vieron afectados por la SO utilizada sin embargo es importante observar que en todas las muestras se obtuvieron valores negativos en la variación relativa porcentual de C^*_{ab} , indicando que el color de las frutillas impregnadas por vacío fue más apagado que las frutas no tratadas. Por su parte, los valores negativos para h_{ab} indican que las muestras de frutillas impregnadas por vacío fueron más rojas que las muestras sin tratar.

Al analizar los cambios entre el día cero y siete, en general no se obtuvieron diferencias significativas para las variaciones relativas porcentuales de L^* y C^*_{ab} y h_{ab} en los tratamientos aplicados. En general, el tratamiento JF₃ generó mayores diferencias en el

color de las frutas impregnadas por vacío, respecto de la fruta fresca cortada sin tratar. En ese sentido, Chiralt et al. (1999) indicaron que el cambio estructural más relevante impulsado por IV es el llenado de poros del producto con la solución externa. En muchos casos, el líquido nativo es expulsado durante la etapa de vacío y reemplazado por el líquido externo en la etapa de relajación; se podría intuir que la solución JF₃, al tener una parte de jugo natural de frutilla y dos partes de agua podría haber generado la ganancia de la solución diluida (JF₃) y salida de elementos que otorgan el color a la frutilla como las antocianinas, por lo que pierde el color rojizo.

En lo referente a la diferencia total de color (ΔE^*_i), la Tabla 4.10. muestra el resumen de ANOVA correspondiente a la evaluación de la influencia de la solución osmótica (SO) y el tiempo de almacenamiento (t) sobre la diferencia total de color de frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío. La solución osmótica y el tiempo de almacenamiento mostraron una fuerte influencia significativa ($p \leq 0,001$) sobre el atributo evaluado. Asimismo, la interacción entre SOxt afectó de forma significativa a la diferencia total de color de las frutillas IV ($p \leq 0,01$).

Tabla 4.10: Influencia de la solución osmótica (SO) y el tiempo de almacenamiento (t) sobre la diferencia total de color (ΔE^*) de frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío.

| Fuente de variación | F-calculados | |
|------------------------|--------------|------------------|
| | GL | $\Delta E^*(\%)$ |
| Solución osmótica (SO) | 2 | 9,14*** |
| Almacenamiento(t) | 1 | 35,86*** |
| SOxt | 2 | 4,64** |
| Error | 30 | |

GL: grados de libertad, ns: no significativo ($p \geq 0,05$), ***: significativo a ($p \leq 0,001$), **: significativo a ($p \leq 0,01$), *: significativo a ($p \leq 0,05$).

La Tabla 4.11. muestra los resultados obtenidos para la diferencia total de color de las frutillas impregnadas por vacío, en el día de procesamiento y luego de siete días de almacenamiento. La variación total de color al día cero no se vio influenciada significativamente por la solución osmótica ($p \geq 0,05$), mientras que la variación al día siete esta si fue influenciada por la solución osmótica empleada en el proceso de impregnación ($p \leq 0,05$).

Tabla 4.11: Diferencia total de color (ΔE^*_i) para frutillas frescas cortadas sometidas a Impregnación por vacío, al día cero y después de 7 días de almacenamiento a 1,5°C

| SO | ΔE^*_0 | ΔE^*_7 |
|-----------------|-------------------------------|--------------------------------|
| JF | 7,6 ^A _b | 12,3 ^B _a |
| JF ₂ | 8,6 ^A _a | 9,9 ^B _a |
| JF ₃ | 9,4 ^A _b | 16,4 ^A _a |

Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos y letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre días de almacenamiento del producto a 1,5°C, determinadas por el test de Tukey ($p \leq 0,05$). **SO**= solución osmótica. **JF**= jugo natural de frutilla + 1% ácido cítrico + 1% ácido ascórbico, **JF₂**= JF diluido a la mitad, **JF₃**= JF diluido a la tercera parte. *i*= día cero o día siete. Condiciones de impregnación por vacío: temperatura= 22°C; presión de vacío= 67,7 mbar; tiempo de vacío= 7,5 min; tiempo de relajación= 7,5min

Después del tiempo de almacenamiento se observó que la mayor diferencia de color ΔE^*_7 se generó con el tratamiento JF₃, siendo su valor 1,3 y 1,6 veces superior al producido por JF y JF₂ respectivamente.

Por otra parte, no se obtuvieron diferencias significativas en la diferencia total de color al comparar las obtenidas en día cero y después de los siete días de almacenamiento para el tratamiento JF₂ ($p \geq 0,05$), sin embargo, para el tratamiento JF y JF₃ si se obtuvieron diferencias significativas ($p \leq 0,05$); en este caso la diferencia total de color en el día siete fue 1,6 y 1,7 veces superior a la producida en el día cero para JF y JF₃, respectivamente.

Como se indicó, el mayor cambio de color de las frutillas sometidas a IV después del almacenamiento se obtuvo al aplicar el tratamiento JF₃, correspondiente a la solución más diluida empleada en la presente tesis; se supondría que la dilución del jugo de frutilla natural (JF) que contiene el 1% de ácido cítrico y 1% de ácido ascórbico para obtención de JF₃ generaron disminución en la concentración de dichos ácidos, por lo tanto el efecto que estos tuvieron sobre la inhibición de los cambios de color se vio minimizado. Este hecho se relacionaría con lo establecido por Radziejewska-Kubzdela et al. (2014), quienes indicaron que la metodología de IV mediante la impregnación intensiva del tejido con inhibidores del pardeamiento para remover el oxígeno del espacio intracelular puede contribuir en la inhibición de cambios adversos en el color del producto. Ellos indicaron que una acción más efectiva en el tejido se ha observado con inhibidores como los ácidos cítrico y ascórbico, a su vez indicaron que la efectividad de la tecnología de IV en relación a los cambios de color en frutas y hortalizas como resultado del pardeamiento enzimático está conectado con la estructura del tejido, el tipo de inhibidores y las condiciones de la impregnación por vacío.

En la presente tesis se efectuaron ensayos para determinar la factibilidad de aplicación de la tecnología de IV sobre frutillas frescas cortadas. La porosidad de la matriz alimentaria sobre la cual se realiza el procedimiento de IV juega un papel fundamental, ya que frutas de baja porosidad tienen menor aptitud para la incorporación de la solución osmótica circundante. En este caso, la incorporación de SO ha sido limitada pero aun así permitió demostrar que es posible recuperar y/o incrementar el contenido de antocianinas en las frutillas que se han perdido como consecuencia de las operaciones previas de lavado y corte. No obstante, ninguna de las alternativas de SO dio resultados totalmente beneficiosos en los otros aspectos evaluados de la calidad del producto (firmeza, color, sólidos solubles). Sin embargo, las condiciones operativas utilizadas (temperatura= 22°C; presión de vacío= 67,7 mbar; tiempo de vacío= 7,5 min; tiempo de relajación= 7,5min) y las SO ensayadas pueden modificarse para mejorar los resultados obtenidos.

4.1.2. Tratamientos de impregnación por vacío en frutillas mínimamente procesadas con diferentes soluciones osmóticas y tiempos de aplicación del vacío

Con el objetivo de mejorar los resultados presentados en el punto 4.1.1, se ensayó con distintas soluciones osmóticas isotónicas e hipertónicas con jugo natural de frutilla y/o sacarosa variando los tiempos de vacío buscando conseguir, además de la incorporación de compuestos bioactivos, un producto con características nutritivas y sensoriales similares o mejoradas respecto a la fruta fresca y que pueda mantenerse en el tiempo.

Efecto de impregnación por vacío sobre la incorporación de antocianinas

El contenido promedio de antocianinas totales (AT) para frutillas frescas cortadas fue de $36,10 \pm 7,98$ mg P3G Kg⁻¹.

La Tabla 4.12 presenta un resumen del ANOVA correspondiente a la evaluación de la influencia de la solución osmótica (SO), el tiempo de vacío (tv) y tiempo de almacenamiento (t) sobre la variación relativa porcentual del contenido de antocianinas totales en frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío. La solución osmótica mostró alta influencia significativa ($p \leq 0,001$) sobre el contenido de antocianinas totales, el tiempo de almacenamiento de igual forma, tuvo influencia significativa ($p \leq 0,01$) así como el tiempo de vacío ($p \leq 0,05$). La variación porcentual de AT se vio afectada de forma significativa por parte de la interacción SOxtv ($p \leq 0,05$), sin embargo, las interacciones SOxt y txtv no fueron factores significativos sobre el contenido de antocianinas totales ($p \geq 0,05$).

Tabla 4.12: Influencia de la solución osmótica, el tiempo de almacenamiento (t) y el vacío (tv) sobre el contenido de antocianinas para frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío.

| Fuente de variación | GL | F-calculados |
|------------------------|----|-----------------|
| | | $\Delta AT(\%)$ |
| Solución osmótica (SO) | 4 | 64,57*** |
| Almacenamiento(t) | 1 | 12,81** |
| Tiempo de vacío (tv) | 1 | 9,85* |
| SOxt | 4 | 1,83 ns |
| Txtv | 1 | 1,83 ns |
| SOxtv | 4 | 3,04* |
| Error | 24 | |

GL: grados de libertad, ns: no significativo $p \geq 0,05$, ***: significativo a ($p \leq 0,001$), **: significativo a $p \leq 0,01$, *: significativo a $p \leq 0,05$

En la Tabla 4.13 se pueden observar los resultados obtenidos para la variación relativa porcentual de antocianinas totales, donde valores con signo positivo indican incremento en los valores del parámetro estudiado, mientras que valores negativos muestran una disminución de antocianinas.

Tabla 4.13: Variación relativa de antocianinas totales (AT_i) al día cero y después de 7 días de almacenamiento a 1,5°C, para frutillas frescas cortadas, impregnadas por vacío

| SO | ΔAT ₀ (%) | | ΔAT ₇ (%) | |
|--------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| | tv1 | tv2 | tv1 | tv2 |
| JF | 11,1 ^A _a | 10,9 ^A _a | 0,7 ^A _b | -5,0 ^A _b |
| JFS ₃₀ | -2,8 ^{AB} _a | -8,3 ^B _{ab} | -8,4 ^{AB} _{ab} | -13,4 ^{AB} _b |
| S ₇ | -11,3 ^{BC} _a | -15,4 ^B _a | -22,9 ^C _b | -24,8 ^{CD} _b |
| S ₃₀ | -8,3 ^{BC} _a | -12,6 ^B _a | -12,1 ^{BC} _a | -18,0 ^{BC} _a |
| JF ₂ S ₇ | -19,2 ^C _a | -37,9 ^C _b | -23,7 ^C _a | -30,4 ^D _{ab} |

Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos debido a la solución osmótica y letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre el tiempo de vacío y días de almacenamiento del producto a 1,5°C, determinadas por el test de Tukey ($p \leq 0,05$). **SO**= solución osmótica. **tv₁**= tiempo de vacío 7,5 min y tiempo de relajación 7,5 min, **tv₂**= tiempo de vacío 14 min y tiempo de relajación 7,5. **JF**= SO de jugo natural de frutilla, **S₃₀**= SO de sacarosa 30°Bx, **S₇**= SO de sacarosa 7°Bx, **JF₂S₇**= SO de JF diluido al 50% y llevado a 7°Bx con sacarosa, **JFS₃₀**=SO de JF llevado a 30°Bx con sacarosa. i= día cero o día siete. Condiciones de impregnación por vacío: temperatura= 22°C; presión de vacío= 67,7 mbar

En el día cero se obtuvieron incrementos en el contenido de antocianinas totales únicamente en los tratamientos con solución osmótica de jugo natural de frutilla (JF), independientemente del tv aplicado. Así mismo, el tratamiento con la solución JFS₃₀, no mostró diferencias significativas con JF para tv₁. Ambos tratamientos se realizaron con jugo de frutillas sin diluir. Mientras tanto, los otros tratamientos generaron disminución del contenido de antocianinas, siendo mayor la pérdida al aplicar el tiempo de vacío tv₂ (14 min). En ese sentido, Zhao y Xie. (2004) encontraron que durante el proceso de impregnación por vacío puede generarse salida de líquido nativo del fruto hacia la solución osmótica circundante, sobretodo, cuando se trabaja con soluciones hipertónicas, lo que explica la disminución en el contenido de antocianinas al trabajar con soluciones de 30°Brix sin la base del jugo de frutilla (S₃₀). Sin embargo también se produjo disminución de antocianinas al trabajar con las soluciones S₇ y JF₂S₇, que a pesar de ser soluciones

isotónicas, a diferencia de JF no tienen una composición de jugo de fruta íntegro, lo que puede estar generando lixiviación de las antocianinas a la solución osmótica.

En la Figura 4.1 se puede observar la coloración de las soluciones osmóticas al final del proceso de impregnación por vacío, y en la Figura 4.2 se observan las frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío con cada una de las soluciones osmóticas estudiadas.

En el día siete, se produjo una pérdida de las antocianinas incorporadas al día 0 respetando el mismo orden logrado según la solución aplicada en el día 0 (JF>JFS₃₀>S₃₀>S₇>JF₂S₇). A t_{v1} , la solución JF mantiene su ganancia de antocianinas sin diferencias significativas con JFS₃₀. Sin embargo, a t_{v2} , el tratamiento JF indica una leve pérdida de antocianinas sin diferencias significativas con el tratamiento JFS₃₀.

Como se había indicado anteriormente, a pesar de que las soluciones osmóticas JF, S₇ y JF₂S₇ son isotónicas, JF corresponde a jugo natural de frutilla, que genera ganancia de AT en las frutillas tratadas; mientras que S₇ y JF₂S₇ se generó lixiviación de las antocianinas a la SO y con el tiempo de almacenamiento se va perdiendo aún más el contenido de antocianinas de la fruta que ha quedado después del tratamiento en el día cero.

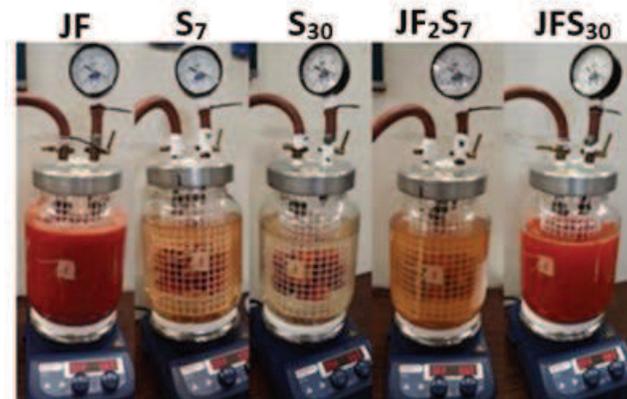


Figura 4.1: Soluciones osmóticas empleadas en el proceso de impregnación por vacío de frutillas frescas cortadas.

