

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGADO

Memoria de Título

**APLICACIÓN DE SANITIZANTES EN BROTES DE ALFALFA (*Medicago sativa*
L.) CONSERVADOS BAJO ATMÓSFERA MODIFICADA**

YENIFERT ALEJANDRA MAUREIRA ESPINOSA

Santiago - Chile
2012

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

Memoria de Título

**“APLICACIÓN DE SANITIZANTES EN BROTES DE ALFALFA (*Medicago sativa*
L.) CONSERVADOS BAJO ATMÓSFERA MODIFICADA”**

**“APPLICATION OF SANITIZERS IN ALFALFA SPROUTS (*Medicago sativa L.*)
KEPT IN MODIFIED ATMOSPHERE”**

YENIFERT ALEJANDRA MAUREIRA ESPINOSA

Santiago - Chile
2012

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

Memoria de Título

**“APLICACIÓN DE SANITIZANTES EN BROTES DE ALFALFA (*Medicago sativa*
L.) CONSERVADOS BAJO ATMÓSFERA MODIFICADA”**

Memoria para optar al título profesional
de Ingeniero Agrónomo
Mención Agroindustria

YENIFERT ALEJANDRA MAUREIRA ESPINOSA

Profesores Guías	Calificaciones
Sr. Víctor Escalona C. Ingeniero agrónomo, Dr.	6,8
Sra. Carmen Sáenz H. Químico farmacéutico, Dr.	6,7
Profesores Evaluadores	
Sr. Hugo Núñez K. Ingeniero agrónomo, Dr.	6,5
Sra. María Teresa Varnero M. Químico farmacéutica	6,5
Colaborador	
Sra. Andrea Hinojosa M. Bioquímico	

Santiago - Chile
2012

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer al proyecto “Technology Innovations Applied to Novel Fresh-cut Leaf Vegetables: Quality and Food Safety” (N° 1090059, FONDECYT-CONICYT, Chile) y a la empresa Más Vida por permitirme desarrollar esta memoria de título.

A mis profesores guías Víctor Escalona y Carmen Sáenz por su apoyo, comprensión y orientación durante el desarrollo de esta memoria.

A los integrantes del CEPOC Andrea Hinojosa, Daniela Cárdenas y Alejandra Machuca por su gran ayuda en la realización de esta memoria. Además agradecer a Javier Obando por su colaboración y sugerencias en el análisis estadístico.

Quiero agradecer de manera especial a mis padres Rosa y Jaime, ya que por su gran esfuerzo, cariño y apoyo constante me dieron la oportunidad de una educación profesional. Muchas gracias, sin ustedes nada de esto sería posible. Además agradecer a mi hermano César por su constante ayuda y paciencia.

A Mario y a mi hija Laura, por ser la mayor motivación de seguir adelante con esto a pesar de todo.

ÍNDICE

	Pág.
ÍNDICE	1
RESUMEN	3
ABSTRACT	4
INTRODUCCIÓN	5
Objetivo	8
MATERIALES Y MÉTODOS	9
Lugar de trabajo	9
Materiales	9
Metodología	9
Parámetros medidos	12
Determinación de la tasa respiratoria	12
Medición de gases bajo envasado en atmósfera modificada	12
Color	13
Análisis microbiológico	13
Determinación de la calidad sensorial	14
Diseño experimental y análisis estadístico	14
Diseño de un envase para brotes de alfalfa	15
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
Ensayo I	17
Tasa respiratoria	17
Concentración de gases al interior de las bolsas	18
Color	19
Luminosidad	19
Croma	20
Tono	20
Recuentos microbiológicos	22
Aerobios mesófilos	22
Enterobacterias	23
Psicrófilos	25
Hongos y levaduras	27
Evaluación sensorial	27
Apariencia	27
Intensidad de color	27
Turgencia	28
Sabores extraños	28
Ensayo II	31
Tasa respiratoria	31
Concentración de gases al interior de la bolsas	32
Color	34
Luminosidad	34
Croma	34
Tono	35

Recuentos microbiológicos	38
Aerobios mesófilos	38
Enterobacterias	39
Psicrófilos	41
Hongos y levaduras	43
Evaluación sensorial	44
Apariencia	44
Intensidad de color	44
Turgencia	44
Sabores extraños	44
CONCLUSIONES	47
BIBLIOGRAFÍA	48
ANEXO I	54
ANEXO II	55
APÉNDICE I	56
APÉNDICE II	60

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de distintos sanitizantes como hipoclorito de sodio (NaClO 100 mg L^{-1}), dióxido de cloro (ClO_2 5 y 10 mg L^{-1}), ácido peroxiacético (APA 50 y 90 mg L^{-1}) y clorito de sodio acidificado (CSA 250 y 500 mg L^{-1}) sobre la carga microbiana y calidad sensorial en brotes de alfalfa envasados en atmósfera modificada pasiva conservados a 5° C por 7 días. En dos ensayos independientes se emplearon las mismas dosis de sanitizantes, pero diferentes bolsas con diferente permeabilidad a los gases. Los parámetros evaluados fueron respiración, concentración de gases en el interior de las bolsas, color, carga microbiana y calidad sensorial.

El uso de bolsas de baja permeabilidad utilizadas en el Ensayo I, junto con las dosis de sanitizantes no fue efectivo para mantener la calidad sensorial de los brotes de alfalfa. Las concentraciones alcanzadas al interior de las bolsas fueron de 18,2 a 27% de CO_2 y 1 a 1,2% de O_2 tras 7 días. En todos los tratamientos se obtuvo una reducción de los recuentos en aerobios mesófilos, psicrófilos y enterobacterias al utilizar los distintos sanitizantes. El CSA 250 y 500 presentaron los recuentos más bajos, sin embargo afectaron negativamente el color, y calidad sensorial de los brotes.

En el Ensayo II, las concentraciones al interior de las bolsas fueron de 2,7 a 4,1% de CO_2 y 3,6 a 6,7% de O_2 y al igual que el Ensayo I, el CSA 500 fue el sanitizante que presentó los menores recuentos en aerobios mesófilos, enterobacterias y psicrófilos con 4,6, 4,8 y 5,5 $\log \text{ufc g}^{-1}$, respectivamente, seguido por CSA 250 con 5,4, 5,3 y 5,7 $\log \text{ufc g}^{-1}$, respectivamente, sin afectar las características sensoriales. En ambos ensayos fue el NaClO (Bp) el tratamiento que registró recuentos más altos en mesófilos y enterobacterias, lo que confirmaría que el envasado en AM mantiene mejor la calidad microbiológica que el envasado en contacto con el aire. Por tanto los brotes de alfalfa lavados con CSA 250 y 500 en combinación con un envasado en atmósfera modificada disminuyeron la carga microbiana sin afectar la calidad sensorial, manteniéndose dentro de la media aceptable durante los 7 días a 5° C.

Palabras claves: mínimo proceso, hortalizas, sanitizantes, calidad sensorial.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of different sanitizers as sodium hypochlorite (NaClO 100 mg L^{-1}), chlorine dioxide (ClO_2 5 and 10 mg L^{-1}), peroxyacetic acid (APA 50 and 90 mg L^{-1}) and acidified sodium chlorite (ASC 250 and 500 mg L^{-1}) on the microbial and sensory quality in packaged alfalfa sprouts passive modified atmosphere maintained at 5°C for 7 days. In two independent assays the same doses of sanitizers, and bags with different permeability to gases were used. The parameters evaluated were breathing, gas concentration inside the bags, color, microbial load and sensory quality.

The use of low permeability bags used in the assay I, along with doses of sanitizers was not effective to maintain the sensory quality of alfalfa sprouts. Concentrations achieved within the bags were 18.2 to $27\% \text{ CO}_2$ and 1 to $1.2\% \text{ O}_2$ after 7 days. In all treatments a reduction in aerobic plate counts, mesofilos, psychrofiles and enterobacteriaceae using different sanitizers was observed. The CSA 250 and 500 showed the lowest counts, but affected negatively the color and sensory quality of sprouts.

In assay II, the concentrations inside the bags were from 2.7 to $4.1\% \text{ CO}_2$ and 3.6 to $6.7\% \text{ O}_2$ and just that the assay I, CSA 500 was the sanitizer that presented the lower aerobic plate counts, enterobacteriaceae and psychrophiles with 4.6 , 4.8 and $5.5 \text{ log CFU g}^{-1}$ respectively, followed by CSA 250 with 5.4 , 5.3 and $5.7 \text{ log cfu g}^{-1}$ respectively, without affecting the sensory characteristics. In both assays was the NaClO (BP) treatment to higher counts recorded plate and Enterobacteriaceae, which would confirm that the packaging AM maintains the microbiological quality better than the packaging in contact with air. So alfalfa sprouts washed with CSA 250 and 500 in combination with modified atmosphere packaging decreases the microbial load without affecting the sensory quality, while remaining within acceptable average for 7 days at 5°C .

Keywords: minimal process, vegetables, sanitizers, sensory quality.

INTRODUCCIÓN

Las ventas en el mercado de productos listos para servir han aumentado rápidamente en las últimas décadas como cambio en las actitudes de los consumidores (Rico *et al.*, 2007). Este aumento se debe en gran parte a los nuevos hábitos de compra y una mayor conciencia sobre la importancia de consumir productos sanos, frescos, bajos en calorías, sin aditivos e higiénicamente seguros. Para satisfacer estas necesidades surgieron los productos mínimamente procesados en fresco (MPF) (Ahvenainen, 1996).

El mínimo proceso en fresco en hortalizas consiste en productos que tras la selección, pueden ser cortados, lavados y envasados en atmósfera modificada y conservados a temperaturas de refrigeración. El producto mantiene sus propiedades naturales y frescas, pero con la diferencia que ya viene listo para consumir (Ahvenainen, 1996; Sánchez, 2003). Entre las ventajas de estos productos está evitar el lavado y cortado en el hogar, en restaurantes e instituciones, disminuyendo los tiempos de preparación de las comidas y los costos de transporte, ya que en su proceso se llega a eliminar entre un 40 y 50% de la materia prima original. Además, permite un mayor control de cada porción, una disminución en los costos de preparación, una reducción de los problemas por contaminación, una menor demanda por espacio de refrigeración y un producto de buena calidad y uniformidad listo para su consumo (Escalona y Luchsinger, 2008).

Los inconvenientes que presentan las hortalizas MPF derivan de su condición de producto perecedero, como del tratamiento al que se ven sometidas. Los productos vegetales son organismos vivos que mantienen procesos fisiológicos luego de la cosecha. Las hortalizas en general, por su elevada actividad metabólica y su gran sensibilidad al desarrollo de microorganismos, son productos de corta vida útil (Sánchez, 2003). Otros inconvenientes se deben a las heridas que sufren los vegetales durante el proceso, lo que provoca una drástica disminución de su vida útil. Además, se produce el aumento de la actividad respiratoria y transpiratoria, actividad enzimática, proliferación microbiana y aumento en la emisión de etileno a causa de los cortes, provocando que la senescencia se acelere (Del Nobile *et al.*, 2007; Escalona y Luchsinger, 2008). Para prolongar la vida útil de estos productos se debe regular la temperatura, la atmósfera, la humedad relativa y el saneamiento, además de utilizar materias primas con óptima calidad (Watada *et al.*, 1996).

Dentro de las técnicas para prolongar la vida útil de los productos MPF se utiliza el envasado en atmósfera modificada (EAM). Esta técnica se aplica en diversos tipos de productos, donde la mezcla de gases en el envase depende del tipo de producto, del material y espesor del envase y de la temperatura de envasado y almacenamiento (Krishi, 2009). En el EAM se eliminan o agregan gases para crear una composición atmosférica alrededor del producto que sea diferente a la del aire (78% de N₂, 21% de O₂, y 0% de CO₂). Generalmente esto involucra la disminución del oxígeno y/o el aumento del dióxido de carbono. El uso de las atmósferas modificadas debe considerarse como un complemento al manejo de la temperatura y humedad relativa adecuada (Kader, 2002a).

La alfalfa (*Medicago sativa* L.), es una planta herbácea de la familia de las Fabáceas que florece en primavera. Es originaria de Asia y África del Norte, aunque en la actualidad se cultiva en países de clima templado de todo el mundo. Es una planta con alta concentración de sales, gracias a las características de sus raíces, que son capaces de asimilar los minerales del suelo en mayor proporción que otras plantas (Anónimo, 2007).

Los brotes son pequeñas plantas consumidas poco después de la germinación, se producen a partir de semillas vegetales. La madurez de cosecha está regulada principalmente por las condiciones fijadas para la germinación (inducción de brote). La longitud del brote deseada es el índice de madurez principal y la cosecha se hace en un número relativamente fijo de días después de la aparición de la radícula. Dependiendo del tipo de semilla, la cosecha ocurre generalmente de 3 a 8 días después de la germinación. En el caso de los germinados de alfalfa la longitud para la madurez de cosecha es de 26 a 38 mm (Suslow y Cantwell, 2006).

Los brotes de alfalfa son populares para el consumo humano en ensaladas, sándwiches y cocina oriental (Resh, 2001), contienen vitamina C, B9 o ácido fólico, E, K, pro-vitamina A y sus minerales más abundantes son el potasio, magnesio, calcio, hierro y cinc (Anónimo, 2007).

Debido a que los brotes se consumen crudos, las personas están expuestas a distintos riesgos, ya que por su composición química y alto contenido de humedad, son un excelente vehículo de enfermedades entéricas. Desde 1995, el consumo de brotes de alfalfa ha estado involucrado en brotes infecciosos causados principalmente por *Escherichia coli* y *Salmonella* (González, 2006). Una evaluación realizada por la European Food Safety Authority (EFSA) y la European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) en junio del 2011, determinó que las intoxicaciones producidas en Alemania y Francia por la cepa de *Escherichia coli* enterohemorrágica 0104:H4, productora de la toxina shiga se debieron al consumo de semillas germinadas crudas.

Las hortalizas mínimamente procesadas tienen una carga microbiana inicial relativamente alta que va de 3 a 6 log ufc/g. El uso de un agente de descontaminación en el agua de lavado se aplica con frecuencia en el proceso de producción para mejorar la seguridad y prolongar la vida útil de estos productos (Vandekinderen *et al.*, 2009a).

Numerosos tratamientos con sustancias químicas en solución se han evaluado para analizar su efectividad en la destrucción de *Salmonella* y *Escherichia coli* O157:H7 en brotes de alfalfa. El hipoclorito de sodio, dióxido de cloro, ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, etanol, entre otros han mostrado diferentes rangos de eficacia frente a estos patógenos (Scouten y Beuchat, 2002).

El hipoclorito de sodio es el agente de descontaminación de uso común en los productos frescos. Sin embargo, presenta varios inconvenientes asociados a su uso, su limitada eficacia y la formación de subproductos clorados como los trihalometanos y cloraminas han

llevado a la búsqueda de agentes de descontaminación alternativas, como el ácido peroxiacético y el dióxido de cloro (Artés *et al.*, 2009).

Generalmente para la desinfección de productos, se utiliza hipoclorito de sodio en concentraciones de 50 a 200 mg L⁻¹ con un tiempo de contacto de 1 o 2 minutos (Beuchat, 1998). El efecto antimicrobiano de hipoclorito de sodio depende de la cantidad de cloro libre (en forma de ácido hipocloroso) presentes en el agua que entra en contacto con las células microbianas (Bartz *et al.*, 2001). La disociación del ácido hipocloroso depende del pH y el cloro se consume en contacto con la materia orgánica o el alimento (González *et al.*, 2004). Por otra parte, pierde su actividad con la exposición al aire, la luz y los metales. Otros factores que influyen en la eficiencia de descontaminación del hipoclorito de sodio es el tiempo de tratamiento y la temperatura a la cual se realiza el procesamiento (Hilgren *et al.*, 2007).

En espinacas, el uso de hipoclorito de sodio a una concentración de 100 mg L⁻¹, con un tiempo de contacto de 5 minutos, redujo considerablemente los niveles de *E. coli O157:H7* después de 7 días de almacenamiento (Lee y Baek, 2008). La lechuga lavada en agua con hipoclorito de sodio (100 mg L⁻¹, pH 8,7) en comparación con la lechuga sin lavar redujo el recuento de aerobios mesófilos en 1 log ufc g⁻¹ después de 6 días de almacenamiento a 4° C (Delaquis *et al.*, 2003). En lechuga recién cortada el uso de 100 a 200 mg L⁻¹ de hipoclorito de sodio provocó una reducción de 0,9 a 1,2 log ufc g⁻¹, en el recuento de microorganismos aerobios mesófilos (García *et al.*, 2003) y en zanahorias sin cortar, almacenadas por 9 días a 4° C se produjo una reducción de 1,7 log ufc g⁻¹ (Klaiber *et al.*, 2005).

El dióxido de cloro (ClO₂) ha recibido recientemente mayor atención como un desinfectante en la industria de alimentos, debido a su eficacia menos limitada por el pH y la cantidad de materia orgánica (Beuchat, 2000). Es un fuerte agente oxidante que se aplica en solución o en estado gaseoso mostrando propiedades bactericida, fungicida y viricida (Vandekinderen *et al.*, 2009a). Las soluciones de ClO₂ se usan principalmente en productos MPF (Du *et al.*, 2002). Tiene amplios efectos biocidas y sus efectos antimicrobianos se deben principalmente a un efecto oxidativo en las proteínas de la superficie de la membrana y las enzimas implicadas en el transporte (Jeng y Woodworth, 1990). Además, a diferencia del cloro, el dióxido de cloro, no forma cantidades importantes de subproductos clorados (Gómez *et al.*, 2009).

En lechuga romana y zanahorias baby picada y lavada durante 5 minutos con 10 mg L⁻¹ de dióxido de cloro los recuentos de *E. coli O157:H7* se reducen significativamente. Al utilizar 10 mg L⁻¹ de ClO₂ durante 10 minutos se obtuvo una reducción de 1,5 a 2 log ufc g⁻¹ (Singh *et al.*, 2002a, b).

