

**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.

**“ESTUDIO DEL EFECTO DE LAS VARIABLES DE  
PROCESO EN LA IMPREGNACIÓN POR VACÍO  
SOBRE LOS ATRIBUTOS DE CALIDAD DE  
MANZANAS FRESCAS CORTADAS”**

Por

Ing. Juan Diego Cortez Latorre

Directora de Tesis: Mg. Andrea Marcela Piagentini

Co-Directora de Tesis: Mg. María Élide Pirovani

Miembros del Jurado: Carlos Osella

Roxana Páez

Guillermo Sihufe

**INSTITUTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**-2020-**



*A mi familia*

## **AGRADECIMIENTOS**

A Andrea Piagentini y Mariel Pirovani, por darme la oportunidad de realizar el presente trabajo de Tesis bajo su dirección. Por la comprensión y confianza brindada y por, sobre todo, porque fueron parte fundamental de mi formación.

A mi madre, hermanos e hijo, por ser el motor de mi vida, así como también por todo el apoyo brindado durante esta etapa a pesar de la distancia.

A mi padre, que, a pesar de su ausencia, dejó sembrado en cada uno de sus hijos un legado de valores morales y las ansias de superación permanente.

A María Auxiliadora por ser un apoyo clave en el desarrollo de la presente tesis. A Franco, Paula, profe Bochi, Ceci, Chenci, Esteban, Damián, Charito, Roberto y todo el equipo de conservación del ITA, quienes a través su experiencia apoyaron en las distintas fases del desarrollo de la presente Tesis.

A los docentes, investigadores y becarios del Instituto de Tecnología de Alimentos, quienes aportaron con su granito de arena durante el desarrollo del presente trabajo.

A la UNL, por darme la oportunidad de formarme en esta noble institución y a su vez por permitirme ser parte de ella durante esta etapa.

A mis amigos y familiares de Ecuador, que, a pesar de estar lejos, enviaron sus mensajes aliento permanente para seguir adelante en esta travesía.

A mis amigos en Argentina, que, a pesar de vernos poco, sus palabras de motivación han sido importantes para dar continuidad a los propósitos establecidos.

**INDICE DE CONTENIDOS**

<b>INDICE DE CONTENIDOS .....</b>	<b>IV</b>
<b>INDICE DE TABLAS .....</b>	<b>VIII</b>
<b>INDICE DE FIGURAS .....</b>	<b>XI</b>
<b>ABREVIATURAS .....</b>	<b>XVII</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>XX</b>
<b>1 INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>22</b>
1.1 GENERALIDADES SOBRE FRUTAS Y HORTALIZAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS .....	22
1.2 PRODUCCIÓN DE MANZANA EN EL MUNDO Y A NIVEL NACIONAL .....	23
1.3 CARACTERÍSTICAS DE LA MANZANA.....	24
1.3.1 Descripción taxonómica .....	24
1.3.2 Descripción botánica .....	24
1.3.3 Composición y principales constituyentes .....	25
1.3.3.1 Agua.....	26
1.3.3.2 Carbohidratos.....	27
1.3.3.3 Proteínas.....	27
1.3.3.4 Lípidos .....	28
1.3.3.5 Ácidos orgánicos .....	28
1.3.3.6 Pigmentos .....	28
1.3.3.7 Vitaminas.....	29
1.3.3.8 Fitoquímicos: compuestos bioactivos.....	29
1.3.4 Aspectos fisiológicos relevantes.....	30
1.3.4.1 Pardeamiento enzimático .....	30
1.3.4.2 Fisiología y bioquímica: Respiración .....	31
1.4 MÍNIMO PROCESAMIENTO .....	32
1.4.1 Etapas generales para la elaboración de manzana mínimamente procesada .....	32
1.4.2 Parámetros de calidad de manzanas frescas cortadas.....	36
1.4.3 Tratamientos de Impregnación al Vacío.....	38
1.5 OBJETIVOS.....	41
1.5.1 Objetivo General.....	41
1.5.2 Objetivos específicos.....	41

<b>2</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS:</b> .....	<b>42</b>
2.1	PUESTA A PUNTO: METODOLOGÍA DE IMPREGNACIÓN POR VACÍO .....	42
2.1.1	Matriz vegetal .....	42
2.1.2	Equipo de impregnación.....	42
2.2	ENSAYOS PRELIMINARES DE IMPREGNACIÓN POR VACÍO DE MANZANAS <i>GRANNY SMITH</i> FRESCAS CORTADAS.....	45
2.3	ESTUDIO DEL EFECTO DEL TIEMPO DE VACÍO Y RELAJACIÓN SOBRE LA CALIDAD DE FRESCO DE MANZANAS VAR. <i>GRANNY SMITH IV</i> .....	47
2.3.1	Tratamiento de las muestras con Impregnación por vacío: .....	47
2.3.2	Diseño experimental .....	47
2.3.3	Determinación de las condiciones de proceso óptimas. ....	50
2.3.4	Análisis estadístico .....	51
2.3.5	Validación de los modelos obtenidos .....	52
2.4	DETERMINACIONES ANALÍTICAS.....	52
2.4.1	Sólidos solubles, pH, actividad de agua y humedad.....	52
2.4.2	Determinación de parámetros de transferencia de masa: Ganancia de sólidos, pérdida de agua y reducción de peso. ....	53
2.4.3	Medida instrumental de color .....	54
2.4.4	Propiedades mecánicas .....	55
2.4.5	Velocidad de Respiración.....	57
2.4.5.1	<i>Determinación de la concentración de los gases</i> .....	57
2.4.5.2	<i>Determinación de los factores de respuesta</i> .....	58
2.4.6	Determinación de Vitamina C .....	60
2.4.6.1	<i>Curva de calibrado de ácido ascórbico y Ácido ascórbico total por HPLC</i> 60	
2.4.6.2	<i>Determinación del contenido de ácido ascórbico y ácido ascórbico total por HPLC</i> .....	61
2.4.7	Determinación de Fenoles Totales .....	63
2.4.7.1	<i>Curva de calibrado de Ácido Gálico por el método espectrofotométrico de Folin- Ciocalteu</i> .....	63
2.4.7.2	<i>Curva de calibrado para la determinación de ácido ascórbico total, por el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu</i> .....	64

2.4.7.3	<i>Determinación del contenido de fenoles totales por el método de Folin Ciocalteu</i> .....	64
2.4.7.4	<i>Corrección del contenido de fenoles totales por sustracción de la actividad reductora del ácido ascórbico</i> .....	65
2.4.8	Capacidad Antioxidante .....	67
2.4.8.1	<i>Determinación de la capacidad antioxidante usando radical libre DPPH*</i>	67
2.4.8.2	<i>Determinación de la capacidad antioxidante usando el método FRAP</i> .....	69
<b>3</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSION</b> .....	<b>72</b>
3.1	RESULTADOS DE LOS ENSAYOS PRELIMINARES .....	72
3.1.1	Efecto sobre los sólidos solubles, pH y actividad de agua .....	72
3.1.2	Ganancia de sólidos, pérdida de agua y reducción de peso.....	73
3.1.3	Propiedades mecánicas .....	75
3.1.4	Parámetros de color .....	75
3.2	MODELADO DE LOS CAMBIOS EN LA CALIDAD DE MANZANAS FRESCAS CORTADAS GRANNY SMITH IMPREGNADAS AL VACÍO EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE VACÍO Y RELAJACIÓN ..	79
3.2.1	Cambios en los parámetros de transferencia de masa por efecto del tiempo de vacío y tiempo de relajación durante la impregnación por vacío.....	79
3.2.2	Cambios en los sólidos solubles, pH y actividad de agua por efecto del tiempo de vacío y tiempo de relajación durante la impregnación por vacío .....	84
3.2.2.1	<i>En el día de procesamiento</i> .....	84
3.2.2.2	<i>Luego de 7 días de almacenamiento a 1,5°C.</i> .....	88
3.2.3	Cambios en los parámetros de color por efecto del tiempo de vacío y tiempo de relajación durante la impregnación por vacío.....	91
3.2.3.1	<i>En el día de procesamiento</i> .....	92
3.2.3.2	<i>Luego de 7 días de almacenamiento a 1,5°C</i> .....	94
3.2.4	Cambios en las propiedades mecánicas por efecto del tiempo de vacío y tiempo de relajación durante la impregnación por vacío.....	99
3.2.4.1	<i>En el día de procesamiento</i> .....	100
3.2.4.1	<i>Luego de 7 días de almacenamiento a 1,5°C</i> .....	107
3.2.5	Cambios en la velocidad de respiración por efecto del tiempo de vacío y tiempo de relajación durante la impregnación por vacío.....	111
3.2.5.1	<i>En el día de procesamiento</i> .....	112
3.2.5.2	<i>Luego de 7 días de almacenamiento refrigerado a 1,5°C.</i> .....	114

3.2.6	Cambios en el contenido de vitamina C por efecto del tiempo de vacío y tiempo de relajación durante la impregnación por vacío.....	116
3.2.6.1	<i>Contenido de Ácido ascórbico (C*<sub>AA</sub>)</i> .....	116
3.2.6.2	<i>Contenido de Ácido Ascórbico Total (C*<sub>AAT</sub>)</i> .....	121
3.2.7	Cambios en el contenido de Fenoles Totales Corregidos por efecto del tiempo de vacío y relajación durante la impregnación por vacío.....	125
3.2.7.1	<i>En el día de procesamiento</i> .....	127
3.2.7.2	<i>Luego de 7 días de almacenamiento a 1°5</i> .....	129
3.2.8	Cambios en la capacidad antioxidante por efecto del tiempo de vacío y relajación durante la impregnación por vacío en manzanas.....	131
3.2.8.1	<i>Capacidad antioxidante por el método DPPH</i> .....	131
3.2.8.2	<i>Capacidad antioxidante método FRAP</i> .....	136
3.3	DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES ÓPTIMAS DE PROCESO .....	139
3.4	VALIDACIÓN DE LOS MODELOS OBTENIDOS .....	142
<b>4</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>145</b>
<b>5</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>148</b>

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.1</b> Composición aproximada de Manzana <i>Granny Smith</i> cruda y sin piel.....	26
<b>Tabla 2.1</b> Variables y niveles del ensayo preliminar .....	46
<b>Tabla 2.2</b> Tiempos de vacío y relajación utilizados para el estudio del proceso de Impregnación por Vacío. ....	48
<b>Tabla 2.3</b> Factores de respuesta y coeficiente de determinación.....	59
<b>Tabla 3.1</b> Efecto de adición de ácidos, presión de vacío y tiempo de impregnación sobre la variación de sólidos solubles, pH y actividad de agua de manzanas <i>Granny Smith</i> frescas cortadas.....	72
<b>Tabla 3.2.</b> Efecto de la presión de vacío y temperatura de impregnación sobre los parámetros de transferencia de masa.....	74
<b>Tabla 3.3</b> Efecto de la presión y los tiempos de procesamiento en la variación relativa porcentual de fuerza máxima de manzanas impregnadas al vacío .....	75
<b>Tabla 3.4</b> Efecto de la presión de vacío y tiempo de tratamiento sobre los parámetros de color. ....	76
<b>Tabla 3.5</b> Valores obtenidos para ganancia de sólidos, pérdida de agua y reducción de peso en el día 0 debido a la impregnación por vacío. ....	80
<b>Tabla 3.6</b> Análisis de varianza del modelo obtenido para ganancia de sólidos, pérdida de agua y reducción de peso en el día 0.....	80
<b>Tabla 3.7</b> Cambios en sólidos solubles, pH y actividad de agua debido al proceso de impregnación por vacío en el día 0.....	84
<b>Tabla 3.8</b> Análisis de varianza del modelo obtenido para la variación relativa porcentual de sólidos solubles, pH y actividad de agua al día 0. ....	84
<b>Tabla 3.9</b> Cambios en sólidos solubles, pH y actividad de agua debido a la impregnación por vacío en el día 7.....	89
<b>Tabla 3.10</b> Análisis de varianza del modelo obtenido para la variación relativa porcentual de sólidos solubles, pH y actividad de agua al día 7. ....	89
<b>Tabla 3.11</b> Cambio en los parámetros instrumentales de color de manzanas impregnadas por vacío al día 0.....	92
<b>Tabla 3.12</b> Análisis de varianza del modelo obtenido la variación relativa porcentual de parámetros de color al día 0.....	93
<b>Tabla 3.13</b> Cambios en los parámetros instrumentales de color de manzanas impregnadas por vacío al día 7.....	95
<b>Tabla 3.14</b> Análisis de varianza del modelo obtenido para la variación relativa porcentual de parámetros de color al día 7.....	95

---

<b>Tabla 3.15</b> Efecto de la impregnación por vacío y del tiempo de almacenamiento sobre los parámetros de color de manzanas frescas cortadas var. <i>Granny Smith</i> .....	99
<b>Tabla 3.16</b> Cambios en Fuerza máxima, trabajo, Número de picos y Distancia lineal en el día 0 debido a la impregnación por vacío.....	101
<b>Tabla 3.17</b> Análisis de varianza del modelo obtenido para la variación relativa porcentual de las propiedades mecánicas al día 0.....	101
<b>Tabla 3.18</b> Cambios en fuerza máxima, trabajo, número de picos y distancia lineal en el día 7 debido a la impregnación por vacío.....	108
<b>Tabla 3.19</b> Análisis de varianza del modelo obtenido para la variación relativa porcentual de las propiedades mecánicas al día 7.....	108
<b>Tabla 3.20</b> Cambios en la velocidad de respiración en el día 0 y en el día 7 debido a la impregnación por vacío. ....	111
<b>Tabla 3.21</b> Análisis de varianza del modelo obtenido para de los resultados experimentales de la variación relativa porcentual de la velocidad de respiración al día 0 y al día 7 .....	112
<b>Tabla 3.22</b> Contenido de ácido ascórbico al día 0 y al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío .....	116
<b>Tabla 3.23</b> Análisis de varianza para los modelos obtenidos para contenido de ácido ascórbico al día 0 y al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío.....	117
<b>Tabla 3.24</b> Contenido de ácido ascórbico total al día 0 y al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío .....	121
<b>Tabla 3.25</b> Análisis de varianza de los modelos obtenidos para el contenido de ácido ascórbico total al día cero y al día siete de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío .....	121
<b>Tabla 3.26</b> Cambios en el contenido de fenoles totales corregidos en el día 0 y 7 debido a la impregnación por vacío. ....	126
<b>Tabla 3.27</b> Análisis de varianza de los modelos obtenidos para la variación relativa porcentual del contenido de fenoles totales corregido en el día 0 y 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío.....	126
<b>Tabla 3.28</b> Cambios de la capacidad antioxidante en el día 0, y al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío.....	132
<b>Tabla 3.29</b> Análisis de varianza de los modelos obtenidos para la variación relativa porcentual de la capacidad antioxidante por el método DPPH al día 0 y al día 7.....	132
<b>Tabla 3.30</b> Cambios en la capacidad antioxidante por el método FRAP en el día 0 y en día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío .....	136
<b>Tabla 3.31</b> Análisis de varianza para de los resultados experimentales de la variación relativa porcentual de la capacidad antioxidante por el método FRAP al día 0 y al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío.....	137

**Tabla 3.32** Valores mínimos y máximos observados, objetivos e impactos de cada una de las respuestas utilizadas para la optimización de respuestas múltiples (optimización 1). ..... 141

**Tabla 3.33** Valores Mínimos y máximos observados, objetivos e impactos de cada una de las respuestas utilizados para la optimización de respuestas múltiples (optimización 2). ..... 141

**Tabla 3.34** Valor de deseabilidad y valores óptimos de tiempo de vacío y relajación para los escenarios de optimización 1 y 2. .... 142

**Tabla 3.35** Valores de las respuestas predichas y experimentales para manzanas var. “Granny Smith” frescas cortadas impregnadas por vacío en las condiciones de optimización ..... 142

**Tabla 3.35** Valores de las respuestas predichas y experimentales para manzanas var. “Granny Smith” frescas cortadas impregnadas por vacío según las condiciones de optimización 2. .. 143

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.1</b> Góndolas de supermercados de Estados Unidos, sección de alimentos mínimamente procesados (Fuente: Gentileza Van de Velde, 2017). .....	23
<b>Figura 1.2</b> Partes de la manzana .....	25
<b>Figura 2.1</b> Manzana var. <i>Granny Smith</i> .....	42
<b>Figura 2.2</b> Sistema de Impregnación por vacío. ....	43
<b>Figura 2.3</b> Flujo de proceso para la producción de manzanas mínimamente procesadas impregnadas por vacío.....	44
<b>Figura 2.4</b> Proceso de Impregnación por Vacío de manzanas <i>Granny Smith</i> .....	45
<b>Figura 2.5</b> Refractómetro Atago y pHmetro Horiba .....	53
<b>Figura 2.6</b> Medidor de $a_w$ Aqualab.....	53
<b>Figura 2.7</b> Espectrofotómetro Minolta .....	55
<b>Figura 2.8</b> Representación gráfica de los parámetros de color $L^*a^*b^*$ y $L^*C^*_{ab} h_{ab}$ .....	55
<b>Figura 2.9</b> Texturómetro TA.XT Plus Stable Microsystems con probeta de punción. ....	55
<b>Figura 2.10</b> Curva de penetración Fuerza vs Desplazamiento y parámetros derivados. F: fuerza máxima, área bajo la curva hasta F; Número de picos; distancia lineal .....	56
<b>Figura 2.11</b> Frascos con muestra para medición de tasa de respiración.....	57
<b>Figura 2.12</b> Cromatógrafo de gases Buck Scientific .....	58
<b>Figura 2.13</b> Curva de calibración para $CO_2$ .....	59
<b>Figura 2.14</b> Curva de calibración para $O_2$ .....	59
<b>Figura 2.15</b> Curva de calibración para $N_2$ .....	59
<b>Figura 2.16</b> Curva de calibrado para concentración de ácido ascórbico .....	61
<b>Figura 2.17</b> Curva de calibrado para concentración de ácido ascórbico total .....	61
<b>Figura 2.18</b> Curva de calibrado de Ácido Gálico obtenida por el método Folin-Ciocalteu....	64
<b>Figura 2.19</b> Curva de calibrado de ácido ascórbico total obtenida por método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu .....	64
<b>Figura 2.20</b> Esquema para determinación del contenido de fenoles corregido .....	66
<b>Figura 2.21</b> Espectrofotómetro Génesis 10S UV-VIS Thermo Scientific .....	68
<b>Figura 2.22</b> Curva de calibrado con AA del % de DPPH* remanente.....	69
<b>Figura 2.23</b> Curva de calibrado para determinar la absorbancia por espectrofotometría en función de la concentración de $FeSO_4$ .....	71

**Figura 3.1** Cambios en el color de manzanas mínimamente procesadas sometidas a impregnación por vacío impregnación al vacío a) Fruta fresca sin tratamiento, b) fruta tratada a baja presión de vacío y c) fruta tratada a alta presión de vacío. .... 77

**Figura 3.2** Fruta tratada por Impregnación por vacío a una presión alta..... 77

**Figura 3.3** Impregnación de manzanas variedad Granny Smith con distintas presiones de vacío ..... 78

**Figura 3.4** Diagrama de Pareto estandarizado para la ganancia de sólidos de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío..... 81

**Figura 3.5** Gráfica de efectos principales para la ganancia de sólidos de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío..... 81

**Figura 3.6** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la ganancia de sólidos de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío..... 81

**Figura 3.7** Diagrama de Pareto estandarizado para la pérdida de agua de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío..... 82

**Figura 3.8** Gráfica de efectos principales para la pérdida de agua de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 83

**Figura 3.9** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la pérdida de agua de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío..... 83

**Figura 3.10** Diagrama de pareto estandarizado para la variación relativa porcentual de sólidos solubles al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío..... 85

**Figura 3.11** Gráfica de efectos principales para la variación relativa porcentual de sólidos solubles al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío..... 86

**Figura 3.12** Gráfica de interacciones para la variación relativa porcentual de sólidos solubles al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío. .... 86

**Figura 3.13** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual de sólidos solubles al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío. .... 87

**Figura 3.14** Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual de sólidos solubles al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 90

**Figura 3.15** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual de sólidos solubles al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío..... 90

**Figura 3.16** Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual del parámetro de color L\* al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 97

**Figura 3.17** Gráfica de interacciones para la variación relativa porcentual del parámetro de color L\* al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío..... 97

**Figura 3.18** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual del parámetro de color L\* al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 98

**Figura 3.19** Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual de Fuerza máxima al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío..... 102

**Figura 3.20** Gráfica de efectos Principales para la variación relativa porcentual de Fuerza máxima al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío..... 102

**Figura 3.21** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual de Fuerza máxima al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 102

**Figura 3.22** Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual del área al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 104

**Figura 3.23** Gráfica de efectos Principales para la variación relativa porcentual del área al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 104

**Figura 3.24** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual del área al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 104

**Figura 3.25** Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual del número de picos al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío..... 105

**Figura 3.26** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual del número de picos al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 105

**Figura 3.27** Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual de la distancia lineal al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 106

**Figura 3.28** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual del número de la distancia lineal al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío..... 107

**Figura 3.29** Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual de Fuerza máxima al día de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío..... 109

**Figura 3.30** Gráfica de efectos Principales para la variación relativa porcentual de Fuerza máxima al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío..... 109

**Figura 3.31** Gráfica de interacciones para la variación relativa porcentual de Fuerza máxima al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 109

**Figura 3.32** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual de Fuerza máxima al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 110

**Figura 3.33** Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual de la velocidad de respiración al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío..... 113

**Figura 3.34** Gráfica de efectos Principales para la variación relativa porcentual de la velocidad de respiración al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío..... 113

**Figura 3.35** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual de la velocidad de respiración al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío. 113

**Figura 3.36** Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual de la velocidad de respiración al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 114

**Figura 3.37** Gráfica de efectos principales para la variación relativa porcentual de la velocidad de respiración al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 115

**Figura 3.38** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual de la velocidad de respiración al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío . 115

**Figura 3.39** Diagrama de Pareto estandarizado para el contenido de ácido ascórbico de día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 117

**Figura 3.40** Gráfica de efectos Principales para el contenido de ácido ascórbico al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 118

**Figura 3.41** Gráfica de superficie de respuesta estimada para el contenido de ácido ascórbico al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 118

**Figura 3.42** Diagrama de Pareto estandarizado para el contenido de ácido ascórbico de día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 119

**Figura 3.43** Gráfica de efectos Principales para el contenido de ácido ascórbico al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 119

**Figura 3.44** Gráfica de interacciones para el contenido de ácido ascórbico en el día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 120

**Figura 3.45** Gráfica de superficie de respuesta estimada para el contenido de ácido ascórbico al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 120

**Figura 3.46** Diagrama de Pareto estandarizado para el contenido de ácido ascórbico total del día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 122

**Figura 3.47** Gráfica de efectos Principales para el contenido de ácido ascórbico total al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 122

**Figura 3.48** Gráfica de superficie de respuesta estimada para el contenido de ácido ascórbico total al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 123

**Figura 3.49** Diagrama de Pareto estandarizado para el contenido de ácido ascórbico total al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 124

**Figura 3.50** Gráfica de efectos Principales para el contenido de ácido ascórbico al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 124

**Figura 3.51** Gráfica de superficie de respuesta estimada para el contenido de ácido ascórbico total al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 124

**Figura 3.52** Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual del Contenido de Fenoles Totales al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío . 127

**Figura 3.53 a)** Gráfica de efectos Principales para la variación relativa porcentual del Contenido de Fenoles Totales al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío y **b)**

Gráfica de interacción para la variación relativa porcentual del Contenido de Fenoles Totales al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío .....	127
<b>Figura 3.54</b> Gráfica de superficie de respuesta estimada para para la variación relativa porcentual del Contenido de Fenoles Totales al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío.....	128
<b>Figura 3.55 a)</b> Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual del Contenido de Fenoles Totales al día 7 y <b>b)</b> Gráfica de efectos Principales para para para la variación relativa porcentual del Contenido de Fenoles Totales al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío .....	129
<b>Figura 3.56</b> Gráfica de interacción para para la variación relativa porcentual del Contenido de Fenoles Totales al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío .....	130
<b>Figura 3.57</b> Gráfica de superficie de respuesta estimada para para la variación relativa porcentual del Contenido de Fenoles Totales al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío.....	130
<b>Figura 3.58</b> Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual de la capacidad antioxidante por el método DPPH al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío.....	133
<b>Figura 3.59</b> Gráfica de efectos Principales para la variación relativa porcentual de la capacidad antioxidante por el método DPPH al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío.....	133
<b>Figura 3.60</b> Gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual de capacidad antioxidante por el método DPPH al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío .....	134
<b>Figura 3.61</b> Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual de la capacidad antioxidante por el método DPPH al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío.....	135
<b>Figura 3.62</b> Gráfica de efectos Principales para la variación relativa porcentual de la capacidad antioxidante por el método DPPH al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío.....	135
<b>Figura 3.63</b> Gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual de capacidad antioxidante por el método DPPH al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío .....	135
<b>Figura 3.64</b> Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual de la capacidad antioxidante por el método FRAP al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío.....	137
<b>Figura 3.65</b> Gráfica de efectos Principales para la variación relativa porcentual de la capacidad antioxidante por el método FRAP al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío.....	138

**Figura 3.66** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual de capacidad antioxidante por el método FRAP al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío ..... 138

---

**ABREVIATURAS**

- %SG:** Porcentaje de Ganancia de sólidos (por sus siglas en inglés).
- %WL:** Porcentaje de pérdida de agua (por sus siglas en inglés).
- %WR:** Reducción de peso (por sus siglas en inglés) de la FT.
- $\Delta A(\%)$ :** Variación relativa porcentual del área bajo la curva hasta F (trabajo).
- $\Delta a^*(\%)$ :** Variación relativa porcentual del parámetro de color  $a^*$ .
- $\Delta a_w(\%)$ :** Variación relativa porcentual de actividad de agua.
- $\Delta b^*(\%)$ :** Variación relativa porcentual del parámetro de color  $b^*$ .
- $\Delta C^*_{ab}(\%)$ :** Variación relativa porcentual del parámetro de color  $C^*_{ab}$  (Cromaticidad o Saturación).
- $\Delta C^*_{CFT-C}(\%)$ :** Variación relativa porcentual del contenido de fenoles totales.
- $\Delta CA_{DPPH}(\%)$ :** Variación relativa porcentual de la capacidad antioxidante por el método DPP.
- $\Delta CA_{FRAP}(\%)$ :** Variación relativa porcentual de la capacidad antioxidante por el método FRAP.
- $\Delta DL(\%)$ :** Variación relativa porcentual de la distancia lineal.
- $\Delta F(\%)$ :** Variación relativa porcentual de la fuerza máxima.
- $\Delta h_{ab}(\%)$ :** Variación relativa porcentual del parámetro de color  $h_{ab}$  (ángulo de tono).
- $\Delta L^*(\%)$ :** Variación relativa porcentual del parámetros de color:  $L^*$ .
- $\Delta N_{picos}(\%)$ :** Variación relativa porcentual del número de picos.
- $\Delta pH(\%)$ :** Variación relativa porcentual del pH.
- $\Delta Q_i(\%)$ :** Variación relativa porcentual del atributo evaluado el día i.
- $\Delta Q_i$ :** variación del atributo de calidad evaluado el día i.
- $\Delta RR(\%)$ :** Variación relativa porcentual de la velocidad de respiración.
- $\Delta SS(\%)$ :** Variación relativa porcentual de sólidos solubles ( $^{\circ}Bx$ )
- AA:** Ácido ascórbico.
- $a_{AAT}$ :** Ordenada al origen de la curva de calibrado para el contenido de ácido ascórbico total por F-C.
- $Abs_{AAT}$ :** Absorbancia correspondiente a la muestra por ensayo de F-C para AAT.
- $Abs_{CFT}$ :** Absorbancia correspondiente a la muestra por ensayo de F-C para CFT.
- $Abs_{FRAP}$ :** Absorbancia de soluciones de  $FeSO_4$  a 593nm.
- AC:** Ácido cítrico.
- $ac_{FT}$ :** ordenada al origen de la curva de calibrado para el contenido de fenoles totales por F-C.

**AGE:** Ácido gálico equivalente.

**A<sup>H</sup><sub>AA</sub>:** Área para ácidos ascórbico.

**A<sup>H</sup><sub>AAT</sub>:** Área de ácido ascórbico total obtenida del análisis por HPLC.

**a<sup>H</sup><sub>AAT</sub>:** Ordenada al origen de la curva de calibrado para ácido ascórbico total por HPLC.

**A<sup>H</sup><sub>AAT</sub>:** Área para ácido ascórbico total.

**b<sub>AAT</sub>:** Pendiente de la curva de calibrado para el contenido de ácido ascórbico total por F-C.

**bc<sub>FT</sub>:** pendiente de la curva de calibrado para el contenido de fenoles totales por F-C.

**b<sup>H</sup><sub>AAT</sub>:** Pendiente de la curva de calibrado para ácido ascórbico total por HPLC.

**C<sub>AA</sub>:** contenido de ácido ascórbico.

**C<sub>AAT</sub>:** contenido de ácido ascórbico Total.

**C<sub>CFT-C</sub>:** Contenido de fenoles totales corregido.

**C<sub>FeSO4</sub>:** Concentración de soluciones de FeSO<sub>4</sub>

**C<sup>H</sup><sub>AA</sub>:** Concentración de ácido ascórbico por HPLC.

**C<sup>H</sup><sub>AAT</sub>:** Concentración de ácido ascórbico total por HPLC.

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

**DHA:** Ácido L-dehidroascórbico.

**DPPH\*:** 2,2-difenil-1-picrilhidrazil

**DTT:** DL-ditiotreitól.

**F-C:** Folin-Ciocalteau.

**FF:** Fruta fresca cortada.

**FF<sub>i</sub>:** Fruta fresca día i

**FM:** Fase móvil.

**FRAP:** Ensayo del poder secuestrante del hierro (por sus siglas en inglés).

**FT:** Fruta tratada por impregnación con vacío.

**FT<sub>i</sub>:** Fruta tratada por impregnación con vacío el día i

**GC:** Cromatografía gaseosa.

**GRAS:** Generally recognized as safe.

**H<sub>r</sub>:** Humedad relativa de la manzana fresca cortada tratada IV.

**H<sub>i</sub>:** Humedad relativa de la manzana fresca cortada.

**HPLC:** Cromatografía líquida de alta performance.

**i:** día de análisis (0 o 7).

**IC<sub>50(AA)</sub>**: Cantidad de ácido ascórbico en 1mL de reacción, necesaria para disminuir al 50% la concentración inicial de DPPH\*.

**IC<sub>50(muestra)</sub>**= Cantidad de ácido ascórbico en 1 mL de reacción, necesaria para disminuir al 50% la concentración inicial de DPPH\*.

**IV**: Impregnación por vacío.

**M<sub>f</sub>**: masa final de la fruta, luego del tratamiento de IV.

**m<sub>fCFT</sub>**: Masa de muestra usada para determinación de fenoles totales por método F-C.

**m<sub>fHPLC</sub>**: Masa de muestra usada para determinación de AAT por método HPLC.

**MHD**: Mecanismo Hidrodinámico.

**M<sub>i</sub>**: masa inicial de la fruta, antes del tratamiento de IV.

**P**: Presión de vacío.

**PPO**: Polifenol oxidasa

.

**Q<sub>i</sub>**: atributo de calidad evaluado el día i.

**SE**: Solución Extractante.

**SO**: Solución Osmótica.

**TPTZ**: 2,4,6- tris 2-pyridil-s-tiazina.

**t<sub>r</sub>**: tiempo de relajación.

**t<sub>v</sub>**: tiempo de vacío.

**V**: Volumen.

**V<sub>eCFT</sub>**: volumen de solución extractante para determinación por método F-C.

**V<sub>eHPLC</sub>**: Volumen de solución extractante usada para determinación de AAT por método HPLC.

**ΔE\*<sub>ab</sub>(%)**: variación total de color.

**RESUMEN**

La Impregnación por Vacío (IV) es una tecnología que permite obtener cambios en la matriz alimentaria en tiempos cortos. El proceso de IV consta de dos etapas: en la primera, la fruta es sumergida en una solución osmótica (SO) y sometida a presión de vacío durante un tiempo ( $t_v$ ); seguida de una segunda etapa de relajación, donde se restaura la presión atmosférica y se deja a la fruta en contacto con la SO durante un determinado tiempo ( $t_r$ ). Los procesos internos que ocurren durante estas dos etapas pueden generar cambios en la matriz vegetal que alteran su condición de fresca. Siendo así que el objetivo de la presente Tesis fue evaluar el efecto de las variables de proceso en la impregnación por vacío sobre los atributos de calidad de manzanas frescas cortadas. Para lo cual se puso a punto un sistema de impregnación por vacío (IV) a escala de laboratorio para frutas mínimamente procesadas. Se determinó el rango de las variables de proceso adecuadas para mantener o mejorar la calidad de la fruta. Los ensayos se efectuaron siguiendo la metodología de superficie de respuesta a través de un diseño central compuesto cuyas variables y niveles fueron  $t_v = 1,14-14$  min; y  $t_r = 1,14-14$  min. Los ensayos de impregnación por vacío de manzanas *Granny Smith* frescas cortadas se realizaron con solución de sacarosa de 30 °Bx con (1% ácido cítrico + 1% ácido ascórbico), a una presión de vacío de 67,7 mbar, evaluándose las muestras a los 0 y 7 días de almacenamiento a 1,5°C. Los estudios realizados permitieron obtener modelos predictivos en el día de procesamiento para ganancia de sólidos (%GS), pérdida de agua (%WL), concentración de ácido ascórbico ( $C^*_{AA0}$ ), concentración de ácido ascórbico total ( $C^*_{AAT0}$ ), y los cambios relativos del contenido de sólidos solubles ( $\Delta SS_0$ ), firmeza ( $\Delta F_0$ ), distancia lineal ( $\Delta DL_0$ ), trabajo ( $\Delta A_0$ ), número de picos ( $\Delta N_{picos_0}$ ), respiración ( $\Delta RR_0$ ), concentración de fenoles totales corregidos ( $\Delta C^*_{CFT-c0}$ ), y capacidad antioxidante por los métodos DPPH ( $\Delta CA_{DPPH0}$ ) y FRAP ( $\Delta CA_{FRAP0}$ ). Sin embargo, el día 0 no se pudo modelar los cambios relativos en pH ( $\Delta pH_0$ ), actividad de agua ( $\Delta a_{w0}$ ), reducción de peso (WR), y los parámetros de color. Por otro lado, luego de 7 días de almacenamiento a 1,5 °C, sólo se obtuvieron modelos predictivos para:  $\Delta SS_7$ ,  $\Delta L^*_7$ ,  $\Delta RR_7$ ,  $C^*_{AA7}$ ,  $C^*_{AAT7}$ ,  $\Delta C^*_{CFT-C7}$ ,  $\Delta CA_{DPPH7}$ . La metodología de optimización de respuestas múltiples permitió determinar los tiempos óptimos de vacío y de relajación para dos escenarios planteados: a) minimizar la velocidad de respiración, maximizando los atributos relacionados con la calidad sensorial ( $t_v = 6,18$  min y  $t_r = 1,14$  min); y b) minimizar la velocidad de respiración, maximizando los atributos relacionados con la calidad sensorial y el potencial saludable de manzanas mínimamente procesadas impregnadas por vacío ( $t_v = 10,18$  min y  $t_r = 6,21$  min). Para ambos escenarios, la validación de los modelos obtenidos en las condiciones

óptimas, resultó satisfactoria, tanto en el día de procesamiento (día 0) como luego de 7 días de almacenamiento refrigerado. Se determinó que para, para mantener las características de fresco durante 7 días de almacenamiento a 1,5 °C, se requieren tiempos de proceso ( $t_v$  y  $t_r$ ) menores a los necesarios para obtener manzanas frescas cortadas que además presenten un potencial saludable incrementado.

La investigación realizada mediante la presente tesis, demostró que la impregnación por vacío bajo tratamientos suaves con solución antioxidante, es una alternativa para la obtención de manzanas mínimamente procesadas con un tiempo de vida útil extendido y con un potencial saludable mejorado como valor agregado a un producto de alta perecibilidad.

## 1 INTRODUCCIÓN

### 1.1 GENERALIDADES SOBRE FRUTAS Y HORTALIZAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS

Las frutas y hortalizas mínimamente procesadas refrigeradas (MPR) son alimentos frescos, crudos, enteros o cortados que han sufrido determinado tipo de procesamiento. También son conocidas con otras denominaciones como frescos cortados (*Fresh-cut*), listos para consumo (ready to eat), entre otros. Generalmente son comercializados en varias modalidades según su uso, pueden ser listos para consumir, listos para servir o listos para cocinar. Sin embargo, estos alimentos, requieren de un mayor cuidado por tener tejidos expuestos, los cuales pueden ser colonizados fácilmente por microorganismos alterantes y patógenos, si las condiciones del medio no son las adecuadas (Wiley y Yildiz, 2017).

La producción y consumo de frutas y hortalizas ha tenido una tendencia creciente con el transcurso de los años. Hoy en día los consumidores optan por elegir dietas saludables, nutritivas y de buena calidad (Chen *et al.*, 2016). Asimismo, los hábitos de consumo en la población son diferentes, causa de ello es un cambio en la estructura familiar, observándose que a partir de la inclusión de la mujer en la fuerza laboral se ha marcado un giro en su estilo de vida. El tiempo que era dedicado a preparar los alimentos en casa se ha reducido, y se pudo ver que al menos un alimento que se consume al día no proviene del hogar (Oms y Soliva-Fortuny, 2011). Esto es una oportunidad para la innovación y a su vez un reto a nivel industrial para satisfacer a dichos consumidores. Dichas demandas han sido en parte cubiertas por el sector de las frutas y hortalizas mínimamente procesadas, el cual continuamente trabaja para mejorar sus procesos y productos (James y Ngarmasak, 2010). La introducción en los mercados de estos alimentos, es una forma de incrementar el consumo de vegetales, gracias a su atractiva presentación, apariencia y sabor (Martin-Belloso, 2005).

Existe un gran desarrollo de productos mínimamente procesados en lugares como Europa, Japón y Estados Unidos, debido a su fuerte demanda individual e institucional (Figura 1.1). El objetivo del desarrollo de las frutas y hortalizas mínimamente procesadas, es llegar al consumidor con un producto con alta calidad de “fresco”, seguro y con un mayor tiempo de vida útil, conservando sus propiedades nutricionales y sensoriales (Yildiz y Wiley, 2017).

Se distinguen de los vegetales enteros, ya que los mismos han sufrido cierto tratamiento que puede modificar las características físico-químicas y bioquímicas del producto (Rocculi, 2004). Además, presentan un comportamiento fisiológico normal o similar al de un producto

entero; presentan un metabolismo más elevado, que incrementa el deterioro de los mismos (Yildiz y Wiley, 2017).

Para lograr la vida útil requerida para el mercado de frutas y hortalizas (8-10 días en el mercado europeo y 21 días para Estados Unidos) se necesita un esfuerzo multidisciplinario (Yildiz y Wiley, 2017).

Las frutas y hortalizas mínimamente procesadas están definidas como aquellas que han sido preparadas mediante una o varias operaciones unitarias apropiadas como el lavado, pelado, cortado, etc., dando un tratamiento de preservación parcial, no total, incluyendo el uso de calentamiento suave, preservante o radiación. Las estrategias de tratamiento pueden incluir el control del pH, antioxidantes, tratamientos sanitizantes, o una combinación de varios tratamientos (Yildiz y Wiley, 2017; King y Bolin, 1989).

Los daños en los tejidos incrementan la tasa de respiración, pérdida de agua y otras reacciones metabólicas; permitiendo un mayor contacto entre enzimas y sus sustratos, lo cual favorece el desarrollo microbiano y además de otras reacciones indeseables de deterioro (Singh y Anderson, citados por Montero-Calderón y Cerdas-Araya, 2011).



**Figura 1.1** Góndolas de supermercados de Estados Unidos, sección de alimentos mínimamente procesados (Fuente: Gentileza Van de Velde, 2017).

## 1.2 PRODUCCIÓN DE MANZANA EN EL MUNDO Y A NIVEL NACIONAL

La manzana es uno de los cultivos frutales de mayor importancia a nivel mundial, con una producción de alrededor de 84,6 mil millones de toneladas en el 2014, siendo el mayor productor China, seguido de Estados Unidos y Turquía (FAOSTAT, 2017).

En Argentina, la provincia de mayor producción es Rio Negro, seguida de Neuquén y Mendoza. Las principales variedades son Red Delicious y sus clones (84%), Granny Smith (4%) y otras (12%). En cuanto al valor de las exportaciones de manzanas, Argentina ocupa el lugar número 11 con el 1,9% del total mundial (INTA, 2016).

La importancia en el consumo de este fruto se debe a la gran diversidad de formas de presentación, sea en fresco o procesado y también por que presenta beneficios para salud. Se sabe con certeza de la existencia y la función de algunos de los componentes fitoquímicos que le confieren propiedades antioxidantes, a más de tener la doble particularidad de actuar como alimento astringente o laxante según cómo sea consumida. Está 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). “*One Apple a day, keeps doctor away*” es un proverbio chino encontrado en las diferentes bibliografías, que hacen referencia al aporte positivo a la salud por parte de este fruto.

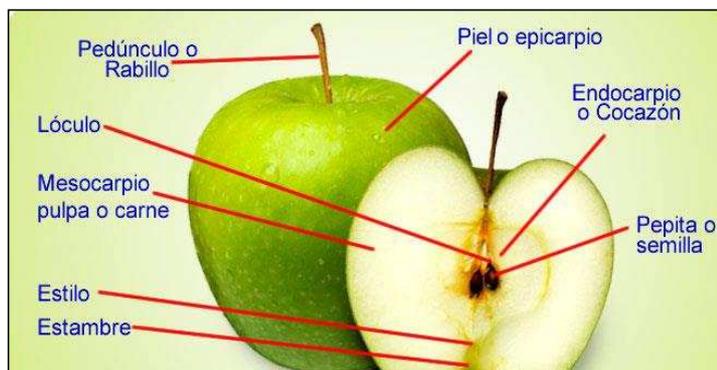
### **1.3 CARACTERÍSTICAS DE LA MANZANA**

#### **1.3.1 Descripción taxonómica**

Según el Sistema Integrado de Información Taxonómica (ITIS, 2016), el manzano pertenece a la familia de las Rosáceas, de la subfamilia Pomoideae, y género *Malus*. Dicho género comprende de 25 a 30 especies procedentes de Europa, América del Norte y Asia. No obstante, las variedades cultivadas para la comercialización pertenecen a la especie *Malus domestica* (Watkins *et al.*, 2002).

#### **1.3.2 Descripción botánica**

El manzano es un árbol caducifolio que puede tener una vida de 60 a 80 años. Alcanza los 7 a 8 m de altura en estado silvestre, aunque normalmente no sobrepasa los 2-2,5 m. El fruto es el producto de un ovario maduro, su parte comestible proviene de la región extracarpelar de la flor (Figura 1.2). El fruto es un pomo y por ende pertenece a la subfamilia de las Pomoideae, es un fruto carnoso complejo, resultado del desarrollo del ovario de la flor y de los tejidos que lo envuelven. Tiene forma más o menos redondeada, y su zona central está dividida en cinco partes, una por carpelo, en el cual resguardan a las semillas (Sinha, 2006).



**Figura 1.2** Partes de la manzana

La piel del fruto es de distinto color dependiendo de la variedad y representa un órgano cuyas células poseen pared celular con celulosa no modificada, lo que da la característica de permeabilidad, lo cual permite la migración de agua e intercambio gaseoso. A más de ello se considera como la principal barrera de protección del fruto y es importante como un índice de calidad visual (Sinha, 2006).

### 1.3.3 Composición y principales constituyentes

En general, el 85% de la composición de una manzana es agua, el 15% restante corresponde a la fracción sólida, de la cual, entre el 12 y 14% corresponde a carbohidratos, (Tabla 1.1). Existe cierta fluctuación en los rangos de composición, y esto es debido a factores internos, como es el caso de la variedad, el estado fenológico del fruto, defectos fisiológicos, entre otros; así como también factores externos como la locación, las prácticas culturales, las condiciones medioambientales, etc. La manzana es un fruto climatérico que presenta un pico típico en la tasa de respiración que precede o es paralela a un aumento autocatalítico de la producción de etileno, por tanto, también se verá afectada por este compuesto.

**Tabla 1.1** Composición aproximada de manzana *Granny Smith* cruda y sin cáscara.

Componente	Unidad	Valores en 100 gramos
Agua	g	85,46
Energía	kcal	58
Proteína	g	0,44
Lípidos totales	g	0,19
Carbohidratos	g	13,61
Fibra dietaria total	g	2,8
Azucares totales	g	9,59
Minerales		
Calcio	mg	5
Hierro	mg	0,15
Magnesio	mg	5
Fósforo	mg	12
Potasio	mg	120
Sodio	mg	1
Zinc	mg	0,04
Vitaminas		
Tiamina	mg	0,019
Riboflavina	mg	0,025
Niacina	mg	0,126
Vitamina B-6	mg	0,037
Vitamina A	µg	5
Vitamina A	IU	100
Vitamina E (alfa-tocoferol)	mg	0,18
Vitamina K (filoquinona)	µg	3,2

Fuente: USDA National Nutrient Database, 2018

### 1.3.3.1 Agua

Como fruto fresco, la manzana está compuesta principalmente de agua (aproximadamente 85%) y posee una actividad de agua ( $a_w$ ) de alrededor de 0,97. Su interacción con otras moléculas la hace importante en distintos procesos fisiológicos como solvente, o puede actuar sobre la estructura de las macromoléculas a través de uniones internas. De la misma manera el agua puede actuar sobre la plasticidad de la manzana y la variación en su contenido puede afectar las propiedades mecánicas y reológicas de la misma (Nieto *et al.*, 2013).

### **1.3.3.2 Carbohidratos**

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, 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, rabinosa, arabinosa, manosa y maltosa (Fuleki *et al.*, 1994). La fructosa y en menor medida la sacarosa, se encuentran en la pulpa del fruto, y estas se forman a partir del sorbitol. Beruter (1985) observó que las concentraciones de sorbitol disminuyen a partir del inicio de la fructificación hasta la época de cosecha, mientras que la fructosa se incrementa en niveles muy elevados, el mismo efecto ocurre con la sacarosa, pero en niveles mucho más bajos. Estos valores se correlacionaron con los patrones de sorbitol deshidrogenasa en donde se ha observado que la presencia de esta enzima influye en la acumulación de fructosa.