JF= SO de jugo natural de frutilla, S₃₀= SO de sacarosa 30°Bx, S₇= SO de sacarosa 7°Bx, JF₂S₇= SO de JF diluido al 50% y llevado a 7°Bx con sacarosa, JFS₃₀=SO de JF llevado a 30°Bx con sacarosa

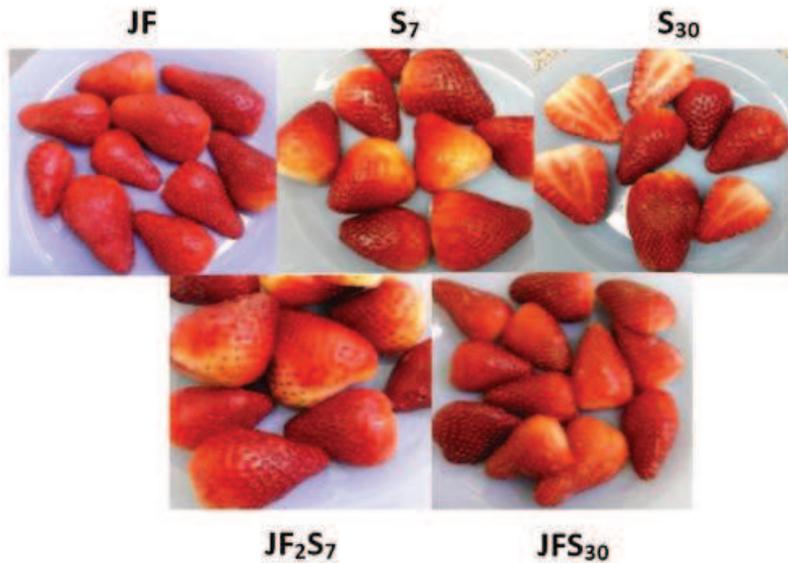


Figura 4.2: Frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío con diferentes soluciones osmóticas.

JF= SO de jugo natural de frutilla, **S₃₀**= SO de sacarosa 30°Bx, **S₇**= SO de sacarosa 7°Bx, **JF₂S₇**= SO de JF diluido al 50% y llevado a 7°Bx con sacarosa, **JFS₃₀**=SO de JF llevado a 30°Bx con sacarosa

Efecto sobre parámetros de transferencia de masa y otros atributos de calidad

La Tabla 4.14. muestra el resumen de ANOVA correspondiente a la evaluación de la influencia de la solución osmótica (SO) y el tiempo de almacenamiento (t) sobre los parámetros de transferencia de masa de frutillas frescas cortadas sometidas a impregnación por vacío. La solución osmótica mostró una fuerte influencia significativa ($p \leq 0,001$) sobre SG, WL y WR. Por su parte, el tv no presentó influencia significativa sobre SG, mientras que influyó significativamente a WL ($p \leq 0,05$) y tuvo una fuerte influencia sobre WR ($p \leq 0,001$).

Tabla 4.14: Influencia de la solución osmótica y el tiempo de vacío (tv) sobre los parámetros de transferencia de masa: ganancia de sólidos (SG), pérdida de agua (WL) y reducción de peso (WR), para frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío.

| Fuente de variación | GL | F-calculados | | |
|------------------------|----|--------------|----------|-----------|
| | | SG | WL | WR |
| Solución osmótica (SO) | 4 | 9,48*** | 97,65*** | 124,71*** |
| Tiempo de vacío (tv) | 1 | 0,37 ns | 10,60* | 29,89*** |
| Error | 14 | | | |

GL: grados de libertad, ns: no significativo ($p \geq 0,05$), ***: significativo a $p \leq 0,001$, **: significativo a $p \leq 0,01$, *: significativo a $p \leq 0,05$.

La tabla 4.15 muestra los valores obtenidos para los parámetros de transferencia de masa para frutillas frescas cortadas sometidas a impregnación por vacío suave. Resultados con signo negativo indican pérdida de sólidos, ganancia de agua y ganancia de peso, para SG, WL y WR, respectivamente. Las respuestas ganancia de sólidos (SG), pérdida de agua (WL) y reducción de peso (WR) resultaron ser función de la solución osmótica empleada en el proceso ($p \leq 0,05$). La SG no resultó función del tiempo de vacío ($p > 0,05$), mientras que WL y WR resultaron influenciadas significativamente por el tiempo de vacío aplicado ($p \leq 0,05$).

Tabla 4.15: Ganancia de sólidos (SG), pérdida de agua (WL) y reducción de peso (WR) después del tratamiento de IV de frutillas frescas cortadas

| SO | SG (%) | | WL (%) | | WR (%) | |
|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| | tv1 | tv 2 | tv1 | tv2 | tv1 | tv2 |
| JF | 0,24 ^D _a | 0,79 ^C _b | 0,20 ^D _a | 1,08 ^D _b | -0,05 ^D _a | 0,29 ^E _b |
| JFS ₃₀ | 1,96 ^A _a | 0,88 ^B _b | 3,28 ^B _a | 2,79 ^B _b | 1,33 ^B _a | 1,91 ^B _b |
| S ₇ | -0,01 ^E _a | 0,14 ^D _b | 0,45 ^C _a | 2,05 ^C _b | 0,45 ^C _a | 1,90 ^C _b |
| S ₃₀ | 0,98 ^B _a | 1,36 ^A _b | 4,82 ^A _a | 5,31 ^A _b | 3,84 ^A _a | 3,96 ^A _b |
| JF ₂ S ₇ | 0,61 ^C _a | 0,06 ^E _b | -0,03 ^E _a | 0,44 ^E _b | -0,64 ^E _a | 0,39 ^D _b |

Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos y letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre el tiempo de vacío para cada respuesta, determinadas por el test de Tukey ($p \leq 0,05$). **SO**= solución osmótica. **tv₁**= tiempo de vacío 7,5 min y tiempo de relajación 7,5 min, **tv₂**= tiempo de vacío 14 min y tiempo de relajación 7,5. **JF**= SO de jugo natural de frutilla, **S₃₀**= SO de sacarosa 30°Bx, **S₇**= SO de sacarosa 7°Bx, **JF₂S₇**= SO de JF diluido al 50% y llevado a 7°Bx con sacarosa, **JFS₃₀**=SO de JF llevado a 30°Bx con sacarosa. i= día cero o día siete. Condiciones de impregnación por vacío: temperatura= 22°C; presión de vacío= 67,7 mbar

En cuanto a SG, se observó mayor ganancia de sólidos en los tratamientos efectuados empleando soluciones osmóticas hipertónicas (30 °Brix), mientras que las soluciones isotónicas (7°Brix) produjeron un mínimo aumento, incluso se generó una pequeña pérdida de sólidos con S₇ cuando el tiempo de vacío es el menor empleado. Paes et al. (2007) estudiaron la influencia de la concentración de la solución osmótica y los tiempos de vacío y relajación sobre diferentes características de manzanas mínimamente procesadas tratadas por impregnación por vacío y determinaron que una SO isotónica de sacarosa generó menor SG respecto de la SO hipertónica (50°Bx), en los dos casos, el mayor incremento de los sólidos se produjo con tiempos de vacío superiores a 10 min, lo que concuerda con los resultados obtenidos en la presente tesis.

Respecto a WL, se observó que las soluciones osmóticas hipertónicas y el tiempo de vacío más alto (14 min) generaron mayor pérdida de agua en las muestras tratadas, sin embargo, el tratamiento JF₃₀ con t₂ produjo menor WL que cuando se trabajó con t₁ (7,5 min). Mujica–Paz et al. (2003), concluyeron que la WL en manzanas frescas cortadas sometidas a IV,

incrementó cuando la concentración de la SO aumentó. Paes et al. (2007), obtuvieron mayor WL en manzanas *var. Gala* tratadas con una solución osmótica de 50°Bx y un tiempo de vacío alto, mientras que aquellas tratadas con una solución de 21,8°Bx presentaron ganancia de agua, siendo esta ganancia mayor con un $t_v = 10$ min y $t_r = 30$ min.

En cuanto a WR, se observó un comportamiento semejante a WL, obteniéndose valores más altos para este parámetro en muestras tratadas con soluciones osmóticas de 30°Brix y tiempo de vacío t_{v2} . Mujica-Paz et al. (2003), observaron que los cambios en WR de manzana, melón y mango frescos cortados sometidos a IV es dependiente de la concentración de la SO; ellos observaron que a medida que la concentración de la SO incrementó, la WR fue mayor. Paes et al. (2007) impregnaron manzanas frescas cortadas (40 mbar) y corroboraron que, al emplear una solución isotónica, con un t_v alto (40 min) y un t_r de 0 min se generó una WR cercana al 5%, ellos indicaron que este período de vacío-relajación fue suficiente para desgasificar la muestra y que una gran cantidad de solución nativa sea expulsada por el gas en expansión; de la misma forma, indicaron que la pérdida del líquido nativo en un periodo de vacío largo y la no existencia de un t_r , ayudan a que no se produzca recuperación del mismo.

Con respecto a los sólidos solubles presentes en las frutillas frescas cortadas, se observó un contenido de sólidos solubles promedio de $7,00 \pm 0,54$ °Brix, y un valor de pH de $3,57 \pm 0,04$. La Tabla 4.16 presenta el resumen de ANOVA correspondiente a la evaluación de la influencia de la solución osmótica (SO) y el tiempo de vacío (t_v) y tiempo de almacenamiento (t) sobre la variación porcentual de los sólidos solubles (SS) y pH de frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío. La solución osmótica, el tiempo de vacío y el tiempo de almacenamiento mostraron influencia significativa ($p \leq 0,05$) sobre los sólidos solubles, de la misma manera sucedió con la interacción entre la solución osmótica y el día de almacenamiento, así como también la interacción día de almacenamiento y tiempo de vacío, que tuvieron influencia significativa sobre los SS ($p \leq 0,05$); sin embargo los SS no

resultaron función de la interacción entre SO y tv ($p \geq 0,05$). Por su parte la SO y el tiempo de almacenamiento afectaron de forma significativa al pH de las frutillas ($p \leq 0,05$), mientras que el tv no generó cambios significativos ($p \geq 0,05$). Las interacciones SOxt; txtv y SOxtv produjeron una influencia significativa sobre la variación porcentual de pH en las muestras impregnadas por vacío ($p \leq 0,05$).

Tabla 4.16: Influencia de la solución osmótica (SO), tiempo de vacío (tv) y tiempo de almacenamiento (t) sobre la variación porcentual de sólidos solubles (ΔSS) y pH (ΔpH), de frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío.

| Fuente de variación | GL | F-calculados | |
|------------------------|----|-----------------|-----------------|
| | | ΔSS (%) | ΔpH (%) |
| Solución osmótica (SO) | 4 | 421,48*** | 25,05*** |
| Almacenamiento(t) | 1 | 67,14*** | 506,96*** |
| Tiempo de vacío (tv) | 1 | 13,63*** | 1,64 ns |
| SOxt | 4 | 19,96*** | 8,63*** |
| txtv | 1 | 23,06*** | 28,84*** |
| SOxtv | 4 | 1,61 ns | 18,20*** |
| Error | 44 | | |

GL: grados de libertad, ns: no significativo ($p \geq 0,05$), ***: significativo a $p \leq 0,001$, **: significativo a $p \leq 0,01$, *: significativo a $p \leq 0,05$.

La tabla 4.17 muestra los resultados obtenidos para las variaciones relativas porcentuales de sólidos solubles (ΔSS) después de la aplicación de los diferentes tratamientos de impregnación por vacío. Valores positivos indican un incremento en el valor del parámetro evaluado, por el contrario, valores negativos indican disminución.

Tabla 4.17: Variación relativa de sólidos solubles (ΔSS_i) al día cero y después de 7 días de almacenamiento a 1,5°C, para frutillas frescas cortadas, impregnadas por vacío

| SO | ΔSS_0 (%) | | ΔSS_7 (%) | |
|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| | tv1 | tv2 | tv1 | tv2 |
| JF | -0,5 ^B _a | 1,0 ^C _a | -4,5 ^E _b | -11,6 ^D _c |
| JFS ₃₀ | 14,3 ^A _a | 12,8 ^B _a | 11,0 ^B _b | 11,0 ^A _c |
| S ₇ | 0,0 ^B _a | 0,9 ^C _a | -2,6 ^D _b | -4,2 ^C _a |
| S ₃₀ | 15,6 ^A _a | 16,6 ^A _b | 16,7 ^A _c | 11,3 ^A _a |
| JF ₂ S ₇ | 1,0 ^B _a | 1,1 ^C _a | 3,7 ^C _b | 2,2 ^B _c |

Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos debido a la solución osmótica y letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre el tiempo de vacío y días de almacenamiento del producto a 1,5°C, determinadas por el test de Tukey ($p \leq 0,05$). **SO**= solución osmótica. **tv₁**= tiempo de vacío 7,5 min y tiempo de relajación 7,5 min, **tv₂**= tiempo de vacío 14 min y tiempo de relajación 7,5. **JF**= SO de jugo natural de frutilla, **S₃₀**= SO de sacarosa 30°Bx, **S₇**= SO de sacarosa 7°Bx, **JF₂S₇**= SO de JF diluido al 50% y llevado a 7°Bx con sacarosa, **JFS₃₀**=SO de JF llevado a 30°Bx con sacarosa. i= día cero o día siete. Condiciones de impregnación por vacío: temperatura= 22°C; presión de vacío= 67,7 mbar

Los SS en el día cero (ΔSS_0) resultaron función de la solución osmótica empleada en el proceso ($p \leq 0,05$); generándose un incremento máximo al aplicar los tratamientos S₃₀ y JFS₃₀ (30°Brix); por otra parte, se observaron cambios mínimos con las soluciones de 7°Brix, este comportamiento concuerda con la SG obtenida, en donde se observó mayor ganancia de sólidos cuando se usaron SO hipertónicas. Estos resultados están de acuerdo con aquellos obtenidos por Xie y Zhao, (2003a), quienes emplearon la tecnología de impregnación por vacío para fortificar manzanas frescas cortadas con soluciones osmóticas de jarabe de maíz de alta fructosa a dos concentraciones: 20% y 50% p/p, con agregado de Ca y Zn bajo una presión de vacío de 66,66 mbar con $t_v=15$ min y $t_r=30$ min; en todos los casos, ellos obtuvieron mayor incremento en los sólidos solubles de las muestras tratadas con el jarabe de maíz de alta fructosa al 50% (incremento promedio=5,5%), mientras que la SO de menor concentración (20%) generó pequeños cambios (<1,5%).