El ácido peroxiacético (APA) es conocido como un fuerte oxidante con un amplio espectro de actividad antimicrobiana. Este compuesto puede ser una alternativa útil al hipoclorito de sodio, ya que no forma compuestos dañinos para la salud como los trihalometanos (Álvaro *et al.*, 2009). Es comercializado como una sustancia que contiene ácido acético, peróxido de hidrógeno, ácido peracético y agua. La eficacia de la desinfección del APA para los

microorganismos es mayor para bacterias que para virus y hongos (Kitis, 2004) y se puede usar en un amplio rango de pH de 3,0 a 7,5 (Sapers *et al.*, 1999). Su acción antimicrobiana se refiere principalmente a la producción de especies reactivas del oxígeno, que puede dar lugar a daños en el ADN y a los lípidos. También se basa en la desnaturalización de proteínas y enzimas y al incremento de la permeabilidad de la pared de la célula de los microorganismos (Koivunen y Heinonen-Tanski, 2005; Hilgren *et al.*, 2007).

Una cantidad recomendada de ácido peroxiacético para la desinfección de la superficie de los alimentos es de 50 mg L⁻¹ (Stampi *et al.*, 2001). Independientemente de la aplicación (inmersión o aspersion), la reducción obtenida en el recuento de mesófilos y coliformes después de un tratamiento con APA en lechuga recién cortada varió entre 0,5 y 1,5 log ufc g⁻¹ (Allende *et al.*, 2008).

El clorito de sodio acidificado es otra alternativa y se aplica en superficies de alimentos para reducir la carga microbiana. La eficacia para mantener la calidad y reducir el recuento de patógenos está influenciada por la concentración del desinfectante y el tiempo de contacto. La Food Standards Australia New Zealand (FSANZ) (2003) señaló que la capacidad antibacteriana del clorito de sodio acidificado puede atribuirse a la degradación del ácido cloroso. Además, este agente posee una fuerte actividad antimicrobiana contra microorganismos patógenos y otros causantes del deterioro. Al utilizar 1000 mg L⁻¹ de clorito de sodio acidificado durante 2 minutos en zanahorias rayadas se obtuvo una disminución de 4,5 log ufc g⁻¹ en el recuento de *E. coli* O157: H7 y una reducción de 5,3 log ufc g⁻¹ en comparación con el control (González *et al.*, 2004).

En zanahorias rayadas el uso de clorito de sodio acidificado en concentraciones de 250 y 500 mg L⁻¹ a pH 2,55 y 2,47, durante 2 minutos reduce de manera eficaz las poblaciones de *Salmonella*, *E. coli* O157:H7 y *Listeria monocytogenes* (Ruiz *et al.*, 2006a).

Objetivo

Evaluar el efecto de tratamientos sanitizantes sobre la carga microbiana y la calidad sensorial en brotes de alfalfa envasados en atmósfera modificada almacenados a 5° C por 7 días.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de trabajo

El trabajo experimental se realizó en el Centro de Estudios Postcosecha (CEPOC) y los análisis sensoriales y microbiológicos 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 fue financiada por el proyecto Fondecyt N° 1090059 “Technology Innovations Applied to Novel Fresh-cut Leaf Vegetables: Quality and Food Safety”.

Materiales

Los brotes de alfalfa (*Medicago sativa* L.) se obtuvieron de un huerto comercial perteneciente a la empresa Más Vida S.A. ubicada en la Comuna de Calera de Tango, Región Metropolitana. Los brotes fueron producidos mediante un sistema de cultivo hidropónico en cámaras climatizadas totalmente automatizadas, cultivados a una temperatura de 18-20° C y 90% de HR. En la cosecha se retiró completamente el germinado, sin corte.

Las soluciones sanitizantes que se utilizaron son las siguientes: hipoclorito de sodio (NaClO) (cloro 4,9%, Clorox, Chile), dióxido de cloro (ClO₂) (Winzaclor-5 5%, Winkler Ltda., Chile), ácido peroxiacético (APA) (Tsunami-100, Ecolab, Chile) y clorito de sodio acidificado (CSA) (80% NaClO₂, Sigma-Aldrich, Alemania).

Los brotes de alfalfa se envasaron en bolsas de plástico modelo BB4L con permeabilidad normal al oxígeno de 6 – 14 mL m⁻² d⁻¹ atm a 24° C y a 0% de humedad relativa para el Ensayo I (Sealed Air, CRYOVAC Chile, 2009) y para el Ensayo II se utilizaron bolsas plásticas modelo PD-961EZ con permeabilidad al oxígeno de 6.902 mL m⁻² d⁻¹. Las dimensiones de las bolsas fueron de 28 x 12 cm en ambos ensayos.

Metodología

Se efectuaron dos ensayos, el primero se realizó en octubre del 2009 y se utilizaron bolsas plásticas BB4L. El segundo ensayo se realizó en diciembre del mismo año y se utilizaron bolsas plásticas PD-961EZ. En ambos casos se realizaron 8 tratamientos con las mismas concentraciones.

Los brotes de alfalfa recién cosechados se transportaron en condiciones refrigeradas al laboratorio y previo al procesamiento se efectuó una selección en el interior de una cámara limpia acondicionada eliminando aquellos brotes que no presentaban las características típicas de la materia prima: color, turgencia (pérdida de agua), daño físico, podredumbres, etc. Se caracterizó una muestra representativa de la materia prima de aproximadamente 1 kg. Los brotes se almacenaron a 0° C durante 24 h hasta su procesamiento. Desde las cámaras de almacenamiento se llevaron a la cámara limpia acondicionada y se trabajó a 8° C. Posteriormente se lavaron con agua potable a 5° C durante 5 min con el fin de eliminar cualquier material extraño (metales, insectos, etc). Luego los brotes se sometieron a una inmersión en las distintas soluciones sanitizantes durante 3 min. Los tratamientos, concentraciones y pH se detallan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Concentraciones y pH de los distintos tratamientos utilizados en los brotes de alfalfa.

Tratamiento	Tratamientos	Concentración (mg L ⁻¹)	pH	Envasado
1	Hipoclorito de sodio (NaClO)	100	8,76	Bp*
2	Hipoclorito de sodio (NaClO)	100	8,71	AMP**
3	Dióxido de cloro (ClO ₂)	5	8,06	AMP
4	Dióxido de cloro (ClO ₂)	10	7,86	AMP
5	Ácido peroxiacético (APA)	50	4,92	AMP
6	Ácido peroxiacético (APA)	90	4,37	AMP
7	Clorito de sodio acidificado (CSA)	250	2,86	AMP
8	Clorito de sodio acidificado (CSA)	500	2,97	AMP

* Bp: Bolsa perforada

** AMP: Atmósfera modificada pasiva

Posteriormente se escurrieron sobre una malla de acero inoxidable durante 5 min y luego se secaron en una centrifuga manual por 2 min. Se envasaron aproximadamente 50 g de brotes utilizando una máquina selladora (Impluse Sealer Tew Equipment Company, Taiwán) mediante termosellado en bolsas plásticas. Esto permitió generar una atmósfera modificada pasiva, que se genera de la permeabilidad de la película plástica a los gases por la respiración de los brotes (Escalona *et al.*, 2008).

En el caso del primer tratamiento (NaClO, Bp) los brotes se envasaron en una bolsa con siete perforaciones de 0,7 mm de diámetro con el propósito de obtener una atmósfera de aire y alta humedad relativa ($O_2 \geq 19\%$ y $CO_2 \leq 1\%$). Todas las bolsas con 50 g de producto se almacenaron a 5° C durante un periodo de 7 días. En la Figura 1 se presenta la línea de flujo del procedimiento.

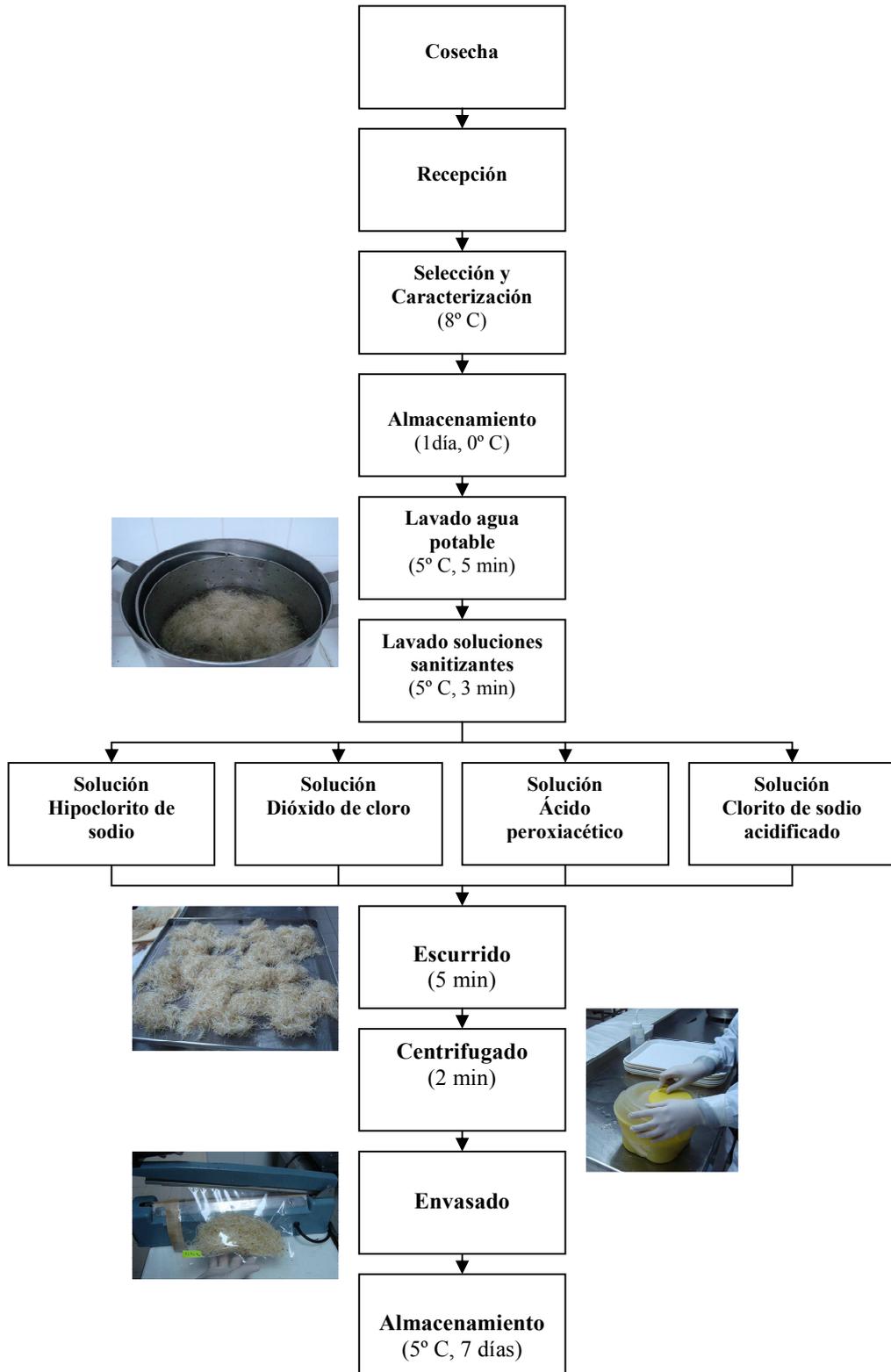


Figura 1. Diagrama de flujo del procesamiento en fresco de brotes de alfalfa.

Parámetros medidos

Las evaluaciones en los brotes de alfalfa se realizaron los días 1, 4 y 7 de almacenaje a 5° C.

Determinación de la tasa respiratoria

Para determinar la tasa respiratoria de los brotes de alfalfa se utilizó el método estático descrito por Kader (2002b). Se colocaron 50 g de brotes en recipientes de vidrio de 1 L y se cerraron herméticamente durante 1 a 2 horas, posteriormente se tomaron muestras gaseosas de 10 mL con una jeringa de plástico a través de un septum de silicona ubicado en la tapa del frasco. La composición del espacio de cabeza fue monitoreada mediante el uso de un cromatógrafo de gases Hewlett Packard modelo 5890 serie II (California, EE.UU.). Las temperaturas del inyector, horno y detector fueron 50°, 50° y 200 °C respectivamente. Como gas transportador se utilizó helio (Indura, Chile) a una presión de 50 psi. Se utilizó un estándar de CO₂ de 10% (Indura, Chile) como patrón. La tasa respiratoria se expresó como la producción de CO₂ (mg kg⁻¹ h⁻¹) y las mediciones se realizaron a lo largo del almacenamiento.



Figura 2. Medición de la tasa respiratoria.

Medición de gases bajo envasado en atmósfera modificada

Los cambios en las concentraciones de O₂ y CO₂ en el interior de las bolsas termoselladas se determinaron los días 0, 1, 4 y 7 a 5° C, tomando muestras gaseosas de 10 mL con una jeringa de plástico a través de un trozo de cinta adhesiva colocada en cada bolsa. Las evaluaciones se realizaron mediante un cromatógrafo de gases Hewlett Packard modelo 5890 serie II (California, EE.UU.).

Color

El color se midió en 5 puntos sobre una placa Petri completamente llena con brotes de alfalfa para evitar las interferencias en las medidas de color según el método descrito por Vandekinderen *et al.* (2009b) (Figura 3). Para conocer el color original de la materia prima se realizaron tres mediciones a brotes de alfalfa antes de ser lavados con soluciones sanitizantes.

Las mediciones de color se realizaron por medio de un colorímetro compacto triestímulo. En el Ensayo I se utilizó un Chroma meter CR-400/410 Konica y para el Ensayo II un Minolta CR-300 Tokio, Japón. Los valores se expresaron en los parámetros de color del sistema CIELab, luminosidad (L), croma (C*) y tono (Hab) (McGuire, 1992).



Figura 3. Medición de color

Análisis microbiológico

El análisis se realizó al momento de ser envasados los brotes y después de 4 y 7 días. Se tomó una muestra de 10 g por tratamiento. Además se evaluó una muestra inicial de materia prima sin lavar. Las muestras se mezclaron con 90 mL de agua peptonada 1% (Merck) durante 1 minuto dentro de una bolsa estéril y se homogenizó en un mezclador (IUL, Masticator Classic). Las diluciones se hicieron en 9 mL de agua peptonada 1%.

- **Aerobios mesófilos (RAM):** se realizó una siembra en profundidad en el medio agar de conteo de placas (DIFCO, Estados Unidos), las condiciones de incubación fueron a 37° C durante 48 h.
- **Bacterias psicrófilas:** se realizó una siembra en profundidad en el medio agar de conteo de placas (DIFCO, Estados Unidos) y se incubaron a 5° C durante 7 días.

- **Enterobacterias:** se realizó una siembra en profundidad en el medio de cultivo Agar Eosina y Azul de Metileno (EMB) (OXOID, Reino Unido) y las condiciones de incubación fueron a 37° C durante 48 h.
- **Hongos y levaduras:** se sembró en superficie en el medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (OXOID, Reino Unido) y se incubaron por 5 días a 25° C en ambos casos.

Los recuentos totales se expresaron en unidades logarítmicas de unidades formadoras de colonias por gramo ($\log \text{ufc g}^{-1}$).

Determinación de la calidad sensorial

Se utilizó el método de análisis descriptivo-cuantitativo, aplicado a un panel de 10 jueces semientrenados. Según la Asociación Española de Normalización y Certificación (AENOR) (1997) y la norma Española UNE 87-020-93 se utilizó una escala lineal de intensidad no estructurada de 0 a 15 cm. Se evaluó la apariencia, intensidad de color, turgencia y presencia de sabores extraños. En el caso de la apariencia, a cada juez se le entregó una bolsa por tratamiento identificada con un código de tres números seleccionado al azar y para el sabor, las muestras de cada tratamiento se colocaron en pocillos identificados de la misma forma. Los resultados se interpretaron de acuerdo con Araya (2007) (Anexo II). En ambos ensayos se utilizó la pauta de evaluación sensorial de panel entrenado que se muestra en el Anexo I. Se utilizó una puntuación sobre 7,5 como la media aceptable.

Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, independiente para cada ensayo, con 8 tratamientos y 3 repeticiones por tratamiento. En el caso del análisis sensorial, el diseño fue en bloques aleatorios, correspondiendo cada bloque a un evaluador. La unidad experimental fue la bolsa con 50 g de muestra de brotes de alfalfa. Los datos obtenidos se evaluaron con un análisis de varianza (ANDEVA) y en el caso de existir diferencias significativas al 5% entre tratamientos, se aplicó el test de comparaciones múltiples de TUKEY. Todos los resultados se analizaron estadísticamente mediante el programa de software estadístico SAS JMP.

Diseño de un envase para brotes de alfalfa

Para el diseño adecuado de un envase que permita prolongar la vida útil de los brotes de alfalfa se aplicó un modelo matemático que permitió calcular la permeabilidad al O₂ de la bolsa utilizada. Los cálculos se realizaron según lo planteado por Artés (1976, citado por Escalona, 2003).

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:

Para O₂

$$RO_2 \cdot M = S \cdot PO_2 \cdot (0,21 - [O_2]_{env}) \cdot 1/24$$

$$PO_2 = \frac{RO_2 \times M \times 24}{S \times (0,21 - O_{2env})} \quad (1)$$

En donde:

RO₂: actividad respiratoria O₂ consumido (mL kg⁻¹ h⁻¹)

M: peso del producto (kg)

S: superficie total del envase (m²)

0,21: concentración de O₂ atmosférico (%)

[O₂]_{env}: concentración de O₂ en el interior del envase (%)

1/24: conversión de horas a días (d/h)

PO₂: permeabilidad al O₂ de la película plástica (mL m⁻² d⁻¹)

Existe escasa información sobre la conservación de brotes de alfalfa, sin embargo según Kader (2002a), los brotes de poroto se clasificarían de acuerdo a su tasa respiratoria entre 40 a 60 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ a 5 °C, siendo similar a los brotes de alfalfa. Además en hortalizas de hoja como perejil, espinaca y cilantro se recomiendan concentraciones de O₂ de 5 a 8 %.

Para los cálculos de permeabilidad se utilizó una tasa respiratoria de 60 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ a 5° C. Se envasaron 50 g de brotes en bolsas de 0,0308 m². Se consideró como concentración adecuada para mantener la calidad de los brotes entre un 5% O₂.

Para convertir mg de O₂ a mL de O₂ se dividieron los mg por el factor de conversión a 5° C 1,94.