Por otro lado, existen polisacáridos como el almidón, el cual es elevado en estadios tempranos (etapa de elongación celular), mientras que a medida que el fruto llega a su madurez fisiológica, el contenido de almidón se reduce por hidrólisis de manera proporcional (es una forma de determinar el estado de madurez del fruto previo a la cosecha). Por otra parte, otro grupo de gran importancia son las sustancias pécticas, las cuales están asociadas con las paredes celulares del fruto, especialmente luego de que este es cosechado, se asocia este hecho con los cambios en la textura que puede llegar a tener el fruto. Las principales pectinas son unidades no ramificadas de ácido anhidrogalacturónico de tamaño variable, con proporciones variadas de carbohidratos como arabinosa, galactosa, etc. Estas sustancias pueden estar entre el 0,5-1% del peso fresco del fruto (existe un equilibrio entre degradación y síntesis).

### **1.3.3.3 Proteínas**

En general el contenido de proteínas en la manzana es de 0,26% y a pesar de su bajo contenido se ha identificado que juega un rol importante en la fisiología de maduración del fruto. Mediante el perfil proteómico de manzanas en etapa de maduración y senescencia, Yun *et al.* (2014) observaron alrededor de 400 proteínas, de las cuales 53 pudieron identificarse. El mayor porcentaje de proteínas identificadas son enzimas que intervienen en las diferentes funciones fisiológicas. Se evidenció que estas actúan en distintas funciones fisiológicas: 49% en la respuesta al estrés y defensa, el 34% para producción de energía y metabolismo, 5,7% en la etapa de maduración y senescencia y 3,8% en la estructura celular. Por otra parte, entre los

principales aminoácidos esenciales que se encuentran en este fruto están: alanina, aspartato, serina y ácido glutámico (Wu *et al.*, 2007).

#### **1.3.3.4 Lípidos**

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 los cuales representan entre el 70 y 80% (Wu *et al.*, 2007). Estos compuestos están presentes en la membrana lipo-protéica. Gornás *et al.*, (2014) estudiaron la composición lipídica en la semilla de distintas variedades de manzana e identificaron que los ácidos grasos presentes en mayor proporción son el palmítico (5,8-8,3%), oléico (20,7–29%) y linoléico (59,4-67,9%). Además, se encontraron fitoesteros (usados en industria farmacéutica), así como también escualeno (isoprenoide con actividad antioxidante y precursor de esteroides, colesterol y vitamina D). Los ácidos grasos son los principales promotores de compuestos volátiles de aroma.

#### **1.3.3.5 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 *et al.* (1992) estudiaron la composición de ácidos orgánicos y sus cambios, dentro de lo cual observaron que el contenido ácido málico disminuyó durante la etapa de crecimiento del fruto y el almacenamiento, mientras que el ácido cítrico siguió una tendencia similar. La disminución en el contenido de estos ácidos durante el desarrollo se puede atribuir a un efecto de dilución provocado por el aumento de la masa durante la fase de crecimiento celular. En el almacenamiento, la tasa de respiración aumenta, por lo tanto, se genera disminución del ácido málico ya que este es el sustrato metabólico principal luego de los azúcares para que se lleve a cabo el proceso de respiración (Sturmo y Stamparo, 1999).

#### **1.3.3.6 Pigmentos**

La gama de colores en las manzanas es muy amplia, va desde el verde (*Granny Smith*) hasta el rojo (*Red Delicious*) y las variedades bicoloradas (*Gala*). El color en las manzanas es el resultado de la existencia de varios pigmentos presentes en las primeras capas de células de la epidermis como: clorofila (verde), carotenoides (verde/amarillo) y antocianinas (rojo). La clorofila tiende a desaparecer al inicio de la maduración de la fruta (Felicetti y Schrader, 2009).

Saure (1989) establece que el desarrollo de una coloración adecuada es importante ya que una coloración deficiente puede afectar el valor comercial de los frutos. Es por este motivo que muchas veces se propone retrasar la fecha de cosecha para esperar que la fruta mejore su coloración en la planta. Entre los factores que regulan el desarrollo de color se encuentran: la variedad, la disponibilidad de azúcares durante el desarrollo y maduración del fruto (importante relación hoja:fruto), la temperatura, el contenido de etileno. Así también se ha evidenciado la influencia de algunos elementos minerales: el N<sub>2</sub> en exceso se ha relacionado con una disminución del color, existe, una correlación positiva entre el contenido de clorofila y Nitrógeno en la piel, relevante para la variedad. *Granny Smith*. El Manganese estaría también relacionado con una mayor retención del color de fondo de la fruta. El Potasio, también es un mineral relevante en el desarrollo de color en la manzana.

#### **1.3.3.7 Vitaminas**

El tipo y la cantidad de vitamina en la manzana dependen de la variedad. La Vitamina C es la de mayor importancia. En general la manzana contiene alrededor de 4,60 mg de vitamina C (se encuentra como ácido ascórbico y en su forma reducida como ácido dehidroascórbico) y 54 iu de Caroteno (Pro Vitamina A) por cada 100 g de fruta (Sinha, 2006). Existe también en muy pequeñas cantidades vitaminas del complejo B, como ácido pantoténico, ácido Nicotínico, tiamina. A más de ello es fuente discreta de vitamina E o tocoferol, que posee acción antioxidante e interviene en la estabilidad de las células sanguíneas (Hulme, 1970).

#### **1.3.3.8 Fitoquímicos: compuestos bioactivos**

Los compuestos fenólicos constituyen la mayor fuente de antioxidantes en frutas y hortalizas, siendo su cuantificación una práctica común al momento de seleccionar genotipos, etapas de maduración, condiciones de almacenamiento y de procesamiento, con el objetivo de obtener alimentos frescos y procesados con alto potencial de protección contra radicales libres (Sanchez-Rangel *et al.*, 2013). Por ejemplo, la presencia de estos compuestos fitoquímicos en manzanas ha mostrado beneficios importantes sobre la salud, es así que se le han atribuido propiedades como capacidad antioxidante y acción anti-proliferativa de células anticancerígenas, además de prevenir enfermedades crónicas en humanos. La concentración de estos compuestos dependerá de factores como: variedad, cosecha, almacenamiento, procesamiento, así como también de la parte del fruto (cáscara o 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 piel, por lo tanto, ésta tendrá mayor actividad antioxidante y alta bioactividad (Boyer y Liu, 2004, Piagentini y Pirovani, 2017).

Numerosos autores han determinado que existen diferencias significativas en el contenido de polifenoles totales, capacidad antioxidante, así como en atributos fisicoquímicos entre las distintas variedades de manzana (Vrhovsek *et al.*, 2004; Piagentini y Pirovani. 2017). El almacenamiento en general no afecta de manera significativa el contenido de fitoquímicos, sin embargo, el procesamiento de la manzana con la consiguiente eliminación de la cáscara resulta en una disminución significativa de compuestos fenólicos, ya que estos están ubicados mayoritariamente en este tejido (Boyer y Liu, 2004). Piagentini y Pirovani (2017) determinaron que el contenido fenólico y la capacidad antioxidante de la cáscara de manzanas fue 2-5 veces mayor que la obtenida en la pulpa para las 5 variedades estudiadas. Los mismos autores indican que obtener manzanas frescas cortadas con cáscara, aumentaría la actividad antioxidante en 65-78% y la ingesta de compuestos bioactivos en 28-56%.

Es conocido que la manzana es una buena fuente de compuestos bioactivos, pero su susceptibilidad a la degradación oxidativa de compuestos fenólicos ha requerido la incorporación de antioxidantes entre los cuales se pueden incluir otros compuestos fitoquímicos. Tal es el caso de Betoret *et al.* (2012), que utilizaron jugo de mandarina para enriquecer manzanas variedad Granny Smith mediante tecnología de impregnación por vacío (IV), observando efectos favorables en el potencial saludable del producto terminado, efecto similar que se observa cuando se impregna con ácido ascórbico. Compuestos como calcio, hierro, curcumina, vitaminas, probióticos e incluso quercetina proveniente de extractos de la misma piel de manzana, han sido utilizadas para mejorar las características en diferentes matrices vegetales, obteniendo resultados favorables (Bellary y Rastogi, 2016).

### **1.3.4 Aspectos fisiológicos relevantes**

#### **1.3.4.1 Pardeamiento enzimático**

La acción de la enzima polifenoloxidasa (PPO) da como resultado la generación de quinonas reactivas que pueden actuar con sustratos como son los flavonoides y derivados, estas quinonas producidas contribuyen a generar una pigmentación marrón. La PPO (ubicada en el citoplasma) es activada como resultado de la disrupción de la integridad de la célula (corte) ya que se pone en contacto con los compuestos fenólicos presentes en la vacuola. El pardeamiento

enzimático se da cuando los substratos fenólicos, la PPO y el oxígeno molecular (O<sub>2</sub>) se unen bajo condiciones apropiadas de pH, temperatura y actividad de agua (Piagentini *et al.*, 2012).

Como se había indicado anteriormente, las manzanas son ricas en polifenoles, por lo tanto, son muy susceptibles a la oxidación enzimática. La pulpa de las manzanas contiene derivados de ácidos hidroxicinámicos, los cuales son los más importantes fenoles en manzanas maduras, de estos, el que predomina es el ácido clorogénico, los segundos más importantes son las catequinas. Estos sustratos son importantes para que se lleve a cabo el oscurecimiento enzimático. Diferentes estudios han informado que la actividad de la PPO en frutas como la manzana se encuentra principalmente en el centro de ella y de forma secundaria cerca de la cáscara. Asimismo, se menciona la relación de la PPO en cuanto a su ubicación dentro de la célula y el momento de maduración de la fruta, siendo que cuando está más madura, la PPO se localiza en vacuolas dentro de la célula, mientras que en la fruta inmadura se localiza en organelos diversos. Conforme avanza la maduración de la manzana, la actividad de la PPO aumenta en la cáscara y disminuye en la pulpa (Ferreira *et al.*, 2010; García y Barret, 2002).

#### **1.3.4.2 Fisiología y bioquímica: Respiración**

Al igual que otros organismos vivos, las manzanas después de su cosecha presentan funciones vitales como la respiración, proceso que les permite obtener energía para mantener la vida. Para ello toman O<sub>2</sub> de la atmósfera y liberan CO<sub>2</sub>, la energía proviene de la oxidación de las reservas propias de almidón, azúcares, ácidos orgánicos, entre otros metabolitos. Al cosechar la fruta y al sufrir algún tipo de lesión como el corte en los vegetales mínimamente procesados, se incrementa el nivel de respiración, dichas reservas se van consumiendo, se pierden y el producto se deteriora; por lo tanto, la velocidad con la que se consumen es un factor determinante para conocer su vida útil (Baldwin y Bai, 2011). Los factores que afectan la tasa de respiración son: temperatura, variedad, exposición al etileno, daños mecánicos, tamaño del fruto estado de desarrollo; la alteración de uno de estos factores tendrá impacto en la tasa de respiración (Castelló *et al.*, 2006).

La manzana es un fruto climatérico que presenta un pico típico en la tasa de respiración que precede o es paralela a un aumento autocatalítico de la producción de etileno, por tanto, se verá afectada por este compuesto. El climaterio respiratorio se disminuye con temperaturas de almacenamiento por debajo de los 10°C (Kahn, 2015). La medición o estimación de la tasa de respiración se pueden basar en la determinación de la variación de cada componente del proceso

de la respiración ( $O_2$ ,  $CO_2$ , agua, y el calor de respiración). Con mayor frecuencia, se mide la producción de  $CO_2$  o la tasa de consumo de  $O_2$ .

Dependiendo de la variedad de manzana, estas tendrán diferente tasa de respiración, por tanto, se debe tener en cuenta estos valores para definir las condiciones de almacenamiento; a  $0,5^\circ C$  tienen los siguientes valores de respiración: Granny Smith ( $2-4 \text{ ml Kg}^{-1} \text{ hr}^{-1}$ ), Red delicious ( $2-5 \text{ ml Kg}^{-1} \text{ hr}^{-1}$ ), Golden Delicious ( $3-6 \text{ mL Kg}^{-1} \text{ hr}^{-1}$ ), Gala ( $4-6 \text{ mL Kg}^{-1} \text{ hr}^{-1}$ ), Fuji ( $4-6 \text{ mL Kg}^{-1} \text{ hr}^{-1}$ ). (Fagundes *et al.*, 2013; University of California, 2017)

## 1.4 MINIMO PROCESAMIENTO

### 1.4.1 Etapas generales para la elaboración de manzana mínimamente procesada

- Selección y clasificación.

La calidad de los productos frescos cortados, teniendo en cuenta tanto sus atributos fisicoquímicos como su valor nutricional o potencial saludable, dependerá de la calidad de la fruta entera, que puede variar según el cultivar utilizado. Esta es la razón por la que la selección del cultivar es probablemente uno de los pasos más importantes en el procesamiento de frutas frescas cortadas. La elaboración de frutas mínimamente procesadas debe comenzar con la selección del cultivar más adecuado, evaluando características como la textura de la pulpa, compuestos bioactivos y susceptibilidad al pardeamiento, entre otros atributos fisicoquímicos (Wolfe *et al.*, 2003; Ancos *et al.*, 2009; Piagentini *et al.*, 2012; Piagentini y Pirovani, 2017). Se han estudiado 5 variedades de manzanas con diferentes requerimientos de hora de frío, y teniendo en cuenta el menor desarrollo de pardeamiento y los mayores valores de firmeza y jugosidad, se determinó que Granny Smith y Princesa serían las variedades más adecuadas para un procesamiento mínimo (Piagentini y Pirovani, 2017).

Luego de la elección del cultivar, la selección es una etapa, que permite remover la materia prima con defectos fisiológicos y físicos. Bansal *et al.* (2015) proponen la selección manual para la obtención de productos de alta calidad, a diferencia de una selección mecánica, ya que es más minuciosa. La clasificación por tamaño permite dirigir la materia prima ya calibrada a la maquinaria de pelado y corte para hacer más eficientes estas operaciones. Existen razones relevantes el momento de tomar la decisión sobre que metodología usar. Se ha evidenciado que la clasificación manual requiere de mucho personal. Y, por otro lado, hoy en día existe en el mercado maquinaria capaz de realizar una inspección externa e interna de cada uno de los frutos durante la línea de producción, por ejemplo, un sistema de control de calidad que se basa en la

evaluación del color (varias fotografías periféricas del fruto mientras una banda lo mantiene en rotación), el peso (mediante palas mecánicas que levantan al fruto) y el estado interno del fruto (a través de sensores infrarrojos).

Luego de que se ha clasificado la materia prima, se recomienda que esta sea refrigerada y conservada temporalmente hasta el procesamiento a temperaturas entre 0 y 10°C.

- Limpieza, y pre-lavado-desinfección

La limpieza y pre-lavado son operaciones cuya finalidad es la de eliminar material extraño como polvo, hojas, residuos de plaguicidas, así como también para reducir la carga microbiana superficial del fruto proveniente del campo. El pre-lavado suele realizarse con agentes sanitizantes (generalmente soluciones cloradas) y puede acompañarse con agentes surfactantes. Cabe mencionar que esta etapa también suele utilizarse como una forma de pre enfriamiento. Es por ello que la calidad de agua que se utiliza en la elaboración de estos productos debe ser de calidad microbiológica.

- Pelado.

Es opcional dependiendo del producto a obtener. Puede ser de forma manual o mecánica, y se busca, en cualquiera de los métodos que se elija, evitar la pérdida de pulpa debido a que representa bajos rendimientos al productor, por lo que los equipos deben ser adecuadamente calibrados. Se puede realizar de dos maneras:

- **Manual.**- con el uso de cuchillo o peladores de manzana.
- **Mecánico.**- puede ser automatizado o semiautomatizado.

- Descorazonado.

Se realiza tanto en manzanas peladas como no peladas. Esta etapa también permite la eliminación de las semillas y, por lo tanto, un posterior procesado únicamente de la parte comestible.

- Cortado.

Los estilos de corte de las manzanas son: cubos, en cascos y en rodajas. En general cuanto mayor es el grado de corte, la manzana mínimamente procesada es más susceptible al deterioro (Alday, 2012).

En el mercado existen sistemas diseñados para realizar las etapas de pelado, descorazonado y cortado de forma continua (Yildiz, 2017).

- Lavado, desinfección y enjuague posterior al corte

Esta etapa debe cumplir con varios objetivos, entre ellos eliminar los jugos celulares producto del corte realizado, y reducir la carga microbiana; es por ello que generalmente se realiza con solución clorada y en una sala aislada con ingreso restringido (Sala blanca o sala limpia) de manera de evitar la contaminación cruzada (Yildiz, 2017). Hoy en día, se buscan tratamientos que sean amigables con el ambiente, como es el caso del uso de: ácido peracético, peróxido de hidrógeno, ácidos orgánicos débiles como cítrico, láctico y acético, así como también el uso de agua ozonizada, entre otros (Artés-Hernandez *et al.*, 2017; Park *et al.*, 2011; Aguayo, Requejo-Jackman y Woolf, 2015) y a su vez, que sean efectivos para reducir la carga microbiana sin afectar los atributos de calidad (Méndez-Galarraga *et al.* 2018).

En la literatura se puede encontrar recomendaciones generales con el fin de lograr un adecuado de lavado y desinfección (Bansal *et al.*, 2015; Cantwell y Suslow, 2007; Pirovani *et al.*, 2006):

- Debe ser realizado inmediatamente luego de que se ha realizado el corte, con el fin de eliminar fluidos celulares y disminuir la carga microbiana. Si se utiliza agua clorada, es necesario que se considere el tiempo de contacto, la temperatura y el pH.
- Se recomienda que la temperatura sea fría de manera que ayude a disminuir rápidamente la temperatura del producto.
- La concentración de cloro debería mantenerse entre 50-100 ppm. Altas concentraciones de cloro pueden afectar el producto cortado.
- Es necesario que se controle el pH del agua clorada con el fin de que optimizar su potencial bactericida. El valor de pH adecuado es entre 6-7.

Con el fin de eliminar los residuos de sanitizante es necesario que se realice un enjuague, el mismo que generalmente se realiza con agua potable a una temperatura inferior a 4°C, lo cual permitirá que el producto final se encuentre frío al momento de envasarlo (Pirovani, *et. al*, 2006).

- Tratamientos químicos.

Tienen el objetivo de minimizar o prevenir las reacciones enzimáticas de pardeamiento y los cambios en la textura de la fruta procesada. Se han propuesto varios métodos para evitar el pardeamiento enzimático en frutas frescas cortadas, incluida la aplicación de agentes

antioxidantes, recubrimientos comestibles, tratamientos térmico suave o envasado en atmósferas modificadas. Sin embargo, la inmersión en soluciones antioxidantes después del pelado y/o cortado, sigue siendo el método más comúnmente utilizado para controlar el pardeamiento (Cortellino *et al.*, 2015; Rojas-Graü *et al.*, 2007; Rodríguez-Arzuaga y Piagentini, 2018). Rodríguez Arzuaga *et al.* (2013) determinaron que manzanas *Granny Smith* frescas cortadas tratadas con una solución de ácido cítrico 1% + ácido ascórbico 1% + cloruro cálcico 0.5% tenían valores más altos en textura y apariencia general que las manzanas no tratadas, resultados coincidentes con los reportados por Pereyra (2011).

El ácido cítrico se encuentra de manera natural en gran cantidad de frutas, especialmente en cítricos y es uno de los acidulantes más ampliamente usados en la industria de alimentos. Típicamente se usa entre 0,5-2% (p/v) para prevenir el oscurecimiento en frutas y hortalizas. El efecto inhibitorio que presenta el ácido cítrico sobre la PPO se debe a la reducción del pH por debajo del óptimo de la enzima, así como también de agente quelante del cobre del sitio activo de la enzima. (Chen *et al.*, 2016; Ruiz-Cruz *et al.*, 2005).

El ácido ascórbico es un antioxidante seguro para alimentos (GRAS), aprobado por la FDA para su uso en frutas para prevenir el oscurecimiento, es soluble en agua y forma sales neutras. También actúa como un secuestrador de O<sub>2</sub>, al remover el oxígeno molecular en las reacciones de la PPO. Este antioxidante no es tan efectivo como los sulfitos para inhibir el oscurecimiento enzimático, ya que tiene menor estabilidad y penetración, es por ello que se recomienda su aplicación a través de técnicas como impregnación al vacío, inmersión o rociado sobre la superficie de la matriz vegetal (Ruiz-Cruz *et al.*, 2005).

En los últimos años, se ha establecido la necesidad de evaluar el efecto inhibitorio de compuestos naturales y no tóxicos sobre la actividad de las enzimas involucradas en el pardeamiento enzimático y su aplicabilidad en la industria alimentaria para reemplazar los antioxidantes sintéticos. Se ha demostrado que la aplicación de infusiones 1 y 2% de yerba mate a un extracto de la enzima PPO de manzanas *Princesa* tiene un importante efecto inhibitorio sobre la actividad de la enzima, y su combinación con ácido cítrico más ácido ascórbico incrementó la inhibición, mostrando un efecto sinérgico (Martín *et al.*, 2010). Rodríguez-Arzuaga y Piagentini (2018) determinaron que una solución con infusión de yerba mate combinada con ácidos cítrico y ascórbico aplicada a las manzanas *Granny Smith* frescas cortadas redujo el desarrollo del pardeamiento, aumentando su potencial saludable, sin ningún efecto perjudicial sobre los atributos sensoriales, en concentraciones de 1.2, 0.9 y 1% respectivamente (Rodríguez Arzuaga y Piagentini, 2018).

- Ecurrido.

Permite eliminar el agua superficial que se encuentra en la fruta mínimamente procesada y reducir los riesgos de proliferación microbológica. Se han identificado tres tipos: por centrifugación, por corriente de aire forzado y por vibración. Posterior a esta etapa se puede hacer el uso de radiación UV-C como otra barrera microbológica.

- Envasado

Es indispensable que, como fase previa al envasado, se realice un control o selección final, el cual permitirá eliminar producto defectuoso, o algún material no procedente al producto en elaboración. Posteriormente se realiza el fraccionado (pesado), el cual permite el llenado adecuado del envase de acuerdo a la porción establecida, sea en bandeja o en bolsas. Y finalmente se realiza el envasado; el tamaño o peso de la porción depende del productor, de acuerdo al tipo de mercado al cual se destine el producto. En general se recomienda que este tipo de productos sean envasados en atmósferas modificadas (90% N<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub> y 5% CO<sub>2</sub>) (Anese *et al.*, 1997; Cortellino *et al.*, 2015; Rocculi *et al.*, 2004; Soliva *et al.*, 2002; Soliva *et al.*, (2004) y Soliva *et al.*, 2005). Se ha identificado envases institucionales para grandes cantidades de producto, y porciones individuales.

#### **1.4.2 Parámetros de calidad de manzanas frescas cortadas**

La calidad y vida útil estimada de manzanas mínimamente procesadas es afectada por muchos factores incluyendo el cultivar, estado de madurez, condiciones de procesamiento, atmósfera y temperatura de almacenamiento, entre otros (Saftner, 2005).

El producto terminado en su envase debe presentarse seleccionado, limpio, escurrido, fresco, turgente y del color normal. No debe presentar deterioro por microorganismos, decaimiento, decoloración, deshidratación, secado excesivo o piezas defectuosas. No debe presentar olores extraños ni colores anormales. Debe estar libre de materias extrañas de origen vegetal distintas del producto; de origen animal o mineral, o cualquier agente que pueda comprometer la calidad e inocuidad del producto. Los materiales de empaque deberán cumplir con la normativa vigente y no deben enmascarar el color del producto que contienen. Los envases deben presentarse intactos. Deberá mantenerse la cadena de frío ( $T < 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) durante todas las etapas de la comercialización (cuando corresponda) (Código Alimentario Argentino, 2013).

- **Apariencia visual y color**

La apariencia visual de una fruta mínimamente procesada es el atributo más inmediatamente obvio para el consumidor, y afecta fuertemente su vida útil comercial. La apariencia, que se ve significativamente afectada por el color, es uno de los primeros atributos utilizados por los consumidores para evaluar la calidad de los alimentos (Toivonen y Brummell, 2008). El color también es un factor crítico en la elección de alimentos e influye en la percepción de otras características sensoriales. El color es el resultado de una variedad de factores tanto endógenos como exógenos a los alimentos que pueden verse afectados por la genética y los tratamientos pre y postcosecha (Piagentini *et al.*, 2012).

El color en las frutas está determinado tanto por pigmentos naturales como por pigmentos que resultan de las reacciones de pardeamiento, entre otras. El procesamiento mínimo disminuye la calidad visual de las frutas debido a que el corte induce una serie de alteraciones fisiológicas; que deben minimizarse para obtener productos de calidad similares a los frescos (Abott, 2004; Piagentini *et al.*, 2012).

El pardeamiento de frutas y productos derivados, principalmente en frutas con pulpa blanca como manzanas y peras, es uno de los principales problemas en la industria alimentaria y se cree que es probablemente la primera causa de pérdida de calidad durante el manejo, procesamiento y almacenamiento postcosecha (Pérez-Cabrera *et al.*, 2011; Piagentini *et al.*, 2012; Betoret, 2015).

Para estudiar la cinética de las reacciones de pardeamiento, generalmente se determina la cinética de cambio en los parámetros instrumentales de color, en lugar de la determinación del consumo de reactivos (fenoles) o la formación de productos (melaninas), (Piagentini *et al.*, 2012; Rozycki y Piagentini, 2016).

- **Sabor y aroma (*Flavor*)**

La acidez titulable, contenido de sólidos solubles, relación de sólidos solubles y acidez, y producción de compuestos volátiles, son los atributos físico-químicos que más se han relacionado con los atributos de sabor y aroma (*flavor*) (Saftner *et al.*, 2005). Los resultados que se obtienen después del tiempo de vida útil dependen del cultivar y se observa una reducción en la acidez de manera acelerada, lo cual se correlaciona con el incremento en la tasa de respiración (Kim *et al.*, 1993).

- **Textura**

Las propiedades texturales de la pulpa de manzana están asociadas con las características físicas de las células, lo cual está relacionado con los patrones de empaquetamiento de las células. La pulpa es un tejido de células parenquimáticas con paredes que no son rígidas, por lo cual la firmeza es el resultado de la presión interna (turgor) desarrollada en cada célula (Drazeta, 2002).

La pérdida de firmeza que puede presentarse en el producto es debido a los cambios en la presión de turgor, la estructura y composición de las paredes celulares. El ión calcio y las enzimas pécticas juegan un rol importante en el proceso de ablandamiento, y algo que es común observar es la solubilización de las sustancias pécticas (Temiz y Aihan, 2017).

La textura es un atributo de calidad crítico que ayuda tanto al consumidor como al productor a determinar la aceptabilidad.

### **1.4.3 Tratamientos de Impregnación al Vacío**

Una alternativa para la conservación de las características nutricionales y sensoriales de los productos mínimamente procesados es la utilización de tecnología de Impregnación por Vacío (IV) (Castelló *et al.*, 2006; Andrés *et al.*, 2001; Alzamora *et al.*, 2000). La IV es una tecnología que permite obtener cambios en la matriz alimentaria en tiempos cortos, debido a que la transferencia de masa es rápida gracias al fenómeno denominado Mecanismo Hidrodinámico (MHD), el cual aumenta la superficie de contacto con la fase líquida, haciendo que el intercambio sólido-líquido sea más rápido (Andrés *et al.*, 2001). Dicho mecanismo ocurre cuando la fase líquida que rodea al alimento, penetra a través de los poros del producto, es por ello que la IV es aplicable a matrices alimentarias porosas (Sosa, 2012).

El proceso de IV consta de dos etapas: la primera en la que la fruta es sumergida en una solución osmótica (SO) y sometida a presión de vacío, en esta etapa el gas ocluido en los poros de la matriz vegetal se expanden y fluyen hacia el exterior, seguida de una segunda etapa de relajación, donde se restaura la presión atmosférica; aquí el gas residual es comprimido y el líquido externo fluye al interior de los poros, permitiendo así el enriquecimiento de la matriz alimentaria con los compuestos deseados. (Andrés *et al.*, 2001).

Los procesos de IV suelen estar dirigidos a la obtención de productos mínimamente procesados, a la obtención de productos de humedad intermedia y a la crioprotección, puesto que permite un intercambio de solutos por medio de fenómenos naturales, como la ósmosis y la difusión, utilizando presiones diferentes a la atmosférica. Cuando se usan presiones

subatmosféricas en alimentos porosos, los fenómenos de difusión y ósmosis intervienen para favorecer el intercambio de los solutos entre la membrana celular de los alimentos y el medio que los circunda. La presencia de poros en los alimentos puede atribuirse a muchos factores, uno de ellos es el espacio intercelular que se encuentra en el tejido parenquimático (Derossi *et al.*, 2012; Sousa, 2005). El fenómeno de ósmosis se produce por la transferencia de agua presente en el alimento hacia la solución osmótica, a través de la membrana celular semipermeable del tejido vegetal, que permite el paso del agua libre y limita el paso de los solutos. En este fenómeno el transporte de agua se produce en la profundidad del tejido, mientras que el soluto queda localizado en una capa superficial. El fenómeno de difusión se produce mediante transferencia de soluto de la solución concentrada hacia el alimento (Sousa, 2005, Andrés *et al.*, 2001). La membrana y pared celular al ser unidades biológicas vivas pueden encogerse o estirarse por la influencia del crecimiento o de la turgencia generada dentro de la célula y por eso pueden modificarse por efecto de la temperatura y la presión, factores que facilitan la entrada de soluto por difusión (Fito y Chiralt, 2000).

Todos estos procesos internos pueden generar cambios en la matriz vegetal que alteran su condición de fresca como consecuencia de los flujos de materia en el tejido; asimismo ocurren cambios de tipo estructural como alteración celular por la deformación y rotura de elementos celulares asociados con la deshidratación y los intercambios de gas-líquido. De la misma manera todos estos fenómenos provocan alteraciones en las propiedades macroscópicas del producto, tales como las propiedades ópticas y mecánicas, que están relacionados con la apariencia y textura del alimento, respectivamente (Alzamora *et al.*, 1997; Bansal *et al.*, 2015).

El proceso de IV puede afectar la respiración de la fruta mínimamente procesada (Castello *et al.*, 2010). La deshidratación osmótica, con y sin pulso de vacío, en papaya, mango, pomelo, manzana y frutilla, provocó una reducción drástica del consumo de O<sub>2</sub> en comparación con las muestras frescas (Castelló *et al.*, 2009, 2006). Sin embargo, en muchos casos, la producción de CO<sub>2</sub> aumenta justo después del tratamiento, dando evidencia del desarrollo de metabolismos fermentativos. Por otro lado, es importante considerar que los cambios de presión que ocurren en el procesamiento pueden generar deformación en el producto debido a las propiedades viscoelásticas de la matriz sólida (Andrés *et al.*, 2001).

Se ha comprobado que la impregnación al vacío puede mejorar procesos a nivel industrial como salado, deshidratación osmótica, acidificación, adición de conservantes, entre otros. Se ha estudiado también el uso de esta tecnología en la incorporación de probióticos en matrices vegetales (Rodríguez-Barona *et al.*, 2012). Estudios con impregnación por vacío de algunos

compuestos como calcio, zinc y vitamina C en frutos como manzanas, han mostrado resultados positivos que indican que esta técnica es viable para aumentar el valor nutricional y sensorial de los materiales biológicos de origen vegetal (Joshi y Rupasinghe, 2010; Jeon y Zao, 2005). Además del uso del lactato de calcio para mejorar la calidad en uvas (Moraga, 2009).

Esta tecnología ofrece la posibilidad de obtener productos frescos mínimamente procesados, que en algunos casos tienen mejores características sensoriales, una mayor estabilidad y alto valor nutritivo y potencial saludable (Fito y Chiralt, 2000; Castello *et al.*, 2006; Castello *et al.* 2010). En ese sentido, es fundamental establecer las condiciones de proceso adecuadas puesto que, si el tiempo de inmersión de la fruta en la SO es demasiado largo, podría haber un riesgo de aumento en la pérdida de moléculas bioactivas, nutrientes y algunas vitaminas solubles, que pueden difundir en la SO junto con el agua, de la misma manera se podrían generar daños en el tejido y por ende cambios sobre las propiedades sensoriales del producto (Sosa, 2012; Talens *et al.*, 2002). Sin embargo, el uso adecuado de esta tecnología permitiría incorporar compuestos solubles perdidos y además obtener productos mínimamente procesados con mejores características sensoriales, nutricionales y mucho más estables. Paes *et al.* (2007) determinaron que los parámetros del proceso dependen del objetivo sobre el cual se está trabajando, es decir, si se busca un producto más deshidratado o un producto con mayor ganancia de sólidos. Por lo cual, resulta evidente la necesidad de optimizar las tecnologías aplicadas en el procesamiento y conservación de frutas mínimamente procesadas, poniendo énfasis en la retención y/o incremento de las características de calidad y su duración en el tiempo.

## 1.5 OBJETIVOS

### 1.5.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de las variables de proceso en la impregnación por vacío sobre los atributos de calidad de manzanas frescas cortadas.

### 1.5.2 Objetivos específicos

- Poner a punto un sistema de impregnación por vacío (IV) a escala de laboratorio, para frutas mínimamente procesadas.
- Determinar las variables de proceso adecuadas en la IV, que permitan mantener o mejorar la calidad de manzanas var. *Granny Smith*, evaluando la presión de vacío, el tiempo de vacío/relajación durante el proceso IV, la adición de ácido cítrico (AC) más ascórbico (AA) en la solución osmótica de impregnación (SO) en manzanas frescas cortadas.
- Evaluar y modelar los cambios en el contenido de sólidos solubles, pH,  $a_w$ , ganancia de sólidos, pérdida de agua, reducción de peso, propiedades ópticas, propiedades mecánicas, contenido de fenoles totales, capacidad antioxidante y vitamina C de manzanas frescas cortadas en el día de procesamiento y luego de siete días de almacenamiento a 1,5 °C, en manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío suave.
- Determinar en función de las variables de proceso, las condiciones operativas que incrementen la vida útil y potencial saludable en manzanas var. *Granny Smith* frescas cortadas impregnadas por vacío.

## 2 MATERIALES Y MÉTODOS:

### 2.1 PUESTA A PUNTO: METODOLOGÍA DE IMPREGNACIÓN POR VACÍO

#### 2.1.1 Matriz vegetal

Se emplearon manzanas variedad *Granny Smith* obtenidas en el mercado local (Figura 2.1), 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 o defectos, y se colocaron en mesada hasta que alcancen una temperatura ambiente de alrededor de 22 °C. Posteriormente se lavaron, pelaron, descorazonaron, cortaron en cubos de 1,5 cm de lado y se destinarán a los análisis y tratamientos que se detallan a continuación.



**Figura 2.1** Manzana var. *Granny Smith*.

#### 2.1.2 Equipo de impregnación

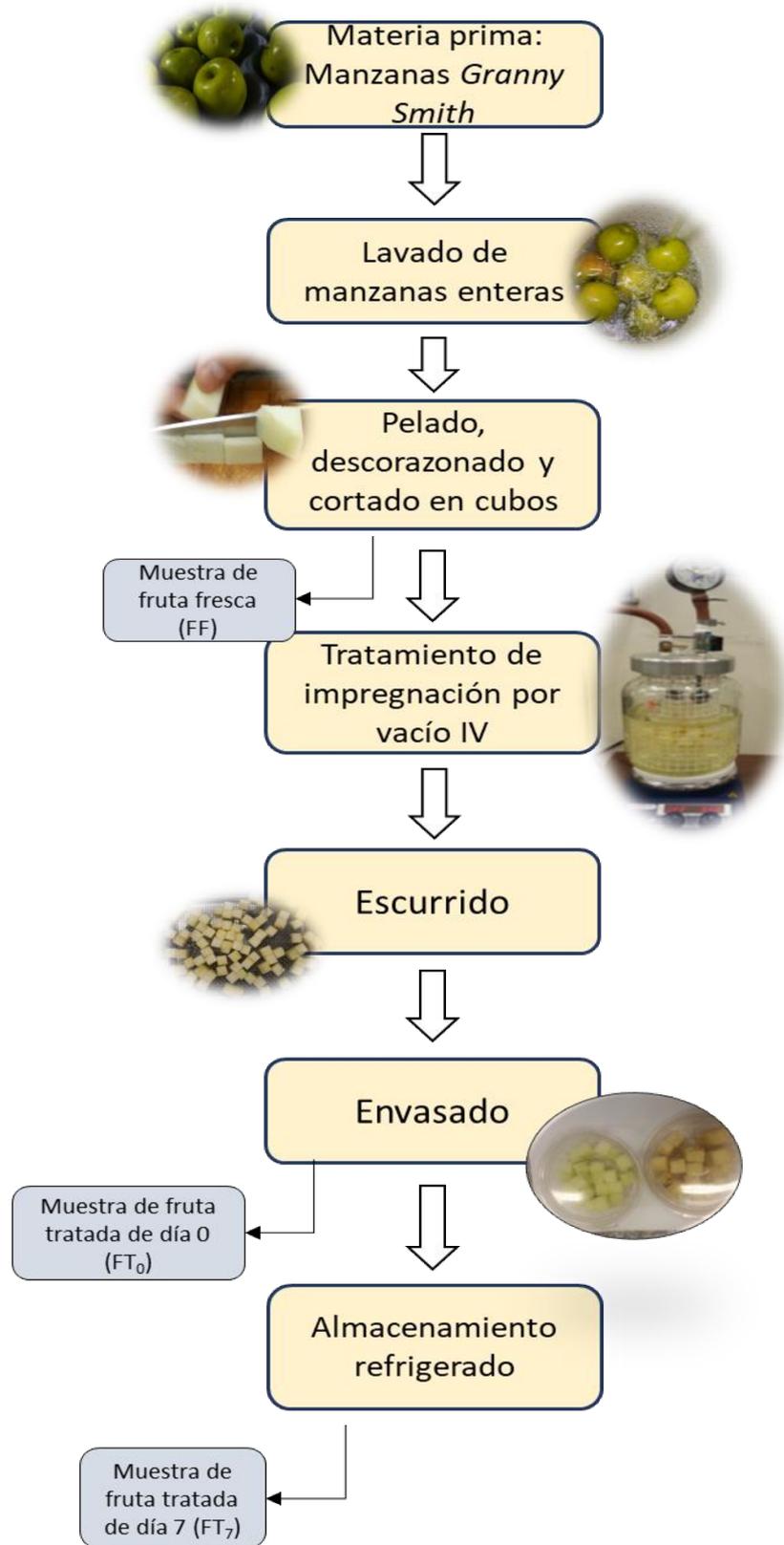
El proceso de impregnación se realizó en un frasco de vidrio de 3 L de capacidad, con tapa rosca provista de dos válvulas, una se conectó a un vacuómetro y la otra a una bomba de vacío (Bombacio 31 042/169). En esta última conexión se ubica una válvula de dos vías que permite la regulación del caudal del aire y por ende la presión en el interior del recipiente. Entre la bomba y el recipiente de impregnación se coloca un kitasato con silica gel que evita que la humedad pase a la bomba. Como se observa en la Figura 2.2, el frasco es colocado sobre un agitador magnético, el cual permitirá que exista homogenización mediante la agitación de la solución osmótica (SO) durante el proceso de impregnación (660 rpm).



**Figura 2.2** Sistema de Impregnación por vacío.

Luego de conectar el sistema de vacío, se aseguró de que la tapa del frasco se encuentre bien cerrada, tomando en cuenta que el o-ring esté bien colocado, de forma tal que al momento de ejercer vacío no existan fugas de aire y así mantener la presión constante, tanto a presiones de vacío altas (667,3 mbar) como bajas (67,7 mbar), siendo estos requisitos indispensables para realizar los distintos tratamientos. Los cubos de manzana se colocaron en una canastilla de malla plástica con tapa del mismo material, de manera de mantener las muestras sumergidas dentro de la SO.

En la figura 2.3 se esquematiza el proceso de producción de manzanas mínimamente procesadas impregnadas por vacío, el flujograma inicia en la recepción de la materia prima hasta obtener el producto final, cada etapa se describirá posteriormente. Las etapas del proceso en que se realiza la toma de muestras para análisis también se muestran en la figura 2.3.

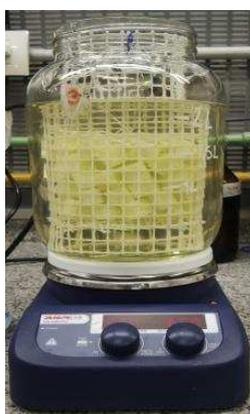


**Figura 2.3** Flujo de proceso para la producción de manzanas mínimamente procesadas impregnadas por vacío.

## 2.2 ENSAYOS PRELIMINARES DE IMPREGNACIÓN POR VACÍO DE MANZANAS *GRANNY SMITH* FRESCAS CORTADAS

El objetivo fue estudiar el impacto de la presión de vacío (P), el tiempo de vacío/relajación (t), y el agregado de antioxidantes (mezcla de ácidos ascórbico y cítrico) sobre la calidad de fresco de manzanas mínimamente procesadas.

Los ensayos se realizaron de acuerdo a un diseño factorial de tres variables en dos niveles ( $2^3$ ): presión de vacío ( $P_1$ :67,7 y  $P_2$ : 667,3 mbar); tiempo de vacío/relajación ( $t_1$ : 3/3 y  $t_2$ : 10/10 min) y el agregado de antioxidantes (mezcla de ácidos ascórbico, AA, y cítrico, AC) (Tabla 2.1). Los cubos de manzana se colocaron en canastillas plásticas construidas especialmente con el fin de asegurar que durante el proceso de impregnación los cubos se mantengan siempre sumergidos en la solución osmótica (SO) (Figura 2.4). Posteriormente se sumergen en la SO de sacarosa de 30 °Bx, con una relación fruta: jarabe 1:10 p/p, a temperatura ambiente (22 °C). El frasco de impregnación se coloca sobre un agitador magnético ( $r= 660$  rpm), de manera que la solución osmótica circule de forma homogénea alrededor de todas las muestras (Figura 2.4). Luego se cierra el frasco y se conecta al sistema de vacío, se enciende la bomba de vacío y se regula la presión hasta lograr el valor deseado durante el tiempo establecido (tiempo de vacío:  $t_v$ ). Después de este período, se restableció la presión atmosférica por un lapso de tiempo definido ( $t_r$ ). Al final de cada tratamiento de IV, los cubos fueron ubicados en una malla durante 1 min para escurrir la SO presente en la superficie, luego fueron colocados en papel absorbente para retirar el excedente de SO por un tiempo de 30 s de un lado y 30 s del otro. finalmente los cubos se analizaron.



**Figura 2.4** Proceso de Impregnación por Vacío de manzanas *Granny Smith*

**Tabla 2.1** Variables y niveles del ensayo preliminar

Variables	Niveles
Presión de vacío, P (mbar)	67,7
	667,3
Tiempo de tratamiento, $t_v$ (min)/ $t_r$ (min)	3/3
	10/10
$C_{AC}$ (%) + $C_{AA}$ (%)	0 +0
	1 + 1

$C_{AA}$ : Concentración de ácido ascórbico;  $C_{AC}$ : Concentración de ácido cítrico.  
 $t_v$ : tiempo de vacío;  $t_r$ : tiempo de relajación

Las respuestas evaluadas fueron los parámetros de transferencia de masa, en el día 0, expresados en porcentaje (%): ganancia de peso (SG), pérdida de agua (WL) y reducción de peso (WR).

También se evaluaron los siguientes atributos tanto en la fruta fresca cortada (FF) como en la fruta tratada por IV (FT):

- SS= sólidos solubles (°Bx)
- pH
- $a_w$ = actividad de agua.
- Parámetros de color:  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*_{ab}$  (Cromaticidad o Saturación),  $h_{ab}$  (ángulo de tono)
- $\Delta E^*_{ab}$  = variación total de color
- F= fuerza máxima (N).

Cada uno de estos atributos evaluados se expresaron como la variación relativa porcentual ( $\Delta Q_i$ ), de la fruta tratada (FT) respecto a la fruta sin tratar (FF), para el mismo día de almacenamiento (Ec. 1).

$$\Delta Q_i \% = \frac{(Q_{FTi} - Q_{FFi})}{Q_{FFi}} \times 100 \quad (\text{Ec. 1})$$

donde:

$Q_i$  = atributo de calidad evaluado el día i

$FF_i$  = fruta fresca cortada sin tratar día i.

**FT<sub>i</sub>** = fruta fresca cortada tratada día i.

**i** = día de análisis.

También se analizó la variación total de color ( $\Delta E^*_{ab}$ ).

Para el análisis estadístico de los resultados se realizó un análisis de varianza y el test de rango múltiple de Tukey para la determinación de diferencias entre tratamientos ( $\alpha \leq 0,05$ ). Se utilizó el software Statgraphics Centurion.

## **2.3 ESTUDIO DEL EFECTO DEL TIEMPO DE VACÍO Y RELAJACIÓN SOBRE LA CALIDAD DE FRESCO DE MANZANAS VAR. GRANNY SMITH IV**

### **2.3.1 Tratamiento de las muestras con Impregnación por vacío:**

A partir de los resultados obtenidos de los estudios preliminares, se determinaron las variables y sus rangos para el estudio del efecto del tiempo de vacío y relajación en el proceso de impregnación por vacío sobre la calidad de manzanas *Granny Smith* frescas cortadas. Se utilizó una solución osmótica de 30 °Bx con la adición de ácido cítrico y ascórbico (1% AC + 1% AA) y la presión de vacío de 67,7 mbar. Las muestras fueron procesadas de manera similar a la descrita en los ensayos preliminares (inciso 2.2) y evaluadas a los 0 y 7 días de almacenamiento a 1,5°C.

### **2.3.2 Diseño experimental**

Los ensayos se efectuaron siguiendo la metodología de superficie de respuesta (RSM) a través de un diseño central compuesto conformado por 11 experiencias, con 3 repeticiones del punto central; con  $t_v = 1,14-14$  min; y  $t_r = 1,14-14$  min. (Tabla 2.2).

**Tabla 2.2** Tiempos de vacío y relajación utilizados para el estudio del proceso de Impregnación por Vacío.

Corrida	Variables Independientes	
	tv (min)	tr (min)
1	14	7,5
2	7,5	7,5
3	7,5	7,5
4	7,5	14
5	3	3
6	3	12
7	1,14	7,5
8	7,5	1,14
9	12	3
10	12	12
11	7,5	7,5

Se evaluaron los parámetros de transferencia de masa, en el día 0, expresados en porcentaje (%): ganancia de peso (SG), pérdida de agua (WL) y reducción de peso (WR).

Otros atributos evaluados tanto en la FF como FT a los 0 y 7 días de almacenamiento fueron:

- **SS**= solidos solubles (°Bx).
- **pH**.
- **a<sub>w</sub>**= actividad de agua.

#### Parámetros de color

- **L\***= parámetro de color L\*.
- **a\***= parámetro de color a\*.
- **b\***= parámetro de color b\*.
- **C\*<sub>ab</sub>**= croma.
- **h<sub>ab</sub>**= ángulo de tono.

- $\Delta E^*_{ab}$  = Variación total de color

#### Propiedades mecánicas:

- **F**= fuerza máxima (N).
- **A**= área bajo la curva hasta F (trabajo).
- **Npicos**= número de picos
- **DL**= distancia lineal.

#### Velocidad de respiración:

- **RR**= velocidad de respiración (ml CO<sub>2</sub> Kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>).