En cuanto a los cambios en los SS después de almacenamiento, observamos que ΔSS_7 resultó función de la solución osmótica y el t_v ($p \leq 0,05$), obteniéndose el mayor incremento, cuando se trabajó con S_{30} y t_{v1} (7,5 min), mientras que los tratamientos JF y S_7 generaron disminución de los SS, bajo las dos condiciones de t_v estudiadas. En ese sentido, Paes et al. (2007) estudiaron la influencia del tiempo de vacío, tiempo de relajación y la concentración de la solución osmótica en manzanas mínimamente procesadas sometidas a impregnación por vacío con una $P = 40$ mbar, variando los tiempos de vacío y relajación (0, 10, 15, 25, 30 y 40 min) a 30°C con SO de sacarosa a 21,8 y 50°Brix , y observaron que, para soluciones hipertónicas, según incrementan los valores de viscosidad con la concentración de azúcares, se requieren tiempos de relajación más altos, para obtener una la misma impregnación; en ese aspecto, se ha observado un mayor incremento de los SS al trabajar con SO de mayor concentración y un periodo de tiempo de vacío menor, lo cual coincide en parte con los resultados obtenidos en la presente tesis, en donde un t_v menor y una SO de mayor concentración, generaron mayor incremento de los SS.

En cuanto a los cambios producidos sobre el pH, la tabla 4.18 presenta los resultados obtenidos para las variaciones relativas porcentuales de pH (ΔpH), después de la aplicación de los diferentes tratamientos de impregnación por vacío. Valores positivos indican un incremento en el valor del parámetro evaluado, por el contrario, valores negativos indican disminución.

Tabla 4.18: Variación relativa de pH al día cero y después de 7 días de almacenamiento a 1,5°C, para frutillas frescas cortadas, impregnadas por vacío

| SO | ΔpH_0 (%) | | ΔpH_7 (%) | |
|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| | tv1 | tv2 | tv1 | tv2 |
| JF | -0,1 ^A _a | -2,3 ^B _a | 0,09 ^B _b | -2,0 ^C _b |
| JFS ₃₀ | -4,9 ^D _a | -3,5 ^C _b | -2,37 ^C _b | -0,2 ^A _c |
| S ₇ | -2,5 ^B _a | -6,0 ^D _b | -0,5 ^B _c | -1,0 ^B _c |
| S ₃₀ | -4,1 ^C _a | -0,3 ^A _b | -2,7 ^C _c | -6,0 ^E _d |
| JF ₂ S ₇ | -2,3 ^B _a | -3,9 ^C _b | 0,9 ^A _c | -3,8 ^D _b |

Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos debido a la solución osmótica y letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre el tiempo de vacío y días de almacenamiento del producto a 1,5°C, determinadas por el test de Tukey ($p \leq 0,05$). **SO**= solución osmótica. **tv₁**= tiempo de vacío 7,5 min y tiempo de relajación 7,5 min, **tv₂**= tiempo de vacío 14 min y tiempo de relajación 7,5. **JF**= SO de jugo natural de frutilla, **S₃₀**= SO de sacarosa 30°Bx, **S₇**= SO de sacarosa 7°Bx, **JF₂S₇**= SO de JF diluido al 50% y llevado a 7°Bx con sacarosa, **JFS₃₀**=SO de JF llevado a 30°Bx con sacarosa. i= día cero o día siete. Condiciones de impregnación por vacío: temperatura= 22°C; presión de vacío= 67,7 mbar

Se observó que la ΔpH_0 fue afectada únicamente por la solución osmótica ($p \leq 0,05$), en ese sentido, todas las muestras impregnadas experimentaron reducción del pH. Este hecho puede deberse a que las soluciones osmóticas contenían el 1% de ácido ascórbico y 1% de ácido cítrico que debido a la aplicación de los tratamientos de IV pudieron ingresar en el tejido de la fruta por incremento en la tasa de difusión de iones hidrógeno como resultado del aumento en la superficie de contacto de la SO que contiene ácidos y el tejido de las frutillas. En ese sentido, Derosi et al. (2010) y Derosi et al. (2011) indicaron que la acidificación por impregnación por vacío es útil para mejorar la reducción de pH en diferentes alimentos ya que favorece el incremento del área de contacto entre el tejido vegetal y la solución ácida con tiempos de tratamiento cortos. Por otra parte, la ΔpH_7 resultó función de la solución osmótica y del tiempo de vacío ($p \leq 0,05$), en este caso se produjo incremento en los valores de pH (<3,2%) en casi la totalidad de las muestras impregnadas, este hecho puede deberse a que, durante el almacenamiento de la fruta, debido a los procesos fisiológicos como la respiración, el contenido de ácidos en la fruta es consumido y

por lo tanto puede existir un incremento en el valor del pH, en el caso de las muestras tratadas con S_7 y S_{30} a t_{v1} (7,5min) se generó disminución del pH.

Al analizar los cambios generados en las muestras durante el tiempo de almacenamiento, se obtuvieron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) para la variación de sólidos solubles (ΔSS) con t_{v1} para los tratamientos JF y JFS₃₀, en el primer caso se produjo disminución de los sólidos solubles en una proporción 4 veces superior en el día 7 en comparación con la generada en el día cero; mientras que con JFS₃₀ se produjo aumento de los SS, sin embargo dicho incremento fue menor en el día 7. De la misma manera, se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) para los SS, al trabajar con t_{v2} , para los tratamientos JF, S_7 y S_{30} ; en los dos primeros casos se obtuvo incremento de los SS en el día cero, mientras que en el día 7 se generó disminución; con el tratamiento S_{30} , el incremento de los SS se mantuvo en el día 7 aunque este fue menor en comparación con el obtenido en el día cero. Las soluciones osmóticas isotónicas generaron mayor disminución de los sólidos solubles en el día 7, mientras que las soluciones hipertónicas permitieron mantener el contenido de sólidos solubles por encima del presente en la fruta fresca. Las mayores diferencias obtenidas se generaron al trabajar con el tiempo de vacío alto ($t_{v2} = 14$ min).

En lo referente a las diferencias encontradas entre días de análisis para el pH, se observaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre día cero y siete al trabajar con t_{v1} para los tratamientos: JF, S_{30} , JF₂S₇, JFS₃₀; en todos los casos se generó disminución del valor de pH en el día cero; el tratamiento S_{30} permitió un mantenimiento en la disminución de pH aunque en menor proporción en relación al día cero; por su parte los tratamientos JF, JF₂S₇ y JFS₃₀ en cambio produjeron aumento del pH en el día siete. Al trabajar con el tiempo de vacío t_{v2} , también se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre día cero y siete para todos los tratamientos. En ese sentido, al día cero se produjo disminución en el valor de pH, mientras que en el día 7 se generó aumento. Las soluciones hipertónicas generaron mayores cambios en el pH durante el almacenamiento al trabajar con tiempo de vacío 1

(t_{v1} = 7,5min), lo mismo ocurrió con las SO isotónicas con agregado de sacarosa al emplear tiempos de vacío superiores (t_{v2} = 14 min).

La aplicación de los distintos tratamientos, arrojan diferentes resultados, siendo aquellos aplicados con la solución osmótica de jugo natural de frutilla (JF), a distintos tiempos de vacío los que permitieron incorporar antocianinas, con cambios mínimos en los sólidos solubles y pH, por lo tanto, evitando variaciones considerables en el sabor de la fruta. En ese sentido, se considera que la solución osmótica JF es la mejor opción para alcanzar el objetivo de incorporar compuestos bioactivos y obtener un producto con características nutritivas y sensoriales similares o mejoradas. En el caso de usar tiempos de vacío de 7,5 min, el nivel de antocianinas se mantuvo en un valor superior al de las antocianinas originalmente presentes en las frutillas frescas cortadas, para el día cero y en el caso de t_{v2} , solo hubo una pequeña pérdida a los 7 días de almacenamiento, por lo tanto, el tiempo t_{v1} , es la alternativa más conveniente para cumplir con el objetivo planteado.

El incremento promedio en el contenido de antocianinas totales al emplear la solución osmótica JF fue= 11,2% en el día cero, de la misma manera, el contenido de antocianinas se mantuvo por encima del de la fruta fresca cortada durante el almacenamiento. Asimismo, JF generó un producto con una ganancia de sólidos de 0,24%, pérdida de agua de 0,20% y ganancia de peso mínima de 0,05%. En cuanto a otros atributos de calidad se alcanzó menor variación de los sólidos solubles (0,23%) y reducción de pH (0,1%) en el día de procesamiento. Lo mismo sucedió en el día siete, dicho tratamiento generó menores cambios en la variación porcentual de sólidos solubles (-4,5%) y pH (0,09%), por lo tanto, se prevé que el producto final mantenga sus atributos similares a los de la fruta fresca cortada. Por su parte, los tratamientos con SO hipertónicas e isotónicas distintos a JF produjeron disminución del contenido de antocianinas totales, por lo que quedan descartados como una opción que favorezca el mejoramiento del potencial bioactivo de la fruta tratada; asimismo, los tratamientos con soluciones osmóticas hipertónicas generaron los mayores

cambios en las frutas tratadas por IV, llevando a la obtención de frutillas con características diferentes a la fruta fresca sin tratar.

4.1.3 Caracterización del potencial saludable de frutillas impregnadas con la solución osmótica de jugo natural de frutilla

Considerando que el jugo natural de frutilla es la solución osmótica que permitió incrementar el contenido de antocianinas en frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío, se procedió a estudiar el potencial saludable de dicha fruta tras la aplicación del tratamiento, para ello se analizó el perfil de antocianinas, el contenido de vitamina C, la capacidad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos. La Figura 4.3 muestra el cromatograma del perfil de antocianinas obtenidas para una muestra de frutilla fresca cortada.

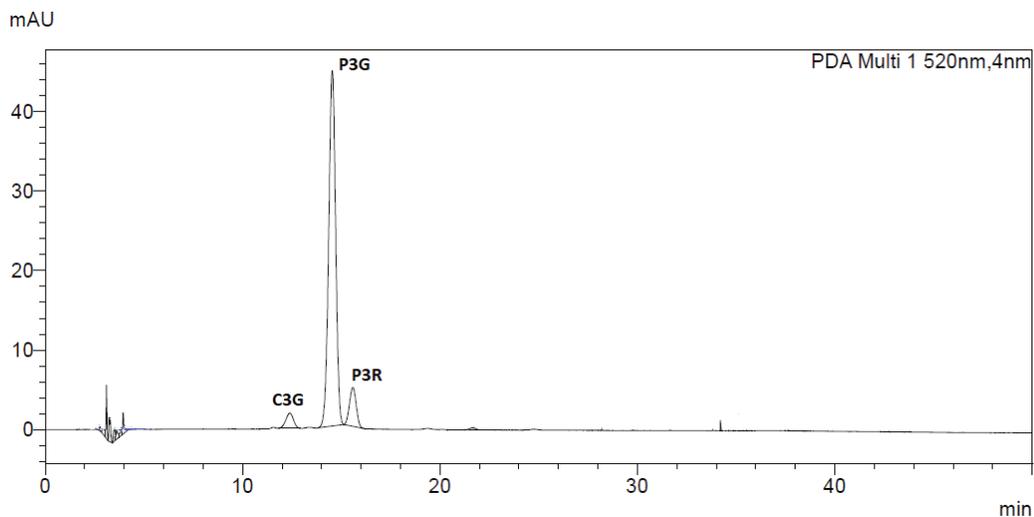


Figura 4.3: Cromatograma del perfil de antocianinas pelargonidin 3-O-glucósido (P3G), cianidin 3-O-glucósido (C3G) y pelargonidin 3-O-rutinosido (P3R)

A continuación, se presentan resultados obtenidos en cuanto al perfil de antocianinas, vitamina C, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío con una solución osmótica de jugo natural de frutilla (JF) aplicando un tiempo de vacío de 7,5 min.

La tabla 4.19 muestra la variación relativa porcentual del contenido de antocianinas: pelargonidina 3-O-glucósido ($\Delta P3G_i$), pelargonidina 3-O-rutinósido ($\Delta P3R_i$) y cianidina 3-O-glucósido ($\Delta C3G_i$) empleando la solución osmótica JF, para el día cero y después de 7 días de almacenamiento a 1,5°C

Tabla 4.19: Variación relativa del perfil de antocianinas: de frutillas frescas cortadas impregnadas por vacío con la solución osmótica de jugo natural de frutilla (JF) a tiempo de vacío 7,5 min para el día cero y después de 7 días de almacenamiento a 1,5°C.

| Tiempo de almacenamiento (d) | $\Delta P3G_i$ (%) | $\Delta C3G_i$ (%) | $\Delta P3R_i$ (%) |
|---|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 0 | 19,3 _a | 26,1 _a | 35,8 _a |
| 7 | 13,3 _a | 31,9 _a | 31,9 _a |

Letras minúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre días de almacenamiento del producto a 1,5°C, determinadas por el test de Tukey ($p \leq 0,05$). **P3G**= pelargonidina 3-O-glucósido, **C3G**= cianidina 3-O-glucósido, **P3R**= pelargonidina 3-O-rutinósido. i= día cero o día siete. Condiciones de impregnación por vacío: temperatura= 22°C; presión de vacío= 67,7 mbar; tiempo de vacío= 7,5 min.

En todos los casos se puede ver un incremento en el contenido de las tres principales antocianinas presentes en frutillas impregnadas en el día cero, dicho incremento se mantiene en el tiempo, después de los 7 días de almacenamiento a 1,5°C.