Cálculo de permeabilidad:

Tasa respiratoria: $60 \text{ mg O}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($30,92 \text{ mL O}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$)

Concentración esperada de O_2 : 5%

Peso del producto: 50 g

Superficie total del envase: $0,0336 \text{ m}^2$

Permeabilidad al O_2

Sustituyendo los valores en la formula (1) se obtiene:

$$PO_2 = \frac{30,92 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1} \cdot 0,05 \text{ kg} \cdot 24}{0,0336 \text{ m}^2 \cdot (0,21 - 0,05)}$$

$$PO_2 = 6.901,8 \text{ mL m}^{-2} \text{ d}^{-1}$$

De acuerdo con estos cálculos, la permeabilidad para O_2 de la bolsa utilizada en el Ensayo II, debería ser $6.901,8 \text{ mL m}^{-2} \text{ d}^{-1}$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayo I

Tasa respiratoria

En los brotes de alfalfa se observó una tendencia a la disminución de la tasa respiratoria a lo largo del almacenamiento para todos los tratamientos (Figura 4). El día 1, la respiración más baja se obtuvo al usar CSA 500 con un valor de $54 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y los brotes tratados con NaClO 100 obtuvieron la tasa más alta de $89 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$; este último presentó diferencias significativas en relación a los demás tratamientos (Apéndice I, Cuadro 1). En el día 7, los tratamientos APA 90 y el CSA 500 obtuvieron los valores más bajos con $42,4$ y $41,7 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ respectivamente y los valores más altos los obtuvo el NaClO 100 con $64 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Figura 4). Estos valores más altos del NaClO 100 durante el almacenamiento pudieron deberse a un aumento en la carga microbiana.

Los elevados valores de la tasa respiratoria obtenidos el día 1 podrían ser consecuencia de la aplicación de los sanitizantes y la manipulación en el lavado y secado durante el procesamiento, los cuales causarían un estrés fisiológico en los brotes (Martínez-Sánchez, 2008; Allende *et al.*, 2009). Sin embargo, tras estos primeros días la tasa respiratoria tiende a estabilizarse (Silveira, 2009).

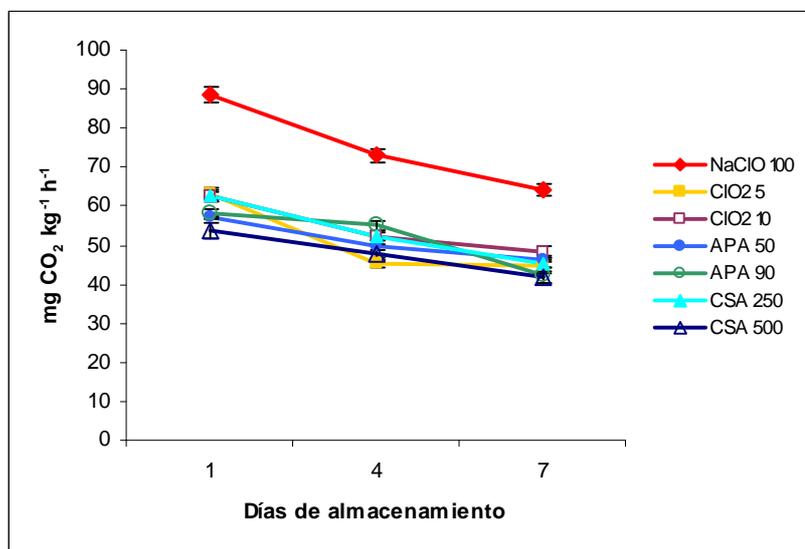


Figura 4. Evolución de la tasa respiratoria en brotes de alfalfa lavados con distintos sanitizantes y conservados durante 7 días a 5°C . Los valores son la media \pm ES ($n=3$).

Concentración de gases al interior de las bolsas

A lo largo del almacenamiento se observó que las concentraciones CO_2 fueron aumentando en todos los tratamientos (Figura 5). En el primer día de evaluación los sanitizantes APA 90 y el CSA 500 obtuvieron los valores significativamente más bajos de 17,6 y 16,4% de CO_2 respectivamente (Apéndice I, Cuadro 2). Tras 4 días, las concentraciones de CO_2 aumentaron hasta un rango de 17,4 a 23%, siendo el CSA 500 el sanitizante que obtuvo el valor más bajo de 17,4% (Figura 5). El día 7, se observó que las concentraciones significativamente más bajas de CO_2 la obtuvieron los brotes lavados con CSA 250 y 500 llegando a valores de 18,2 y 20,2% respectivamente (Apéndice I, Cuadro 2). El sanitizante que alcanzó el valor más alto durante el día 7 fue NaClO 100 con 27% de CO_2 (Figura 5). Probablemente la concentración de CO_2 fue más alta al usar NaClO 100, porque este sanitizante mostró una mayor tasa respiratoria que el resto de los tratamientos.

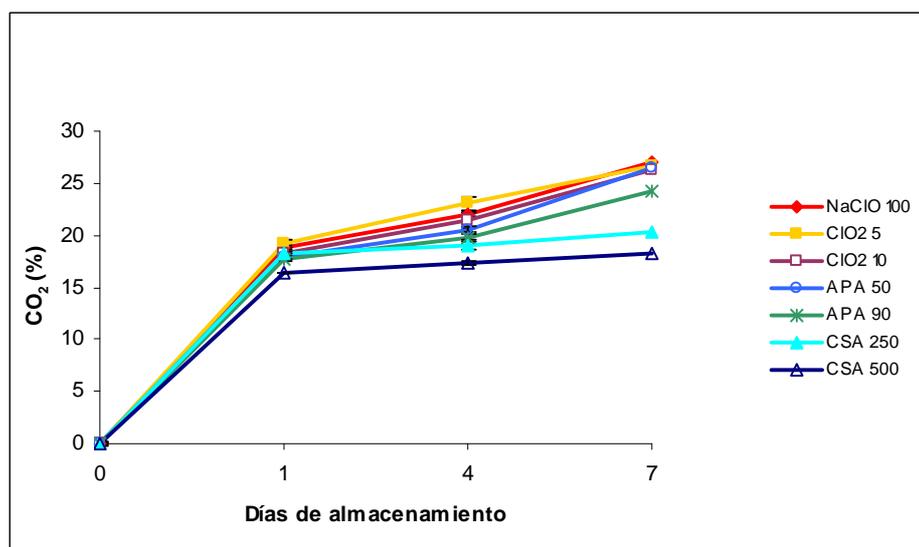


Figura 5. Variación de la concentración de CO_2 en brotes de alfalfa lavados con distintos sanitizantes, envasados bajo atmósfera modificada y conservados durante 7 días a 5° C. Valores corresponden a la media ($n = 3$) \pm Error estándar.

Los brotes de alfalfa lavados con sanitizantes mostraron un fuerte descenso en la concentración de O_2 al primer día de evaluación, alcanzando valores entre 1,2 y 1,5% (Figura 6). Luego de 7 días, las concentraciones disminuyeron hasta alcanzar valores de 1,1 a 1,2% de O_2 , sin diferencias significativas entre tratamientos (Apéndice I, Cuadro 2).

En el caso del NaClO Bp, la composición gaseosa se mantuvo similar a la del aire durante todo el almacenaje y registró valores con 17,8 a 18,8% de O_2 y 0,5 a 0,6% de CO_2 .

La bolsa utilizada en este ensayo tuvo una baja permeabilidad, lo que influyó en la concentración de gases obtenidos a lo largo del almacenamiento, alcanzando elevados porcentajes de CO₂ y bajos de O₂ desde el primer día.

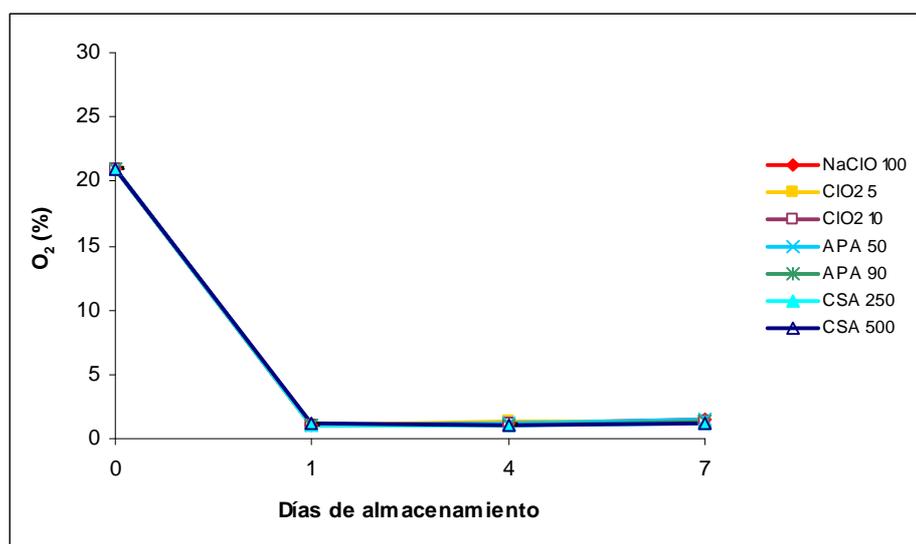


Figura 6. Variación de la concentración de O₂ en brotes de alfalfa lavados con distintos sanitizantes, envasados bajo atmósfera modificada y conservados durante 7 días a 5° C. Valores corresponden a la media (n = 3) ± Error estándar.

En un estudio anterior realizado en zanahorias ralladas, tratadas con 100, 250 y 500 mg L⁻¹ de CSA, envasadas en AM y almacenadas a 5° C, se observó que la concentración de O₂ disminuyó rápidamente en todos los tratamientos en un rango de 0,3 a 0,9 Kpa al séptimo día de almacenamiento, mientras que la concentración de CO₂ mostró un rápido aumento desde el inicio al día 7 del ensayo y se mantuvo estable hasta el día 21 mientras que la concentración de CO₂ más baja la obtuvieron las zanahorias lavadas con 100 mg L⁻¹ de CSA (Ruiz *et al.*, 2006b). En hojas de rúcula tratadas con 100 mg L⁻¹ de NaClO, 250 mg L⁻¹ de CSA y 300 mg L⁻¹ de APA, envasadas en AM y almacenadas durante 15 días a 4° C, se observó una disminución de O₂ de 1 a 3 Kpa y un aumento en las concentraciones de CO₂ de hasta 11 a 13 Kpa y esta tendencia se mantuvo hasta el final de la conservación. (Martínez-Sánchez *et al.*, 2006).

Color

Luminosidad. Al inicio del ensayo la materia prima presentó un valor de 59,2 y todos los tratamientos presentaron valores en un rango de 58 a 60 durante los tres días de evaluación. Además no se observaron diferencias significativas a lo largo del almacenamiento entre los tratamientos (Cuadro 2).

Croma. Los valores de C*, fueron aumentando a lo largo del almacenamiento en todos los tratamientos en comparación con el valor inicial de la materia prima (15,4) (Cuadro 2). En el día 4 de evaluación se obtuvo una diferencia significativa entre el CSA 500 y el NaClO 100 (Bp) con valores de 26,5 y 17,5 respectivamente (Cuadro 2). En el caso de los brotes de alfalfa lavados con CSA 250 y 500 se obtuvieron los valores más altos de 25,1 y 28,2 respectivamente, al final del ensayo (Cuadro 2).

Tono. El día 1, el CSA 500 obtuvo el valor más bajo de 105,8 y el resto de los tratamiento obtuvieron valores en un rango de 108,3 a 109,6 (Cuadro 2). A lo largo del almacenamiento, se observó una disminución en los valores del tono en todos los tratamientos, la disminución en estos valores se asociaría al aumento del color amarillo reflejando un mayor pardeamiento. Los brotes tratados con CSA 250 y 500 obtuvieron los valores más bajos el día 7 de 97,8 y 97,7 respectivamente y fue el NaClO 100 (BP) el sanitizante que obtuvo el valor más alto de 107,3, con diferencias significativas respecto al resto de los tratamientos (Cuadro 2).

La variación en los parámetros de color fue menor en el tratamiento NaClO 100 (Bp), ya que obtuvo un menor valor en el croma y mayor tono, lo que significa que presentó un menor pardeamiento. Mientras que los tratamientos que presentaron la mayor variación en estos parámetros fueron los brotes tratados con CSA 250 y 500 envasados bajo AM, lo que podría atribuirse a las dosis de sanitizantes utilizadas junto con el envasado en AM, además del uso de bolsas de baja permeabilidad.

Artés-Hernández (2007) señala que el beneficio de utilizar el envasado en AM depende del producto, es por eso que cuando se sobrepasan los límites de tolerancia en las concentraciones de O₂ y CO₂ puede causar desordenes fisiológicos como pardeamiento, maduración anormal, etc. En el caso de brotes de poroto chino (*Vigna radiata* L.) conservados en AM que contienen 5% O₂ y 15% CO₂ por 5 días a 8 °C, se observó que se extendió el tiempo de conservación de calidad, una reducción en el pardeamiento y un retraso en la viscosidad de los brotes (Suslow y Cantwell, 2006). En otro estudio realizado en rúcula lavada con distintos sanitizantes, almacenadas a 4° C durante 15 días, se observó que el color de las hojas tendió a la disminución de manera similar en todos los tratamientos, aunque las muestras envasadas en AM se vieron más afectadas que las muestras almacenadas en aire. Esto se debió principalmente a las bajas concentraciones de O₂ y altas concentraciones de CO₂ obtenidas, lo que provocó la condensación dentro de las bolsas utilizadas, producto de la baja permeabilidad de estas (Martínez-Sánchez *et al.*, 2006).

Por otra parte, en un estudio realizado en zanahorias ralladas tratadas con 200 mg L⁻¹ de NaClO, envasadas en AM y almacenadas por 9 días a 4° C, se observó que los valores de los parámetros de color L y C* no tuvieron diferencias significativas a lo largo del almacenamiento (Klaiber *et al.*, 2005). En lechugas iceberg lavada con 100 mg L⁻¹ de NaClO, no se observaron diferencias significativas en los valores de color L, a* y b*, como así también la tonalidad (Hab) y el Croma (C*) (Baur *et al.*, 2005).

Cuadro 2. Evolución del color en brotes de alfalfa luego de 7 días de almacenamiento a 5° C, envasados bajo atmósfera modificada y lavados con distintos sanitizantes. Los valores corresponden a la media (n =3) ± error estándar.

Parámetro	Tratamiento	Días		
		1	4	7
L	NaClO 100 (Bp)	58,8 Aa ¹	57,5 Aa	58,6 Aa
	NaClO 100	58,7 Aa	59,3 Aa	58,1 Aa
	ClO ₂ 5	59,0 Aa	60,6 Aa	57,8 Aa
	ClO ₂ 10	58,6 Aa	60,2 Aa	58,9 Aa
	APA 50	58,4 Aa	59,3 Aa	59,6 Aa
	APA 90	58,2 Aa	61,3 Aa	58,7 Aa
	CSA 250	60,2 Aa	58,2 Aa	59,9 Aa
	CSA 500	59,1 Aa	60,5 Aa	60,6 Aa
C*	NaClO 100 (Bp)	16,7 Aa	17,5 Aa	20,5 Aa
	NaClO 100	16,9 Aa	21,1 ABa	22,3 Aa
	ClO ₂ 5	17,2 Aa	21,7 ABab	23,9 Ab
	ClO ₂ 10	16,3 Aa	22,2 ABab	23,4 Ab
	APA 50	16,3 Aa	20,3 ABab	24,6 Ab
	APA 90	16,7 Aa	21,5 ABab	23,5 Ab
	CSA 250	20,4 Aa	24,0 ABab	28,2 Ab
	CSA 500	20,0 Aa	26,5 Bab	25,1 Ab
Hab	NaClO 100 (Bp)	109,0 Aa	107,3 Ba	107,3 Ba
	NaClO 100	108,3 Ab	104,3 ABab	99,9 Aa
	ClO ₂ 5	108,6 Ab	102,9 ABa	100,8 Aa
	ClO ₂ 10	109,0 Ab	102,3 ABa	101,5 ABa
	APA 50	108,3 Ab	101,7 ABa	99,1 Aa
	APA 90	109,6 Ab	102,5 ABa	99,6 Aa
	CSA 250	108,6 Ab	99,7 Aa	97,8 Aa
	CSA 500	105,7 Ab	99,8 Aa	97,7 Aa

¹ Letras mayúsculas distintas en cada columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0,05$), letras minúsculas distintas en cada fila indican diferencias significativas durante el tiempo de almacenamiento ($P \leq 0,05$), según la prueba de rango múltiple Tukey.

Recuentos microbiológicos

Aerobios mesófilos. La carga inicial de la materia prima fue de $4,6 \pm 0,3 \log \text{ ufc g}^{-1}$, luego de lavar los brotes con los distintos sanitizantes, se observó una disminución en los recuentos de estas bacterias en todos los tratamientos de 1 a $2,8 \log \text{ ufc g}^{-1}$ (Figura 7). Los sanitizantes que mayor reducción lograron fueron el ClO_2 5 y CSA 250 con reducciones de 2,3 y $2,8 \log \text{ ufc g}^{-1}$ respectivamente (Figura 7).

El día 4, fueron el ClO_2 5 y el CSA 250 los sanitizantes que presentaron los recuentos más bajos con 2,9 y $2,5 \log \text{ ufc g}^{-1}$ respectivamente y el resto de los tratamientos obtuvieron recuentos de 3,1 a $4 \log \text{ ufc g}^{-1}$ (Figura 8). Al final de almacenamiento se observó que los recuentos de aerobios mesófilos aumentaron cerca de $1 \log \text{ ufc g}^{-1}$ en todos los tratamientos y fueron el CSA 250, CSA 500 y el ClO_2 5 aquellos que alcanzaron los recuentos significativamente más bajos al final de la evaluación de 3,1, 3,2 y $3,3 \log \text{ ufc g}^{-1}$ respectivamente (Apéndice I, Cuadro 4).