#### Capacidad antioxidante:

- **CA<sub>DPPH</sub>**= capacidad antioxidante por el método DPPH (mg AA Kg<sup>-1</sup> de producto).
- **CA<sub>FRAP</sub>**= capacidad antioxidante por el método FRAP (μmol de Fe<sup>+2</sup> Kg<sup>-1</sup> de producto).

#### Contenido de fenoles totales

- **C\*<sub>CFT-C</sub>**= contenido de fenoles totales (mg AGE Kg<sup>-1</sup>).

Cada uno de estos atributos evaluados se expresaron como la variación relativa porcentual, tal como se indicó en la Ec. 1.

Finalmente, se evaluó también el contenido de ácido ascórbico total (AAT) y ácido ascórbico (AA):

- **C<sub>AA</sub>**= contenido de ácido ascórbico (mg Kg<sup>-1</sup>).
- **C<sub>AAT</sub>**= contenido de ácido ascórbico Total (mg Kg<sup>-1</sup>).

Se estableció una función matemática para cada una de las respuestas en relación a las dos variables independientes:

$$y_{ki} = f(t_v, t_r) \quad (\text{Ec. 2})$$

En donde:

$y_{ki}$  = respuesta k en el día i,

$t_v$  = tiempo de vacío (min),

$t_r$ = tiempo de relajación (min),

$i$ = día de análisis.

La ecuación propuesta para los modelos fue:

$$y_{ki} = \beta_0 + \beta_1 t_v + \beta_2 t_r + \beta_{12} t_v t_r + \beta_{11} t_v^2 + \beta_{22} t_r^2 + \varepsilon_{12} \quad (\text{Ec. 3})$$

En donde:

$\beta_0, \beta_1, \beta_2, \beta_{12}, \beta_{11}, \beta_{22}$  son los coeficientes del modelo y  $\varepsilon_{12}$ = error. Las respuestas  $y_{ki}$  fueron parámetros de transferencia de masa (SG, WL, WR), expresados en porcentaje; parámetros de color ( $L^*, a^*, b^*, C^*_{ab}$  y  $h_{ab}$ ), propiedades mecánicas (F, A, DL,  $N_{picos}$ ), Velocidad de respiración (RR), Capacidad antioxidante ( $CA_{DPPH}$  y  $CA_{FRAP}$ ), Contenido de Fenoles totales ( $C^*_{CFT-C}$ ), expresados en variación relativa porcentual; el contenido de ácido ascórbico y ácido ascórbico total ( $C_{AAi}$  y  $C^*_{AATi}$ ) y finalmente la variación total de color  $\Delta E^*_{ab}$

### 2.3.3 Determinación de las condiciones de proceso óptimas.

Una vez desarrollados los modelos matemáticos para cada respuesta ( $y_{ki}$ ), en función del tiempo de vacío y de relajación durante el proceso de impregnación por vacío, se determinaron las condiciones de proceso más adecuadas para maximizar el potencial saludable y /o extender la vida útil de manzanas frescas cortadas. Para lo cual se utilizó la metodología de optimización de repuestas múltiples (Deringer y Suich, 1980), que permite la optimización simultánea de las repuestas estudiadas.

La optimización de Respuestas Múltiples determina los valores de los factores experimentales (variables independientes  $t_v$  y  $t_r$ ) que satisfacen las características deseadas para más de una respuesta simultáneamente. Esto se hace por la construcción de la función de deseabilidad, basada en los valores de las variables respuesta, ( $Y_{ki}$ ), la cual se maximiza, minimiza o se pone un valor objetivo de acuerdo a la respuesta.

Para usar este procedimiento, primero se deben construir los modelos para cada respuesta en función de las variables independientes en forma individual (polinomio de segundo orden). Luego se define una función de deseabilidad para cada respuesta. La función de deseabilidad  $d$  ( $y$ ) varía entre 0, para una respuesta completamente indeseable, y 1, para una respuesta

completamente deseable. Esta función toma diferentes formas, dependiendo si la respuesta debe ser maximizada, minimizada o alcanzar un valor objetivo (Statgraphics, 2006).

Cuando se realiza la optimización de respuestas múltiples se combinan las múltiples respuestas múltiples en una sola función que puede ser maximizada.

Para combinar las deseabilidades de  $m$  respuestas, se crea una sola función compuesta  $D$  de deseabilidad. Si todas las variables respuestas son consideradas igualmente importantes entonces la función compuesta es la media geométrica de las deseabilidades individuales, calculada por:

$$D = (d_1 \cdot d_2 \dots d_m)^{1/m} \quad (\text{Ec. 4})$$

Si alguna de las respuestas es considerada más importantes que otras. Puede definirse un coeficiente de impacto  $I_j$  para cada respuesta, donde:  $1 \leq I_j \leq 5$

El valor más alto de  $I_j$ , corresponde a la respuesta más importante. La función deseabilidad global  $D$  entonces será definida como el producto de las deseabilidades individuales elevada al coeficiente de impacto.

$$D = (d_1^{I_1} \cdot d_2^{I_2} \dots d_m^{I_m})^{1/\sum I_j} \quad (\text{Ec. 5})$$

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

Se propusieron dos escenarios de optimización:

Optimización 1: minimizar la velocidad de respiración, maximizando los atributos relacionados con la calidad sensorial.

Optimización 2: minimizar la velocidad de respiración maximizando los atributos relacionados con la calidad sensorial y el potencial saludable

#### 2.3.4 Análisis estadístico

Se usó el programa estadístico Statgraphics Centurion para el análisis de los datos a través del análisis de varianza (ANOVA) y para comprobar la idoneidad de los modelos propuestos. Asimismo, permitió ajustar los datos experimentales a las ecuaciones polinomiales de 2° orden

y graficar las superficies predichas a partir de los modelos y realizar operaciones de optimización en los rangos experimentales ensayados.

### **2.3.5 Validación de los modelos obtenidos**

La validación de los modelos obtenidos para cada respuesta se realizó para valores de las variables independientes coincidentes con los valores óptimos de tiempos de vacío y tiempo de relajación obtenidos como se indicó en el punto 2.3.3

Una vez obtenidas las condiciones que optimizaron las respuestas según los objetivos planteados, se realizaron dos nuevos ensayos de impregnación, en dichas condiciones.

Para los ensayos se utilizaron muestras de manzana fresca cortada impregnadas de acuerdo a los tiempos de vacío y relajación determinados en la sección 2.3.3 y mediante el procedimiento descrito en la sección 2.3

Las respuestas evaluadas son las mismas utilizadas para la optimización, es decir, aquellas que corresponden a cada escenario planteado y cuyos modelos fueron significativos.

Los resultados experimentales y los valores predichos por los modelos se compararon estadísticamente para determinar diferencias significativas a través de un t-test.

## **2.4 DETERMINACIONES ANALÍTICAS**

### **2.4.1 Sólidos solubles, pH, actividad de agua y humedad.**

Las muestras de fruta fresca (FF) y fruta tratada (FT) del día cero, así como también aquellas almacenadas por siete días, fueron pesadas y posteriormente trituradas para las diferentes determinaciones analíticas.

La medición de SS se realizó con un refractómetro portátil digital PAL-ALFA (Atago, Tokio, Japón) (Figura 2.5), calibrado con agua destilada. Para la determinación del pH se utilizó un pHmetro Cardy Twin B-113 (Horiba Ltd. Kyoto, Japón) (Figura 2.5). La calibración de este último se realizó utilizando solución buffer de pH 4 y 7. La medición de actividad de agua ( $a_w$ ) se realizó en el equipo Aqualab CX2 (Figura 2.6), cual requiere para su estabilización un tiempo aproximado de 30 min. Finalmente, el contenido de humedad se determinó a través del método 22.013 del AOAC (1984), obteniendo el peso de la muestra húmeda y el peso de la muestra seca a 65 °C, los resultados se expresan en % (p/p). Todos los análisis se realizaron por triplicado.



**Figura 2.5** Refractómetro Atago y pHmetro Horiba



**Figura 2.6** Medidor de  $a_w$  Aqualab

**2.4.2 Determinación de parámetros de transferencia de masa: Ganancia de sólidos, pérdida de agua y reducción de peso.**

A partir de los valores de humedad obtenidos en el punto 2.4.1 se determinaron los parámetros SG (Ec. 6), WL (Ec. 7) y WR (Ec. 8), a partir de las siguientes ecuaciones:

$$SG (\%) = \frac{M_f \cdot (100 - H_f) - M_i \cdot (100 - H_i)}{M_i} \quad (\text{Ec. 6})$$

$$WL (\%) = \frac{M_i \cdot H_i - M_f \cdot H_f}{M_i} \quad (\text{Ec. 7})$$

$$WR (\%) = WL - SG \quad (\text{Ec. 8})$$

En donde:

$M_i$  = masa inicial de la fruta, antes del tratamiento de IV (g)

$M_f$  = masa final de la fruta, luego del tratamiento de IV (g)

$H_i$  = Humedad relativa de la manzana fresca cortada (%)

$H_f$  = Humedad relativa de la manzana fresca cortada tratada IV (%)

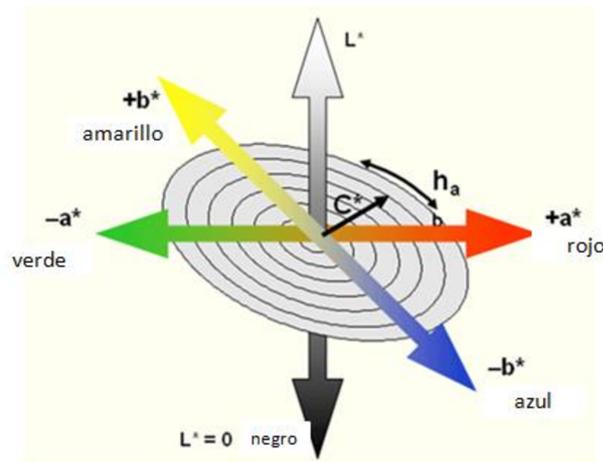
### 2.4.3 Medida instrumental de color

La medición del color se realizó según Piagentini *et al.* (2012); utilizando un espectrofotómetro Minolta CM 508-d a 10° de ángulo del observador con iluminante D65 y SCE (Figura 2.7). La medición se realizó sobre 10 cubos de FF y FT, y se evaluaron los parámetros de acuerdo al sistema CIE L\*, a\* y b\*. La luminosidad varía de L\*=100 (blanco) a L\*=0 (negro); el parámetro a\* indica el grado de componente rojo o verde (a\* > 0 rojo y a\* < 0 verde) y b\* determina el grado de componente amarillo o azul (b\* > 0 amarillo y b\* < 0 azul). También se determinó sus índices derivados: ángulo de tono (h<sub>ab</sub>) y croma (C\*<sub>ab</sub>), en este caso el espacio L\* C\*<sub>ab</sub> h<sub>ab</sub>, usa el mismo diagrama que el espacio L\* a\* b\* pero en coordenadas cilíndricas, que son definidas a partir de los valores obtenidos para a\* y b\* (Figura 2.8). Donde  $C^*_{ab} = (a^{*2}+b^{*2})^{0.5}$  y  $h_{ab} = \arctg(b^*/a^*)$ . Así también se determinó la diferencia de color total  $\Delta E^*_{ab}$  ( $\Delta E^*_{ab} = (\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)^{0.5}$ ); donde:  $\Delta L^* = L^*_{FF} - L^*_{FT}$ ;  $\Delta a^* = a^*_{FF} - a^*_{FT}$ ;  $\Delta b^* = b^*_{FF} - b^*_{FT}$ .

Según Limbo y Piergiovani (2005), la diferencia total de color, se usa en particular para distinguir la diferencia entre dos colores, tal como se indica en la siguiente escala:

- $\Delta E^*_{ab} < 0.2$ : diferencia no perceptible
- $0.2 < \Delta E^*_{ab} < 0.5$ : muy pequeña diferencia
- $0.2 < \Delta E^*_{ab} < 0.5$ : pequeña diferencia
- $2 < \Delta E^*_{ab} < 3$ : diferencia algo perceptible
- $3 < \Delta E^*_{ab} < 6$ : diferencia perceptible
- $6 < \Delta E^*_{ab} < 12$ : fuerte diferencia
- $\Delta E^*_{ab} > 12$ : colores diferentes

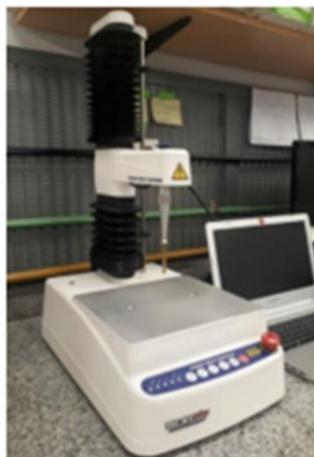


**Figura 2.7** Espectrofotómetro Minolta**Figura 2.8** Representación gráfica de los parámetros de color  $L^*a^*b^*$  y  $L^*C^*_{ab} h_{ab}$ 

#### 2.4.4 Propiedades mecánicas

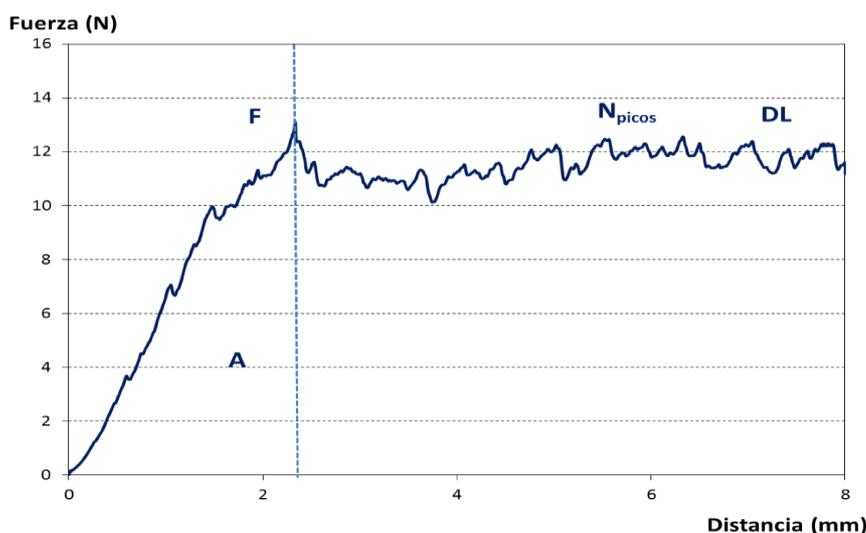
Las mediciones instrumentales de las propiedades mecánicas son generalmente utilizadas para evaluar la textura del fruto. Para medir la firmeza de los frutos son muy usados los ensayos de penetración o punción, en los que se mide la fuerza máxima de punción requerida para que la punta cilíndrica de metal (acero) penetre en la fruta hasta una distancia determinada (Camps *et al.*, 2005).

Las propiedades mecánicas de los cubos de manzanas mínimamente procesadas se evaluaron mediante ensayos de penetración, para lo cual se utilizó un equipo analizador de textura TA.XT Plus Stable Micro Systems (Godalming, Surrey, Reino Unido) equipado con una celda de carga de 50 N y con una punta cilíndrica de acero inoxidable de 4 mm de diámetro (Figura 2.9).

**Figura 2.9** Texturómetro TA.XT Plus Stable Microsystems con probeta de punción.

En cada determinación, la punta se desplazó desde la superficie de cada cubo de manzana hasta una distancia de penetración de 8 mm, a una velocidad de 1 mm/s, registrándose la fuerza de penetración durante el desplazamiento de la punta, obteniéndose la curva Fuerza vs Desplazamiento (Figura 2.10).

Se evaluaron 10-15 cubos por cada muestra, y se registró la fuerza de penetración en función del desplazamiento. A partir de cada curva de penetración, se determinaron los siguientes parámetros, de acuerdo a Camps *et al.* (2005) y Tappi *et al.* (2014).



**Figura 2.10** Curva de penetración Fuerza vs Desplazamiento y parámetros derivados. fuerza máxima, área bajo la curva hasta F; Número de picos; distancia lineal

**F:** Fuerza máxima. Es el valor de la fuerza necesaria para producir la fractura de la superficie de la fruta que corresponde al punto máximo de la curva. Esta fuerza corresponde al punto de ruptura de la pulpa (límite de elasticidad) y representa la firmeza, [N].

**A:** Área bajo la curva, medida desde el comienzo del registro hasta el punto en que se alcanza la fuerza máxima. Estima el trabajo mecánico necesario para alcanzar el punto de ruptura  $F_m$ , [N.mm].

**$N_{picos}$ :** Número de picos, obtenido desde que inicia el test hasta que finaliza.

**DL:** Distancia lineal, medida desde que inicia el test hasta que finaliza y está relacionada, al igual que  $N_{picos}$ , a la calidad de crujiente de la muestra.

Estos parámetros de textura se calcularon a partir de cada curva usando el software específico del analizador de textura (*Exponent Texture Analyser software v. 6.1.4.0*, Stable Micro Systems, R.U.).

### 2.4.5 Velocidad de Respiración

La determinación de la tasa o velocidad de respiración (RR) se realizó a través del método estático o sistema cerrado de acuerdo a Piagentini *et al.* (2007). El método consiste en colocar la muestra de fruta en un recipiente herméticamente sellado y determinar el cambio en la concentración de CO<sub>2</sub> y/o O<sub>2</sub> en el tiempo. Se utilizaron frascos de vidrio con un volumen de 835 ml, cerrados con tapas metálicas corona con un septum incorporado, de manera tal que mantenga la hermeticidad y a su vez permita extraer las muestras gaseosas desde el interior del mismo (Figura 2.11). La relación de volumen frasco: volumen fruta fue 10:1. Las tomas de muestras del espacio de cabeza se realizaron cada 15 min durante la primera media hora, y posteriormente cada 30 min por un período de 2 h. Para cada muestra se determinó la densidad aparente de la fruta, y las determinaciones se realizaron por duplicado. La velocidad de respiración se calculó según las ecuaciones Ec. 9 y Ec. 10:

$$RR_{O_2} = \frac{V_{libre}}{Peso_{producto}} \cdot \frac{d[O_2]}{dt} \quad (\text{Ec. 9})$$

$$RR_{CO_2} = \frac{V_{libre}}{Peso_{producto}} \cdot \frac{d[CO_2]}{dt} \quad (\text{Ec. 10})$$

donde: RRO<sub>2</sub>, RRCO<sub>2</sub>: velocidad de respiración, [ml Kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>]

[O<sub>2</sub>], [CO<sub>2</sub>]: concentración de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>, respectivamente, [% (v/v)]

t: tiempo, [h]

V<sub>libre</sub>: volumen libre, [ml] (Ec. 11)

$$V_{libre} = Volumen_{frasco} - \frac{Peso_{producto}}{(densidad\ aparente)_{producto}} \quad (\text{Ec. 11})$$



**Figura 2.11** Frascos con muestra para medición de tasa de respiración.

#### 2.4.5.1 Determinación de la concentración de los gases

La determinación de la composición de las muestras de la atmósfera interior de cada recipiente se realizó de acuerdo a Piagentini *et al.* (2003). Se tomó 1 ml de gas del espacio de cabeza del frasco con una jeringa Hamilton y se analizó en un cromatógrafo de gases SRI provisto con detector de conductividad térmica y una columna CTRI (figura 2.12). La temperatura del horno se fijó en 45 °C, y el inyector y el detector se mantuvieron en 110 °C. El flujo de gas portador (H<sub>2</sub>) se mantuvo en 65 ml min<sup>-1</sup>. La concentración de cada gas se determinó a través de la Ec. 12:

$$\%Y = \frac{A_Y / Fr_Y}{\sum(A_{Y_i} / Fr_{Y_i})} \quad (\text{Ec. 12})$$

En donde:

$\%Y$  = concentración del componente Y (ml 100ml<sup>-1</sup>)

$Y$  = CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> ó N<sub>2</sub>

$A_Y$  = Área bajo el pico de Y en el cromatograma (mV.s)

$Fr_Y$  = Factor de respuesta del componente Y para CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> ó N<sub>2</sub> (mV.s mL<sup>-1</sup>)



**Figura 2.12** Cromatógrafo de gases Buck Scientific

#### 2.4.5.2 Determinación de los factores de respuesta

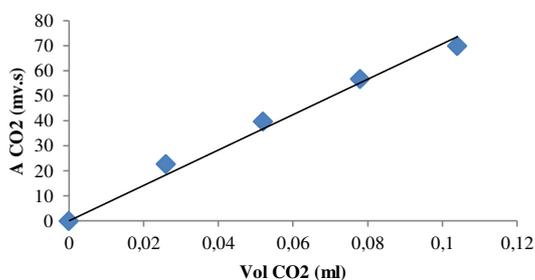
La determinación de los factores de respuesta de CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>, se realizó de acuerdo a Piagentini (1999). Se inyectaron cantidades exactas de cada uno de dichos gases, dentro del rango de trabajo. Los valores de las áreas del pico correspondiente se grafican en función del volumen conocido inyectado. Mediante regresión lineal se determina la pendiente de dicha recta, que es al factor de respuesta correspondiente (Ec. 13).

$$A_Y = Fr_Y * V_Y \quad (\text{Ec. 13})$$

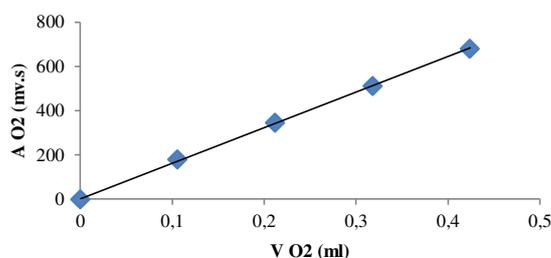
En donde:  $V_Y$  = volumen de Y (ml)

La determinación de los factores de respuesta se realizó utilizando un gas patrón con la siguiente composición: 5,2% CO<sub>2</sub>, 21,2% O<sub>2</sub> y 73,6% N<sub>2</sub>

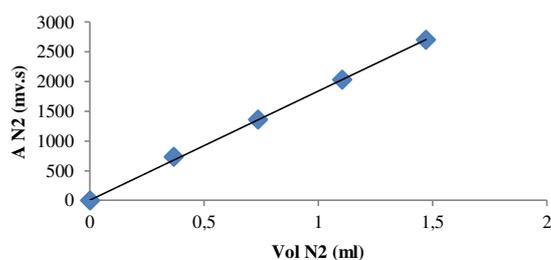
De esta manera, como se observa en las figuras 2.13; 2.14 y 2.15; se obtuvieron los factores de respuesta (Tabla 2.3).



**Figura 2.13** Curva de calibración para CO<sub>2</sub>



**Figura 2.14** Curva de calibración para O<sub>2</sub>



**Figura 2.15** Curva de calibración para N<sub>2</sub>

**Tabla 2.3** Factores de respuesta y coeficiente de determinación.

GAS	Fri (mV.s/ml)	R <sup>2</sup>
CO <sub>2</sub>	836,3	0,9961
O <sub>2</sub>	1267,0	0,9993
N <sub>2</sub>	1434,2	0,9997

Fri: Factores de respuesta para los gases; R<sup>2</sup>: Coeficiente de determinación.

## 2.4.6 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 (Terefe *et al.*, 2017; Van de Velde *et al.*, 2012).

Para la determinación de Vitamina C se utilizó la metodología según Van de Velde *et al.* (2011). Se realizó con un cromatógrafo Líquido (HPLC) SHIMADZU serie LC-20A equipado con una columna de fase reversa Gemini 5 $\mu$  C18 110A de 250 x 4,6 mm, unida a un guarda columna Phenomenex (Phenomenex Inc., CA, USA) y un detector SPD-M20A, la inyección de la muestra se realizó con una jeringa de 100  $\mu$ L con punta roma, especial para HPLC. Las determinaciones se realizaron a temperatura ambiente (25 °C), utilizando un flujo de 1.150ml  $\text{min}^{-1}$ . El tiempo de análisis fue de 5 min.

### 2.4.6.1 Curva de calibrado de ácido ascórbico y Ácido ascórbico total por HPLC

Se preparó una solución madre de ácido ascórbico 4 g  $\text{L}^{-1}$  a partir de AA previamente secado durante 1 hr en estufa a 105 °C, disuelto en solución extractante (SE: ácido metafosfórico 30 g  $\text{L}^{-1}$  + ácido acético 80 g  $\text{L}^{-1}$ ). Se tomó 0,5 mL de esta solución y se diluyó en 10 mL con SE.

Para la especie AAT: se tomó 4 mL de esta mezcla y se le agregó 1,3 mL de solución de DL-ditiotreitol (DTT: 5 g  $\text{L}^{-1}$ , preparado en fosfato de potasio dibásico,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  2,58 M), y se dejó reaccionar por 2 h en la oscuridad a temperatura ambiente. Finalmente se diluyó esta solución a 10 mL con Fase Móvil (FM: solución buffer 0,03 M de acetato de sodio/ácido acético pH= 5,8 (95%), metanol (5%), previamente filtrada con filtros de nylon de 0,45  $\mu\text{m}$ ).

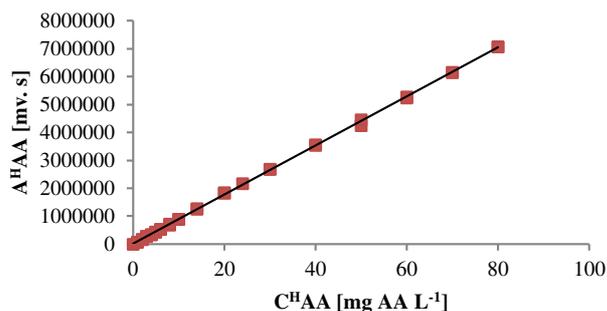
Para la especie AA: se tomó 4 ml de la mezcla preparada en (a) y se diluyó a 10 ml con FM

A partir las soluciones para AAT (b) y AA (a) se realizaron las diluciones con FM para obtener soluciones estándares de 0 a 80 ppm. Se filtraron dichas soluciones en membranas millipore 0,45  $\mu\text{m}$  y se inyectaron en el HPLC. Se obtuvieron las áreas de cada solución estándar a partir de las cuales se obtuvieron: una curva de calibrado de área, para AA,  $A_{AA}^H$  [mv. s] vs concentración de AA,  $C_{AA}^H$  [mg AA  $\text{L}^{-1}$ ] (figura 2.16), y una curva de calibrado de área para AAT,  $A_{AAT}^H$  [mv. s] vs concentración de AAT,  $C_{AAT}^H$  [mg AAT  $\text{L}^{-1}$ ] (figura 2.17).

A partir de las curvas de calibrado realizadas, se obtuvieron los coeficientes de regresión lineal correspondientes a las ecuaciones obtenidas para AA y para AAT por el método HPLC (Ec. 14 y Ec. 15):

$$A_{AA}^H = a_{AA}^H + b_{AA}^H \cdot C_{AA}^H \quad (\text{Ec. 14})$$

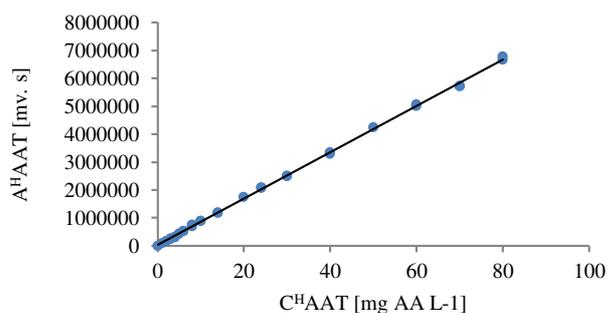
$$A_{AA}^H = 14457 + 87978 \cdot C_{AA}^H [\text{mg AA L}^{-1}], (R^2 = 0,9997)$$



**Figura 2.16** Curva de calibrado para concentración de ácido ascórbico

$$A_{AAT}^H = a_{AAT}^H + b_{AAT}^H \cdot C_{AAT}^H \quad (\text{Ec. 15})$$

$$A_{AAT}^H = 27186 + 83144 \cdot C_{AAT}^H [\text{mg AAT L}^{-1}], R^2 = 0,9995$$



**Figura 2.17** Curva de calibrado para concentración de ácido ascórbico total

#### 2.4.6.2 Determinación del contenido de ácido ascórbico y ácido ascórbico total por HPLC

- **Obtención de extractos:**

Se pesaron 12,5 g de muestra de FF y FT, se agregaron 25 mL de solución extractante (ácido metafosfórico 30 g L<sup>-1</sup> + ácido acético 80 g L<sup>-1</sup>), se homogenizó la mezcla durante 1 min en un Vortex V-1 plus BOECO y se sonicó en un ultrasonido TESTLAB por 15 min a

temperatura de 4 °C. Finalmente se centrifugó a 12000 g durante 20 min en centrífuga refrigerada de alta velocidad (Heal Force modelo Nefuge 18R) a 4 °C y se tomaron los sobrenadantes para análisis por HPLC.

El trabajo con extractos se realizó de la siguiente manera:

a. Manzana fresca cortada (FF):

Para determinación del contenido de ácido ascórbico (AA): Se tomó 1 mL de extracto y se agregó 1 mL de FM (dilución 1/1), se homogenizó y se filtró con una membrana Millipore de 0,45 µm, para inyectar en el HPLC.

Para determinación del contenido de ácido ascórbico total (AAT): Se tomaron 2 mL de extracto + 0,5 mL de solución de DTT, se dejó reaccionar durante 2 h en la oscuridad; luego se tomó 1 mL de esta la mezcla y agregó 1 mL de fase móvil (dilución 1/1), se homogenizó y finalmente se filtró en membrana Millipore 0,45 µm para inyectar en HPLC.

Las muestras se protegieron de la luz y se manipularon en conservadora con refrigerantes para evitar pérdidas por oxidación.

b. Manzana fresca cortada tratada (FT):

Para determinación del contenido de ácido ascórbico (AA): En este caso se efectuó una dilución (1/10), para ello se tomó 1 mL de extracto y agregaron 9 mL de fase móvil, se homogenizó y filtró en la membrana Millipore de 0,45 µm, para inyectar en el HPLC.

Para determinación del contenido de ácido ascórbico total (AAT): Se tomaron 2 mL de extracto y se agregó 0,5 mL de solución de DTT, se dejó reaccionar durante 2 h en la oscuridad y luego se tomó 1 mL de esta la mezcla y se agregaron 9 mL de fase móvil para llegar a las diluciones 1/10 respectivamente; finalmente se filtraron las muestras en membrana Millipore 0,45 µm para inyectar en HPLC.

Las muestras se protegieron de la luz y se manipularon en conservadora con refrigerantes para evitar pérdidas por oxidación.

Con los valores de las áreas bajo el pico correspondiente, las curvas de calibrado (Ec. 14 y 15), los pesos y los factores de dilución, se determinó la concentración de AA ( $C_{AA}^H$ ) y de AAT ( $C_{AAT}^H$ ) en mg Kg<sup>-1</sup> de Fruta.

## 2.4.7 Determinación de Fenoles Totales

Para el Contenido de Fenoles Totales ( $C^*_{CFT}$ ), se utilizó el método Folin-Ciocalteu (F-C) (Rodríguez Arzuaga *et al.*, 2016; Singleton y Rossi, 1965). Este método experimenta interferencias debido a la presencia de diferentes sustancias (particularmente azúcares, aminos aromáticos, dióxido de azufre, ácido ascórbico y otros enedíoles y reductonas, y hierro (II)) por lo tanto se realizó una corrección que considera las sustancias interferentes, y de esta manera obtener exclusivamente la concentración de fenoles totales.

Se estableció una metodología que combina técnicas espectrofotométricas con cromatográficas. Para lo cual es necesario determinar experimentalmente:

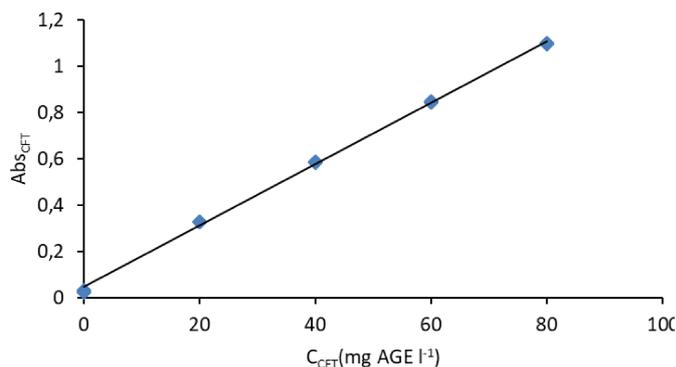
- $Abs_{CFT}$  = Absorbancia correspondiente a la muestra por ensayo de F-C para CFT,
- $Abs_{AAT}$  = Absorbancia correspondiente a la muestra por ensayo de F-C para AAT, y
- $C^H_{AAT}$  = Concentración de ácido ascórbico total de la muestra determinado por HPLC (mg AAT L<sup>-1</sup>)

### 2.4.7.1 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<sup>-1</sup>, a partir de esta se prepararon soluciones estándar con concentraciones de 0-80 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), se dejaron reposar por 3 min, y posteriormente se adicionaron 1500 μL de agua destilada (V1) + 500 μL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 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<sup>-1</sup>] (Figura.2.18. y Ec.16)

$$Abs_{CFT} = a_{CFT} + b_{CFT} \cdot C_{CFT} \quad (\text{Ec. 16})$$

$$Abs_{CFT} = 0,0455 + 0,0133 C_{CFT} [\text{mg AG L}^{-1}], (R^2 = 0,9952)$$



**Figura 2.18** Curva de calibrado de Ácido Gálico obtenida por el método Folin-Ciocalteu

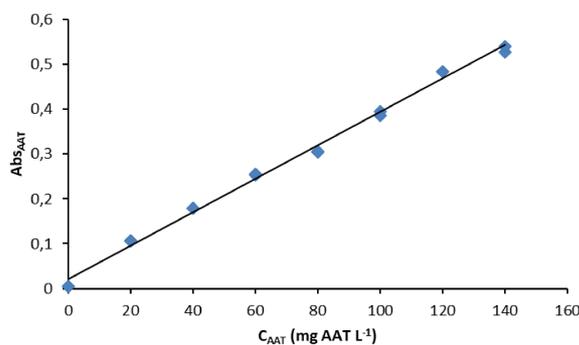
### 2.4.7.2 Curva de calibrado para la determinación de ácido ascórbico total, por el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu

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 0-140 ppm, se tomaron alícuotas de 250  $\mu$ L de cada una de las soluciones en tubos falcon y se hicieron reaccionar con el reactivo de Folin-Ciocalteu (F-C), de igual manera que lo descrito anteriormente (2.4.7.1). Se obtuvo por regresión lineal la curva de calibrado de absorbancia (Abs<sub>AAT</sub>) vs concentración de AAT, C<sub>AAT</sub> [mg AAT L<sup>-1</sup>] (Figura. 2.19 y Ec. 17)

$$\text{Abs}_{\text{AAT}} = a_{\text{AAT}} + b_{\text{AAT}} \cdot C_{\text{AAT}} \quad (\text{Ec. 17})$$

$$\text{Abs}_{\text{AAT}} = 0,0203 + 0,0037 C_{\text{AAT}} [\text{mg AAT L}^{-1}], (R^2 = 0,9995)$$

Siendo x la concentración de ácido ascórbico total (AAT mg/L)



**Figura 2.19** Curva de calibrado de ácido ascórbico total obtenida por método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu

### 2.4.7.3 Determinación del contenido de fenoles totales por el método de Folin Ciocalteu

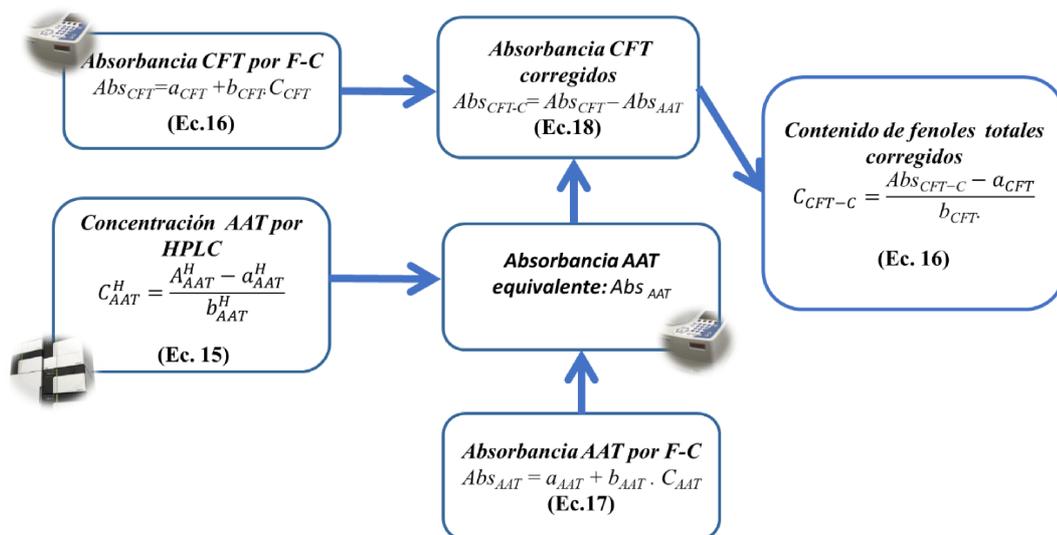
- Preparación de los extractos:

Se pesaron 2,5 g de FF y FT, y se adicionó 25 mL de una solución de extracción acetona:agua (80:20), se homogenizó la mezcla en ultrasonido por 15 min. Luego se centrifugó a 12000 g a una temperatura de 4 °C por un tiempo de 20 min, finalmente se separó el sobrenadante que se usó para los diferentes análisis (Piagentini y Pirovani, 2017).

La determinación se llevó a cabo usando el reactivo F-C. Las reacciones se realizaron en tubos falcon de 15 ml, tomando 250 µL de extracto + 250 µL de solución F-C, se dejó reposar por 3 min, luego se adicionó 1500 µL de agua destilada ( $V_1$ ) + 500 µL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 10% + 2500 µL agua destilada ( $V_2$ ), se agitaron y posteriormente se centrifugaron a 4000 rpm por 15 min. Se dejaron reposar en la oscuridad por 15 min para finalmente, medir la absorbancia de las muestras en espectrofotómetro Genesys 10S UV-VIS Thermo Scientific a 760 nm. Las determinaciones se efectuaron por triplicado. Los resultados obtenidos a partir de la (Ec. 16) se expresaron en mg [ $\text{mg AGE Kg}^{-1}$ ].

#### ***2.4.7.4 Corrección del contenido de fenoles totales por sustracción de la actividad reductora del ácido ascórbico***

Como anteriormente se mencionó, el método más usado para la cuantificación de fenoles totales en alimentos es Folin-Ciocalteu (F-C) por ser simple y rápido, sin embargo, puede presentar inconsistencias debido a la presencia de compuestos interferentes en la muestra, entre los cuales están la vitamina C y ene-dioles como el ácido dehidroascórbico (DHA). El reactivo de F-C reacciona con los fenoles formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico que a pH básico se reducen formando óxidos cromógenos de color azul. La vitamina C (AA + DHA), en condiciones ácidas; reacciona rápidamente con el polifosfotungstato, dando color azul antes de la adición del álcali, por lo tanto, la medición espectrofotométrica mide la absorbancia de todos los compuestos azules formados tanto los provenientes de la reacción con los fenoles como los formados por reacción con AA y DHA. Para solucionar este inconveniente, se propuso una metodología para mejorar la especificidad del ensayo de F-C en la determinación de polifenoles totales por sustracción de la actividad reductora de la vitamina C (Figura 2.20). En ese sentido se combinaron metodologías espectrofotométricas y cromatográficas (HPLC) utilizando soluciones patrones. De esta manera se obtuvo una ecuación general (Ec. 19) para la determinación del contenido de fenoles totales corregido por la interferencia de vitamina C (Cortez *et al*, 2018).



**Figura 2.20** Esquema para determinación del contenido de fenoles corregido

Para determinar el contenido de fenoles totales de una muestra sin interferencia del ácido ascórbico (contenido de fenoles totales corregido,  $C_{CFT-C}$ ), se determinó,  $Abs_{CFT}$  y  $C_{AAT}^H$ .

A continuación, con el valor de  $C_{AAT}^H$  y la Ec. 17 se determina el valor de  $Abs_{AAT}$  equivalente, luego se realiza la corrección correspondiente a la actividad reductora del ácido ascórbico realizando la diferencia entre las absorbancias:

$$Abs_{CFT-C} = Abs_{CFT} - Abs_{AAT} \tag{Ec. 18}$$

En donde:  $Abs_{CFT-C}$  = absorbancia corregida por la actividad reductora del ácido ascórbico

Con este valor obtenido de  $Abs_{CFT-C}$ , se determina el contenido de fenoles totales corregidos por la actividad reductora del ácido ascórbico ( $C_{CFT-C}^*$ ) en mg de AGE  $Kg^{-1}$ fruta (Ec. 19):

$$C_{CFT-C}^* (mg \text{ AGE } Kg_{fruta}^{-1}) = \left[ \frac{\left( \left( Abs_{CFT} - \left( a_{AAT} + b_{AAT} \left( \frac{A_{AAT}^H - a_{AAT}^H}{b_{AAT}^H} \right) \right) \cdot \frac{1}{d} \cdot \frac{V_{eHPLC}}{m_{fHPLC}} \right) \cdot \frac{m_{fCFT}}{V_{eCFT}} \right) - a_{CFT}}{b_{CFT}} \right] \cdot \frac{V_{eCFT}}{m_{fCFT}} \tag{Ec. 19}$$

En 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 de fenoles totales por método F-C

$V_{eCFT}$ = volumen de solución extractante para determinación 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.

## 2.4.8 Capacidad Antioxidante

Para la determinación de la capacidad antioxidante se usaron dos metodologías. La primera fue mediante la capacidad secuestrante del radical DPPH\* (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) según Brand-Williams *et al.* (1995). El segundo método fue mediante el poder secuestrante del hierro (FRAP) de acuerdo a Rodríguez-Arzuaga y Piagentini (2018).

### 2.4.8.1 Determinación de la capacidad antioxidante usando radical libre DPPH\*

La reducción del DPPH\* se determina registrando el descenso de la absorbancia a una longitud de onda característica (517 nm) durante la reacción. A medida que el radical es reducido, pierde su coloración, lo cual permite cuantificar la disminución de la absorbancia de la solución metanólica DPPH\*.

Se utilizaron los extractos obtenidos en el punto 2.4.7.3. En primer lugar, se preparó una solución metanólica de DPPH\* de 0,03 g L<sup>-1</sup>. Para cada muestra se evaluaron diferentes concentraciones, para lo cual se hicieron reaccionar por triplicado, tres volúmenes de extracto de FF (0,1; 0,2 y 0,3 mL) y tres volúmenes para FT (0,05; 0,075 y 0,1 mL) con 3,9 mL de una solución metanólica de DPPH\*; los blancos de reacción se prepararon sustituyendo los volúmenes de extracto con metanol. La mezcla de reacción se homogeneizó y luego se dejó reaccionar al resguardo de la luz durante 30 min, transcurrido este tiempo se midió la absorbancia de las muestras a 517 nm en un espectrofotómetro Genesis 10S UV-VIS Thermo Scientific (Figura 2.21). La actividad antioxidante fue expresada como capacidad antioxidante equivalente al ácido ascórbico (AEAC) de acuerdo a Piagentini y Pirovani (2017) (Ec. 20)

$$\text{AEAC (mgAA } 100\text{g}^{-1} \text{ de muestra)} = (\text{IC}_{50(\text{AA})} / \text{IC}_{50(\text{muestra})}) * 10^5 \quad (\text{Ec. } 20)$$

En donde:

- **IC<sub>50(AA)</sub>**= Cantidad de ácido ascórbico en 1mL de reacción, necesaria para disminuir al 50% la concentración inicial de DPPH\*, obtenida de la gráfica de %DPPH<sub>remanente</sub> versus la concentración (mg AA ml<sup>-1</sup> de reacción).
- **IC<sub>50(muestra)</sub>**= 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<sub>remanente</sub> versus la concentración (mg AA ml<sup>-1</sup> de reacción) (Ec. 21).

$$\text{IC}_{50(\text{genérico})} = \frac{50\text{-ordenada}}{\text{pendiente}} \quad (\text{Ec. } 21)$$



**Figura 2.21** Espectrofotómetro Génesis 10S UV-VIS Thermo Scientific

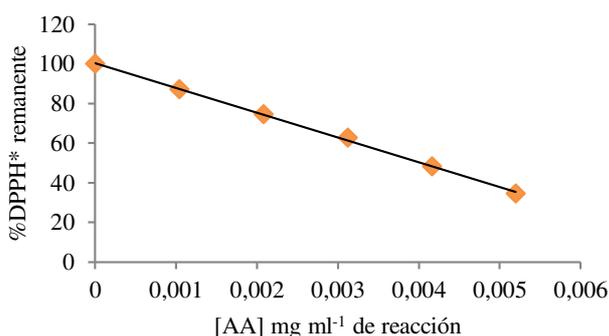
Para determinar el  $IC_{50(AA)}$  se utilizó la misma metodología empleada para las muestras (2.4.8.1), sustituyéndolas por soluciones estándar de AA a diferentes concentraciones (0; 0,0010; 0,0021; 0,0031; 0,0041 y 0,0052 mg AA  $mL^{-1}$  de reacción). Se trabajó con 0,1 mL de solución estándar y 3,9 mL de la solución metanólica de DPPH\*. Mediante la Ec. 22 se obtiene el %DPPH\* remanente. La curva se graficó como DPPH\* remanente vs concentración (mg AA  $mL^{-1}$  de reacción). El valor determinado para  $IC_{50}$  (AA) fue de 0,00404 mg  $mL^{-1}$ , este valor se obtuvo a partir de la curva de %DPPH\* remanente vs concentración que se efectuó para cada solución estándar (Figura 2.22 y Ec. 23).

$$\%DPPH^* \text{ remanente: } (A_{\text{muestra}}/A_{\text{control}})*100 \quad (\text{Ec. 22})$$

En donde:

$A_{\text{muestra}}$ = absorbancia de la muestra

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



**Figura 2.22** Curva de calibrado con AA del % de DPPH\* remanente

En donde:

$$\%DPPH^*_{\text{remanente}} = a_{DPPH} + b_{DPPH} \cdot C_{AA} \quad (\text{Ec. 23})$$

$$\%DPPH^*_{\text{remanente}} = 100,45 - 12491 C_{AA} [\text{mg AA } mL^{-1} \text{ de reacción}], (R^2 = 0,999)$$

#### 2.4.8.2 Determinación de la capacidad antioxidante usando el método FRAP

El método está basado en la reducción de complejo Fe(III)-TPTZ (2,4,6- tris 2-pyridil-s-tiazina) que es incoloro, a la forma ferrosa a bajo pH (poder antioxidante reductor del hierro). Esta reducción es medida por el cambio en la absorción a 593 nm debido a la formación del

compuesto azulado Fe(II)-tripiridiltriazina, por acción de los antioxidantes donadores de electrones. Se utilizó la metodología según Rodríguez-Arzuaga y Piagentini (2018).

