

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA

Memoria de Título

**“EFECTOS DE DIFERENTES SANITIZANTES EN LA CALIDAD
MICROBIOLÓGICA DE BERROS (*Nasturtium officinale* R. Br.) ENVASADOS EN
ATMÓSFERA MODIFICADA”**

PAULINA CRISTINA VILLENA RODRÍGUEZ

SANTIAGO- CHILE
2010

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA

Memoria de Título

**“EFECTOS DE DIFERENTES SANITIZANTES EN LA CALIDAD
MICROBIOLÓGICA DE BERROS (*Nasturtium officinale* R. Br.) ENVASADOS EN
ATMÓSFERA MODIFICADA”**

**“EFFECTS OF DIFFERENTS SANITIZERS IN THE MICROBIAL QUALITY OF
WATERCREES (*Nasturtium officinale* R. Br.) PACKAGED IN MODIFIED
ATMOSPHERE”**

PAULINA CRISTINA VILLENA RODRÍGUEZ

SANTIAGO- CHILE
2010

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA

**“EFECTOS DE DIFERENTES SANITIZANTES EN LA CALIDAD
MICROBIOLÓGICA DE BERROS (*Nasturtium officinale* R. Br.) ENVASADOS EN
ATMÓSFERA MODIFICADA”**

Memoria para optar al título profesional de
Ingeniero Agrónomo

PAULINA CRISTINA VILLENA RODRÍGUEZ

PROFESORES GUÍAS	Calificaciones
Sr. Víctor Escalona C. Ingeniero Agrónomo, Dr.	7,0
Sra. Carmen Saenz H. Químico Farmacéutico, Dr.	7,0
PROFESORES EVALUADORES	
Sr. Italo Chiffelle G. Bioquímico, Dr.	6,8
Sr. Juan Carlos Magofke S. Ingeniero Agrónomo. Mg. Sc.	7,0

SANTIAGO- CHILE
2010

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer de manera especial a mis padres, por su apoyo incondicional en todo momento, no sólo en mi etapa universitaria, sino también en el transcurso de mi vida. A mis hermanos por su paciencia y entusiasmo para seguir adelante.

Al Proyecto Nacional Fondecyt – Conicyt (1090059) y a la empresa Más Vida por permitirme realizar esta memoria de título. A mi profesor guía Víctor Escalona por su valiosa ayuda, apoyo y consejos que me guiaron en la confección de esta memoria. A la profesora Carmen Prieto, quien inicialmente participó en este proyecto, siempre estuvo dispuesta a escucharme y a ayudarme en todo momento. A la profesora Carmen Sáenz, que estuvo presente en la última etapa de la realización de esta memoria, por su excelente disposición, ayuda y por los aportes entregados durante la corrección de ésta.

A los profesores Italo Chiffelle y Juan Carlos Magofke por sus correcciones y acotaciones.

También deseo agradecer sinceramente a toda la gente que trabaja y trabajó en el CEPOC y que colaboró conmigo durante mis mediciones, en especial a Daniela Cárdenas por su gran paciencia y buena disposición en toda la parte experimental de mi memoria; Alejandra Machuca por sus sugerencias y simpatía; Javier Obando por tener siempre muy buena prestancia para responder mis dudas; Andrea Hinojosa quien fue muy importante con acotaciones y sugerencias, siempre dispuesta a escucharme.

A Rosita, quien siempre me ayudó y me alentó en el trabajo de laboratorio.

A Piru, quien me ayudó en la parte estadística y siempre tuvo buena disposición en todo momento.

A mis amigos incondicionales que conocí en el transcurso de mi vida universitaria, cada uno aportó con un granito de arena en la confección de esta memoria y en esta etapa de mi vida.

A mi mahatu por alentarme y confiar siempre en mí.

ÍNDICE

	Páginas
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
MATERIALES Y MÉTODOS	7
Lugar de estudio	7
Materiales	7
Metodología	8
Ensayo 1	8
Ensayo 2	9
Parámetros medidos	11
Tasa respiratoria	11
Atmósfera Modificada Pasiva	11
Color	12
Análisis microbiológico	13
Determinación calidad sensorial	14
Diseño experimental y análisis estadístico	14
Diseño de un envase para hojas de berros	15
Cálculo de permeabilidad	17
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
Ensayo 1	18
Tasa respiratoria	18
Atmósfera modificada pasiva (AMP)	19
Color	20
Microbiología	23
Evaluación sensorial	26
Ensayo 2	29
Tasa respiratoria	29
Atmósfera modificada pasiva (AMP)	30
Color	32
Microbiología	34
Evaluación sensorial	40
CONCLUSIONES	43
BIBLOGRAFÍA	44
ANEXO I	49
ANEXO II	50
ANEXO III	51
APÉNDICE I	52
APÉNDICE II	54

RESUMEN

La industria de los productos mínimamente procesados en fresco (MPF) utiliza hipoclorito de sodio (NaClO) como sanitizante. Sin embargo, este producto genera residuos tóxicos, por lo que interesa buscar otras alternativas más amigables con la salud humana y el medio ambiente.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de tres sanitizantes alternativos al hipoclorito de sodio para disminuir la carga microbiana en berros envasados en atmósfera modificada pasiva a 5 °C por 13 días. Se realizó una primera experiencia utilizando dos dosis de cada sanitizante y posteriormente, basándose en parámetros microbiológicos y sensoriales, se definió una dosis para cada sanitizante, realizándose una segunda experiencia. En esta experiencia se aplicó: dióxido de cloro (10 mg/L), clorito de sodio acidificado (500 mg/L), ácido peroxiacético (90 mg/L) e hipoclorito de sodio (100 mg/L) que se utilizó como testigo. Tras la sanitización, los berros se envasaron en atmósfera modificada pasiva, y se almacenaron a 5 °C durante 13 días. Se midieron parámetros de respiración, color, concentración de gases en las bolsas, análisis microbiológico y análisis sensorial.

En las hojas de berros el color verde disminuyó en el tiempo en todos los tratamientos y se incrementó el amarillamiento en todos los tratamientos realizados. El uso de atmósfera modificada pasiva (AMP) fue efectivo para preservar atributos de calidad, pero se recomienda utilizar una atmósfera modificada activa para lograr con mayor rapidez la modificación gaseosa al interior del envase. El hipoclorito de sodio (100 mg/L) sigue siendo un sanitizante efectivo en disminuir las poblaciones microbianas, manteniendo una buena calidad sensorial. El clorito de sodio acidificado (500 mg/L), fue uno de los sanitizantes que provocó una mayor disminución en la tasa respiratoria y obtuvo reducciones entre 1 a 1,6 unidades logarítmicas en aerobios mesófilos, enterobacterias y psicrófilos, siempre manteniendo una buena calidad sensorial. El dióxido de cloro (10 mg/L), fue efectivo para reducir las poblaciones microbianas entre 0,7 a 1,9 unidades logarítmicas, pero fue el sanitizante peor evaluado sensorialmente. El ácido peroxiacético en dosis de 90 mg/L fue efectivo para reducir la tasa respiratoria en berros. Sin embargo este sanitizante no tuvo un efecto significativo en la reducción de los microorganismos estudiados, ni en la pérdida de características sensoriales del producto.

Palabras clave: desinfección, hipoclorito de sodio, mínimo proceso.

ABSTRACT

The minimal processing industry uses sodium hypochlorite as a disinfectant agent. Due to it produces toxic waste, healthy and environmental friendly alternatives are needed.

The aim of this work was to evaluate the effect of three alternative sanitizers to sodium hypochlorite to decrease the microbial populations in watercress packaged in pasive modified atmosphere for 13 days at 5°C. The first experiment was performed using two doses of each sanitizer, and then based on microbiological and sensory parameters a dose for each sanitizer was defined for a second experiment, in which chlorine dioxide (10 mg/L), acidified sodium chlorite (500 mg/L), peroxyacetic acid (90 mg/L) and sodium hypochlorite (100 mg/L) as a control were applied. After sanitization, watercress was packed in passive modified atmosphere and stored at 5° C for 13 days. Respiration rate, color, package gas internal concentration, microbiological and sensory quality were analyzed.

The green color of watercress tended to decrease along the storage period and a yellowing increase was observed. The use of passive modified atmosphere packaging (MAP) was effective to preserve quality, but is recommended using an active modified atmosphere to achieve the gas atmosphere equilibrium in a shorter time. The sodium hypochlorite (100 mg/L) is an effective sanitizer to reduce the microbial population and to preserve a good sensory quality. The acidified sodium chlorite (500 mg/L) greatly decreased the respiration rate, the microbial growth (between 1 to 1.6 log units in aerobic mesophilic, enterobacteria and psychrophilic), and showed a good sensory scores. The chlorine dioxide (10 mg/L) was effective to reduce microbial growth around 0.7 to 1.9 log units, but it was the worst evaluated by judges in the sensory analysis. The peroxyacetic acid (90 mg/L) was effective to decrease the respiration rate in watercress, but it did not have a significant effect neither on the microbial growth nor on the the sensory characteristics of the product.

Key words : disinfection, sodium hypochlorite, fresh cut.

INTRODUCCIÓN

La actual tendencia mundial por un estilo de vida saludable ha llevado a un aumento de la demanda por alimentos frescos, convenientes, libre de aditivos, con un alto valor nutricional, incluyendo propiedades antioxidantes y neutralizantes de radicales libres (Wiley, 1997). Es así que nuevas costumbres en la alimentación, cambios en los estilos de vida y la necesidad de reducir el tiempo para preparar los alimentos, han ocasionado un incremento en la demanda de frutas y hortalizas mínimamente procesadas (listas para su consumo) (González-Aguilar *et al.*, 2004).

Los productos mínimamente procesados en fresco (MPF) consisten en frutas y hortalizas preparadas y manipuladas mediante operaciones simples como el lavado, cortado, rallado, picado y/o rebanado, las que pueden incrementar la perecibilidad de estos productos (Ahvenainen, 1996; Escalona y Luchsinger, 2008). Durante el pelado, corte y triturado, la superficie del producto está expuesta al aire y a la posible contaminación con bacterias, levaduras y mohos (Ahvenainen, 1996). Las heridas y otros tratamientos del mínimo proceso pueden causar efectos fisiológicos, incluyendo la producción de etileno, aumento de la respiración, deterioro de la membrana, pérdida de agua y susceptibilidad al daño microbiológico (Toivonen y De Ell, 2002 citado por Rico *et al.*, 2007). La sobremanipulación durante la preparación de estos productos implica mayor oportunidad para la contaminación con patógenos del humano, tales como *Echerichia coli*, *Listeria*, *Yersinia* y *Salmonella* (Kader, 2002). Las hortalizas mínimamente procesadas, por su alto pH en comparación a las frutas, la alta humedad y el aumento de la superficie debido al corte, proporcionan condiciones ideales para el crecimiento de microorganismos (Ahvenainen, 1996; Wiley, 1997), lo cual afecta la seguridad y las características organolépticas del producto MPF (Escalona y Luchsinger, 2008; Alegría *et al.*, 2009).

El lavado del producto inmediatamente después del cortado remueve azúcares y otros nutrimentos de las superficies cortadas, los cuales favorecen el crecimiento microbiano y el oscurecimiento del tejido (Kader, 2002). Es por esto que la desinfección es uno de los pasos más importantes del procesamiento en la elaboración de vegetales mínimamente procesados, que afectan la calidad, seguridad y vida útil del producto final (Gil *et al.*, 2009; Ölmez y Kretzschmar, 2009).

El éxito del lavado depende de diferentes factores tales como: tipos de microorganismos, características de la superficie del producto, formación de biofilms por los microorganismos, tipo de lavado, tiempo de exposición, dosis, pH, temperatura, etc. (Ragaert *et al.*, 2007; Allende *et al.*, 2008; Herdt y Feng 2009). La eficacia de los métodos de desinfección se refleja en la reducción microbiológica inicial, y aún más importante, en el mantenimiento de esta reducción durante el almacenamiento (Ragaert *et al.*, 2007).

La industria de los alimentos mínimamente procesados ha utilizado el cloro como uno de los desinfectantes más eficaces para garantizar la seguridad de sus productos. Sin embargo, existe una tendencia a la eliminación del cloro en el proceso, debido a las preocupaciones sobre daños al medio ambiente y riesgos para la salud asociados a la formación de compuestos cancerígenos halogenados, derivados de la desinfección del producto. Debido a estos problemas, la industria alimentaria está buscando nuevas alternativas al cloro que garanticen la seguridad del producto, que mantengan una buena calidad y también que permitan alargar su vida útil. Es por esto que el dióxido de cloro, el ozono, ácidos orgánicos, ácido peroxiacético, clorito de sodio acidificado y peróxido de hidrógeno son los principales agentes sanitizantes alternativos de gran interés en los últimos años (Ölmez y Kretzschmar, 2009).

El ácido peroxiacético (APA) es conocido como un fuerte oxidante; debido a esto, muestra acción antimicrobiana contra un amplio rango de microorganismos de origen alimentario (Herdt y Feng, 2009; Vandekinderen *et al.*, 2009b). Su actividad se mantiene en un amplio rango de temperatura y pH (de 1 a 8), y su principal área de aplicación es la industria del mínimo proceso (Artés *et al.*, 2009). Su acción antimicrobiana se refiere principalmente en daños en el ADN, desnaturalización de proteínas y el incremento en la permeabilidad de la pared celular de los microorganismos (Vandekinderen *et al.*, 2009c).

El clorito de sodio acidificado (CSA) es un antimicrobiano altamente efectivo, de amplio espectro, que es producido disminuyendo el pH de una solución de clorito de sodio (NaClO_2) a un rango de 2,5 a 3,2 con cualquier ácido GRAS (sigla en inglés de: generalmente reconocido como seguro) (Warf y Kemp, 2001; Fan *et al.*, 2009; Herdt y Feng, 2009).

El dióxido de cloro (DC) es un fuerte agente oxidante y tiene una alta eficacia biocida (Singh *et al.*, 2002; Vandekinderen *et al.*, 2009c). El interés por el DC como sanitizante en hortalizas se basa en su eficacia, es menos propenso al deterioro en un bajo pH, tiene menor reactividad con la materia orgánica, y una baja capacidad de reaccionar con amoníaco, ácido húmico y otros precursores orgánicos para formar cloraminas nocivas y trihalometanos (Singh *et al.*, 2002; Gómez-López *et al.*, 2009; Vandekinderen *et al.*, 2009c).

Hay muchos estudios que certifican una disminución en la carga microbiana en hortalizas, como lechuga, rúcula, repollo y cilantro, utilizando sanitizantes alternativos al cloro. Según Singh *et al.*, (2002), quien trabajó con lechuga, un lavado en 10 mg/L de ClO_2 líquido por 5 minutos logró reducir las poblaciones de *E. coli* 0157:H7 en 1,2 unidades logarítmicas. En lechugas y repollos lavados con una concentración de 5 mg/L de ClO_2 líquido por 10 minutos redujo las poblaciones de *Listeria monocytogenes* en 0,8 unidades logarítmicas (Zhang y Farber 1996, citado por Gómez-López *et al.*, 2009). Martínez-Sánchez *et al.*, (2006) encontraron una disminución de 1 a 2 unidades logarítmicas en la carga microbiana de rúcula tratada con clorito de sodio acidificado (250 mg/L). En otro estudio los recuentos de aerobios mesófilos se redujeron entre 2 y 2,5 unidades logarítmicas en hojas cilantro, utilizando clorito de sodio acidificado en dosis de 250 mg/L y 500 mg/L (Allende *et al.*,

2009). Los autores Vandekinderen *et al.*, (2009a), realizaron lavados en repollo blanco utilizando ácido peroxiacético en dosis de 80 y 250 mg/L. Ambas dosis lograron reducir su carga microbiana, no obstante la dosis de 80 mg/L fue la mejor evaluada, ya que no afectó la calidad sensorial ni el contenido de nutrientes (vitamina C y vitamina E)

Para los productos MPF, el envasado en atmósfera modificada (EAM) es un complemento necesario a la refrigeración para reducir su tasa de deterioro y prolongar su vida útil. El EAM implica el uso de películas plásticas con permeabilidades selectivas al O₂, CO₂, etileno (C₂H₄) y al vapor de agua. En el interior del envase se genera una modificación atmosférica como resultado de la respiración de los tejidos vegetales y la difusión de gas característica de la película (Kader, 2002).

En Chile se consumen 90 kg per cápita de hortalizas al año, muy cercano a la tendencia estadounidense de la que se tiene referencias de 110 kg/año excluyendo las papas. Específicamente los productos MPF forman parte de este consumo y han permitido que se incorporen hortalizas a la dieta, consumiendo comidas rápidas y fáciles de preparar (Berger, 2004). Nuevos formatos de ensaladas MPF y la utilización de hortalizas no tradicionales, como rúcula, brotes de alfalfa, hortalizas baby y berros está logrando aumentar el consumo y la variedad de vegetales en la ingesta de alimentos.

El berro (*Nasturtium officinale* R. Br.) es una hierba perenne acuática de la familia *Brassicacea* que tiene amplias aplicaciones en la cocina. Las hojas de berro crudo se utilizan como ensalada o también pueden ser consumidas al vapor. El berro contiene una gran cantidad de vitamina C, provitamina A, ácido fólico, yodo, hierro, proteínas, y, sobre todo, calcio y compuestos de azufre, los cuales influyen en su olor característico y en sus beneficios nutricionales (Gonçalves *et al.*, 2009). Hay que tener precauciones al consumir berros silvestres, pues la mayoría de las veces las aguas se encuentran contaminadas y pueden transmitir enfermedades como la fasciolosis (Morales *et al.*, 2009).

Durante los primeros años de la introducción de productos MPF en Chile, a inicios de los 90, se comenzó a diversificar las especies a procesar (Berger, 2004). Es por esta razón que se hace necesario estudiar la utilización de nuevos sanitizantes en la industria y las técnicas de atmósferas modificadas, con el propósito de mejorar la calidad microbiológica de ensaladas de berros y prolongar la vida útil del producto.

Hipótesis

- La utilización de sanitizantes es efectiva para reducir las poblaciones de microorganismos en hojas de berros conservados bajo refrigeración y atmósfera modificada.

Objetivos

- Evaluar el efecto de tres sanitizantes alternativos al cloro, para disminuir la carga microbiana en hojas de berros envasados en atmósfera modificada pasiva conservados a 5 °C por 13 días.
- Evaluar el efecto de diferentes sanitizantes sobre la calidad sensorial de hojas de berros.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio

Los ensayos se realizaron en el Centro de Estudios Postcosecha (CEPOC) y en los laboratorios de Evaluación Sensorial y Análisis Microbiológico del Departamento de Agroindustria y Enología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile. Esta memoria de título fue financiada por el Proyecto Nacional Fondecyt – Conicyt (1090059).

Materiales

Para la realización del presente estudio se utilizaron hojas de berro provenientes de un cultivo hidropónico de la empresa “Más vida S.A.” ubicado en camino Lonquén, Comuna de Calera de Tango, Región Metropolitana. Los berros se cosecharon manualmente sin la utilización de cuchillos, con una longitud de 20 a 25 cm, después de 25 a 30 días después del último corte.