La tabla 4.20 muestra las variaciones relativas porcentuales del contenido de vitamina C (ΔAAT_i), la capacidad antioxidante (ΔCA_i) y el contenido de fenoles totales (ΔFT_i) en frutillas

frescas cortadas sometidas a impregnación por vacío, en todos los casos se obtuvieron incrementos en el valor del parámetro evaluado de la fruta tratada respecto a la fruta fresca.

No existen diferencias significativas en el tiempo de almacenamiento para el contenido de vitamina C y el contenido de fenoles totales ($p \geq 0,05$), sin embargo, se presentaron diferencias en la capacidad antioxidante entre el día 0 y 7, en el día 7 el incremento generado respecto a la fruta fresca es menor que el obtenido en el día 0.

Los resultados de la presente tesis están en acuerdo con Dinçer, C. (2021), quien estudió la impregnación por vacío asistida por ultrasonido en manzanas frescas cortadas, empleando como SO, extractos de antocianinas de hibiscus, obteniendo incrementos en cianidina 3-O-glucósido al aplicar IV solo en combinación con tratamientos de ultrasonido.

Tabla 4.20: Variación relativa de ácido ascórbico total (ΔAAT_i), capacidad antioxidante (ΔCA_i) y fenoles totales (ΔFT_i) para el día cero y después de 7 días de almacenamiento a 1,5°C, para frutillas frescas cortadas, impregnadas por vacío con la solución osmótica de jugo natural de frutilla (JF) a tiempo de vacío 7,5 min.

| Tiempo de almacenamiento (d) | ΔAAT_i (%) | ΔCA_i (%) | ΔFT_i (%) |
|---------------------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|
| 0 | 86,0 _a | 16,2 _a | 12,4 _a |
| 7 | 71,5 _a | 6,0 _b | 14,0 _a |

Letras minúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre días de almacenamiento del producto a 1,5°C, determinadas por el test de Tukey ($p \leq 0,05$). **AAT**=Ácido ascórbico total, **CA**= capacidad antioxidante, **FT**= fenoles totales. *i*= día cero o día siete. Condiciones de impregnación por vacío: temperatura= 22°C; presión de vacío= 67,7 mbar; tiempo de vacío= 7,5 min.

La impregnación por vacío con JF sobre frutillas frescas cortadas permitió incrementar el contenido de compuestos fenólicos.

Estos resultados de antocianinas, vitamina C, la capacidad antioxidante y de compuestos fenólicos demuestran que existe una mejora en el potencial saludable del producto obtenido.

4.2. ENSAYOS DE IMPREGNACIÓN POR VACÍO EN MANZANAS

La Tabla 4.21 muestra los valores obtenidos para los parámetros de transferencia de masa en manzanas frescas cortadas sometidas a impregnación por vacío suave. No se encontraron cambios significativos para la ganancia de sólidos cuando se utilizaron diferentes soluciones osmóticas ($p \geq 0.05$). El valor promedio obtenido fue de 2,83%

Tabla 4.21: Ganancia de sólidos (SG), pérdida de agua (WL) y reducción de peso (WR) después del tratamiento de IV de manzanas frescas cortadas

| SO | %SG | %WL | %WR |
|------------------|------------------|--------------------|-------------------|
| M ₀ | 2,6 ^A | 0,04 ^B | -2,6 ^B |
| M _{0,5} | 2,5 ^A | -0,15 ^B | -2,7 ^C |
| M ₁ | 3,3 ^A | 1,8 ^A | -1,6 ^A |

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos por el test de Tukey ($p < 0,05$). Soluciones osmóticas (SO): **M₀**= Solución de miel a 30°Brix (SM), **M_{0,5}**= SM + 0,5% de ácido cítrico + 0,5% de ácido ascórbico, **M₁**= SM+ 1% de ácido cítrico + 1% de ácido ascórbico. i= día cero o día siete. Condiciones de impregnación por vacío: temperatura= 22°C; presión de vacío= 67,7 mbar; tiempo de vacío= 14 min; tiempo de relajación= 7,5min

La SG para las manzanas frescas cortadas impregnadas a 67,7 mbar con $t_v = 10$ min, $t_r = 10$ min con una solución de sacarosa de 30°Brix fue menor (2,4 %) que el valor obtenido en la presente tesis, como lo reportado por Faicán et al. (2018). Esta diferencia puede ser atribuida al peso molecular de las soluciones de miel versus las de sacarosa. En este sentido, Bolin et al. (1983) reportaron que manzanas, duraznos y albaricoques frescos cortados, sometidos a deshidratación osmótica, con dos diferentes soluciones osmóticas: sacarosa y jarabe de maíz de alta fructosa que mostraron respuestas diferentes. La solución de jarabe

de maíz de alta fructosa generó una gran ganancia de sólidos. Los autores explicaron que la sacarosa al ser un disacárido, podría migrar de forma más lenta que la fructosa, la cual es un monosacárido. La fructosa tiene un coeficiente de difusión 32% más alto que la sacarosa y el jarabe de maíz de alta fructosa, lo que hace que reemplace más el agua en las células debido a su tasa de penetración más rápida. Otros investigadores señalaron conclusiones similares. Zhao y Xie (2004) sugieren que, en la mayoría de los casos, carbohidratos de peso molecular bajo son usados para su aplicación en tratamientos de impregnación por vacío, ya que esta condición permite una penetración rápida en el interior de la muestra. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en la presente tesis ya que la solución osmótica de miel penetra de mejor forma que una solución de sacarosa y como consecuencia la ganancia de sólidos fue mayor.

La Tabla 4.21 muestra que las soluciones osmóticas afectan la pérdida de agua ($p \leq 0,05$). No se determinaron diferencias entre los tratamientos M_0 y $M_{0,5}$; sin embargo, el tratamiento M_1 generó gran pérdida de agua. En ese sentido, Fernández et al. (2019) reportaron que cuando la concentración de una solución osmótica de sacarosa fue mayor que la del tejido vegetal (solución hipertónica), el agua abandonó la fruta y la deshidratación osmótica se llevó a cabo.

De acuerdo con los resultados presentados en la Tabla 4.21, la reducción de peso fue afectada por las soluciones osmóticas empleadas ($p \leq 0,05$). Todos los tratamientos resultaron en una ganancia de peso (indicada por el signo negativo para WR). Mujica -Paz et al. (2003) observaron resultados similares en manzanas *Golden Delicious* frescas cortadas. Ellos explicaron esta situación, tomando en cuenta la alta porosidad de las manzanas que facilitan la impregnación con soluciones hipertónicas (40°Brix), que generan esa ganancia de peso. Similar comportamiento se observó en la presente tesis.

En lo referente a los sólidos solubles y el pH; la materia prima, manzana *Granny Smith* fresca cortada, presentó un contenido de sólidos solubles promedio de $12,6 \pm 0,461$ °Brix, y un valor de pH de $3,4 \pm 0,08$.

La Tabla 4.22 muestra el resumen de ANOVA correspondiente a la evaluación de la influencia de la solución osmótica (SO) y el tiempo de almacenamiento (t) sobre la variación relativa porcentual del contenido de sólidos solubles (ΔSS) y ΔpH de manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío. Los sólidos solubles no fueron influenciados por la solución osmótica ($p \geq 0,05$), mientras que el tiempo de almacenamiento generó una fuerte influencia significativa sobre esta respuesta ($p \leq 0,001$), asimismo los SS se vieron influenciados por la interacción SOxt ($p \leq 0,05$). La variación porcentual de pH fue altamente influenciada por la SO, el tiempo de almacenamiento y la interacción de estos dos factores ($p \leq 0,001$).

Tabla 4.22: Influencia de la solución osmótica (SO) y el tiempo de almacenamiento (t) sobre la variación relativa porcentual de sólidos solubles (ΔSS) y pH (ΔpH) en manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío.

| Fuente de variación | GL | F-calculados | |
|------------------------|----|-----------------|-----------------|
| | | ΔSS (%) | ΔpH (%) |
| Solución osmótica (SO) | 2 | 1,23 ns | 139900,9*** |
| Almacenamiento (t) | 1 | 42,85*** | 29911,56*** |
| SOxt | 2 | 5,55* | 7744,33*** |
| Error | 12 | | |

GL: grados de libertad, ns: no significativo ($p \geq 0,05$), ***: significativo a ($p \leq 0,001$), **: significativo a ($p \leq 0,01$), *: significativo a ($p \leq 0,05$).

La Tabla 4.23 muestra las variaciones relativas porcentuales de sólidos solubles en función de las soluciones usadas en el día cero (ΔSS_0) y luego de 7 días de almacenamiento

a 1,5°C (ΔSS_7). No se encontró efecto significativo de las soluciones osmóticas empleadas en el proceso de IV ($p \geq 0,05$). Todas las muestras de fruta fresca cortada impregnadas presentaron incrementos de los SS respecto a la fruta fresca sin tratar, obteniéndose valores promedio de $\Delta \%SS_0=25\%$ y de $\Delta \%SS_7=24\%$, en el día de procesamiento y luego de 7 días de almacenamiento a 1,5°C respectivamente.

Tabla 4.23: Variación relativa de sólidos solubles (ΔSS_i) y ΔpH_i al día cero y después de 7 días de almacenamiento a 1,5°C, para manzanas frescas cortadas, impregnadas por vacío

| SO | $\Delta \%SS_0$ | $\Delta \%SS_7$ | $\Delta \%pH_0$ | $\Delta \%pH_7$ |
|------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| M ₀ | 23,0 ^A _a | 24,0 ^A _b | 0,0 ^A _a | 0,0 ^A _a |
| M _{0,5} | 26,0 ^A _a | 24,4 ^A _b | -5,7 ^B _a | -8,6 ^B _b |
| M ₁ | 26,0 ^A _a | 23,0 ^A _b | -5,9 ^C _a | -8,8 ^C _b |

Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos y letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre días de análisis, determinadas por el test de Tukey ($p \leq 0,05$). Soluciones osmóticas (SO): **M₀**= Solución de miel a 30°Brix (SM), **M_{0,5}**= SM + 0,5% de ácido cítrico + 0,5% de ácido ascórbico, **M₁**= SM+ 1% de ácido cítrico + 1% de ácido ascórbico. i= día cero o día siete. Condiciones de impregnación por vacío: temperatura= 22°C; presión de vacío= 67,7 mbar; tiempo de vacío= 14 min; tiempo de relajación= 7,5min

Si analizamos las diferencias entre los días de almacenamiento encontramos que existe diferencia significativa para el tratamiento M₀ ($p \leq 0,05$). Se generó un incremento de los sólidos solubles después de los siete días, respecto al día cero (Tabla 4.4). Por el contrario, los tratamientos M_{0,5} y M₁ no fueron afectados por el tiempo de almacenamiento a 1,5°C. En ese sentido, Rößle et al. (2011) reportaron que manzanas *Granny Smith* frescas cortadas sometidas a impregnación por vacío con una solución osmótica de miel a 50°Brix con una presión de vacío de 700 mbar y 10 min para cada tiempo (tiempo de vacío y relajación), se produjo un incremento de los SS de aproximadamente 50-70% inmediatamente después de la impregnación y este se mantuvo estable después de los siete días de almacenamiento. Ellos encontraron buena adherencia de la solución osmótica de

miel en la fruta fresca cortada, lo cual permitió que los valores de SS permanezcan estables durante el tiempo de almacenamiento. En la presente tesis se encontraron resultados similares con los tratamientos $M_{0,5}$ y M_1 .

En lo referente al pH, ΔpH_0 y ΔpH_7 resultaron afectados por la solución osmótica ($p \leq 0,05$). No se presentaron cambios en el pH como consecuencia de la aplicación del tratamiento M_0 . Sin embargo, los tratamientos $M_{0,5}$ y M_1 generaron disminución de los valores de pH, debido a la adición de AA y AC en las soluciones osmóticas (Tabla 4.23). Faicán et al. (2018) encontraron resultados similares en manzanas *Granny Smith* tratadas por impregnación por vacío, variando la presión de vacío y el tiempo de tratamiento (presión= 67,7 y 667,3 mbar, $t_v/t_r = 3$ min; $t_v/t_r = 10$ min), con una solución osmótica de sacarosa de 30° Brix con adición del 1% de AA y 1% de AC. Valores negativos obtenidos para ΔpH indican reducción del pH para las frutas tratadas.

Cuando las frutas fueron tratadas con M_0 , no se presentaron diferencias significativas ($p \geq 0,05$) para el pH entre el día cero y siete. Sin embargo, cuando se aplicaron los tratamientos $M_{0,5}$ y M_1 , al día siete el pH fue 1,5 veces más alto en comparación con la disminución generada al día cero. De acuerdo con esto, Cortez-Latorre *et al.*, (2021), quienes reportaron una disminución de pH, en los dos casos, al día cero y siete (7,72 y 5,13% respectivamente) para manzanas frescas cortadas con una solución osmótica de sacarosa más adición del 1% de AA y 1% de AC, bajo las mismas condiciones de presión y tiempo que la presente tesis.

En cuanto a la firmeza, las manzanas frescas cortadas sin tratamiento presentaron una fuerza máxima de $13,1 \text{ N} \pm 2,501$. La Tabla 4.24 muestra el resumen de ANOVA correspondiente a la evaluación de la influencia de la solución osmótica (SO) y el tiempo de almacenamiento (t) sobre la variación relativa porcentual de la firmeza (ΔF) de manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío. La solución osmótica tuvo influencia significativa

($p \leq 0,05$) sobre ΔF y el tiempo de almacenamiento generó una influencia altamente significativa ($p \leq 0,001$). La interacción entre SOxt no tuvo influencia significativa sobre el parámetro estudiado ($p \geq 0,05$).

Tabla 4.24: Influencia de la solución osmótica y el tiempo de almacenamiento (t) sobre la variación relativa porcentual de la firmeza (ΔF) en manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío.

| Fuente de variación | F-calculados | |
|------------------------|--------------|----------------|
| | GL | ΔF (%) |
| Solución osmótica (SO) | 2 | 5,73 * |
| Almacenamiento (t) | 1 | 167,55*** |
| SOxt | 2 | 0,35 ns |
| Error | 78 | |

GL: grados de libertad, ns: no significativo ($p \geq 0,05$), ***: significativo a ($p \leq 0,001$), **: significativo a ($p \leq 0,01$), *: significativo a ($p \leq 0,05$).