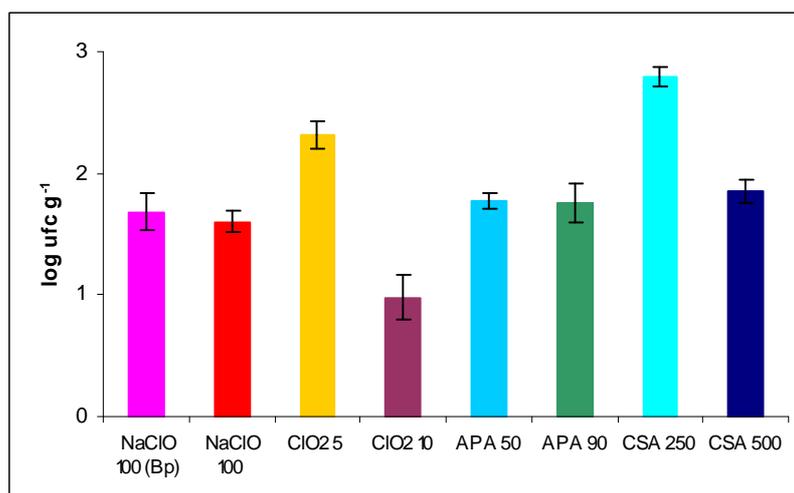


Figura 7. Recuentos de aerobios mesófilos en brotes de alfalfa después de ser lavados con diferentes sanitizantes, con respecto a la carga de la materia prima. Los valores son la media \pm ES (n=3).

En lechuga escarola recién cortada y almacenada durante 8 días a 5°C , se observó que los recuentos de aerobios mesófilos mostraron una disminución de $1 \log \text{ ufc g}^{-1}$ al ser lavada con NaClO (100 y 50 mg L^{-1}), APA (80 y 40 mg L^{-1}) y la mayor reducción fue de $2,3 \log \text{ ufc g}^{-1}$ y se obtuvo al usar CSA (250 y 500 mg L^{-1}) (Allende *et al.*, 2008). En zanahorias ralladas y lavadas con NaClO (200 mg L^{-1}) y APA (80 y 250 mg L^{-1}), se obtuvo una disminución en el recuento de aerobios mesófilos de 1,61, 2,46 y $3,29 \log \text{ ufc g}^{-1}$ respectivamente (Vandekinderen *et al.*, 2008b). En otro estudio se demostró que el uso de 120 mg L^{-1} de NaClO en zanahorias causó una reducción de $1 \log \text{ ufc g}^{-1}$ (Martín-Diana *et al.*, 2005). El uso de 200 y 40 mg L^{-1} de APA en zanahorias ralladas durante 2 minutos

provocaron una disminución significativa en el recuento de aerobios mesófilos al inicio del ensayo (Ruiz *et al.*, 2007).

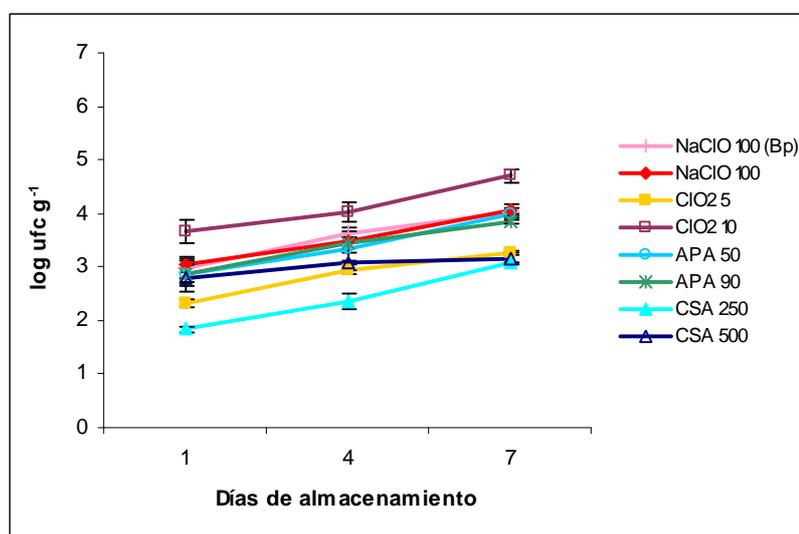


Figura 8. Recuentos de aerobios mesófilos de alfalfa lavados con distintos sanitizantes, envasados en AM a través de la conservación durante 7 días a 5° C. Los valores son la media \pm ES (n=3).

Enterobacterias. El día 1, se observó que el recuento de la materia prima fue de $3,8 \pm 0,1$ log ufc g⁻¹ y se obtuvo una reducción de estos recuentos de 0,6 a 1,9 log ufc g⁻¹ al utilizar los distintos sanitizantes (Figura 9). Los tratamientos que mayor reducción obtuvieron el día 1 de la evaluación fueron el APA 90 y el CSA 250 con reducciones de 1,8 y 1,9 log ufc g⁻¹, respectivamente y el que logró la disminución más baja fue el NaClO (Bp) con 0,6 log ufc g⁻¹ (Figura 9).

Tras 4 días de conservación se observó un aumento en los recuentos en todos los tratamientos, siendo menores en APA 90 y CSA 250, llegando a 2,7 y 2,5 log ufc g⁻¹ respectivamente. El tratamiento que obtuvo el mayor recuento fue el NaClO (Bp) con 3,7 log ufc g⁻¹ (Figura 10). Al final del ensayo, el NaClO (Bp) fue el sanitizante que presentó los recuentos más altos, con 4,1 log ufc g⁻¹ y los tratamientos que obtuvieron los recuentos más bajos fueron el CSA 250 y 500 de 2,9 y 3,2 log ufc g⁻¹ respectivamente, siendo significativamente menor que los demás tratamientos (Apéndice I, Cuadro 5).

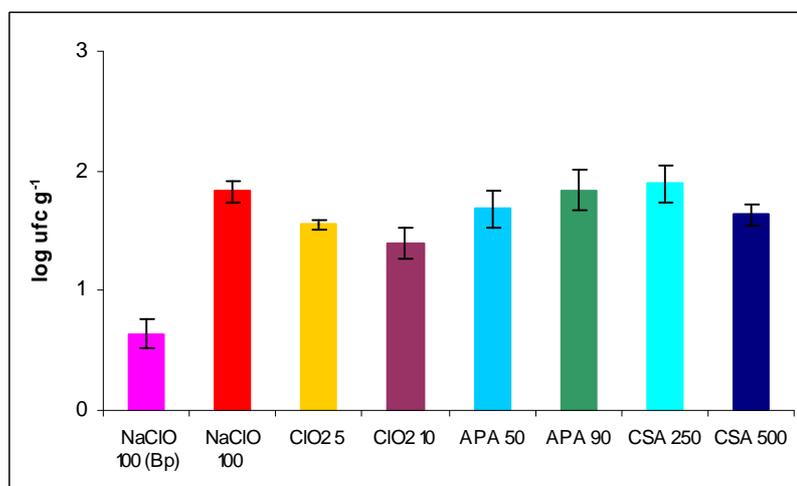


Figura 9. Recuentos de enterobacterias en brotes de alfalfa después de ser lavados con diferentes sanitizantes, con respecto a la carga de la materia prima. Los valores son la media \pm ES (n=3).

En lechuga escarola recién cortada y almacenada durante 8 días a 5° C y lavada con NaClO (100 y 50 mg L⁻¹), CSA (250 y 500 mg L⁻¹) y APA (80 y 40 mg L⁻¹), se observó que la mayor reducción fue de 2,2 log ufc g⁻¹ en los tratamientos con NaClO y APA y el resto de las soluciones mostraron una reducción en el recuento de coliformes totales del orden de 1 log ufc g⁻¹ y (Allende *et al.*, 2008). En hojas de rúcula al usar NaClO 100 mg L⁻¹, CSA 250 mg L⁻¹ y APA 300 mg L⁻¹, se obtuvo una disminución de 2,5 log ufc g⁻¹ luego de que las hojas de rúcula se lavaron con APA y CSA (Martínez-Sánchez *et al.*, 2006).

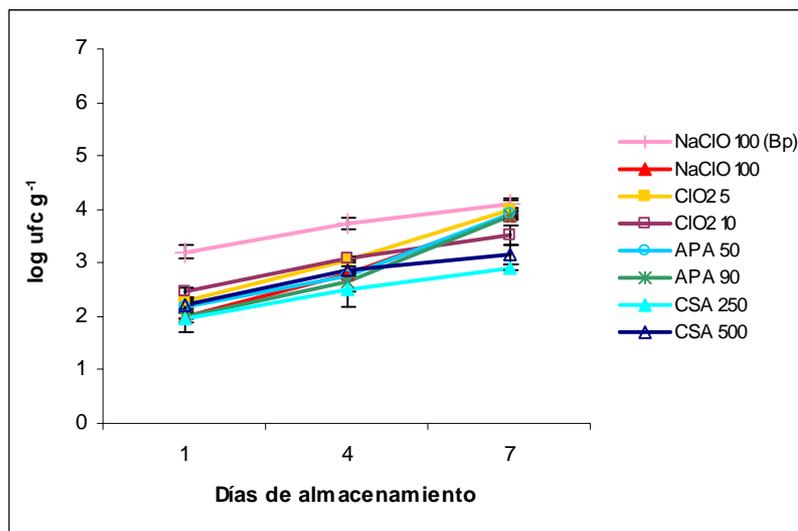


Figura 10. Recuentos de enterobacterias de alfalfa lavados con distintos sanitizantes, envasados en AM a través de la conservación durante 7 días a 5° C. Los valores son la media \pm ES (n=3).

Psicrófilos. La materia prima obtuvo recuentos de psicrófilos de $3,8 \pm 0,4$ log ufc g⁻¹, luego de lavar las muestras con los distintos sanitizantes se produjeron reducciones de 0,6 a 1,7 log ufc g⁻¹ (Figura 11). Los tratamientos que obtuvieron una mayor reducción fueron el CSA 250 y 500 con 1,6 y 1,7 log ufc g⁻¹, respectivamente (Figura 11).

En el día 4 se observó un aumento del número de psicrófilos en todos los tratamientos y fue el NaClO 100 (Bp) el sanitizante que presentó los recuentos más altos con 4,9 log ufc g⁻¹, el resto de los tratamientos obtuvieron recuentos de 3,6 a 4,5 log ufc g⁻¹ (Figura 12). El día 7, fueron el CSA 250 y 500 los que presentaron recuentos más bajos con 4 log ufc g⁻¹ en ambos casos (Figura 12), con diferencias significativas respecto a los tratamientos NaClO 100 (Bp) y NaClO 100, que obtuvieron los recuentos más altos de 5 y 4,8 log ufc g⁻¹, respectivamente (Apéndice I, Cuadro 6).

Los brotes lavados con NaClO (Bp) y NaClO 100, fueron los sanitizantes que presentaron los mayores recuentos de enterobacterias y psicrófilos durante todo el almacenamiento. El NaClO 100 obtuvo menores recuentos que el NaClO (Bp), lo que confirmaría que el envasado en AM mantiene mejor la calidad microbiológica que el envasado en contacto con el aire. En el caso del NaClO (Bp), como se comentó anteriormente, fue el sanitizante que presentó la tasa respiratoria más elevada. 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 consumo, el límite máximo permitido para mesófilos es de 5,7 log ufc g⁻¹, mientras que para enterobacterias es de 4,7 log ufc g⁻¹

(Anexo III), por lo tanto todos los tratamientos cumplirían la norma, con el grado de calidad “aceptable”.

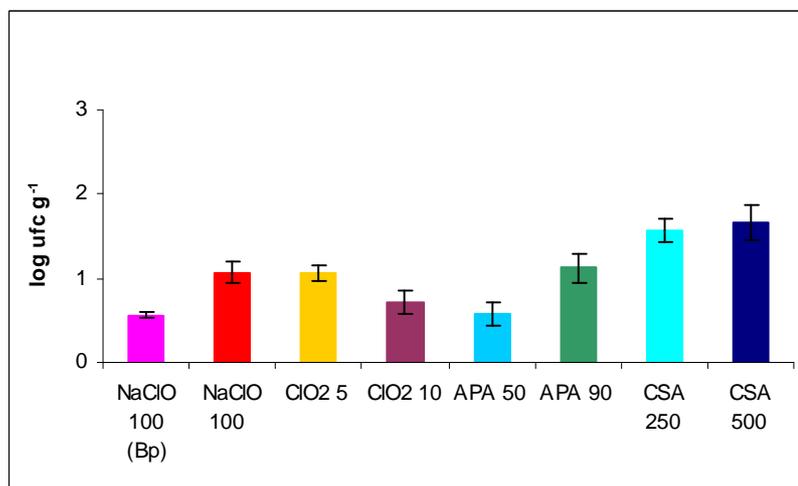


Figura 11. Recuentos de psicrófilos en brotes de alfalfa después de ser lavados con diferentes sanitizantes, con respecto a la carga de la materia prima. Los valores son la media \pm ES (n=3).

Al igual que en ensayos realizados por Martínez-Sánchez *et al.* (2006), en hojas de rúcula lavadas con distintos sanitizantes, fue el CSA el más eficaz en la reducción de psicrófilos con recuentos de $2 \log \text{ufc g}^{-1}$ al final del almacenamiento (15 días). El uso de APA y CSA tuvo el mayor efecto inhibitor del crecimiento microbiano, debido probablemente al bajo pH de las soluciones, así como a sus características químicas individuales.

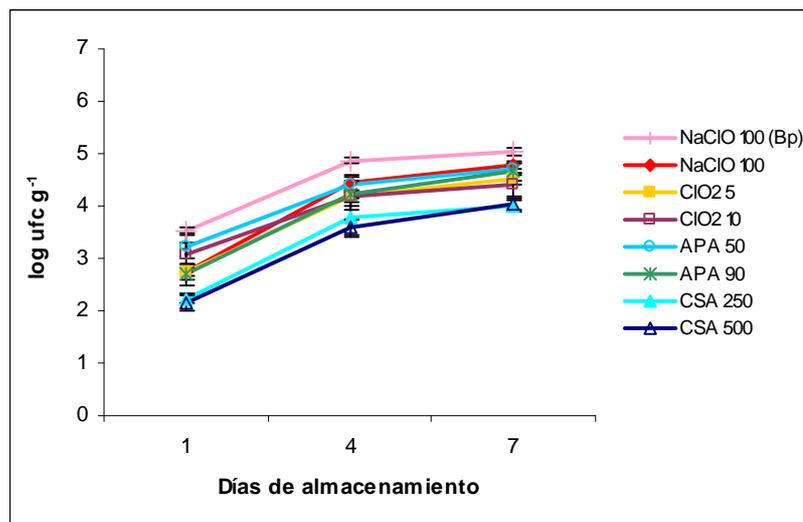


Figura 12. Recuentos de psicrófilos de alfalfa lavados con distintos sanitizantes, envasados en AM a través de la conservación durante 7 días a 5° C. Los valores son la media \pm ES (n=3).

Hongos y levaduras. Los recuentos fueron inferiores a 1 log ufc g⁻¹ para todos los tratamientos y materia prima durante todo el almacenamiento.

Evaluación sensorial

Apariencia. En los brotes de alfalfa lavados con los distintos sanitizantes se observó una disminución en la apariencia a lo largo del almacenamiento en todos los tratamientos (Figuras 13 y 14). En el día 1, el NaClO 100 fue evaluado con 13,7 y los demás tratamientos entre 10,8 a 12,6. Tras 4 días todos los tratamientos obtuvieron puntuaciones en un rango de 8 a 9,6, excepto el CSA 500 que obtuvo una puntuación de 5,7. En el día 7 el CSA 500 presentó una caída en su calidad, obteniendo el valor más bajo de 4,3, mientras que los otros tratamientos fueron evaluados en un rango de 7,8 a 9,2 (Figura 13).

En un estudio realizado por Martínez-Sánchez *et al.* (2006) en hojas de rúcula luego de ser lavadas con distintos sanitizantes, el día 0 no se observaron diferencias significativas entre los distintos tratamientos en la apariencia. Después de 5 días de almacenamientos los valores más bajos se obtuvieron en los tratamientos con CSA y APA. La calidad visual se redujo levemente durante el almacenamiento en todos los tratamientos, pero sólo con pequeñas diferencias entre ellos. Por otra parte, se comparó la calidad visual de las hojas de rúcula almacenadas en contacto con el aire y envasadas en AM bajo condiciones de alto CO₂ y bajo O₂, se observó que las hojas de rúcula envasadas en AM redujeron su vida útil en aproximadamente 1 semana y según estos resultados permitieron que sólo fueran aceptadas para el consumo hasta la mitad del periodo de conservación (7 días).

Intensidad de color. Los tratamientos CSA 250 y 500 presentaron una disminución significativa en la intensidad de color durante el almacenamiento (Apéndice I, Cuadro 8 y Figura 14). En el día 1 los tratamientos fueron evaluados en un rango de 11,4 a 13,1 (Figura 13). Tras 4 días de almacenamiento los tratamientos mantuvieron un rango de 11,5 a 12,3, excepto el CSA 500 que obtuvo un puntaje de 10,6, sin diferencias significativas entre ellos (Apéndice I, Cuadro 8). El día 8 los tratamientos presentaron una puntuación de 8,7 a 11,4, excepto el CSA 500 que obtuvo una puntuación significativamente más baja (7,0) (Apéndice I, Cuadro 8).

Los resultados obtenidos coinciden con lo discutido anteriormente en relación al color, puesto que el tratamiento con CSA 500, obtuvo los valores más altos en el croma y los más bajos en el tono durante el almacenamiento, lo que significaría que presentó un mayor pardeamiento. Por el contrario, el sanitizante NaClO 100 obtuvo los valores más bajos en el croma y más altos en el tono al final del almacenamiento.

Turgencia. Al inicio los valores obtenidos fueron similares en todos los tratamientos, registrando puntajes en un rango de 12,3 a 13,7, sin diferencias significativas entre tratamientos (Apéndice I, Cuadro 9). El día 4, la turgencia disminuyó en todos los tratamientos y fue el CSA 250 el sanitizante que obtuvo la puntuación más baja con 7,9, el resto de los tratamientos registraron una puntuación de 8,3 a 10,9 (Figura 13). En el día 7 los tratamientos obtuvieron puntajes de 6,5 a 8,9 y el CSA 250 y 500 presentaron los puntajes más bajos de 7,2 y 6,5 respectivamente, sin diferencias significativas entre tratamientos (Apéndice I, Cuadro 9).