Los sanitizantes comerciales evaluados fueron los siguientes:

- Dióxido de cloro (ClO_2) (Winzaclor-5, Winkler).
- Clorito de sodio (Sigma-Aldrich), el cual se acidificó con ácido cítrico anhidro (RZBC) de pureza 99,97%.
- Ácido peroxiacético (Tsunami100, Ecolab).
- Hipoclorito de sodio (NaClO) (Cloro, Clorox).

Las hojas de berros se envasaron en bolsas plásticas, modelo PD-961EZ, proporcionadas por la empresa CRYOVAC, Sealed Air Corporation Chile. La permeabilidad de la bolsa a 23° C y a 1 atm es de 7.000 mL m⁻² d⁻¹ para O₂ y de 21.000 mL m⁻² d⁻¹ para CO₂¹. Las dimensiones de las bolsas fueron 28 x 13 cm. La bolsa se seleccionó de acuerdo a los cálculos señalados más adelante.

¹Carlos Hortuvia, Ingeniero Agrónomo, Sealed Air Cryovac, 2009 (Comunicación Personal).

Metodología

Las hojas de berros se cosecharon como se describe en el ítem materiales, se llevaron al CEPOC en un camión refrigerado a 5° C y se almacenaron a 0° C en oscuridad y a 95% de humedad relativa durante un día hasta su procesamiento. Desde la cámara de almacenamiento las hojas se llevaron a una cámara de manipulación y acondicionamiento a 8° C, previamente sanitizada, donde se realizó una selección visual y se eliminaron las hojas que presentaron un color no característico (amarillamiento u otro), poca turgencia (pérdida de agua), daño físico y podredumbres (Wiley, 1997).

Antes de procesar los berros, se les realizó un lavado con agua potable a 5° C por 5 minutos, con el fin de retirar cualquier material extraño. Luego, se eliminaron los tallos lignificados mediante cuchillos de filo liso. Posteriormente se lavaron por inmersión por 3 minutos en las diferentes soluciones de sanitizantes. Los diferentes sanitizantes evaluados fueron: hipoclorito de sodio (HS), dióxido de cloro (DC), clorito de sodio acidificado (CSA) y ácido peroxiacético (APA). Se determinó la calidad del agua utilizada (pH = 7,7; CE = -65 mV; Cl libre = 0), en donde se midió el pH y la conductividad eléctrica mediante un pHmetro marca Hanna Instruments, modelo pH 21; y se midió el Cl libre del agua y de cada solución sanitizante con un medidor fotométrico de cloro marca Hanna Instruments modelo HI 95771C.

Ensayo 1: Cada sanitizante se aplicó a dos concentraciones diferentes (Cuadro 1). El tratamiento testigo se realizó con HS (cloro convencional). Éste se utilizó en una dosis de 100 mg/L. Al finalizar cada lavado, los berros se escurrieron sobre una malla de acero inoxidable y posteriormente se eliminó toda el agua mediante una centrifuga manual. Posteriormente se colocaron 50 g de hojas de berros al interior de las bolsas PD-961EZ que se sellaron con calor, generando una atmósfera modificada pasiva (AMP) (Figura 1). Se realizó un segundo tratamiento con HS, siguiendo la misma metodología descrita recientemente, sin embargo esta vez los berros se envasaron en bolsas perforadas (BP) (7 perforaciones de 0,7 mm de diámetro) para simular las concentraciones de gases de una atmósfera de aire (< 1% CO₂, > 19% O₂) y alta humedad relativa (mayor a 95%) (Cuadro 1). Todos los tratamientos se almacenaron durante 13 días a 5° C.

Cuadro 1. Experiencia 1: tratamientos con diferentes sanitizantes y distintas dosis de aplicación

Tratamientos	Sanitizante	Concentración (mg/L)	Envasado	pH inicial	Cl libre (mg/L)
T1	Hipoclorito de sodio (HS)	100	BP	8,2	97
T2	Hipoclorito de sodio (HS)	100	AMP	8,2	97
T3	Dióxido de cloro (DC)	10	AMP	7,5	18
T4	Dióxido de cloro (DC)	5	AMP	7,9	9
T5	Clorito de sodio acidificado (CSA)	250	AMP	2,8	220
T6	Clorito de sodio acidificado (CSA)	500	AMP	2,7	500
T7	Ácido peroxiacético (APA)	50	AMP	4,9	0
T8	Ácido peroxiacético (APA)	90	AMP	4,5	0

Ensayo 2: Se utilizó la mejor dosis de cada sanitizante evaluado en el ensayo 1, de acuerdo a los parámetros microbiológicos y sensoriales. Se realizó el mismo proceso descrito en la experiencia anterior (Figura 1). Este ensayo contó con 4 tratamientos, todos almacenados en AMP por 12 días a 5° C (Cuadro 2).

Cuadro 2. Experiencia 2: Tratamientos con diferentes sanitizantes con una dosis de aplicación

Tratamientos	Sanitizante	Concentración (mg/L)	pH inicial	Cl libre (mg/L)
T2	Hipoclorito de sodio (HS)	100	8	97
T3	Dióxido de cloro (DC)	10	7,3	18
T6	Clorito de sodio acidificado (CSA)	500	2,7	500
T8	Ácido peroxiacético (APA)	90	4,4	0

En la Figura 1 se observa el diagrama que describe el procesamiento.

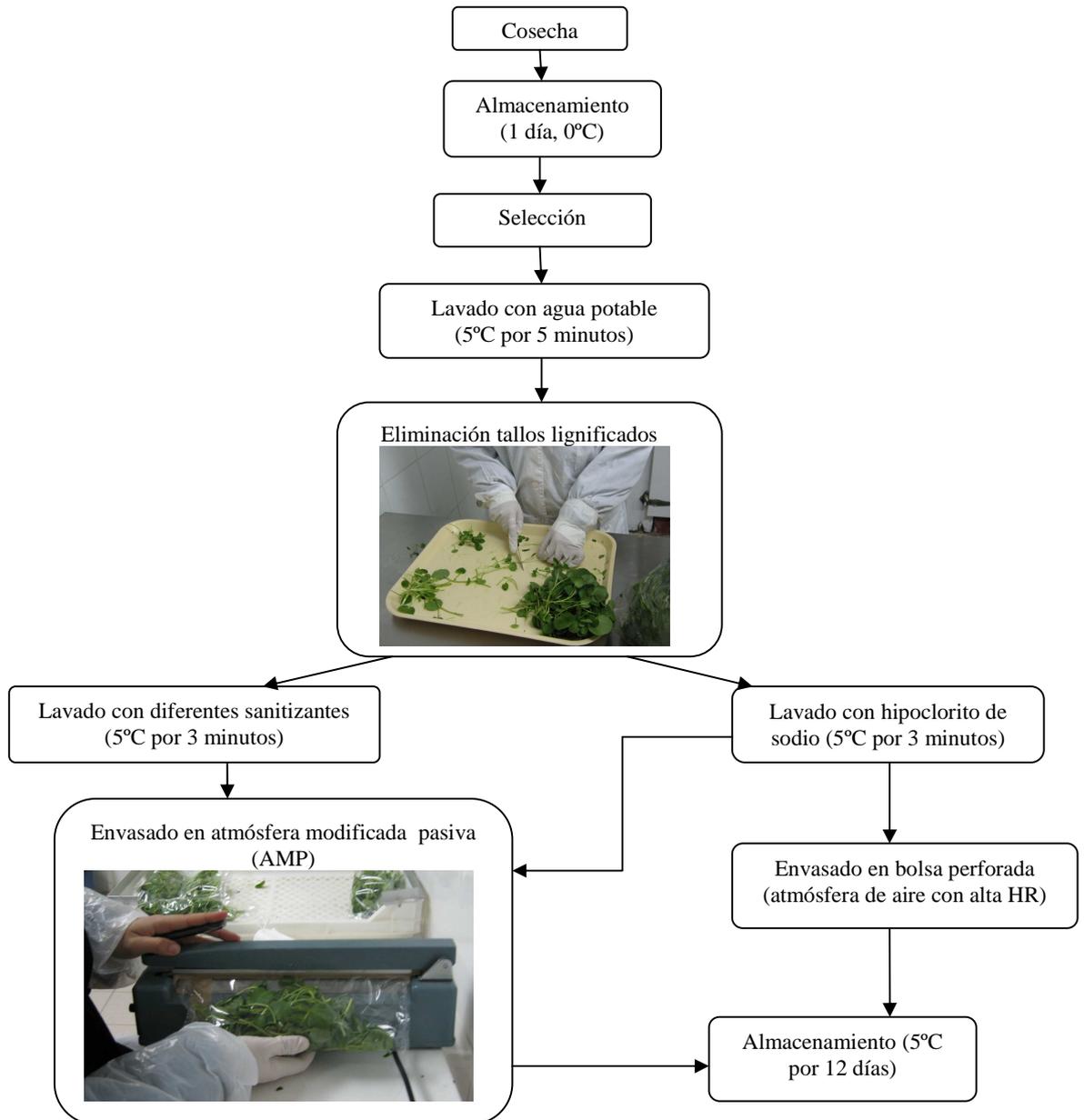


Figura 1. Diagrama de flujo para el procesamiento de hojas de berros.

Parámetros medidos

Se realizaron cuatro mediciones cada 2 ó 3 días en ambas experiencias para los siguientes parámetros:

- 1- **Tasa respiratoria:** se determinó mediante un método estático. Se colocaron 50 g de muestra de cada tratamiento en recipientes de vidrio de 1 L, los cuales se cerraron herméticamente. Los frascos estaban provistos de un septum de silicona en su tapa, a través del cual se tomaron muestras gaseosas de 10 mL, con una jeringa de plástico tras 1 hora de cierre. La composición del espacio de cabeza se monitoreó mediante el uso de un cromatógrafo de gases (CG) Hewlett Packard 5890 Serie II. La tasa respiratoria se expresó como la producción de CO_2 ($\text{mg kg}^{-1} \text{h}^{-1}$).



Figura 2. Medición de la tasa respiratoria.

- 2- **Atmósfera modificada pasiva (AMP):** se evaluó la evolución de la concentración de O_2 y CO_2 al interior de las bolsas con y sin perforaciones. Se tomaron muestras gaseosas de 10 mL con una jeringa de plástico. La medición de los gases presentes en la bolsa fueron cuantificados de la misma forma descrita en la tasa respiratoria anteriormente. Los valores fueron expresados como porcentaje de O_2 y CO_2 .



Figura 3. Medición atmósfera modificada.

- 3- **Color:** el color de las hojas se midió con un colorímetro compacto triestímulo Kónica Minolta Chroma Meter CR 300, con un iluminante D₆₅ y un ángulo observador de 0°C, previamente calibrado con estándares de color utilizando el sistema CIE Lab (McGuire, 1992). Los valores de los parámetros se expresaron como luminosidad (L), croma (C) y matiz (Hue), los cuales fueron calculados a partir de las siguientes fórmulas: $Hue = \arctan(b^*/a^*)$ y $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ (McGuire, 1992). La luminosidad (L), va desde 0 (negro) a 100 (blanco); el croma representa la saturación del color, que varía de un color apagado (valor bajo) a un color vivo (valor alto); el valor de Hue se define como una rueda de color, de rojo-púrpura en un ángulo de 0°, amarillo a 90°, color verde azulado a 180° y azul a 270° (Koukounaras *et al.*, 2007). El color se midió en 10 hojas por bolsa, en la cara adaxial de las hojas y siempre apoyando éstas sobre una superficie negra para evitar interferencias de color.



Figura 4. Medición de color.

Se elaboró una escala de color para medir el grado de amarillamiento (Figura 5). La escala fue adaptada de Koukounaras *et al.* (2007), quienes la utilizaron en rúcula. La escala va del 5 al 1 (5 = verde oscuro, 4 = verde claro, 3 = verde amarillento, 2 = amarillo verdoso, 1 = amarillo). Se midió el color de 3 hojas representativas y se obtuvo un promedio. Cuando las hojas se encontraron bajo la puntuación 3, se determinó que la calidad no era aceptable para el consumidor.

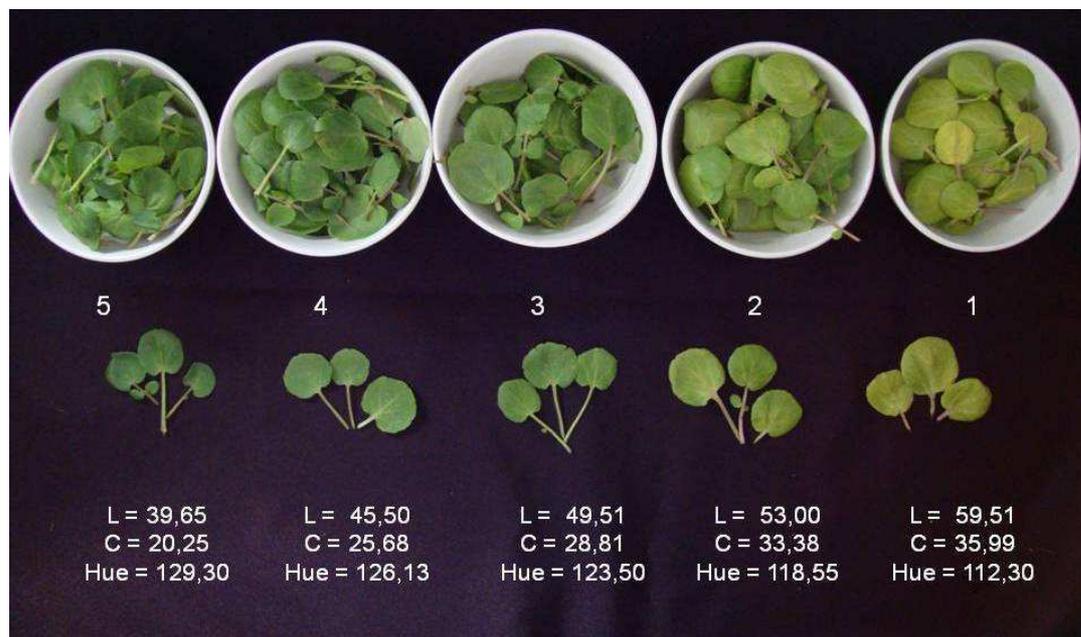


Figura 5. Escala de color para berros.

- 4- **Análisis microbiológico:** Se realizaron recuentos de bacterias aerobias mesófilas y enterobacterias, en ambas experiencias y de lactobacillus, bacterias psicrofílicas, hongos y levaduras durante el ensayo 2. Se tomaron tres muestras por tratamiento, de 10 g cada una, obtenidas de bolsas independientes. Adicionalmente el día del procesamiento se tomaron tres muestras de la materia prima sin procesar. Los medios de cultivos, temperaturas y tiempo de incubación utilizados se detallan en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Condiciones de incubación de los diferentes microorganismos analizados.

Microorganismos	Medio de cultivo ¹	Tiempo de incubación	Temperatura (°C)
Aerobios mesófilos (RAM)	Plate Count Agar (PCA)	48 horas	37
Bacterias psicrofílicas	Plate Count Agar (PCA)	7 días	5
Enterobacterias	Eosin metil Blue (EMB)	48 horas	37
Hongos y levaduras	Agar Papa Dextrosa (PD)*	5 días	22
Lactobacillus	MRS**	3 días	37

¹ Medios de cultivo (marca MERCK)

*Medio acidificado con ácido láctico para llevar su pH a 3,5.

** Incubado en cámara anaeróbica.

Los recuentos microbiológicos se expresaron como el log de la unidad formadora de colonia por g ($\log \text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$).

- 5- **Determinación calidad sensorial:** se utilizó el método de análisis descriptivo-cuantitativo con un panel entrenado formado por 12 evaluadores, se ocupó una pauta no estructurada de 0 a 15 cm, donde el evaluador debió expresar su apreciación de la intensidad de un atributo, marcando sobre una línea comprendida entre ambos extremos. Se evaluó apariencia, intensidad de color, turgencia y presencia de sabores extraños. Las muestras se entregaron randomizadas en pocillos de color blanco identificado con un código de tres dígitos. La pauta de evaluación se describe en el Anexo I. Los resultados se expresaron de acuerdo a Araya (2007) (Anexo II).

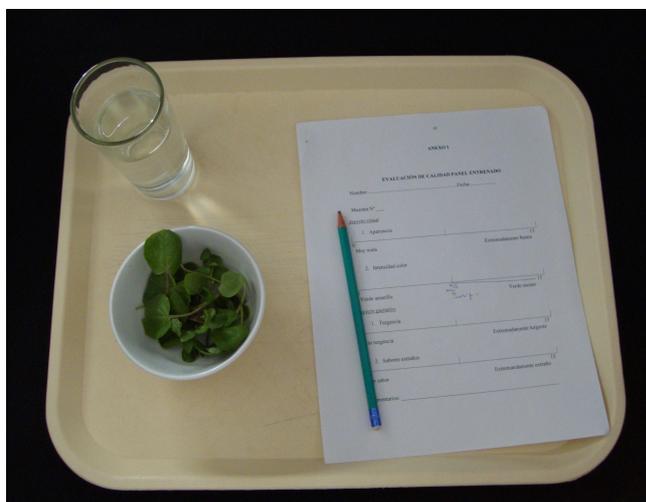


Figura 6. Bandeja entregada a cada evaluador

Diseño Experimental y análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente al azar con ocho tratamientos y tres repeticiones para el primer ensayo. En el caso del segundo ensayo se realizaron cuatro tratamientos con tres repeticiones. La unidad experimental fue la bolsa de 50 g de hojas de berros.

Los datos obtenidos se evaluaron con un análisis de varianza (ANDEVA), con un nivel de confianza del 95%, y al existir diferencias significativas entre tratamientos, se aplicó la prueba de comparaciones de Tukey.

Todos los resultados de las determinaciones se analizaron estadísticamente mediante el programa de software estadístico Minitab Release 13.32.

Diseño de un envase para hojas de berros

Con el propósito de diseñar un envase adecuado para prolongar la vida útil de las hojas de berros se aplicó un modelo matemático que permitió calcular la permeabilidad de la bolsa utilizada. Los cálculos se realizaron siguiendo el modelo planteado por Artés (1976, citado por Escalona, 2003).