La Tabla 4.25 muestra la variación relativa porcentual de la fruta impregnada al día cero y después de 7 días de almacenamiento a 1,5 °C. La variación porcentual de la firmeza no fue afectada por la solución osmótica ($p \geq 0,05$) en el día cero, en ese caso, la variación relativa porcentual promedio fue de -11,4% (Tabla 4.25). Por otra parte, la firmeza después de los 7 días de almacenamiento resultó afectada por la solución osmótica empleada en el proceso de impregnación ($p \leq 0,05$). Los tratamientos M_0 y $M_{0,5}$ generaron reducción de la firmeza en manzanas frescas cortadas en mayor proporción que aquellas impregnadas con el tratamiento M_1 .

Tabla 4.25: Variación relativa porcentual para firmeza (ΔF_i) al día cero y después de siete días de almacenamiento a 1,5°C, para manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío

| SO | $\Delta\%F_0$ | $\Delta\%F_7$ |
|------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| M ₀ | -12,0 ^A _a | -67,4 ^B _b |
| M _{0,5} | -8,1 ^A _a | -67,0 ^B _b |
| M ₁ | -14,0 ^A _a | -59,0 ^A _b |

Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos y letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre días de análisis, determinadas por el test de Tukey ($p < 0.05$). Soluciones osmóticas (SO): **M₀**= Solución de miel a 30°Brix (SM), **M_{0,5}**= SM + 0,5% de ácido cítrico + 0,5% de ácido ascórbico, **M₁**= SM+ 1% de ácido cítrico + 1% de ácido ascórbico. i= día cero o día siete. Condiciones de impregnación por vacío: temperatura= 22°C; presión de vacío= 67,7 mbar; tiempo de vacío= 14 min; tiempo de relajación= 7,5min

Las pérdidas de firmeza al día siete fueron mayores que el día cero, estos resultados están de acuerdo con aquellos obtenidos por Rößle et al. (2011), quienes reportaron pérdidas de firmeza de alrededor de 20% al día cero, siendo mayores al día 7 (aproximadamente 25%), en manzanas *Granny Smith* impregnadas por vacío ($t_v = 10$ min y $P = 700$ mbar) con una solución osmótica de miel. Este comportamiento puede ser atribuido a las condiciones de tiempo de vacío y concentración de la solución osmótica. Rößle et al. (2011) reportaron que manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío con jarabe de maíz de alta fructosa con una concentración del 50% generó disminuciones significativas en la firmeza; mientras que soluciones osmóticas con baja concentración (20%) evitaron esta situación. Zhao y Xie, 2004, sugieren que el uso de soluciones hipertónicas puede reducir la firmeza debido a la rotura de los enlaces entre las células y el tejido, ya que estas se encogen como consecuencia de la salida de agua. Por lo tanto, la selección de las soluciones de impregnación depende del propósito del tratamiento osmótico, es decir, del tipo de producto terminado, porque el tipo de OS afecta significativamente la transferencia de masa durante el proceso de impregnación al vacío, y puede ocurrir deformación y contracción del producto.

Andrés-Bello et al. (2013) estudiaron el efecto de la acidificación (pH= 6,2; 4,4 y 3,9) seguido de escaldado, sobre la firmeza del tejido de zanahoria. EL escaldado a pH 6,2 generó reducción de la firmeza ($\approx 70\%$), y la acidificación como consecuencia del escaldado a pH 4,4 incrementó la firmeza ($\approx 50\%$). Sin embargo, el escaldado y la acidificación del tejido a pH 3,9 redujo la firmeza en la misma proporción que aquella obtenida usando un pH= 6,2. La degradación de la firmeza en tejido de la zanahoria durante el tratamiento térmico ocurre por dos diferentes mecanismos, uno, a pH neutro y otro a pH 3,9, ya que la degradación fue mucho más baja a un pH intermedio. Estos resultados están de acuerdo con aquellos obtenidos en la presente tesis, en efecto, la reducción del pH puede ser una de las causas de la pérdida de firmeza, ya que los valores de pH obtenidos tras el proceso de impregnación al vacío fueron inferiores a 3,4. Todos los tratamientos redujeron la firmeza, siendo la reducción mayor a los siete días. Estas reducciones incluyen valores de pH de 3,2 y 3,1.

Se obtuvieron diferencias significativas para la firmeza entre los días cero y siete ($p \leq 0.05$). La variación relativa porcentual de la firmeza en el día 7 fue aproximadamente seis a cinco veces más alta que el día cero (Tabla 4.25). La degradación de la textura en el tejido de los mínimamente procesados puede ocurrir como una respuesta al daño inducido, aumenta la producción de enzimas que se dirigen a las paredes celulares y membranas, como respuesta a la lesión (Huber et al. 2001). Estos investigadores encontraron que la firmeza de papaya mínimamente procesada, disminuyó de manera significativa, más rápida y extensivamente que el tejido de fruta intacta almacenada bajo las mismas condiciones. En la presente tesis el procesamiento y almacenamiento de manzanas frescas cortadas, impregnadas por vacío generó degradación del tejido, tal como lo indica Huber et al. (2001).

En lo referente a los parámetros de color, para manzanas frescas cortadas, antes del tratamiento de impregnación por vacío fueron $71,5 \pm 1,75$; $-2,5 \pm 0,65$; $22,9 \pm 2,73$; $95,6 \pm 2,62$ y $23,4 \pm 2,71$, para L^* , a^* , b^* , h_{ab} and C^*_{ab} , respectivamente. La Tabla 4.26 presenta el

resumen de ANOVA correspondiente a la evaluación de la influencia de la solución osmótica (SO) y el tiempo de almacenamiento (t) sobre los parámetros de color (L^* , C^*_{ab} y h_{ab}) de manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío. La solución osmótica, el tiempo de almacenamiento y la interacción SOxt tuvieron fuerte influencia significativa sobre los parámetros L^* y h_{ab} ($p \leq 0,001$). Por su parte, el parámetro C^*_{ab} , no resultó influenciado por ninguno de los factores evaluados ($p \geq 0,05$).

Tabla 4.26: Influencia de la solución osmótica y el tiempo de almacenamiento (t) sobre la variación relativa porcentual de los parámetros de color (L^* , C^*_{ab} y h_{ab}) en manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío.

| Fuente de variación | GL | F-calculados | | |
|------------------------|-----|------------------|---------------------|-----------------------|
| | | $\Delta L^*(\%)$ | $\Delta h_{ab}(\%)$ | $\Delta C^*_{ab}(\%)$ |
| Solución osmótica (SO) | 2 | 50,56 *** | 202,63*** | 0,45 ns |
| Almacenamiento (t) | 1 | 272,43*** | 53,68*** | 0,05 ns |
| SOxt | 2 | 26,60*** | 31,38*** | 1,98 ns |
| Error | 146 | | | |

GL: grados de libertad, ns: no significativo ($p \geq 0,05$), ***: significativo a ($p \leq 0,001$), **: significativo a ($p \leq 0,01$), *: significativo a ($p \leq 0,05$).

Valores negativos para la variación relativa porcentual de L^* indican reducción de este parámetro con respecto a las manzanas frescas cortadas (es decir, oscurecimiento de la muestra). Valores positivos y negativos en la variación relativa porcentual de h_{ab} indican que el ángulo de tono de las frutas impregnadas por vacío fueron más amarillas o más rojas que la fruta fresca cortada, respectivamente. Valores positivos para la variación porcentual de C^*_{ab} muestra que la cromaticidad de las frutas impregnadas fue más vívida o más apagada en comparación con la fruta fresca cortada, respectivamente (Tabla 4.27)

Tabla 4.27: Variación relativa porcentual para los parámetros de color (L^* , h_{ab} y C^*_{ab}) para manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío en el día cero y después de 7 días de almacenamiento a 1,5°C

| SO | ΔL^*_i (%) | | Δh_{abi} (%) | | ΔC^*_{abi} (%) | |
|------------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | 0 | 7 | 0 | 7 | 0 | 7 |
| M ₀ | -4,7 ^A _a | -22,0 ^A _b | -1,4 ^A _a | -5,8 ^A _b | 0,2 ^A _a | -0,3 ^A _b |
| M _{0,5} | -2,0 ^B _a | -17,0 ^B _b | 1,7 ^B _a | 1,0 ^B _b | 4,2 ^A _a | -0,6 ^A _b |
| M ₁ | -2,0 ^B _a | -7,0 ^C _b | 1,7 ^B _a | 1,4 ^B _b | -2,1 ^A _a | 2,1 ^A _b |

Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos y letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre días de análisis, determinadas por el test de Tukey ($p < 0.05$). Soluciones osmóticas (SO): **M₀**= Solución de miel a 30°Brix (SM), **M_{0,5}**= SM + 0,5% de ácido cítrico + 0,5% de ácido ascórbico, **M₁**= SM+ 1% de ácido cítrico + 1% de ácido ascórbico. *i*= día cero o día siete. Condiciones de impregnación por vacío: temperatura= 22°C; presión de vacío= 67,7 mbar; tiempo de vacío= 14 min; tiempo de relajación= 7,5min

En el día cero, los cambios en ΔL^*_{0} y Δh_{ab0} resultaron en función de las soluciones osmóticas empleadas en la impregnación ($p \leq 0.05$). Sin embargo, los cambios en ΔC^*_{ab0} no se vieron afectados por la SO ($p \geq 0.05$). La ΔL^*_{0} fue siempre negativa, lo que significa que las manzanas tratadas por IV fueron más oscuras que las muestras sin tratar, probablemente debido al color de la miel. Los menores cambios en ΔL^*_{0} ocurrieron con los tratamientos M_{0,5} y M₁, los cuales contenían ácido cítrico y ácido ascórbico. El valor negativo para Δh_{ab} con el tratamiento M₀ indica que las manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío fueron más rojas que las manzanas sin tratar. La ΔC^*_{ab0} no fue afectado de manera significativa por la solución osmótica ($p \geq 0.05$), resultando en un valor promedio de 0,8 %.

Después de los siete días de almacenamiento, los cambios en los parámetros ΔL^*_{7} y Δh_{ab7} fueron afectados por la SO usada en la impregnación por vacío ($p \leq 0.05$), pero ΔC^*_{ab7} no fue afectada por la SO, se obtuvo un valor promedio de 0,4% (pequeños cambios respecto a la fruta fresca cortada). Como se esperaba, los cambios mínimos en ΔL^*_{7} se generaron con el tratamiento M₁ debido al uso de una solución antioxidante. Al comparar

los cambios de color (ΔL^* , Δh_{ab} , and ΔC^*_{ab}), para un mismo tratamiento, entre días, se presentaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$). Los resultados obtenidos en la presente tesis están de acuerdo con el comportamiento reportado por Jeon y Zhao (2005), quienes observaron que el uso de miel oscura generaba reducción de los valores de L^* . Este es un potencial problema en frutas de color claro como las manzanas ya que las frutas toman un color similar a la miel. Chen et al. 2000 estudiaron la inhibición del pardeamiento en manzanas *Red Delicious* trituradas con adición del 1% de miel y 0,1% de ácido ascórbico, observaron que la inhibición del pardeamiento por adición de ácidos fue 3 veces mayor en comparación con aquellas muestras en las que únicamente se adicionó miel.

En cuanto a la diferencia total de color (ΔE^*_i), la Tabla 4.28. muestra el resumen de ANOVA correspondiente a la evaluación de la influencia de la solución osmótica (SO) y el tiempo de almacenamiento (t) sobre la diferencia total de color de manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío. La solución osmótica, el tiempo de almacenamiento y la interacción SOxtv mostraron alta influencia significativa ($p \leq 0,001$) sobre el atributo evaluado.

Tabla 4.28: Influencia de la solución osmótica y el tiempo de almacenamiento (t) sobre la diferencia total de color (ΔE^*) en manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío.

| Fuente de variación | F-calculados | |
|------------------------|--------------|--------------|
| | GL | ΔE^* |
| Solución osmótica (SO) | 2 | 48,09*** |
| Almacenamiento (t) | 1 | 219,74*** |
| SOxt | 2 | 29,16*** |
| Error | 143 | |

GL: grados de libertad, ns: no significativo ($p \geq 0,05$), ***: significativo a ($p \leq 0,001$), **: significativo a ($p \leq 0,01$), *: significativo a ($p \leq 0,05$).

La Tabla 4.29 muestra los resultados obtenidos para la diferencia total de color de las manzanas impregnadas por vacío, en el día de procesamiento y luego de siete días de almacenamiento.

Tabla 4.29: Diferencia total de color (ΔE^*_{abi}) para manzanas frescas cortadas sometidas a Impregnación por vacío, al día cero y después de siete días de almacenamiento a 1,5°C

| SO | ΔE^*_{ab0} | ΔE^*_{ab7} |
|------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| M ₀ | 4,7 ^A _a | 16,3 ^A _b |
| M _{0,5} | 3,1 ^B _a | 12,3 ^B _b |
| M ₁ | 3,3 ^B _a | 5,6 ^C _b |

Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos y letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre días de análisis, determinadas por el test de Tukey ($p < 0.05$). Soluciones osmóticas (SO): **M₀**= Solución de miel a 30°Brix (SM), **M_{0,5}**= SM + 0,5% de ácido cítrico + 0,5% de ácido ascórbico, **M₁**= SM+ 1% de ácido cítrico + 1% de ácido ascórbico. i= día cero o día siete. Condiciones de impregnación por vacío: temperatura= 22°C; presión de vacío= 67,7 mbar; tiempo de vacío= 14 min; tiempo de relajación= 7,5min

La diferencia total de color resultó función de la solución osmótica en el día cero (ΔE^*_{ab0}) y en el día siete (ΔE^*_{ab7}) ($p \leq 0.05$). Se generó una diferencia de color perceptible entre las manzanas tratadas con M₀ y las no tratadas; mientras que se obtuvo una diferencia algo perceptible al aplicar los tratamientos M_{0,5} y M₁. Después de los 7 días de almacenamiento, los valores de ΔE^*_{ab7} mostraron una fuerte diferencia para los tratamientos M₀ y M_{0,5}, pero solamente una diferencia perceptible de color con para el tratamiento M₁, el cual tenía el mayor contenido de ácido ascórbico y cítrico (Figura 4.2). En ese sentido, es bien conocido que el uso de compuestos antioxidantes mantiene los atributos visuales, previniendo la decoloración como consecuencia del pardeamiento enzimático (Betoret et al. 2015; Rodríguez-Arzuaga y Piagentini, 2018).

| | FF | M ₀ | M _{0.5} | M ₁ |
|--------------|--|--|---|---|
| Día 0 |  L*=71.5 h _{ab} = 96 C* _{ab} =22.7 |  L*=68.8 h _{ab} =92.9 C* _{ab} = 25.2 ΔE*= 4.7 |  L*=69.7 h _{ab} = 98.4 C* _{ab} =22.4 ΔE*= 3.1 |  L*=69.7 h _{ab} = 98.4 C* _{ab} =21 ΔE*=3.3 |
| Día 7 | |  L*=56.3 h _{ab} = 88.6 C* _{ab} = 25 ΔE*=16.3 |  L*=59 h _{ab} = 97.8 C* _{ab} = 21.3 ΔE*=12.3 |  L*=66.3 h _{ab} = 98.2 C* _{ab} =22 ΔE*=5.6 |

Figura 4.3: Manzanas frescas cortadas sin tratar (FF) y manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío (Presión de vacío= 67,7 mbar; tiempo de vacío=14 min; tiempo de relajación= 7,5 min, Temperatura= 22°C) con diferentes soluciones osmóticas M₀= Solución de miel a 30°Brix (SM), M_{0,5}= SM + 0,5% de ácido cítrico + 0,5% de ácido ascórbico, M₁= SM+ 1% de ácido cítrico + 1% de ácido ascórbico, en el día cero y después de siete días de almacenamiento a 1,5 °C.