En primer lugar, se preparó el Buffer Acetato (300 mM a pH 3,6), posteriormente se preparó el reactivo TPTZ (10mM en 40 mM de HCl), este reactivo se lo debe realizar el mismo día del análisis. Finalmente se preparó una solución de Cloruro de Hierro II ( $\text{FeCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  20 mM) misma que tiene duración de una semana. Una vez que se tenían listas estas soluciones se preparó el reactivo de FRAP (pH: 3,6) para ello se tomaron 25 mL de buffer Acetato + 2,5 mL de TPTZ (10 mM) + 2,5 mL  $\text{FeCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (20 mM).

- Para la FF: se hicieron reaccionar 45  $\mu\text{L}$  del extracto de FF (obtenidos de acuerdo al punto 2.4.7.3) + 135  $\mu\text{L}$  de agua destilada + 900  $\mu\text{L}$  del reactivo de FRAP
- Para FT: se hicieron reaccionar 25  $\mu\text{L}$  del extracto de FT (obtenidos de acuerdo al punto 2.4.7.3) + 155  $\mu\text{L}$  de agua destilada + 900  $\mu\text{L}$  del reactivo de FRAP
- Blanco de reacción: 180  $\mu\text{L}$  de agua destilada + 900  $\mu\text{L}$  de reactivo de FRAP

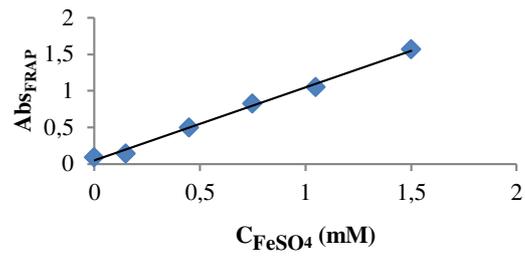
En los tres casos el volumen total de reacción fue de 1080  $\mu\text{L}$  y en todos los casos, las muestras se llevaron a la estufa a 37 °C por 30 min. Una vez concluido este período, se midió la absorbancia de las muestras a una longitud de onda 593 nm en un espectrofotómetro Genesys 10S UV-VIS Thermo Scientific. Las reacciones se efectuaron por triplicado y los resultados obtenidos a partir de una curva de calibrado se expresaron en  $\mu\text{M Fe}^{+2}$  en 100 g de fruta.

- Curva de calibrado:

Para realizar la curva de calibrado se prepararon soluciones de  $\text{FeSO}_4$  con concentraciones de: 0; 0,15; 0,45; 0,75; 1,05; 1,35 y 1,5 mM, las cuales se hicieron reaccionar como se describió anteriormente, obteniéndose la curva correspondiente (Figura 2.23 y Ec. 24).

$$\text{Abs}_{\text{FRAP}} = a_{\text{Frap}} + b_{\text{Frap}} \cdot C_{\text{FeSO}_4} \quad (\text{Ec. 24})$$

$$\text{Abs}_{\text{FRAP}} = 0,0478 + 0,9999 C_{\text{FeSO}_4}, (R^2 = 0,9953)$$



**Figura 2.23** Curva de calibrado para determinar la absorbancia por espectrofotometría en función de la concentración de FeSO<sub>4</sub>

Donde:

Abs<sub>FRAP</sub> = Absorbancia de soluciones de FeSO<sub>4</sub> a 593nm.

C<sub>FeSO<sub>4</sub></sub> = Concentración de soluciones de FeSO<sub>4</sub>.

### 3 RESULTADOS Y DISCUSION

#### 3.1 RESULTADOS DE LOS ENSAYOS PRELIMINARES

El objetivo de los ensayos preliminares fue estudiar el impacto general de la presión de vacío (P), el tiempo de vacío/relajación (t), y el agregado de antioxidantes (mezcla de ácidos ascórbico y cítrico) sobre la calidad de fresco de manzanas mínimamente procesadas.

##### 3.1.1 Efecto sobre los sólidos solubles, pH y actividad de agua

La manzana *Granny Smith* fresca cortada (lavada, pelada y cortada), presentó un contenido de sólidos solubles (SS) promedio de 12,3 °Bx ( $\pm 0,66$ ), un pH de 3,2 ( $\pm 0,13$ ) y una actividad de agua ( $a_w$ ) de 0,976 ( $\pm 0,011$ ).

Luego del tratamiento de impregnación por vacío (IV), las variaciones porcentuales de sólidos solubles y pH ( $\Delta SS$  y  $\Delta pH$ ) fueron afectadas por la adición de ácidos, la presión y el tiempo, además se pudo observar que la variación porcentual de la  $a_w$  ( $\Delta a_w$ ) solo fue afectada por la presión de vacío. La  $\Delta SS$  a valores altos de presión de vacío (667,7 mbar), presentó un incremento importante con respecto a la fruta fresca (FF) (entre 27% y 40 %), dependiendo de las otras condiciones de proceso. Los valores obtenidos en los ensayos preliminares se muestran en la Tabla 3.1.

**Tabla 3.1** Efecto de adición de ácidos, presión de vacío y tiempo de impregnación sobre la variación de sólidos solubles, pH y actividad de agua de manzanas *Granny Smith* frescas cortadas.

Variables Independientes				Respuestas		
$C_{AC}$ (%)	$C_{AA}$ (%)	Presión de vacío (mbar)	Tiempo de tratamiento (min) ( $t_v/t_r$ )	$\Delta SS$ (%)	$\Delta pH$ (%)	$\Delta a_w$ (%)
1%	1%	67,7	3/3	20,2 <sup>B</sup>	-3,6 <sup>C</sup>	0,2 <sup>C</sup>
			10/10	22,1 <sup>C</sup>	-11,2 <sup>A</sup>	-0,2 <sup>AB</sup>
		667,3	3/3	26,8 <sup>D</sup>	-7,6 <sup>B</sup>	-0,3 <sup>A</sup>
			10/10	39,6 <sup>G</sup>	-7,8 <sup>B</sup>	-0,4 <sup>A</sup>
0%	0%	67,7	3/3	15,9 <sup>A</sup>	-3,0 <sup>C</sup>	0,0 <sup>BC</sup>
			10/10	30,9 <sup>F</sup>	-0,8 <sup>D</sup>	0,2 <sup>C</sup>
		667,3	3/3	29,2 <sup>E</sup>	-0,3 <sup>D</sup>	-0,3 <sup>A</sup>
			10/10	26,9 <sup>D</sup>	1,8 <sup>E</sup>	-0,4 <sup>A</sup>
<i>p</i>				0,0000	0,0000	0,0034

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas por el test de Tuckey ( $p \leq 0,05$ )

$C_{AA}$ : Concentración de ácido ascórbico;  $C_{AC}$ : Concentración de ácido cítrico.

El uso de soluciones osmóticas ácidas reduce el pH del producto impregnado, favoreciendo así la conservación del producto y además como una estrategia para evitar el pardeamiento

enzimático (Derossi *et al.*, 2012); lo cual coincide con los resultados obtenidos, cuando la presión de vacío es baja, el pH disminuye, y aún más cuando el tiempo de tratamiento es mayor. Sin embargo, cuando la presión de vacío es alta, el pH disminuye de igual manera para ambos tiempos de tratamiento (Tabla 3.1). De acuerdo a los resultados obtenidos en los ensayos preliminares, así como también en resultados observados por otros autores, la presión de vacío puede ser la variable más importante en el proceso de IV, ya que esta es la que representa la fuerza con que se produce el gradiente de presión entre los espacios intercelulares del alimento y la SO que lo rodea (Mujica-Paz *et al.*, 2003). Paes *et al.* (2007), también evaluaron el efecto del tiempo de vacío y tiempo de relajación en manzanas variedad *Gala* durante la impregnación por vacío, utilizando presión suave (40 mbar) y solución osmótica isotónica, los períodos de tiempo utilizados fueron entre 0 y 120 min. Según estos autores, el mayor incremento de sólidos solubles se produce cuando los tiempos son alrededor de los 10 min, pasado este tiempo existe un incremento, pero no es significativo.

### 3.1.2 Ganancia de sólidos, pérdida de agua y reducción de peso

Los parámetros de transferencia SG, WL y WR son las respuestas que comúnmente se utilizan cuando las muestras son sometidas a osmodeshidratación e impregnación por vacío (Diamante *et al.*, 2014; Fito, 1994; Carciofi *et al.*, 2012; Paes *et al.*, 2007). Estos parámetros permiten cuantificar de manera general el fenómeno del mecanismo hidrodinámico (HDM) propuesto por Fito y Pastor (1994) y Fito *et al.* (1996).

A diferencia de los tratamientos osmóticos realizados a presión atmosférica, la utilización de vacío permite que el proceso de transferencia de líquido externo hacia el interior de la matriz vegetal sea más efectivo, generando de esta manera un llenado de los poros (espacios intercelulares) del alimento con un mayor volumen de solución osmótica. Este volumen es función del gradiente de presión generado durante el procesamiento (Fito y Pastor, 1994).

Para la determinación de los parámetros de transferencia de masa, se determinó el contenido de humedad de la manzana fresca pelada y cortada sin tratar, el cual presentó un valor de  $84,41 \pm 1,52\%$ .

En lo referente a los parámetros de transferencia de masa, la SG fue afectada por la presión de vacío y el tiempo de tratamiento, alcanzando mayores valores en manzanas tratadas con 667,7 mbar de presión. WR solamente resultó función de la presión de vacío, lo cual concuerda

con el modelo predictivo para manzana obtenido por Mujica *et al.* (2003), quien estudió el tiempo y la presión de vacío, donde también determinó que la presión de vacío es el factor que más influye durante el proceso de IV. En todos los casos se obtuvieron valores negativos, indicando un incremento de peso. A alta presión, se puede ganar entre 3-4%. La WL en el rango de las variables estudiadas no se vio afectada por ningún factor, resultando 1.8% en promedio (Tabla 3.2). En este sentido, y acorde con lo descrito por Lazarides (2001), mediante los procesos de IV se busca que el parámetro WL sea bajo, para minimizar la pérdida de peso de la fruta tratada.

**Tabla 3.2.** Efecto de la presión de vacío y tiempo de impregnación sobre los parámetros de transferencia de masa

Variables Independientes				Respuestas		
C <sub>AC</sub> (%)	C <sub>AA</sub> (%)	Presión de vacío (mbar)	Tiempo de tratamiento (t <sub>v</sub> /t <sub>r</sub> ) (min/min)	SG (%)	WL (%)	WR (%)
1	1	67.7	3/3	3,92	1,79	-2,13
			10/10	2,38	1,47	-0,91
		667.3	3/3	6,04	2,25	-3,79
			10/10	4,53	1,70	-2,82
		67.7	3/3	2,05	0,96	-1,09
			10/10	4,12	1,89	-2,22
0	0	67.7	3/3	5,37	1,85	-3,52
			10/10	5,18	1,97	-3,21
		667.3	10/10	5,18	1,97	-3,21

C<sub>AA</sub>: Concentración de ácido ascórbico; C<sub>AC</sub>: Concentración de ácido cítrico. SG: ganancia de sólidos; WL: pérdida de agua; WR: reducción de peso.

En un ensayo previos realizados (no publicado), cuando se utilizaron soluciones osmóticas de concentración elevada (50 °Bx), con presiones de vacío alta y tiempos largos, la ganancia de sólidos (SG) varió entre el 8 y 16%, a su vez la pérdida de agua fue mayor a 9%, siendo estos valores superiores a aquellos obtenidos con SO de 30 °Bx. Estos resultados se asemejan a aquellos obtenidos por Paes *et al.* (2014), en manzanas *Gala*, cuando utilizó una presión de vacío menor (40 mbar) y t<sub>v</sub> y t<sub>r</sub> de 15 y 25 min, respectivamente.

### 3.1.3 Propiedades mecánicas

La fruta fresca (FF) presentó un valor de fuerza máxima de 14,94 N. En el caso de la variación porcentual de la firmeza respecto a la fruta sin impregnar ( $\Delta F$ ), la presión de vacío utilizada influyó en los resultados encontrados. Las frutas impregnadas a  $P_2$  (667.3 mbar) perdieron un 28 y 33.5% de la firmeza según el tiempo de tratamiento. Sin embargo, con una combinación de presión de vacío baja  $P_1$  (67,7 mbar) y tiempo corto ( $t_1$ : 3 min), la firmeza aumentó levemente ( $\approx 1\%$ ) (Tabla 3.3). Neri *et al.* (2016) observaron en manzanas *Golden Delicious* tratadas por IV que cuando la solución osmótica es solamente agua, existe un decrecimiento en la firmeza a medida que incrementa la presión de vacío, incluso a bajos valores de presión. Este efecto se debe al daño generado en las estructuras celulares, lo cual genera una alteración en el comportamiento mecánico de la fruta IV.

**Tabla 3.3** Efecto de la presión y los tiempos de procesamiento en la variación relativa porcentual de fuerza máxima de manzanas impregnadas al vacío

Presión de vacío (mbar)	Tiempo vacío/relajación (min) ( $t_v/t_r$ )	$\Delta F$ (%)
$P_1$ : 67.7	3/3	0.9 <sup>A</sup>
	10/10	-8.9 <sup>A</sup>
$P_2$ : 667.3	3/3	-33.5 <sup>B</sup>
	10/10	-28.0 <sup>B</sup>
$p$		0.0000

### 3.1.4 Parámetros de color

La manzana *Granny Smith* fresca cortada sin tratamiento, presentó los siguientes valores para los parámetros de color  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  de 71,3 ( $\pm 2.9$ ), -0,481 ( $\pm 0,3$ ) y 19,5 ( $\pm 2,5$ ), respectivamente.

Valores positivos de  $\Delta L^*$  hacen referencia a que las muestras son más claras, mientras que valores negativos indican muestras más oscuras, respecto a la manzana fresca cortada sin tratamiento.

Las frutas impregnadas con  $P_2$  mostraron reducción de la luminosidad respecto a la FF bajo las dos condiciones de tiempo ( $\Delta L^*$  negativos), alcanzando valores entre el 20 - 21% menores que las muestras sin tratar; en cambio con  $P_1$  y  $t_1$  se produjo un aumento de  $L^*$  (muestras más claras) de aproximadamente 8% (Tabla 3.4). En este sentido, Moreno *et al.* (2011), reportaron una tendencia similar respecto a la disminución en la luminosidad de manzanas *Granny Smith*

sometidas a IV a 50 mbar por 5 min a diferentes temperaturas (30 a 50 °C), con una solución de sacarosa (65°Bx).

Con respecto a la cromaticidad, las frutas tratadas a  $P_1$  tuvieron incremento en los valores de cromaticidad ( $C^*_{ab}$ ) alcanzando un aumento entre un 12 a 15%. Sin embargo, cuando se trabajó con  $P_2$ , se generó disminución de este valor, alcanzando una reducción en la intensidad del color del 18 al 25% (Tabla 3.4).

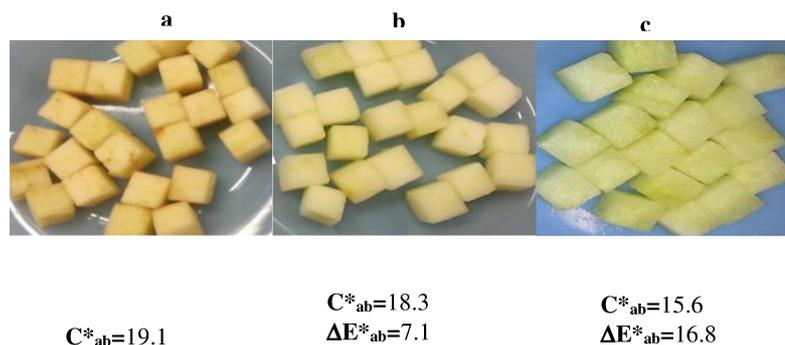
En lo que respecta al cambio en el ángulo de tono ( $\Delta h_{ab}$ ), si bien fue significativo, en la mayoría de los casos los cambios fueron menores (0.2 al 7%) y positivos (tonos más amarillos). La  $\Delta h_{ab}$  sólo fue negativa al trabajar con presión baja  $P_1$  y  $t_1$  (muestras menos amarillas, más rojizas), mientras que con  $t_2$  prácticamente no hubo cambios con respecto a la fruta sin tratar (Tabla 3.4).

**Tabla 3.4** Efecto de la presión de vacío y tiempo de tratamiento sobre los parámetros de color.

Presión de vacío (mbar)	Tiempo vacío/relajación (min)	$\Delta L^*$ (%)	$\Delta C^*_{ab}$ (%)	$\Delta h_{ab}$ (%)	$\Delta E_{ab}$
$P_1$ : 67.7	3/3	7,9 <sup>A</sup>	15,4 <sup>A</sup>	-2,54 <sup>A</sup>	7,1 <sup>A</sup>
	10/10	-2,0 <sup>B</sup>	12,4 <sup>A</sup>	0,17 <sup>B</sup>	2,3 <sup>B</sup>
$P_2$ : 667.3	3/3	-21,4 <sup>C</sup>	-24,8 <sup>B</sup>	6,63 <sup>C</sup>	16,8 <sup>C</sup>
	10/10	-20,1 <sup>C</sup>	-17,8 <sup>B</sup>	2,24 <sup>D</sup>	15,6 <sup>C</sup>
<i>p</i>		0,0000	0,0000	0,0000	0,0000

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas por el test de Tuckey ( $p \leq 0.05$ )

Las mayores diferencias de color ( $\Delta E^*_{ab}$ ) entre la fruta fresca cortada sin tratar y la fruta impregnada, se obtuvieron a la mayor presión  $P_2$ . A baja presión, el cambio de color se considera de algo a bastante perceptible, según lo sugerido por Limbo y Piergiovani (2005) y a alta presión, los cambios de color son muy importantes ( $\Delta E^*_{ab} > 12$ ) para ambos tiempos.



**Figura 3.1** Cambios en el color de manzanas mínimamente procesadas sometidas a impregnación por vacío impregnación al vacío a) Fruta fresca sin tratamiento, b) fruta tratada a baja presión de vacío y c) fruta tratada a alta presión de vacío.

La IV implica una sustitución parcial o total del aire presente en los poros por solución osmótica (SO), lo cual es dependiente de la presión de vacío ejercida, que a su vez está relacionado con las propiedades ópticas del producto (Martínez-Monzó *et al.*, 2001; Neri *et al.*, 2016). En tal sentido el uso de presiones de vacío más bajas, favorecerán el mantenimiento de los atributos visuales de las muestras.



**Figura 3.2** Fruta tratada por Impregnación por vacío a una presión alta.

Asimismo, en ensayos realizados (no publicado) con SO de 50 °Bx durante 10 min de vacío y también de relajación, se observó que cuando se utilizan presiones de vacío altas con soluciones osmóticas hipertónicas con ácidos, las muestras se observan menos claras y más verdes, las cuales se diferencian notablemente respecto a la calidad de fresco de la manzana recién cortada (Figura 3.2).

La manzana fresca cortada sin ningún tratamiento adicional, tiene la característica de ser susceptible a presentar pardeamiento enzimático, alterándose las características sensoriales. Por lo cual el uso de tratamientos a base de ácido cítrico (reductor de pH y quelante de  $Cu^+$ ) y ácido ascórbico (agente reductor y secuestrante de oxígeno) son indispensables para mantener o

mejorar la calidad de fresco de frutas frescas cortados (Roble *et al.*, 2011; Ferreira *et al.*, 2010, Martin-Belloso *et al.*, 2009). De acuerdo con Neri *et al.* (2016), la transparencia que se observa en las muestras IV es debido a la sustitución de aire por solución osmótica en los poros de la muestra lo cual afecta directamente en la percepción del color, cuando las presiones de vacío utilizadas son menores a 857mbar. También se ha evidenciado que, durante la etapa de vacío, el aire ocluido en los poros de la fruta arrastra sólidos hacia la solución osmótica (Neri *et al.*, 2016), efecto que se evidenció cuando se realizaron tratamientos con la presión de vacío más alta (677 mbar) y solución osmótica de 30°Bx con 1%AA + 1% AC. (Figura 3.3b).



**Figura 3.3** Impregnación de manzanas variedad Granny Smith con distintas presiones de vacío

(a) P:67,7 mbar; (b) P:677 mbar

Así mismo, Neri *et al.* (2016), evaluaron manzanas *Golden Delicious* impregnadas con agua, y determinaron que a medida que incrementa la presión de vacío (entre 50 y 857 mbar), la ganancia de agua en el producto es mayor y que a su vez existe un aumento en la pérdida de sólidos solubles después del tratamiento, independientemente del tiempo de tratamiento, este efecto es debido al arrastre de sólidos que ocasiona el flujo de aire hacia el exterior del fruto durante el tiempo de vacío.

Es importante mencionar que la tecnología IV parte de la necesidad de optimizar el proceso de osmodeshidratación (OD), como un pre-tratamiento de deshidratación y/o congelación (Zhao y Xie, 2004). Es por lo cual que varios estudios se han enfocado en incrementar la pérdida de agua (WL) y la ganancia de sólidos (SG) a través del modelado del mecanismo hidrodinámico, más que en mantener o mejorar las características de fresco del producto, incluso después del almacenamiento refrigerado (objetivo de la presente investigación).

En el caso del presente estudio, se requiere mantener las características de “fresco” de las manzanas mínimamente procesada luego del tratamiento y posterior almacenamiento. Como se determinó en este ensayo preliminar, las posibilidades de aplicación de impregnación por vacío para mantener esta condición tienen algunas limitaciones importantes en cuanto a la presión de vacío que se puede aplicar. Los tiempos empleados en general mostraron un menor impacto en el rango experimental ensayado. Por lo tanto, y en función de los resultados obtenidos en estos ensayos preliminares, se determinó que la presión seleccionada para realizar los estudios posteriores con IV es la de 67.7 mbar (condiciones de proceso suave), con una SO de 30°Brix con 1% de ácido ascórbico +1% de ácido cítrico, y variando el tiempo de vacío y tiempo de relajación para encontrar las mejores condiciones de proceso.

### **3.2 MODELADO DE LOS CAMBIOS EN LA CALIDAD DE MANZANAS FRESCAS CORTADAS *GRANNY SMITH* IMPREGNADAS AL VACÍO EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE VACÍO Y RELAJACIÓN**

Para el desarrollo de los modelos predictivos, se usó la metodología de superficie de respuesta.

En primer lugar, se comprobó la idoneidad del modelo elegido para cada respuesta, a partir de los test de diagnóstico, los mismos que se basan en el análisis de los residuos. Los resultados de dichos test (no mostrados) indicaron que se cumple adecuadamente con las suposiciones de homogeneidad de la varianza, independencia y normalidad de los errores. Por lo tanto, se pudo aplicar ANOVA para los modelos propuestos de cada una de las respuestas.

#### **3.2.1 Cambios en los parámetros de transferencia de masa por efecto del tiempo de vacío y tiempo de relajación durante la impregnación por vacío**

Los valores experimentales de los parámetros de transferencia de masa obtenidos en la investigación se presentan en la Tabla 3.5. La materia prima utilizada para la determinación de dichos parámetros presentó un contenido de humedad promedio de  $85,1 \pm 0,3\%$ .

**Tabla 3.5** Valores obtenidos para ganancia de sólidos, pérdida de agua y reducción de peso en el día 0 debido a la impregnación por vacío.

Variables Independientes		Respuestas		
$t_v$ (min)	$t_r$ (min)	SG (%)	WL (%)	WR (%)
14	7,5	1,92	1,74	-0,18
7,5	7,5	2,02	1,80	-0,22
7,5	7,5	1,69	1,41	-0,27
7,5	14	1,92	1,07	-0,85
3	3	0,48	-0,14	-0,62
3	12	1,59	1,32	-0,27
1,14	7,5	1,25	0,88	-0,38
7,5	1,14	1,69	0,46	-1,23
12	3	1,50	0,95	-0,54
12	12	2,21	2,18	-0,03
7,5	7,5	2,08	0,93	-1,15

SG: Ganancia de sólidos; WL: pérdida de agua; WR: Reducción de peso  
 $t_v$ : tiempo de vacío;  $t_r$ : tiempo de relajación

**Tabla 3.6** Análisis de varianza de los modelos obtenidos para ganancia de sólidos, pérdida de agua y reducción de peso en el día 0.

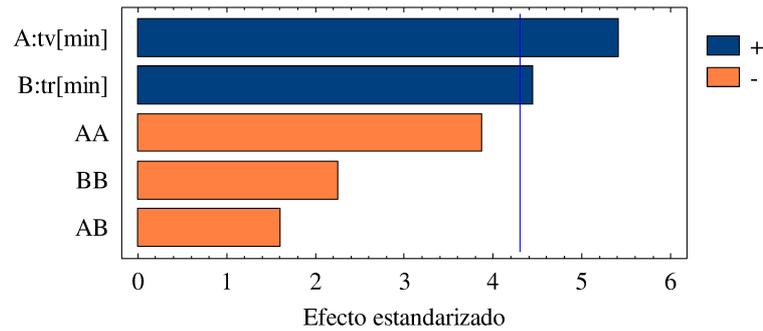
Fuente de variación	G.L.	Suma de Cuadrados		
		SG (%)	WL (%)	WR (%)
A: $t_v$ (min)	1	0,74*	1.23*	0,05
B: $t_r$ (min)	1	0,5*	1.52*	0,23
AA	1	0,38	0,09	0,06
AB	1	0,07	0,01	0,01
BB	1	0,13	0,90*	0,42
Falta de ajuste	3	0,44	0,47	0,18
Error puro	2	0,05	0,08	0,08
Coef. Determinación ( $R^2$ )		78,33	87	78,18

G.L.: grados de libertad; \* $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,01$ ; \*\*\*  $p \leq 0,001$ ; SG: Ganancia de sólidos; WL: pérdida de agua; WR: Reducción de peso.  $t_v$ : tiempo de vacío;  $t_r$ : tiempo de relajación

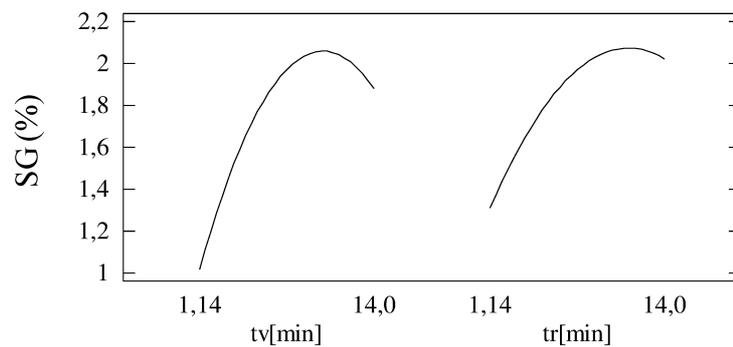
- **Efecto sobre la ganancia de sólidos**

El modelo no presentó falta de ajuste significativa ( $p_{\text{falta de ajuste}} = 0,1516$ ), y explica a través del estadístico  $R^2$  el 78,33% de la variabilidad de los datos.

El término lineal del tiempo de vacío ( $t_v$ ) fue el que tuvo mayor influencia sobre la SG, seguido del tiempo de relajación ( $t_r$ ), según lo observado en el diagrama de Pareto obtenido (Figura 3.4); asimismo se observó que la SG se incrementa a medida que  $t_v$  y  $t_r$  aumentan, como se puede observar en la Figura 3.5



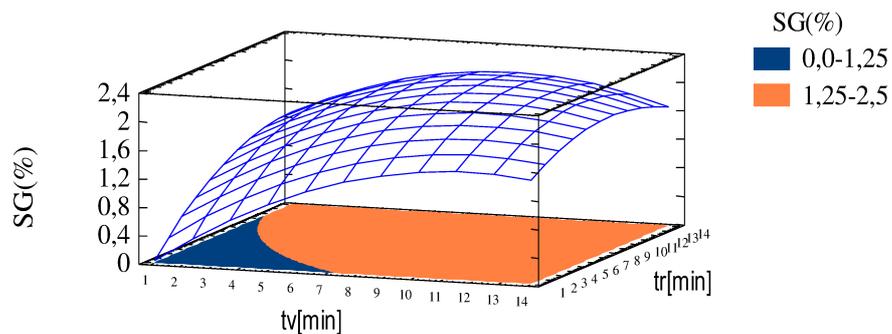
**Figura 3.4** Diagrama de Pareto estandarizado para la ganancia de sólidos de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío



**Figura 3.5** Gráfica de efectos principales para la ganancia de sólidos de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

El modelo reducido obtenido para el SG se presenta a través de la Ec. 25

$$\text{SG} (\%) = 0,73 + 0,07t_v + 0,06t_r \quad (\text{Ec. 25})$$



**Figura 3.6** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la ganancia de sólidos de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

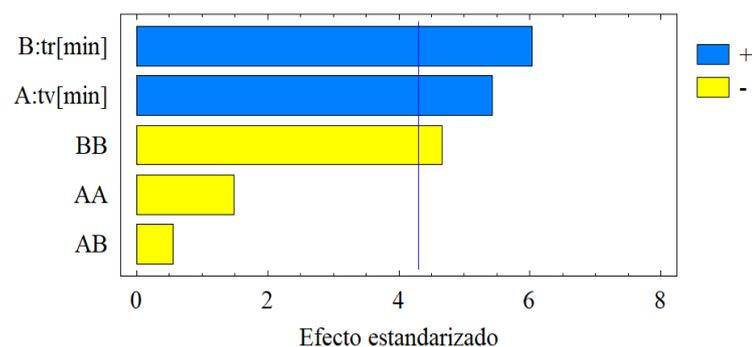
De acuerdo al gráfico de superficie de respuesta (Figura 3.6) se puede observar que a diferentes combinaciones de  $t_v$  y  $t_r$  se pueden incrementar los sólidos, alcanzando un valor máximo de 2,1% para  $t_v$  y  $t_r$  de 9,5 y 10,5 min, respectivamente. Asimismo, Silva-Paes *et al.* (2007) y Wang *et al.* (2014) observaron una tendencia similar en manzanas impregnadas con

soluciones osmóticas de 40 y 50 °Bx, a una presión de 40 mbar, que cuando los períodos de vacío y de relajación se incrementan, la ganancia de sólidos también aumenta. Utilizando el modelo obtenido con los tiempos de IV utilizados por Phianmongkhol *et al.* (2015), para  $t_v$  y  $t_r$  de 10 min con solución isotónica, se obtiene un valor de 2.03%, el cual es menor al obtenido por dichos autores ( $3.07 \pm 0.55 \%$ ), pero puede estar relacionado a que el tamaño de los cubos es menor, por lo que hay mayor superficie de contacto con la SO, y a que la relación muestra:SO es 1:4.

- **Efecto sobre la pérdida de agua**

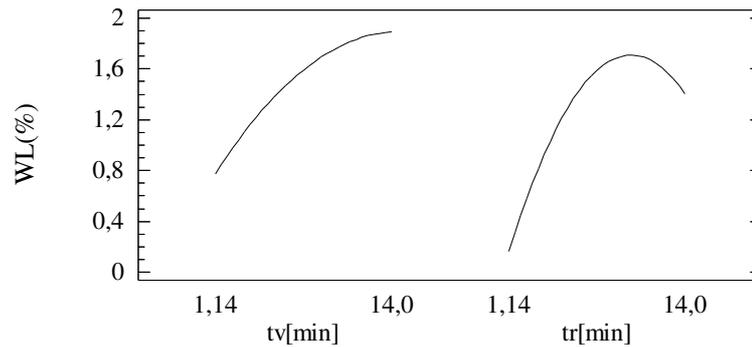
Respecto a la pérdida de agua (WL), el modelo no presentó falta de ajuste significativa ( $p_{\text{falta de ajuste}} = 0,2861$ ) y logró explicar el 87% de variabilidad de los datos.

En el caso del modelo para WL se observó que los términos lineales  $t_v$  y  $t_r$ , y el cuadrático de  $t_r$  resultaron significativos, tal como se observa en el diagrama de Pareto (Figura 3.7). Dicho efecto fue observado también por Wang *et al.* (2014).



**Figura 3.7** Diagrama de Pareto estandarizado para la pérdida de agua de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

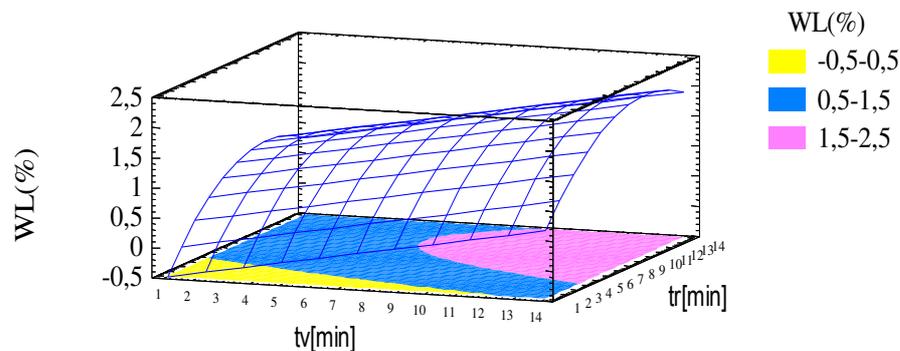
De acuerdo a la gráfica de efectos principales, se observó que WL se incrementa a medida que  $t_v$  y  $t_r$  aumentan, lo que significa que se reduce el contenido de agua de las muestras (Figura 3.8).



**Figura 3.8** Gráfica de efectos principales para la pérdida de agua de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

A través de la Ec. 26 se presenta el modelo reducido obtenido para la pérdida de agua (WL).

$$WL (\%) = -0,93 + 0,09t_v + 0,36t_r - 0,02 t_r^2 \quad (\text{Ec.26})$$



**Figura 3.9** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la pérdida de agua de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

Se pudo observar que la mayor pérdida de agua (2,18%) se obtiene a  $t_v$  y  $t_r$  de aproximadamente 12 min cada uno (Figura 3.9).

Phianmongkhol *et al.* (2015), también estudiaron el efecto del tiempo de vacío y tiempo de relajación en melón y manzana impregnadas por vacío, y observaron un efecto similar al presente estudio, en el cual ambos tiempos influyen en la pérdida de agua. Esta tendencia también coincide con los resultados obtenidos, por Paes *et al.* (2007), a pesar de haber estudiado con condiciones operativas diferentes. Sin embargo, Mujica *et al.* (2003), al estudiar el tiempo de procesamiento y la presión de vacío, evidenció que dentro de los tiempos de vacío experimentales del presente trabajo, no existió diferencia en la variación del volumen de SO incorporado en la fruta, a pesar de haber trabajado con una presión de vacío más alta (135 mbar).

- **Efecto sobre la reducción de peso (WR)**

Valores negativos en WR indican incremento de la reducción peso. Ninguno de los factores presentó un efecto significativo ( $p > 0,05$ ) sobre la variación relativa porcentual de la reducción de peso. Sin embargo, se pudo observar que los tratamientos por IV, incrementaron ligeramente el peso de las muestras tratadas dentro del rango experimental, siendo el valor promedio de WR de las manzanas tratadas por impregnación por vacío (FT) de  $-0,52 \pm 0,39\%$ . Este pequeño incremento en el peso indica casi un equilibrio entre la cantidad de sólidos que se ganan y la cantidad de agua que se pierde luego de los tratamientos.

### 3.2.2 Cambios en los sólidos solubles, pH y actividad de agua por efecto del tiempo de vacío y tiempo de relajación durante la impregnación por vacío

#### 3.2.2.1 En el día de procesamiento

Los resultados experimentales obtenidos se presentan en la Tabla 3.7. Valores positivos en la variación relativa porcentual al día 0, de sólidos solubles ( $\Delta SS_0$ ), pH ( $\Delta pH_0$ ) y actividad de agua ( $\Delta a_{w0}$ ) indican incremento en el parámetro medido. En la Tabla 3.8 se presentan los ANOVA correspondientes a las distintas respuestas en el día cero.

**Tabla 3.7** Cambios en sólidos solubles, pH y actividad de agua debido al proceso de impregnación por vacío en el día 0.

Variables Independientes		Respuestas		
$t_v$ (min)	$t_r$ (min)	$\Delta SS_0$ (%)	$\Delta pH_0$ (%)	$\Delta a_{w0}$ (%)
14	7,5	21,74	-7,72	-0,03
7,5	7,5	15,72	0,00	0,24
7,5	7,5	16,97	-2,63	-0,10
7,5	14	18,92	-5,14	-0,24
3	3	9,45	-3,16	-0,17
3	12	16,44	-4,80	-0,07
1,14	7,5	13,77	-5,82	-0,07
7,5	1,14	13,52	-4,97	-0,14
12	3	16,07	-2,82	0,00
12	12	17,16	-3,84	0,00
7,5	7,5	16,34	-7,30	-0,03

$t_v$ : tiempo de vacío;  $t_r$ : tiempo de relajación; SS: sólidos soluble;  $a_w$ : actividad de agua

**Tabla 3.8** Análisis de varianza de los modelos obtenidos para la variación relativa porcentual de sólidos solubles, pH y actividad de agua al día 0.

Fuente de variación	G.L.	Suma de Cuadrados		
		$\Delta SS_0$ (%)	$\Delta pH_0$ (%)	$\Delta a_{w0}$ (%)
A: $t_v$ (min)	1	42,76*	0,31	0,01
B: $t_r$ (min)	1	29,98*	1,08	0,00
AA	1	0,17	8,06	0,01
AB	1	8,70*	0,09	0,00
BB	1	2,00	0,61	0,06
Falta de ajuste	3	11,38	12,4	0,02
Error puro	2	0,78	27,34	0,06
Coef. Determinación ( $R^2$ )		87,6%	19,3%	46,0%

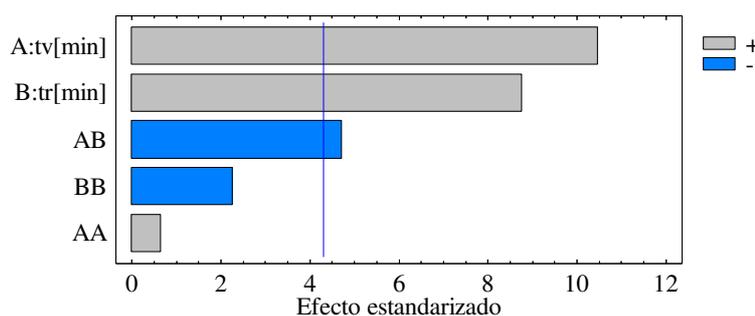
G.L.: grados de libertad; \* $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,01$ ; \*\*\* $p \leq 0,001$ ;  $t_v$ : tiempo de relajación;  $t_r$ : tiempo de relajación; SS: sólidos soluble;  $a_w$ : actividad de agua

- **Efecto sobre  $SS_0$**

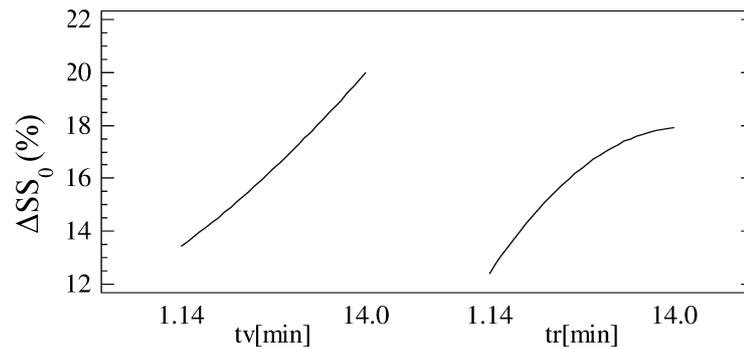
La fruta sin tratar (FF) al día 0 presentó en promedio una concentración de sólidos solubles de  $12,51 \pm 0,34$  °Bx. El valor obtenido se encuentra dentro del rango establecido (11,1-13,2 °Bx) por Gómez *et al.* (2012), así como también por Piagentini y Pirovani (2017).

El modelo no presentó falta de ajuste significativa ( $p_{\text{falta de ajuste}}=0,0948$ ) y mediante el estadístico  $R^2$  se logró explicar el 87,6% de variabilidad de los datos.

De acuerdo a los resultados del ANOVA (Tabla 3.8) y a lo observado en el diagrama de Pareto (Figura 3.10) para  $\Delta SS_0$ , el término lineal del tiempo de vacío ( $t_v$ ), el tiempo de relajación ( $t_r$ ) y la interacción entre los dos factores ( $t_v t_r$ ), fueron significativos. En la gráfica de efectos principales (Figura 3.11) se observó que la  $\Delta SS_0$  se incrementa a medida que  $t_v$  y  $t_r$  aumentan.

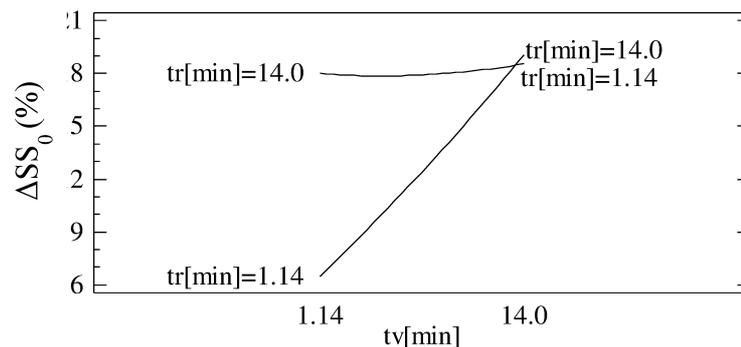


**Figura 3.10** Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual de sólidos solubles al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío.



**Figura 3.11** Gráfica de efectos principales para la variación relativa porcentual de sólidos solubles al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío.

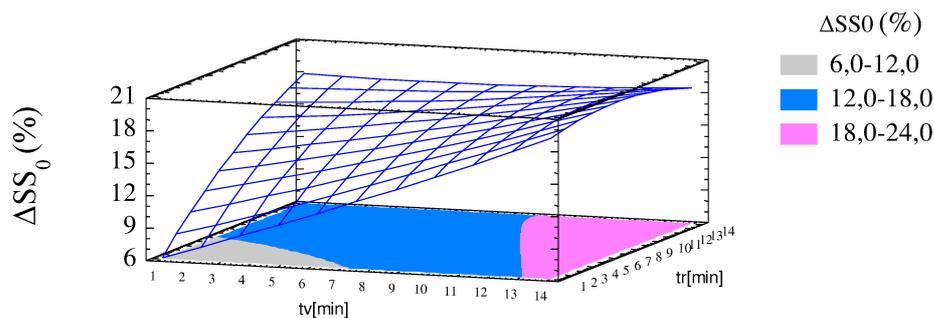
El efecto de la interacción entre el  $t_v$  y  $t_r$  sobre la variación relativa porcentual de sólidos solubles al día cero ( $\Delta SS_0$ ) se representa gráficamente en la Figura 3.12, observándose que, a tiempos de vacío bajos, la  $\Delta SS_0$  es función del tiempo de relajación, presentando así, un incremento de sólidos solubles a medida que el tiempo de relajación aumenta. Mientras que cuando el tiempo de vacío es mayor, existe independencia de  $t_r$ , observándose valores altos del incremento en la variación de sólidos solubles para cualquier  $t_r$  (Figura 3.12).



**Figura 3.12** Gráfica de interacciones para la variación relativa porcentual de sólidos solubles al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío.

En la ecuación (Ec. 27) se presenta el modelo reducido obtenido para la variación relativa porcentual de sólidos solubles al día 0 ( $\Delta SS_0$ ).

$$\Delta SS_0 (\%) = 4,77 + 1,06t_v + 0,98t_r - 0,073t_v t_r \quad (\text{Ec. 27})$$



**Figura 3.13** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual de sólidos solubles al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío.

De acuerdo a la Figura 3.13, a tiempos de vacío altos ( $t_v > 12\text{min}$ ) se produce un mayor incremento de sólidos solubles en la fruta (18 - 24%), es decir entre 14,75- 15,5 °Bx. Estos valores son un poco más altos que aquellos obtenidos por Tapia *et al.* (1997), quien utilizó una presión de vacío de 60 mbar con una SO de 60 °Bx, y mediante el uso nuestro modelo obtenido con las condiciones de estos autores, se obtiene una concentración de 15,37 °Bx.

Un efecto similar fue observado por Phianmongkhon *et al.* (2015), quienes observaron que, a diferencia del melón, los tiempos de procesamiento tienen influencia sobre la manzana var. *Granny Smith* impregnada bajo vacío suave (50 mbar), lo cual puede atribuirse a que la porosidad efectiva en esta fruta es mayor, y además porque esta característica permite una mejor impregnación de solución osmótica en la matriz. También Silva-Paes *et al.* y Borges-Laurindo (2007), estudiaron el efecto del tiempo de vacío y tiempo de relajación en manzanas var. *Gala*, impregnadas por vacío con una solución isotónica y observaron que el mecanismo hidrodinámico (HDM) ocurre principalmente en los primeros 5 min de relajación, donde se evidenció el mayor contenido de sólidos solubles. Asimismo, observaron que el tiempo de vacío influye en el desaireado de la muestra, a medida que incrementa el tiempo de vacío, el contenido de sólidos solubles también es mayor.

- **Efecto sobre  $\text{pH}_0$**

Al igual que lo obtenido por Piagentini y Pirovani (2017) y por Gómez *et al.* (2012), la fruta sin tratar (FF) al día 0 presentó, en promedio, un pH de  $3,21 \pm 0,073$

El modelo propuesto para representar los cambios de  $\text{pH}_0$  en función de  $t_v$  y  $t_r$  presentó un  $R^2$  muy bajo y ninguno de los términos fue significativo (Tabla 3.8). Sin embargo, se observó que los tratamientos en general, disminuyen el pH de la fruta fresca, obteniéndose un  $\text{pH}_0$

promedio de las manzanas tratadas por impregnación por vacío (FT) de  $3,06 \pm 0,036$ . Este efecto puede atribuirse a que la solución osmótica contiene el 1% de ácido cítrico y el 1% de ácido ascórbico, los cuales pueden incorporarse en la matriz impregnada junto con la solución osmótica.

- **Efecto sobre  $a_{w0}$**

La  $a_{w0}$  promedio de las manzanas sin tratar con impregnación por vacío (FF) fue de  $0,985 \pm 0,002$ .

El modelo propuesto para representar los cambios de  $a_{w0}$  en función de  $t_v$  y  $t_r$  presentó un  $R^2$  muy bajo y ninguno de los términos fue significativo (Tabla 3.8).

La  $a_{w0}$  promedio de las manzanas tratadas por impregnación por vacío (FT) fue de  $0,985 \pm 0,001$ , valor que no se diferenció significativamente de la materia prima.

En un estudio realizado en manzanas *Golden Delicious*, que fueron tratadas por osmodeshidratación, se evidenció que con una solución hipertónica (51 °Bx) de sacarosa y tiempos de hasta 12 h de proceso, es posible disminuir la  $a_w$  de valores desde  $\sim 0,99$  hasta valores de  $\sim 0,9$  (Lerici *et al.*, 1985).