Teniendo en cuenta la tasa respiratoria expresada en CO₂ emitido, la concentración de CO₂ esperada al interior del envase, la superficie conocida del envase y la masa del material vegetal utilizado, se aplicó la siguiente fórmula para calcular la permeabilidad al CO₂ que debiera tener la bolsa a utilizar:

$$RCO_2 \times M = S \times z \times CO_{2env} \times 1/24$$

$$z = \frac{RCO_2 \times M \times 24}{S \times CO_{2env}} \quad (1)$$

En donde:

RCO₂: actividad respiratoria CO₂ producido [mL/kg h]

M: masa del producto [kg]

S: superficie total del envase [m²]

CO_{2env}: concentración de CO₂ en el interior del envase [%]

1/24: conversión de horas a días [d/h]

z: permeabilidad al CO₂ de la película plástica [mL m⁻² d⁻¹]

Teniendo en cuenta la tasa respiratoria expresada en O₂ emitido, la concentración de O₂ esperada al interior del envase, la superficie conocida del envase y la masa del material vegetal utilizado, se aplicó la siguiente fórmula para calcular la permeabilidad al O₂ que debiera tener la bolsa a utilizar:

$$RO_2 \times M = S \times y \times (0,21 - O_{2env}) \times 1/24$$

$$y = \frac{RO_2 \times M \times 24}{S \times (0,21 - O_{2env})} \quad (2)$$

En donde:

RO_2 : actividad respiratoria O_2 consumido [mL/kg h]

M: masa del producto [kg]

S: superficie total del envase [m^2]

0,21: concentración de O_2 atmosférico [%]

O_{2env} : concentración de O_2 en el interior del envase [%]

1/24: conversión de horas a días [d/h]

y: permeabilidad al O_2 de la película plástica [$mL m^{-2} d^{-1}$]

De acuerdo a Kader (2002) el berro es una hortaliza que está clasificada de acuerdo a su tasa respiratoria como “muy alta”, es decir, entre 50 a 60 $mg CO_2 kg^{-1} h^{-1}$ a 5 °C.

Existe poca información sobre la conservación de berros bajo atmósfera modificada (AM). Algunas hortalizas de hoja como el perejil, espinaca y cilantro requieren concentraciones de O_2 de 5 a 8 % y de CO_2 de 5 a 10 % (Kader, 2002).

Para los cálculos de permeabilidad se utilizó una tasa respiratoria de 60 $mg CO_2 kg^{-1} h^{-1}$. En este modelo se asumió un cociente respiratorio (CR) o relación entre el CO_2 emitido y el O_2 consumido en la respiración de hojas de berros igual a la unidad. Se consideró como una concentración adecuada para mantener la calidad de las hojas de berros un 5% de O_2 y un 5% de CO_2 .

Para convertir los mg CO_2 a mL se dividieron los mg por un factor que varía según la temperatura utilizada, como se indica en el Cuadro 4:

Cuadro 4. Factores de conversión de mg y mL de CO_2 según temperatura.

Temperatura (°C)	Factor ($mg mL^{-1} CO_2$)
0	1,96
5	1,94
10	1,90
20	1,84

Fuente: Kader (2002); Silveira (2009).

Se confeccionaron bolsas de 28 x 13 cm ($0,0364 m^2$) para una cantidad de 50 g de hojas de berros por bolsa

Cálculo de permeabilidad:

- Tasa respiratoria: 60 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ (30,92 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹)
60 mg O₂ kg⁻¹ h⁻¹ (30,92 mL O₂ kg⁻¹ h⁻¹)
- Concentración esperada CO₂: 5%
- Concentración esperada O₂: 5%
- Masa: 50 g
- Superficie envase: 0,0364 m²

a) Permeabilidad al CO₂:

Sustituyendo los datos en la fórmula (1) se obtiene:

$$z = \frac{30,92 \text{ [mL/kg h]} \times 0,05 \text{ [kg]} \times 24 \text{ [h/d]}}{0,0364 \text{ [m}^2\text{]} \times 0,05}$$

$$z = 20.386 \text{ mL m}^{-2} \text{ d}^{-1} \text{ CO}_2$$

b) Permeabilidad al O₂:

Sustituyendo los datos en la fórmula (2) se obtiene:

$$y = \frac{30,92 \text{ [mL/kg h]} \times 0,05 \text{ [kg]} \times 24 \text{ [h/d]}}{0,0364 \text{ [m}^2\text{]} \times (0,21 - 0,05)}$$

$$y = 6.370 \text{ mL m}^{-2} \text{ d}^{-1} \text{ O}_2$$

De acuerdo a estos cálculos, se eligió la bolsa plástica modelo PD-961EZ, con una permeabilidad de 7.000 mL m⁻² d⁻¹ para O₂ y de 21.000 mL m⁻² d⁻¹ para CO₂, ya que se encuentra en el rango de permeabilidad deseada para el envase de hojas de berros.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayo 1

1.1 Tasa respiratoria

Todos los tratamientos disminuyeron su tasa respiratoria a lo largo del período de almacenamiento, llegando a un equilibrio después de 8 días en un rango de 45 a 65 $\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Figura 7). Todos los tratamientos mostraron diferencias significativas en el tiempo entre el día 0 (medición después de 6 horas del procesamiento) y el resto de los días de almacenamiento (Apéndice I, Cuadro 1).

La tasa respiratoria mostró diferencias significativas entre los diferentes tratamientos evaluados al inicio del ensayo (días 0 y 6) (Apéndice I, Cuadro 1). Inmediatamente después del proceso la tasa respiratoria se encontró en un rango de 88 a 135 $\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, siendo más alta en los tratamientos con APA y CSA, los que tuvieron una tasa respiratoria promedio de 130 y 125,1 $\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, respectivamente. La tasa respiratoria más baja la alcanzó el tratamiento realizado con DC (10 mg/L) con 88,9 $\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

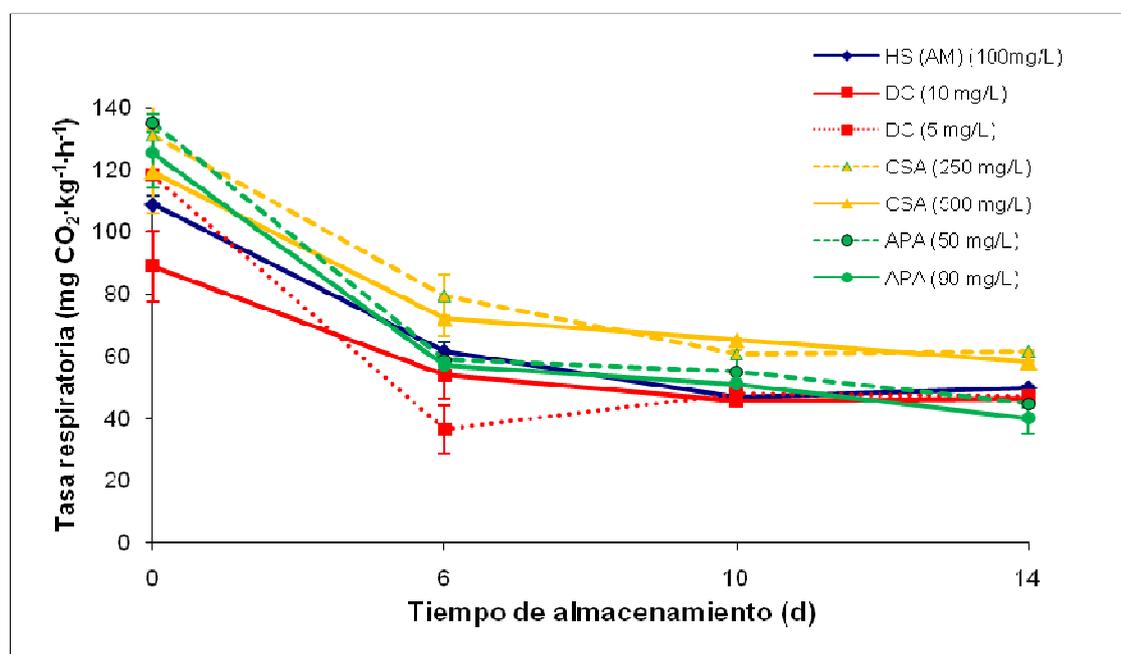


Figura 7. Tasa respiratoria ($\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) de hojas de berros tratadas con diferentes sanitizantes conservados a 5 °C. Los valores son la media \pm ES (n=3).

En el transcurso del almacenamiento la tasa respiratoria tuvo un descenso y los berros tratados con APA tuvieron una reducción en promedio de un 66% entre el primer y el último día de almacenamiento. Ésta fue la reducción más alta de los diferentes tratamientos evaluados, pues el resto de éstos disminuyó entre un 47 y un 60%.

En el día 14 no se observaron diferencias significativas, sin embargo los tratamientos que culminaron con la menor tasa respiratoria fueron los realizados con APA con 40,1 y 44,8 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ para las dosis de 90 y 50 mg/L, respectivamente. Los tratamientos que terminaron con una tasa respiratoria mayor fueron los realizados con CSA con 61,6 y 58,2 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ para las dosis de 250 y 500 mg/L, respectivamente.

Los altos valores obtenidos en el día 0, podrían ser una consecuencia de la aplicación de los sanitizantes, los cuales causarían estrés fisiológico sobre las hojas (Martínez-Sánchez *et al.*, 2008; Allende *et al.*, 2009). Según Watada *et al.* (2005, citado por Silveira, 2009) los cambios en la actividad respiratoria entre productos enteros y MPF consisten en que ésta se ve estimulada inicialmente tras el corte, para declinar posteriormente.

1.2 Atmósfera modificada pasiva

En la Figura 8 se observan las curvas de evolución de gases al interior de la bolsa plástica PD-961EZ. También se muestra la curva de evolución de gases de la bolsa perforada (BP), la cual siempre tuvo una concentración de O₂ mayor de 19% y una concentración de CO₂ menor que un 1%, lo que demostró la condición de atmósfera de aire en todo el período de almacenamiento (estos datos no fueron sometidos a análisis estadístico).

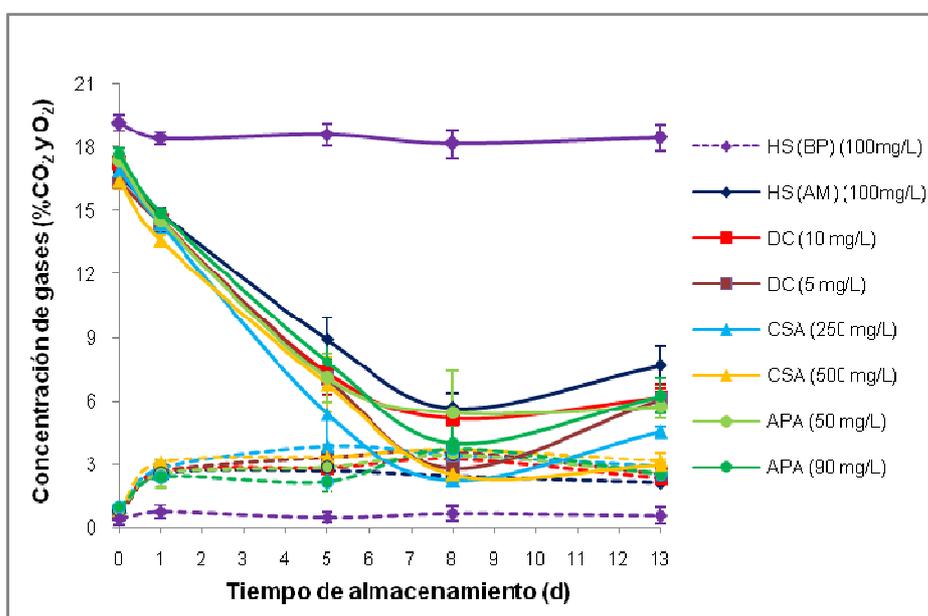


Figura 8. Evolución de la concentración (%) CO₂ (----) y O₂ (—) en las bolsas de berros tratadas con sanitizantes y conservados a 5° C. Los valores son la media ± ES (n=3).

En todos los tratamientos ocurrió un aumento de la concentración de CO₂ y una disminución en la concentración de O₂ a lo largo del período de almacenamiento. El CO₂ logra un equilibrio y se mantiene entre el 2,3 y 3,5% desde el día 5 en adelante. Sin embargo el O₂ no logra la estabilidad, disminuye su concentración hasta el día 8, para después tener un leve incremento en su concentración hasta el final del almacenamiento en todos los tratamientos evaluados.

Los dos primeros días de medición (día 0 y 1) no se obtuvieron diferencias significativas en la concentración de los gases para los diferentes tratamientos (Figura 8) (Apéndice I, Cuadro 2).

El CO₂ mostró diferencias significativas entre el día 0 y el resto de los días de almacenamiento en todos los tratamientos (Apéndice I, Cuadro 2). Todos los lavados tuvieron una concentración de CO₂ bajo el 1% el día 0, y el día 1 ya se encontraban sobre el 2,3%. En el transcurso del almacenamiento todos los tratamientos tuvieron un leve incremento en la concentración de CO₂, pero siempre se mantuvieron bajo un 4%. El sanitizante que termina con la mayor concentración de CO₂ es el CSA (500 mg/L) con un 3,1%, es más, todos los días es el que destaca por su mayor concentración con respecto al resto.

Los diferentes lavados con sanitizantes generaron una composición gaseosa similar, aunque se observaron pequeñas diferencias, posiblemente debido a las diferencias en respiración como consecuencia del procesamiento y lavado. Silveira (2009), quien trabajó con melón Galia MPF, observó niveles similares en la evolución de la concentración de gases entre lavados con desinfectantes químicos como HS, DC, APA y radiación UV.

1.3 Color

Luminosidad: se observó un aumento de los valores de L en todos los tratamientos realizados, de un rango de 44 a 47 (día 1) a un rango de 55 a 60 (día 13), esta diferencia en el tiempo demostró ser significativa en todos los tratamientos (Cuadro 5).

Se observaron diferencias significativas entre los tratamientos solamente el último día de almacenamiento (día 13), siendo los tratamientos con valores más altos, el realizado con DC (5 mg/L) con 58,1 unidades, con CSA (250 mg/L) con 59,2 unidades y el realizado con HS en BP con 60,7 unidades. En cambio los tratamientos que culminan con valores menores de L fueron el HS en AM con 55 unidades, el DC (10 mg/L) con 55,8 unidades y el APA con 56,4 unidades.

Comparando los tratamientos realizados con HS, el que se envasó en AMP presentó menores valores que el que se envasó en BP en todos los días medidos. El tratamiento almacenado en BP tuvo un aumento de un 32% y el envasado en AMP un aumento de un 23% entre el inicio y el término del almacenamiento.

Croma: este parámetro aumentó durante el tiempo de almacenamiento observándose diferencias significativas en cada tratamiento evaluado. Entre cada sanitizante evaluado se observó diferencias significativas los días 1, 5 y 13 (Cuadro 5).

Los tratamientos que culminan con un croma mayor son el DC (5 mg/L) con 45,3 unidades, el CSA (250 mg/L) con 46,2 unidades y el HS en BP con 44,5 unidades, lo cual coincide con lo comentado recientemente en el parámetro L.

Hue: en todos los tratamientos hay una disminución en el ángulo hue, existiendo diferencias significativas entre ellos los días 5 y 13 de almacenamiento. Así como también ocurre en la luminosidad y el croma, en el transcurso del tiempo sí se muestran diferencias significativas en todos los tratamientos evaluados (Cuadro 5).

Los tratamientos que obtuvieron las mayores reducciones fueron el HS en BP, llegando al día 13 a un valor de 115,8 y el CSA (250 mg/L) con un valor de 114,5. Contrario a esto, los tratamientos que obtuvieron una menor reducción fueron el HS en AMP con un valor de 120,1 el día 13 y el APA (90mg/L) con 118,5.

Al comparar los tratamientos realizados con HS, el que se envasó en AMP culmina con el valor más alto, de 120,1, generando una de las máximas diferencias con el HS en BP que termina con un hue de 115,8 (Cuadro 5).

De acuerdo a la escala de color, todos los tratamientos comienzan con la puntuación "4", ninguno alcanzó el verde oscuro, pues la materia prima venía con una menor tonalidad (Hue = 126,21) y una mayor luminosidad (L = 45,62). En el día 13 todos los tratamientos se encontraban en el valor "2" y "1", lo cual significa que la calidad no fue aceptable. En el día 8 los sanitizantes que se encontraron en la puntuación "3" fueron el HS bajo AMP, el DC (10 mg/L), y el APA, los cuales fueron los únicos con una calidad aceptable

Cuadro 5. Valores de los parámetros L, croma y hue de hojas de berros lavadas con diferentes sanitizantes a diferentes dosis, almacenadas a 5° C durante un periodo de 13 días.

Parámetro de color	Días	Tratamientos									
		HS		DC		CSA		APA			
		(100mg/L) *	(100 mg/L)	(10mg/L)	(5mg/L)	(250mg/L)	(50mg/L)	(50mg/L)	(50mg/L)	(90mg/L)	
L	1	45,86 A a ^{1/}	44,41 A a	47,61 AB a	45,04 A a	46,07 A a	45,84 A a	44,37 A a	45,15 A a	47,74 A a	
	5	48,80 A a	45,64 A a	46,76 A a	49,15 B a	49,24 B a	49,24 B a	47,40 A a	47,74 A a	52,09 B a	
	8	53,11 B a	50,65 B a	50,11 B a	51,81 B a	53,51 C a	52,79 C a	50,80 B a	50,80 B a	56,49 C ab	
	13	60,71 C c	55,06 C a	55,88 C ab	58,17 C abc	59,27 D bc	57,53 D abc	57,40 C abc	57,40 C abc	57,40 C abc	
Croma	1	33,80 A, ab	31,90 A a	35,16 A b	33,06 A, ab	34,52 A, ab	33,61 A, ab	32,67 A, ab	33,32 A, ab	35,22 A, abc	
	5	36,23 B bc	32,87 A a	34,48 A, ab	37,06 B bc	37,39 B c	36,40 B bc	35,66 B abc	35,66 B abc	40,31 B a	
	8	40,56 C a	38,94 B a	38,86 B a	40,45 C a	41,63 C a	41,17 C a	38,89 C a	38,89 C a	43,50 C ab	
	13	44,53 D b	41,21 B a	43,59 C ab	45,37 D b	46,25 D b	43,76 D ab	43,81 D ab	43,81 D ab	43,81 D ab	
Hue	1	125,73 C a	126,48 C a	124,34 C a	125,56 C a	124,95 C a	125,53 D a	126,29 C a	125,80 C a	124,25 C ab	
	5	124,08 C ab	125,91 C b	124,99 BC ab	123,43 BC ab	122,92 C a	123,30 C ab	124,31 BC ab	124,25 C ab	121,60 B a	
	8	121,66 B a	122,50 B a	122,53 B a	121,55 B a	120,26 B a	120,63 B a	122,39 B a	122,39 B a	118,59 A cd	
	13	115,88 B ab	120,19 A d	118,45 A bcd	116,29 A, abc	114,56 A a	116,72 A, abc	117,62 A, bcd	117,62 A, bcd	117,62 A, bcd	

^{1/} Letras diferentes indican diferencias significativas (p < 0,05). Letras mayúsculas comparan verticalmente y las letras minúsculas comparan horizontalmente.

* Almacenamiento en bolsa perforada, el resto de los tratamientos almacenados en atmósfera modificada pasiva (AMP).

El color verde tendió a disminuir de la misma manera en todas las hojas de berros sometidas a los diferentes tratamientos, a excepción del tratamiento envasado en BP, similar a lo experimentado por Martínez-Sánchez *et al.* (2006) en rúcula lavada con distintos sanitizantes.