El contenido de vitamina C para manzanas frescas cortadas sin aplicación de tratamientos de impregnación por vacío fue $30,2 \pm 0,12 \text{ mg Kg}^{-1}$. La Tabla 4.30. muestra el resumen de ANOVA correspondiente a la evaluación de la influencia de la solución osmótica (SO) y el tiempo de almacenamiento (t) sobre la variación relativa porcentual de ácido ascórbico total (ΔAAT), contenido de fenoles totales (ΔCFT) y capacidad antioxidante (ΔCA) de manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío. En cuanto a la variación porcentual de AAT se obtuvo alta influencia significativa por parte de SO ($p \leq 0,001$), el tiempo de

almacenamiento también generó influencia significativa sobre AAT ($p \leq 0,01$), mientras que la interacción SOxtv no afectó a esta respuesta.

En cuanto a la variación porcentual del contenido de fenoles totales, este fue afectado de forma significativa por la SO ($p \leq 0,01$), el tiempo de almacenamiento tuvo alta influencia significativa sobre ΔCFT ($p \leq 0,0001$), mientras que la interacción SOxtv también tuvo influencia significativa sobre ΔCFT ($p \leq 0,05$).

Por su parte la variación porcentual de la capacidad antioxidante fue altamente influenciada por la SO y el tiempo de almacenamiento ($p \leq 0,001$), de igual manera, la interacción SOxt tuvo influencia significativa sobre dicha respuesta ($p \leq 0,05$).

Tabla 4.30: Influencia de la solución osmótica (SO) y el tiempo de almacenamiento (t) sobre la variación relativa porcentual de ácido ascórbico total (ΔAAT), contenido de fenoles totales (ΔCFT) y capacidad antioxidante (ΔCA) en manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío.

| Fuente de variación | GL | F-calculados | | |
|------------------------|----|------------------|------------------|-----------------|
| | | $\Delta AAT(\%)$ | $\Delta CFT(\%)$ | $\Delta CA(\%)$ |
| Solución osmótica (SO) | 2 | 258,21 *** | 23,11 ** | 151,57*** |
| Almacenamiento (t) | 1 | 12,07** | 38,69*** | 112,11*** |
| SOxt | 2 | 2,71 ns | 8,27* | 21,56* |
| Error | 6 | | | |

GL: grados de libertad, ns: no significativo ($p \geq 0,05$), ***: significativo a ($p \leq 0,001$), **: significativo a ($p \leq 0,01$), *: significativo a ($p \leq 0,05$).

La variación relativa porcentual del contenido de ácido ascórbico total (ΔAAT_i) en el día cero fue afectado de manera significativa por la SO ($p \leq 0.05$). Todos los tratamientos incrementaron el contenido de vitamina C con respecto a la fruta fresca cortada en el día cero. El tratamiento M_1 produjo un gran incremento en el contenido de ácido ascórbico total, 31 veces más en la fruta fresca cortada debido a la presencia de ácido ascórbico en la solución. El tratamiento M_0 produjo un incremento del contenido de vitamina C debido a la presencia de vitamina C.

Tabla 4.31: Variación relativa porcentual del contenido de ácido ascórbico total (ΔAAT_i), contenido de fenoles totales (ΔCFT_i) y capacidad antioxidante (ΔCA_i) para manzanas frescas cortadas sometidas a impregnación por vacío en el día 0 y después de 7 días de almacenamiento a $1,5^\circ\text{C}$.

| OS | ΔAAT_0 (%) | ΔAAT_7 (%) | ΔCFT_0 (%) | ΔCFT_7 (%) | ΔCA_0 (%) | ΔCA_7 (%) |
|-----------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| M_0 | 26,8 ^C _a | -24,8 ^C _b | 16,8 ^A _a | -18,9 ^C _b | 15,2 ^B _a | 22,8 ^B _a |
| $M_{0,5}$ | 1207 ^B _a | 893 ^B _b | 13,7 ^A _a | 0,8 ^B _a | 34,0 ^B _a | 103,3 ^A _b |
| M_1 | 3015 ^A _a | 2306 ^A _b | 27,3 ^A _a | 19,8 ^A _a | 78,0 ^A _a | 124,3 ^A _b |

Letras mayúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos y letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre días de análisis, determinadas por el test de Tukey ($p < 0.05$). Soluciones osmóticas (SO): M_0 = Solución de miel a 30°Brix (SM), $M_{0,5}$ = SM + 0,5% de ácido cítrico + 0,5% de ácido ascórbico, M_1 = SM+ 1% de ácido cítrico + 1% de ácido ascórbico. i= día cero o día siete. Condiciones de impregnación por vacío: temperatura= 22°C ; presión de vacío= 67,7 mbar; tiempo de vacío= 14 min; tiempo de relajación= 7,5min

Cortez-Latorre et al. (2021) estudiaron el efecto de las variables del proceso de impregnación por vacío sobre diferentes aspectos de calidad de frutas frescas cortadas impregnadas por vacío con SO de sacarosa con adición de 1% AA y 1% de AC (PV= 67,7 mbar). Los autores determinaron un alto incremento (alrededor 5600%) en el contenido de ácido ascórbico total de la fruta tratada con respecto a la fruta fresca cortada aplicando el mismo tiempo de vacío y tiempo de relajación que en la presente tesis. El contenido de

ácido ascórbico total se redujo en todas las muestras durante el almacenamiento (Tabla 4.31). Sin embargo, el contenido de ácido ascórbico total para $M_{0,5}$ y M_1 se mantuvo más alto que las manzanas frescas sin tratar al final del almacenamiento. Rodríguez-Arzuaga et al. (2021) reportaron que el contenido de vitamina C (197 mg kg^{-1}) de manzanas *Granny Smith* tratadas por inmersión (3 min) en una solución con 1,2% de yerba mate + 0,9% AC + 1% de AA a presión atmosférica incrementó en el día 1 y después bajó hasta aproximadamente 50 mg kg^{-1} después de 10 días, permaneciendo constante hasta el fin del almacenamiento 2°C por 18 días y 10°C por 15 días. De igual manera, Cortez-Latorre et al. (2021) determinaron que las manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío bajo las mismas condiciones de presión que en la presente tesis, con una solución osmótica de sacarosa (30°Brix) con adición del 1% de ácido ascórbico y 1% ácido cítrico con tiempos de vacío y relajación de 1 a 14 min, manteniendo altos valores de vitamina C ($188\text{-}606 \text{ mg kg}^{-1}$) al final de los 7 días de almacenamiento a $1,5^\circ\text{C}$.

El contenido de fenoles totales para manzanas frescas cortadas fue de $404.0 \pm 5.3 \text{ mg GAE Kg}^{-1}$. No se presentó efecto significativo de la solución osmótica sobre ΔCFT_0 ($p \geq 0.05$). Sin embargo, todas las muestras impregnadas por vacío incrementaron el contenido de fenoles totales con respecto a la fruta fresca cortada en el día cero (Tabla 4.31). Por otro lado, ΔCFT_7 fue afectada por la solución osmótica ($p \leq 0.05$), el tratamiento M_0 generó pérdida en el contenido de fenoles totales (aproximadamente 19%). El tratamiento $M_{0,5}$ mantuvo el contenido de compuestos fenólicos similar a las manzanas frescas cortadas y M_1 mantuvo el contenido de fenoles por encima (alrededor del 20%).

Oszmianski y Lee (1990) sugieren que la miel no solamente inhibe la oxidación enzimática de polifenoles sino también convierte parte de las o-quinonas a sus fenoles originales (Robards et al. 1999), y esta puede ser la razón del incremento de compuestos fenólicos en las muestras después de la aplicación de los tratamientos de impregnación por vacío en la presente tesis. Nawirska-Olszańska et al. (2020) también evaluaron la aplicación de la tecnología de impregnación por vacío empleando jugo de manzana y pera como

solución osmótica para la impregnación de chokeberry, como un tratamiento previo al proceso de secado, y determinaron un incremento en el contenido de compuestos fenólicos (46,3 -63,9%) después del proceso de impregnación por vacío, el contenido de compuestos fenólicos incrementó mostrando un comportamiento similar.

Por otra parte, el contenido de fenoles disminuyó al trabajar con el tratamiento M_0 , sin adición de AA y AC, después del almacenamiento. En ese sentido, Murata et al. (1995) encontraron que la disminución en la concentración de polifenoles debido al pardeamiento se correlaciona con el grado de pardeamiento enzimático. Algo similar ocurre en la presente tesis, en donde las manzanas tratadas con M_0 mostraron un alto cambio en el color después de los 7 días de almacenamiento, mostrando un pardeamiento pronunciado, generado por la disminución en el contenido de compuestos fenólicos. Como otros factores, el pH también juega un papel importante en el amarronamiento de frutas y vegetales. La actividad de la enzima polifenoloxidasa se inhibe en la presencia de ácidos (Singh et al. 2018). Esta situación podría explicar las diferencias significativas en el contenido de fenoles totales entre los días 0 y 7 ($p \leq 0,05$) para el tratamiento M_0 , con incremento en el contenido de compuestos fenólicos en el día cero debido a la presencia de miel y a las pérdidas por degradación enzimática en el día 7.

La capacidad antioxidante para frutas frescas cortadas fue de $1121,8 \pm 10,03$ mg AA Kg⁻¹. Como se muestra en la Tabla 4.31, la variación relativa porcentual de la capacidad antioxidante (ΔCA_i) fue influenciada por la solución osmótica ($p \leq 0,05$). En el día cero, el tratamiento M_1 generó el mayor incremento de ΔCA_0 . En el día siete, $M_{0,5}$ y M_1 generaron incrementos similares, los cuales fueron mayores con M_0 . Similares resultados se obtuvieron en el día 7, con incremento de la capacidad antioxidante generada por M_1 y $M_{0,5}$ que fue aproximadamente dos veces más alta que las manzanas frescas cortadas.

Santarelli et al. (2020) evaluaron el efecto de pretratamientos de IV con una solución osmótica de jugo de limón y ácido cítrico sobre el proceso de congelación y el almacenamiento posterior, en el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante de

manzanas Ellos encontraron que la impregnación por vacío afecta de forma significativa la capacidad antioxidante de la manzana, generando incrementos de 10-13%; este resultado se atribuye a la captación del jugo de limón y sus compuestos antioxidantes (ej. flavonoides, ácido cítrico). Algo similar ocurre en la presente tesis en donde se obtuvo un incremento de la actividad antioxidante (15-23%) en M_0 , debido a los componentes bioactivos presentes en la miel, mientras que se produjeron mayores incrementos en la actividad antioxidante con $M_{0,5}$ y M_1 , los cuales están relacionados con la incorporación de ácido cítrico y ascórbico presentes en la solución circundante.

Diferencias significativas en la variación de la actividad antioxidante se observaron entre los días cero y siete para los tratamientos $M_{0,5}$ y M_1 ($p \leq 0.05$). En el día siete, la variación porcentual de la actividad antioxidante se incrementó 3 y 1,6 veces en las muestras tratadas con $M_{0,5}$ y M_1 , respectivamente, con respecto al día cero. Rodríguez-Arzuaga et al. (2021) estudiaron la inmersión de manzana *Granny Smith* frescas cortadas en una solución que contenía 1,2 % de yerba mate y 0,9% de ácido cítrico y 1% de ácido ascórbico a presión atmosférica y reportaron un incremento de actividad antioxidante durante los dos primeros días a 2°C. La actividad antioxidante se mantuvo estable y los valores fueron más altos en relación a las muestras sin inmersión en la solución antioxidante hasta los 7 días. Del mismo modo, en la presente tesis, la capacidad antioxidante incrementó cuando usamos soluciones osmóticas con adición de ácido cítrico y ácido ascórbico, después de 7 días de almacenamiento a 1,5°C.

El uso de la IV con diferentes soluciones osmóticas afectó la calidad final de manzanas frescas cortadas. El tratamiento más adecuado fue M_1 (solución osmótica de miel a 30° Brix, con adición de 1% de ácido ascórbico más 1% de ácido cítrico), el cual mostró incrementos significativos en el contenido de vitamina C, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante. En cuanto a otros atributos de calidad, se generó un ligero incremento en el contenido de sólidos solubles, una pequeña reducción de la firmeza y una diferencia de color bastante

perceptible. Después de los 7 días de almacenamiento, se registró una pérdida adicional de firmeza, manteniéndose o mejorando otros atributos. El tratamiento M₁ fue la alternativa más apropiada para el procesamiento de manzanas frescas cortadas con mejora en el potencial saludable.

5. CONCLUSIONES

En cuanto a la evaluación de la factibilidad de aplicación del proceso de impregnación por vacío para recuperar antocianinas perdidas durante las operaciones previas en el proceso de preparación de frutilla mínimamente procesadas, se concluye que:

- La tecnología de impregnación por vacío permitió incorporar antocianinas a las frutillas frescas cortadas, las que podrían haberse perdido durante las operaciones previas de lavado desinfección y corte; mejorando de esa manera el potencial bioactivo del producto mínimamente procesado.