Sabores extraños. A lo largo de la conservación se observó un aumento en los valores (Figura 13), sin diferencias significativas entre los tratamientos (Apéndice I, Cuadro 10). En el primer día de evaluación todos los tratamientos fueron evaluados con puntajes de 0,9 a 1,6 (Figura 13). En el día 4 los valores aumentaron en todos los tratamientos y fueron el ClO₂ 10 y el CSA 250 los que obtuvieron los puntajes más altos de 3,7 y 4,6 respectivamente, el resto de los tratamientos fueron evaluados con puntajes de 2,1 a 2,8 (Figura 13). El día 7, los tratamientos registraron puntajes de 4,1 y 6,9 (Figura 13). A pesar del aumento de la presencia de sabores extraños, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en ningún día de evaluación (Apéndice I, Cuadro 10).

Los resultados obtenidos se debieron probablemente a las concentraciones de O₂ y CO₂ alcanzadas dentro de las bolsas, producto de su baja permeabilidad. La apariencia fue el parámetro más afectado, puesto que se observó una rápida disminución en la evaluación durante el almacenamiento.

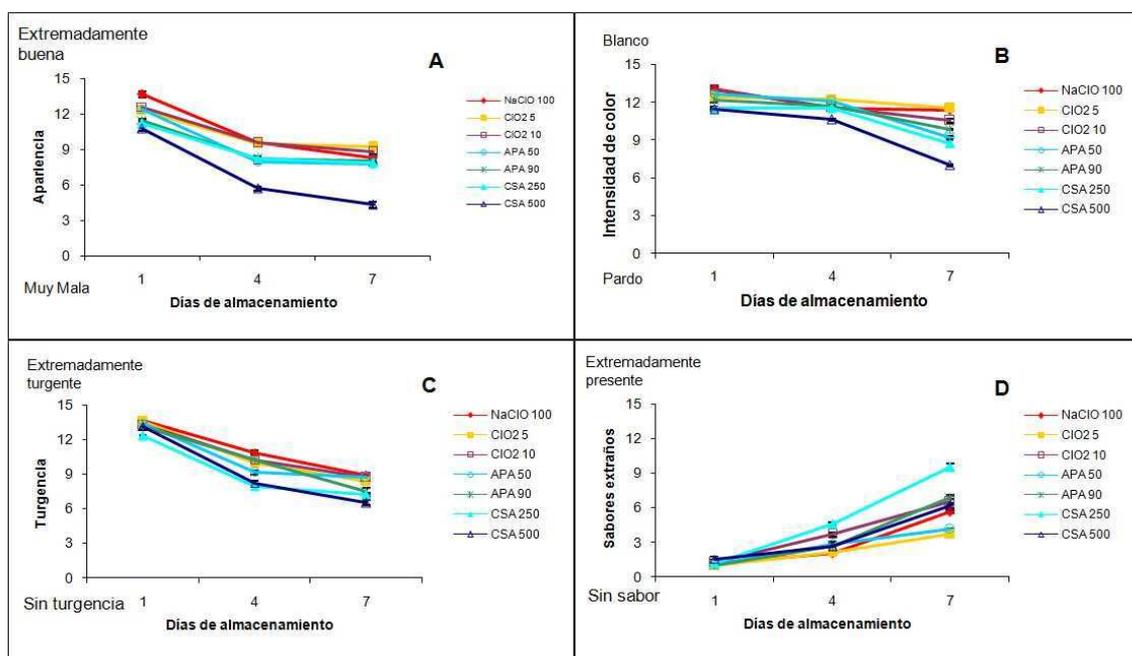


Figura 13. Efecto de diferentes sanitizantes en los atributos sensoriales medidos: Apariencia (A), Intensidad de color (B), turgencia (C) y sabores extraños (D). Los valores son la media \pm ES (n=14).



Figura 14. Evolución de color y apariencia en brotes de alfalfa lavados con distintos sanitizantes durante 7 días a 5° C.

Ensayo II

Tasa respiratoria

En el día 0 (medición luego de 6 horas del procesamiento), se registraron valores desde 52,5 a 67,5 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹. Los sanitizantes que presentaron las tasas significativamente mayores fueron el NaClO 100 y el ClO₂ 5 con 68 y 67,5 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ respectivamente y el tratamiento que obtuvo la menor respiración fue el CSA 500 con 52,5 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ (Figura 15). El NaClO 100, ClO₂ 5 y el CSA 500 presentaron diferencias significativas en comparación con el resto de los sanitizantes (Apéndice II, Cuadro 1). En el transcurso del almacenamiento la tasa respiratoria tuvo un leve descenso y no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos (Apéndice II, Cuadro 1). Después de 7 días a 5° C los tratamientos que obtuvieron tasas ligeramente mayores fueron el NaClO 100 y el ClO₂ 5 con 62,2 y 57,2 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹, respectivamente y los tratamientos que obtuvieron las menores fueron el APA 90 y CSA 500 con 46,6 y 53,3 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹, respectivamente (Figura 15).

Tras 7 días en el Ensayo I se produjo una mayor disminución en la respiración con valores en un rango de 41,7 a 64,3 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹, mientras que en el Ensayo II se registraron valores de 53,3 a 62,4 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹. Las tasas más elevadas del Ensayo I obtenidas en el día 1 pueden deberse a una mayor manipulación de los brotes, lo cual estimularía la tasa respiratoria de éstos. En ambos ensayos, fue el NaClO 100 el que obtuvo la mayor tasa respiratoria durante el almacenamiento y al igual que lo ocurrido en el Ensayo I, esto podría atribuirse a que los brotes lavados con este sanitizante obtuvieron los recuentos más altos en aerobios mesófilos y psicrófilos, como se detallará más adelante.

En un estudio sobre puerros y lechuga Iceberg recién cortados, el uso de 80 mg L⁻¹ y 250 mg L⁻¹ de APA no tuvo efecto significativo en la respiración de estos vegetales, sin embargo el uso de 20 y 200 mg L⁻¹ de NaClO aumentó la tasa respiratoria de la lechuga, pero no se observó diferencias significativas entre concentraciones. El uso del APA en la tasa de respiración de las zanahorias y repollo blanco recién cortado fue considerable, disminuyendo a un nivel de menos de la mitad de su valor inicial y el uso de 20 y 200 mg L⁻¹ de NaClO no tuvo una influencia significativa en la respiración de estos vegetales (Vandekinderen et al., 2008a). El aumento de la respiración de la lechuga Iceberg recién cortada tratada con NaClO contrasta con los resultados de otro estudio en lechugas iceberg recién cortadas y lavadas con 80 mg L⁻¹ de NaClO durante 3 minutos, donde no se observaron cambios (Beltrán *et al.*, 2005b). En repollo tratado con 100 mg L⁻¹ de NaClO por 5 minutos, se observó una reducción significativa en la tasa respiratoria (Cliffe-Byrnes y O'Beirne, 2005). En general, el grado de corte, el tratamiento, el tipo de desinfectante que se utilice y el tiempo de almacenamiento puede tener una influencia en la respiración debido al estrés fisiológico que se produce en las hortalizas (Vandekinderen et al., 2008a).

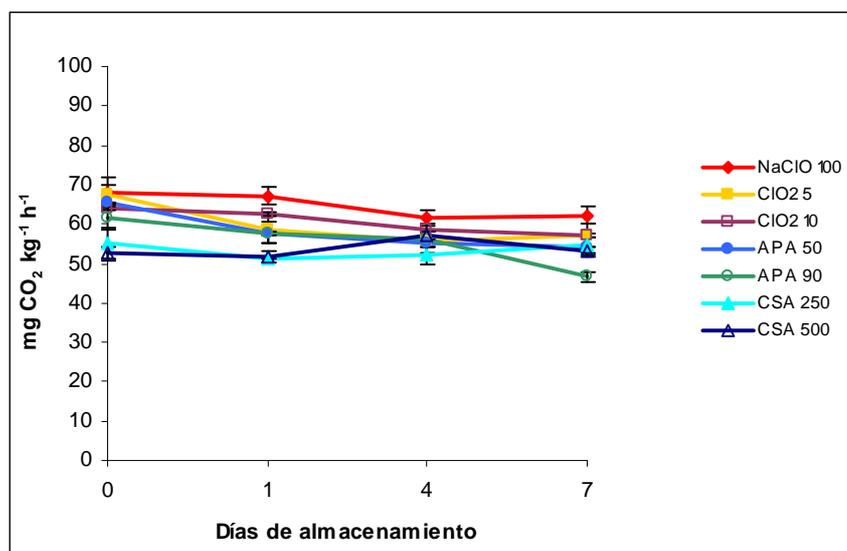


Figura 15. Evolución de la tasa respiratoria en brotes de alfalfa lavados con distintos sanitizantes y conservados durante 7 días a 5° C. Los valores son la media \pm ES (n=3).

Concentración de gases al interior de las bolsas

La concentración de CO₂ de los brotes de alfalfa envasados en atmósfera modificada, se observó un aumento al primer día de almacenamiento alcanzando valores cercanos a 2-3% en todos los tratamientos, manteniéndose esta concentración de CO₂ hasta el día 7 (Figura 16). Durante el almacenamiento no se observaron diferencias significativas entre tratamientos, a excepción del CSA 250 y CSA 500 que alcanzaron valores de 3,3 y 4,1% de CO₂ el día 7 (Apéndice II, Cuadro 2).

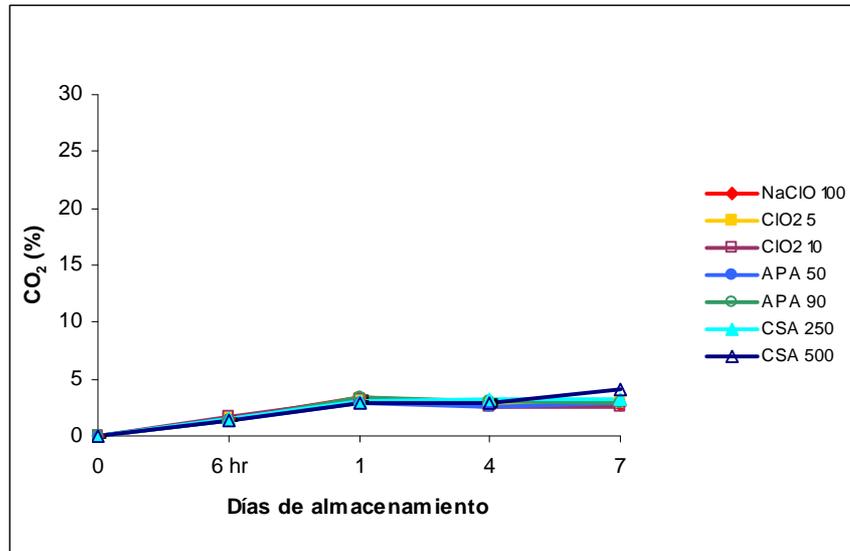


Figura 16. Variación de la concentración de CO_2 en brotes de alfalfa lavados con distintos sanitizantes, envasados bajo atmósfera modificada y conservados durante 7 días a 5°C . Valores corresponden a la media ($n = 3$) \pm Error estándar.

El día 1, las concentraciones de O_2 disminuyeron en todos los tratamientos luego del procesamiento (Figura 17). Los sanitizantes que obtuvieron las concentraciones más bajas fueron el NaClO 100, ClO_2 5 y el ClO_2 10 con valores de 8,1, 8,4 y 8,5% respectivamente y presentaron diferencias significativas con el resto de los tratamientos que obtuvieron valores de 9,1 a 10,9% (Apéndice II, Cuadro 3). A los cuatro días las concentraciones de O_2 disminuyeron en todos los tratamientos, a valores de 5,8 a 7,2%, manteniéndose hasta el final de la conservación (Figura 17). El día 7, el CSA 250 y 500 obtuvieron una mayor disminución en la concentración de O_2 llegando a valores de 4 y 3,6%, presentando diferencias significativas con el resto de los tratamientos (Apéndice II, Cuadro 3).

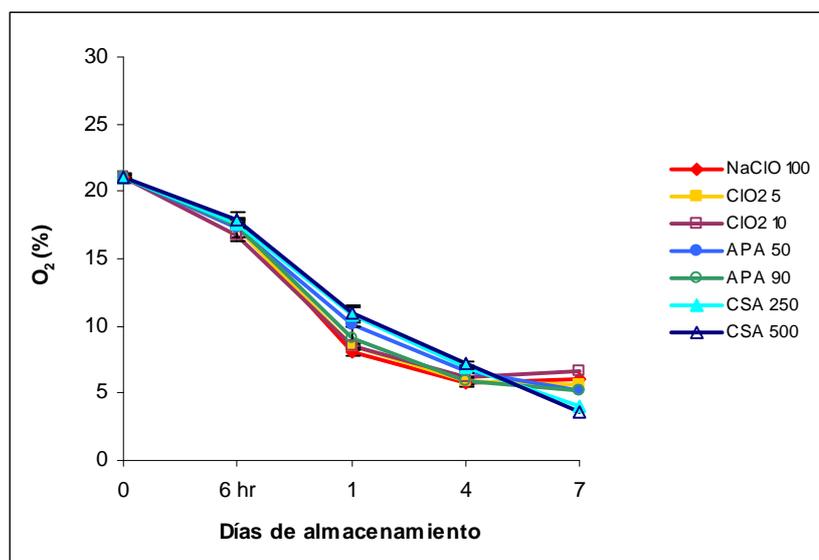


Figura 17. Variación de la concentración de O₂ en brotes de alfalfa lavados con distinto sanitizantes, envasados bajo atmósfera modificada y conservados durante 7 días a 5° C. Valores corresponden a la media (n = 3) ± Error estándar.

El tratamiento NaClO Bp, mantuvo la composición gaseosa similar a la del aire durante todo el almacenaje y registró valores de 17,8 a 19,0% de O₂ y 0,7 a 1,5% de CO₂.

Según los resultados obtenidos, en ambos ensayos se observó una variación en la concentración de gases a lo largo del almacenamiento, sin embargo en el Ensayo I la concentración de CO₂ alcanzada durante 7 días a 5° C fue más alta debido a la menor permeabilidad a los gases de las bolsas utilizadas.

En otros trabajos se estudió la evolución de gases al interior de bolsas con papas frescas cortadas y lavadas con hipoclorito de sodio (80 mg L⁻¹) y APA (300 mg L⁻¹), donde no se observaron diferencias significativas en las concentraciones de gases durante el periodo de almacenamiento (Beltrán *et al.*, 2005a). Además, en rúcula silvestre, lavada con 100 mg L⁻¹ de hipoclorito de sodio, CSA (250 mg L⁻¹) y APA (300 mg L⁻¹), no se observaron diferencias en la concentración de gases bajo EAM (Martínez-Sánchez, 2008).

Color

Luminosidad. Durante el ensayo se observó que el parámetro L no presentó diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 4). Se obtuvieron valores de 61 y 63 durante 7 días a 5° C, similares al valor inicial de 61,5 en la materia prima (Cuadro 4).

Croma. Se observó un aumento en los valores de C* durante el tiempo de almacenamiento en los tratamientos (Cuadro 4). El día 1 de la evaluación los tratamientos presentaron

valores similares a la materia prima (16,4) con un rango de 15,4 a 18,7 (Cuadro 4). El día 4 los tratamientos que obtuvieron el mayor aumento en el croma fueron el CSA 250 y 500 con valores de 20,3 y 19,9 respectivamente, el resto de los tratamientos registraron valores en un rango de 16,3 a 17,8, sin diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 4). El día 7, los tratamientos que obtuvieron valores significativamente más altos fueron el CSA 250 y 500 con 25,2 y 27 respectivamente, el resto de los tratamientos obtuvieron valores de 16,4 a 19,2 (Cuadro 4).

Tono. Los valores del tono disminuyeron levemente durante todo el almacenamiento, sin embargo no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 4). En los días 1 y 4 se registraron valores en un rango de 105,6 a 108,2. En el día 7 los sanitizantes que presentaron los valores más bajos fueron el CSA 250 y 500 con 102,8 y 101,5 respectivamente, el resto de los tratamientos registraron valores en un rango de 105,6 y 107,7 sin diferencias significativas (Cuadro 4).

En el Ensayo I, las variaciones de los parámetros de color indicarían un mayor pardeamiento de los brotes en todos los tratamientos. En este ensayo, los parámetros se mantuvieron constantes, a excepción de los brotes tratados con los sanitizantes CSA 250 y 500 que presentaron mayor pardeamiento con valores de croma más alto y menor tono, estos resultados podrían atribuirse probablemente a la dosis de sanitizante utilizada junto con el envasado en AM, sin embargo no se observaron diferencias significativas en comparación con el resto de los tratamientos (Figura 18).

En un estudio en repollo blanco recién cortado y lavado con 80 mg L^{-1} de APA se observó que los parámetros de color (L, a^* y b^*) no variaron, pero sí se produjo un incremento de a^* al utilizar 250 mg L^{-1} de APA. El uso de NaClO en dosis de 20 y 200 mg L^{-1} no provocó cambios en los valores de L y a^* , pero se observó un aumento en el valores de b^* . En el caso de las muestras de repollos tratadas con $1,55 \text{ mg L}^{-1}$ de ClO_2 , no se observaron cambios en ninguno de los parámetros de color a lo largo del ensayo (Vandekinderen *et al.*, 2009b). En zanahorias tratadas con 20 mg L^{-1} de NaClO, se observó que los parámetros de color (L, a^* y b^*) no sufrieron cambios en comparación con las muestras que no fueron lavadas. Al usar 80 mg L^{-1} de APA los parámetros de color no variaron, sin embargo, en zanahorias lavadas con 250 mg L^{-1} de APA los parámetros de color L y b^* aumentaron significativamente durante el ensayo (Vandekinderen *et al.*, 2008b).