Un aumento del valor L en tejidos fotosintéticos durante el almacenamiento se relaciona con un producto más claro (Castañer *et al.*, 1999). La reducción en el parámetro hue corresponde al decrecimiento de la intensidad del verdor y al incremento del amarillo (Yamauchi y Watada, 1998; Gonçalves *et al.*, 2009). Koukounaras *et al.* (2007) observaron en hojas de rúcula almacenada a 10° C por 10 días un aumento significativo del amarillamiento (medido subjetivamente por evaluadores mediante una escala), un aumento del parámetro L y croma, así como también una disminución del parámetro hue y del contenido de clorofilas. Loaiza y Cantwell (1997) observaron en cilantro almacenado a 5° C por 14 días, una disminución del verdor y del parámetro hue, por el contrario los valores de L y croma se incrementaron.

En esta experiencia los tratamientos realizados con CSA (250 mg/L) y con HS (100mg/L) en BP son los que mostraron un producto más claro (mayor L) y más amarillo (menor hue). Por el contrario los tratamientos mejor evaluados fueron el HS en AMP, el DC (10 mg/L) y el APA (90 mg/L), quienes obtuvieron menores valores de L y mayores valores de hue.

Se observaron diferencias en cuanto al tipo de envasado; un envasado en AMP preserva de mejor manera el color de los berros que un envasado en donde no se modifique la atmósfera, lo que concuerda con Yamauchi y Watada (1998) quienes comprobaron que una atmósfera enriquecida con CO₂ retrasa el amarillamiento. Según Oms-Oliu *et al.* (2009) atmósferas bajas en O₂ o moderadamente enriquecidas en CO₂, combinadas con bajas temperaturas de almacenamiento y humedad relativa alta, retrasan el amarillamiento en vegetales de hoja. Estas afirmaciones contrastan con lo observado por Martínez-Sánchez *et al.* (2006), quienes observaron que el color y la calidad visual en rúcula lavada con diferentes sanitizantes se vio más afectada en las muestras almacenadas en AMP que en las muestras almacenadas bajo aire.

La degradación de la clorofila en postcosecha es un problema serio para los vegetales de hoja y el amarillamiento es un síntoma común de su proceso de senescencia, lo cual se asocia a una pérdida de calidad de estos vegetales (Kim *et al.*, 2007; Koukounaras *et al.*, 2007).

1.4 Microbiología

En la Figura 9 se observa el conteo y la evolución en el tiempo de aerobios mesófilos (A) y enterobacterias (B). Los tratamientos graficados con línea continua fueron las dosis que lograron una mayor baja en la carga microbiana y por esta razón fueron las dosis que se escogieron para la experiencia 2.

Aerobios mesófilos: la materia prima tuvo recuentos de aerobios mesófilos de $5,6 \log \text{ ufc g}^{-1}$. El tratamiento con HS bajo AMP fue el mejor sanitizante evaluado, con una carga microbiana inicial de $4,32 \log \text{ ufc g}^{-1}$, llegando al término del período de almacenamiento con 5 unidades logarítmicas. El HS bajo AMP tuvo menores recuentos que el HS en BP en todos los días medidos. Los sanitizantes que no lograron grandes reducciones fueron el CSA y el APA que comenzaron con una carga microbiana alrededor de 4,8 a 5,5 unidades logarítmicas (Figura 9A).

Al término del almacenamiento (día 13) los tratamientos que obtuvieron los conteos más bajos fueron los efectuados con HS, en ambos envasados, y el DC (10 mg/L), con recuentos entre 5 y 5,3 unidades logarítmicas. Por el contrario los sanitizantes que lograron los recuentos más altos, fueron el CSA y el APA llegando a 7,5 unidades logarítmicas (Figura 9A).

El sanitizante con mayores recuentos de aerobios mesófilos en todo el período de almacenamiento fue el CSA y, como se comentó en el ítem 1.1, fue el sanitizante que produjo la tasa respiratoria más elevada. Según Kader (2002) la velocidad de deterioro (percecibilidad) de las frutas y hortalizas generalmente es proporcional a su velocidad de respiración. Según Varoquax *et al.* (1996), el crecimiento microbiano elevado determina un aumento en la tasa respiratoria de los productos MPF.

De acuerdo a las normas microbiológicas del Ministerio de Salud de Chile, para frutas y otros vegetales comestibles pre-elaborados, listos para el consumo, el límite máximo permitido para aerobios mesófilos es de $5,69 \log \text{ ufc g}^{-1}$ (Anexo III), y los berros provenientes del campo ya vienen con un recuento de aerobios mesófilos de $5,6 \log \text{ ufc g}^{-1}$. Al aplicar los diferentes sanitizantes se obtuvo una reducción en todos los tratamientos, logrando los tratamientos con HS y DC (5 mg/L) estar en el rango de “aceptable”, el resto de los tratamientos se ubicaron en el rango de “medianamente aceptable”. Al término del almacenamiento los únicos tratamientos que lograron estar en el rango de “medianamente aceptable” fueron los realizados con HS en AMP y DC (10 mg/L), el resto de los sanitizantes se ubicó en la categoría de “rechazable”.

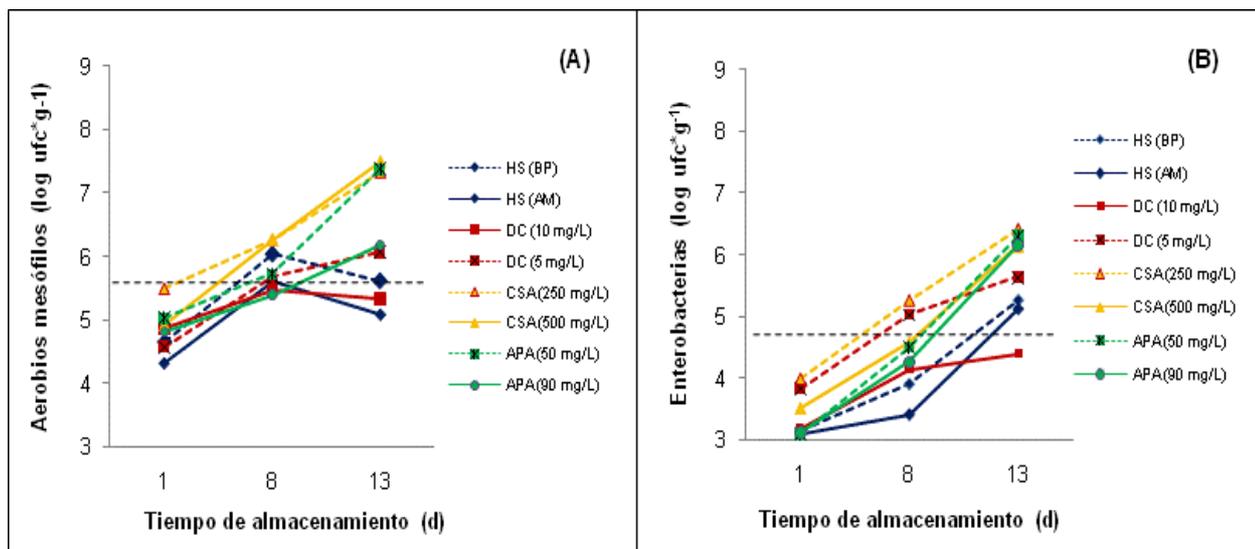


Figura 9. Efecto de sanitizantes a diferentes dosis sobre el recuento de aerobios mesófilos (A) y enterobacterias (B) en hojas de berros conservados a 5° C por 13 días. (Línea punteada grafica el límite máximo permitido por la norma chilena).

Enterobacterias: la materia prima tuvo recuentos de enterobacterias de 4,2 log ufc g⁻¹. El día 1 el HS, el APA y el DC (10 mg/L) tuvieron reducciones de 1 unidad logarítmica, y comenzaron con recuentos de 3,1 y 3,2 log ufc g⁻¹. Por el contrario el CSA y el DC (5 mg/L) obtuvieron recuentos mayores que van desde 3,5 a 3,9 log ufc g⁻¹ (Figura 9B).

Los lavados realizados con HS y DC (10 mg/L) lograron recuentos bajos durante la conservación, obteniendo valores de 3,5 a 4,1 el día 8 y de 4,4 a 5,2 al término del período de almacenamiento. El CSA, el APA y el DC (5 mg/L) fueron los sanitizantes que obtuvieron mayores recuentos al término del almacenamiento con valores entre 6,1 y 6,4 unidades logarítmicas. El HS bajo AMP tuvo menores recuentos que el HS en BP en todos los días medidos. Esto confirma que el envasado en AM mantiene de mejor manera la calidad microbiológica que el envasado en BP (Figura 9B).

De acuerdo a las normas microbiológicas del Ministerio de Salud de Chile, para frutas y otros vegetales comestibles pre-elaborados, listos para el consumo, el límite máximo permitido para enterobacterias es de 4,69 ufc g⁻¹ (Anexo III) y la materia prima tenía un recuento de 4,2 log ufc g⁻¹. Al aplicar los sanitizantes los recuentos disminuyeron y todos los tratamientos evaluados se ubicaron en la categoría de “aceptable”, a excepción del realizado con CSA (250mg/L) que se ubicó en el rango de “medianamente aceptable”. El día 8 los únicos tratamientos que se ubicaron en el rango de “rechazable” fueron el CSA (250 mg/L) y el DC (5 mg/L); el HS bajo AMP fue el único tratamiento que mantuvo el rango de “aceptable”, estando el resto de los tratamientos en el rango de “medianamente aceptable”. Al término del período de almacenamiento el único tratamiento que logró estar

en el rango de “medianamente aceptable”, fue el DC (10 mg/L), pues el resto de los tratamientos se ubicaron en la categoría de “rechazable”.

1.5 Evaluación Sensorial

En este estudio, la vida útil de las hojas de berros se determinó en función de las características visuales, apariencia e intensidad de color, de acuerdo a la aceptabilidad del producto desde el punto de vista del consumidor (puntuación media sobre 7,5) (adaptado de Allende *et al.*, 2004 y Martínez-Sánchez, 2008)

Apariencia: En todos los tratamientos realizados existe una disminución de este atributo y se observaron diferencias significativas entre los tratamientos solamente el último día de almacenamiento. El tiempo de conservación afectó este atributo en donde se observaron diferencias significativas en cada tratamiento evaluado (Apéndice I, Cuadro 3).

En el primer día todos los tratamientos se encuentran en el rango de “Bueno” y “Muy bueno” (Anexo II), siendo los tratamientos con CSA y APA los mejor evaluados, con valores de 11,4 a 12,9. Transcurridos 5 días todos los tratamientos siguen en estos 2 rangos, sin embargo sólo los efectuados con APA (90 mg/L) y con HS en AMP logran una apariencia “muy buena”, con 12,4 y 12 unidades respectivamente. Al día 8, todos los tratamientos sufren una caída en su calidad estando en un rango de “más que regular”, a excepción del HS en AMP que mantiene una apariencia “buena” con 9,8 unidades. En el último día de almacenamiento los tratamientos realizados con HS almacenado en AMP y el CSA (500 mg/L) son los únicos que mantienen la condición de “más que regular”. El sanitizante peor evaluado en todo el período de almacenaje fue el DC en ambas dosis aplicadas, siendo el único sanitizante en la condición de “deficiente” el último día de almacenamiento.

Hasta el día 8 todos los tratamientos se encuentran sobre el límite de aceptabilidad, llegando al día 13 el DC, el CSA (250 mg/L) y el APA bajo este límite.

Intensidad de color: En el primer día todos los tratamientos se encontraron en el rango de “bueno” y “muy bueno” (Anexo II), siendo el CSA, el APA (90 mg/L) y el DC (10 mg/L) los que se encuentran en el mejor rango. El único que mantiene una intensidad de color “muy buena” en el día 5 es el APA (90 mg/L) con 11,3 unidades, y el resto de los sanitizantes se encontraron el rango de “bueno”. El día 8, todos los tratamientos se encontraron en el rango de “bueno”, a excepción del DC que se ubicó en el rango de “suficiente”. El día 13 el único sanitizante que se encuentra sobre el límite de aceptabilidad fue el CSA (500 mg/L), el resto se ubica bajo este límite. El DC fue el sanitizante peor evaluado, en todos los días fue el que obtuvo la puntuación más baja, finalizando el último día de almacenamiento con 2,5 y 1,7 unidades para las dosis de 10 mg/L y 5 mg/L respectivamente, ubicándose en el rango de “insuficiente” (Anexo II).

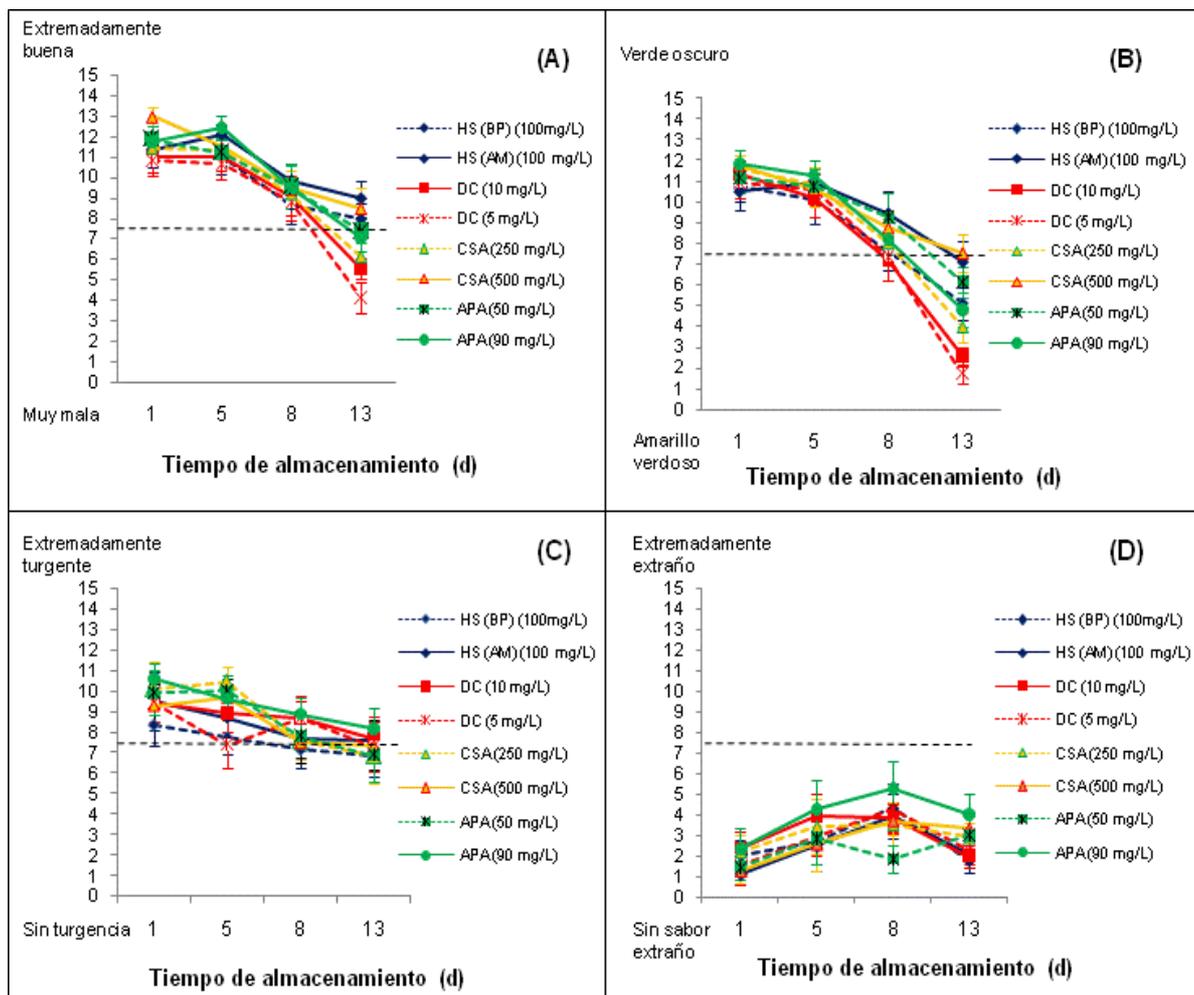


Figura 10. Efecto de diferentes sanitizantes en los atributos sensoriales medidos: Apariencia (A), Intensidad de Color (B), Turgencia (C) y Sabores extraños (D). Los valores son la media \pm ES (n=14). (Línea punteada grafica el límite de aceptabilidad establecido).

Estos datos concuerdan con lo medido objetivamente por colorímetro, en donde se vio que los tratamientos con DC fueron unos de los que obtuvieron un mayor L y un menor hue (apartado 1.3). No obstante, el tratamiento efectuado con HS almacenado en BP fue uno de los que presentó los valores más altos de L y más bajos de hue, lo cual hace pensar que sería el peor evaluado sensorialmente, sin embargo culmina la evaluación sensorial por sobre 4 tratamientos.

El aspecto de un alimento es una consideración primordial que los consumidores toman en cuenta. El color tiene un papel clave en la elección de los alimentos, en su preferencia y aceptabilidad (Rico *et al.*, 2007). Si un producto muestra una calidad visual no aceptable, un potencial consumidor nunca experimentará el resto de atributos principales como el sabor, textura y olor, ya que no comprará ni consumirá dicho producto (Martínez-Sánchez, 2008).

Turgencia: este atributo disminuyó en el tiempo en forma similar en todos los sanitizantes evaluados sin diferencias significativas entre ellos (Figura 12 C). Se obtuvieron diferencias significativas a lo largo del tiempo sólo en el tratamiento realizado con CSA (250 mg/L). El tratamiento que presentó hojas con una menor turgencia en todo el período de almacenamiento fue el efectuado con HS almacenado en BP, el cual comenzó con 8,3 unidades y culminó con 6,8 unidades. El tratamiento que presentó hojas más turgentes fue el APA (90 mg/L) que comenzó con 10,6 unidades y terminó con 8,2 el día 13 (Figura 10 C).

Presencia de sabores extraños: este atributo aumentó en el tiempo, siendo el APA el tratamiento con mayores puntuaciones. A lo largo de las distintas evaluaciones, los panelistas encontraban un aumento progresivo del sabor picante del berro, lo que puede deberse a un efecto del tiempo de conservación y no a los tratamientos evaluados.

Las evaluaciones de apariencia e intensidad de color permiten concluir que los berros pueden durar 7 u 8 días almacenados a 5° C, pues si se almacenan por 13 días, aunque se encuentren en buen estado microbiológico, el consumidor no los va a preferir al momento de su compra debido a detrimentos en su calidad visual.

Cabe destacar que el HS en AMP tuvo una mejor evaluación que el HS envasado en BP en apariencia, intensidad de color y turgencia; demostrando que un envasado en AMP preserva de mejor manera los atributos de los berros.

De acuerdo a los parámetros microbiológicos y sensoriales discutidos recientemente en los puntos 1.4 y 1.5 se eligieron las mejores dosis de cada sanitizante evaluado donde posteriormente se realizó una segunda experiencia.