En estudios realizados por Mujica *et al.* (2003b), en impregnación por vacío de manzanas, se evidencia que, cuando se utilizan presiones de vacío entre 135-674 mbar, y concentraciones de SO de 40-60%, valores superiores a los empleados en el presente trabajo, existe una reducción de  $a_w$  del 0,6-1,8%, a diferencia de los resultados obtenidos con las condiciones empleadas en esta tesis.

### 3.2.2.2 *Luego de 7 días de almacenamiento a 1,5°C.*

Los resultados experimentales obtenidos para la variación relativa porcentual de sólidos solubles, pH y actividad de agua en el día 7 ( $\Delta SS_7$ ,  $\Delta pH_7$ ,  $\Delta a_{w7}$ ), se presentan en la Tabla 3.9. Valores positivos indican incremento en el parámetro medido.

**Tabla 3.9** Cambios en sólidos solubles, pH y actividad de agua debido a la impregnación por vacío en el día 7.

Variables Independientes		Respuestas		
tv (min)	tr (min)	$\Delta SS_7$ (%)	$\Delta pH_7$ (%)	$\Delta a_{w7}$ (%)
14	7,5	26,84	-5,13	-0,17
7,5	7,5	20,63	-4,68	-0,27
7,5	7,5	19,23	-6,10	-0,47
7,5	14	14,94	-3,52	-0,20
3	3	18,36	-2,59	-0,13
3	12	15,24	-3,99	0,20
1,14	7,5	15,49	-2,35	-0,13
7,5	1,14	12,26	-2,72	-0,20
12	3	19,38	-4,90	-0,37
12	12	23,60	-2,64	0,20
7,5	7,5	17,17	-5,12	-0,13

tv: tiempo de vacío; tr: tiempo de relajación; SS: sólidos solubles;  $a_w$ : actividad de agua

En la Tabla 3.10 se presenta el ANOVA obtenido para las respuestas de SS, pH y  $a_w$  al día 7.

**Tabla 3.10** Análisis de varianza de los modelos obtenidos para la variación relativa porcentual de sólidos solubles, pH y actividad de agua al día 7.

Fuente de variación	G.L.	Suma de Cuadrados		
		$\Delta SS_7$ (%)	$\Delta pH_7$ (%)	$\Delta a_{w7}$ (%)
A: tv (min)	1	83,47*	1,82	0,01
B: tr (min)	1	2,91	0,39	0,13
AA	1	12,54	3,21	0,06
AB	1	13,47	3,35	0,01
BB	1	28,71	6,33	0,03
Falta de ajuste	3	12,44	1,73	0,15
Error puro	2	6,06	1,06	0,06
Coef. Determinación (R <sup>2</sup> )		89,4%	83,3%	48,6%

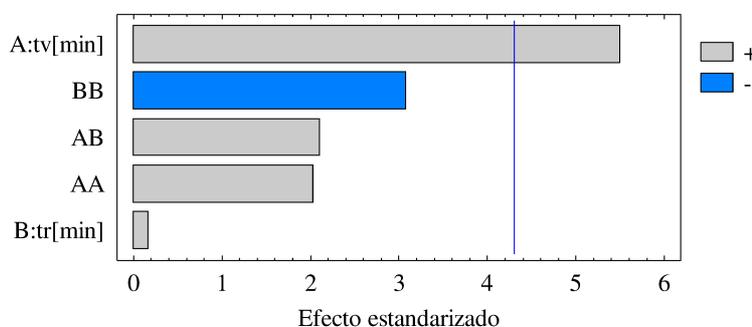
G.L: grados de libertad; \* $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,01$ ; \*\*\* $p \leq 0,001$ ; SS: sólidos solubles;  $a_w$ : actividad de agua

- **Efecto sobre  $SS_7$**

La fruta fresca sin tratar (FF) al día 7 presentó, en promedio, una concentración de sólidos solubles de  $12,21 \pm 0,49$  °Bx.

El modelo no presentó falta de ajuste significativa ( $p_{\text{falta de ajuste}}=0,4485$ ) y el estadístico  $R^2$  indica que el modelo propuesto explica el 89,4% de variabilidad de los datos.

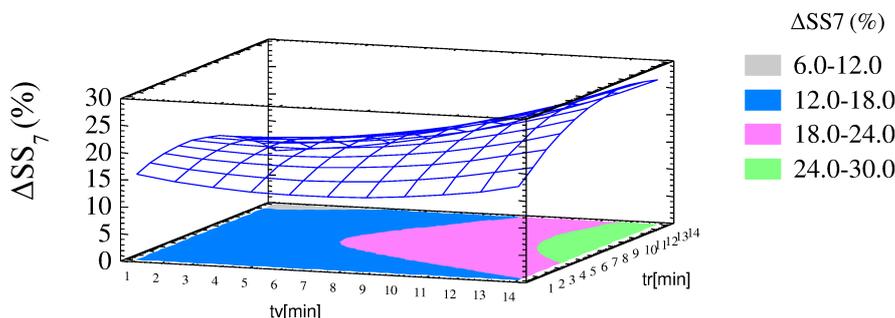
De acuerdo al ANOVA y como se observa en el diagrama de Pareto (Figura 3.14) para  $\Delta SS_7$ , el único término significativo fue el lineal del tiempo de vacío ( $t_v$ ). Este término presentó efecto positivo, es decir, a medida que el  $t_v$  aumenta, la variación relativa porcentual de sólidos solubles al día 7 es mayor.



**Figura 3.14** Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual de sólidos solubles al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

En la ecuación (Ec. 28) se presenta el modelo reducido obtenido para la variación relativa porcentual de sólidos solubles al día 7 ( $\Delta SS_7$ ).

$$\Delta SS_7 (\%) = 6,65 + 0,7t_v + 2,12t_r - 0,13t_r^2 \quad (\text{Ec. 28})$$



**Figura 3.15** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual de sólidos solubles al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

Como se observa en el gráfico de superficie de respuesta estimada (Figura 3.15) para la variación relativa porcentual de sólidos solubles al día 7 ( $\Delta SS_7$ ), para tiempos de vacío superior a los 7 minutos, la variación relativa porcentual de sólidos alcanza valores de hasta 29% (correspondiente a un contenido de los SS de la fruta tratada de aproximadamente 14,9 °Bx), dentro del rango experimental.

- **Efecto sobre pH<sub>7</sub>**

El modelo propuesto para representar los cambios de pH<sub>7</sub> en función de  $t_v$  y  $t_r$  presentó un  $R^2$  de 83,3% y ninguno de los términos fue significativo (Tabla 3.10).

La fruta sin tratar FF al día 7 presentó en promedio un pH de  $3,21 \pm 0,49$ , valor que no difiere del obtenido al día 0. Sin embargo, al día 7, el pH<sub>7</sub> promedio de las manzanas tratadas por impregnación por vacío (FT) fue de  $3,09 \pm 0,06$ , mismo que es similar a aquel obtenido al día 0 para las muestras FT.

- **Efecto sobre  $a_{w7}$**

La  $a_{w7}$  promedio de las manzanas sin tratar con impregnación por vacío (FF) fue de  $0,989 \pm 0,001$ . El  $a_{w7}$  promedio de las manzanas tratadas por impregnación por vacío (FT) fue de  $0,986 \pm 0,001$ . Para  $\Delta a_{w7}$  tampoco se obtuvo un ajuste al modelo predictivo propuesto.

En ambos casos, tanto para fruta fresca como fruta tratada, se puede observar que  $a_w$  presentó un ligero incremento después del almacenamiento refrigerado por 7 días.

### **3.2.3 Cambios en los parámetros de color por efecto del tiempo de vacío y tiempo de relajación durante la impregnación por vacío**

El pardeamiento enzimático en manzanas frescas cortadas es una de las principales causas de pérdida de calidad visual, por lo cual es necesario el uso de agentes antipardeantes (Lee *et al.*, 2003b; Rico *et al.*, 2007; Piagentini *et al.*, 2012). La metodología más utilizada a fin de evitar el pardeamiento enzimático ha sido la utilización de tratamientos químicos, el ácido ascórbico y sus derivados, el ácido cítrico y los cloruros de sodio y potasio como aditivos químicos han sido los más importantes (Artés *et al.* 1998). Sin embargo, existe una tendencia de usar nuevos agentes antioxidantes para evaluarlos con el fin de evitar pérdidas sensoriales y nutricionales (Piagentini *et al.* 2012; Rodríguez-Arzuaga, y Piagentini, 2017). En estas circunstancias la IV facilita la penetración de dichas soluciones en la matriz alimentaria.

El color es uno de los atributos sensoriales que más se relaciona con la aceptabilidad de un producto, por lo cual la efectividad del tratamiento para evitar que se genere un cambio drástico en los diferentes parámetros de color es importante.

Mediante espectrofotometría de reflexión se determinaron los parámetros  $L^*$  (luminosidad),  $a^*$  (rojo/verde),  $b^*$  (amarillo/azul),  $C^*_{ab}$  (cromaticidad) y  $h_{ab}$  (ángulo de tono) para describir los cambios de color en las muestras IV.

### 3.2.3.1 En el día de procesamiento

La manzana en general contiene un alto contenido de polifenoles, lo cual genera un rápido pardeamiento enzimático cuando no se ha realizado un tratamiento posterior al corte, (Piagentini y Pirovani, 2017; Rico *et al.*, 2007).

Los resultados experimentales se presentan en la Tabla 3.11. Valores positivos en los cambios de los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*_{ab}$ , y  $h_{ab}$  indican incremento en el parámetro de la muestra tratadas con respecto a la muestra de manzana fresca cortada sin tratar en el día 0. Mayores valores de  $\Delta E^*_{ab0}$  indican mayor diferencia total de color entre la muestra tratada y la muestra de manzana fresca cortada sin tratar en el día 0. En la Tabla 3.12 se presenta el ANOVA para los modelos obtenidos para los parámetros de color en el día 0.

**Tabla 3.11** Cambio en los parámetros instrumentales de color de manzanas impregnadas por vacío al día 0.

Variables independientes		Respuestas					
$t_v$ (min)	$t_r$ (min)	$\Delta L^*_0$ (%)	$\Delta a^*_0$ (%)	$\Delta b^*_0$ (%)	$\Delta C^*_{ab0}$ (%)	$\Delta h_{ab0}$ (%)	$\Delta E^*_{ab0}$
14	7,5	0,47	-3,04	18,52	18,24	-1,28	2,98
7,5	7,5	-0,66	43,88	28,73	25,05	0,71	4,00
7,5	7,5	-3,77	-19,68	10,59	10,23	-1,89	3,41
7,5	14	-2,43	-2,39	8,19	8,07	-0,62	2,33
3	3	7,90	-43,65	38,36	29,07	-4,97	7,04
3	12	3,39	-54,87	-36,88	-11,10	-1,61	9,21
1,14	7,5	-0,33	25,96	-1,92	-3,89	1,58	0,87
7,5	1,14	-0,50	-15,38	-16,40	-4,82	-0,71	1,04
12	3	1,93	16,29	13,54	13,56	0,13	2,87
12	12	-0,13	52,02	-0,54	-0,24	2,18	0,60
7,5	7,5	-1,53	-1,10	4,52	4,51	-0,02	1,97

**Tabla 3.12** Análisis de varianza de los modelos obtenidos para la variación relativa porcentual de los parámetros de color al día 0.

Fuente de variación	G.L.	Suma de Cuadrados					
		$\Delta L^*_0$ (%)	$\Delta a^*_0$ (%)	$\Delta b^*_0$ (%)	$\Delta C^*_{ab0}$ (%)	$\Delta h_{ab0}$ (%)	$\Delta E^*_{ab0}$
A: tv (min)	1	8,08	1989,2	221,19	93,42	2,82	12,19
B: tr (min)	1	10,37	231,98	351,82	154,58	3,69	0,30
AA	1	23,08	11,93	41,81	25,21	0,00	0,23
AB	1	1,5	551,08	935,14	173,84	0,43	4,93
BB	1	8,79	695,3	416,5	126,89	0,77	0,01
Falta de ajuste	3	47,6	5588,28	2009,0	849,83	25,78	51,12
Error puro	2	5,15	2359,18	317,34	224,98	3,80	2,18
Coef. Determinación (R <sup>2</sup> )		46,9%	30,27%	45,28%	33,91%	21,25%	24,6%

G.L: grados de libertad; \*p≤0,05; \*\*p≤0,01; \*\*\* p≤0,001

Para los parámetros de color en el día 0, ninguno de los factores tuvo un efecto significativo. La fruta sin tratar FF al día 0 presentó, en promedio, un valor de  $L^*_0$  de  $73,12 \pm 2,44$ , valor similar a los reportados en la bibliografía (Rodríguez-Arzuaga *et al.*, 2016; Piagentini y Pirovani, 2017). El  $L^*_0$  promedio de las manzanas tratadas por impregnación por vacío (FT) fue de  $73,29 \pm 0,98$ .

La fruta sin tratar FF al día 0 presentó, en promedio, un valor de  $a^*_0$  de  $-1,84 \pm 0,41$ . El  $a^*_0$  promedio de las manzanas tratadas por impregnación por vacío (FT) fue de  $-1,73 \pm 0,34$ .

La fruta sin tratar FF al día 0 presentó, en promedio, un valor de  $b^*_0$  de  $17,90 \pm 2,41$ . El  $b^*_0$  promedio de las manzanas tratadas por impregnación por vacío (FT) fue de  $18,58 \pm 1,69$ . Los valores obtenidos indican que la fruta tratada es ligeramente más amarilla que la fruta sin tratar.

La fruta sin tratar FF al día 0 presentó, en promedio, un valor de  $C^*_{ab0}$  de  $17,36 \pm 1,36$ . El  $C^*_{ab0}$  promedio de las manzanas tratadas por impregnación por vacío (FT) fue de  $18,66 \pm 1,70$ .

La fruta sin tratar FF al día 0 presentó, en promedio, un valor de  $h_{ab0}$  de  $95,91 \pm 1,36$ . El  $h_{ab0}$  promedio de las manzanas tratadas por impregnación por vacío (FT) fue de  $95,32 \pm 0,92$ .

Al día cero, la variación total de color total al día 0 con respecto a la FF ( $\Delta E^*_{ab0}$ ), resultó en un valor promedio de  $3,30 \pm 2,66$ .

Los parámetros de color medidos inmediatamente después de la impregnación por vacío, no fueron función del tiempo de vacío ni del tiempo de relajación dentro de los rangos experimentales ensayados. Tampoco se determinaron diferencias entre FF y FT en el día 0, como se observa en la Tabla 3.15

Los resultados obtenidos se asemejan a los reportados por Varela *et al.* (2007), en manzanas *Fuji* tratadas por inmersión con diferentes compuestos antioxidantes (ácido ascórbico y ácido propiónico), donde no se observaron diferencias significativas entre los distintos tratamientos ni con la FF, inmediatamente luego del tratamiento. Sin embargo, dependerá del tipo de fruta a impregnar, como en el caso de Pérez-Cabrera *et al.* (2011), quienes reportaron que en ensayos realizados en peras IV, con una presión de 50 mbar con SO isotónica con compuestos antioxidantes, disminuyen los valores de  $L^*$  y  $C^*_{ab}$ , en concordancia con otros autores, quienes explican que puede cambiar ligeramente el color de la fruta debido al intercambio gas-líquido elevado, lo cual implica una homogenización del índice de refractivo en el tejido, con un subsecuente incremento en la relación de absorción/refracción de la luz incidente en la superficie de la muestra. Este efecto genera un leve incremento en la transparencia de la muestra, lo cual genera un impacto en la percepción del color, contrario a lo ocurrido en la presente tesis, donde se logró mantener las características visuales de fruta fresca cortada.

### 3.2.3.2 *Luego de 7 días de almacenamiento a 1,5°C*

Los resultados experimentales se presentan en la Tabla 3.13, y en la Tabla 3.14 se presenta el ANOVA obtenido para las respuestas  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*_{ab}$ ,  $h_{ab}$  y  $\Delta E^*_{ab}$  luego de siete días de almacenamiento refrigerado.

**Tabla 3.13** Cambios en los parámetros instrumentales de color de manzanas impregnadas por vacío al día 7.

Variables Independientes		Respuestas					
$t_v$ (min)	$t_r$ (min)	$\Delta L^*_7$ (%)	$\Delta a^*_7$ (%)	$\Delta b^*_7$ (%)	$\Delta C^*_{ab7}$ (%)	$\Delta h_{ab7}$ (%)	$\Delta E^*_{ab7}$
14	7,5	-2,95	-151,08	-34,61	-34,83	17,34	11,02
7,5	7,5	7,92	-148,50	-29,55	-29,89	16,01	10,75
7,5	7,5	8,71	-168,13	-37,88	-37,84	11,45	12,03
7,5	14	5,82	-196,33	-32,81	-33,41	15,74	10,46
3	3	5,46	-149,95	-26,99	-29,04	14,40	9,52
3	12	3,39	-185,12	-41,93	-38,14	7,66	9,88
1,14	7,5	2,77	-221,08	-36,92	-32,44	10,75	9,41
7,5	1,14	2,08	-178,81	-25,43	-28,14	13,35	8,82
12	3	0,43	-241,87	-22,38	-22,03	11,00	6,49
12	12	6,40	-133,90	-34,29	-32,38	17,82	10,91
7,5	7,5	7,79	-203,73	-27,09	-26,82	13,79	10,06

**Tabla 3.14** Análisis de varianza de los modelos obtenidos para la variación relativa porcentual de los parámetros de color al día 7.

Fuente de variación	G.L.	Suma de Cuadrados					
		$\Delta L^*_7$ (%)	$\Delta a^*_7$ (%)	$\Delta b^*_7$ (%)	$\Delta C^*_{ab7}$ (%)	$\Delta h_{ab7}$ (%)	$\Delta E^*_{ab7}$
A: $t_v$ (min)	1	13,41*	493,7	29,32	10,48	34,06	0,018
B: $t_r$ (min)	1	10,61*	328,16	170,47	89,76	1,93	6,35
AA	1	74,97**	84,57	20,35	2,51	0,30	1,24
AB	1	16,16*	5122,26	2,30	0,39	45,97	4,12
BB	1	15,21*	144,02	12,73	4,01	0,00	3,38
Falta de ajuste	3	11,25	3790,5	45,52	57,02	7,00	4,18
Error puro	2	0,4958	1567,68	63,95	64,69	10,40	2,77
Coef. Determinación ( $R^2$ )		90,85%	52,88%	69,64%	47,54%	82,19%	67,01

G.L: grados de libertad; \* $p \leq 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,01$ ; \*\*\*  $p \leq 0,001$

Ninguno de los factores tuvo un efecto significativo ( $p > 0,05$ ) sobre la variación relativa porcentual de  $a^*$  al día 7. La fruta sin tratar FF al día 7 presentó, en promedio, un valor de  $a^*_7$  de  $2,54 \pm 1,01$ . El  $a^*_7$  promedio de las manzanas tratadas por impregnación por vacío (FT) fue de  $-1,81 \pm 0,39$ . Los valores obtenidos indican que la fruta tratada presentó tonos verdes propios de la variedad, a diferencia que la fruta sin tratar luego de 7 días a  $1.5^\circ\text{C}$ . La manzana fresca cortada sin tratar presenta valores de  $a^*$  positivos, lo que significa la presencia de tonos rojizos en las muestras, debido al pardeamiento enzimático.

De la misma manera, los tiempos de vacío y relajación no afectaron significativamente ( $p > 0,05$ ) la variación relativa porcentual de  $b^*$  al día 7 (Tabla 3.14). En promedio, la fruta sin tratar FF al día 7 presentó, un valor de  $b^*_{7}$  de  $25,74 \pm 0,79$ . Mientras que el  $b^*_{7}$  promedio de las manzanas tratadas por impregnación por vacío (FT) fue de  $17,67 \pm 1,28$ . Los valores obtenidos indican que la fruta tratada es menos amarilla que la fruta sin tratar, luego de 7 días a  $1.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Asimismo, ningún factor tuvo un efecto significativo ( $p > 0,05$ ) sobre la variación relativa porcentual de  $C^*_{ab}$  al día 7 (Tabla 3.14). La fruta sin tratar FF al día 7 presentó, en promedio, un valor de  $C^*_{ab7}$  de  $25,88 \pm 0,83$ . El  $C^*_{ab7}$  promedio de las manzanas tratadas por impregnación por vacío (FT) fue de  $17,76 \pm 1,30$ . Los valores obtenidos indican que la fruta tratada presentó un color menos intenso que el de la fruta sin tratar luego de 7 días.

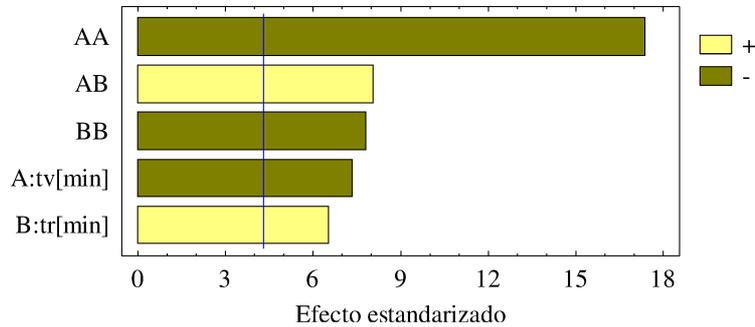
Tampoco se observó efectos significativos ( $p > 0,05$ ) sobre la variación relativa porcentual de  $h_{ab}$  al día 7. La fruta sin tratar FF al día 7 presentó un valor promedio de  $h_{ab7}$  de  $84,41 \pm 2,18$ , significativamente menor que las manzanas tratadas por impregnación por vacío (FT) ( $95,81 \pm 1,06$ ). Los valores obtenidos indican que la fruta tratada presentó tonos verdosos ( $h_{ab} > 90$ ), mientras que las muestras sin tratar presentaron tonos entre amarillos y rojizos ( $h_{ab} < 90$ ). Estos resultados indican que no se desarrolla pardeamiento enzimático en las muestras tratadas luego de 7 días a  $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Al igual que los anteriores parámetros de color, ninguno de los factores tuvo un efecto significativo ( $p > 0,05$ ) sobre la diferencia total de color  $\Delta E^*_{ab}$  al día 7. No se observaron diferencias significativas en la variación total del color total al día 7 por efecto de los tratamientos. El valor promedio de  $\Delta E_7$  de  $9,94 \pm 1,06$ , valor que hace referencia a que existe diferencia respecto a la manzana fresca cortada sin tratar, luego de 7 días a  $1,5$ .

Para  $\Delta L^*_{7}$  se obtuvo un modelo sin falta de ajuste ( $p_{\text{falta de ajuste}} = 0,0626$ ) que explicó el 90,85% de la variabilidad de los datos. La fruta sin tratar FF al día 7 presentó, en promedio, un valor de  $L^*_{7}$  de  $69,10 \pm 1,63$ .

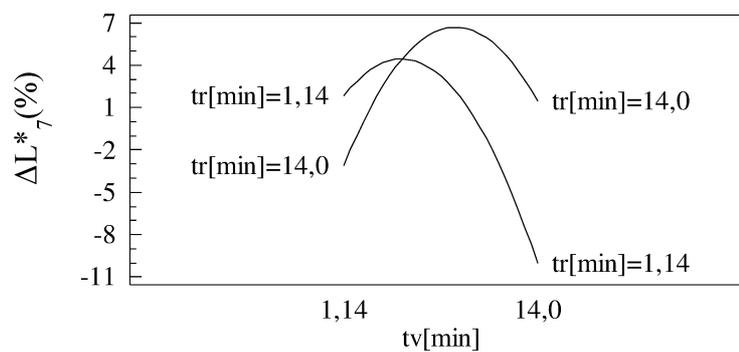
De acuerdo al diagrama de Pareto (Figura 3.16) para  $\Delta L^*_{7}$  todos los términos resultaron significativos, siendo el termino más significativo ( $p < 0,01$ ) el cuadrático del tiempo de vacío ( $t_v^2$ ). Se observó que  $\Delta L^*_{7}$  se incrementa a medida que el  $t_v$  y  $t_r$  aumentan, hasta un valor máximo de 8,4%; cuando  $t_v = 7,13$  min y  $t_r = 8,9$  min. Un aumento posterior del  $t_v$  y  $t_r$ , produce

una disminución en  $\Delta L^*_7$ , llegando a valores negativos para los mayores de  $t_v$ , como se muestra en la figura 3.18 (oscurecimiento de la muestra IV con respecto a la fruta sin tratar).



**Figura 3.16** Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual del parámetro de color  $L^*$  al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

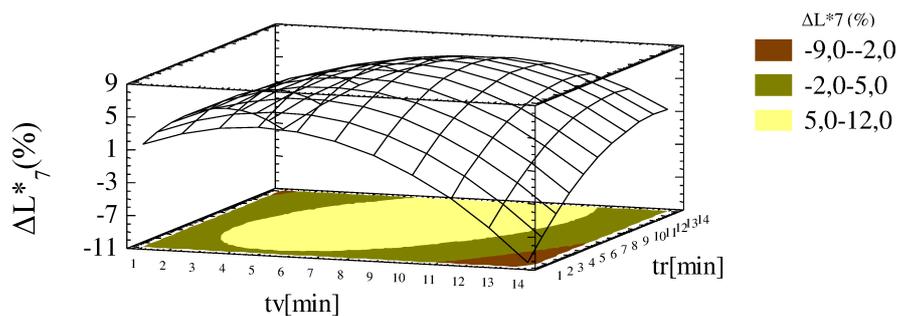
El efecto de la interacción entre el  $t_v$  y  $t_r$  sobre la variación relativa porcentual del parámetro de color  $L^*$  al día siete ( $\Delta L^*_7$ ) se representa gráficamente en la Figura 3.17. Se puede observar que el parámetro en estudio es función de la combinación del tiempo de vacío y relajación. Para valores bajos de  $t_v$ ,  $\Delta L^*_7$  disminuye con  $t_r$ . Mientras que cuando se trabaja con altos  $t_v$ , el  $\Delta L^*_7$  aumenta con el incremento de  $t_r$ . Este efecto se puede justificar debido a que a medida que incrementa el  $t_v$ , mayor es la cantidad de aire ocluido en los poros de la fruta que se libera hacia el exterior, mientras que, a medida que aumenta  $t_r$ , mayor es la cantidad de compuestos antioxidantes que ingresan en la fruta.



**Figura 3.17** Gráfica de interacciones para la variación relativa porcentual del parámetro de color  $L^*$  al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

En la ecuación (Ec. 29) se presenta el modelo obtenido para la variación relativa porcentual de sólidos solubles al día 7 ( $\Delta L^*_7$ ).

$$\Delta L^*_7 (\%) = -0,64 + 1,65t_v + 0,71t_r - 0,18t_v^2 + 0,1t_v t_r - 0,08t_r^2 \quad (\text{Ec. 29})$$



**Figura 3.18** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual del parámetro de color  $L^*$  al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

Como se observa en la gráfica Figura 3.18, muestras más claras se obtienen a partir de un amplio rango de combinaciones de  $t_v$  y  $t_r$ , mientras que muestras muy oscuras se obtienen a tiempos de vacío elevados y tiempos de relajación bajos, dentro del rango experimental.

En un estudio realizado en peras tratadas por IV suave, con soluciones isotónicas y tiempos de tratamientos de  $t_v = 5$  min y  $t_r = 10$  min, también se observó una reducción de la luminosidad ( $\sim 50\%$ ) luego de una semana de almacenamiento refrigerado, cuando se evalúan distintas soluciones antioxidantes (Pérez-Cabrera *et al.*, 2011).

Como se puede observar en las tablas 3.13 y 3.14, las condiciones de tratamiento suave no influyeron significativamente sobre los parámetros de color en el día 0 y 7 de almacenamiento a  $1,5^\circ\text{C}$ , salvo como ya se mencionó, en el caso de la luminosidad. Por otro lado se destaca que prácticamente no hay diferencias de color entre el día 0 y 7 para las FT y, por el contrario la FF muestra un marcado cambio entre el día 0 y 7 debido a la ausencia de tratamiento antioxidante. Sin embargo, para la FF se pudo observar que existe una diferencia entre los promedios obtenidos, evidenciándose que para todos los parámetros de color, la fruta fresca del día 7 es diferente, lo cual se atribuye a que el tratamiento de IV con soluciones antioxidantes, mantiene el color inicial de la materia prima, demorando la aparición del pardeamiento enzimático en la muestras tratadas (tabla 3.15).

**Tabla 3.15** Efecto de la impregnación por vacío y del tiempo de almacenamiento sobre los parámetros de color de manzanas frescas cortadas var. *Granny Smith*

Atributo	Muestra	Día	Promedio $\pm$ DS
$L^*$	FF	0	73,13 $\pm$ 2,56 <sup>A</sup>
	FT	0	73,29 $\pm$ 1,03 <sup>A</sup>
$a^*$	FF	0	-1,66 $\pm$ 1,39 <sup>A</sup>
		7	2,24 $\pm$ 1,07 <sup>B</sup>
	FT	0	-1,96 $\pm$ 0,80 <sup>A</sup>
		7	-1,99 $\pm$ 0,74 <sup>A</sup>
$b^*$	FF	0	18,226 $\pm$ 2,376 <sup>A</sup>
		7	25,439 $\pm$ 0,929 <sup>B</sup>
	FT	0	18,118 $\pm$ 1,430 <sup>A</sup>
		7	17,491 $\pm$ 1,369 <sup>A</sup>
$C^*_{ab}$	FF	0	17,36 $\pm$ 1,359 <sup>A</sup>
		7	25,88 $\pm$ 0,832 <sup>B</sup>
	FT	0	18,66 $\pm$ 1,701 <sup>A</sup>
		7	17,76 $\pm$ 1,303 <sup>A</sup>
$h_{ab}$	FF	0	95,91 $\pm$ 1,360 <sup>A</sup>
		7	84,41 $\pm$ 2,176 <sup>B</sup>
	FT	0	95,32 $\pm$ 0,923 <sup>A</sup>
		7	95,81 $\pm$ 1,066 <sup>A</sup>

Letras diferentes en la misma columna y para cada atributo indican diferencias significativas por el test de Tuckey ( $p \leq 0,05$ )  
 1: no se incluyen los valores del día 7 porque varían significativamente con las variables de proceso estudiadas. FF: fruta fresca; FT: fruta tratada

### 3.2.4 Cambios en las propiedades mecánicas por efecto del tiempo de vacío y tiempo de relajación durante la impregnación por vacío

En el proceso de impregnación por vacío ocurren dos fenómenos consecutivos, el primero es el de deformación-relajación (DRP), el cual afecta la microestructura y las propiedades mecánicas del alimento, y el segundo es el mecanismo hidrodinámico que se enfoca en la transferencia de masa, causando importantes cambios en las propiedades mecánicas del producto (Betoret *et al.*, 2015).

Los cambios de presión generados debido al proceso de impregnación por vacío generan deformaciones estructurales, que afectan posteriormente a los propiedades mecánicas (Fito, Chiralt *et al.*, 2000), tal como se observa en los resultados obtenidos. Es por ello que varios autores han investigado sobre el uso de soluciones a base de calcio, reportando que ayuda a mantener la firmeza por enlazarse con las paredes celulares y las pectinas de la laminilla media, estabilizando las membranas celulares y/o afectando el turgor celular en melón (Kader, 2002; Luna-Guzman y Barret, 2000 y Saftner *et al.*, 2003). Sin embargo, se ha observado en productos tratados por IV, que una medida para mejorar los atributos texturales se basa en la ganancia de

sólidos de la matriz alimentaria luego de ser tratadas. Asimismo, sería una medida para optimizar la tecnología de productos tratados con calcio e irradiación, donde se ha observado que la falta de firmeza de las manzanas tratadas, es debido a una falta de penetración del ión calcio en la matriz vegetal (García y Barret, 2002).

La pérdida de agua celular no solo reduce su volumen, la membrana celular presenta también alteración y separación de la pared celular lo cual llega a deformarse, produciéndose así un estrés mecánico sobre la laminilla media, la cual es también alterada. Todos estos cambios estructurales afectan considerablemente las propiedades mecánicas, las cuales definen la aceptabilidad final del producto por parte del consumidor (Castelló *et al.*, 2009).

Los test de punción son los métodos más comúnmente usados para evaluar los cambios en las propiedades mecánicas de frutas como las manzanas, sobre todo porque sirven como complemento al análisis sensorial (Camps *et al.*, 2005)

#### ***3.2.4.1 En el día de procesamiento***

Los resultados experimentales se presentan en la Tabla 3.16. Valores positivos en la variación relativa porcentual en el día 0 de fuerza máxima ( $\Delta F_0$ ), área bajo la curva hasta F que representa el trabajo ( $\Delta A_0$ ), número de picos ( $\Delta N_{picos_0}$ ) y distancia lineal ( $\Delta DL_0$ ), indican incremento en el parámetro medido, es decir un incremento en la firmeza o en las características de crujencia en la muestra IV.

**Tabla 3.16** Cambios en Fuerza máxima, trabajo, Número de picos y Distancia lineal en el día 0 debido a la impregnación por vacío

Variables Independientes		Respuestas			
tv (min)	tr (min)	$\Delta F_0$ (%)	$\Delta A_0$ (%)	$\Delta N_{\text{picos}0}$ (%)	$\Delta DL_0$ (%)
14	7,5	-25,02	-30,95	-52,01	-19,20
7,5	7,5	-6,33	11,94	-32,7	-17,49
7,5	7,5	-6,75	12,92	-30,00	-16,55
7,5	14	-5,59	10,11	-7,90	-10,19
3	3	19,64	20,92	-9,40	3,83
3	12	10,82	14,8	-14,84	-2,86
1,14	7,5	7,82	10,48	-7,07	5,02
7,5	1,14	1,44	1,46	-10,22	1,81
12	3	-5,96	-7,11	-48,65	-6,50
12	12	4,64	1,37	-3,90	-11,94
7,5	7,5	2,72	1,84	-43,66	-21,11

F: Fuerza máxima; A: Área bajo la curva hasta F; Npicos: Número de picos; DL: Distancia lineal.

En la Tabla 3.17 se presenta el ANOVA obtenido para las respuestas de firmeza en el día 0.

**Tabla 3.17** Análisis de varianza de los modelos obtenidos para la variación relativa porcentual de las propiedades mecánicas al día 0

Fuente de variación	G.L.	Suma de Cuadrados			
		$\Delta F_0$ (%)	$\Delta A_0$ (%)	$\Delta N_{\text{picos}0}$ (%)	$\Delta DL_0$ (%)
A: tv (min)	1	756,58*	1266,79*	1014,44*	350,80*
B: tr (min)	1	6,76	28,26	259,31	99,38
AA	1	1,33	290,59	50,56	201,07*
AB	1	94,28	53,29	629,76	0,39
BB	1	75,87	2,93	959,16	309,46*
Falta de ajuste	3	363,00	223,47	333,92	37,52
Error puro	2	57,25	75,24	104,67	11,59
Coef. Determinación (R <sup>2</sup> )		69,4%	85%	86,8%	94,6%

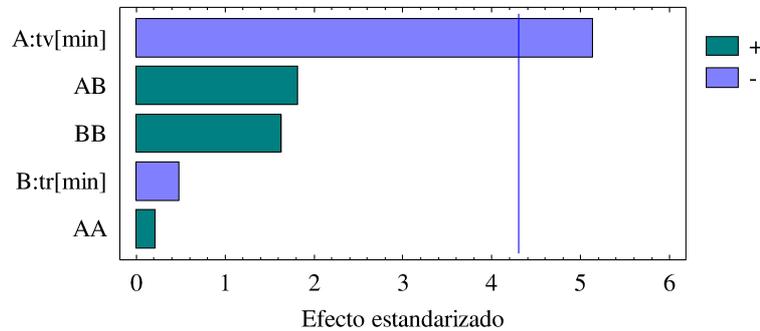
G.L: grados de libertad; \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\* p<0,001; F: Fuerza máxima; A: Área bajo la curva hasta F; Npicos: Número de picos; DL: Distancia lineal.

- **Efecto sobre F<sub>0</sub>**

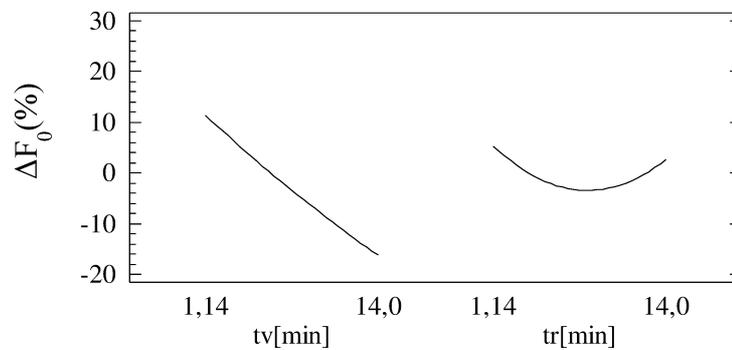
La fruta sin tratar FF al día 0 presentó, en promedio, una fuerza máxima de  $15,38 \pm 1,39$  N.

El modelo para  $\Delta F_0$  no presentó falta de ajuste significativa ( $p_{\text{falta de ajuste}}=0,1972$ ) y mediante el estadístico R<sup>2</sup> se logró explicar el 69,4% de variabilidad de los datos.

De acuerdo al diagrama de Pareto (Figura 3.19) y a la gráfica de efectos principales (Figura 3.20) para  $\Delta F_0$  el único término significativo fue el lineal del tiempo de vacío ( $t_v$ ). Se observó que la  $\Delta F_0$  disminuye a medida que el  $t_v$  aumenta, es decir tienen efecto negativo.



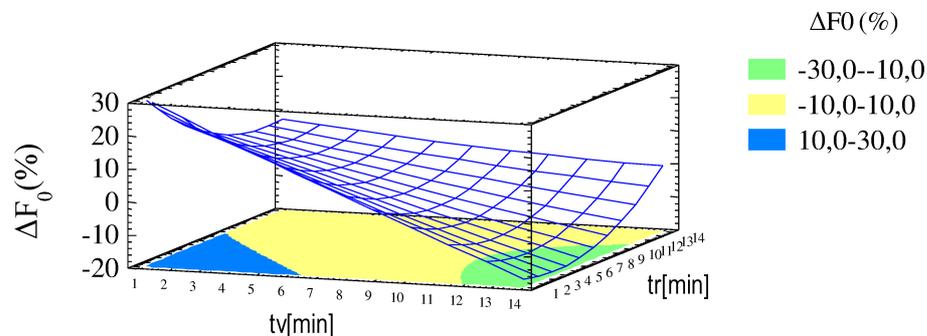
**Figura 3.19** Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual de Fuerza máxima al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío



**Figura 3.20** Gráfica de efectos Principales para la variación relativa porcentual de Fuerza máxima al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

En la ecuación (Ec. 30) se presenta el modelo reducido obtenido para la variación relativa porcentual de la firmeza al día 0 ( $\Delta F_0$ ).

$$\Delta F_0(\%) = 16,07 - 2,17t_v \quad (\text{Ec. 30})$$



**Figura 3.21** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual de Fuerza máxima al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

En la Figura 3.21 se observa que combinaciones de tiempo de vacío y de relajación bajos, generan un incremento entre el 10 y 30% de la fuerza máxima, mientras que tiempos de vacío alto con bajos tiempos de relajación, disminuyen entre el 10 y 20% la  $F_0$ , respecto a la fruta fresca sin tratar.

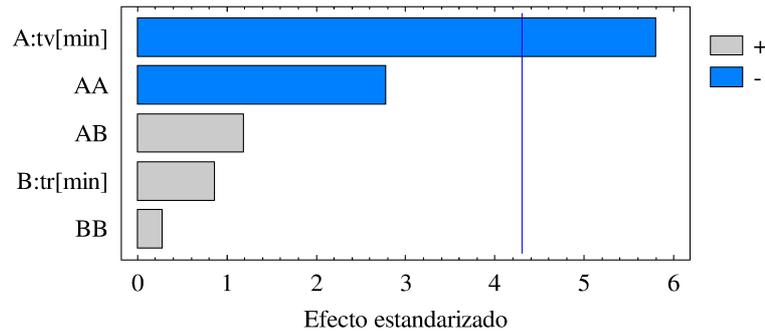
Cuando los tiempos de vacío son bajos se determinó que puede existir un leve incremento de la firmeza, similarmente a lo informado por Torreggiani y Bertolo (2001) en kiwis tratados por osmodeshidratación a presión atmosférica, donde existe un ligero incremento en la firmeza por efecto simultáneo de la ganancia de sólidos y pérdida de agua en las muestras. Algunos autores como Gil *et al.* (1998) y Rocculi *et al.* (2003) proponen que para mantener la firmeza del producto tratado, se debería utilizar calcio en la SO.

Este efecto se debe al daño generado en las estructuras celulares, lo cual genera una alteración en el comportamiento mecánico de la fruta IV. Por lo tanto, la textura de las frutas procesadas por impregnación por vacío, está ampliamente relacionada con la cantidad de agua, lo cual se refleja en la pérdida del turgor y de elasticidad (Martinez-Monzo *et al.*, 1998; Zhao y Xie, 2004).

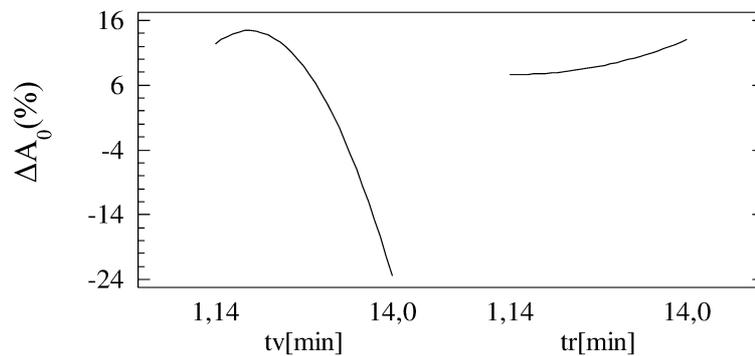
- **Efecto sobre  $A_0$**

El modelo no presentó falta de ajuste significativa ( $p_{\text{falta de ajuste}} = 0,3529$ ) y mediante el estadístico  $R^2$  se logró explicar el 84,9% de variabilidad de los datos. La fruta sin tratar FF al día 0 presentó en promedio un área ( $A_0$ ) de  $89,33 \pm 12,87$  N.mm.

De acuerdo al diagrama de Pareto (Figura 3.22) y a la gráfica de efectos principales (Figura 3.23) para  $\Delta A_0$  el único término significativo fue el lineal del tiempo de vacío ( $t_v$ ). Se observó que la  $\Delta A_0$  disminuye a medida que el  $t_v$  aumenta, es decir tienen efecto negativo.



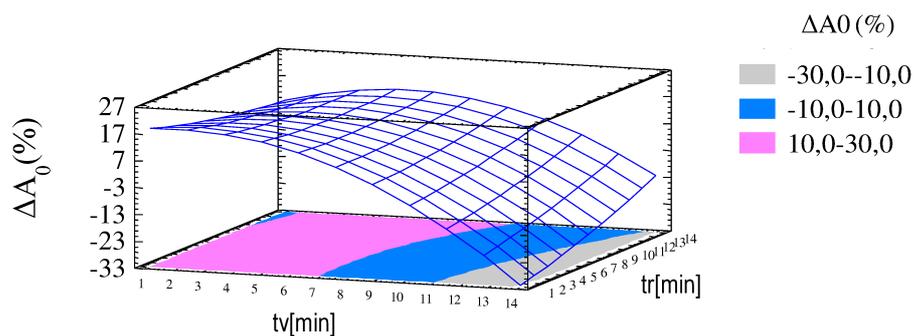
**Figura 3.22** Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual del área al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío



**Figura 3.23** Gráfica de efectos Principales para la variación relativa porcentual del área al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

En la ecuación (Ec. 31) se presenta el modelo reducido obtenido para la variación relativa porcentual del área o trabajo al día 0 ( $\Delta A_0$ ).

$$\Delta A_0 (\%) = 10,71 + 2,66t_v - 0,36t_v^2 \quad (\text{Ec. 31})$$



**Figura 3.24** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual del área al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

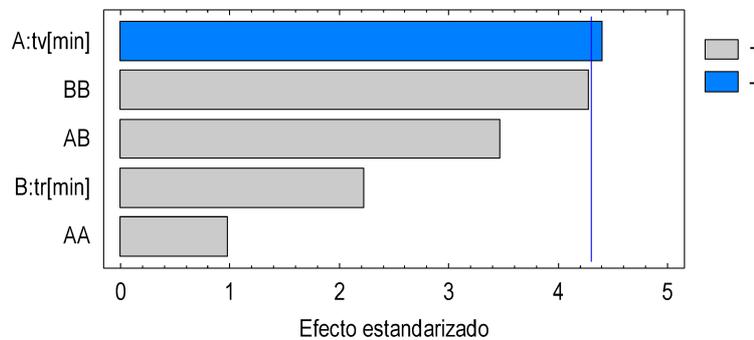
Se observa en la Figura 3.24, que combinaciones de tiempo de vacío y de relajación bajas, generan un incremento máximo del 18,8% del área (trabajo), mientras que a medida que aumenta el tiempo de vacío, disminuye el trabajo hasta un valor de -32,1% respecto a la fruta

fresca sin tratar, lo cual significa que a mayor  $t_v$  se requiere un menor esfuerzo para masticar la fruta.

• **Efecto sobre Npico<sub>0</sub>**

El modelo no presentó falta de ajuste significativa ( $p_{\text{falta de ajuste}}=0,3357$ ) y mediante el estadístico  $R^2$  se logró explicar el 86,8% de variabilidad de los datos. La fruta sin tratar FF al día 0 presentó en promedio un número de picos ( $N_{\text{pico}_0}$ ) de  $41,2 \pm 5,4$ .

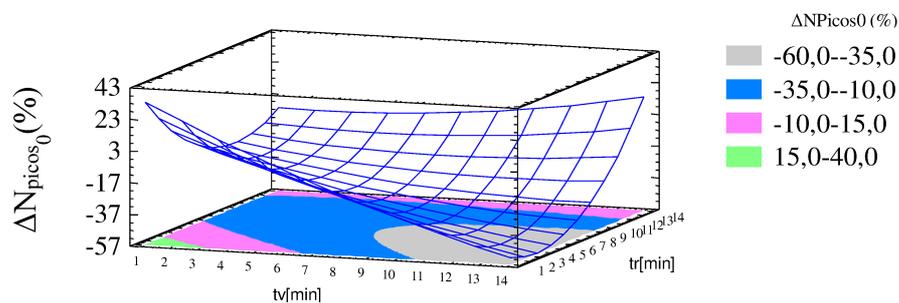
Se observó de acuerdo al diagrama de Pareto (Figura 3.25) para  $\Delta\%N_{\text{pico}_0}$ , que el único término significativo fue el lineal del tiempo de vacío ( $t_v$ ). La respuesta disminuye a medida que el  $t_v$  aumenta, es decir tienen efecto negativo.