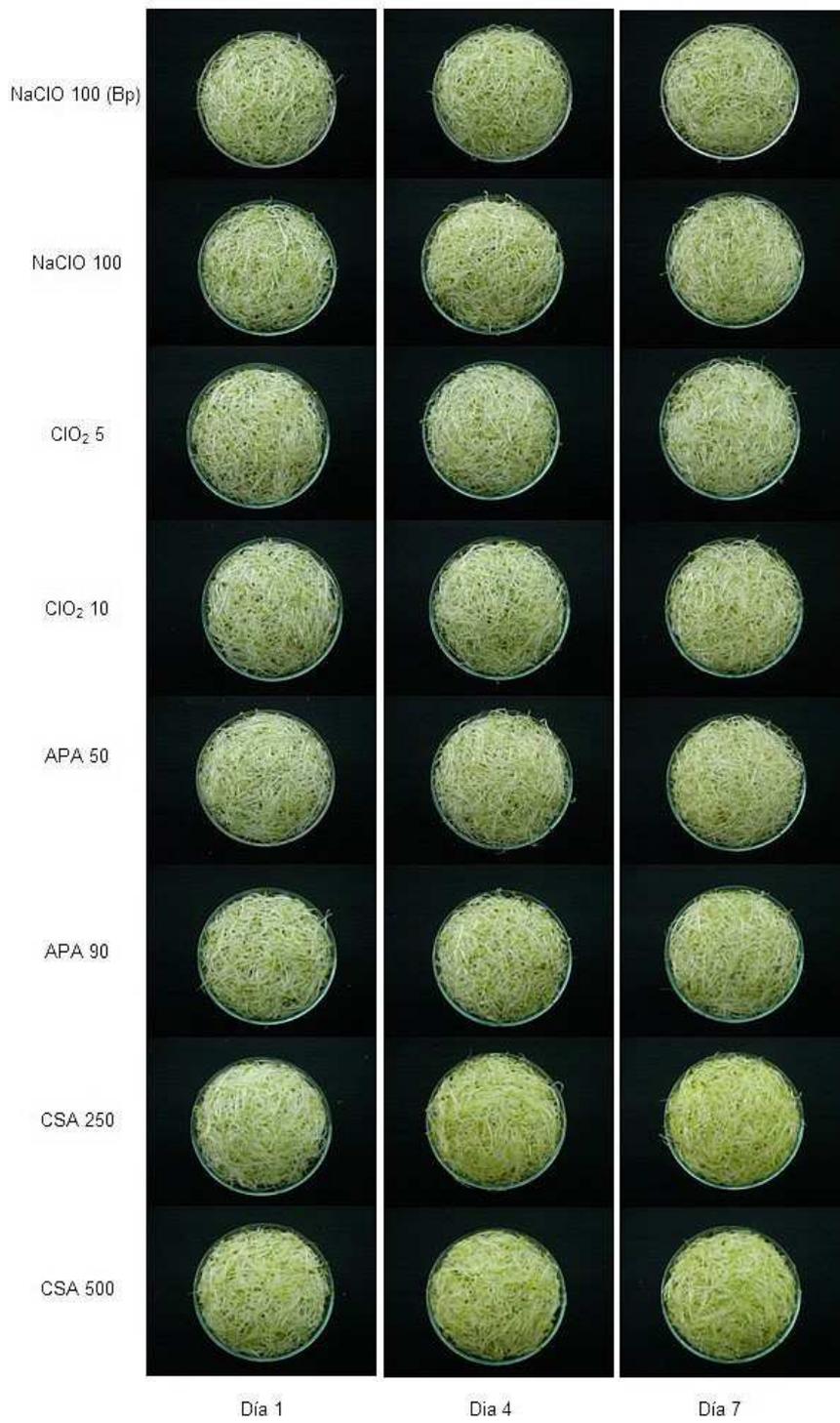


Figura 18. Evolución del color en brotes de alfalfa lavados con distintos sanitizantes durante 7 días a 5° C.

Cuadro 4. Evolución del color en brotes de alfalfa luego de 7 días de almacenamiento a 5° C, envasados bajo atmósfera modificada y lavados con distintos sanitizantes. Los valores corresponden a la media (n =3) ± error estándar.

Parámetro	Tratamiento	Días		
		1	4	7
L	NaClO 100 (Bp)	61,7 Aa ¹	59,9 Aa	60,9 Aa
	NaClO 100	60,9 Aa	58,6 Aa	60,9 Aa
	ClO ₂ 5	63,2 Aa	59,3 Aa	63,3 Aa
	ClO ₂ 10	62,1 Aa	60,7 Aa	62,6 Aa
	APA 50	61,1 Aa	60,9 Aa	62,6 Aa
	APA 90	60,8 Aa	61,2 Aa	60,5 Aa
	CSA 250	61,9 Aa	61,9 Aa	61,6 Aa
	CSA 500	61,4 Aa	62,7 Aa	61,9 Aa
C*	NaClO 100 (Bp)	16,8 Aa	16,7 Aa	17,5 ABa
	NaClO 100	16,1 Aa	16,4 Aa	18,7 ABCa
	ClO ₂ 5	16,2 Aa	16,3 Aa	17,5 ABa
	ClO ₂ 10	15,9 Aa	16,8 Aa	16,9 Aa
	APA 50	15,4 Aa	16,9 Aa	18,3 ABa
	APA 90	16,4 Aa	17,8 Aa	19,2 ABCa
	CSA 250	16,3 Aa	20,3 Aab	25,2 BCb
	CSA 500	18,7 Aa	19,9 Aa	27,0 Cb
Hab	NaClO 100 (Bp)	108,0 Aa	106,3 Aa	106,4 Aa
	NaClO 100	108,2 Aa	105,9 Aa	106,3 Aa
	ClO ₂ 5	107,9 Aa	107,6 Aa	107,6 Aa
	ClO ₂ 10	107,6 Aa	106,9 Aa	107,7 Aa
	APA 50	107,7 Aa	105,9 Aa	105,9 Aa
	APA 90	108,5 Aa	105,6 Aa	105,6 Aa
	CSA 250	108,2 Aa	105,7 Aa	102,8 Aa
	CSA 500	106,6 Aa	106,6 Aa	101,5 Aa

¹ Letras mayúsculas distintas en cada columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0,05$), letras minúsculas distintas en cada fila indican diferencias significativas durante el tiempo de almacenamiento ($P \leq 0,05$), según la prueba de rango múltiple Tukey.

Recuentos microbiológicos

Aerobios mesófilos. La carga inicial que presentó la materia prima fue de $6,5 \pm 0,1$ log ufc g^{-1} , luego de realizar el lavado con las distintas soluciones sanitizantes se obtuvieron reducciones en todos los tratamientos de 1,3 a 2,1 log ufc g^{-1} (Figura 19). Los sanitizantes que obtuvieron la mayor reducción fueron CSA 250 y CSA 500 con 2,1 log ufc g^{-1} (Figura 19).

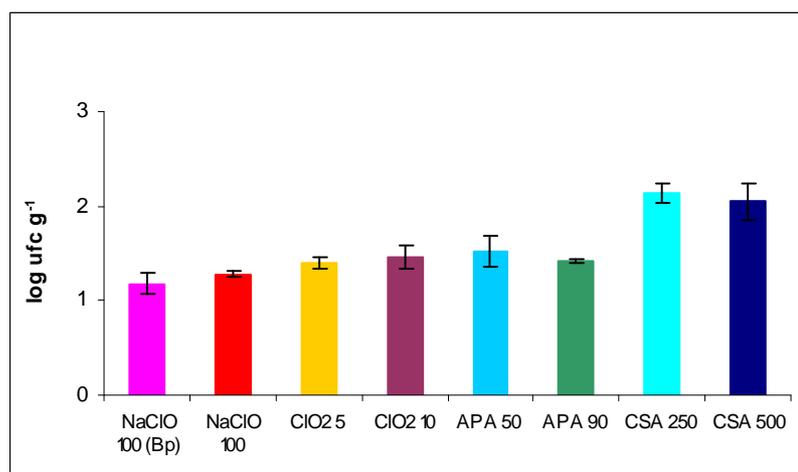


Figura 19. Recuentos de aerobios mesófilos en brotes de alfalfa después de ser lavados con diferentes sanitizantes, con respecto a la carga de la materia prima. Los valores son la media \pm ES (n=3).

En los distintos tratamientos los recuentos se incrementaron en 1 a 2 unidades logarítmicas durante 7 días a 5° C (Figura 20). El día 1 los tratamientos CSA 250 y 500 presentaron recuentos significativamente más bajos con 4,4 y 3,7 log ufc g^{-1} respectivamente, en comparación a los demás tratamientos que registraron recuentos en un rango de 5 a 5,3 log ufc g^{-1} (Apéndice II, Cuadro 4). El día 4, el CSA 500 presentó los recuentos más bajos con 4,2 log ufc g^{-1} y el resto de los tratamientos obtuvieron recuentos de 4,9 a 6,1 log ufc g^{-1} (Figura 20). Tras 7 días, CSA 250 y 500 presentaron recuentos significativamente más bajos de 5,4 y 4,6 log ufc g^{-1} respectivamente, en comparación a los demás tratamientos, que obtuvieron valores de 5,8 a 6,2 log ufc g^{-1} (Apéndice II, Cuadro 4).

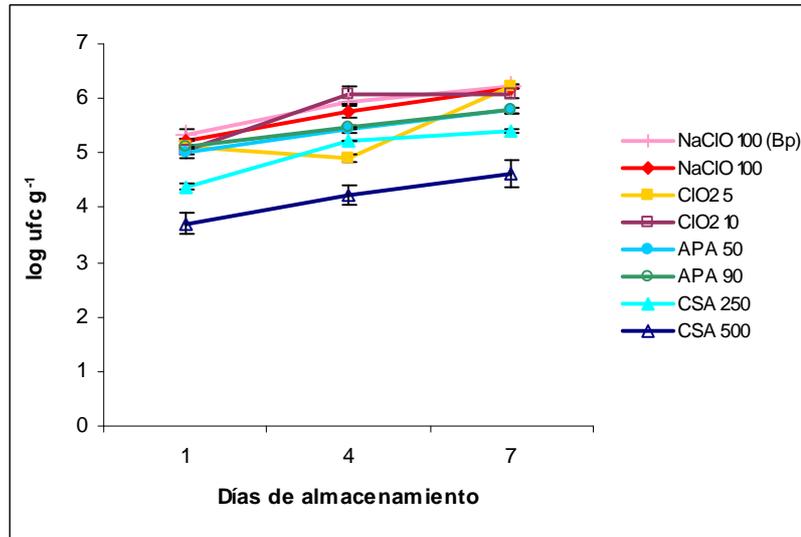


Figura 20. Recuento de aerobios mesófilos en brotes de alfalfa lavados con distintos sanitizantes, envasados en AM a través de la conservación durante 7 días a 5° C. Los valores son la media \pm ES (n=3).

En estudios realizados en cilantro recién cortado se obtuvieron reducciones en los recuentos de aerobios mesófilos de más de 3 log ufc g⁻¹ tras ser lavado con 1000 mg L⁻¹ de CSA y reducciones microbianas de 2 log ufc g⁻¹ al usar 250 y 500 mg L⁻¹ (Allende *et al.*, 2009). En zanahorias ralladas y lavadas con 200 mg L⁻¹ de hipoclorito de sodio, 100, 250, 500 mg L⁻¹ de CSA y 40 mg L⁻¹ de APA, todos los desinfectantes disminuyeron los recuentos por debajo de la carga inicial de la materia prima sin lavar, pero fue con el CSA 100, 250 y 500 mg L⁻¹ que se obtuvo la mayor disminución de los recuentos de 0,9, 1,5 y 2,3 log ufc g⁻¹, respectivamente (Ruiz *et al.*, 2006). En zanahorias ralladas y tratadas con 1000 mg L⁻¹ de CSA provocó una reducción de 3,3 log ufc g⁻¹ en el recuento de aerobios mesófilos, pero la concentración utilizada no fue capaz de mantener la calidad visual de las zanahorias durante su vida útil de 4 días a 5° C (González *et al.*, 2004).

Enterobacterias. La materia prima tuvo recuentos de enterobacterias de $5,5 \pm 0,2$ log ufc g⁻¹. Luego de lavar las muestras con los distintos sanitizantes se obtuvieron reducciones en todos los tratamientos (Figura 21). En el caso del NaClO 100 y NaClO (Bp), obtuvieron las reducciones más bajas de 0,2 y 0,3 log ufc g⁻¹ respectivamente y la mayor reducción la obtuvieron el CSA 250 y 500 con 1,2 y 1,7 log ufc g⁻¹ respectivamente. El resto de los sanitizantes obtuvieron reducciones entre 0,4 y 0,5 log ufc g⁻¹ (Figura 21).

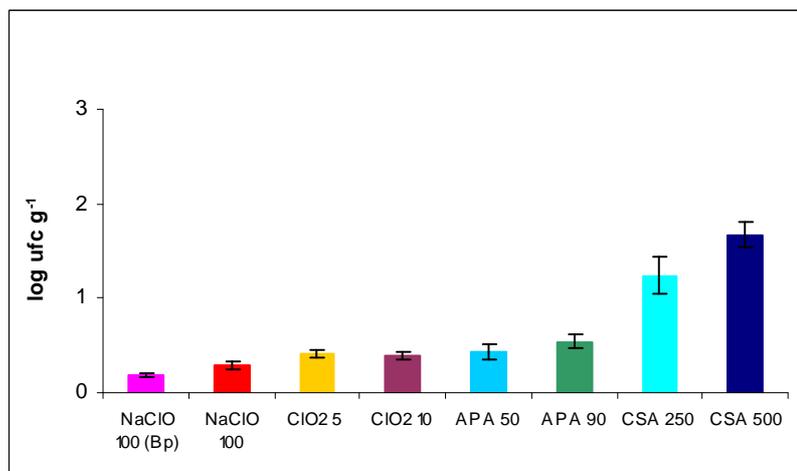


Figura 21. Recuentos de enterobacterias en brotes de alfalfa después de ser lavados con diferentes sanitizantes, con respecto a la carga de la materia prima. Los valores son la media \pm ES (n=3).

El día 1, los tratamientos que presentaron los recuentos significativamente más bajos fueron el CSA 250 y 500 con 4,4 y 4 log ufc g⁻¹ respectivamente, en comparación a los demás tratamientos, que obtuvieron valores de 4,6 a 5,2 log ufc g⁻¹ (Apéndice II, Cuadro 5). Tras 4 días, el CSA 250 y 500 registraron los recuentos significativamente más bajos con 4,3 y 4,9 log ufc g⁻¹, respectivamente y el resto de los tratamientos obtuvieron valores de 5,3 a 6 log ufc g⁻¹. Las muestras lavadas con NaClO 100 y NaClO 100 (Bp) obtuvieron los valores más altos durante los tres días de evaluación (Apéndice II, Cuadro 5) y el día 7, los recuentos significativamente más bajos los obtuvieron el CSA 250 y 500 con 5,3 y 4,9 log ufc g⁻¹ respectivamente, en comparación a los demás tratamientos con 5,7 a 6,3 log ufc g⁻¹ (Apéndice II, Cuadro 5).

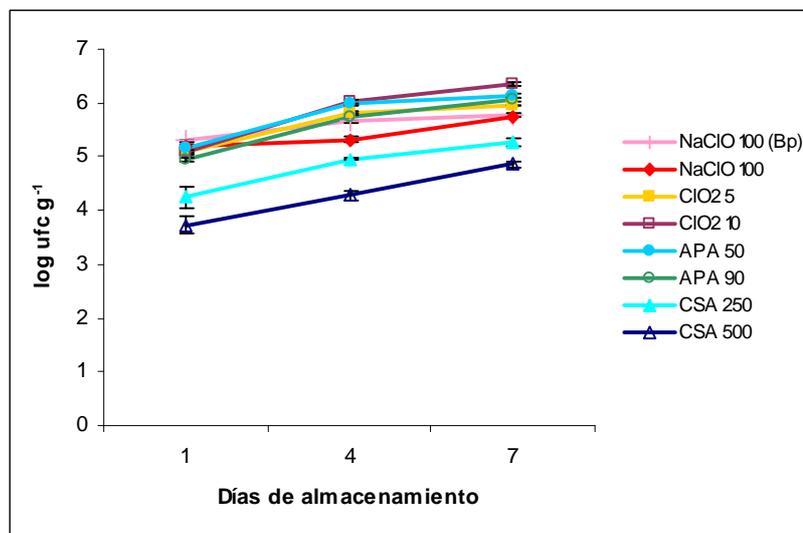


Figura 22. Recuento de enterobacterias en brotes de alfalfa lavados con distintos sanitizantes, envasados en AM a través de la conservación durante 7 días a 5° C. Los valores son la media \pm ES (n=3).

Psicrófilos. Al inicio del ensayo el recuento de la materia prima fue de $5,6 \pm 0,1$ log ufc g⁻¹ y luego de lavar las muestras con los distintos sanitizantes se obtuvieron reducciones en todos los tratamientos (Figura 23). El sanitizante que presentó las reducciones más bajas fue el NaClO 100 (Bp) con $0,4$ log ufc g⁻¹ y las muestras lavadas con CSA 250 y 500 obtuvieron las reducciones más altas con valores de $1,2$ y $1,7$ log ufc g⁻¹ respectivamente. El resto de los sanitizantes presentaron reducciones de aproximadamente $0,5$ a $0,8$ log ufc g⁻¹ (Figura 23).

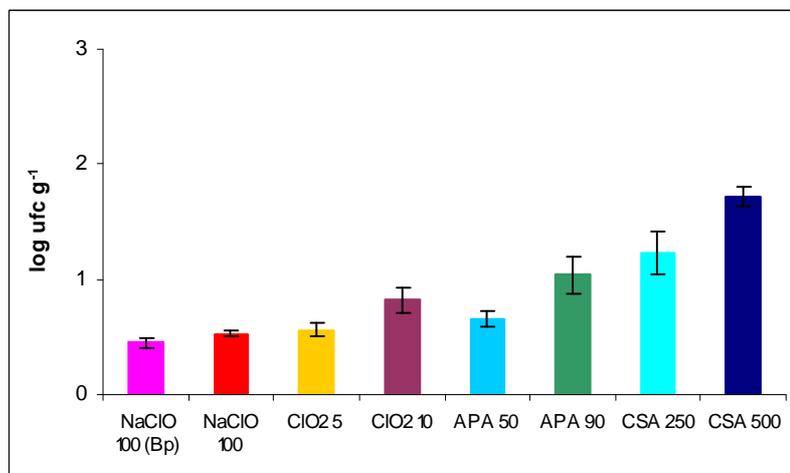


Figura 23. Recuentos de psicrófilos en brotes de alfalfa después de ser lavados con diferentes sanitizantes, con respecto a la carga de la materia prima. Los valores son la media \pm ES (n=3).