A partir de los resultados obtenidos en la etapa mencionada precedentemente, se procedió a estudiar a la tecnología de impregnación por vacío en frutillas mínimamente procesadas con distintas soluciones osmóticas de sacarosa y jugo natural de frutilla (JF) a distintos tiempos de vacío evaluando de los cambios en el contenido de antocianinas totales, sólidos solubles, pH y los parámetros de transferencia de masa. De todo ello se concluye que:

- La solución osmótica y el tiempo de vacío empleados en el proceso de impregnación resultaron importantes ya que pueden generar cambios beneficiosos o desfavorables sobre el contenido de antocianinas y otros atributos de calidad de frutillas.
- El tratamiento JF con 7,5min de vacío y 7,5 min de tiempo de relajación con presión de vacío de 67.7 mbar permitió incorporar 11% de antocianinas.
- Estas condiciones de proceso, generaron incremento en las antocianinas principales, un sustancial incremento del contenido de vitamina C y capacidad antioxidante.
- Los cambios en sólidos solubles y pH luego del procesamiento fueron mínimos-
- Después del almacenamiento se mantuvieron los incrementos en el contenido de antocianinas totales, vitamina C, fenoles totales y capacidad antioxidante.

- El trabajo realizado es una base para posteriores estudios sobre la influencia del tiempo de vacío y tiempo de relajación sobre la posibilidad de recuperación de antocianinas con JF, sin afectar las características de las frutillas frescas cortadas.

En lo referente al estudio del proceso de impregnación por vacío en manzanas mínimamente procesadas con solución osmótica de miel variando la concentración de ácido ascórbico y cítrico determinando los cambios en contenido de vitamina C, sólidos solubles, pH, parámetros de IV, parámetros de color y firmeza, se concluye que:

- Las diferentes soluciones usadas en la IV afectaron la calidad final de manzanas frescas cortadas, generando diferentes cambios
- Las soluciones con adición de ácidos ($M_{0,5}$ y M_1) produjeron disminución de pH y ayudaron a mantener de mejor manera el color de las frutas tratadas, en el día de aplicación del tratamiento y después del almacenamiento.
- La solución osmótica M_1 (SO de miel 30 °Brix + 1% AC + 1% AA) permitió obtener un producto con los mejores atributos de calidad, en el día cero y siete, con un mínimo cambio en el color y aumento de los sólidos solubles. Haciendo la fruta más dulce.
- M_1 produjo reducción leve de la firmeza al momento de la elaboración, sin embargo, fue la de menor impacto después del tiempo de almacenamiento.
- El tratamiento M_1 demostró ser una alternativa apropiada para el procesamiento de manzanas frescas cortadas con atributos potencialmente saludables mejorados ya que produjo un gran incremento en el contenido de vitamina C (31 veces más que la fruta fresca sin tratar).
- El incremento en el contenido de vitamina C se mantuvo después del tiempo de almacenamiento

Finalmente se puede concluir que en la presente tesis se efectuaron en la presente tesis demuestran la factibilidad de aplicación de la tecnología de impregnación por vacío sobre dos matrices frutales diferentes, y que deberán precisarse las mejores condiciones operativas para optimizar el proceso.

6.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Referencias bibliográficas

Ackermann, J., Fischer, M., & Amado, R. (1992). Changes in sugars, acids, and amino acids during ripening and storage of apples (cv. Glockenapfel). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(7), 1131-1134.

Afroz, R., Tanvir, E. M., Paul, S., Bhoumik, N. C., Gan, S. H., & Khalil, M. I. (2016). DNA damage inhibition properties of sundarban honey and its phenolic composition. *Journal of Food Biochemistry*, 40(4), 436-445.

Ali, A., Yeoh, W. K., Forney, C., & 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.

Andrés, A., Salvatori, D., Albors, A. Chiralt, A., & Fito, P. 2001. Vacuum impregnation viability of some fruits and vegetables. En: P. Fito, A. Chiralt, J. Barat, W. Spiess y D. Behnilian (Ed). *Osmotic dehydration and vacuum impregnation: Aplicacions in food industries* (pp. 66-77). Lancaster, Estados Unidos: Technomic Publishing Co

Andrés-Bello, A., Barreto-Palacios, V. I. V. I. A. N., García-Segovia, P., Mir-Bel, J., & Martínez-Monzó, J. (2013). Effect of pH on color and texture of food products. *Food Engineering Reviews*, 5(3), 158-170.

Ahvenainen, R. (1996). New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruit and vegetables. *Trends in Food Science & Technology*, 7(6), 179-187.

Alzamora, S. M., Gerschenson, L. N., les, S. L., & Nieto, A. (1997). Structural changes in the minimal processing of fruits: some effects of blanching and sugar impregnation. *Food Engineering*, 2000, 117-139

Artés, F., & Allende, A. (2005). Processing lines and alternative preservation techniques to prolong the shelf-life of minimally fresh processed leafy vegetables. *European Journal of Horticultural Science*, 70(5), 231.

Bellary, A. N., & Rastogi, N. K. (2012). Effect of hypotonic and hypertonic solutions on impregnation of curcuminoids in coconut slices. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 16, 33-40.

Blanda, G., Cerretani, L., Bendini, A., Cardinali, A., Scarpellini, A., & Lercker, G. (2008). Effect of vacuum impregnation on the phenolic content of Granny Smith and Stark Delicious frozen apple cvv. *European Food Research and Technology*, 226(5), 1229-1237.

Bauman, H., & J. Henze. (1983). Intercellular space volume of fruit. *Acta Horticulture* 138:107– 11.

Betoret, E., Betoret, N., Rocculi, P., & Dalla Rosa, M. (2015). Strategies to improve food functionality: Structure–property relationships on high pressures homogenization, vacuum impregnation and drying technologies. *Trends in Food Science & Technology*, 46(1), 1-12.

Bolin, H. R., Huxsoll, C. C., Jackson, R., & Ng, K. C. (1983). Effect of osmotic agents and concentration on fruit quality. *Journal of Food Science*, 48(1), 202-205.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28 (1), 25-30.

Boyer and Hai Liu. (2004). Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutrition Journal*, 3(1), 1-15.

Calbo, A. G., & Sommer, N. F. (1987). Intercellular volume and resistance to air flow of fruits and vegetables. *Journal of the American Society for Horticultural Science (USA)*, 112:131–134

Cienciosi, D., Forbes-Hernández, T. Y., Afrin, S., Gasparrini, M., Reboredo-Rodriguez, P., Manna, P. P., & Quiles, J. L. (2018). Phenolic compounds in honey and their associated health benefits: A review. *Molecules*, 23(9), 2322.

Chen, L., Mehta, A., Berenbaum, M., Zangerl, A. R., & Engeseth, N. J. (2000). Honeys from different floral sources as inhibitors of enzymatic browning in fruit and vegetable homogenates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10), 4997-5000.

Chiralt, A., Fito, P., Andrés, A., Barat, J. M., Martinez-Monzo, J., & Martínez-Navarrete, N. (1999). Vacuum impregnation: a tool in minimally processing of foods (pp. 341-356). *Boca Raton, FL: CRC Press*.

Cortez, J., Faican, M., Piagentini, A., Pirovani, M. (2018). Influencia del tiempo de vacío y relajación sobre el potencial saludable de manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío suave. Libro de actas del Congreso Latinoamericano de Ingeniería y Ciencias aplicadas

Cortez, J. D., Faicán, M. A., Pirovani, M. E., & Piagentini, A. M. (2018). Determinación de polifenoles en frutas con vitamina C incorporada: Metodología para mejorar la especificidad del ensayo de Folin-Ciocalteu. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 19(2).

Cortez-Latorre, J.D., Faicán, M., Pirovani, M. & Piagentini, A. (2021), Improving Fresh-cut Apple Quality and Healthy Potential Related Attributes Through Mild Vacuum Impregnation Process. *Journal of Food Processing and Preservation*. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15995>

Danasa, A.M. Perfil de mercados de manzana y pera. (2018). Dirección de Planeamiento y Análisis de Mercado. Ministerio de Agroindustria. Presidencia de la Nación. https://magyp.gob.ar/new/0-0/programas/dma/frutas/perfil_manzanas_peras.pdf

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*, 1-36.

Degraeve, P., Saurel, R., & Coutel, Y. (2003). Vacuum impregnation pretreatment with pectinmethylesterase to improve firmness of pasteurized fruits. *Journal of Food Science*, 68(2), 716-721.

Derossi, A., De Pilli, T., & Severini, C. (2010). Reduction in the pH of vegetables by vacuum impregnation: A study on pepper. *Journal of Food Engineering*, 99(1), 9-15.

Derossi, A., De Pilli, T., La Penna, M. P., & Severini, C. (2011). pH reduction and vegetable tissue structure changes of zucchini slices during pulsed vacuum acidification. *LWT-Food Science and Technology*, 44(9), 1901-1907.

Derossi, A., De Pilli, T., & Severini, C. (2013). Application of pulsed vacuum acidification for the pH reduction of mushrooms. *LWT-Food Science and Technology*, 54(2), 585-591.

Dinçer, C. (2021). Modeling of hibiscus anthocyanins transport to apple tissue during ultrasound-assisted vacuum impregnation. *Journal of Food Processing and Preservation*, e15886.

Dražeta, L. R. (2002). Structure, function and quality development in apples: a thesis presented in partial fulfilment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy in Plant Biology at Massey University, Palmerston North, New Zealand (Doctoral dissertation, Massey University).

Faicán, M., Cortez, J., Piagentini, A., Pirovani, M. (2017). Influencia del tiempo de vacío y relajación sobre la calidad de manzanas sometidas a impregnación por vacío suave. Publicado en CD del Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de alimentos.

Faicán, M., Cortez, J., Piagentini, A., & Pirovani, M. (2018). Impregnación por vacío: Impacto de las variables tecnológicas para la obtención de manzanas mínimamente procesadas. *Revista Iberoamericana de Postcosecha*.
<https://www.redalyc.org/journal/813/81357541007/81357541007.pdf>

Faicán, MA., Piagentini, A., & Pirovani, M. (2019). Efecto del tiempo de vacío y relajación sobre algunos aspectos de calidad de frutillas mínimamente procesadas impregnadas por vacío suave. *Libro de resúmenes del Congreso Argentino de Biología y Tecnología Postcosecha*. ISBN 978-987-1676-88-0

Faicán, M., Cortez, J., Piagentini, A., & Pirovani, M. (2018) Efecto del tiempo de vacío y relajación sobre la textura de manzanas mínimamente procesadas tratadas por Impregnación por vacío. *Libro de actas del Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos*.

Faicán, M.; Piagentini, A. M.; & Pirovani, M. E. (2018). Manzanas impregnadas por vacío suave: influencia de miel y adición de ácidos sobre algunos aspectos de calidad". 7º COSIMP Congreso de Ciencias Farmacéuticas del Mercosur y Simposio en Ciencia y Tecnología de Alimentos del Mercosur. Cascavel (Paraná, Brasil) ISSN 1983-3466.

FAOSTAT. (2017). Fao.org. Producción de fresa. Consultado en línea el 20 de noviembre del 2019, disponible en: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>

Fathy, S. M., & Drees, E. A. (2015). Protective effects of Egyptian cloudy apple juice and apple peel extract on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and inflammatory status in diabetic rat pancreas. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 8.

Ferreira, D., Kon, T., Kudo, T., & Guerra, M. (2010). Enzymatic browning, Polyphenol Oxidase Activity, and Polyphenols in Four Apple Cultivars: Dynamics during Fruit Development. *Hortscience*, 45, (8):1150–1154

Fito, P. (1994). Modelling of Vacuum Osmotic Dehydration of Food. *Journal of Food Engineering*, 22, 313-328.

Fito, P., & Pastor, R. (1994). Non-diffusional mechanisms occurring during vacuum osmotic dehydration. *Journal of Food Engineering*, 21(4), 513-519.

Fito, P., Andrés, A., Chiralt, A., & Pardo, P. (1996). Coupling of hydrodynamic mechanism and deformation-relaxation phenomena during vacuum treatments in solid porous food-liquid systems. *Journal of Food Engineering*, 27(3), 229-240.

Fito, P., Chiralt, A., Betoret, N., Gras, M., Cháfer, M., Martínez-Monzó, J., & Vidal, D. (2001). Vacuum impregnation and osmotic dehydration in matrix engineering: Application in functional fresh food development. *Journal of Food Engineering*, 49(2-3), 175-183.

Fito, P., Chiralt, A., Barat, J. M., Andrés, A., Martínez-Monzó, J., & Martínez-Navarrete, N. (2001). Vacuum impregnation for development of new dehydrated products. *Journal of Food Engineering*, 49(4), 297-302.

Fuleki, T., Pelayo, E., & Palabay, R. B. (1994). Sugar composition of varietal juices produced from fresh and stored apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(6), 1266-1275.

Francini, A., & Sebastiani, L. (2013). Phenolic compounds in apple (*Malus x domestica* Borkh.): compounds characterization and stability during postharvest and after processing. *Antioxidants*, 2(3), 181-193.

Gheldof, N., Wang, X. H., & Engeseth, N. J. (2002). Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 5870-5877.

Giampieri, F., Tulipani, S., Alvarez-Suarez, J. M., Quiles, J. L., Mezzetti, B., & Battino, M. (2012). The strawberry: composition, nutritional quality, and impact on human health. *Nutrition*, 28(1), 9-19.

Górnaś, P., Rudzińska, M., & Segliņa, D. (2014). Lipophilic composition of eleven apple seed oils: a promising source of unconventional oil from industry by-products. *Industrial Crops and Products*, 60, 86-91.

Gündüz, K. (2015). Strawberry: Phytochemical Composition of Strawberry (*Fragaria × ananassa*). En: Monique S.J. Simmonds, Victor R. Preedy (Ed). *Nutritional Composition of Fruit Cultivars* (pp. 733-750). United Kingdom: Academic Press

Guillemin, A., Degraeve, P., Noël, C., & Saurel, R. (2008). Influence of impregnation solution viscosity and osmolarity on solute uptake during vacuum impregnation of apple cubes (var. Granny Smith). *Journal of Food Engineering*, 86(4), 475-483.

Hironaka, K., Kikuchi, M., Koaze, H., Sato, T., Kojima, M., Yamamoto, K., & Tsuda, S. (2011). Ascorbic acid enrichment of whole potato tuber by vacuum-impregnation. *Food chemistry*, 127(3), 1114-1118.