**Figura 3.25** Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual del número de picos al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

En la ecuación (Ec. 32) se presenta el modelo reducido obtenido para la variación relativa porcentual del número de picos al día 0 ( $\Delta N_{\text{pico}_0}$ ).

$$\Delta N_{\text{pico}_0} (\%) = -13,42 - 2,55t_v + 1,18t_r \tag{Ec. 32}$$



**Figura 3.26** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual del número de picos al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

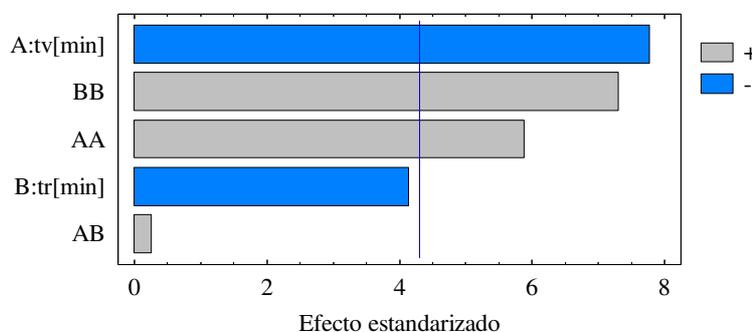
Se observa en la Figura 3.26 que combinaciones de tiempo de vacío y de relajación bajos, se presenta un mayor número de picos en la curva de punción, mientras que a medida que aumenta el tiempo de vacío, el número de picos disminuye, llegando a una disminución del aproximadamente -45,5%, lo que significa que la fruta tratada es menos crujiente.

La característica de crujiente de la manzana, está relacionada con el número de picos obtenidos en la gráfica, y se puede observar que a medida que incrementa el tiempo de vacío, disminuye el valor de estos parámetros, los cuales son muy importantes para la aceptabilidad del producto por parte del consumidor.

- **Efecto sobre  $DL_0$**

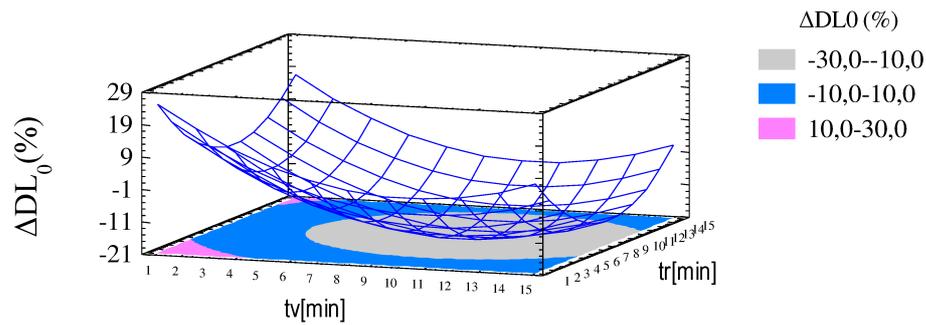
El modelo no presentó falta de ajuste significativa ( $p_{\text{falta de ajuste}}=0,3323$ ) y el estadístico  $R^2$  indica que el modelo explica el 94,6% de variabilidad de los datos. La fruta sin tratar FF al día 0 presentó en promedio una distancia lineal ( $DL_0$ ) de  $63,83 \pm 9,85$ .

Se observó de acuerdo al diagrama de Pareto para la  $\Delta DL_0$  (Figura 3.27), que el término más significativo fue el lineal del tiempo de vacío ( $t_v$ ), seguido del término cuadrático del tiempo de relajación ( $t_r^2$ ) y finalmente el término cuadrático del tiempo de vacío ( $t_v^2$ ). Al presentar efecto negativo, la respuesta disminuye a medida que el  $t_v$  aumenta.



**Figura 3.27** Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual de la distancia lineal al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

El efecto del  $t_v$  y  $t_r$  sobre la variación relativa porcentual de la distancia lineal al día 0 se representa gráficamente en la Figura 3,28. A  $t_v$  bajos, el valor de la distancia lineal incrementa, siendo mayor cuando los tiempos de relajación también son cortos. Por otro lado, cuando el tiempo de vacío es alto los valores de  $\Delta DL_0$  son más bajos.



**Figura 3.28** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual del número de la distancia lineal al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

En la ecuación (Ec. 33) se presenta el modelo reducido obtenido para la variación relativa porcentual de la distancia lineal al día 0 ( $\Delta DL_0$ ).

$$\Delta DL_0 (\%) = 35,83 - 5,86t_v - 6,24t_r + 0,29t_v^2 + 0,36t_r^2 \quad (\text{Ec. 33})$$

Comparando con los estudios realizados por Joshi y Rupasinghe (2010) en manzanas var. *Empire* impregnadas con SO de 15,2°Bx a base de jugo de uva y con la adición de t-resveratrol, cuando utilizaron una presión de 203,2 mbar, y tiempos de 10 y 9,9 min de  $t_v$  y  $t_r$ , obtuvieron una DL de 24,6 N.mm, mientras que si usamos el modelo obtenido (Ec. 33) con estas condiciones, se obtiene una disminución del 36,9% respecto a la fruta fresca, es decir un valor superior a los obtenidos en nuestras condiciones, presión de vacío de 67,7 mbar y una SO de 30 °Bx.

#### 3.2.4.1 Luego de 7 días de almacenamiento a 1,5°C

Los resultados experimentales se presentan en la Tabla 3.18. Valores positivos en la variación relativa porcentual en el día 7 de fuerza máxima ( $\Delta F_7$ ), Trabajo ( $\Delta A_7$ ), número de picos ( $\Delta N_{\text{picos}_7}$ ) y distancia lineal ( $\Delta DL_7$ ), indican incremento en el parámetro medido. En la Tabla 3.19 se presenta el ANOVA obtenido para los modelos propuestos para las respuestas vinculadas al test de punción en el día 7.

**Tabla 3.18** Cambios en fuerza máxima, trabajo, número de picos y distancia lineal en el día 7 debido a la impregnación por vacío

$t_v$ (min)	$t_r$ (min)	$\Delta F_7$ (%)	$\Delta A_7$ (%)	$\Delta N_{\text{picos}}_7$ (%)	$\Delta DL_7$ (%)
14	7,5	-0,79	-21,50	-33,99	-29,77
7,5	7,5	-11,40	-18,03	-36,25	-24,32
7,5	7,5	-13,71	-20,16	-45,47	-30,49
7,5	14	-5,40	-22,06	-45,65	-24,23
3	3	-20,34	-21,86	-44,81	-29,40
3	12	-4,68	-14,62	-42,24	-16,36
1,14	7,5	-9,67	-18,26	-56,92	-26,11
7,5	1,14	-13,22	-28,99	-55,21	-33,47
12	3	-1,08	-24,41	-36,27	-32,24
12	12	-5,82	-33,20	-61,11	-23,76
7,5	7,5	-12,52	-26,88	-40,83	-27,91

F: Fuerza máxima; A: Área bajo la curva hasta F; Npicos: Número de picos; DL: Distancia lineal.

**Tabla 3.19** Análisis de varianza del modelo obtenido para la variación relativa porcentual de las propiedades mecánicas al día 7.

Fuente de variación	G.L.	Suma de Cuadrados			
		$\Delta F_7$ (%)	$\Delta A_7$ (%)	$\Delta N_{\text{picos}}_7$ (%)	$\Delta DL_7$ (%)
A: $t_v$ (min)	1	115,77*	84,59	56,24	30,06
B: $t_r$ (min)	1	57,89*	7,15	12,40	147,48
AA	1	67,36*	3,36	17,32	1,73
AB	1	104,04*	64,24	187,83	5,19
BB	1	11,81	24,31	99,87	0,00
Falta de ajuste	3	5,35	52,62	400,90	30,38
Error puro	2	2,67	42,67	42,50	19,20
Coef. Determinación ( $R^2$ )		97,8%	66,7%	44,9%	79%

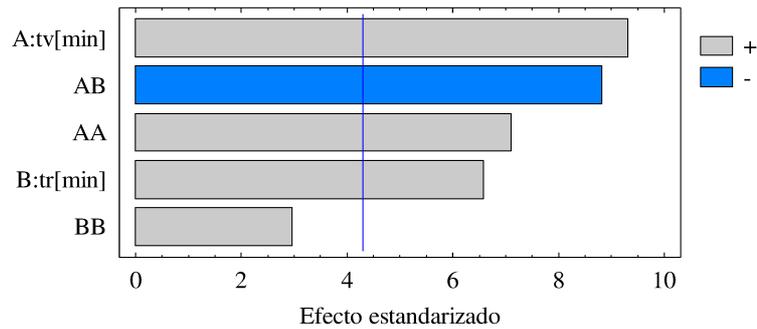
G.L: grados de libertad; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ : F: Fuerza máxima; A: Área bajo la curva hasta F; Npicos: Número de picos; DL: Distancia lineal.

- **Efecto sobre  $F_7$**

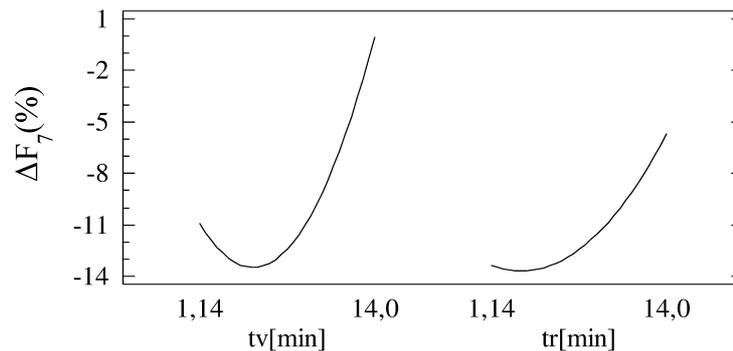
La fruta sin tratar FF al día 7 presentó, en promedio, una fuerza máxima de  $14,99 \pm 0,92$  N.

El modelo no presentó falta de ajuste significativa ( $p_{\text{falta de ajuste}} = 0,4551$ ) y el modelo explicó el 97,8% de variabilidad de los datos.

De acuerdo al diagrama de Pareto (Figura 3.29) y a la gráfica de efectos principales (Figura 3.30) para  $\Delta F_7$  los términos significativos fueron: el lineal del tiempo de vacío ( $t_v$ ), la interacción entre los dos factores ( $t_v t_r$ ), el término cuadrático del tiempo de vacío ( $t_v^2$ ) y el tiempo de relajación ( $t_r$ ). Se observó que la  $\Delta F_7$  se incrementa a medida que el  $t_v$  y  $t_r$  aumentan, es decir ambos tienen efecto positivo.

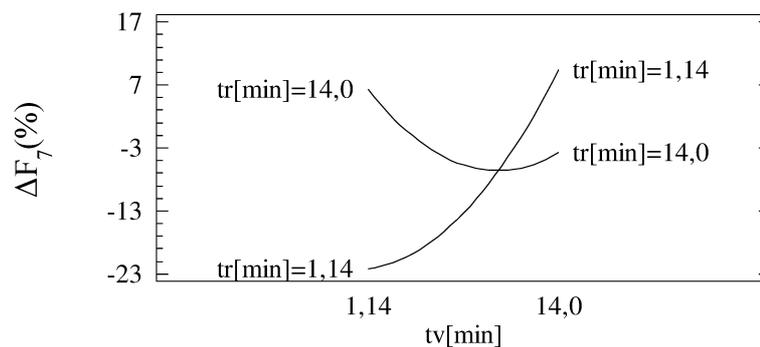


**Figura 3.29** Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual de Fuerza máxima al día de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío



**Figura 3.30** Gráfica de efectos Principales para la variación relativa porcentual de Fuerza máxima al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

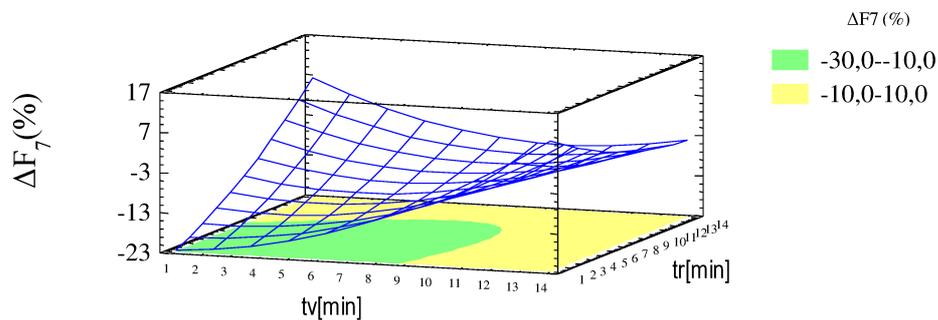
El efecto de la interacción entre el  $t_v$  y  $t_r$  sobre la variación relativa porcentual de la fuerza máxima al día siete  $\Delta F_7$  se representa gráficamente en la Figura 3.31. A  $t_v$  cortos, a medida que se incrementa el tiempo de relajación, aumenta  $\Delta F_7$ , observándose un ligero incremento de la firmeza respecto a la fruta sin tratar del día siete. Por otra parte, cuando el tiempo de vacío es alto, el tiempo de relajación no afecta la  $\Delta F_7$  (Figuras 3.31 y 3.32).



**Figura 3.31** Gráfica de interacciones para la variación relativa porcentual de Fuerza máxima al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

En la ecuación (Ec. 34) se presenta el modelo obtenido para la variación relativa porcentual de la fuerza máxima al día 7 ( $\Delta F_7$ ).

$$\Delta F_7 (\%) = -27,92 + 0,52t_v + 2,50t_r + 0,15t_v^2 - 0,25t_v t_r \quad (\text{Ec. 34})$$



**Figura 3.32** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual de Fuerza máxima al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

En la Figura 3.32 se observa la superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual de la fuerza máxima al día 7 en función del tiempo de vacío y de relajación durante la impregnación por vacío. De acuerdo a los resultados obtenidos, la combinación de tiempos de vacío bajos con tiempos de relajación altos o a la inversa, generan manzanas frescas impregnadas por vacío con una firmeza aproximadamente 10% menor respecto a la fruta fresca sin tratar al día siete. Estos resultados difieren con los obtenidos por Tappi *et al.* (2017), quienes sometieron a IV manzanas *Crips Pink*, por un  $t_v$  y  $t_r$  de 5 minutos, 200 mbar, con una solución de sacarosa (13,7 °Bx+ 1% AA), obteniendo un incremento de 30%, luego de 7 días de almacenamiento (9N), mientras que con el modelo obtenido (Ec. 34), en las mismas condiciones de  $t_v$  y  $t_r$ , obtenemos una reducción del 15,32% respecto a la  $FF_7$  (12,9 N).

- **Efecto sobre  $A_7$ ,  $N_{picos_7}$  y  $DL_7$**

Los modelos propuestos para representar los cambios de: trabajo ( $\Delta A_7$ ), número de picos ( $\Delta N_{picos_7}$ ) y distancia lineal ( $\Delta DL_7$ ), en función de  $t_v$  y  $t_r$ , no pudieron explicar la variabilidad de los datos experimentales (valores de  $R^2$  muy bajos) y ninguno de los términos fue significativo (Tabla 3.19).

Para la fruta fresca cortada sin tratar del día 7 se determinó un valor promedio de  $A_7$ ,  $N_{picos_7}$  y  $DL_7$  de  $(68,73 \pm 16,29 \text{ N.mm})$ ,  $(26,88 \pm 6,52)$  y  $(50,37 \pm 6,98 \text{ mm.})$ , respectivamente. Los valores promedios de la fruta fresca cortada tratada del día 7 de  $A_7$ ,  $N_{picos_7}$  y  $DL_7$  fueron  $(55,98 \pm 14,13 \text{ N.mm})$ ,  $(15,48 \pm 5,19)$  y  $(36,92 \pm 5,19 \text{ mm})$ , respectivamente. Se puede observar claramente que a los 7 días el producto se vuelve menos crujiente ( $N_{picos}$  y  $DL$  más bajos que

FF) por efecto del tratamiento IV. Estos resultados se asemejan los obtenidos por Tappi *et al.* (2014), quienes obtuvieron valores de DL de  $33 \pm 2$  mm para manzanas impregnadas con SO isotónica,  $t_v$  y  $t_r$  de 5 minutos, y presión de 200 mbar luego de 7 días de almacenamiento, lo cual indica que ni los tiempos de procesamiento, ni la presión de vacío, influyen sobre la DL luego de 7 días de almacenamiento refrigerado.

### 3.2.5 Cambios en la velocidad de respiración por efecto del tiempo de vacío y tiempo de relajación durante la impregnación por vacío

La velocidad de respiración puede utilizarse para estimar cuán rápido un producto puede deteriorarse. Un incremento en la respiración por injuria en los tejidos genera una importante reducción de la vida útil comparada con frutos enteros (Lee *et al.*, 2003b). Los resultados experimentales de la variación relativa porcentual de la velocidad de respiración al día 0 ( $\Delta RR_0$ ), y al día 7 ( $\Delta RR_7$ ) se presentan en la Tabla 3.20. Valores positivos indican incremento en el parámetro medido respecto a la velocidad de respiración de la fruta fresca sin tratar, mientras que valores negativos representan disminución en la velocidad de respiración.

**Tabla 3.20** Cambios en la velocidad de respiración en el día 0 y en el día 7 debido a la impregnación por vacío.

$t_v$ (min)	$t_r$ (min)	$\Delta RR_0$ (%)	$\Delta RR_7$ (%)
14	7,5	-44,80	100,51
7,5	7,5	-40,82	85,65
7,5	7,5	-37,53	94,33
7,5	14	-15,58	109,74
3	3	-23,12	50,36
3	12	-5,74	63,55
1,14	7,5	-10,52	48,16
7,5	1,14	-31,08	6,53
12	3	-29,32	92,30
12	12	-24,98	102,81
7,5	7,5	-37,95	98,14

En la Tabla 3.21 se presenta el ANOVA del modelo obtenido para las respuestas de velocidad de respiración en el día 0 y 7.

**Tabla 3.21** Análisis de varianza del modelo obtenido para de los resultados experimentales de la variación relativa porcentual de la velocidad de respiración al día 0 y al día 7

Fuente de variación	G.L.	Suma de Cuadrados	
		$\Delta RR_0$ (%)	$\Delta RR_7$ (%)
A: $t_v$ (min)	1	678,71**	2968,2*
B: $t_r$ (min)	1	244,27*	3537,12*
AA	1	248,59*	245,26
AB	1	42,51	1,79
BB	1	428,96**	1171,84*
Falta de ajuste	3	118,94	2140,53
Error puro	2	7,36	81,95
Coef. Determinación ( $R^2$ )		92,2%	77,8%

G.L.: grados de libertad; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; RR: velocidad de respiración

### 3.2.5.1 En el día de procesamiento

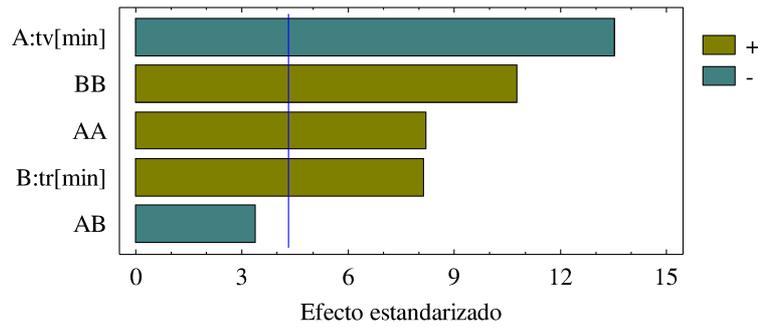
Las muestras de manzana fresca cortada sin tratar FF en el día 0 presentaron en promedio, una velocidad de respiración respecto al  $CO_2$  producido de  $26,17 \pm 1,95 \text{ ml } CO_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ .

Se observó que, en general, las muestras impregnadas por vacío en condiciones suaves, dentro del rango experimental, reducen la velocidad de respiración, inmediatamente luego de ser tratadas. Por lo cual se observa que todas las respuestas fueron negativas (Tabla 3.20).

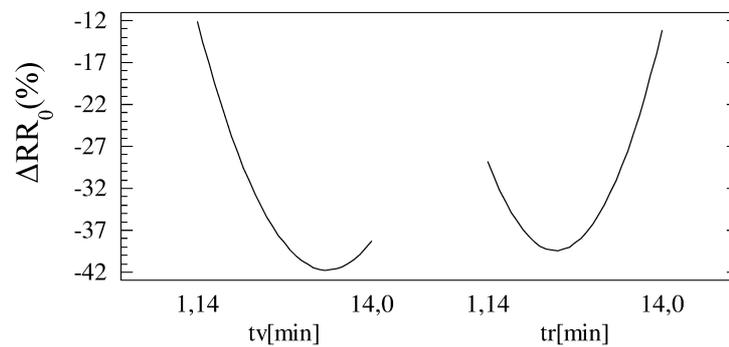
El modelo propuesto no presentó falta de ajuste significativa ( $p_{\text{falta de ajuste}} = 0,0865$ ) y explicó el 92,2% de variabilidad de los datos.

Como se observa en el diagrama de Pareto (Figura 3.33) para  $\Delta RR_0$  el término más significativo fue el lineal del tiempo de vacío ( $t_v$ ) ( $p < 0,01$ ), y el término cuadrático del tiempo de relajación ( $t_r^2$ ), luego el término cuadrático del tiempo de vacío ( $t_v^2$ ) y el término lineal del tiempo de relajación ( $t_r$ ) ( $p < 0,05$ ).

De acuerdo a la gráfica de efectos principales (Figura 3.34) se observó que la  $\Delta RR_0$  disminuye a medida que el  $t_v$  aumenta lo cual significa que la velocidad de respiración de la fruta tratada es menor que la fruta sin tratar. Además, a medida que incrementa el  $t_r$ , la variación relativa porcentual de la velocidad de respiración disminuye hasta  $t_r$  cercanos a 6 min, aumentos posteriores de  $t_r$  incrementan la variación relativa de la velocidad de respiración (Figura 3.35).



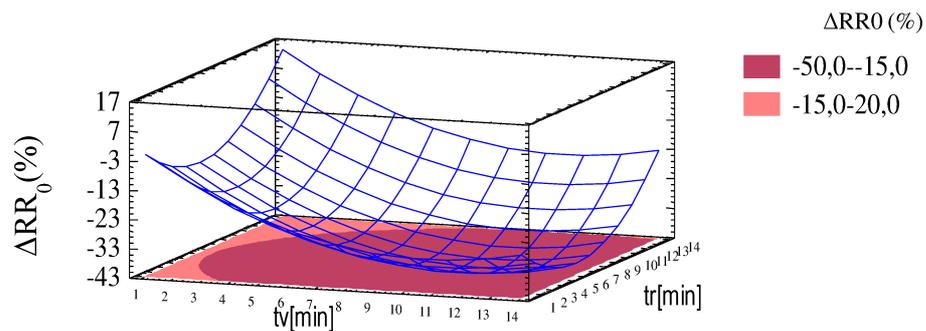
**Figura 3.33** Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual de la velocidad de respiración al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío



**Figura 3.34** Gráfica de efectos Principales para la variación relativa porcentual de la velocidad de respiración al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

En la ecuación (Ec. 35) se presenta el modelo reducido obtenido para la variación relativa porcentual de la velocidad de respiración al día 0 ( $\Delta\%RR_0$ ).

$$\Delta RR_0 (\%) = 10,3 - 6,92t_v - 5,19t_r + 0,32t_v^2 + 0,42t_r^2 \quad (\text{Ec. 35})$$



**Figura 3.35** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual de la velocidad de respiración al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

Como se aprecia en la Figura 3.35, se puede observar que la  $\Delta RR_0$ , disminuye a medida que incrementa el tiempo de vacío y a su vez incrementa cuando el tiempo de relajación

aumenta, pero a valores de  $t_v$  y  $t_r$  de 10,7 y 6,1 min respectivamente, se obtiene la mayor reducción de la tasa de respiración (-42,6%).

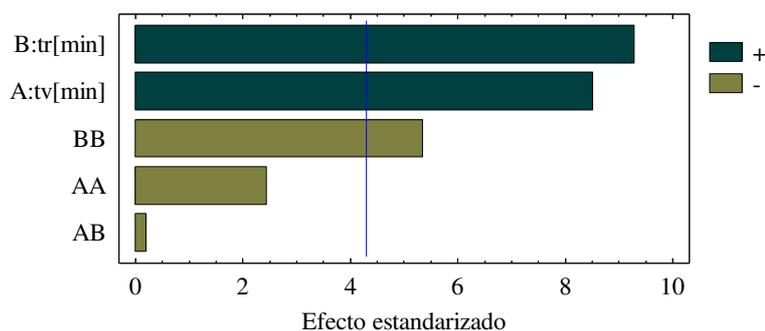
Moraga *et al.* (2009), reportaron una tendencia similar en uvas impregnadas al vacío mediante SO isotónica, con  $t_v$  y  $t_r$  de 10 min, y una presión de vacío de 50 mbar, evidenciando una reducción de la tasa de respiración inmediatamente luego del tratamiento. Utilizando las condiciones ensayadas por dichos autores con nuestro modelo obtenido (Ec. 35), se determinó una reducción en la tasa de respiración de 36,8%, que representa un valor de  $16,5 \text{ mlCO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ .

### 3.2.5.2 Luego de 7 días de almacenamiento refrigerado a 1,5°C.

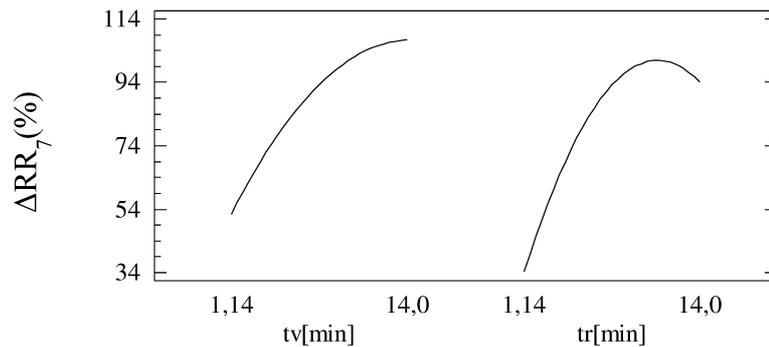
Luego del almacenamiento refrigerado, la fruta fresca cortada sin tratar (FF) al día 7 presentó, en promedio, una velocidad de respiración de  $31,29 \pm 4,94 \text{ ml CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ .

El modelo no presentó falta de ajuste significativa ( $p_{\text{falta de ajuste}}=0,0548$ ) y logró explicar el 77,8% de variabilidad de los datos.

De acuerdo al diagrama de Pareto (Figura 3.36) y a la gráfica de efectos principales (Figura 3.37) para  $\Delta RR_7$  el término más significativo fue el lineal del tiempo de relajación ( $t_r$ ), seguido del término lineal del tiempo de vacío ( $t_v$ ) y finalmente el término cuadrático del tiempo de relajación ( $t_r^2$ ). Se puede observar que los términos lineales  $t_v$  y  $t_r$  tienen efecto positivo, lo que significa que a medida que incrementan estos tiempos, la variación relativa porcentual de la velocidad de respiración del día 7 respecto a la fruta fresca cortada sin tratar del mismo día, también aumenta.



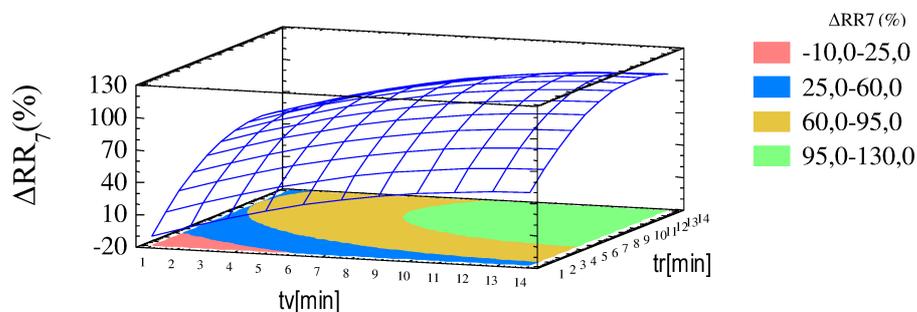
**Figura 3.36** Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual de la velocidad de respiración al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío



**Figura 3.37** Gráfica de efectos principales para la variación relativa porcentual de la velocidad de respiración al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

En la ecuación (Ec. 36) se presenta el modelo reducido obtenido para la variación relativa porcentual de la velocidad de respiración al día 7 ( $\Delta RR_7$ ).

$$\Delta RR_7 (\%) = -15,32 + 4,28t_v + 13,81t_r - 0,60t_r^2 \quad (\text{Ec. 36})$$



**Figura 3.38** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual de la velocidad de respiración al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

Como se observa en la gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual de la velocidad de respiración al día 7 (Figura 3.38), se puede observar que la  $\Delta RR_7$  se incrementa a medida que el tiempo de vacío y el tiempo de relajación aumentan, obteniéndose valores de velocidad de respiración para la fruta tratada entre 6 y 100% superiores respecto a la muestra sin tratar del mismo día, y dependiendo de la combinación de tiempos ( $t_v$  y  $t_r$ ), durante el proceso de impregnación, a los 7 días se alcanza un incremento máximo en la tasa de respiración de 114,3% cuando el  $t_v$  y  $t_r$  son 14 y 10,7min, respectivamente.

Luna-Guzman *et al.* (1999) observaron que muestras de melón tratadas por inmersión en soluciones a base de calcio, presentaron un incremento en la velocidad de respiración durante el almacenamiento. En uva, igualmente se observó una tendencia similar luego de ser impregnadas por vacío con diferentes soluciones osmóticas, observándose un incremento

mayor a partir del cuarto día de almacenamiento (Moraga *et al.*, 2009). Torrieri *et al.* (2009), modelaron la velocidad de respiración en función al O<sub>2</sub> consumido, de manzanas *Anurca* mínimamente procesadas, y observaron que ésta se incrementa a medida que transcurre el tiempo de almacenamiento, haciendo énfasis en la importancia de mantener baja la temperatura (5°C), de manera tal de extender la vida útil del producto. Asimismo Kim *et al.* (1993), determinó la tasa de respiración en distintas variedades de manzanas mínimamente procesadas la, observando también la misma tendencia, donde se disminuye la tasa de respiración durante los primeros días, sin embargo esta aumenta progresivamente durante la vida útil de la fruta tratada.

### 3.2.6 Cambios en el contenido de vitamina C por efecto del tiempo de vacío y tiempo de relajación durante la impregnación por vacío

#### 3.2.6.1 Contenido de Ácido ascórbico

Los resultados experimentales para ácido ascórbico (AA) en el día cero y en el día siete se presentan en la Tabla 3.22. Los valores de concentración se expresan en miligramos de ácido ascórbico por Kilogramo de fruta tratada (mgAA Kg<sup>-1</sup>).

En la Tabla 3.23 se presentan los ANOVA para los modelos obtenidos para las respuestas correspondientes al contenido de ácido ascórbico en el día 0 (C\*<sub>AA0</sub>) y en el día 7 (C\*<sub>AA7</sub>).

**Tabla 3.22** Contenido de ácido ascórbico al día 0 y al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

t <sub>v</sub> (min)	t <sub>r</sub> (min)	C* <sub>AA0</sub> (mg AA kg <sup>-1</sup> de FT)	C* <sub>AA7</sub> (mg AA kg <sup>-1</sup> de FT)
14	7,5	290,95	257,07
7,5	7,5	288,17	164,58
7,5	7,5	255,98	144,78
7,5	14	296,22	171,91
3	3	149,11	75,18
3	12	231,29	84,44
1,14	7,5	230,57	90,06
7,5	1,14	220,00	99,00
12	3	253,14	68,44
12	12	250,87	228,02
7,5	7,5	269,60	156,63

**Tabla 3.23** Análisis de varianza para los modelos obtenidos para contenido de ácido ascórbico al día 0 y al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

Fuente de variación	G.L.	Suma de Cuadrados	
		C* <sub>AA0</sub>	C* <sub>AA7</sub>
A: t <sub>v</sub> (min)	1	5247,73*	17740,4*
B: t <sub>r</sub> (min)	1	4222,49	9188,51*
AA	1	1222,18	1533,84
AB	1	1782,95	5649,03*
BB	1	1424,35	7068,03*
Falta de ajuste	3	3257,39	5145,5
Error puro	2	522,18	4098,53
Coef. Determinación (R <sup>2</sup> )		78,39%	81,05%

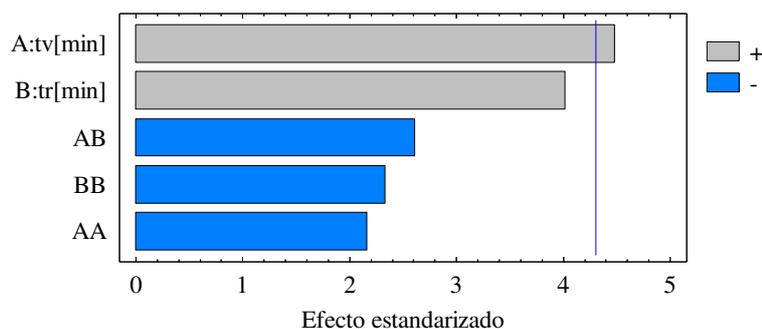
G.L.: grados de libertad; \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001; C\*<sub>AA</sub>: Contenido de ácido ascórbico

- **En el día de procesamiento**

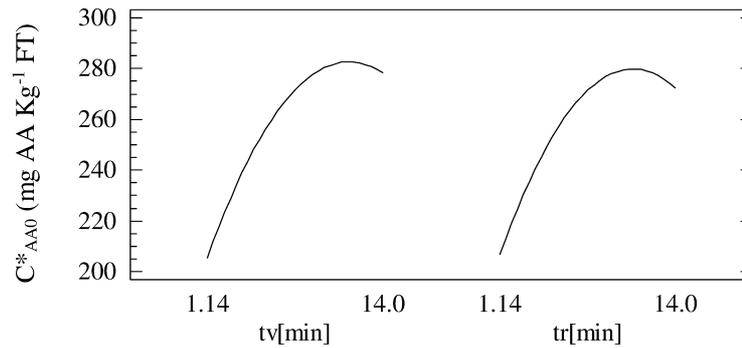
El contenido de ácido ascórbico de la manzana fresca cortada sin tratar (FF) al día 0 fue en promedio  $8,66 \pm 1,73$  mg AA Kg<sup>-1</sup> de FF

El modelo no presentó falta de ajuste significativa ( $p_{\text{falta de ajuste}} = 0,1999$ ) y mediante el estadístico R<sup>2</sup> se logró explicar el 78,39% de variabilidad de los datos (Tabla 3.23).

Como puede observarse en el diagrama de Pareto (Figura 3.39) y a la gráfica de efectos principales (Figura 3.40) para C\*<sub>AA0</sub> el único término significativo fue el lineal del tiempo de vacío (t<sub>v</sub>). Se observó que la C\*<sub>AA0</sub> se incrementa a medida que el t<sub>v</sub> aumenta.



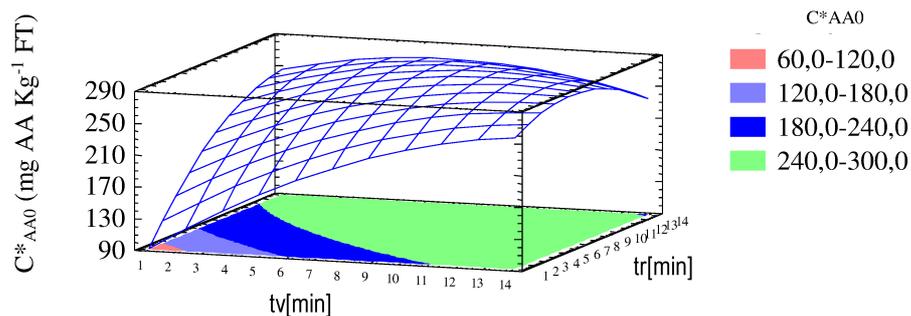
**Figura 3.39** Diagrama de Pareto estandarizado para el contenido de ácido ascórbico de día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío



**Figura 3.40** Gráfica de efectos Principales para el contenido de ácido ascórbico al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

En la ecuación (Ec. 37) se presenta el modelo reducido obtenido para el contenido de ácido ascórbico al día 0 ( $C_{AA0}^*$ ).

$$C_{AA0}^* = 166,24 + 5,76t_v + 5,72t_r \quad (\text{Ec.37})$$



**Figura 3.41** Gráfica de superficie de respuesta estimada para el contenido de ácido ascórbico al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

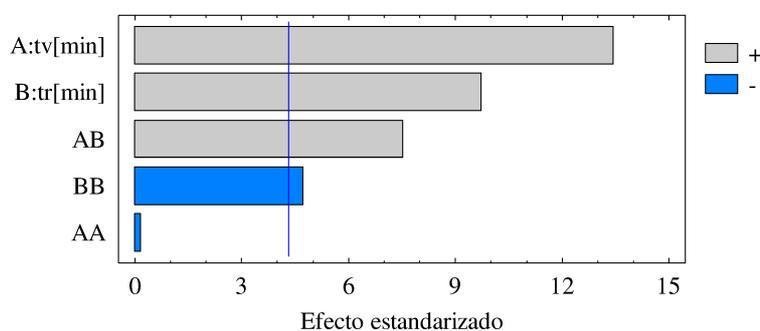
En la Figura 3.41 se observa la gráfica de superficie de respuesta estimada para el contenido de ácido ascórbico al día 0. De acuerdo a la gráfica se puede observar que el  $C_{AA0}^*$  aumenta a medida que incrementa el tiempo de vacío hasta llegar a valores máximos de  $\approx 283 \text{ mg AA Kg}^{-1}$  de manzana impregnada con  $t_v$  y  $t_r$  de 10,6 y 8,8 min respectivamente, dentro del rango experimental.

- **Luego de 7 días de almacenamiento a 1,5°C**

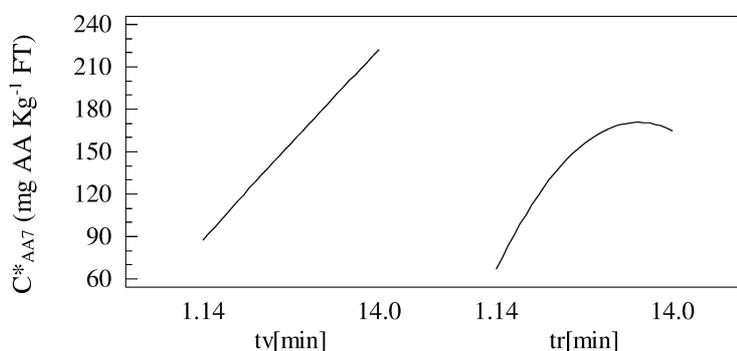
La fruta sin tratar (FF) al día 7 presentó, en promedio, un contenido de ácido ascórbico de  $5,57 \pm 1,35 \text{ mg AA Kg}^{-1}$  de FF; porcentaje menor al obtenido en el día cero.

El modelo no presentó falta de ajuste significativa ( $p_{\text{falta de ajuste}} = 0,0572$ ) y logró explicar el 81,05% de variabilidad de los datos.

De acuerdo al diagrama de Pareto (Figura 3.42) para  $C_{AA7}^*$  el término significativo de mayor efecto fue el lineal del tiempo de vacío ( $t_v$ ), seguido del término lineal del tiempo de relajación ( $t_r$ ), luego la interacción entre el tiempo de vacío y tiempo de relajación ( $t_v t_r$ ) y finalmente el término cuadrático del tiempo de relajación ( $t_r^2$ ). En concordancia con la gráfica de efectos principales (Figura 3.43), se observó que el  $C_{AA7}^*$  se incrementa a medida que el  $t_v$  y el  $t_r$  aumentan, ambos términos presentaron efecto positivo, al igual que la interacción entre ambos tiempos, mientras que el término cuadrático de relajación presentó efecto negativo.

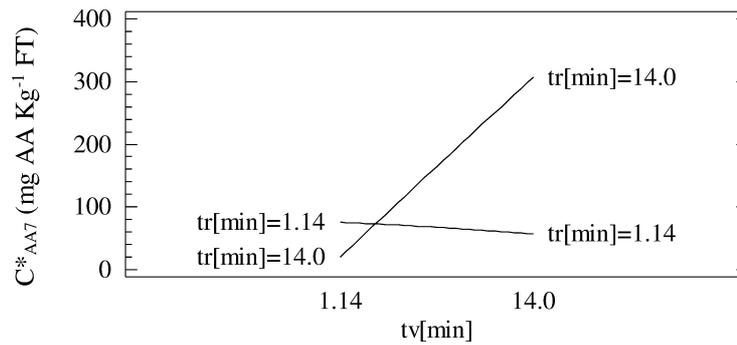


**Figura 3.42** Diagrama de Pareto estandarizado para el contenido de ácido ascórbico de día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío



**Figura 3.43** Gráfica de efectos Principales para el contenido de ácido ascórbico al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

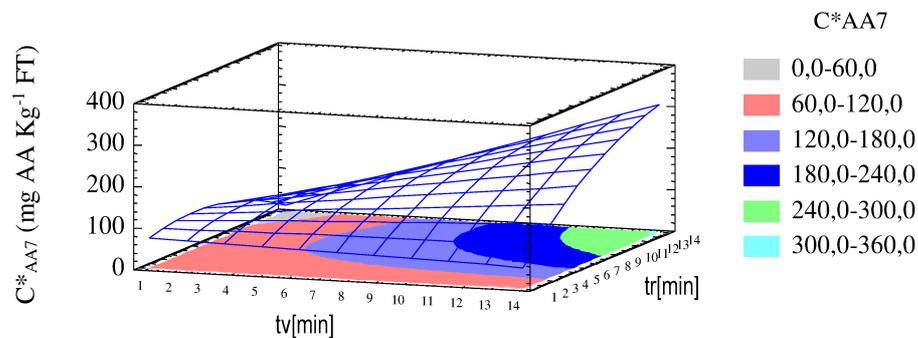
El efecto de la interacción entre el  $t_v$  y  $t_r$  sobre el contenido de ácido ascórbico se representa gráficamente en la Figura 3.44. A  $t_v$  cortos, se obtienen valores de  $C_{AA7}^*$  más bajos, observándose que el tiempo de relajación no influye, mientras que a tiempo de vacío altos el contenido de ácido ascórbico incrementó a medida que aumenta el tiempo de relajación.



**Figura 3.44** Gráfica de interacciones para el contenido de ácido ascórbico en el día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

En la ecuación (Ec. 38) se presenta el modelo reducido obtenido para el contenido de ácido ascórbico al día 7 ( $C^*_{AA7}$ ).

$$C^*_{AA7} = 70,14 - 3,58t_v + 8,02t_r + 1,86t_v t_r - 0,96t_r^2 \quad (\text{Ec. 38})$$



**Figura 3.45** Gráfica de superficie de respuesta estimada para el contenido de ácido ascórbico al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

En la Figura 3.45 se observa la gráfica de superficie de respuesta estimada el contenido de ácido ascórbico al día 7 en función del tiempo de vacío y de relajación durante la impregnación por vacío. De acuerdo a la gráfica se puede observar que el  $C^*_{AA7}$  aumenta a medida que incrementa el tiempo de vacío y el tiempo de relajación, hasta llegar a valores máximos de  $\approx 300$  mg AA Kg<sup>-1</sup> de manzana impregnada en el día siete. Así mismo se puede evidenciar, que los valores de AA más bajos (19,3 mg AA Kg<sup>-1</sup> de manzana IV) se presentan en combinaciones de tiempo de vacío bajo con tiempos de relajación más altos (1,14 y 14 min, respectivamente).

### 3.2.6.2 Contenido de Ácido Ascórbico Total

Los resultados experimentales obtenidos para el contenido de ácido ascórbico total (AAT) en el día 0 y en el día 7 se presentan en la Tabla 3.24. Los valores de concentración se expresan en miligramos de ácido ascórbico total por Kilogramo de fruta tratada ( $\text{mg AAT Kg}^{-1}$ ). Mientras que en la Tabla 3.24 se presenta el ANOVA de modelos obtenidos para contenido de ácido ascórbico total en el día 0 ( $C^*_{\text{AAT0}}$ ) y en el día 7 ( $C^*_{\text{AAT7}}$ ).

**Tabla 3.24** Contenido de ácido ascórbico total al día 0 y al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

$t_v$ (min)	$t_r$ (min)	$C^*_{\text{AAT0}}$ (mg AAT $\text{kg}^{-1}$ de FT)	$C^*_{\text{AAT7}}$ (mg AAT $\text{kg}^{-1}$ de FT)
14	7,5	645,62	485,33
7,5	7,5	608,42	542,77
7,5	7,5	567,64	516,39
7,5	14	627,05	606,05
3	3	406,42	233,81
3	12	524,13	188,16
1,14	7,5	425,50	225,30
7,5	1,14	445,16	231,53
12	3	552,77	350,72
12	12	519,33	383,60
7,5	7,5	550,01	474,70

**Tabla 3.25** Análisis de varianza de los modelos obtenidos para el contenido de ácido ascórbico total al día cero y al día siete de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

Fuente de variación	G.L.	Suma de Cuadrados	
		$C^*_{\text{AAT0}}$	$C^*_{\text{AAT7}}$
A: $t_v$ (min)	1	24859,5*	56409,2*
B: $t_r$ (min)	1	14003,8	33159,6*
AA	1	4458,79	58182,4*
AB	1	5711,58	1541,74
BB	1	4337,48	26802,7*
Falta de ajuste	3	9995,98	58258
Error puro	2	1795,18	2355,83
Coef. Determinación ( $R^2$ )		81,8%	72,60%

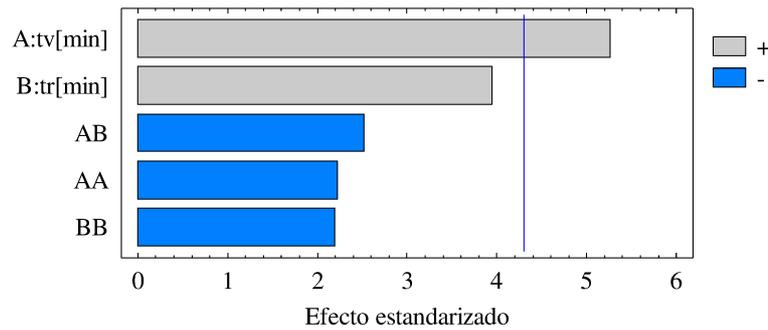
G.L.: grados de libertad; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$

- **En el día de procesamiento**

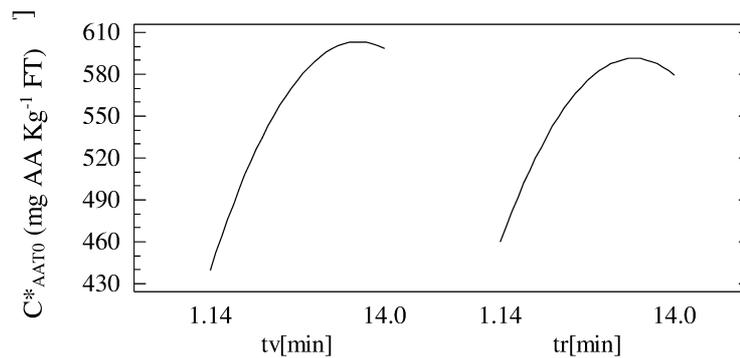
La fruta sin tratar FF al día 0 presentó, en promedio, un contenido de ácido ascórbico total de  $11,15 \pm 3,96 \text{ mgAAT Kg}^{-1}$  de FF

El modelo no presentó falta de ajuste significativa ( $p_{\text{falta de ajuste}}=0,2194$ ) y logró explicar el 81,8% de variabilidad de los datos.