El día 1, el CSA 250 y 500 presentaron los recuentos significativamente más bajos de 4,4 y 4 log ufc g⁻¹ en comparación con los demás tratamientos que registraron valores en un rango de 4,6 a 5,2 log ufc g⁻¹ (Apéndice II, Cuadro 6). Luego de 4 días se observó un aumento en los recuentos en todos los tratamientos y registraron valores en un rango de 4,9 a 5,9 log ufc g⁻¹ (Figura 24). Después de 7 días los tratamientos CSA 250 y 500 obtuvieron los valores significativamente más bajos de 5,7 y 5,5 log ufc g⁻¹ respectivamente, respecto a los tratamientos NaClO 100 (Bp), NaClO 100 y APA 90 con 6,8, 6,2 y 6,1 log ufc g⁻¹ respectivamente (Apéndice II, Cuadro 6). El resto de los sanitizantes presentaron recuentos en un rango de 5,7 a 6,2 log ufc g⁻¹ (Figura 24).

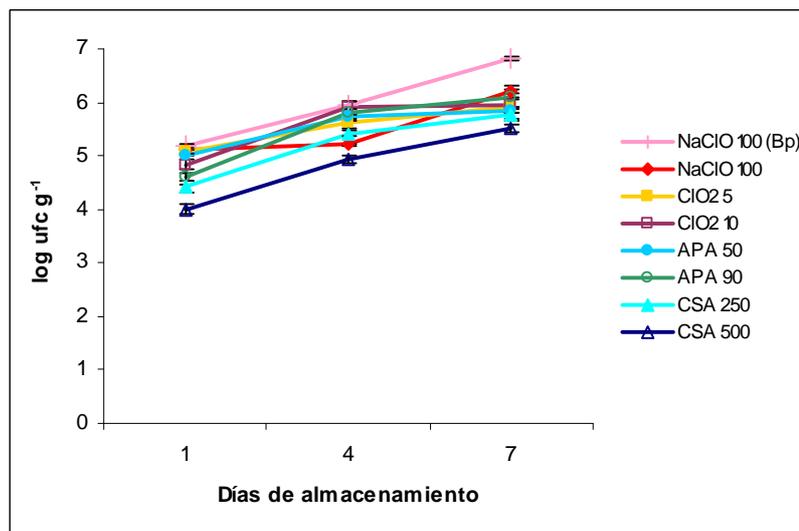


Figura 24. Recuento de psicrófilos en brotes de alfalfa lavados con distintos sanitizantes, envasados en AM a través de la conservación durante 7 días a 5° C. Los valores son la media \pm ES (n=3).

Los valores obtenidos en los recuentos al utilizar CSA en comparación con el resto de los tratamientos, podrían deberse a la acidificación del clorito de sodio creada por los ácidos orgánicos (ácido cítrico) utilizados (Parish *et al.*, 2003).

Hongos y levaduras. Los recuentos fueron inferiores a 1 log UFC g⁻¹ para todos los tratamientos y materia prima durante todo el almacenamiento.

Al igual que en el Ensayo I, los tratamientos NaClO (Bp) y NaClO 100 presentaron los recuentos más altos en aerobios mesófilos y enterobacterias durante 7 días y fue el NaClO (Bp) el tratamiento que registro valores más altos que en el caso del NaClO 100, lo que confirmaría que el envasado en AM mantiene mejor la calidad microbiológica que el envasado en contacto con el aire.

De acuerdo a las normas microbiológicas del Ministerio de Salud de Chile, para frutas y otros vegetales comestibles pre-elaborados listos para consumo, el límite máximo permitido para mesófilos es de 5,7 log UFC g⁻¹, mientras que para enterobacterias es de 4,7 log UFC g⁻¹ (Anexo III). En aerobios mesófilos, la materia prima presentó recuentos de 6,5 log UFC g⁻¹, al aplicar los sanitizantes los recuentos disminuyeron en todos los tratamientos y fueron el CSA 250 y 500 los que se ubicaron en la categoría “aceptable”, el resto de los tratamientos se ubicaron en la categoría “medianamente aceptable”. A los 7 días los tratamientos que se mantuvieron en la categoría “aceptable” y “medianamente aceptable” fueron el CSA 250 y 500. El resto de los tratamientos se ubicaron dentro del rango “rechazable”. Para enterobacterias, en el día 1 la materia prima fue de 5,5 log UFC g⁻¹, luego de utilizar los sanitizantes los recuentos disminuyeron en todo los tratamientos, sin embargo fue el CSA

500 el único tratamiento que se ubicó en la categoría “aceptable” y el CSA 250 como “medianamente aceptable”, el resto de los tratamientos se encontraron dentro del rango “rechazable”. Tras 4 días, el único tratamiento que logró estar en el rango “medianamente aceptable” fue el CSA 500, el resto de los tratamientos se ubicaron en el rango “rechazable”, hasta el final de la evaluación.

A diferencia de lo ocurrido en el Ensayo I, los recuentos en este ensayo disminuyeron luego de la aplicación de los distintos sanitizantes, pero fueron superiores a los límites máximos permitidos. Sin embargo se debe considerar que esta materia prima tuvo una mayor carga inicial que en el Ensayo I.

Evaluación sensorial

Apariencia. A lo largo del almacenamiento se observó una disminución de la apariencia en todos los tratamientos sin registrar diferencias significativas (Cuadro 5). El día 1 los tratamientos fueron evaluados con puntuaciones de 10,9 a 12,8, sin diferencias significativas entre tratamientos (Cuadro 5). Durante el día 4 los tratamientos obtuvieron puntuaciones de 9,8 a 11,9 (Figura 25). Tras 7 días, el CSA 250 y 500 registraron puntuaciones de 9,4 y 9,3 respectivamente, el resto de los tratamientos obtuvo puntuaciones de 10,2 a 11,5 (Cuadro 5).

Intensidad de color. Durante el periodo de almacenamiento se observó una leve disminución de este atributo en los tratamientos, sin embargo no se registraron diferencias significativas (Cuadro 5). Durante los días 1 y 4, los tratamientos obtuvieron puntuaciones de 10,2 a 12,4 (día 1) y valores de 10,2 a 11,7 (día 4) (Cuadro 5). Tras 7 días, el CSA 250 y 500 presentaron puntuaciones de 7,9 y 7,6 respectivamente, el resto de los tratamientos obtuvo puntuaciones de 9,8 a 11,4 (Cuadro 5).

Al igual que en el Ensayo I, el CSA 250 y 500 obtuvieron los valores más altos en el croma y más bajos en el tono, lo que se atribuye a un mayor pardeamiento al final del almacenamiento.

Turgencia. El día 1 se observó que los tratamientos CSA 250 y 500 presentaron los valores más bajos de 9,9 y 10,9 respectivamente, el resto de los tratamientos obtuvieron puntuaciones de 11,7 a 12,6, sin diferencias significativas entre tratamientos (Cuadro 5). La turgencia fue evaluada solo el día 1, luego de ese día los brotes de alfalfa no estaban aptos para el consumo de acuerdo a las normas microbiológicas del Ministerio de Salud de Chile (Anexo II).

Sabores extraños. En el día 1 los tratamientos obtuvieron puntajes de 0,9 a 1,6, a excepción del CSA 500 que presentó una puntuación de 2,2, sin diferencias significativas (Cuadro 5). La presencia de sabores extraños fue evaluada solo el día 1, luego de ese día los brotes de alfalfa no estaban aptos para el consumo de acuerdo a las normas microbiológicas del Ministerio de Salud de Chile (Anexo II).

En lechuga escarola recién cortada, se estudió la eficacia del hipoclorito de sodio 100 mg L^{-1} y de otros agentes desinfectantes como el CSA 20 mg L^{-1} y APA 80 mg L^{-1} en la calidad microbiológica y su influencia en la calidad sensorial de esta hortaliza, se observó que a pesar del alto número de bacterias mesófilas ($6-8 \text{ log ufc g}^{-1}$), la calidad sensorial no disminuyó al final del almacenamiento al usar estos sanitizantes (Allende *et al.*, 2008).

En ambos ensayos se obtuvo una disminución similar en los recuentos microbiológicos, sin embargo, el uso de bolsas de baja permeabilidad provocó una disminución en la evaluación de la apariencia, mayor pérdida de turgencia y mayor presencia de sabores extraños que al usar bolsas de mayor permeabilidad. Esto podría atribuirse a las bajas concentraciones de O_2 y altas de CO_2 alcanzadas al utilizar las bolsas de baja permeabilidad en el Ensayo I. Por lo tanto, se puede concluir que el uso de bolsas de mayor permeabilidad para el envasado en AM, generó concentraciones gaseosas que fueron toleradas por los brotes y permitió su conservación durante 7 días, ya que las puntuaciones estuvieron dentro de los límites aceptables en todos los parámetros evaluados. De acuerdo a los resultados, la evaluación sensorial no varió según las dosis de sanitizantes utilizados, puesto que no se encontraron diferencias significativas.

Cuadro 5. Evaluación sensorial de la apariencia, color, sabores extraños y turgencia en brotes de alfalfa tratados con distintos sanitizantes y conservados a 5 °C durante 7 días (apariencia y color) y 1 día (sabores extraños y turgencia) de almacenamiento. Los valores corresponden a la media ($n=3$) \pm error estándar.

Parámetro	Tratamiento	Días		
		1	4	7
Apariencia	NaClO 100	12,4 \pm 0,6	11,9 \pm 0,7	11,5 \pm 0,6
	ClO ₂ 5	11,7 \pm 0,9	11,3 \pm 0,9	10,1 \pm 0,8
	ClO ₂ 10	11,9 \pm 0,7	11,4 \pm 0,9	10,2 \pm 0,8
	APA 50	12,8 \pm 0,5	11,7 \pm 0,8	11,1 \pm 0,8
	APA 90	12,5 \pm 0,7	11,7 \pm 0,9	10,2 \pm 0,8
	CSA 250	10,9 \pm 0,9	10,7 \pm 0,8	9,4 \pm 1,1
	CSA 500	11,3 \pm 0,7 ns	9,8 \pm 0,9 ns	9,3 \pm 0,4 ns
Intensidad de color	NaClO 100	12,1 \pm 0,8	11,2 \pm 0,9	11,4 \pm 0,5
	ClO ₂ 5	12,2 \pm 0,6	11,2 \pm 1,1	11,0 \pm 0,6
	ClO ₂ 10	12,4 \pm 0,7	11,0 \pm 1,0	11,0 \pm 0,5
	APA 50	11,5 \pm 0,9	11,1 \pm 1,0	10,9 \pm 0,8
	APA 90	12,1 \pm 0,7	11,7 \pm 0,9	9,8 \pm 0,6
	CSA 250	11,8 \pm 0,9	10,2 \pm 1,1	6,9 \pm 0,9
	CSA 500	10,3 \pm 1,0 ns	10,2 \pm 0,9 ns	6,6 \pm 1,0 ns
Turgencia	NaClO 100	12,1 \pm 0,8		
	ClO ₂ 5	12,1 \pm 0,9		
	ClO ₂ 10	12,6 \pm 0,7		
	APA 50	12,4 \pm 0,7		
	APA 90	11,7 \pm 0,9		
	CSA 250	9,9 \pm 1,0		
	CSA 500	10,9 \pm 1,0 ns		
Sabores extraños	NaClO 100	1,6 \pm 0,6		
	ClO ₂ 5	1,1 \pm 0,2		
	ClO ₂ 10	0,9 \pm 0,3		
	APA 50	1,4 \pm 0,6		
	APA 90	1,1 \pm 0,3		
	CSA 250	1,6 \pm 0,4		
	CSA 500	2,2 \pm 0,9 ns		

ns: No significativo

CONCLUSIONES

En ambos ensayos, los resultados obtenidos mostraron que todos los sanitizantes utilizados en combinación con atmósfera modificada, lograron disminuir la carga inicial de aerobios mesófilos, enterobacterias y psicrófilos.

La aplicación de CSA en concentraciones de 250 y 500 mg L⁻¹ fue más efectiva para reducir la carga microbiana de aerobios mesófilos, psicrófilos y enterobacterias en brotes de alfalfa almacenados a 5° C durante 7 días.

Las bolsas plásticas de baja permeabilidad, afectaron de forma negativa la calidad sensorial de los brotes.

Las bolsas plásticas de mayor permeabilidad, son una buena alternativa para mantener la calidad microbiológica y sensorial de los brotes de alfalfa durante el almacenamiento.

Por lo tanto, el uso de CSA en concentraciones de 250 y 500 mg L⁻¹ en combinación con el envasado en una atmósfera modificada con 3-4% CO₂ y 4-5% O₂ redujeron la carga microbiana y aseguraron una vida útil de 7 días a 5° C.

BIBLIOGRAFÍA

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.

Alvaro, J., S. Moreno, F. Dianez, M. Santos, G. Carrasco and M. Urrestarazu. 2009. Effects of peracetic acid disinfectant on the postharvest of some fresh vegetables. *Journal of Food Engineering* 95: 11-15.

Allende, A., M. Selma, F. López-Gálvez, R. Villaescusa and M. Gil. 2008. Role of commercial 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. McEvoy, 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.

Anónimo. 2007. Germinados o brotes de alfalfa. Disponible en: http://www.consumer.es/web/es/alimentacion/aprender_a_comer_bien/complementos_dieteticos/2007/05/12/162609.php . Leído el 11 de agosto 2009.

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-Hernández, F., 2007. Avances tecnológicos durante el transporte frigorífico hortofrutícola. En: Jornada sobre soluciones tecnológicas en logística y transporte. Cartagena, España Noviembre 2007. Universidad Politécnica. Cartagena, España.

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.

ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN. 1997. Análisis sensorial: metodología: evaluación de los productos alimentarios por métodos que utilizan escalas: UNE 87-020-93. Editor AENOR. 10 p.

Bartz, J., C. Eayre, M. Mahovic, D. Concelmo, J. Brecht and S. Sargent. 2001. Chlorine concentration and the inoculation of tomato fruit in packinghouse dump tanks. *Plant Disease* 85: 885-889.

- Baur, S., R. Klaiber, H. Wei, W. Hammes and R. Carle. 2005. Effect of temperature and chlorination of pre-washing water on shelf-life and physiological properties of ready-to-use iceberg lettuce. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 6: 171-182.
- Beltrán, D., M. Selma, J. Tudela and M. Gil. 2005a. Effect of different 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.
- Beltrán, D., M. Selma, A. Marín and M. Gil. 2005b. Ozonated Water Extends the Shelf Life of Fresh-Cut Lettuce. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 5654-5663.
- Beuchat, L. 1998. Surface decontamination of fruits and vegetables eaten raw: a review. Food Safety Unit World Health Organization. 42 p.
- Beuchat, L. 2000. Use of sanitizers in raw fruit and vegetable processing. pp. 63-77. In: Alzamora, S., M. Tapia y A. López-Malo (Eds). *Minimally processed fruits and vegetables: fundamental aspects and applications Food engineering series*. Gaithersburg, MD, Aspen, USA. 360 p.
- Cliffe-Byrnes, V. y D. O'Beirne. 2005. Effects of chlorine treatment and packaging on the quality and shelf-life of modified atmosphere (MA) packaged coleslaw mix. *Food Control* 16: 707-716.
- Delaquis, P., L. Fukumoto, P. Toivonen and M. Cliff. 2003. Implications of wash water chlorination and temperature for the microbiological and sensory properties of fresh-cut iceberg lettuce. *Postharvest Biology and Technology* 31: 81-91.
- Del Nobile, M.A., F. Licciardello, C. Scrocco, G. Muratore and M. Zappa, 2007. Design of plastic packages for minimally processed fruits. *Journal of Food Engineering* 79: 217-224.
- Du, J., Y. Han and R. Linton. 2002. Inactivation by chlorine dioxide gas (ClO₂) of *Listeria monocytogenes* spotted onto different apple surfaces. *Food Microbiology* 19: 481-490.
- Escalona, V. 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. y L. Luchsinger. 2008. Frutas y hortalizas mínimamente procesadas en fresco. *Aconex* 99: 23-28.
- Escalona, V., L. Luchsinger y L. Lizana. 2008. Efecto del envasado en atmósfera modificada sobre la calidad y la conservación de frutas y hortalizas. *Aconex* 98: 16-24.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. 2011. Shiga toxin-producing *E. coli* outbreak(s). Disponible en: <http://www.efsa.europa.eu/en/topic/ecoutbreak2011.htm>. Leído el 30 de agosto 2011.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. 1998. Guidance for industry: Guide to minimize microbial food safety hazards for fresh fruits and vegetables. Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/ProduceandPlanProducts/ucm064574.htm>. Leído el 30 de agosto 2010.

FOOD STANDARDS AUSTRALIA NEW ZEALAND. 2003. Final assesement report. Application A476. Acidified Sodium Chlorite as a Processing aid. Disponible en: http://www.foodstandards.gov.au/_srcfiles/A476_Chlorite_Final_Assessment_Report.pdf . Leído el 20 de septiembre 2010.

Garcia, A., J. Mount and P. Davidson. 2003. Ozone and chlorine treatment of minimally processed lettuce. *Journal of Food Science* 68: 2747-2751.

Gómez, V., A. Rajkovic, 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.

González, R., Y. Luo, S. Ruiz-Cruz and J. McEvoy. 2004. Efficacy of sanitizers to inactivate *Escherichia coli* O157:H7 on fresh-cut carrot shreds under simulated process water conditions. *Journal of Food Protection* 67: 2375-2380.

González, D. 2006. Desinfección de semillas de alfalfa con luz ultravioleta de onda corta (UVC). Tesis Licenciatura en Ingeniería de Alimentos. Universidad de las Américas Puebla, Escuela de Ingeniería y Ciencias. Puebla, México. Disponible en: http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lia/gonzalez_d_d/ . Leído el 10 de agosto 2009.

Hilgren, J., K. Swanson, F. Diez-Gonzalez and B. Cords. 2007. Inactivation of *Bacillus anthracis* spores by liquid biocides in the presence of food residue. *Applied and Environmental Microbiology* 73: 6370-6377.

Jeng, D. and A. Woodworth. 1990. Chlorine dioxide gas sterilization under square-wave conditions. *Applied and Environmental Microbiology* 56: 514-519.

Kader, A. 2002a. Atmósferas modificadas en el transporte y el almacenamiento. En: *Tecnología Postcosecha de cultivos Hortofrutícolas*. Universidad de California Davis. 570 p.