El tratamiento efectuado con HS que se seleccionó, fue el envasado en AMP, que siempre demostró estar por sobre la calidad visual que el envasado en bolsa perforada y microbiológicamente siempre mantuvo una menor carga microbiana.

Los tratamientos realizados con DC fueron los peor evaluados sensorialmente con respecto a los otros sanitizantes; sin embargo, la dosis de 10 mg/L tuvo mayores reducciones microbiológicas y una mejor conservación en el tiempo con respecto a la dosis de 5 mg /L (Figura 9).

Se eligió la dosis de 500 mg/L de CSA, pues tuvo mejores reducciones en enterobacterias y en aerobios mesófilos que la dosis de 250 mg/L (Figura 9) y sensorialmente fue mejor evaluada en relación a la dosis de 250 mg/L e incluso con respecto a los demás sanitizantes (Figura 10).

Los tratamientos realizados con APA mantuvieron recuentos de aerobios mesófilos y enterobacterias muy parecidos en ambas dosis. Se escogió la dosis de 90 mg/L, pues fue mejor evaluada sensorialmente hasta el día ocho con respecto a la otra dosis de APA.

Ensayo 2

2.1 Tasa respiratoria

Todos los tratamientos disminuyeron su tasa respiratoria a lo largo del período de almacenamiento, llegando a un equilibrio después de 5 días en un rango de 50 a 70 mg CO₂ kg⁻¹h⁻¹ (Figura 11). Todos los tratamientos, a excepción del CSA, mostraron diferencias significativas en el tiempo entre el día 0 (medición después de 6 horas del procesamiento) y el resto de los días de almacenamiento (Apéndice II, Cuadro 1).

La tasa respiratoria de los cuatro sanitizantes evaluados mostró diferencias significativas los días 4 y 11 de medición (Apéndice II, Cuadro 1). Inmediatamente después del proceso la tasa respiratoria se encontró en un rango de 80 a 100 mg CO₂ kg⁻¹h⁻¹, siendo más alta en los tratamientos con HS y DC, quienes tuvieron una tasa respiratoria de 99,3 y 95,5 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ respectivamente. La tasa respiratoria más baja la alcanzó el tratamiento realizado con CSA con 80,3 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ (Figura 11) (Apéndice II, Cuadro 1).

Al igual que en la experiencia 1 los berros tratados con APA son los que tienen una mayor reducción en la tasa respiratoria entre el primer y el último día de almacenamiento, con un 49%. El resto de los tratamientos disminuye entre un 23 y un 40%.

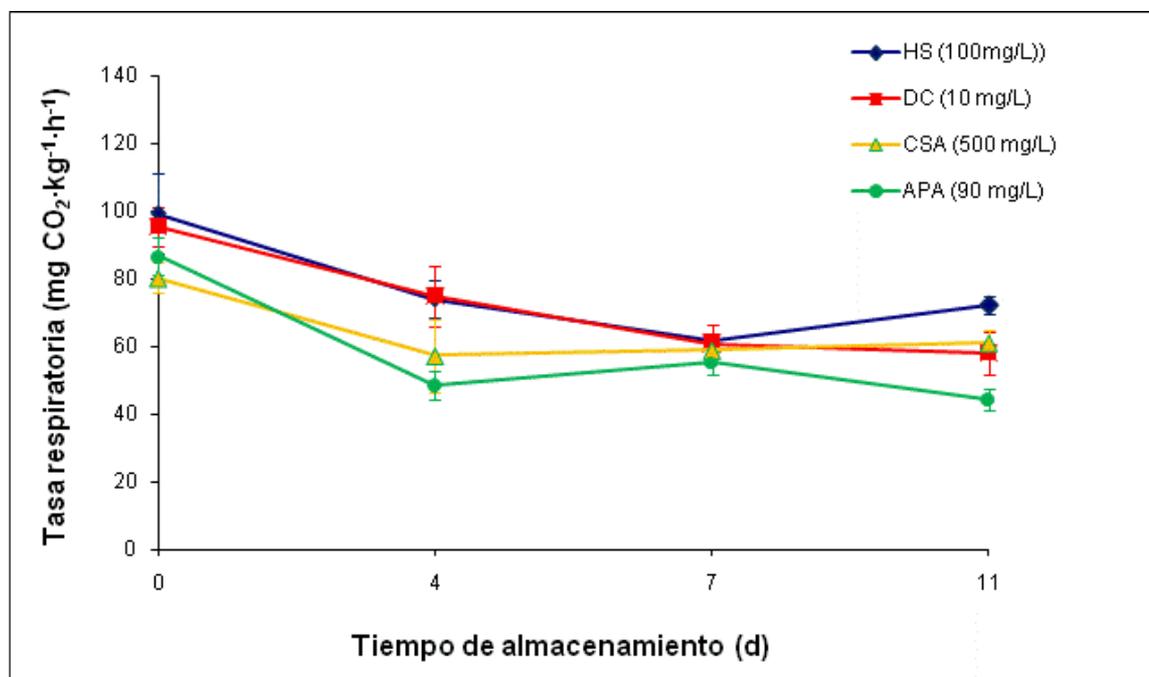


Figura 11. Tasa respiratoria (mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹) de hojas de berros tratadas con diferentes sanitizantes conservadas a 5 °C. Los valores son la media ± ES (n=3).

En el día 11 el tratamiento que culminó con la menor tasa respiratoria fue el realizado con APA con $44,1 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$. El tratamiento que termina con la tasa respiratoria mayor fue el realizado con HS con $72,2 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Los tratamientos realizados con DC y CSA terminan su período de almacenamiento con una tasa respiratoria de $60 \text{ mgCO}_2\text{kg}^{-1}\text{h}^{-1}$.

Los tratamientos alternativos al HS, mostraron niveles más bajos de CO_2 durante el período experimental. Para todos los tratamientos el valor más alto registrado fue al comienzo de la experiencia (día 0). Al igual como ocurrió en la experiencia 1 y a lo observado por Allende *et al.*, (2009) y Martínez-Sánchez *et al.* (2008), los altos valores obtenidos en el día 0 podrían ser una consecuencia de la aplicación de los sanitizantes, los cuales causarían estrés fisiológico.

A diferencia del ensayo anterior, esta experiencia mostró niveles iniciales menores en la tasa respiratoria en un rango de 80 a $100 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1}\text{h}^{-1}$, mientras que en la experiencia 1 estos valores se encontraron entre 88 a $135 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1}\text{h}^{-1}$. En el ensayo 1 la mayor tasa respiratoria la presentó el CSA y en este segundo ensayo la obtuvo el HS. La tasa respiratoria menor la obtuvieron los tratamientos realizados con APA en ambas experiencias realizadas.

El uso de APA produjo una baja en la tasa respiratoria, la cual concuerda con estudios previos realizados en zanahoria rallada por Vandekinderen *et al.* (2009b). Vandekinderen *et al.* (2008) encontraron una disminución en la tasa respiratoria de repollo blanco y zanahoria rallada utilizando ácido peroxiacético en dosis de 80 y 250 mg/L. Sin embargo no encontraron lo mismo en lechuga iceberg ni en puerros mínimamente procesados, donde los tratamientos con APA (80 y 250 mg/L) no mostraron efectos significativos en su tasa respiratoria.

Según Varoquax *et al.* (1996), el crecimiento microbiano elevado determina un aumento en la tasa respiratoria de los productos MPF. Se observó un leve crecimiento en la respiración, a partir del día 4 en los tratamientos realizados con APA y CSA, y a partir del día 7 en el tratamiento realizado con HS, consecuencia del aumento de la carga microbiana del producto, así como de los procesos de senescencia, lo cual concuerda con lo experimentado por Silveira (2009) en melón Galia MPF.

La velocidad de deterioro (percebilidad) de las frutas y hortalizas es generalmente proporcional a su velocidad de respiración (Kader, 2002). Por esta razón es muy importante disminuir la tasa respiratoria para alargar la vida útil de cualquier vegetal. En este caso los sanitizantes que logran disminuir la tasa metabólica son el APA y el CSA.

2.2 Atmósfera modificada pasiva

Los envases diseñados fueron capaces de mantener un nivel aceptable de O_2 para todos los tratamientos de hojas de berros, pues al final de la vida útil, la concentración de O_2 en las bolsas de berros fue de $3,6\% \pm 1,33$ en promedio.

Todos los lavados generaron una composición gaseosa similar, aunque se observaron pequeñas diferencias (Figura 12) (Apéndice II, Cuadro 2). La concentración de CO₂ mostró diferencias significativas en el día 8 de medición siendo el HS la concentración más baja con un 2,1% y el APA la concentración más alta con un 3,4%.

Se alcanza un equilibrio en la producción de CO₂ el día 5 de almacenamiento en donde se obtiene una concentración entre un 2,6 y un 3,3%. En cuanto a la concentración de O₂ al interior del envase, no se logra una estabilidad, y en el último día de almacenamiento algunos sanitizantes tienden al equilibrio, sin embargo otros tienden a seguir disminuyendo su concentración.

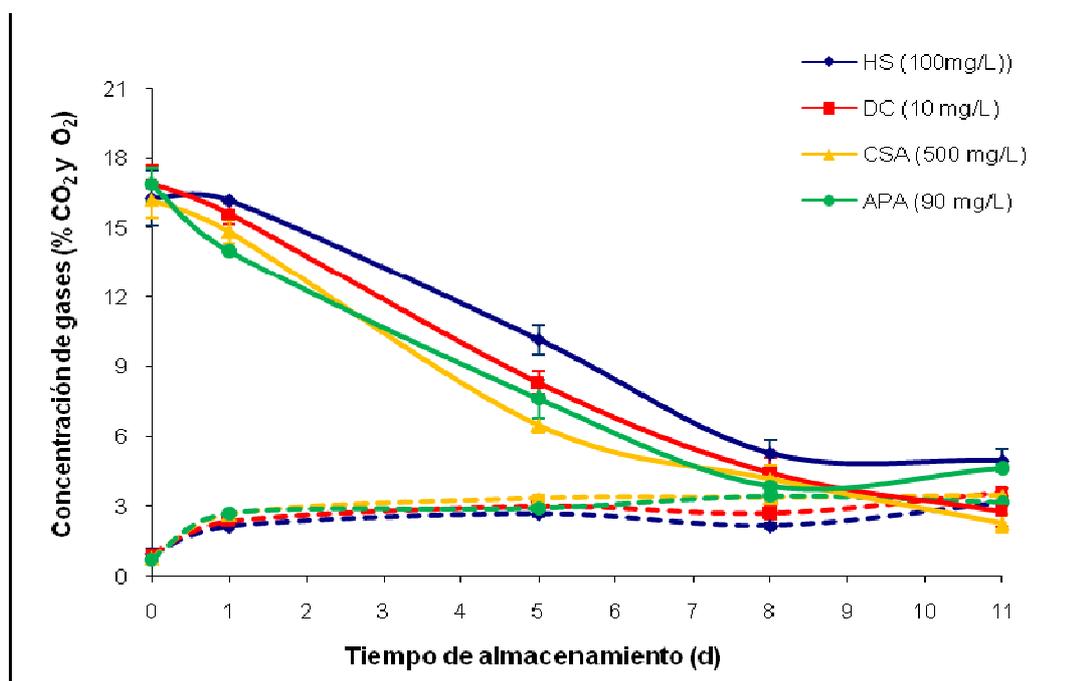


Figura 12. Evolución de la concentración (%) CO₂ (----) y O₂ (—) en las bolsas de berros tratadas con diferentes sanitizantes conservados a 5° C. Los valores son la media ± ES (n=3).

Los diferentes lavados con sanitizantes generaron una composición gaseosa similar, aunque se observaron pequeñas diferencias, debido posiblemente a las diferencias en respiración como consecuencia del procesamiento y lavado, al igual que lo experimentado por Martínez-Sánchez *et al.*, (2006) en rúcula y por Beltrán *et al.* (2005) en tiras de papas. Según Silveira (2009), trozos de melón Galia mostraron una evolución de la concentración de gases similar entre lavados con HS, DC, APA y radiación UV.

Existe escasa información sobre las concentraciones gaseosas recomendadas para berros. Algunas hortalizas de hoja como perejil, espinaca y cilantro requieren concentraciones de O₂ de 5 a 8 % y de CO₂ de 5 a 10 % (Kader, 2002).

La generación de una atmósfera modificada se debe lograr rápido y sin crear condiciones anóxicas. Debido a las limitaciones para regular una atmósfera pasivamente, se puede establecer y ajustar la atmósfera en forma activa. Aunque la modificación activa implica algunos costos adicionales, su principal ventaja es que asegura el establecimiento rápido de la atmósfera deseada (Kader, 2002).

En esta experiencia no se logró un gran aumento de la concentración de CO₂ y tardó mucho en elevar su concentración, así como también se demoró en disminuir la concentración de O₂. Debido a que no se obtuvo una modificación en la concentración de gases tempranamente, se recomendaría utilizar una AM activa en donde se logre esta modificación más rápidamente y así la AM tendría una mayor incidencia en la conservación de los berros pues, como se comentó anteriormente, los berros pueden mantener una buena calidad hasta los 7 u 8 días a 5° C.

2.3 Color

Luminosidad: en todos los tratamientos realizados existe un aumento de este parámetro y se muestran diferencias significativas los días 8 y 11 de almacenamiento. El tiempo de conservación afectó este parámetro en donde se observaron diferencias significativas en cada tratamiento evaluado (Cuadro 6, Figura 13).

Hasta el día 5 de almacenamiento los tratamientos no mostraron diferencias, pero al avanzar el período de conservación el DC fue el sanitizante que contó con los mayores valores de L; 46,6 en el día 8 y culmina con 51 el día 11. El sanitizante que obtuvo los menores valores de L en los dos últimos días medidos, fue el HS, el cual presentó un valor de 44,8 para el día 8 y 48,7 al término del almacenamiento en el día 11.

Croma: las diferentes soluciones de lavado no afectaron este parámetro que se mantuvo sin diferencias entre tratamientos. Sin embargo el tiempo de conservación afectó este parámetro en donde se observaron diferencias significativas en todos los tratamientos evaluados (Cuadro 6). En el día 1 el croma varía de 25 a 27 unidades aumentando hasta el día 11 a un rango de 34 a 37 unidades.

Hue: se observaron diferencias significativas entre los tratamientos los días 8 y 11 de almacenamiento. Todos los tratamientos redujeron el ángulo hue en el período de almacenamiento, observándose diferencias significativas en todos los tratamientos (Cuadro 6, Figura 13).

El DC es el sanitizante que termina con el menor hue (120,7) con respecto al resto. El sanitizante que obtuvo el mayor hue fue el HS con un valor de 123,2. El HS, el DC y el APA mantienen un hue similar, sin diferencias significativas, hasta el día 8 de almacenamiento teniendo una baja significativa el día 11.

Cuadro 6. Variación de color en parámetros L, croma y hue en berros tratados con diferentes sanitizantes a diferentes dosis, almacenados a 5° C durante un período de 12 días.

Parámetro de color	Días	Tratamientos			
		HS (100mg/L)	DC (10mg/L)	CSA (500mg/L)	AP (90mg/L)
L	1	44,07 A a ^{1/}	43,60 A a	44,65 A a	44,82 A a
	5	45,16 A a	45,44 B a	45,52 A a	45,43 AB a
	8	44,88 A a	46,66 B b	45,42 A ab	46,40 B b
	12	48,79 B a	51,04 C c	49,47 B ab	50,74 C bc
C	1	27,47 A a	25,59 A a	26,92 A a	26,47 A a
	5	30,73 B a	30,23 B a	31,03 B a	30,19 B a
	8	30,37 B a	32,44 B a	31,43 B a	31,33 B a
	12	34,40 C a	36,67 C a	35,19 C a	36,55 C a
Hue	1	126,18 B a	126,26 B a	126,76 C a	125,94 B a
	5	125,93 B a	126,75 B a	125,86 BC a	126,98 B a
	8	125,18 B b	126,54 B ab	124,39 AB a	126,36 B ab
	12	123,28 A b	120,71 A a	123,05 A b	121,73 A ab

^{1/} Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Letras mayúsculas comparan verticalmente y las letras minúsculas comparan horizontalmente.

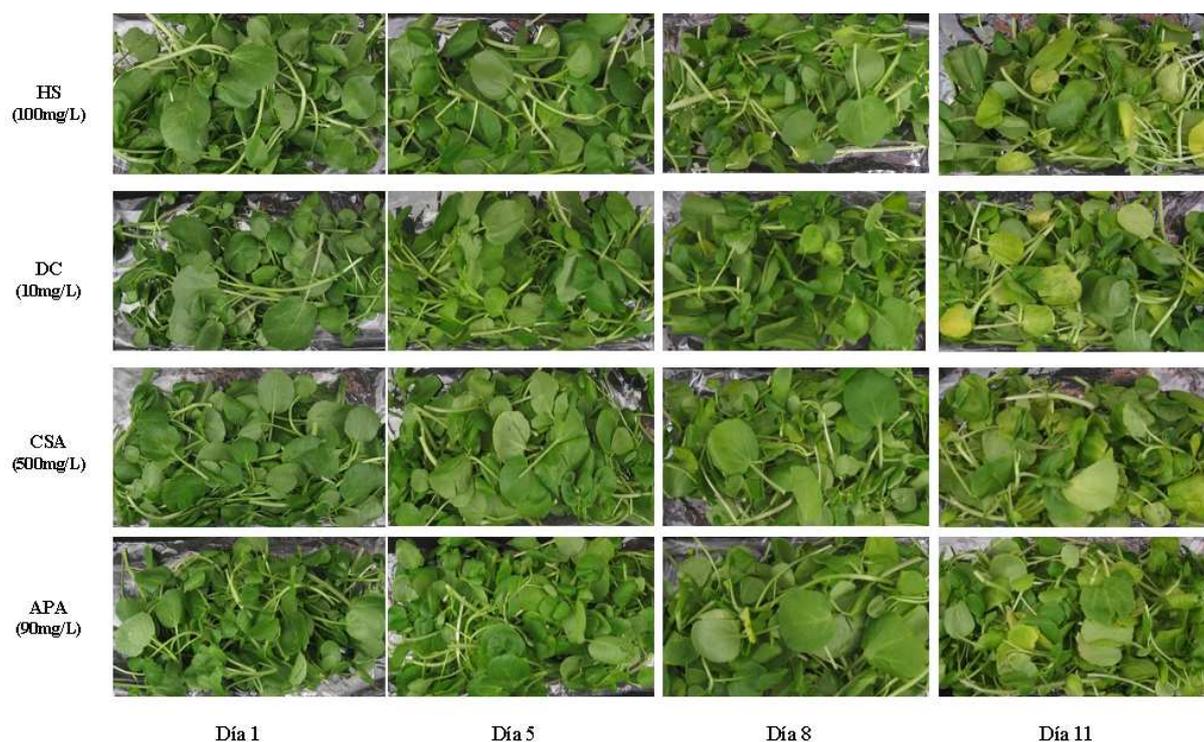


Figura 13. Variación de color en el transcurso del tiempo para los diferentes tratamientos. HS (hipoclorito de sodio), DC (dióxido de cloro), CSA (clorito de sodio acidificado), APA (ácido peroxiacético).