De acuerdo a los resultados del ANOVA (Tabla 3.25), diagrama de Pareto (Figura 3.46) y a la gráfica de efectos principales (Figura 3.47) para  $C^*_{\text{AAT0}}$ , el único término significativo fue el lineal del tiempo de vacío ( $t_v$ ) ( $p= 0,0343$ ). Se observó que la  $C^*_{\text{AAT0}}$  tiene una dependencia lineal positiva con el  $t_v$ .



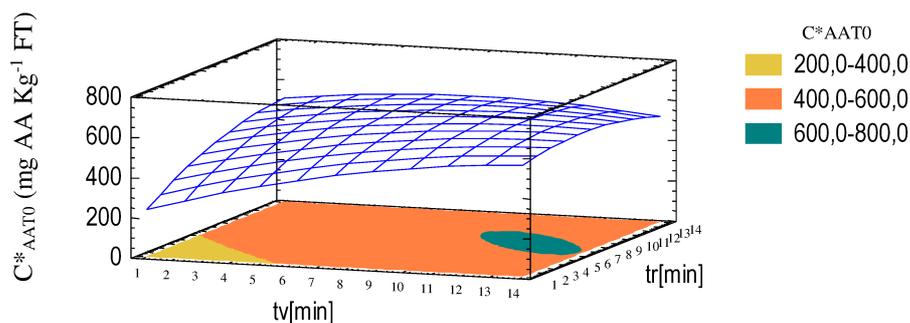
**Figura 3.46** Diagrama de Pareto estandarizado para el contenido de ácido ascórbico total del día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío



**Figura 3.47** Gráfica de efectos Principales para el contenido de ácido ascórbico total al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

En la ecuación (Ec. 39) se presenta el modelo reducido obtenido para el contenido de ácido ascórbico al día 0 ( $C^*_{\text{AAT0}}$ ).

$$C^*_{\text{AAT0}} = 368,53 + 12,54t_v + 9,46t_r \quad (\text{Ec. 39})$$



**Figura 3.48** Gráfica de superficie de respuesta estimada para el contenido de ácido ascórbico total al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

En la Figura 3.48 se observa la gráfica de superficie de respuesta estimada el contenido de ácido ascórbico total al día 0 en función del tiempo de vacío y de relajación durante la impregnación por vacío. Se puede observar que la  $C^*_{AAT0}$  aumenta hasta llegar a valores máximos de 603 mg AAT  $\text{Kg}^{-1}$  de manzana impregnada cuando  $t_v$  y  $t_r$  aumentan hasta 11,7 y 8,2 min, respectivamente, en el día cero. Son escasos los trabajos encontrados donde se analiza el efecto de la impregnación por vacío en el contenido de vitamina C. Sin embargo, Hironaka *et al.* (2011), estudiaron el efecto de la IV con soluciones ricas en AAT (10%), en papas peladas enteras, mediante una presión de vacío elevada de 93,3 mbar y con tiempos de vacío 0-60 min y tiempos de relajación de 3 h. En los resultados presentados se observa que a los 15 min de IV, se obtiene aproximadamente 400 mg  $\text{Kg}^{-1}$  de AA; valor que se encuentra dentro del rango obtenido en el presente trabajo, considerando que la matriz alimentaria es diferente, así como también las condiciones de impregnación.

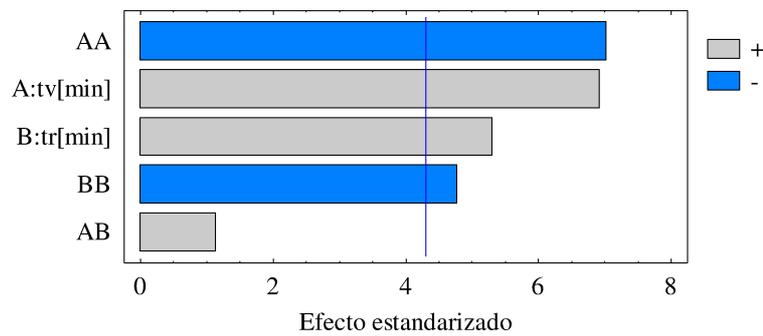
- **Luego de 7 días de almacenamiento a 1,5°C**

Luego del almacenamiento refrigerado, la manzana fresca cortada del día 7 que no ha sido tratada (FF), presentó en promedio un contenido de ácido ascórbico total de  $7,89 \pm 3,18$  mg AAT  $\text{Kg}^{-1}$  de FF (concentración menor al día cero).

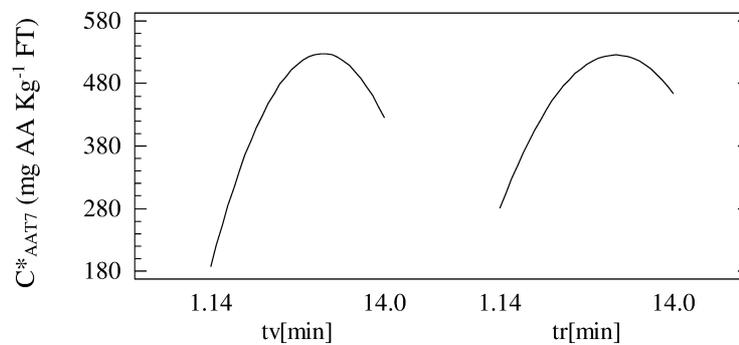
El modelo no presentó falta de ajuste significativo ( $p_{\text{falta de ajuste}} = 0,0577$ ) y explicó el 72,6% de variabilidad de los datos experimentales (Tabla 3.25).

De acuerdo a los resultados obtenidos del ANOVA (Tabla 3.25 y Figuras 3.49 y 3.51) para  $C^*_{AAT7}$ , los términos significativos fueron el cuadrático del tiempo de vacío ( $t_v^2$ ), el término lineal del tiempo vacío ( $t_v$ ), seguido del término lineal del tiempo de relajación ( $t_r$ ), y el término cuadrático del tiempo de relajación ( $t_r^2$ ). Se observó que la  $C^*_{AAT7}$  presenta valores más

elevados cuando el  $t_v$  y el  $t_r$  son más altos, estos dos factores presentan un efecto positivo, por el contrario, los términos cuadráticos  $t_v^2$  y  $t_r^2$  presentaron efecto negativo (Figura 3.49).



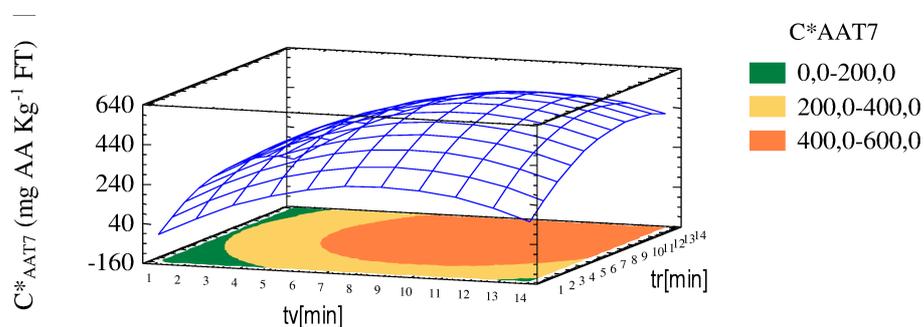
**Figura 3.49** Diagrama de Pareto estandarizado para el contenido de ácido ascórbico total al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío



**Figura 3.50** Gráfica de efectos Principales para el contenido de ácido ascórbico al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

En la Ec. 40 se presenta el modelo reducido obtenido para el contenido de ácido ascórbico total al día 7 ( $C^*_{AAT7}$ ).

$$C^*_{AAT7} = -212,03 + 93,32t_v + 64,85t_r - 4,84t_v^2 - 3,35t_r^2 \quad (\text{Ec. 40})$$



**Figura 3.51** Gráfica de superficie de respuesta estimada para el contenido de ácido ascórbico total al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

En la Figura 3.51, se puede observar que los valores máximos de  $C^*_{AAT7}$  (543 mg de AAT  $\text{Kg}^{-1}$  de fruta IV), se obtienen con combinaciones de  $t_v$  y  $t_r$  de 9,4 y 9,7 min, respectivamente. Mientras que, a combinaciones de tiempos de procesamiento bajos ( $t_v$  y  $t_r$ : 1,14 min), se obtiene un contenido de ácido ascórbico menor a los de la fruta fresca sin tratar, luego de 7 días de almacenamiento refrigerado.

Respecto con el día cero, se puede observar que luego del almacenamiento el contenido de AAT es menor, lo cual se atribuye a una disminución de este compuesto por oxidación. Una tendencia similar fue observada por Hironaka *et al.* (2011), donde también se redujo el contenido de ácido ascórbico en ~27%.

### **3.2.7 Cambios en el contenido de Fenoles Totales Corregidos por efecto del tiempo de vacío y relajación durante la impregnación por vacío**

De acuerdo a la metodología propuesta en el punto 2.4.7.4, se evaluó la Concentración del Contenido de Fenoles Totales corregidos por sustracción de la actividad reductora del ácido ascórbico. Los resultados del Contenido de Fenoles Totales corregido ( $C^*_{CFT-C}$ ) se obtuvieron a partir de la Ec.19, la cual permitió desarrollar los cálculos de corrección del CFT por sustracción de la actividad reductora del ácido ascórbico (AA) presente en las muestras tratadas con impregnación por vacío conforme al diseño experimental establecido en el presente trabajo.

El estudio de los compuestos fenólicos ha sido ampliamente de interés en matrices vegetales, especialmente en manzanas (Aisnworth y Gillespie, 2007; Blanda *et al.*, 2008; Escarpa y González, 2001; Ferreira *et al.*, 2010; Khoddami, Wilkes y Roberts, 2013).

Es conocido también que el contenido de AAT en una muestra, influye en el análisis de los compuestos fenólicos por el método Folin-Ciocalteu. Jagota y Dani (1982), establecieron que dicha técnica es muy eficiente y simple. Sin embargo, para determinar el “real” Contenido de Fenoles de las muestras tratadas, fue necesaria la combinación de las dos técnicas anteriormente descritas en el punto 2.4.7.

En frutos con alto contenido de vitamina C (ácido ascórbico, AA + ácido dehidroascórbico, DHA) como naranja, kiwi o frutilla, se ha observado que estos compuestos pueden interferir en el resultado final obtenido, cuando se analizan fenoles totales por espectrofotometría (Escarpa y González, 2001; Sánchez-Rangel *et al.*, 2013).

Se analizó la variación relativa porcentual del Contenido de Fenoles Totales corregido ( $\Delta C^*_{CFT-C}$ ) de la manzana fresca cortada tratada por IV (FT), respecto a la manzana fresca cortada sin tratar (FF), en el día 0 y en el día 7.

Los valores obtenidos para la variación relativa porcentual del contenido de fenoles totales corregido en el día 0 ( $\Delta C^*_{CFT-C0}$ ) y en el día 7 ( $\Delta C^*_{CFT-C7}$ ) de la FT respecto a la FF del mismo día se presentan en la Tabla 3.26.

En la Tabla 3.27 se presenta el ANOVA para las respuestas  $\Delta C^*_{CFT-C0}$  y  $\Delta C^*_{CFT-C7}$ . Se observó que tanto en el día 0 como en el día 7, el  $t_v$  y  $t_r$  influyen sobre el  $C_{CFT}$ .

**Tabla 3.26** Cambios en el contenido de fenoles totales corregidos en el día 0 y 7 debido a la impregnación por vacío.

$t_v$ (min)	$t_r$ (min)	$\Delta C^*_{CFT-C0}$ (%)	$\Delta C^*_{CFT-C7}$ (%)
14	7,5	51,08	52,20
7,5	7,5	28,01	31,86
7,5	7,5	28,16	37,27
7,5	14	31,66	36,28
3	3	30,79	44,17
3	12	17,71	23,75
1,14	7,5	9,45	19,70
7,5	1,14	22,07	23,15
12	3	19,79	30,60
12	12	36,88	46,72
7,5	7,5	22,53	33,52

**Tabla 3.27** Análisis de varianza de los modelos obtenidos para la variación relativa porcentual del contenido de fenoles totales corregido en el día 0 y 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas por vacío.

Fuente de variación	G.L.	Suma de Cuadrados	
		$\Delta C^*_{CFT-C0}$ (%)	$\Delta C^*_{CFT-C7}$ (%)
A: $t_v$ (min)	1	585,62*	403,77*
B: $t_r$ (min)	1	43,12	29,30
AA	1	13,84	17,77
AB	1	227,56*	333,79*
BB	1	0,13	9,68
Falta de ajuste	3	335,29	253,70
Error puro	2	20,58	15,36
Coef. Determinación ( $R^2$ )		70,5%	74,46%

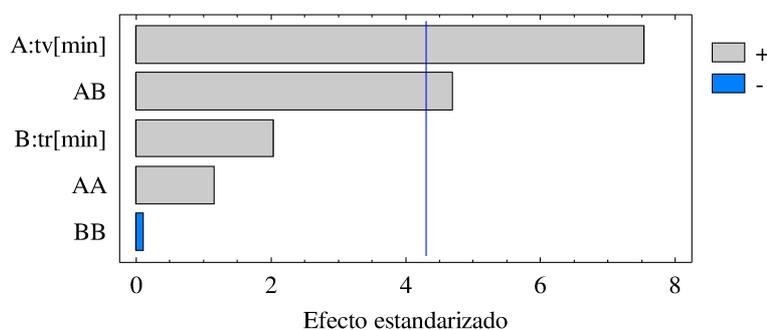
G.L: grados de libertad; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ;  $C_{CFT}$ : contenido de fenoles totales corregidos

### 3.2.7.1 En el día de procesamiento

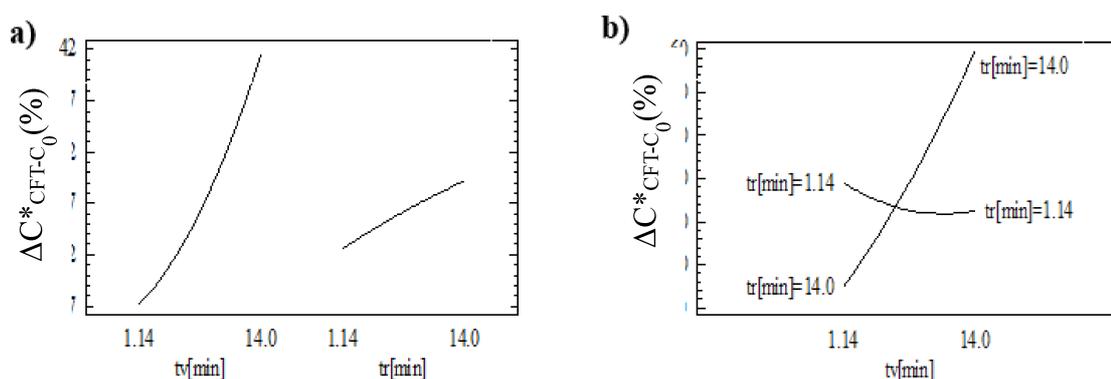
La fruta sin tratar FF al día 0 presentó, en promedio, un Contenido de Fenoles Totales corregido de  $341,89 \pm 19,47$  mg AGE Kg<sup>-1</sup> de producto.

El modelo no presentó falta de ajuste significativa ( $p_{\text{falta de ajuste}}=0,0855$ ) y explicó el 70,5% de variabilidad de los datos experimentales (Tabla 3.27).

De acuerdo a los resultados del ANOVA (Figura 3.52 y 3.53a) para  $\Delta C^*_{\text{CFT-C}_0}$ , los términos significativos fueron el lineal del tiempo de vacío ( $t_v$ ) y la interacción entre el tiempo de vacío y el tiempo de relajación ( $t_v t_r$ ). Se puede observar que el  $\Delta C^*_{\text{CFT-C}_0}$  se incrementa a medida que aumenta el tiempo de vacío y al igual que la interacción entre los dos factores en estudio, presenta efecto positivo.



**Figura 3.52** Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual del Contenido de Fenoles Totales al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío



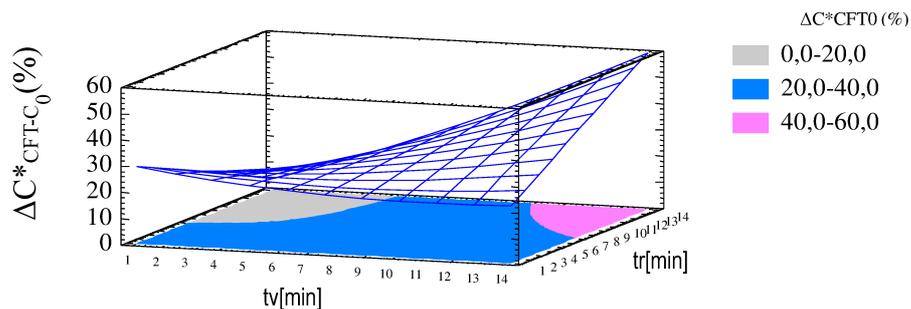
**Figura 3.53 a)** Gráfica de efectos Principales para la variación relativa porcentual del Contenido de Fenoles Totales al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío y **b)** Gráfica de interacción para la variación relativa porcentual del Contenido de Fenoles Totales al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

El efecto de la interacción entre el tiempo de vacío y el tiempo de relajación sobre el  $\Delta C^*_{\text{CFT-C}_0}$  se presenta en la figura 3.53b. Cuando el tiempo de vacío es más extenso, existe una

mayor influencia por parte del tiempo de relajación, en el  $\Delta C^*_{\text{CFTC-0}}$ , observándose valores más elevados cuando los tiempos de relajación también son altos.

En la ecuación (Ec. 41) se presenta el modelo reducido obtenido para la variación relativa porcentual del Contenido de Fenoles Totales al día 0 ( $\Delta C^*_{\text{CFTC-0}}$ ) de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío.

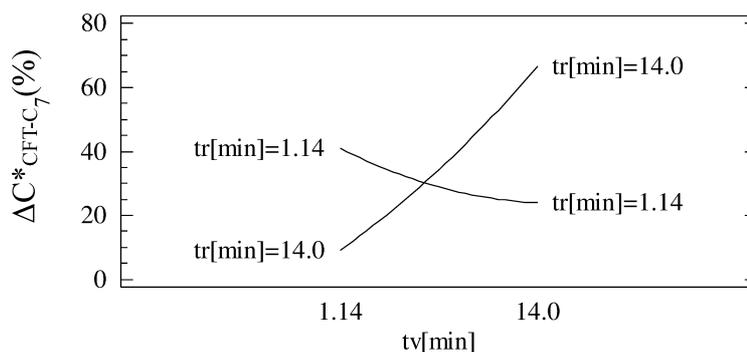
$$\Delta C^*_{\text{CFTC-0}} (\%) = 30,40 - 0,93t_v - 2,31t_r + 0,37t_v t_r \quad (\text{Ec.41})$$



**Figura 3.54** Gráfica de superficie de respuesta estimada para para la variación relativa porcentual del Contenido de Fenoles Totales al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

De acuerdo a la gráfica de superficie de respuesta estimada (Figura 3.54), se observa que los valores de  $\Delta C^*_{\text{CFTC-0}}$  son más bajos (10% superior a la fruta sin tratar) cuando los tiempos de vacío son más cortos y cuando el tiempo de relajación es alto. Asimismo, se puede observar que cuando el tiempo de vacío es alto y a su vez el tiempo de relajación también es alto se obtienen valores máximos de aproximadamente 60%, dentro del rango experimental. Estos resultados pueden relacionarse con el incremento en el contenido de ácido ascórbico en la fruta a medida que incrementa el tiempo de vacío (Figura 3.48), el cual actúa como antioxidante evitando la oxidación enzimática de los compuestos fenólicos, como se determinó en el análisis del color, confirmando que no hubo desarrollo de pardeamiento en la fruta tratada por IV. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Tappi *et al.* (2017), quienes impregnaron manzanas con una SO isotónica (té verde + sacarosa + AA), por un  $t_v$  y  $t_r$  de 5 min, con una presión de 200 mbar, obteniendo un incremento en el CFT de ~50% luego de la IV. Utilizando el modelo obtenido en el presente trabajo (Ec. 41), con las condiciones utilizadas por los mencionados autores, se obtiene un incremento de CFT de 23,5%, el cual es inferior, sin embargo las condiciones empleadas en la presente tesis difieren en la presión y la concentración de la SO.

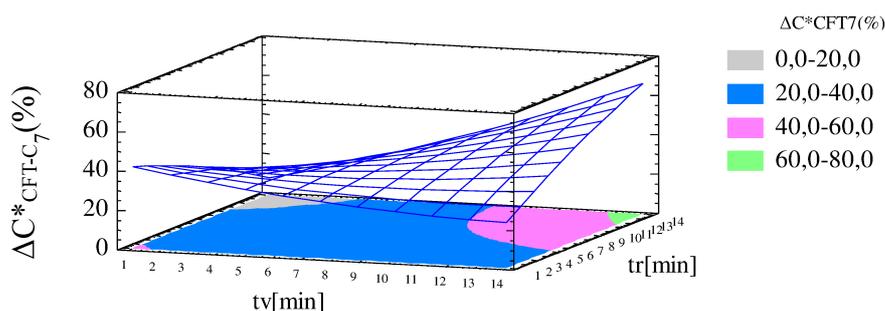




**Figura 3.56** Gráfica de interacción para para la variación relativa porcentual del Contenido de Fenoles Totales al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

En la ecuación (Ec. 42) se presenta el modelo reducido obtenido para la variación relativa porcentual del Contenido de Fenoles Totales al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío.

$$\Delta C^*_{CFT-C_7} (\%) = 46,30 - 3,15t_v - 2,03t_r + 0,45t_v t_r \quad (\text{Ec.42})$$



**Figura 3.57** Gráfica de superficie de respuesta estimada para para la variación relativa porcentual del Contenido de Fenoles Totales al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

De acuerdo a la gráfica de superficie de respuesta estimada (Figura 3.57), se determinó que los valores mínimos (9,15%) de  $\Delta C^*_{CFT-C_7}$ , se obtienen cuando el  $t_v$  y  $t_r$  son de 1,14 y 14 min respectivamente. Asimismo, se puede observar que cuando el  $t_v$  y  $t_r$  son altos, se obtienen valores del contenido de fenoles totales máximos de aproximadamente 80%, superiores al contenido de fenoles de la manzana sin tratar, dentro del rango experimental.

Se ha observado que la tecnología de impregnación por vacío puede inhibir la oxidación de los compuestos fenólicos, debido al intercambio entre el gas ocluido en los poros de la manzana y la solución osmótica que contiene los agentes antioxidantes (Xie y Zao, 2003). Los resultados presentados por Zappi *et al.* (2017), coinciden con los obtenidos en el presente trabajo, observándose una ligera disminución de CFT luego del tratamiento IV. Determinaron

que el estrés abiótico generado por la impregnación, induce a un incremento en el contenido de compuestos fenólicos, y que es necesario el uso de agentes antioxidantes con el fin de evitar la disminución drástica de dichos compuestos durante el almacenamiento. Asimismo, en concordancia con los resultados obtenidos en el presente trabajo, Blanda *et al.* (2008), también determinaron que luego del almacenamiento existe una reducción del CFT durante el período de almacenamiento por efecto de la degradación de dichos compuestos.

### **3.2.8 Cambios en la capacidad antioxidante por efecto del tiempo de vacío y relajación durante la impregnación por vacío en manzanas**

La ingesta de manzana (*Malus domestica* Borkh) siempre se ha asociado con beneficios para la salud. Su composición la convierte en una de las frutas más completas desde el punto de vista nutricional. Es rica en minerales, vitaminas, fibra y azúcares (Dobrzanski *et al.*, 2006; Seipel *et al.*, 2009). Además, las manzanas contienen altos niveles de compuestos biológicamente activos, como los polifenoles, que no solo contribuyen al color, el amargor y la astringencia, sino que también actúan como antioxidantes y pueden ayudar a proporcionar protección contra las enfermedades cardiovasculares y el cáncer (Dobrzanski *et al.*, 2006, Piagentini y Pirovani, 2017).

Estudios *in vitro* en animales han validado la elevada capacidad antioxidante de las manzanas, a pesar de que su contenido natural de vitamina C es bajo, por lo cual sus propiedades son atribuidas a que contiene una amplia variedad de fitoquímicos, de los cuales muchos tienen beneficios como anticancerígenos y de prevención de enfermedades crónicas, entre otros. Pero se ha observado que el procesamiento puede generar una pérdida de estos compuestos (Boyer y Liu, 2004).

#### **3.2.8.1 Capacidad antioxidante por el método DPPH**

Los resultados experimentales de la variación de la capacidad antioxidante de manzanas IV se presentan en la Tabla 3.28. Valores positivos en la variación relativa porcentual de la capacidad antioxidante por el método DPPH en el día 0 ( $\Delta CA_{DPPH0}$ ), y al día 7 ( $\Delta CA_{DPPH7}$ ), indican incremento en el parámetro medido, mientras que valores negativos representan disminución en la capacidad antioxidante.

**Tabla 3.28** Cambios de la capacidad antioxidante en el día 0, y al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

$t_v$ (min)	$t_r$ (min)	$\Delta CA_{DPPH0}$ (%)	$\Delta CA_{DPPH7}$ (%)
14	7,5	106,72	150,19
7,5	7,5	99,45	116,87
7,5	7,5	94,13	105,87
7,5	14	98,27	115,55
3	3	60,14	86,33
3	12	76,59	93,09
1,14	7,5	43,12	75,53
7,5	1,14	74,92	97,56
12	3	86,92	130,08
12	12	95,326	142,82
7,5	7,5	90,93	108,27

En la Tabla 3.29 se presenta el ANOVA de los modelos obtenidos para capacidad antioxidante por el método DPPH en el día 0 y en el día 7.

**Tabla 3.29** Análisis de varianza de los modelos obtenidos para la variación relativa porcentual de la capacidad antioxidante por el método DPPH al día 0 y al día 7.

Fuente de variación	G.L.	Suma de Cuadrados	
		$\Delta CA_{DPPH0}$ (%)	$\Delta CA_{DPPH7}$ (%)
A: $t_v$ (min)	1	2249,91**	4972,17*
B: $t_r$ (min)	1	408,18*	252,94
AA	1	583,48*	21,82
AB	1	16,20	8,92
BB	1	107,33	5,99
Falta de ajuste	3	264,34	45,25
Error puro	2	37,12	66,97
Coef. Determinación ( $R^2$ )		91,7%	97,9%

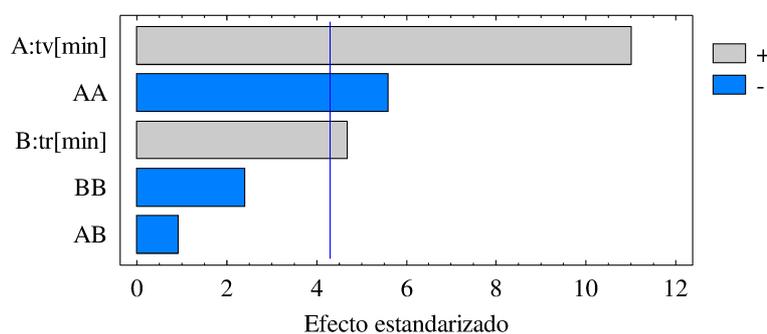
G.L: grados de libertad; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$

- **En el día de procesamiento**

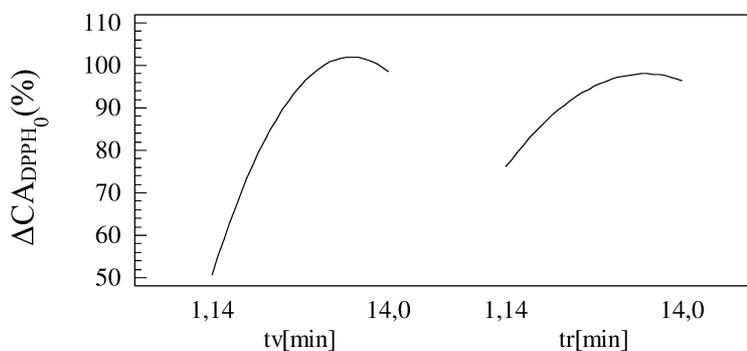
La materia prima lavada, pelada y cortada sin tratar (FF) en el día 0 presentó, en promedio, una capacidad antioxidante de  $8,32 \pm 0,712$  AEAC ( $\text{mg AA Kg}^{-1}$  FF).

El modelo no presentó falta de ajuste significativa ( $p_{\text{falta de ajuste}} = 0,1789$ ) y logró explicar el 91,7% de variabilidad de los datos experimentales.

De acuerdo al diagrama de Pareto (Figura 3.58) y a la gráfica de efectos principales (Figura 3.59) para  $\%CA_{DPPH0}$ , los términos significativos fueron: el lineal del tiempo de vacío ( $t_v$ ), el término cuadrático del tiempo de vacío ( $t_v^2$ ) y finalmente el término lineal del tiempo de relajación ( $t_r$ ). Se observó que la  $\Delta CA_{DPPH0}$  se incrementa a medida que el  $t_v$  y el tiempo de relajación aumentan, ambos tiempos tienen efecto positivo, lo que significa que la capacidad antioxidante es mayor a medida que la fruta es sometida a periodos largo de impregnación, no obstante, el término cuadrático del tiempo de vacío tiene efecto negativo, y observándose que hay un incremento máximo de la variación de capacidad antioxidante que a tiempos superiores disminuye.



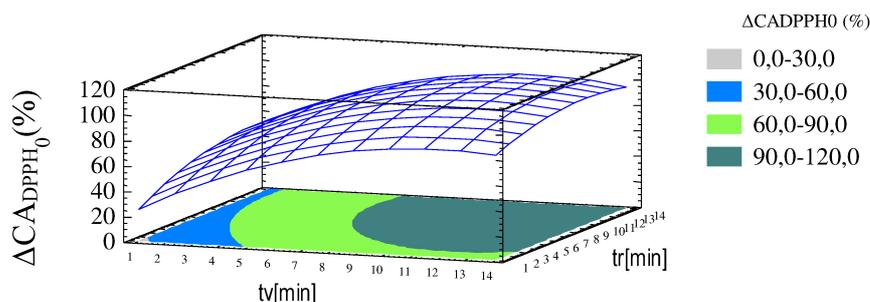
**Figura 3.58** Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual de la capacidad antioxidante por el método DPPH al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío



**Figura 3.59** Gráfica de efectos Principales para la variación relativa porcentual de la capacidad antioxidante por el método DPPH al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

En la ecuación (Ec. 43) se presenta el modelo reducido obtenido para la variación relativa porcentual de la capacidad antioxidante por el método DPPH al día 0 ( $\Delta CA_{DPPH0}$ ).

$$\Delta CA_{DPPH0} (\%) = 26,01 + 10,24t_v + 1,6t_r - 0,43t_v^2 \quad (\text{Ec. 43})$$



**Figura 3.60** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual de capacidad antioxidante por el método DPPH al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

En la Figura 3.60 se observa la gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual de la capacidad antioxidante por el método DPPH al día 0. De acuerdo a la gráfica se determinó que la  $\Delta CA_{DPPH0}$  aumenta a medida que incrementa el tiempo de vacío y el tiempo de relajación (11 y 10 min) hasta llegar a un valor máximo de 104%, respecto a la capacidad antioxidante de la manzana fresca cortada sin tratar del día 0.

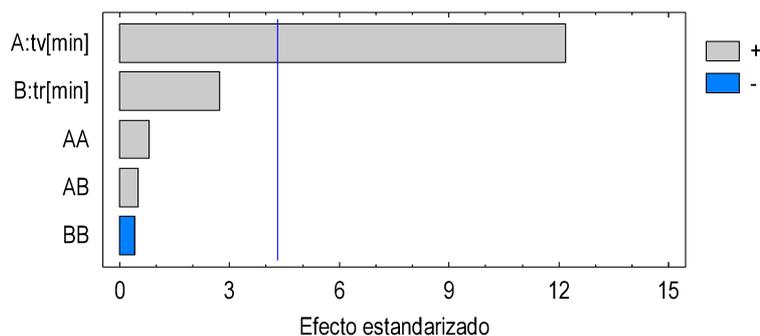
A diferencia de los resultados obtenidos en el presente trabajo, estudios realizados por Roble *et al.* (2010), en manzana *Granny Smith* impregnada con miel, mostraron que a pesar de que la solución de impregnación posee buena capacidad antioxidante debido a varios compuestos fitoquímicos, los resultados no pueden ser favorables cuando las presiones de vacío son muy altas. Sin embargo, Davey *et al.* (2004) mencionan que el procesamiento genera un incremento en el contenido de los polifenoles tal como se observó en el presente trabajo, lo cual aporta en el incremento de la capacidad antioxidante.

- **Efecto sobre  $CA_{DPPH7}$**

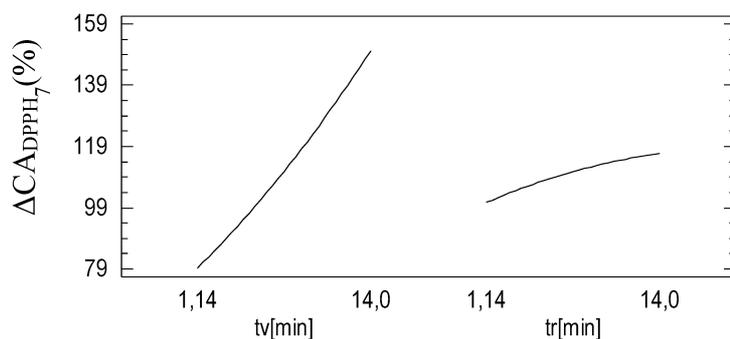
La fruta sin tratar FF al día 7 presentó, en promedio, una capacidad antioxidante de  $9,465 \pm 1,156$  AEAC ( $\text{mg AA Kg}^{-1}$  FF)

El modelo no presentó falta de ajuste significativa ( $p_{\text{falta de ajuste}} = 0,7439$ ) y mediante el estadístico  $R^2$  se logró explicar el 97,9% de variabilidad de los datos.

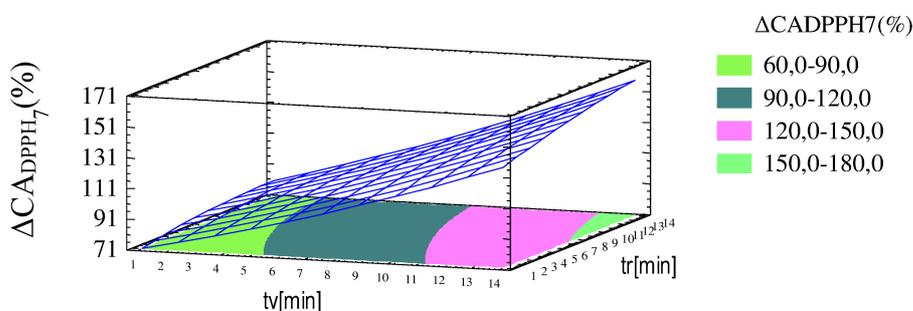
De acuerdo al diagrama de Pareto (Figura 3.61) y a la gráfica de efectos principales (Figura 3.62) para  $\Delta CA_{DPPH7}$  el único término significativo fue el lineal del tiempo de vacío ( $t_v$ ). Se observó que la  $\Delta CA_{DPPH7}$  se incrementa a medida que el  $t_v$  aumenta, es decir presenta un efecto positivo.



**Figura 3.61** Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual de la capacidad antioxidante por el método DPPH al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío



**Figura 3.62** Gráfica de efectos Principales para la variación relativa porcentual de la capacidad antioxidante por el método DPPH al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío



**Figura 3.63** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual de capacidad antioxidante por el método DPPH al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

En la Figura 3.63 se observa que la  $\Delta CA_{DPPH7}$  aumenta a medida que incrementa el tiempo de vacío, obteniéndose valores de incremento respecto a la manzana fresca cortada sin tratar del día siete, entre 72-159%, el valor mínimo se obtiene cuando el  $t_v = t_r = 1,14$  min, y el valor máximo cuando  $t_v = t_r = 14$  min.

En la ecuación (Ec. 44) se presenta el modelo reducido obtenido para la variación relativa porcentual de la capacidad antioxidante por el método DPPH al día 7 ( $\% \Delta CA_{DPPH7}$ ).

$$\Delta CA_{DPPH7} (\%) = 69,76 + 5,50t_v \quad (\text{Ec. 44})$$

Los resultados obtenidos por Tappi *et. al* (2017) ( $8,9 \pm 0,3$  mg AA Kg<sup>-1</sup> FF) con 5 min de  $t_v$  y 200 mbar de presión, son inferiores a los obtenidos en el presente trabajo, mediante el modelo obtenido (Ec.44) se obtendría una variación relativa porcentual de ~97%, es decir  $18,63 \pm 0,3$  mg AA Kg<sup>-1</sup> FF.

### 3.2.8.2 Capacidad antioxidante método FRAP

Los resultados experimentales se presentan en la Tabla 3.30. Valores positivos en la variación relativa porcentual en el día cero de la capacidad antioxidante por el método FRAP ( $\Delta CA_{FRAP0}$ ), y al día siete ( $\Delta CA_{FRAP7}$ ) indican incremento en el parámetro medido, mientras que valores negativos representan disminución en la capacidad antioxidante.

**Tabla 3.30** Cambios en la capacidad antioxidante por el método FRAP en el día 0 y en día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

$t_v$ (min)	$t_r$ (min)	$\Delta CA_{FRAP0}$ (%)	$\Delta CA_{FRAP7}$ (%)
14	7,5	108,90	120,77
7,5	7,5	101,60	99,76
7,5	7,5	92,51	95,57
7,5	14	67,73	82,55
3	3	55,28	78,27
3	12	62,17	62,50
1,14	7,5	78,13	64,14
7,5	1,14	97,06	96,88
12	3	93,71	101,92
12	12	102,09	108,92
7,5	7,5	93,91	74,11

El ANOVA obtenido para las respuestas de capacidad antioxidante por el método FRAP en el día 0 y en el día 7 se presenta en la Tabla 3.31.

**Tabla 3.31** Análisis de varianza para los modelos de la variación relativa porcentual de la capacidad antioxidante por el método FRAP al día 0 y al día 7 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

Fuente de variación	G.L.	Suma de Cuadrados	
		$\Delta CA_{FRAP0}$ (%)	$\Delta CA_{FRAP7}$ (%)
A: $t_v$ (min)	1	1841,50*	2849,08
B: $t_r$ (min)	1	93,99	100,96
AA	1	83,35	1,14
AB	1	0,56	129,61
BB	1	484,55*	3,42
Falta de ajuste	3	730,56	45,25
Error puro	2	47,91	378,67
Coef. Determinación ( $R^2$ )		75,79	87,75%

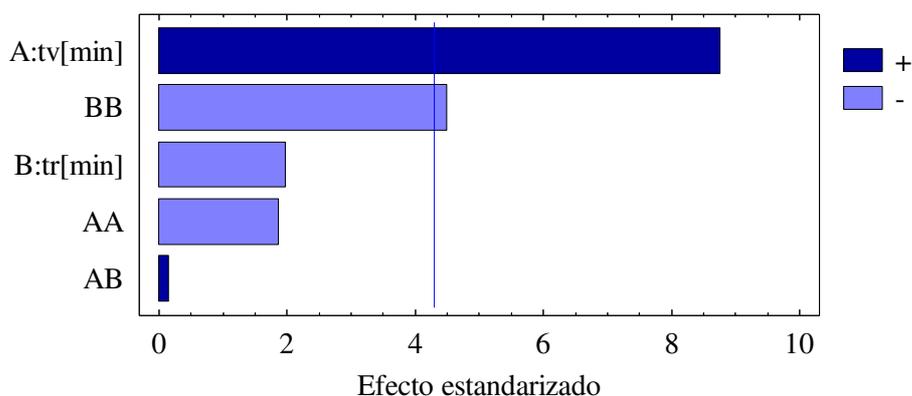
G.L: grados de libertad; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$

- **En el día de procesamiento**

La fruta fresca cortada sin tratar (FF) al día 0, presentó en promedio una capacidad antioxidante de  $28,09 \pm 26,51 \mu\text{mol de Fe}^{+2}/\text{Kg producto}$

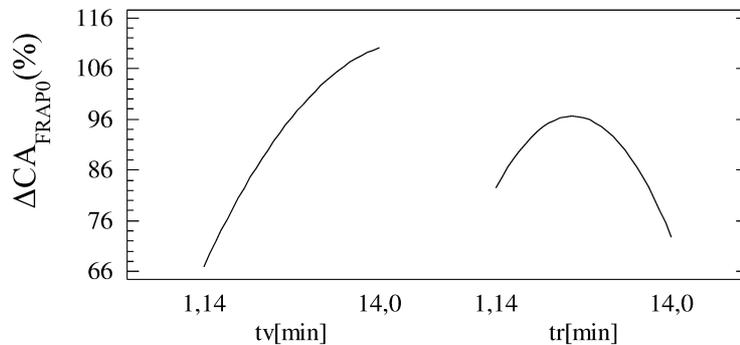
El modelo no presentó falta de ajuste significativa ( $p_{\text{falta de ajuste}} = 0,0909$ ) y explicó el 75,79% de variabilidad de los datos experimentales.

De acuerdo al diagrama de Pareto (Figura 3.64) para  $\Delta CA_{FRAP0}$  el término más significativo fue el lineal del tiempo de vacío ( $t_v$ ), seguido del término cuadrático del tiempo de relajación ( $t_r^2$ ). El tiempo de vacío presenta un efecto positivo, mientras que el cuadrático del tiempo de relajación, presenta un efecto negativo.



**Figura 3.64** Diagrama de Pareto estandarizado para la variación relativa porcentual de la capacidad antioxidante por el método FRAP al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

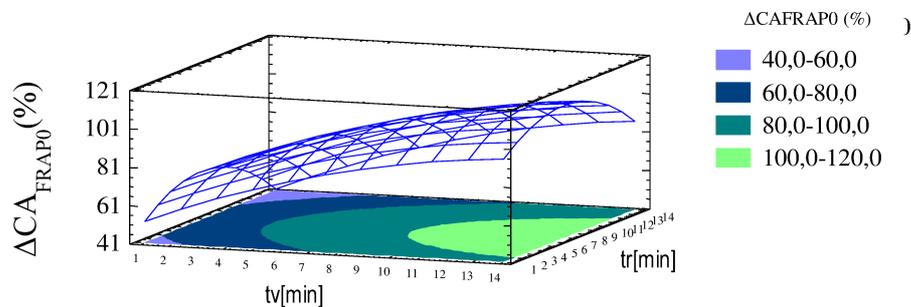
De acuerdo a la gráfica de efectos principales (Figura 3.65) se determinó que la  $\Delta CA_{FRAP0}$  se incrementa a medida que el  $t_v$  aumenta (efecto positivo), y también con el tiempo de relajación, hasta un incremento máximo del 110% cuando  $t_v$  y  $t_r$  son 14 y 6,8 min, respectivamente. Superados estos tiempos, desciende el valor de la respuesta.



**Figura 3.65** Gráfica de efectos Principales para la variación relativa porcentual de la capacidad antioxidante por el método FRAP al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

En la ecuación (Ec. 45) se presenta el modelo reducido obtenido para la variación relativa porcentual de la capacidad antioxidante por el método FRAP al día 0 ( $\Delta CA_{FRAP0}$ ).

$$\Delta CA_{FRAP0} (%) = 61,34 + 3,37t_v. \tag{Ec. 45}$$



**Figura 3.66** Gráfica de superficie de respuesta estimada para la variación relativa porcentual de capacidad antioxidante por el método FRAP al día 0 de manzanas frescas cortadas impregnadas al vacío

De acuerdo a la gráfica (Figura 3.66) se puede observar que la  $CA_{FRAP0}$  de las manzanas tratadas por impregnación por vacío es entre 40 y 120% superior, respecto a la manzana fresca cortada sin tratar del día cero, dependiendo de la combinación entre el tiempo de vacío y tiempo de relajación. El valor máximo (110%) se obtiene cuando  $t_v$  y  $t_r$  son 14 y 6,8 min respectivamente. Se observa que la capacidad antioxidante es más elevada cuando el tiempo de vacío es mayor, dentro de los rangos experimentales. Estos valores son calculados respecto al

contenido de fruta fresca sin tratar del día 7. Los resultados concuerdan con las tendencias obtenidas para color, contenido de ácido ascórbico, contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante por DPPH.

- **Efecto sobre  $CA_{FRAP7}$**

En promedio, la capacidad antioxidante de manzanas frescas cortadas sin tratar del día 7 es de  $24,81 \pm 3,86 \mu\text{mol Fe}^{+2} \text{Kg}^{-1}$  producto.

La  $CA_{FRAP7}$  promedio de las manzanas tratadas por impregnación por vacío (FT) fue de  $46,745 \pm 8,08 \mu\text{mol de Fe}^{+2} \text{Kg}^{-1}$  producto

Para la  $\Delta CA_{FRAP7}$  se obtuvo un modelo sin falta de ajuste ( $p_{\text{falta de ajuste}} = 0,9651$ ) que explicó el 87,85% de la variabilidad de los datos.

Ninguno de los factores tuvo un efecto significativo ( $p > 0,05$ ) sobre la variación relativa porcentual de  $CA_{FRAP7}$  al día 7, sin embargo, se observó que los tratamientos incrementaron considerablemente la capacidad antioxidante de la fruta, con una variación relativa porcentual promedio de  $91 \pm 18\%$ . Todos los valores obtenidos son superiores a los reportados en la bibliografía para capacidad antioxidante por el método FRAP, para distintas variedades de manzana (Henriquez *et al.*, 2010)

### 3.3 DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES ÓPTIMAS DE PROCESO

Para la determinación de las condiciones óptimas de impregnación al vacío de manzanas Granny Smith frescas cortadas ( $t_v$  y  $t_r$ ), se utilizó la metodología de optimización de respuestas múltiples, tal como se indicó en la sección 2.3.3, con dos objetivos diferentes:

Optimización 1: Minimizar la velocidad de respiración, maximizando los atributos relacionados con la calidad sensorial. De acuerdo a los modelos predictivos desarrollados se determinaron los valores de  $t_v$  y  $t_r$  que permitieron minimizar los cambios relativos de: la velocidad de respiración ( $RR_0$  y  $RR_7$ ) y maximizar los cambios relativos de los parámetros relacionados con las propiedades mecánicas (firmeza:  $F_0$  y  $F_7$ , la distancia lineal:  $DL_0$ , el número de picos:  $NPicos_0$  y el área bajo la curva:  $A_0$ ) y  $L^*7$  (el único parámetro de color cuyo modelo fue significativo) (tabla 3.32).