Jin Heo, H., & 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>

Huber, D. J., Karakurt, Y., & Jeong, J. (2001). Pectin degradation in ripening and wounded fruits. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 13, 224-241.

Hyson, D. A. (2011). A comprehensive review of apples and apple components and their relationship to human health. *Advances in Nutrition*, 2(5), 408-420.

INTA. (2016). Producción mundial de manzanas y peras. Estación experimental Agropecuaria Alto valle. *Programa Nacional de Frutales*. Revisión noviembre del 2019. https://inta.gov.ar/sites/default/files/inta_produccion-mundial-de-manzanas-y-peras_0.pdf

Janick, J., & Moore, J. N. (Eds.). (1996). Fruit breeding, tree and tropical fruits (Vol. 1). *John Wiley & Sons*.

Jeon, M., & Zhao, Y. (2005). Honey in combination with vacuum impregnation to prevent enzymatic browning of fresh-cut apples. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 56(3), 165-176

Kirschbaum, D., & Pacheco, R. (2017). Panorama del cultivo de frutilla en Junio del 2017. Boletín de frutas y hortalizas . Convenio INTA-CMCBAN 61. https://www.researchgate.net/publication/318528141_Panorama_del_cultivo_de_Frutilla_en_junio_de_2017

Kręcis, M., Stępień, B., Paśławska, M., Popłoński, J., & Dulak, K. (2021). Physicochemical and quality properties of dried courgette slices: Impact of vacuum impregnation and drying methods. *Molecules*, 26(15), 4597.

Lana, M. M., Tijskens, L. M. M., & Van Kooten, O. (2005). Effects of storage temperature and fruit ripening on firmness of fresh cut tomatoes. *Postharvest Biology and Technology*, 35(1), 87-95.

Laura, A., Moreno-Escamilla, J. O., Rodrigo-García, J., & Alvarez-Parrilla, E. (2019). Phenolic compounds. *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables* (pp. 253-271). Woodhead Publishing.

Leneveu-Jenvrin, C., Charles, F., Barba, F. J., & Remize, F. (2019). Role of biological control agents and physical treatments in maintaining the quality of fresh and minimally-processed fruit and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-19.

Limbo, S., & Piergiovanni, L. 2006. Shelf life of minimally processed potatoes: Part 1. Effects of high oxygen partial pressures in combination with ascorbic and citric acids on enzymatic browning. *Postharvest Biology and Technology*, 39(3), 254-264.

Lin, D. S., Leonard, S. W., Lederer, C., Traber, M. G., & Zhao, Y. (2006). Retention of fortified vitamin E and sensory quality of fresh-cut pears by vacuum impregnation with honey. *Journal of Food Science*, 71(7), S553-S559.

Ma, L., Zhang, M., Bhandari, B., & Gao, Z. (2017). Recent developments in novel shelf life extension technologies of fresh-cut fruits and vegetables. *Trends in Food Science & Technology*, 64, 23-38.

Martinez-Monzo, J., Martinez-Navarrete, N., Chiralt, A., & Fito, P. (1998). Mechanical and structural change in apple (var. Granny Smith) due to vacuum impregnation with cryoprotectants. *Journal of Food Science*, 63, 499–503

Martinez., J. (2019). Argentina, tercer exportador mundial de miel, tuvo la peor cosecha en diez años. El Clarín. Recuperado de www.elclarin.com

Martin-Belloso, O., & Rojas-Grau, M. (2005). Factores que afectan la calidad. En: A. González, A. Gardea y F. CuameaNavarro. (Ed). *Nuevas tecnologías de Conservación de*

Productos vegetales frescos cortados (pp.77-91). México: Logiprint honey. *Journal of Food Science*, 71(7), S553-S559.

Moreno, J., Bugueño, G., Velasco, V., Petzold, G., & Tabilo-Munizaga, G. (2004). Osmotic dehydration and vacuum impregnation on physicochemical properties of Chilean papaya (*Carica candamarcensis*). *Journal of Food Science*, 69(3), FEP102-FEP106.

Moreno, J., Petzold, G., Pavez, C and Zúñiga, P. (2014). Strawberries: Antioxidant Properties, Health Benefits and Innovative Technologies 189. En: Nathan Malone (Ed). Strawberries cultivation, antioxidant properties and health benefits (pp.189-214). New York: Nova Science Publishers, Inc.

Mujica-Paz, H., Valdez-Fragoso, A., López-Malo, A., Palou, E., & Welti-Chanes, J. (2003). Impregnation and osmotic dehydration of some fruits: effect of the vacuum pressure and syrup concentration. *Journal of Food Engineering*, 57(4), 305-314.

Murata M, Tsurutani M, Tomita M, Homma S & Kaneko K. (1995). Relationship between apple ripening and browning: changes in polyphenol content and polyphenol oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(5), 1115-1121.

Nawirska-Olszańska A, Paśławska M, Stępień B, Oziembłowski M, Sala K & Smorowska A. (2020). Effect of vacuum impregnation with apple-pear juice on content of bioactive compounds and antioxidant activity of dried chokeberry fruit. *Foods*, 9(1), 108.

Oszmianski, J., & Lee, C. Y. (1990). Inhibition of polyphenol oxidase activity and browning by honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(10), 1892-1895.

Özoğlu, H., & Bayındırlı, A. (2002). Inhibition of enzymic browning in cloudy apple juice with selected antibrowning agents. *Food Control*, 13(4-5), 213-221.

Paes, S. S., Stringari, G. B., & Laurindo, J. B. (2007). Effect of vacuum and relaxation periods and solution concentration on the osmotic dehydration of apples. *International Journal of Food Science & Technology*, 42(4), 441-447.

Phenol Explorer. Database on polyphenol content in foods.(2009). Recuperado de: <http://phenol-explorer.eu/>)

Piagentini AM & Pirovani ME. (2017). Total phenolic content, antioxidant capacity, physicochemical attributes and browning susceptibility of different apple cultivars for minimal processing. *International Journal of Fruit Science* 1(17), 102-116. DOI: 10.1080/15538362.2016.1262304.

Pirovani, M. E., Güemes, D. R., Piagentini, A. M. (2003). Fresh-cut spinach quality as influenced by spin drying parameters. *Journal of Food Quality*, 26(3), 231-242.

Pirovani, M. E., Güemes, D. R., & Piagentini, A. M. (2006). Vegetales Frescos Cortados: Procesamiento y Calidad. *1ª Ed Colección Ciencia y Técnica*. Ediciones UNL. Santa Fe, Argentina. pp 94.

Pirovani, M. E., Piagentini, A. M., & Van de Velde, F. (2015). Bioactive compounds in fresh-cut fruits: Occurrence and impact of processing and cold storage. *Biotechnology of Bioactive Compounds: Sources and Applications*, 37-62.

Quintanilla, A., Mencía, A., Powers, J., Rasco, B., Tang, J., & Sablani, S. S. (2018). Vacuum impregnation of firming agents in red raspberries. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.

Radziejewska-Kubzdela, E., Biegańska-Marecik, R., & Kidoń, M. (2014). Applicability of vacuum impregnation to modify physico-chemical, sensory and nutritive characteristics of

plant origin products—a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(9), 16577-16610.

Renard C., & Thibault J. (1991). Composition and Physico-chemical properties of Apple fibres from fresh fruits and industrial products. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 24, 523-527

Robards, K., Prenzler, P. D., Tucker, G., Swatsitang, P., & Glover, W. (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66(4), 401-436.

Rößle, C., Brunton, N., Gormley, T. R., & Butler, F. (2011). Quality and antioxidant capacity of fresh-cut apple wedges enriched with honey by vacuum impregnation. *International Journal of Food Science & Technology*, 46(3), 626-634.

Rodríguez-Arzuaga, M., & Piagentini, A. M. (2018). New antioxidant treatment with yerba mate (*Ilex paraguariensis*) infusion for fresh-cut apples: Modeling, optimization, and acceptability. *Food Science and Technology International*, 24(3), 223-231.

Rodriguez-Arzuaga, M. R., Güemes, D., Benavides, M. J., Rivas, M. Z., Pirovani, M. É., & Piagentini, A. M. (2013). Evaluación preliminar del efecto del tratamiento químico sobre atributos fisicoquímicos, sensoriales y bioactivos de manzanas frescas cortadas. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 14(2), 223-229.

Rodríguez-Arzuaga, M., Salsi, M. S., & Piagentini, A. M. (2021). Storage quality of fresh-cut apples treated with yerba mate (*Ilex paraguariensis*). *Journal of Food Science and Technology*, 58, 186-196.

Secretaría de Agroindustria (2018). La Semana de la miel. Medios Web. Ministerio de producción y trabajo Presidencia de la Nación.

http://www.alimentosargentinos.gob.ar/HomeAlimentos/Apicultura/documentos/SEMANA_DE_LA_MIEL_prensa.pdf

Schulze, B., Peth, S., Hubbermann, E. M., & Schwarz, K. (2012). The influence of vacuum impregnation on the fortification of apple parenchyma with quercetin derivatives in combination with pore structures X-ray analysis. *Journal of Food Engineering*, 109(3), 380-387.

Samarghandian, S., Farkhondeh, T., & Samini, F. (2017). Honey and health: A review of recent clinical research. *Pharmacognosy Research*, 9(2), 121.

Sanchez, C., Castignani, & H., Rabaglio, M. (2018). El mercado apícola internacional. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. <https://inta.gob.ar/documentos/el-mercado-apicola-internacional>

Santarelli V, Neri L, Sacchetti G, Di Mattia CD, Mastrocola D and Pittia P. (2020). Response of organic and conventional apples to freezing and freezing pre-treatments: Focus on polyphenols content and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 308, 125570.

Senturk Parreidt, T., Schmid, M., & Müller, K. (2018). Effect of Dipping and Vacuum Impregnation Coating Techniques with Alginate Based Coating on Physical Quality Parameters of Cantaloupe Melon. *Journal of Food Science*, 83(4), 929-936.

Quan Shi, X., & Fito Maupoey, P. (1993). Vacuum osmotic dehydration of fruits. *Drying Technology*, 11(6), 1429-1442.

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>

Referencias bibliográficas

Sinha, N., Sidhu, J., Barta, J., Wu, J., & Cano, M. P. (Eds.). (2012). *Handbook of Fruits and Fruit Processing*. John Wiley & Sons.

Soliva-Fortuny, R. C., & 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.

Sordo, M. D. H., Travadelo, M., & Pernuzzi, C. (2017). Evolución del cultivo de frutilla en la provincia de Santa Fe (Argentina) en los últimos 50 años= Strawberry crop evolution in province of Santa Fe (Argentina) in the last 50 years. *Asociación Argentina de Horticultura*. <https://repositorio.inta.gob.ar/xmlui/handle/20.500.12123/4409>

Tapia, M. S., López-Malo, A., Consuegra, R., Corte, P., & Welte-Chanes, J. (1999). Minimally processed papaya by vacuum osmotic dehydration (VOD) techniques/papaya mínimamente procesada mediante técnicas de deshidratación osmótica al vacío (VOD). *Food Science and Technology International*, 5(1), 41-49.

Tappi, S., Tylewicz, U., Romani, S., Dalla Rosa, M., Rizzi, F., & Rocculi, P. (2017). Study on the quality and stability of minimally processed apples impregnated with green tea polyphenols during storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 39, 148-155.

USDA. 2019. Apple, Nutrition facts. Recuperado en: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/341508/nutrients--%20en%20este%20caso%20es%20necesario%20verifica4r%20como%20se%20cita%20una%20p%C3%A1gina%20web>

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 (Doctoral Tesis, Universidad Nacional del Litoral, Argentina). <https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8443/handle/11185/475>

Van de Velde, F., Pirovani, M. E., & Drago, S. R. (2018). Bioaccessibility analysis of anthocyanins and ellagitannins from blackberry at simulated gastrointestinal and colonic levels. *Journal of Food Composition and Analysis*, 72, 22-31.

Van de Velde, F., Méndez-Galarraga, M. P., Grace, M. H., Fenoglio, C., Lila, M. A., & 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.

Van de Velde, F., Esposito, D., Grace, M. H., Pirovani, M. E., & Lila, M. A. (2019). Anti-inflammatory and wound healing properties of polyphenolic extracts from strawberry and blackberry fruits. *Food Research International*, 121, 453-462.

Van de Velde, F., Esposito, D., Overall, J., Méndez-Galarraga, M. P., Grace, M., Élica Pirovani, M., & Lila, M. A. (2019). Changes in the bioactive properties of strawberries caused by the storage in oxygen-and carbon dioxide-enriched atmospheres. *Food Science & Nutrition*, 7(8), 2527-2536.

Velderrain-Rodríguez, G. R., López-Gámez, G. M., Domínguez-Avila, J. A., González-Aguilar, G. A., Soliva-Fortuny, R., & Ayala-Zavala, J. F. (2019). Minimal Processing. In *Postharvest Technology of Perishable Horticultural Commodities* (pp. 353-374). Woodhead Publishing.

Vrhovsek, U., Rigo, A., Tonon, D., Mattivi, F., (2004). Quantitation of Polyphenols in Different Apple Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*

Wu, J., Gao, H., Zhao, L., Liao, X., Chen, F., Wang, Z., Hu, X. (2007). Chemical compositional characterization of some apple cultivars. *Food Chemistry* 103. Pag. 88–93

Referencias bibliográficas

Xie, J. y Zao, Y. (2003). Nutritional enrichment of fresh apple (Royal Gala) by vacuum impregnation. *Food Science and Nutrition*, 54, 387-398.

Yousuf, B., Deshi, V., Ozturk, B., & Siddiqui, M. W. (2020). Fresh-cut fruits and vegetables: Quality issues and safety concerns. In *Fresh-Cut Fruits and Vegetables* (pp. 1-15). Academic Press.

Zhao, Y. & Xie, J. (2004). Practical applications of vacuum impregnation in fruit and vegetable processing. *Trends in Foods Science and Technology*, 15, 434-451

Zhao, X., Bai, N., He, K., Ho, C. T., Yang, C. S., & Sang, S. (2008). Apple polyphenols, phloretin and phloridzin: new trapping agents of reactive dicarbonyl species. *Chemical Research in Toxicology*, 21(10), 2042-2050.