De acuerdo a la escala de color, todos los tratamientos comienzan con la puntuación “4”, ninguno alcanzó el verde oscuro, pues la materia prima venía con una menor tonalidad (Hue = 126,18) y una mayor luminosidad (L = 44,51). Hasta el día 8 todos los sanitizantes se mantuvieron con un puntaje de 4, y el día 11 el único sanitizante que estuvo bajo el límite de aceptabilidad fue el DC, el cual obtuvo un puntaje de “2”.

En todos los tratamientos realizados, en el transcurso de los días las hojas de berros se volvieron más luminosas (aumento parámetro L) y más amarillas (disminución del parámetro hue) al igual que lo experimentado por Gonçalves *et al.* (2009). El color verde tendió a disminuir de la misma manera en todas las hojas de berros sometidas a los diferentes tratamientos, similar a lo ocurrido en la experiencia 1 y a lo experimentado por Martínez-Sánchez *et al.* (2006) en rúcula lavada con distintos sanitizantes. Koukounaras *et al.* (2007) observaron en hojas de rúcula almacenada a 10° C por 10 días, un aumento significativo del amarillamiento (medido subjetivamente por evaluadores mediante una escala), un aumento del parámetro L y croma; y una disminución del parámetro hue y del contenido de clorofilas. Loaiza y Cantwell (1997) observaron en cilantro almacenado a 5° C por 14 días una disminución del verdor y del parámetro hue, por el contrario los valores de L y croma se incrementaron. Todas estas experiencias, incluido el ensayo 1, concuerdan con lo ocurrido en este ensayo, en donde se evidenció un amarillamiento de las hojas a lo largo del período de almacenamiento, y se observó un aumento de los parámetro L y croma y la disminución del parámetro hue.

Por lo comentado recientemente, se puede decir que el sanitizante que mejor preserva el color verde es el HS, pues es el que tiene una menor luminosidad y un hue más alto (mayor intensidad de verdor) que el resto de los sanitizantes. Muy por el contrario, el sanitizante que no mantiene de buena manera el color en las hojas de berros es el DC, teniendo todos los parámetros contrarios al HS.

2.4 Microbiología

Aerobios mesófilos: la materia prima tuvo recuentos de aerobios mesófilos de $6,3 \pm 0,21$ log ufc g⁻¹. Tras efectuar los tratamientos con los sanitizantes se obtuvieron reducciones de aproximadamente entre una y dos unidades logarítmicas (Figura 14). Los sanitizantes que mayor reducción lograron fueron el DC, el CSA y en tercer lugar el HS, con reducciones de 1,9; 1,6 y 1,4 unidades logarítmicas respectivamente (Figura 14).

A lo largo del tiempo no se mantuvo la baja en la carga microbiana y en el día 5 los cuatro sanitizantes evaluados presentaron una carga similar llegando al término del almacenamiento a 8 log ufc g⁻¹ (Figura 15).

El APA fue el único sanitizante que mostró diferencias significativas en el día 1 de medición, pues es el tratamiento que parte con una carga microbiana un poco mayor al resto ($5,4$ log ufc g⁻¹), debido a que su reducción inicial fue de aproximadamente 0,8 unidades

logarítmicas. El resto de los días no hay diferencias significativas entre los tratamientos (Apéndice II, Cuadro 3).

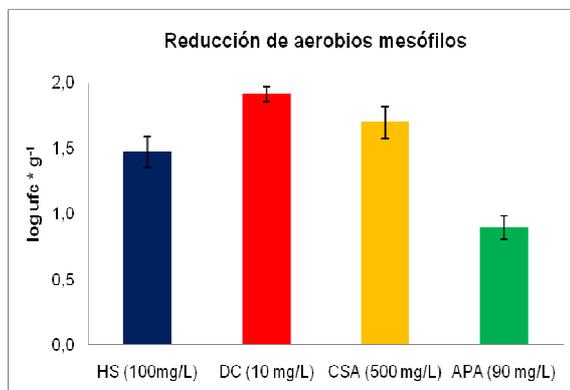


Figura 14. Reducciones logarítmicas en las poblaciones de aerobios mesófilos en hojas de berros después de ser lavados con diferentes sanitizantes. Los valores son la media \pm ES (n=3).

De acuerdo a las normas microbiológicas del Ministerio de Salud de Chile, para frutas y otros vegetales comestibles pre-elaborados, listos para el consumo, el límite máximo permitido para aerobios mesófilos es de $5,69 \log \text{ ufc g}^{-1}$ (Anexo III), y los berros provenientes del campo vienen con un recuento de aerobios mesófilos de $6,3 \log \text{ ufc g}^{-1}$, superior al permitido por la norma. Al aplicar los diferentes sanitizantes se logra una reducción en todos los lavados quedando el producto en el rango de “medianamente aceptable”; sin embargo el día 5 sobrepasa el límite ubicándose en el rango de “rechazable”.

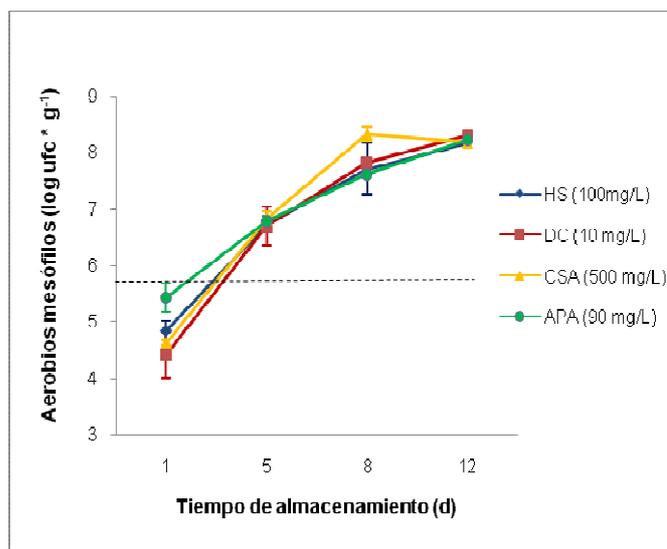


Figura 15. Efecto de sanitizantes sobre el recuento de aerobios mesófilos en hojas de berros conservadas a 5°C por 12 días. Los valores son la media \pm ES (n=3). (Línea punteada grafica el límite máximo permitido por la norma chilena).

En discrepancia con la norma chilena, Devere (1996, citado por Allende *et al.*, 2004; Vandekinderen *et al.*, 2009b) propuso que el límite microbiano para bacterias mesófilas es de $8 \log \text{ufc g}^{-1}$; según este autor, los berros estarían aceptables hasta el día 8.

Algunos de los datos obtenidos en esta experiencia concuerdan con la de otros autores. Por ejemplo, Martínez-Sánchez *et al.* (2006) trabajaron con rúcula realizando lavados con HS, CSA y APA y encontraron que todos sus lavados disminuyeron en aerobios mesófilos alrededor de una unidad logarítmica. Lopez-Gálvez *et al.* (2010) observaron en lechuga MPF reducciones iniciales en aerobios mesófilos en un rango de 1,3 a 1,7 unidades logarítmicas en lavados con HS y DC. Allende *et al.* (2008), observaron un crecimiento rápido de aerobios mesófilos en lechugas MPF lavadas con APA (80 mg/L) y CSA (500 mg/L) después de 8 días de almacenamiento, llegando a 7,4 unidades logarítmicas. Allende *et al.* (2004) observaron en lechuga “Lollo Rosso” MPF lavada con HS (180 mg/L) un recuento de 8 unidades logarítmicas después de 7 días de conservación a 5° C, similar a lo observado en esta experiencia.

Por el contrario Allende *et al.* (2009), obtuvieron una mayor disminución de aerobios mesófilos que en este ensayo, la cual fue de 2,5 unidades logarítmicas en cilantro MPF lavado con CSA (500mg/L). Vandekinderen *et al.* (2009b) obtuvieron una disminución de $1,9 \log \text{ufc g}^{-1}$ en zanahoria rallada lavada con APA (80 mg/L). Fan *et al.* (2009) obtuvieron reducciones entre 0,4 y $1 \log \text{ufc g}^{-1}$ en melón MPF lavado con HS, CSA y APA.

Enterobacterias: la materia prima tuvo recuentos de enterobacterias de $5,9 \pm 0,11 \log \text{ufc g}^{-1}$. Tras tratar las muestras con los sanitizantes se obtuvieron reducciones de aproximadamente entre 0,5 y 1,5 unidades logarítmicas (Figura 16). La mayor reducción se obtuvo en el tratamiento aplicado con CSA, con una disminución de 1,4 unidades logarítmicas. El resto de los sanitizantes tuvo una disminución de media unidad logarítmica aproximadamente (Figura 16).

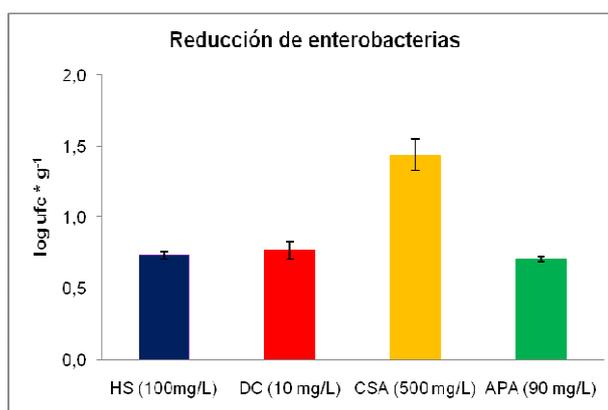


Figura 16. Reducciones logarítmicas en las poblaciones de enterobacterias en hojas de berros después de ser lavadas con diferentes sanitizantes. Los valores son la media \pm ES (n=3).

En el primer día se vieron diferencias significativas, siendo los tratamientos más diferentes el CSA, que parte con una menor carga (4,5 unidades logarítmicas) y el APA el que comienza con una mayor carga, con 5,2 unidades logarítmicas (Apéndice II, Cuadro 3). En cuanto a la evolución en el tiempo, el sanitizante más efectivo fue el HS, llegando al día 5 a un valor de 5,5 log ufc g⁻¹ al contrario de los otros sanitizantes que ya se encontraban sobre las 6 unidades logarítmicas (Figura 17). Esta diferencia en el tiempo demostró ser significativa para todos los tratamientos evaluados (Apéndice II, Cuadro 3).

De acuerdo a las normas microbiológicas del Ministerio de Salud de Chile, para frutas y otros vegetales comestibles pre-elaborados, listos para el consumo, el límite máximo permitido para enterobacterias es de 4,69 log ufc g⁻¹ (Anexo III) y la materia prima ya sobrepasaba ese rango con 5,97 log ufc g⁻¹. Al aplicar los sanitizantes, este recuento disminuyó, sin embargo sólo el CSA se encontró en el rango de “medianamente aceptable”, los demás se encontraron en el rango de “rechazable”.

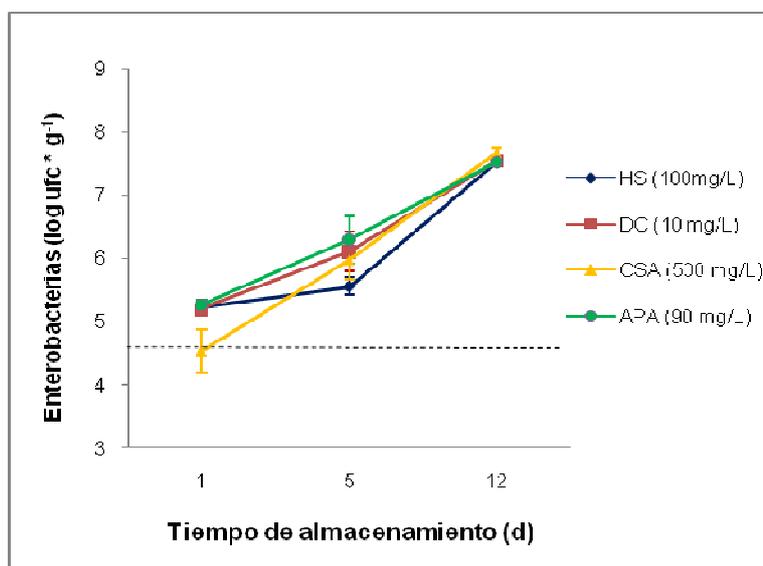


Figura 17. Efecto de sanitizantes sobre el recuento de enterobacterias en hojas de berros conservadas a 5° C por 12 días. Los valores son la media \pm ES (n=3). (Línea punteada grafica el límite máximo permitido por la norma chilena).

Bacterias psicrófilas: la materia prima tuvo recuentos de psicrófilos de $5,7 \pm 0,18$ log ufc g⁻¹. Tras lavar las muestras con los sanitizantes se obtuvieron reducciones de aproximadamente entre 0,5 y 1,5 unidades logarítmicas (Figura 18). El HS fue el sanitizante que logró la reducción más alta y el APA el que logró la reducción más baja con 1,5 y 0,4 log ufc g⁻¹ respectivamente (Figura 18).

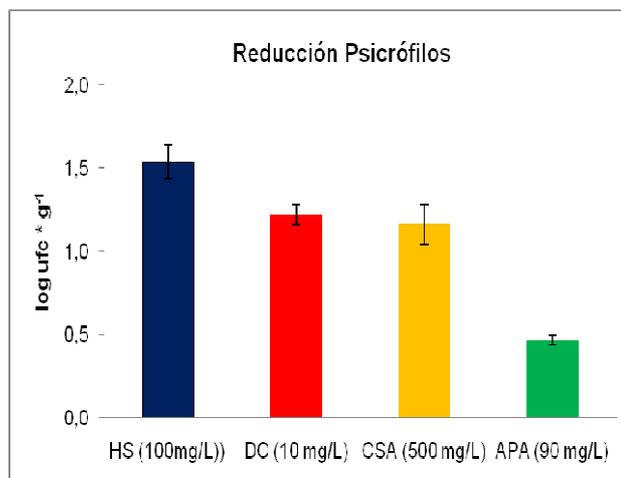


Figura 18. Reducciones logarítmicas en las poblaciones de psicrófilos en hojas de berros después de ser lavadas con diferentes sanitizantes. Los valores son la media \pm ES (n=3).

Tal como se mencionó anteriormente en aerobios mesófilos, no se mantiene la baja en la carga microbiana y el día 5 todos los tratamientos cuentan con una carga microbiana muy similar, y se mantiene un crecimiento parecido hasta el final del almacenamiento en todos los sanitizantes evaluados (Figura 19) (Apéndice II, Cuadro 3).

De igual manera que en aerobios mesófilos, el APA fue el único sanitizante que mostró diferencias significativas en el día 1 de medición, es el único sanitizante que parte con una carga microbiana sobre 5 unidades logarítmicas. El resto de los días no hay diferencias significativas entre los diferentes tratamientos (Apéndice II, Cuadro 3).

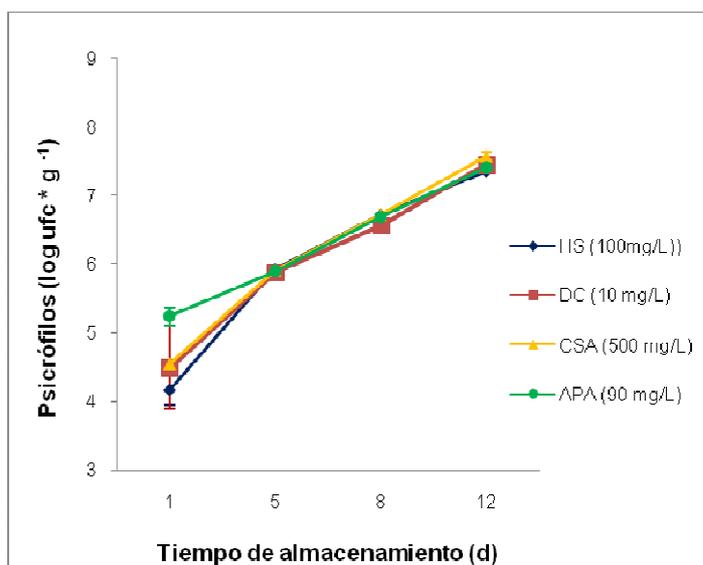


Figura 19. Efecto de sanitizantes sobre el recuento de psicrófilos en hojas de berros conservadas a 5° C por 12 días. Los valores son la media \pm ES (n=3).

Lopez-Gálvez *et al.* (2010) observaron en lechuga MPF reducciones iniciales en psicrófilos en un rango de 1,3 a 1,7 unidades logarítmicas en lavados con HS y DC, lo cual concuerda con lo experimentado en este ensayo (a excepción del sanitizante APA). Allende *et al.*, (2004) observaron en lechuga “Lollo Rosso” MPF lavada con HS (180 mg/L) un recuento de 8 unidades logarítmicas después de 7 días de conservación a 5° C. En esta experiencia el sanitizante más efectivo en reducir bacterias psicrófilas fue el HS, seguido del DC. Por el contrario, Martínez-Sánchez *et al.* (2006), encontraron que el sanitizante más efectivo en reducir estos microorganismos en rúcula fue el CSA.

Hongos y levaduras: la materia prima tuvo recuentos de hongos y levaduras de $1,82 \pm 0,28 \log \text{ufc g}^{-1}$. Tras tratar las muestras con los sanitizantes se obtuvieron reducciones 0,5 a 0,85 unidades logarítmicas (Figura 20) y no tuvieron mayores crecimientos a lo largo del período de conservación. En todos los lavados efectuados no se superó las 2 unidades logarítmicas en todo el período de almacenamiento (datos no mostrados).

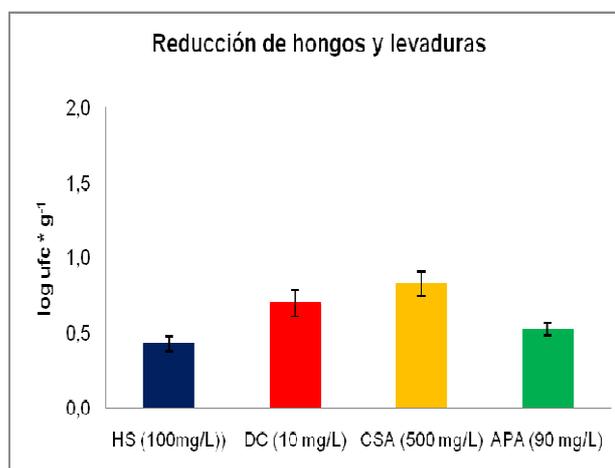


Figura 20. Reducciones logarítmicas en las poblaciones de hongos y levaduras en hojas de berros después de ser lavadas con diferentes sanitizantes. Los valores son la media \pm ES (n=3).

Lactobacillus: En esta experiencia los recuentos de lactobacillus siempre fueron menores a $3 \log \text{ufc g}^{-1}$ y no se vieron afectados por ninguno de los lavados durante la conservación (datos no mostrados).