Optimización 2: Minimizar la velocidad de respiración maximizando los atributos relacionados con la calidad sensorial y el potencial saludable. De acuerdo a los modelos

predictivos desarrollados se determinaron los valores de  $t_v$  y  $t_r$  que permitieron minimizar los cambios relativos a la velocidad de respiración ( $RR_0$  y  $RR_7$ ), y maximizar los cambios relativos a: los parámetros relacionados con las propiedades mecánicas (firmeza:  $F_0$  y  $F_7$ , la distancia lineal:  $DL_0$ , el número de picos:  $NPicos_0$  y el área bajo la curva:  $A_0$ ); los cambios relativos al contenido de ácido ascórbico total ( $C^*_{AAT0}$  y  $C^*_{AAT7}$ ), al contenido de fenoles totales corregido ( $C^*_{CFT-C0}$  y  $C^*_{CFT-C7}$ ) y a la capacidad antioxidante ( $CA_{DPPH0}$  y  $CA_{DPPH7}$ ), y , así como también maximizar el cambio relativo en la luminosidad ( $L^*_7$ ) (tabla 3.33). .

Para cada respuesta seleccionada fue necesario escoger un criterio (maximizar, minimizar o fijar un valor), y determinar qué peso relativo se le va a otorgar a cada una de ellas. En el caso del primer escenario de optimización se le dio mayor impacto a los cambios relativos en velocidad de respiración y en firmeza, tanto en el primer día de almacenamiento como luego de 7 días de almacenamiento refrigerado, al ser respuestas determinantes en la estimación de la vida útil de la manzana fresca cortada. Mientras que en el segundo caso de optimización, también se ponderó con mayor impacto los cambios relativos en la concentración de AAT, fenoles totales y capacidad antioxidante; relacionados con el potencial saludable del producto.

A la única respuesta que se le otorgó el criterio de “minimizar” en los dos escenarios, fue a la variación relativa porcentual de la velocidad de respiración ( $RR_0$  y  $RR_7$ ), debido a que valores altos de esta respuesta están relacionados con una menor vida útil del producto obtenido.

En las Tablas 3.32 y 3.33 se presentan los resúmenes de las respuestas utilizadas para la optimización múltiple y los criterios usados en la función de deseabilidad de Derringer para los dos escenarios de optimización. También se presentan los valores mínimos y máximos obtenidos experimentalmente para las respuestas seleccionadas según el diseño experimental realizado.

**Tabla 3.32** Valores mínimos y máximos observados, objetivos e impactos de cada una de las respuestas utilizadas para la optimización de respuestas múltiples (optimización 1).

Respuesta (%)	Mínimo observado	Máximo observado	Objetivo	Impacto
$\Delta F_0$	-25,02	19,64	Maximizar	5
$\Delta DL_0$	-21,11	5,02	Maximizar	3
$\Delta NPicos_0$	-52,01	-3,9	Maximizar	3
$\Delta A_0$	-30,95	20,92	Maximizar	3
$\Delta F_7$	-20,34	-0,79	Maximizar	5
$\Delta RR_0$	-44,8	-5,74	Minimizar	5
$\Delta RR_7$	6,53	109,74	Minimizar	5
$\Delta L^*_7$	-2,95	8,71	Maximizar	5

**Tabla 3.33** Valores Mínimos y máximos observados, objetivos e impactos de cada una de las respuestas utilizados para la optimización de respuestas múltiples (optimización 2).

Respuesta (%)	Mínimo observado	Máximo observado	Objetivo	Impacto
$\Delta F_0$	-25,02	19,64	Maximizar	5
$\Delta DL_0$	-21,11	5,02	Maximizar	3
$\Delta NPicos_0$	-52,01	-3,9	Maximizar	3
$\Delta A_0$	-30,95	20,92	Maximizar	3
$\Delta F_7$	-20,34	-0,79	Maximizar	5
$\Delta L^*_7$	-2,95	8,71	Maximizar	5
$\Delta RR_0$	-44,8	-5,74	Minimizar	5
$\Delta RR_7$	6,53	109,74	Minimizar	5
$\Delta CA_{DPPH0}$	43,12	106,72	Maximizar	5
$\Delta CA_{DPPH7}$	75,53	150,19	Maximizar	5
$\Delta C^*_{CFT-C0}$	9,45	51,08	Maximizar	5
$\Delta C^*_{CFT-C7}$	19,7	52,2	Maximizar	5
$C^*AAT_0 [mgAAT kg^{-1}]$	406,42	645,62	Maximizar	5
$C^*AAT_7 [mgAAT kg^{-1}]$	188,16	606,05	Maximizar	5

El valor máximo de deseabilidad obtenido y los tiempos  $t_v$  y  $t_r$  requeridos para alcanzar las condiciones óptimas para cada escenario de optimización planteado se presentan en la Tabla 3.34.

**Tabla 3.34** Valor de deseabilidad y valores óptimos de tiempo de vacío y relajación para los escenarios de optimización 1 y 2.

Factor	Optimización 1	Optimización 2
	Deseabilidad = 0,64	Deseabilidad = 0,56
Tiempo de vacío ( $t_v$ )	6,18 min	10,18 min
Tiempo de relajación ( $t_r$ )	1,14 min	6,21 min

Como se observa en la tabla 3.34, para cumplir con el objetivo 1 (relacionado a la extensión de vida útil), se requieren de tiempos de proceso ( $t_v$  y  $t_r$ ) más bajos, que los necesarios para cumplir con el objetivo 2 (relacionados a mejorar el potencial saludable y extender la vida útil).

### 3.4 VALIDACIÓN DE LOS MODELOS OBTENIDOS

Se procedió a validar los modelos obtenidos procesando las manzanas tal como se indicó en la sección 2.3.5 y realizando los tratamientos con los tiempos de vacío y relajación óptimos determinados en el inciso 3.34.

**Tabla 3.35** Valores de las respuestas predichas y experimentales para manzanas var. “Granny Smith” frescas cortadas impregnadas por vacío en las condiciones de optimización 1 ( $t_v$ : 6,18 min;  $t_r$ : 1,14 min).

Respuesta (%)	Valor Predicho (%)	Intervalo de confianza (%)	Valor Experimental (%)
$\Delta F_0$	10,48	[-8,27/29,25]	15,46
$\Delta DL_0$	4,18	[-4,27/16,62]	1,67
$\Delta N_{\text{picos}_0}$	-7,94	[-33,3/17,44]	-8,93
$\Delta A_0$	12,47	[-9,04/33,98]	13,72
$\Delta F_7$	-16,44	[-20,49/-12,39]	-17,02
$\Delta L_{*7}$	4,18	[2,43/5,92]	5,41
$\Delta RR_0$	-26,83	[-33,57/-20,08]	-26,78
$\Delta RR_7$	27,46	[5,00/49,01]	38,83

**Tabla 3.36** Valores de las respuestas predichas y experimentales para manzanas var. “Granny Smith” frescas cortadas impregnadas por vacío según las condiciones de optimización 2 ( $t_v$ : 10,18;  $t_r$ : 6,21).

<b>Respuesta</b> (%)	<b>Valor predicho</b> (%)	<b>Intervalo de confianza</b> (%)	<b>Valor Experimental</b> (%)
$\Delta F_0$	-9,07	[-21,18/3,04]	-12,07
$\Delta DL_0$	-18,64	[-24,09/-13,19]	-14,04
$\Delta NP_{icos_0}$	-43,59	[-43,59/-27,22]	-30,46
$\Delta A_0$	-1,90	[-15,78/11,98]	10,38
$\Delta F_7$	-8,88	[-12,4/-6,26]	-9,16
$\Delta L^*_7$	5,37	[4,25/6,5]	6,48
$\Delta RR_0$	-41,95	[-46,30/-37,58]	-40,47
$\Delta RR_7$	94,59	[80,13/109,10]	73,48
$\Delta CA_{DPPH0}$	99,18	[89,43/108,3]	91,04
$\Delta CA_{DPPH7}$	123,81	[110,72/136,9]	127,74
$\Delta C^*_{CFT-C0}$	29,64	[22,38/36,90]	36,60
$\Delta C^*_{CFT-C7}$	36,64	[30,37/42,92]	37,15
$C^*_{AAT0}$ [mgAAT kg-1]	589,87	[522,09/657,72]	568,97
$C^*_{AAT7}$ [mgAAT kg-1]	496,37	[418,77/574,14]	402,51

Como se puede observar en las tablas 3.36 y 3.37, todos los valores experimentales obtenidos para validar cada uno de los modelos en las condiciones de  $t_v$  y  $t_r$  optimizadas de acuerdo a los objetivos planteados (1 y 2), no difieren significativamente de los valores predichos y se encuentran dentro de los intervalos de confianza, por lo cual se aceptan los modelos obtenidos.

Se puede además observar, que el efecto que se obtiene en cada respuesta, es función del objetivo planteado: por ejemplo, si queremos mantener las características de fresco durante el almacenamiento (7 días), se requiere de  $t_v$  y  $t_r$  bajos, mientras que si lo que se pretende además es incrementar el potencial saludable de la fruta fresca, se requiere de mayores tiempos de proceso ( $t_v$  y  $t_r$ ). Sin embargo, en el segundo caso se ve disminuida la firmeza, y la velocidad de respiración es mayor, lo cual probablemente disminuiría el tiempo de vida útil.

Cuando se analiza el parámetro de color  $L^*$ , se observa que la manzana IV en las condiciones de optimización 2 al día 7, luego del almacenamiento refrigerado a  $1,5^{\circ}\text{C}$  es más clara que la obtenida en las condiciones que cumplen con el objetivo 1, lo cual puede deberse al mayor contenido de compuestos antioxidantes (AAT y FT), que reducen la velocidad de pardeamiento enzimático, reacción que provoca el oscurecimiento de la fruta (reducción de  $L^*$ ).

#### 4 CONCLUSIONES

- Se realizaron ensayos preliminares para estudiar el efecto de la presión de vacío (P), el tiempo de vacío y relajación ( $t_v$  y  $t_r$ ), y la adición de ácidos en el proceso de impregnación por vacío (IV) sobre la calidad de fresco de manzanas *Granny Smith* frescas cortadas. Se puede concluir que el cambio relativo en el contenido de sólidos solubles ( $\Delta SS$ ) y  $\Delta pH$  fueron afectados por los factores evaluados, mientras que el cambio relativo en la actividad de agua ( $\Delta a_w$ ) solo fue afectada por la presión de vacío. Se determinó que una presión de vacío elevada (667,3mbar), incrementa los sólidos solubles en un 27-40%, reduce la firmeza entre del 28-33% y afecta significativamente la calidad de fresco de la manzana IV, obteniéndose un producto menos firme y más oscuro, por lo que es necesaria la aplicación de ácido ascórbico y cítrico para evitar el pardeamiento enzimático posterior al tratamiento. Además, se detectó, que el tiempo de tratamiento influye sobre las distintas respuestas estudiadas, por lo cual es indispensable estudiar y analizar su efecto, para poder prolongar la vida útil del producto final y a su vez mejorar sus características saludables originales. Estos estudios preliminares permitieron establecer las condiciones de trabajo (P: 67,7; SO: 30%) y el rango de los tiempos de vacío y relajación (1,14 a 14min) para estudiar y modelar el efecto de ambos tiempos de proceso sobre las distintas características de la manzana fresca cortada IV, a través de un diseño experimental.
- Se obtuvieron modelos predictivos en el día 0 para el cambio relativo en el contenido de sólidos solubles ( $\Delta SS_0$ ), ganancia de sólidos (%GS), pérdida de agua (%WL), firmeza ( $\Delta F_0$ ), distancia lineal ( $\Delta DL_0$ ), trabajo ( $\Delta A_0$ ), número de picos ( $\Delta N_{picos_0}$ ), respiración ( $\Delta RR_0$ ), ácido ascórbico ( $C^*_{AA0}$ ), ácido ascórbico total ( $C^*_{AAT0}$ ), fenoles totales corregidos ( $\Delta C^*_{CFT-c0}$ ), capacidad antioxidante por el métodos DPPH ( $\Delta CA_{DPPH0}$ ), capacidad antioxidante por el método FRAP ( $\Delta CA_{FRAP0}$ ), mientras que no se obtuvieron modelos que ajusten la  $\Delta pH_0$ ,  $\Delta a_{w0}$ , WR, parámetros de color.
- Por otro lado, luego del almacenamiento refrigerado (1,5 °C) en el día 7, se obtuvieron modelos predictivos para:  $\Delta SS_7$ ,  $\Delta L^*_7$ ,  $\Delta RR_7$ ,  $C^*_{AA7}$ ,  $C^*_{AAT7}$ ,  $\Delta C^*_{CFT-C7}$ ,  $\Delta CA_{DPPH7}$ , mientras que no se obtuvo un modelo predictivo para  $\Delta pH_7$ ,  $\Delta a_{w7}$ ,  $\Delta a^*_7$ ,  $\Delta b^*_7$ ,  $\Delta C^*_{ab7}$ ,  $\Delta hab_7$ ,  $\Delta E^*_{ab}$ , propiedades mecánicas y  $\Delta CA_{FRAP7}$ .
- Mediante los parámetros de transferencia de masa (GS, WL, y WR) se pudo evidenciar que la fruta impregnada ganó sólidos y que a su vez hubo pérdida de agua, y que los

factores en estudio ( $t_v$  y  $t_r$ ) afectan estas respuestas, sin embargo, no hubo diferencias significativas sobre la pérdida de peso, lo cual es favorable desde el punto de vista de rendimiento del producto.

- Mediante el análisis del efecto del  $t_v$  y  $t_r$ , se concluyó que el contenido de  $SS_0$  se incrementa a medida que ambos tiempos de proceso aumentan (9 - 21%), mientras que el contenido de  $SS_7$  solamente es función de  $t_v$ . Las variables estudiadas no influyeron sobre pH,  $a_w$  (0 y 7).
- Con respecto a los parámetros de color evaluados, solamente  $\Delta L^*_7$  fue función del  $t_v$  y  $t_r$ , mientras que el resto de parámetros de color no fueron afectados significativamente por ambos tiempos de proceso. Sin embargo, los valores promedios de los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  obtenidos para la fruta sin tratar (FF) al día 7 son estadísticamente diferente a la fruta tratada (FT) al día 0 y 7, y de  $FF_0$ , demostrándose la efectividad de la IV con soluciones antioxidantes para demorar el pardeamiento enzimático que se desarrolla luego del almacenamiento refrigerado cuando la fruta no ha sido tratada.
- Todas las propiedades mecánicas fueron función de  $t_v$  al día 0. Estos parámetros disminuyen inicialmente a medida que aumenta el tiempo de vacío en la IV; mientras que al día 7, solamente la firmeza se modificó significativamente por efecto del  $t_v$  y  $t_r$  del tratamiento.
- La variación en la tasa de respiración en el día 0 y 7 ( $\Delta RR_0$  y  $\Delta RR_7$ ) fue función tanto del  $t_v$  como del  $t_r$ . En el día de procesamiento, velocidad de respiración disminuye a medida que aumenta el  $t_v$ , mientras que se incrementa con el  $t_r$ . En el día 7,  $\Delta RR_7$  se incrementa con el aumento de las dos variables estudiadas.
- Con respecto al efecto de los tiempos de proceso sobre los compuestos bioactivos, se determinó que el contenido de ácido ascórbico total (AAT) se incrementa a medida que aumentan el  $t_v$  y  $t_r$  tanto en el día 0 (406 – 645.62 mg AAT Kg<sup>-1</sup> Kg de FT) como en el día 7 (188 - 606 mg AAT Kg<sup>-1</sup> Kg de FT). Resultados similares se obtuvieron para la variación del contenido de compuestos fenólicos totales en el día 0 (9-51%) y en el día 7 (19 – 52%). Por otra parte, la capacidad antioxidante (por el método DPPH y FRAP), también se incrementó a medida que aumentaron los tiempos de tratamiento ( $t_v$  y  $t_r$ ) en más del 100%, dentro de los rangos de las variables estudiados.
- La metodología de optimización de respuestas múltiples permitió establecer las condiciones óptimas de tiempo de vacío y tiempo de relajación para dos escenarios

planteados: a) minimizar la velocidad de respiración, maximizando los atributos relacionados con la calidad sensorial; y b) minimizar la velocidad de respiración, maximizando los atributos relacionados con la calidad sensorial y el potencial saludable de manzanas mínimamente procesada impregnadas por vacío. Para cumplir con el primer escenario, los tiempos óptimos de  $t_v$  y  $t_r$  fueron 6,18 y 1,14 min, respectivamente. Mientras que para el segundo escenario los tiempos de  $t_v$  y  $t_r$  fueron 10,18 y 6,21 min, respectivamente.

- La validación de los modelos obtenidos en ambas condiciones de proceso óptimas, resultó satisfactoria, tanto en el día de procesamiento como luego de 7 días de almacenamiento refrigerado.
- Evaluando los resultados obtenidos en la optimización, se puede establecer que si solamente se desea mantener las características de fresco de las manzanas frescas cortadas durante 7 días de almacenamiento (minimizar la velocidad de respiración, maximizando los atributos relacionados con la calidad sensorial), se requiere de  $t_v$  y  $t_r$  menores a los necesarios para obtener, además, una fruta fresca cortada con mayor potencial saludable.

La investigación realizada mediante la presente tesis, demostró que la impregnación por vacío bajo tratamientos suaves con solución antioxidante, es una alternativa para la obtención de manzanas mínimamente procesadas con un tiempo de vida útil extendido y con un potencial saludable mejorado como valor agregado a un producto de alta perecibilidad. Para complementar el estudio con respecto a la calidad del producto, se debería realizar un análisis sensorial y pruebas de aceptabilidad con consumidores, así como también análisis microbiológicos para garantizar la inocuidad del producto.

## 5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbott, J., Saftner, R., Gross, K., Vinyard, B., Janick, J. (2004). Consumer evaluation and quality measurement of fresh-cut slices of 'Fuji,' 'Golden Delicious,' 'GoldRush' and 'Granny Smith' apples. *Postharvest Biology and Technology*, 33: 127–140.
- Ackermann, J., Fischer, M., Amadb, R. (1992). Changes in Sugars, Acids, and Amino Acids during Ripening and Storage of Apples (Cv. Glockenapfel). *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 40, pp.1131-1134.
- Aguayo, E., Requejo-Hackman, C. y Woolf, A. (2015). Hot water treatment in combination with calcium ascorbate dips increases bioactive compounds and helps to maintain fresh-cut apple quality. *Postharvest Biology and Technology* 110, pp. 158–165.
- Ainsworth, E. y Gillespie, K. (2017). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. *Nature Publishing Group*. doi:10.1038/nprot.2007.102.
- Alday, C. (2012). *Efecto del tipo de corte y la temperatura de almacenamiento en la actividad metabólica en manzanas 'Red Delicious' y Cripps Pink' mínimamente procesadas en fresco* (Tesis de grado para obtención el título de Ing. Agrónomo). Universidad de Chile. Chile.
- Alzamora, S. M., Gerschenson, L. N., Vidales, 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.
- 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: Applications in food industries* (pp. 66-77). Lancaster, Estados Unidos: Technomic Publishing Co.
- Anese, M., Manzano, M., Nicoli, M., 1996 Quality of Minimally Processed Apple Slices Using Different Modified Atmosphere Condition. *Journal of Food Quality*. 20 (5). pp. 359-370.
- Artés-Hernández, F., Martínez-Hernández, G., Aguayo, E., Gómez, P. and Artés, F. (2017). Fresh-Cut Fruit and Vegetables: Emerging Eco-friendly Techniques for Sanitation and Preserving Safety. En: Kahramanoglu, I. *Postharvest handling (Capítulo 2)*. DOI: 10.5772/intechopen.69476

- Artés, F., Castañer, M. Gil, M.I. (1998). Revisión: El pardeamiento enzimático en frutas y hortalizas mínimamente procesadas. *Food Science and Technology International*. 4, 377.
- Association of official analytical chemists-AOAC. (1980). *Moisture in dried Fruit, Official Final Action*. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists 22013. 13 ed. Washington, DC.
- Baldwin, E. y Bai, J. (2011). Use of additives to preserve de quality of fresh-cut fruits and vegetables. En: O. Martin-Belloso y R. Soliva (Ed). *Advances in fresh-cut fruits and vegetables processing* (pp. 87-99). New York, Estados Unidos: CRC Press.
- Bansal, V., Siddiqui, V. y Rahman, M. (2015). Minimally Processed Foods: Overview. En: Siddiqui M. y Rahman M. *Minimally Processed Foods: Technologies for safety, quality and convenience* (pp. 1-15). Estados Unidos: Springer International Publishing.
- Barat, J., González-Mariño, G., Chiralt, A. y Fito, P. (2001). Yield Increase in Osmotic Processes by Applying Vacuum Impregnation: Applications in Fruit Candyng. En: P. Fito, A. Chiralt, J. Barat, W. Spiess y D. Behsnilian (Ed). *Osmotic dehydration and vacuum impregnation: Aplicacions in food industries* (pp. 66-77). Lancaster, Estados Unidos: Technomic Publishing Co.
- Beruter, J. (1985). Sugar Accumulation and Changes in the Activities of Related Enzymes during Development of the Apple Fruit. *Plant Physiology*, 121, 331-341.
- Beaulieu, J. (2011). Factors affecting sensory quality of Fresh-cut produce. En O. Martin-Belloso y R. Soliva. *Advances in fresh-cut fruits and vegetables processing* (pp.115-145). New York, Estados Unidos: CRC Press.
- Bellary, A. N., & Rastogi, N. K. (2016). Ways and means for the infusion of bioactive constituents in solid foods. *Critical reviews in food science and nutrition*, 56 (7), 1126-1145.
- Betoret, E., Sentandreu, E., Betoret, N., Cordoñer-Franch, P., Valls-Bellés, V. y Fito, P. (2012). Technological development and functional properties of an apple snack rich in flavonoid from mandarin juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 16, 298-304.
- Betoret, E., Betoret, N., Rocculi, P., Rosa, M.D. (2015). Strategies to improve food functionality: Structure-property relationships on high pressures homogenization,

- vacuum impregnation and drying technologies. *Trends in Food Science & Technology*. doi: 10.1016/j.tifs.2015.07.006.
- Blanda, G., Cerretani, L., Bendini, A., Cardinali, A., Scarpellini, A. y Lercker, G. (2008). Effect of vacuum impregnation on the phenolic content of Granny Smith and Stark delicious frozen apple cv. *European Food Research Technology*, 226, 1229-1237.
  - Boyer, J. y Liu, H. (2004). Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutrition Journal*, 3, 1-15
  - Brand-Williams, W., Cuvelier, M., y Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28 (1), 25-30.
  - Camps, C., Guillermin, P., Mauget, J. y Bertrand, D. (2005). Data analysis of penetrometric force/displacement curves for the characterization of whole apples fruits. *Journal of texture studies*, 36, 387-401.
  - Castelló, M.L., Fito, P.J., Chiralt, A. (2006). Effect of osmotic dehydration and vacuum impregnation on respiration rate of cut strawberries. *Lewensmittel Food Science and Technology*, 39:10, 1171–1179.
  - Castelló, M.L., Igual, M., Fito, P.J. y Chiralt, A. (2009). Influence of osmotic dehydration on texture, respiration and microbial stability of apple slices (Var. Granny Smith). *Journal of food engineering*, 91, 1-9.
  - Chen, C., Hua, W., Hea, Y., Jianga, A., Zhang, R. (2016). Effect of citric acid combined with UV-C on the quality of fresh-cut apples. *Postharvest Biology and Technology*. 111, 126–131.
  - Código Alimentario Argentino (CAA). (2013). *Capítulo XI Alimentos Vegetales*. Artículo 925 bis – Derogado por Resolución Conjunta SPReI N° 169/2013 y SAGyP N° 230/2013. pp: 46.
  - Cortellino, G., Gobbi, S., Bianchi, G., Rizzolo, A. (2015). Modified atmosphere packaging for shelf life extension of fresh-cut apples. *Food Science and technology*. 46 (20). P. 320-330
  - Cortez J.D, Faicán 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, AITEP, vol.10, 2. ISSN: 1665-0204*

- Derringer, G. y Suich J. (1980). *Simultaneous optimization of several response variables*. *Journal of Quality and Technology*. 12, 214-219.
- Derossi, A., De Pilli, T. y Severini, C. (2012). *The Application of Vacuum Impregnation Techniques in Food Industry, Scientific, Health and Social Aspects of the Food Industry*, Dr. Benjamin Valdez (Ed.), ISBN: 978-953-307-916-5, In Tech. Disponible en: <http://www.intechopen.com/books/scientific-health-and-social-aspects-of-the-food-industry/the-application-of-vacuum-impregnation-techniques-in-food-industry>
- Drazeta, L. R. (2002). *Structure, function and quality development in apples* (Tesis en Doctor of Philosophy in Plant Biology). Massey University. New Zeland.
- Eberhardt, M. V., Chang, Y. L., y Liu, R. H. (2000). Nutrition: Antioxidant activity of fresh apples. *Nature*, 405(6789), 903.
- Escarpa, A. y González, M. (2001). Approach to the content of total extractable phenolic compounds from different food samples by comparison of chromatographic and spectrophotometric methods. *Analytical Chemical Acta*. 427, 119-127.
- Fagundes, C., Carciofi, B. y Monteiro, A. (2012). Estimate of respiration rate and physicochemical changes of fresh-cut apples stored under different temperatures. *Food Science. Technology, Campinas*, 33(1): 60-67.
- FAOSTAT. (2017). Fao.org. *Producción de manzana*. Consultado en línea el 8 de junio de 2017, disponible en: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
- Felicetti, D., Schrader, L. (2008). Changes in pigment concentrations associated with sunburn browning of five apple cultivars: Chlorophylls and carotenoids. *Plant Science*, 176, 78–83.
- 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., Andrés, A., Chiralt, A. y Pardo, P. (1996). Coupling of hydrodynamic mechanisms and deformation-relaxation phenomena during vacuum treatment in solid porous food-liquid systems. *Journal of food engineering*. 27 (3), 229-240.
- Fito, P. y Pastor, R. (1994). Non-difussional mechanism occurring vacuum osmotic dehydration. *Journal of food engineering*, 21 (4), 513-519.

- Fuleki, T., Pelayo, E. y Palabay, R. (1994). Sugar composition of varietal juices produced from fresh and stored apples. *Journal of Agricultural of food chemical*, 42, 1266-1275.
- García, E. y Barret D. (2002). Preservative treatments for Fresh-cut fruits and vegetables. En: O, Lamikanra (ed). *Fresh-cut Fruits and Vegetables. Science, Technology and Market* (pp. 274-303). Estados Unidos: CRC Press.
- Gil, M. I., Gorny, J. R., & Kader, A. A. (1998). Responses of 'Fuji' apple slices to ascorbic acid treatments and low-oxygen atmosphere. *Hortscience*, 33, 305-309.
- Gómez, P., García-Loredo, A., Nieto, A., Salvatori, D. Guerrero, S. y Alzamora, S. (2012). Effect of pulsed light combined with an antibrowning pretreatment on quality of fresh cut apple. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 16. 102-112.
- Górnas, P., Rudzinska, M., Seglin, 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.
- Henríquez, C., Almonacid, S., Chiffelle, I., Valenzuela, T., Araya, M., Cabezas, L., y Speisky, H. (2010). Determination of antioxidant capacity, total phenolic content and mineral composition of different fruit tissue of five apple cultivars grown in Chile. *Chilean journal of agricultural research*, 70(4), 523-536.
- Hironaka, K., Kikuchi, M., Koaze, H., Sato, T., Kojima, M., Yamamoto, K., y Tsuda, S. (2011). Ascorbic acid enrichment of whole potato tuber by vacuum-impregnation. *Food chemistry*, 127(3), 1114-1118.
- Hulme A. (1970). *Food science and technology*. Great Britain: Academic press Inc. pp. 149, 152
- INTA. (2016). *Producción mundial de manzanas y peras*. Estación experimental Agropecuaria Alto valle. Programa Nacional de Frutales. Revisión mayo 2016.
- ITIS (Sistema Integrado de Información Taxonómica). (2016). Taxonomía de la manzana *Malus doméstica*. Recuperado de: <http://treefruit.wsu.edu/web-article/harvest-apples/>.
- Jagota, S. K. y Dani, H. M. (1982). A new colorimetric technique for the estimation of vitamin C using Folin phenol reagent. *Analytical biochemistry*. 127, 178-182.

- James, J., Ngarmsak, T. (2010). Processing of fresh-cut tropical fruits and vegetables: A technical guide. *Food and Agriculture Organization of the United Nations Regional Office for Asia and the Pacific*. Bangkok.
- Joshi, A. y Rupasinghe, H. (2010). Optimization of Bioactive Fortification in Apple Snacks through Vacuum Impregnation Using Response Surface Methodology. *Food and Nutrition Sciences*. 2, 45-52.
- Kader, A. A. (2002). Quality parameters of fresh-cut fruit and vegetable products. En: O, Lamikanra. *Fresh-cut fruits and vegetables: Science, technology and market* (21-29). Estados Unidos: CRC Press.
- Kahn, C. (2015). *Apple Harvest, WSU Tree Fruit*. Washington State University. [online] Treefruit.wsu.edu. Recuperado en: <http://treefruit.wsu.edu/web-article/harvest-apples/>.
- Kim, D., Smith, L. y Lee, C. (1993). Quality of Minimally Processed Apple Slices from Selected Cultivars. *Journal of Food Science*, 58, 5.
- King, A.D. y Bolin, H.R. (1989). Physiological and microbiological storage stability of minimally processed fruits and vegetables. *Food Technology*, v.43, n.2, pp.132-135
- Khoddami, A., Wilkes, M. y Roberts, T. (2013). Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 18, 2328-2375, doi: 10.3390/molecules/18022328.
- Lazarides, H. (2001). Reasons and Possibilities to control solids uptake during osmotic treatment of fruits and vegetables. En: P. Fito, A. Chiralt, J. Barat, W. Spiess y D. Behnilian (Ed). *Osmotic dehydration and vacuum impregnation: Applications in food industries* (pp. 66-77). Lancaster, Estados Unidos: Technomic Publishing Co.
- Lee, K., Kim, Y., Kim, D., Lee, H. y Lee, C. (2003a). Major phenolics an apple and the contribution to the total antioxidant capacity. *Journal of agricultural and food chemistry*. 51, 6516-6520.
- Lee, J., Park, H., Lee, C. y Choi, W. (2003b). Extending shelf-life of minimally processed apples with edible coatings and antibrowning agents. *LWT-Food Science and Technology*, 36(3), 323-329.
- Lericci, C., Pinnavaia, G., Dalla Rosa, M. y Bartolucci, L. (1985). Osmotic Dehydration of Fruit: Influence of Osmotic Agents on Drying Behavior and Product Quality. *Journal of Food Science*. 50, 1217-1219.
- Li, G. y Li, D. (2008). Postharvest storage of Apples in China: A case study. En: G. Robertson y J. Lupien (Ed). *Using food Science and Technology to Improve Nutrition*

- and Promote National development.* International Unión of Food Science and Technology.
- Luna-Guzman, I., Cantwell, M. y Barret, D. (1999). Fresh-cut cantaloupe: effects of CaCl<sub>2</sub> dips and heat treatments on firmness and metabolic activity. *Postharvest Biology and Technology*, 17, 201-213.
  - Martin-Belloso, O., Rojas-Grau, M. (2005). Factores que afectan la calidad. En: A. González, A. Gardea y F. Cuamea-Navarro. (Ed). *Nuevas tecnologías de Conservación de Productos vegetales frescos cortados* (pp.77-91). México: Logiprint.
  - Martínez-Monzó, J., Martínez-Navarrete, N., Chiralt, A. y Fito, P. (2001). Combined Vacuum Impregnation-Osmotic Dehydration in Fruit Cryoprotection. 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.
  - Montero-Calderón, M. y Cerdas-Araya, M. (2011). Fruits and vegetables for the Fresh-cut Processing industry. En O. Martin-Belloso y R. Soliva (Ed). *Advances in fresh-cut fruits and vegetables processing* (pp: 87-99). New York, Estados Unidos: CRC Press.
  - Moraga, M.J., Moraga, G., Fito, P.J. y Martínez-Navarrete, N. (2009). Effect of vacuum impregnation with calcium lactate on the osmotic dehydration kinetics and quality of osmodehydrated grapefruit. *Journal of food engineering*, 90, 372-379.
  - Moreno, J., Simpson, R., Estrada, D., Lorenzen, S., Moraga, D., & Almonacid, S. (2011). Effect of pulsed-vacuum and ohmic heating on the osmodehydration kinetics, physical properties and microstructure of apples (cv. Granny Smith). *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12(4), 562-568. 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
  - Moreno, J., Echeverria, J., Silva, A., Escudero, A., Petzold, G., Mella, K. y Escudero, C. (2017). Apple snack enriched with L-arginine using vacuum impregnation/ohmic heating technology. *Food science and technology international*. 0, 1-9, doi: 10.1177/1082013217701354
  - Mujica-Paz, H., Valdez-Fragoso, A., López-Malo, A., Palou, E. y Welti-Chanez, J. (2003a). Impregnation properties of some fruits at vacuum pressure. *Journal of food engineering*, 56 (2003), 307-314.

- Mujica-Paz, H., Valdez-Fragoso, A., López-Malo, A., Palou, E., & Welte-Chanes, J. (2003b). Impregnation and osmotic dehydration of some fruits: effect of the vacuum pressure and syrup concentration. *Journal of Food Engineering*, 57(4), 305-314.
- Neri, L., Di Biase, L., Sacchetti, G., Di Mattia, C., Santarelli, V., Mastrocola, D. y Pittia, P. (2016). Use of vacuum impregnation for the production of high quality fresh-like apple products, *Journal of Food Engineering*, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2016.02.002.
- Nieto, A., Vicente, S., Hodara, K., Castro, M. y Alzamora, S. (2013). Osmotic dehydration of apple: Influence of sugar and water activity on tissue structure, rheological properties and water mobility. *Journal of Food Engineering* 119, 104–114.
- Oms, G., Soliva-Fortuny, R. (2011). Future trends in fresh-cut fruit and vegetable processing. En: Martín-Belloso, O. y Soliva-Fortuny, R. *Advances in fresh-cut fruits and vegetables processing* (pp: 377-379). New York, Estados Unidos: CRC Press.
- 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.
- Park, S.-H., Choi, M.-R., Park, J.-W., Park, K.-H., Chung, M.-S., Ryu, S. and Kang, D.-H. (2011), Use of Organic Acids to Inactivate *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* on Organic Fresh Apples and Lettuce. *Journal of Food Science*, 76: M293–M298. doi:10.1111/j.1750-3841.2011.02205.
- Pereyra, N. (2011). Desarrollo de manzana trozada mínimamente procesada y determinación de vida útil (Tesis de grado para optar al título profesional de ingeniero en alimentos). Universidad de Chile. Chile.
- Perez-Cabrera, L., Chafer, M., Chiralt, A., y Gonzalez-Martinez, C. (2011). Effectiveness of antibrowning agents applied by vacuum impregnation on minimally processed pear. *LWT- Food Science and Technology*, 44, 2273-2280.
- Phianmongkhol, A., Rongkom, H. y Wirjantoro, T. (2015). Effect of fruit size and processing time on vacuum impregnation parameters of Cantaloupe and Apple. *Chian Mai University Journal of Natural Sciences*, 14(2), 125-132. Doi: 10.12982/cmujns.2015.0075
- Piagentini, A. (1999) Conservación de Vegetales Listos para Usar por la Tecnología de Factores Combinados. Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos. F.I.Q. U.N.L. <http://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8180/tesis/handle/1/211>

- Piagentini, A. y Pirovani, M. (2017) Total Phenolics Content, Antioxidant Capacity, Physicochemical Attributes, and Browning Susceptibility of Different Apple Cultivars for Minimal Processing. *International Journal of Fruit Science*, 17:1, 102-116, DOI: 10.1080/15538362.2016.1262304
- Piagentini, A.; Martín, L.; Bernardi, C.; Güemes, D.; Pirovani, M. (2012). Color changes in fresh-cut fruits as affected by cultivar, chemical treatment and storage time and temperature. En: J.L. Caivano y M.P. Buera (Ed). *Color in Food: Technological and Psychophysical Aspects* (pp: 263-270). Ney York, Estados Unidos: CRC Press. ISBN: 9781439876930.
- 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.
- Phianmongkhol, A., Rongkom, H. y Wirjantoro, T. (2015). Effect of fruit size and processing time on vacuum impregnation parameters of cantaloupe and apple. *Chian Mai University Journal of Natural Sciences*, 14(2), 125.
- 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.
- Rico, D., Martín-Diana, A.B., Barat, J.M. y Barry-Ryan, C. (2007). Extending and measuring the quality of fresh cut fruit and vegetable: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 18, 373-386.
- Roble, C., Brunton, N., Gormly, T. y Butler, F. (2011). Quality and antioxidant capacity of fresh-cut Apple wedges enriched with honey by vacuum impregnation. *International Journal of Food Science and Technology*. 46, 626-634.
- Rocculi, P., Romani, S., Della Rosa, M., (2003). Evaluation of physico-chemical parameters of minimally processed apples packed in non-conventional modified atmosphere. *Food Research International* 37, 329–335.
- 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.; 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(ISSN: 1082-0132, Online ISSN: 1532-1738). DOI [10.1177/1082013217744424](https://doi.org/10.1177/1082013217744424).
- Rodríguez Arzuaga, M. Salsi, M. S., Piagentini, A. M. (2016). "Efecto del mínimo procesamiento y tratamiento con yerba mate sobre el potencial saludable y los atributos de calidad de manzanas Granny Smith". *Revista Del Laboratorio Tecnológico del Uruguay INNOTEC*, 12, 7- 14. ISSN 1688-6593.
- Ruiz-Cruz, S., Garde, A., González-Aguilar, G. (2005). Uso de Antioxidantes para mantener la calidad y prolongar la vida de anaquel. En: Gonzalez, A., Gardea, A. y Cuamea-Navarro, F. *Nuevas tecnologías de Conservación de Productos vegetales frescos cortados*. México. 289-305
- Saftner, R. A., Bai, J., Abbott, J. A., & Lee, Y. S. (2003). Sanitary dips with calcium propionate, calcium chloride, or a calcium amino acid chelate maintain quality and shelf stability of fresh-cut honeydew chunks. *Postharvest Biology and Technology*, 29(3), 257-269
- Saftner, R., Abbott, J., Bhagwat, A., and Vinyard, B. (2005). Quality Measurement of Intact and Fresh-cut Slices of Fuji, Granny Smith, Pink Lady, and GoldRush Apples. *Journal of Food Science*, 70. 5.
- Sánchez-Rangel, J., Benavides, J., Heredia, J., Cisneros-Zevallos, L. y Jacobo-Velázquez, D. (2013). The Folin-Ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenol content determination. *Analytical Methods*, 5, 5990.
- Sapers, G. (2003). Washing and sanitizing raw materials for minimally processed fruit and vegetable products. En: Novak, J., Sapers, J. y Juneja, V. *Microbial safety of minimally processed foods* (pp. 221). CRC press, Estados Unidos.
- Saure, M. (1990) Review External Control of Anthocyanin Formation in Apple. *Scientia Horticulturae*, 42, 181-218.
- Seipel, M., Pirovani, M.E., Güemes, D.R., Gariglio, N.F., Piagentini, A.M. (2009). Características fisicoquímicas de los frutos de tres variedades de manzanas cultivadas en la región centro-este de la provincia de Santa Fe. *Revista FAVE - Sección Ciencias Agrarias* 8 (1), 27-36.

- Silva-Paes, S., Beulke-Stringari, H. y Borges-Laurindo, J. (2007). Effect of vacuum and relaxation periods and solution concentration on the osmotic dehydration of apples. *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 441–447
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158.
- Sinha, N. (2012). Apples and Pears: production, physicochemical and nutritional quality, and major products. En: N. Sinha, J. Sidhu, J. Barta, J. Wu y M. Cano (Ed). *Handbook of fruits and fruit processing*. Segunda edición. Wiley-Blackwell. ISBN 978-0-8138-0894-9
- Sinha, N. (2006). Apples. En: Hui, Y.H (Ed). *Handbook of fruits and fruit processing* (pp. 265). Estados Unidos: Blackwell.
- Soliva-Fortuny, G. Oms-Oliu, And O. Martín-Belloso. (2002). Effects of Ripeness Stages on the Storage Atmosphere, Color, and Textural Properties of Minimally Processed Apple Slices. *Sensory and Nutritive Qualities of Food*.
- Soliva-Fortuny R., Elez-Martinez P., Martín-Belloso O. (2004). Microbiological and biochemical stability of fresh-cut apples preserved by modified atmosphere packaging. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 5, 215–224
- Soliva-Fortuny, Marc Ricart-Coll & Olga Martín-Belloso, 2005. Sensory quality and internal atmosphere of fresh-cut Golden Delicious apples. *International Journal of Food Science and Technology*.
- Sosa, N., Salvatori, D. y Schebor, C. (2012) Physico-Chemical and Mechanical Properties of Apple Disks Subjected to Osmotic Dehydration and Different Drying Methods. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 1790 – 1802.
- Statgraphics. (2006). *Diseño de experimentos - Optimización de Múltiples Respuestas*. Manual STATGRAPHICS Centurion XV. StatPoint Technologies, Inc., Warrenton, VA, EEUU, p: 16.
- Sturmo, K., Stamparo, F. (1999). Seasonal Variation of Sugars and Organic Acids in Apple (*Malus domestica* var. Borkh.) in Different Growing Systems. *Phyton (Austria)*, Special issue: "Plant Physiology", 39, 91-96.

- Talens, P., Escriche, L., Martínez-Navarrete, N., & Chiralt, A. (2002). Study of the influence of osmotic dehydration and freezing on the volatile profile of strawberries. *Journal of Food Science*, 67(5), 1648–1653.
- Tapia, M. S., López-Malo, A., Consuegra, R., Corte, P. y Welti-Chanes, J. (1999). Minimally processed papaya by vacuum osmotic dehydration (VOD) techniques. *Food Science and Technology International*, 1999, 5(1): 41-49.
- Tappi, T., Tylewicz, U., Romani, S., Dalla Rosa, M., Rizzi, F. y Roculli, P. (2017). Study on the quality and stability of minimally processed apples impregnated with green tea polyphenols during storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 39, 148–155.
- Temiz, A. y Aihan D. (2017). Enzymes in minimally processed refrigerated fruits and vegetables. En: F. Yildiz y F. Wiley. *Minimally processed refrigerated fruits and vegetables* (pp. 93-148). Estados Unidos: Springer.
- Torreggiani, D. y Bertolo, G. (2001). High-Quality Fruit and Vegetable Products Using Combined Processes. En: P. Fito, A. Chiralt, J. Barat, W. Spiess y D. Behnlian (Ed). *Osmotic dehydration and vacuum impregnation: Applications in food industries* (pp. 66-77). Lancaster, Estados Unidos: Technomic Publishing Co.
- Torrieri, E., Cavella, S. y Masi, P. (2009). Modelling the respiration rate of fresh-cut Annurca apples to develop atmosphere packaging. *International journal of food science and technology*, 44, 890-899.
- University of California. (2017). *Fruit English*. *Postharvest.ucdavis.edu*. Consultado el 3 de Julio del 2017, disponible en: [http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity\\_Resources/Fact\\_Sheets/Datastores/Fruit\\_English/?uid=4&ds=798](http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity_Resources/Fact_Sheets/Datastores/Fruit_English/?uid=4&ds=798)
- USDA. 2016. Apple, Nutrition facts. Recuperado en: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2454?n1=%7Bn1%3DQv%2C+Qv%3D1%7D&fgcd=&man=&lfacet=&count=&max=&sort=&qlookup=&offset=&format=Abridged&new=&measureby=&Qv=1>
- Van de Velde, F., Pirovani, M., Cámara, M.S., Güemes, D., Bernardi, C.M. del H. (2011). Optimization and Validation of a UV-HPLC method for vitamin C determination in strawberries (*Fragaria ananassa* Duch.), using experimental designs. *Food analytical Methods*, 5:1097-1104.

- 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 Thesis). Universidad Nacional del Litoral. Argentina. Available at: <http://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8180/tesis/handle/1/475>
- Van de Velde, F., Güemes, D., Piagentini, A., Pirovani, M., (2013). Health potential and physicochemical attributes after minimal processing and during refrigerated storage of orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). *International Journal of Fruit Science* 13:3, 285-298.
- Valle, J., Aránguiz, V. y León, H. (1998). Effects of blanching and calcium infiltration on PPO activity, texture microstructure and kinetics of osmotic dehydration of apple tissue. *Food research international*. 31, 557-569.
- Vrhovsek, U., Rigo, A., Tonon, D., Mattivi, F., (2004). Quantitation of Polyphenols in Different Apple Varieties. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52, 6532-6538.
- Yildiz, F. (2017). Initial preparation, handling a distribution of minimally processed refrigerated fruits and vegetables. En: F. Yildiz y F. Wiley (Ed). *Minimally processed refrigerated fruits and vegetables* (pp. 53-90). Estados Unidos: Springer.
- Wang, C. (2016). Chilling injury and browning of fresh cut fruits and vegetables [online] Recuperado en <http://www.esalq.usp.br/departamentos/lpv/eventos/palestras/Brazil-Wang.pdf>
- Wang, Z., Wei, T. y Zhang, M. (2014). Effects of vacuum and normal pressure impregnation on water loss and solid gain of apple (*Malus pumila* Mill). *Journal of food processing and preservation*. ISSN 1745-4549.
- Watkins, C. B., Bowen, J. H. y Walker, V. J. (1989). Assessment of ethylene production by apple cultivars in relation to commercial harvest dates. *Crops and Horticultural Science*, 17, 327-331.
- Wu, J., Gao, H., Zhao, L., Liao, X., Chem, F., Wang, Z., Hu, X. (2007). Chemical compositional characterization of some apples cultivar. *Food chemistry*, 103, 88-93
- Wiley, R. (1994). Preservation methods for minimally processed refrigerated fruits and vegetables. Springer Science+Business Media Dordrecht. ISBN 978-1-4613-6014-8

- Wiley, R. y Yildiz, F. (2017). Introduction to minimally Processed Refrigerated (MPR) Fruits and Vegetables. En: F. Yildiz y F. Wiley (Ed). *Minimally processed refrigerated fruits and vegetables* (pp. 3-13). Estados Unidos: Springer.
- Xie, J. y Zao, Y. (2003). Nutritional enrichment of fresh apple (Royal Gala) by vacuum impregnation. *Food science and nutrition*, 54, 387-398.
- Yuri, J. (2006). Desarrollo de color en manzanas. *Boletín técnico pomáceas, centro de pomáceas, Universidad de Talca-Chile*, 6, 1
- Yun, S., Li, J., Li, Z., Ruoyi, K. y Zhifang, Y. (2014). Dynamic changes in proteins during apple (*Malus x domestica*) fruit ripening and storage. *Horticulture Research*. 1, 6, doi:10.1038/hortres.2014.6.
- Zhao, Y. y Xie, J. (2004). Practical applications of vacuum impregnation in fruit and vegetable processing. *Trends in foods science and technology*, 15, 434-451.