Las hojas de berros provenientes del campo venían con una elevada carga microbiana inicial, ésta podría deberse a la irrigación mediante aguas de mala calidad o por el riego mediante aspersion. Por lo tanto, el uso de buenas prácticas agronómicas se recomienda en todos los cultivos en general, con el fin de reducir esta elevada contaminación inicial (Martínez-Sánchez, 2008)

La carga microbiana de hortalizas como rúcula, mizuna y berro es, en general, superior a otras hortalizas, ya que tienen todas las hojas expuestas al medioambiente y no están

protegidas como sucede, por ejemplo, con las hojas interiores de las cabezas de lechuga (Martínez-Sánchez, 2008).

En aerobios mesófilos, enterobacterias y psicrófilos se obtuvieron reducciones con la aplicación de los diferentes sanitizantes, sin embargo éstas no se mantuvieron a lo largo del tiempo. Beuchat y Brackett (1990, citado por Zagory, 1999) encontraron que lavados con HS redujeron la población inicial de bacterias en lechuga, pero después de 4 días a 5° C no encontraron diferencias significativas en las poblaciones con lavados con HS y con lavados con agua. Las poblaciones microbianas se incrementaron más rápidamente y alcanzaron cifras elevadas en berros después de ser lavados con altas concentraciones de HS, sobre 1000 ppm, comparado con los controles realizados con lavados con agua (Park y Lee 1995, citado por Zagory, 1999)

Todos los sanitizantes mostraron elevados recuentos microbianos en aerobios mesófilos, psicrófilos y enterobacterias el último día de almacenamiento, día 12, lo que demuestra y confirma lo discutido anteriormente, que la vida útil del berro es de 7 a 8 días conservados a 5° C.

Lo comentado recientemente demuestra lo importante que es un buen manejo agronómico para la obtención de una materia prima de buena calidad. La materia prima debe tener una gran calidad para asegurar una mayor vida útil en el alimento de IV Gama (Martínez-Sánchez, 2008). Con el uso de sanitizantes se obtuvieron reducciones, sin embargo no fue suficiente para que el alimento fuera aceptado por la Norma chilena. Si se hubiese trabajado con una materia prima de mejor calidad microbiológica se podría haber logrado una mayor aceptabilidad a lo largo del período de almacenamiento.

2.5 Evaluación sensorial:

Apariencia: en todos los tratamientos realizados existe una disminución de este atributo y se observaron diferencias significativas entre los tratamientos solamente el último día de almacenamiento. El tiempo de conservación afectó este atributo en donde se observaron diferencias significativas en cada tratamiento evaluado (Apéndice II, Cuadro 4).

La apariencia de las hojas de berros en el día 1 (Figura 21A) no muestra grandes diferencias entre los tratamientos. El tratamiento con HS es el mejor evaluado en el primer día de almacenamiento, con 12,4 unidades y el tratamiento realizado con APA el que tiene la puntuación más baja con 11,42 unidades; no obstante, todos los tratamientos están en el rango de una apariencia “Muy buena” (Anexo II). En el día 4 todos los lavados tienen una apariencia “buena”, a excepción del realizado con CSA que mantiene su calidad visual y continúa en el rango de “muy buena”. Al término del almacenamiento, el día 11, el lavado realizado con DC sufre una caída y se encuentra en el rango de “deficiente” con un valor de 4,7 unidades, mostrando diferencias significativas con respecto al resto de los sanitizantes (Apéndice II, Cuadro 4). El HS tiene las puntuaciones más altas hasta el día 7, sin embargo al final del almacenamiento se encuentra bajo los lavados con APA y CSA, no obstante no

se ven diferencias significativas entre ellos. Solamente el último día de almacenamiento el HS y el DC se encontraron bajo el límite de aceptabilidad. En concordancia con el ensayo 1 se observó que el DC fue el sanitizante peor evaluado por los panelistas.

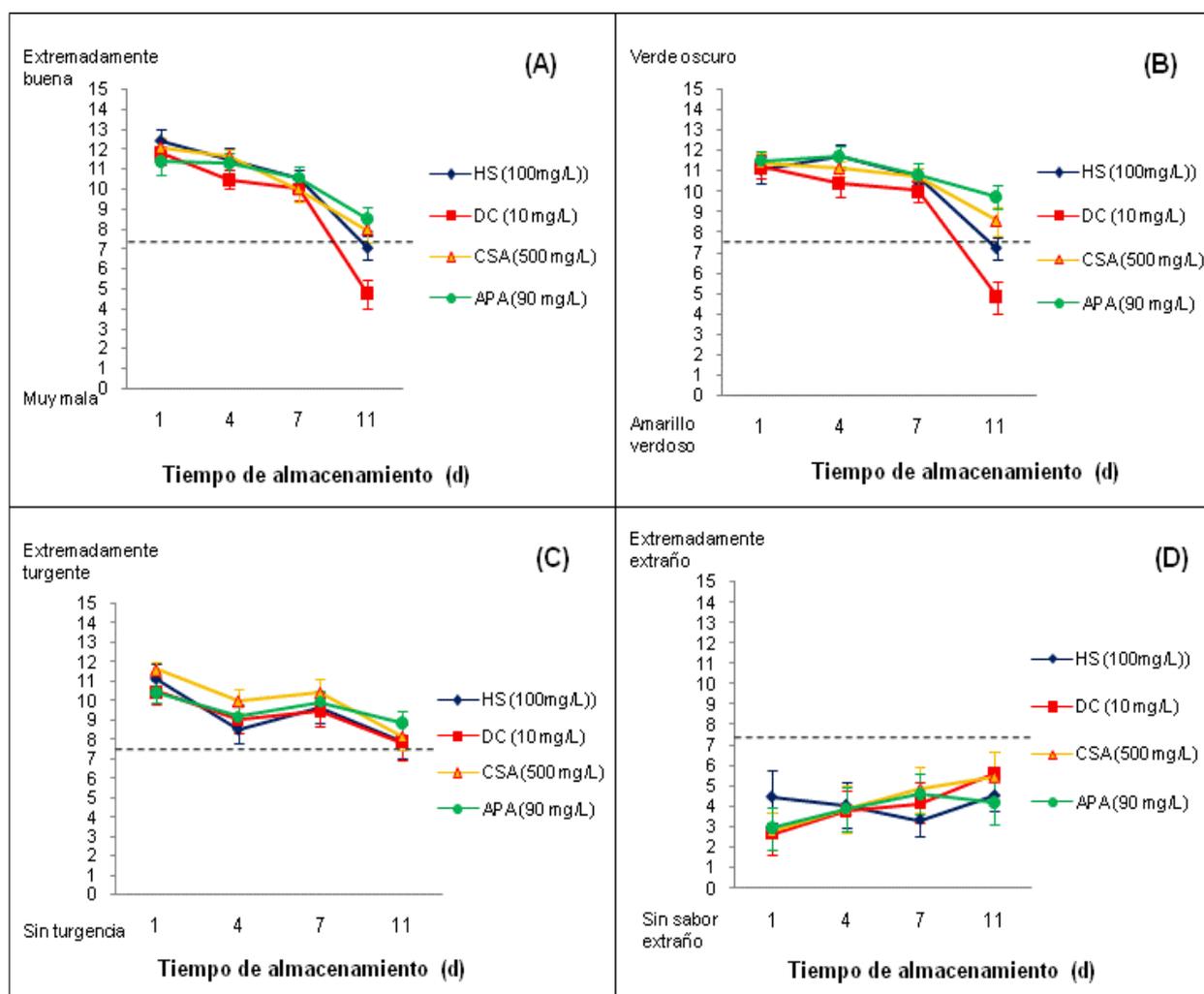


Figura 21. Efecto de diferentes sanitizantes en los atributos sensoriales medidos: Apariencia (A), Intensidad de Color (B), Turgencia (C) y Sabores extraños (D). Los valores son la media \pm ES (n=14). (Línea punteada grafica el límite de aceptabilidad establecido).

Intensidad de color: al igual que en la experiencia 1 y en el atributo de apariencia, el DC fue el sanitizante peor evaluado en cuanto a la intensidad de color (Figura 21 B). En todos los días fue el que obtuvo la puntuación más baja, finalizando el último día de almacenamiento con 4,8 unidades en el rango de “suficiente” (Anexo II). Sólo el último día de medición se observaron diferencias significativas entre los tratamientos y a lo largo del tiempo todos los tratamientos mostraron diferencias significativas, a excepción del tratamiento realizado con APA (Apéndice II, Cuadro 4). El sanitizante mejor evaluado fue

el APA en todos los días medidos, culminando el día 11 de almacenamiento con 9,7 unidades, en el rango de “bueno”. Al igual que en apariencia el HS cuenta con puntuaciones altas hasta el día 7, teniendo una caída en el último día de medición, donde se encuentra en el rango de “suficiente” con 7,2 unidades. Al igual que en apariencia, solamente el último día de almacenamiento el HS y el DC se encontraron bajo el límite de aceptabilidad

Estos datos concuerdan con lo medido con el colorímetro, en donde el tratamiento con DC fue uno de los que obtuvieron un mayor L y un menor hue. También concuerdan con las puntuaciones de la escala de color, donde el DC culmina el almacenamiento bajo los límites de aceptabilidad, de acuerdo a esta escala y en este caso a la apreciación subjetiva de los evaluadores (apartado 2.3).

En discrepancia con lo comentado recientemente, donde el DC (10 mg/L) fue el sanitizante peor evaluado en cuanto a la calidad visual de los berros, mostrando que sí afecta en los atributos sensoriales, Rodgers *et al.* (2004, citado por Gómez-López *et al.*, 2009) concluyó que una dosis de 5mg/L por 5 min de DC no afecta los atributos sensoriales en lechuga mínimamente procesada.

Turgencia: este atributo disminuyó en el tiempo en forma similar en todos los sanitizantes evaluados sin diferencias significativas entre ellos (Figura 21 C). La turgencia no se ve afectada por los diferentes tratamientos, pero sí por el tiempo, presentando diferencias significativas en los tratamientos realizados con HS, DC y CSA, siendo el tiempo un factor natural de deterioro en las especies vegetales. (Apéndice II, Cuadro 4). El CSA fue el sanitizante que presentó hojas más turgentes hasta el día 7, culminando el APA sobre el resto de los sanitizantes el día 11.

Presencia de sabores extraños: no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados y tampoco en el transcurso del tiempo.

Este atributo fue mejor evaluado en esta experiencia, pues en la experiencia anterior, a pesar de que los panelistas eran entrenados, no muchos conocían el sabor característico del berro, ya que aún en Chile no es una hortaliza muy conocida ni de alto consumo. Al realizar esta experiencia a cada panelista se le asignó otra muestra de berros sin someterlos a ningún tratamiento, solamente lavados con agua potable, para que pudieran distinguir el sabor característico de este producto.

CONCLUSIONES

De acuerdo a las condiciones de almacenamiento estudiadas se concluye que:

- La utilización de sanitizantes es efectiva para reducir las poblaciones de microorganismos, tales como aerobios mesófilos, enterobacterias y bacterias psicrófilas en berros conservados bajo refrigeración y atmósfera modificada.
- El hipoclorito de sodio sigue siendo un sanitizante efectivo para disminuir las poblaciones microbianas y un envasado en AMP preserva de mejor manera la calidad de berros conservados a 5° C, que un envasado bajo aire.
- El clorito de sodio acidificado, en dosis de 500 mg/L, es una alternativa eficiente en el control de los microorganismos estudiados, manteniendo las características sensoriales del producto y una baja tasa respiratoria en hojas de berros almacenados a 5° C.
- El dióxido de cloro a una concentración de 10 mg/L es efectivo en reducir la carga microbiana, no obstante afecta la calidad sensorial de manera negativa en hojas de berros almacenados a 5 °C.
- El ácido peroxiacético en dosis de 90 mg/L es efectivo para reducir la tasa respiratoria en hojas de berros, sin embargo no obtuvo mayores reducciones en los microorganismos estudiados. Este es el sanitizante que preserva mejor las características sensoriales del producto. Se podría realizar otra experiencia utilizando una mayor dosis de este sanitizante.
- De acuerdo a los parámetros microbiológicos y sensoriales se puede concluir que las hojas de berros podrían conservarse hasta 8 días a 5° C.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguayo, E. 2003. Innovaciones tecnológicas en la conservación de melón y tomate procesado en fresco. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Cartagena, Departamento de Ingeniería de Alimentos y Equipamiento Agrícola. Cartagena, España. 398 p.
- Ahvenainen, R. 1996. New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruit and vegetables. *Trends in Food Science and Technology* 7: 179–187.
- Alegría, C., J. Pinheiro, E.M. Gonçalves, I. Fernandes, M. Moldao and M. Abreu. 2009. Quality attributes of shredded carrot (*Daucus carota* L. cv. Nantes) as affected by alternative decontamination processes to chlorine. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 10: 61-69.
- Allende, A., E. Aguayo and F. Artés. 2004. Microbial and sensory quality of commercial fresh processed red lettuce throughout the production chain and shelf life. *International Journal of Food Microbiology* 91: 109-117.
- Allende, A., M.V. Selma, F. López-Gálvez, R. Villaescusa and M. Gil. 2008. Role of comercial sanitizers and washing systems on epiphytic microorganisms and sensory quality of fresh-cut escarole and lettuce. *Postharvest Biology and Technology* 49: 155-163.
- Allende, A., J. Mc Evoy, Y. Tao and Y. Luo. 2009. Antimicrobial effect of acidified sodium chlorite, sodium chlorite, sodium hypochlorite, and citric acid on *Escherichia coli* O157:H7 and natural microflora of fresh-cut cilantro. *Food Control* 20: 230-234.
- Araya, E. 2007. Guía de Laboratorio curso: Evaluación Sensorial de los alimentos. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas Departamento de Agroindustria y Enología. 81 p.
- Artés, F., P. Gómez, E. Aguayo, V. Escalona and F. Artés- Hernández. 2009. Sustainable sanitation techniques for keeping quality and safety of fresh cut plant commodities. *Postharvest Biology and Technology* 51: 287-296.
- Beltrán, D., M.V.Selma, J.A. Tudela, M.I.Gil. 2005. Effect of diferente sanitizers on microbial and sensory quality of fresh cut potato strips stored under modified atmosphere or vacuum packaging. *Postharvest Biology and Technology* 37: 37-46.
- Berger, H. 2004. Situación comercial, técnica y de innovación de los productos mínimamente procesados en el Gran Santiago, Chile. pp 25-30. En: Simposium “Estado actual del mercado de frutos y vegetales cortados en Iberoamérica”. San José, Costa Rica. Abril 28-30, 2004. Universidad de Chile. Santiago, Chile.

- Castañer, M., M.I. Gil, M.V. Ruiz, and Artés. 1999. Browning susceptibility of minimally processed Baby and Romaine lettuces. *European Food Research and Technology* 209:52-56.
- Escalona, V.H. 2003. Innovaciones tecnológicas en la conservación y procesado en fresco de hinojo y colirrábano mediante refrigeración y modificación de la atmósfera. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Cartagena, Departamento de Ingeniería de Alimentos y Equipamiento Agrícola. Cartagena, España. 280 p.
- Escalona, V.H. y L. Luchsinger. 2008. Una revisión sobre frutas y hortalizas mínimamente procesadas en fresco. *Aconex* 99: 23-28.
- Fan, X., B. Annous, L. Keskinen and J. Mattheis. 2009. Use of chemical sanitizers to reduce microbial population and maintain quality of whole and fresh-cut cantaloupe. *Journal of Food Protection* 72: 2453-2460.
- Gil, M.I., M.V. Selma, F. López-Gálvez and A. Allende. 2009. Fresh-cut product sanitation and wash water disinfection: Problems and solutions. *International Journal of Food Microbiology* 134: 37-45.
- Gómez-López, V.M., A. Rajakovic, P. Ragaert, N. Smigic and F. Devlieghere. 2009. Chlorine dioxide for minimally processed produce preservation: a review. *Trends in Food Science and Technology* 20:17-26.
- Gonçalves, E.M., R.M.S. Cruz, M. Abreu, T.R.S. Brandao and C.L.M. Silva. 2009. Biochemical and colour changes of watercress (*Nasturtium officinale* R.Br.) during freezing and frozen storage. *Journal of Food Engineering* 93: 32-39.
- González-Aguilar, G.A., F. Ayala-Zavala, S. Ruiz-Cruz, R. Cruz-Valenzuela y F. Cuamea-Navarro. 2004. Estado actual del mercado de frutos y vegetales frescos cortados. pp 7-16. En: Simposium "Estado actual del mercado de frutos y vegetales cortados en Iberoamérica". San José, Costa Rica. Abril 28-30, 2004. México.
- Herdt, J. and H. Feng. 2009. Aqueous antimicrobial treatments to improve fresh and fresh-cut produce safety. pp. 169-190. In: Fan, X., Niemira, B., Doona, C., Feeherry, E., and Gravani, R. *Microbial Safety of Fresh Produce*. Wiley- Blackwell, Chicago, EEUU. 446p.
- Kader, A. 2002. Tecnología Postcosecha de cultivos Hortofrutícolas. Universidad de Davis, California. Estados Unidos. 570 p.
- Kim J., Y. Luo and Y. Tao. 2007. Effect of the sequential treatment of 1-methylcyclopropene and acidified sodium chlorite on microbial growth and quality of fresh cut cilantro. *Postharvest Biology and Technology* 46: 144-149

- Koukounaras, A., A.S. Siomos and E. Sfakiotakis. 2007. Postharvest CO₂ and ethylene production and quality rocket (*Eruca sativa* Mill.) leaves as affected by leaf age and storage temperature. *Postharvest Biology and Technology* 46: 167–173.
- Loaiza J., and M. Cantwell. 1997. Postharvest physiology and quality of cilantro (*Coriandrum sativum* L.) *HortScience* 32: 104-107.
- López-Gálvez, F., A. Allende, P. Truchado, A. Martínez-Sánchez, J.A. Tudela, M.V. Selma, M.I. Gil. 2010. Suitability of aqueous chlorine dioxide versus sodium hypochlorite as an effective sanitizer for preserving quality of fresh-cut lettuce while avoiding by-product formation. *Postharvest Biology and Technology* 55: 53 – 60.
- Martínez-Sánchez, A. 2008. Caracterización de compuestos bioactivos en crucíferas de uso en IV gama: Aspectos relacionados con la fisiología y tecnología postrecolección Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Cartagena, Departamento de Ingeniería de Alimentos y Equipamiento Agrícola. Cartagena, España. 267 p.
- Martínez-Sánchez, A., A. Allende, R. Bennett, F. Ferreres and M.I. Gil. 2006. Microbial, nutritional and sensory quality of rocket leaves as affected by different sanitizers. *Postharvest Biology and Technology* 42: 86–97.
- McGuire, R. 1992. Reporting of objective color measurements. *HortScience* 27: 1254-1255.
- Morales, J., R. Arriagada, L. Salas, C. Morales, F. Fuentes y R. Santana. 2009. Hematoma subcapsular por fasciolosis. *Revista Chilena de Cirugía* 61 (1): 73 – 77.
- MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE. 1997. Reglamento sanitario de los alimentos . Diario oficial 13 de mayo 1997. Decreto supremo 977. Actualizado en abril del 2009. Depto. de Asesoría Jurídica. Santiago. 150 p.
- Ölmez, H. and U. Kretzschmar. 2009. Potential alternative disinfection methods for organic fresh-cut industry for minimizing water consumption and environmental impact. *LWT-Food Science and Technology* 42: 686-693.
- Oms-Oliu, G., M. Hertog, R., Soliva-Fortuny, O. Martín-Belloso and B.M. Nicolai. 2009. Recent developments in the use of modified atmosphere packaging for fresh cut fruits and vegetables. *Stewart Postharvest Review* 4: (3): 1-11.
- Ragaert, P., F. Devlieghere and J. Debevere. 2007. Role of microbiological and physiological mechanism during storage of minimally processed vegetables. *Postharvest Biology and Technology* 44: 185-194.

- Rico, D., A.B. Matín-Diana, J.M. Barat and C. Barry-Ryan. 2007. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. *Trends in Food Science and Technology* 18: 373-386.
- Silveira, A., 2009. Técnicas ecoinnovadoras para la elaborar melón Galia mínimamente procesado. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Cartagena, Departamento de Ingeniería de Alimentos y Equipamiento Agrícola, Cartagena, España. 380 p.
- Singh, N., R.K. Singh, A.K. Bhunia and R.L. Strohshine. 2002. Effect of inoculation and washing methods on the efficacy of different sanitizers against *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce. *Food Microbiology* 19:183-193.
- Vandekinderen, I., F. Devlieghere, B. De Meulenaer, K. Veramme, P. Ragaert and J. Van Camp. 2008. Impact of decontamination agents and a packaging delay on the respiration rate of fresh-cut produce. *Postharvest Biology and Technology* 49: 277-282.
- Vandekinderen, I., J. Van Camp, F. Devlieghere, K. Veramme, N. Bernaert, Q. Denon, P. Ragaert and B. De Meulenaer. 2009a. Effect of decontamination on the microbial load, the sensory quality and the nutrient retention of ready-to-eat white cabbage. *European Food Research and Technology* 229: 443-455.
- Vandekinderen, I., F. Devlieghere, J. Van Camp, Q. Denon, S. Sánchez Alarcón, P. Ragaert and B. De Meulenaer. 2009b. Impact of a decontamination step with peroxyacetic acid on the shelf-life, sensory quality and nutrient content of grated carrots packed under equilibrium modified atmosphere and stored at 7°C. *Postharvest Biology and Technology* 54: 141-152.
- Vandekinderen, I., F. Devlieghere, B. De Meulenaer, P. Ragaert and J. Van Camp. 2009c. Decontamination strategies for fresh cut produce. *Stewart Postharvest Review* 4: (5): 1-8.
- Varoquaux, P., G. Albagnac, C. Nguyen-The and F. Varoquaux. 1996. Modified atmosphere packaging of fresh beansprouts. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 70: 224-230.
- Warf, C.C., and G.K. Kemp. 2001. The chemistry and mode of action of acidified sodium chlorite. Presented at Institute of Food Technologists, 2001 Annual Meeting. New Orleans, Louisiana, EEUU.
- Wiley, R. 1997. Frutas y hortalizas mínimamente procesadas y refrigeradas. Editorial Acribia, Zaragoza, España. 362p.
- Yamauchi, N. and Watada, A. 1998. Chlorophyll and xanthophylls changes in broccoli florets stored under elevated CO₂ or ethylene-containing atmosphere. *HortScience* 33: 114-117.

Zagory, D. 1999. Effects of post-processing handling and packaging on microbial populations. *Postharvest Biology and Technology* 15: 313-321.

ANEXO I

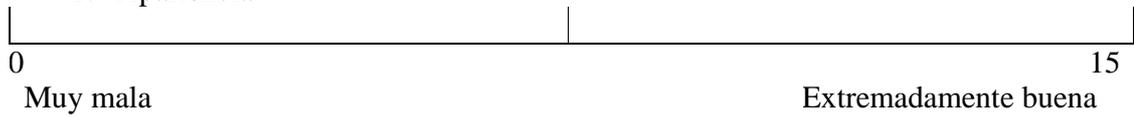
EVALUACIÓN DE CALIDAD PANEL ENTRENADO

Nombre:.....Fecha:.....

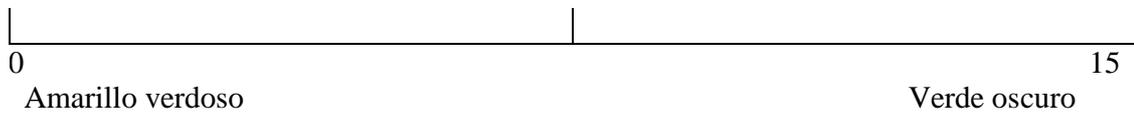
Muestra N° ____

Aspecto visual

1. Apariencia

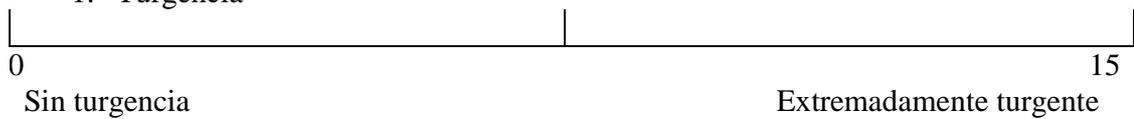


2. Intensidad color

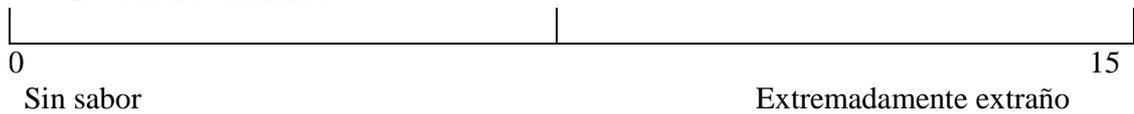


Aspecto gustativo

1. Turgencia



2. Sabores extraños



Comentarios: _____

ANEXO II

Interpretación de los datos obtenidos con la pauta no estructurada (0-15 cm)

Calidad Sensorial: Apariencia

0 – 1,75	Muy Mala
1,76 – 3,50	Mala
3,51 – 5,24	Deficiente
5,25 – 6,99	Menos que regular
7,00 – 7,99	Regular
8,00 – 9,75	Más que regular
9,76 – 11,50	Buena
11,51 – 13,25	Muy Buena
13,26 – 15,00	Excelente

Características visuales: Intensidad de Color

0 – 0,94	Negativo
0,95 – 1,88	Ordinario
1,89 – 3,75	Insuficiente
3,76 – 7,50	Suficiente
7,51 – 11,25	Bueno
11,26 – 13,13	Muy bueno
13,14 – 15	Excelente

Fuente: Guía de Laboratorio Curso: Evaluación Sensorial de los Alimentos (Araya, 2007).

ANEXO III

Cuadro1. Norma establecida por el Ministerio de Salud Pública para Frutas y otros vegetales comestibles pre-elaborados, listos para el consumo.

Parámetro	Plan de muestreo				Límite por gramo	
	Categoría	Clases	n	c	m	M
RAM	6	3	5	1	5×10^4 (4,69 log)	5×10^5 (5,69 log)
Enterobacteriaceas	6	3	5	1	5×10^3 (3,69 log)	5×10^4 (4,69 log)
E.coli	6	3	5	1	10	10^2
S.aureus	6	3	5	1	10	10^2
Salmonella en 25 g	10	2	5	0	0	---

n: número de muestras a ser examinadas; m: valor del parámetro microbiológico para el cual o por debajo del cual el alimento no representa un riesgo para la salud; c: número máximo de unidades de muestra que puede contener un número de microorganismos comprendidos entre “m” y “M” para que el alimento sea aceptable; M: valor del parámetro microbiológico por encima del cual el alimento representa un riesgo para la salud. **Grados de calidad:** “aceptable”: valores entre 0 y m; “medianamente aceptable”: valores entre m y M; “rechazable”: valores superiores a M. (Reglamento Sanitario de los Alimentos, Ministerio de Salud Pública, Chile, 1997).

APÉNDICE I. Experiencia 1

Cuadro 1. Tasa respiratoria ($\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) de berros lavados con sanitizantes a diferentes dosis almacenados a 5° C.

Respiración	Días	Tratamientos						
		HS		DC		CSA		APA
$\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$		(100 mg/L) AM	(10mg/L)	(5mg/L)	(250mg/L)	(500mg/L)	(50mg/L)	(90mg/L)
	0	108,80 B ab ^v	88,97 B a	118,17 B bc	130,96 B bc	119,33 B bc	134,95 B c	123,19 B bc
	6	61,53 A bc	53,82 A ab	36,43 A a	79,51 A c	72,16 A bc	58,65 A abc	57,25 A abc
	10	46,73 A a	45,51 A a	47,84 A a	60,83 A a	65,32 A a	55,07 A a	51,17 A a
	14	49,87 A a	46,27 A a	47,11 A a	61,64 A a	58,26 A a	44,80 A a	40,13 A a

^v Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Letras mayúsculas comparan verticalmente y las letras minúsculas comparan horizontalmente.

Cuadro 2. Variación en la concentración de gases (O_2 y CO_2) en las bolsas de berros lavados con sanitizantes a diferentes dosis, almacenados a 5° C.

Atmósfera Modificada (%)	Días	Tratamientos						
		HS		DC		CSA		APA
		(100 mg/L) AM	(10mg/L)	(5mg/L)	(250mg/L)	(500mg/L)	(50mg/L)	(90mg/L)
CO_2	0	0,70 A a ^v	0,69 A a	0,63 A a	0,95 A a	0,80 A a	0,83 A a	0,99 A a
	1	2,52 B a	2,69 BC a	2,56 B a	2,81 B a	3,09 B a	2,53 B a	2,40 B a
	5	2,66 B ab	2,84 BC ab	3,30 BC bc	3,88 C c	3,36 B bc	2,84 B ab	2,19 B a
	8	2,43 B a	3,27 C ab	3,59 C b	3,46 BC b	3,72 B b	3,43 B b	3,74 C b
	13	2,13 B a	2,35 B ab	2,50 B ab	2,91 B ab	3,16 B b	2,53 B ab	2,53 B ab
O_2	0	16,58 B a	17,23 B a	16,30 C a	16,90 B a	16,35 C a	17,36 B a	17,65 B a
	1	14,82 B a	14,53 B a	14,41 C a	14,35 B a	13,56 C a	14,52 B a	14,88 B a
	5	8,89 A a	7,30 A a	7,04 B a	5,36 A a	6,75 B a	7,08 A a	7,83 A a
	8	5,68 A a	5,15 A a	2,81 A a	2,21 A a	2,49 A a	5,46 A a	4,03 A a
	13	7,68 A b	6,13 A ab	6,07 AB ab	4,53 A ab	2,94 AB a	5,73 A ab	6,22 A ab

^v Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Letras mayúsculas comparan verticalmente y las letras minúsculas comparan horizontalmente.

Cuadro 3. Variación de la calidad sensorial en hojas de berros lavados con diferentes sanitizantes durante 13 días de almacenamiento a 5° C.

Días	Tratamientos									
	HS			DC			CSA			APA
	(100mg/L) *	(100 mg/L)	(10mg/L)	(5mg/L)	(250mg/L)	(500mg/L)	(50mg/L)	(50mg/L)	(50mg/L)	(90mg/L)
Apariencia	1	11,01 B a ^{1/}	11,36 AB a	11,00 B a	10,84 B a	11,42 B a	12,96 C a	11,87 B a	11,78 BC a	
	5	10,98 B a	12,08 B a	10,98 B a	10,65 B a	11,37 B a	11,45 BC a	11,20 B a	12,45 C a	
	8	8,68 AB a	9,84 AB a	9,11 B a	8,80 AB a	9,21 B a	9,46 AB a	9,56 AB a	9,53 AB a	
	13	7,99 A bc	8,96 A c	5,55 A ab	4,13 A a	6,17 A abc	8,50 A bc	7,42 A bc	7,05 A abc	
Intensidad de color	1	10,81 C a	10,51 B a	11,37 C a	10,96 C a	11,64 C a	11,75 C a	11,19 B a	11,88 C a	
	5	10,17 BC a	10,95 B a	10,17 C a	10,66 C a	10,89 C a	10,61 BC a	10,76 B a	11,34 C a	
	8	7,62 AB a	9,45 AB a	7,23 B a	7,39 B a	8,02 B a	8,75 AB a	9,26 B a	8,21 B a	
	13	5,11 A bcd	7,12 A cd	2,54 A ab	1,7 A a	3,97 A abc	7,55 A d	6,15 A cd	4,82 A abcd	
Turgencia	1	8,37 A a	9,52 A a	9,46 A a	9,47 A a	10,15 B a	9,36 A a	9,95 A a	10,67 A a	
	5	7,77 A a	8,70 A a	8,97 A a	7,43 A a	10,44 B a	9,75 A a	10,04 A a	9,68 A a	
	8	7,17 A a	7,73 A a	8,72 A a	8,69 A a	7,63 AB a	7,54 A a	7,84 A a	8,92 A a	
	13	6,85 A a	7,65 A a	7,67 A a	7,32 A a	6,88 A a	7,38 A a	6,90 A a	8,20 A a	
Sabores extraños	1	2,02 A a	1,11 A a	2,35 A a	1,49 A a	2,19 A a	1,25 A a	1,43 A a	2,32 A a	
	5	2,67 A a	2,46 A a	3,90 A a	2,87 A a	3,43 A a	2,54 A a	2,82 A a	4,28 A a	
	8	4,30 A a	3,89 A a	3,80 A a	4,23 A a	3,53 A a	3,65 A a	1,82 A a	5,28 A a	
	13	1,76 A a	2,11 A a	1,95 A a	2,27 A a	2,91 A a	3,29 A a	2,99 A a	4,01 A a	

^{1/} Letras diferentes indican diferencias significativas (p < 0,05). Letras mayúsculas comparan verticalmente y las letras minúsculas comparan horizontalmente.

* Almacenamiento en bolsa perforada, el resto de los tratamientos almacenados en atmósfera modificada pasiva (AMP).

APÉNDICE II. Experiencia 2

Cuadro 1. Tasa respiratoria ($\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) de hojas de berros lavados con diferentes sanitizantes almacenados a 5°C .

Respiración	Días	Tratamientos			
		HS (100mg/L)	DC (10mg/L)	CSA (500mg/L)	APA (90mg/L)
mg $\text{CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$	0	99,33 B a	95,54 B a	80,32 A a	86,76 B a
	4	73,97 A b	74,87 AB b	57,24 A ab	48,39 A a
	7	61,45 A a	60,89 A a	58,94 A a	55,07 A a
	11	72,23 A b	58,11 A ab	61,08 A ab	44,18 A a

^{1/} Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Letras mayúsculas comparan verticalmente y las letras minúsculas comparan horizontalmente.

Cuadro 2. Variación en la concentración de gases (O_2 y CO_2) en las bolsas de hojas de berros lavados con diferentes sanitizantes almacenados a 5°C .

Atmósfera Modificada (%)	Días	Tratamientos			
		HS (100mg/L)	DC (10mg/L)	CSA (500mg/L)	APA (90mg/L)
CO_2	0	0,9739 A a	0,9477 A a	0,7747 A a	0,7314 A a
	1	2,1490 B a	2,3593 B a	2,6521 B a	2,7062 B a
	5	2,6859 BC a	3,0127 BC a	3,3301 B a	2,9221 B a
	8	2,1704 B a	2,7167 B ab	3,3706 B b	3,4471 B b
	11	3,1457 C a	3,6211 C a	3,4628 B a	3,1726 B a
O_2	0	16,2841 C a	16,9005 C a	16,2125 C a	16,8836 B a
	1	16,1882 C a	15,6037 C a	14,8432 C a	14,0117 B a
	5	10,1629 B a	8,3139 B a	6,4809 B a	7,6141 A a
	8	5,2712 A a	4,4538 AB a	4,1765 AB a	3,8549 A a
	11	4,9576 A a	2,7990 A a	2,2757 A a	4,6330 A a

^{1/} Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Letras mayúsculas comparan verticalmente y las letras minúsculas comparan horizontalmente.

Cuadro 3. Efecto de diferentes sanitizantes en la carga microbiana en hojas de berros almacenados a 5°C .

Microorganismos (log ufc*g-1)	Días	Tratamientos			
		HS (100mg/L)	DC (10mg/L)	CSA (500mg/L)	APA (90mg/L)
Aerobios mesófilos	1	4,85 A a	4,41 A a	4,62 A a	5,42 A b
	5	6,73 B a	6,69 B a	6,82 B a	6,78 B a
	12	8,17 C a	8,30 C a	8,17 C a	8,21 C a
Enterobacterias	1	5,23 A ab	5,20 A ab	4,53 A a	5,26 A b
	5	5,56 A a	6,11 B ab	5,97 B ab	6,29 B b
	12	7,53 B a	7,54 C a	7,68 C a	7,52 C a
Psicrófilos	1	4,16 A a	4,49 A a	4,54 A a	5,24 A b
	5	5,93 B a	5,88 B a	5,90 B a	5,89 B a
	12	7,36 C a	7,46 C a	7,58 C a	7,41 C a

^{1/} Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Letras mayúsculas comparan verticalmente y las letras minúsculas comparan horizontalmente.

Cuadro 4. Variación de la calidad sensorial en hojas de berros lavados con diferentes sanitizantes durante 12 días de almacenamiento a 5° C.

	Días	Tratamientos			
		HS (100mg/L)	DC (10mg/L)	CSA (500mg/L)	APA (90mg/L)
Apariencia	1	12,43 B a	11,88 B a	12,08 B a	11,42 B a
	4	11,50 B a	10,50 B a	11,63 B a	11,34 B a
	7	10,51 B a	10,04 B a	10,00 AB a	10,60 AB a
	11	7,06 A b	4,76 A a	7,97 A b	8,50 A b
Intensidad de Color	1	11,08 B a	11,21 B a	11,40 B a	11,52 A a
	4	11,75 B a	10,42 B a	11,14 B a	11,74 A a
	7	10,78 B a	10,03 B a	10,72 B a	10,81 A a
	11	7,22 A b	4,82 A a	8,55 A bc	9,74 A c
Turgencia	1	11,15 B a	10,50 B a	11,64 B a	10,49 A a
	4	8,55 A a	9,03 AB a	10,01 AB a	9,21 A a
	7	9,69 AB a	9,48 AB a	10,44 AB a	9,98 A a
	11	7,90 A a	7,88 A a	8,17 A a	8,89 A a
Sabores extraños	1	4,49 A a	2,69 A a	2,81 A a	2,94 A a
	4	4,07 A a	3,81 A a	3,88 A a	3,90 A a
	7	3,35 A a	4,21 A a	4,86 A a	4,64 A a
	11	4,56 A a	5,65 A a	5,47 A a	4,23 A a

^{1/} Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Letras mayúsculas comparan verticalmente y las letras minúsculas comparan horizontalmente.