Kader, A. 2002b. Métodos de mezclado, muestreo y análisis de gases. En: *Tecnología Postcosecha de cultivos Hortofrutícolas*. Universidad de California Davis. 570 p.

- Kitis, M. 2004. Disinfection of wastewater with peracetic acid: a review. *Environment International* 30: 47-55.
- Klaiber, R., S. Baur, G. Wolf, W. Hammes and R. Carle. 2005. Quality of minimally processed carrots as affected by warm water washing and chlorination. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 6: 351-362.
- Koivunen, J. and H. Heinonem-Tanski. 2005. Inactivation of enteric microorganisms with chemical disinfectants, UV irradiation and combined chemical UV treatments. *Water Research* 39: 1519-1526.
- Krishi, K. 2009. Modified atmosphere packaging of fresh produce: Current status and future needs. *Food Science and Technology* 43: 381-392.
- Lee, S. and S. Baek. 2008. Effect of chemical sanitizer combined with modified atmosphere packaging on inhibiting *Escherichia coli* O157:H7 in commercial spinach. *Food Microbiology* 25: 582-587.
- Martín-Diana, A., D. Rico, C. Barry-Ryan, J. Frías, J. Mulcahy and G. Henehan. 2005. Comparison of calcium lactate with chlorine as a washing treatment for fresh-cut lettuce and carrots: quality and nutritional parameters. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85: 2260-2268.
- Martínez-Sánchez, A., A. Allende, R. Bennett, F. Ferreres and M. Gil. 2006. Microbial, Nutritional and sensory quality of rocket leaves as affected by different sanitizers. *Postharvest Biology and Technology* 42: 86-87.
- Martínez-Sánchez, A. 2008. Caracterización de compuestos bioactivos en crucíferas de uso en IV gama: aspectos relacionados con la fisiología y tecnología postrecolección. Doctor Europeo, Universidad Politécnica de Cartagena, Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Cartagena, España. 267p.
- McGuire, R. 1992. Reporting of objective color measurements. *HortScience* 27: 1254-1255.
- 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.
- Parish, M., L. Beuchat, T. Suslow, L. Harris, E. Garrett, J. Farber and F. Busta. 2003. Methods to reduce/eliminate pathogens from fresh and fresh-cut produce. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2: 161-173.
- Resh, H. 2001. Cultivos hidropónicos. 5º edición. Ediciones Mundi-Prensa. 558 p.

- Rico, D., A. Martín-Diana, J. 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.
- Ruiz, S., E. Acedo, M. Díaz, M. Islas, and A. Gonzáles. 2006a. Efficacy of sanitizers in reducing *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* populations on fresh-cut carrots. *Food control* 18: 1383-1390.
- Ruiz, S. Y. Luo, R. Gonzalez, Y. Tao and G. González. 2006b. Acidified sodium chlorite as an alternative to chlorine to control microbial growth on shredded carrots while maintaining quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86:1887-1893.
- Ruiz, S., M. Islas, R. Sotelo, F. Vázquez and G. González. 2007. Sanitation procedure affects biochemical and nutritional changes of shredded carrots. *Journal Food Science* 2: 146-152.
- Sánchez, M. 2003. *Proceso de elaboración de alimentos y bebidas*. Ediciones Mundi-Prensa. 518 p.
- Sapers, G., R. Miller and A. Mattrazzo. 1999. Effectiveness of sanitizing agents in inactivating *Escherichia coli* in golden delicious apples. *Journal of Food Science* 64:734–737.
- Scouten, A. and L. Beuchat. 2002. Combined effects of chemical, heat and ultrasound treatments to kill *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa seeds. *Journal Applied Microbiology* 92: 668-674.
- 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. Singh, A. Bhunia and R. Stroshine. 2002a. Effect of inoculation and washing methods on the efficacy of different sanitizers against *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce. *Food Microbiology* 19: 183-193.
- Singh, N., R. Singh, A. Bhunia and R. Stroshine. 2002b. Efficacy of chlorine dioxide, ozone, and thyme essential oil or a sequential washing in killing *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce and baby carrots. *Food Science and Technology* 35: 720-729.
- Suslow, T. and M. Catwell. 2006. *Brotos de Semillas: Recomendaciones para mantener la calidad postcosecha*. Postharvest Technology Research and Information center 3-6.
- Stampi, S., G. De Luca and F. Zanetti. 2001. Evaluación of the efficiency of peracetic acid in the disinfection of sewage effluents. *Journal Applied Microbiology* 91: 833-838.

- Vandekinderen, I., F. Devlieghere, B. Meulenaer, K. Veramme, P. Ragaert and J. Van Camp. 2008a. 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, Q. Denon, P. Ragaert and B. Meulenaer. 2008b. Effect of decontamination agents on the microbial population, sensorial quality, and nutrient content of grated carrots (*Daucus carota* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 5723-5731.
- Vandekinderen, I., F. Devlieghere, J. Van Cap, B. Kerkaert, T. Cucu, P. Ragaert, J. De Bruyne and B. De Meulenaer. 2009a. Effects of food composition on the inactivation of foodborne microorganisms by chlorine dioxide. *International Journal of Food Microbiology* 131: 138-144.
- Vandekinderen, I., J. Van Cap, F. Devlieghere, K. Verame, N. Bernaert, Q. Denon, P. Ragaert and B. De Meulenaer. 2009b. 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.
- 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.
- Watada, A., N. Ko and P. Minott. 1996. Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. *Postharvest Biology and Technology* 9: 115-125.

ANEXO I

EVALUACIÓN SENSORIAL PANEL ENTRENADO

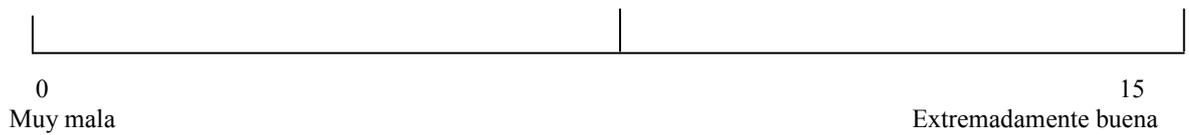
Nombre:
Fecha:.....

Instrucciones: Por favor, indique con una línea vertical la intensidad de su sensación para cada uno de los atributos evaluados.

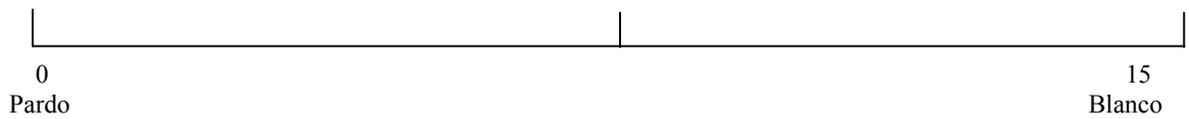
Aspecto visual

Muestra N° _____

1. Apariencia

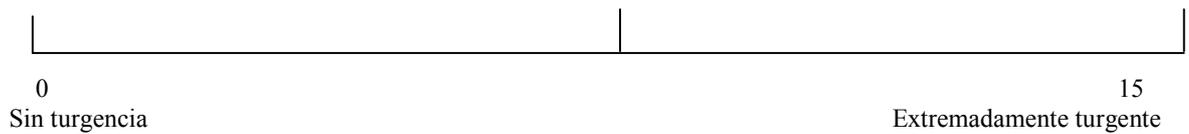


2. Intensidad de color

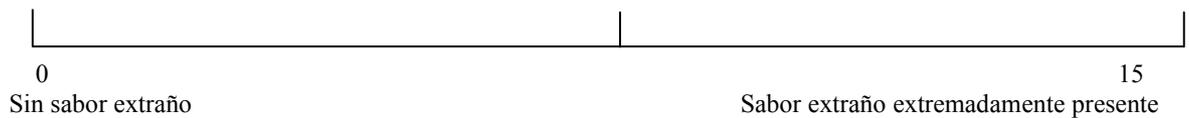


Aspecto gustativo

1. Turgencia



2. Sabores extraños



ANEXO II

Cuadro 1. Norma establecida por el Ministerio de Salud pública para Frutas y otros vegetales comestibles pre-elaborados, listos para consumo.

Parámetro	Plan de muestreo				Limite por gramo	
	Categoría	Clase	n	c	m	M
RAM	6	3	5	1	5×10^4 (4,7 log)	5×10^5 (5,7 log)
Enterobacteriaceas	6	3	5	1	5×10^3 (3,7 log)	5×10^4 (4,7 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	---

Fuente: Reglamento Sanitario de los alimentos, Ministerio de Salud Publica, Chile, 1997.

n: numero de muestras a ser examinadas; m: valor del parámetro microbiológico para el cual o por debajo del cual es alimento no representa un riesgo para la salud; c: número máximo de unidades de muestra que puede contener un numero 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.

APÉNDICE I

Cuadro 1. Evolución de la tasa respiratoria ($\text{mg CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) en brotes de alfalfa lavados con distintos sanitizantes y conservados durante 7 días a 5° C.

Tratamiento	Días		
	1	4	7
NaClO 100	88,7 Bb ¹	72,9 BCa	64,3 Ba
ClO ₂ 5	63,3 Ac	45,3 Aa	44,9 Aa
ClO ₂ 10	62,6 Ab	52,1 Aa	48,3 Aa
APA 50	57,0 Ab	49,6 Aab	46,4 Aa
APA 90	58,0 Ab	55,1 Ab	42,4 Aa
CSA 250	62,7 Ab	52,2 Aa	45,4 Aa
CSA 500	53,8 Aa	47,6 Aab	41,7 Aa

¹ Letras mayúsculas distintas en cada columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0,05$), letras minúsculas distintas en cada fila indican diferencias significativas durante el tiempo de almacenamiento ($P \leq 0,05$), según la prueba de rango múltiple Tukey.

Cuadro 2. Variación en la concentración de CO₂ en brotes de alfalfa lavados con distintos sanitizantes, envasados en AM y conservados durante 7 días a 5° C.

Tratamiento	Días		
	1	4	7
NaClO 100	18,8 BCa ¹	21,9 EFb	27,0 Dc
ClO ₂ 5	19,3 Ca	23,0 Fb	26,6 Dc
ClO ₂ 10	18,3 BCa	21,5 DEb	26,3 Dc
APA 50	17,9 Ba	20,6 CDb	26,4 Dc
APA 90	17,6 ABa	19,8 BCb	24,2 Cc
CSA 250	18,3 BCa	19,1 Ba	20,2 Bb
CSA 500	16,4 Aa	17,4 Aab	18,2 Ab

¹ Letras mayúsculas distintas en cada columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0,05$), letras minúsculas distintas en cada fila indican diferencias significativas durante el tiempo de almacenamiento ($P \leq 0,05$), según la prueba de rango múltiple Tukey.

Cuadro 3. Variación en la concentración de O₂ en brotes de alfalfa lavados con distintos sanitizantes, envasados en AM y conservados durante 7 días a 5° C.

Tratamiento	Días		
	1	4	7
NaClO 100	1,5 Cb ¹	1,3 BCa	1,1 ABa
ClO ₂ 5	1,4 Cb	1,3 Cb	1,1 ABa
ClO ₂ 10	1,4 BCb	1,2 ABCa	1,1 ABa
APA 50	1,5 Cb	1,2 ABCa	1,0 Aa
APA 90	1,1 Cb	1,1 ABCa	1,0 ABa
CSA 250	1,2 ABb	1,1 Aab	1,1 ABa
CSA 500	1,2 Aa	1,1 ABa	1,2 Aa

¹ Letras mayúsculas distintas en cada columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0,05$), letras minúsculas distintas en cada fila indican diferencias significativas durante el tiempo de almacenamiento ($P \leq 0,05$), según la prueba de rango múltiple Tukey.

Cuadro 4. Aerobios mesófilos (log ufc g⁻¹) en brotes de alfalfa lavados con distintos sanitizantes, envasados en AM y conservados durante 7 días a 5° C.

Tratamiento	Días		
	1	4	7
NaClO 100 (Bp)	2,9 ABCa ¹	3,6 Bab	4,0 ABb
NaClO 100	3,0 BCa	3,5 ABab	4,0 ABb
ClO ₂ 5	2,3 ABa	2,9 ABab	3,3 Ab
ClO ₂ 10	3,7 Ca	4,0 ABab	4,7 Bb
APA 50	2,9 ABCa	3,3 ABab	3,9 ABb
APA 90	2,9 ABCa	3,4 ABab	3,8 ABb
CSA 250	1,8 Aa	2,3 Aab	3,1 Ab
CSA 500	2,8 ABCa	3,1 ABa	3,2 Aa

¹ Letras mayúsculas distintas en cada columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0,05$), letras minúsculas distintas en cada fila indican diferencias significativas durante el tiempo de almacenamiento ($P \leq 0,05$), según la prueba de rango múltiple Tukey.

Cuadro 5. Enterobacterias (log ufc g⁻¹) en brotes de alfalfa lavados con distintos sanitizantes, envasados en AM y conservados durante 7 días a 5° C.

Tratamiento	Días		
	1	4	7
NaClO 100 (Bp)	3,2 Aa ¹	3,7 Ab	4,1 ABb
NaClO 100	2,0 Aa	2,8 Ab	3,9 Bc
ClO ₂ 5	2,3 Aa	3,0 Ab	3,9 Bc
ClO ₂ 10	2,4 Ba	3,1 Bb	3,5 Bb
APA 50	2,2 Aa	2,8 Ab	3,9 Bc
APA 90	2,0 Aa	2,6 Ab	3,9 Bc
CSA 250	1,9 Aa	2,5 Ab	2,9 Ab
CSA 500	2,2 Aa	2,9 Ab	3,2 Ab

¹ Letras mayúsculas distintas en cada columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0,05$), letras minúsculas distintas en cada fila indican diferencias significativas durante el tiempo de almacenamiento ($P \leq 0,05$), según la prueba de rango múltiple Tukey.

Cuadro 6. Psicrófilos (log ufc g⁻¹) en brotes de alfalfa lavados con distintos sanitizantes, envasados en AM y conservados durante 7 días a 5° C.

Tratamiento	Días		
	1	4	7
NaClO 100 (Bp)	3,5 Ca ¹	4,9 Cb	5,0 Bb
NaClO 100	2,7 ABa	4,5 ABCb	4,8 Bc
ClO ₂ 5	2,7 ABa	4,2 BCb	4,5 ABb
ClO ₂ 10	3,1 BCa	4,2 ABCb	4,4 ABb
APA 50	3,2 BCa	4,4 BCb	4,7 ABb
APA 90	2,7 ABa	4,2 ABCb	4,6 ABb
CSA 250	2,2 Aa	3,8 ABb	4,0 Ab
CSA 500	2,1 Aa	3,6 Ab	4,0 Ab

¹ Letras mayúsculas distintas en cada columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0,05$), letras minúsculas distintas en cada fila indican diferencias significativas durante el tiempo de almacenamiento ($P \leq 0,05$), según la prueba de rango múltiple Tukey.

Cuadro 7. Variación de la apariencia en brotes de alfalfa lavados con distintos sanitizantes, envasados bajo AM y conservados durante 7 días a 5° C.

Tratamiento	Días		
	1	4	7
NaClO 100	13,7 Aa ¹	9,6 Aa	8,3 Aa
ClO ₂ 5	12,3 Aa	9,5 Aa	9,2 Aa
ClO ₂ 10	12,6 Aa	9,6 Aa	8,8 Aa
APA 50	12,5 Aa	7,9 Aa	7,8 Aa
APA 90	11,5 Aa	8,2 Aa	8,1 Aa
CSA 250	11,2 Aa	8,3 Aa	7,8 Aa
CSA 500	10,8 Aa	5,7 Aa	4,3 Aa

¹ Letras mayúsculas distintas en cada columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0,05$), letras minúsculas distintas en cada fila indican diferencias significativas durante el tiempo de almacenamiento ($P \leq 0,05$), según la prueba de rango múltiple Tukey.

Cuadro 8. Variación en la intensidad de color en brotes de alfalfa lavados con distintos sanitizantes, envasados bajo AM y conservados durante 7 días a 5° C.

Tratamiento	Días		
	1	4	7
NaClO 100	13,1 Aa	11,5 Aa	11,4 Ba
ClO ₂ 5	12,4 Aa	12,3 Aa	11,5 Ba
ClO ₂ 10	12,9 Aa	11,6 Aa	10,5 Ba
APA 50	12,7 Aa	12,1 Aa	9,2 ABa
APA 90	12,2 Aa	11,7 Aa	9,9 ABa
CSA 250	11,6 Aa	11,6 Aa	8,7 ABb
CSA 500	11,4 Aa	10,6 Aa	7,0 Ab

¹ Letras mayúsculas distintas en cada columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0,05$), letras minúsculas distintas en cada fila indican diferencias significativas durante el tiempo de almacenamiento ($P \leq 0,05$), según la prueba de rango múltiple Tukey.

Cuadro 9. Variación en la turgencia en brotes de alfalfa lavados con distintos sanitizantes, envasados bajo AM y conservados durante 7 días a 5° C.

Tratamiento	Días		
	1	4	7
NaClO 100	13,7 Aa ¹	10,9 Aa	8,9 Aa
ClO ₂ 5	13,6 Aa	9,9 Aa	8,4 Aa
ClO ₂ 10	13,3 Aa	10,3 Aa	8,7 Aa
APA 50	13,4 Aa	9,1 Aa	8,7 Aa
APA 90	13,1 Aa	10,2 Aa	7,5 Aa
CSA 250	12,3 Aa	7,9 Aa	7,2 Aa
CSA 500	13,2 Aa	8,3 Aa	6,5 Aa

¹ Letras mayúsculas distintas en cada columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0,05$), letras minúsculas distintas en cada fila indican diferencias significativas durante el tiempo de almacenamiento ($P \leq 0,05$), según la prueba de rango múltiple Tukey.

Cuadro 10. Variación de sabores extraños en brotes de alfalfa lavados con distintos sanitizantes, envasados bajo AM y conservados durante 7 días a 5° C.

Tratamiento	Días		
	1	4	7
NaClO 100	1,2 Aa ¹	2,1 Aa	5,7 Aa
ClO ₂ 5	0,9 Aa	2,1 Aa	3,7 Aa
ClO ₂ 10	1,2 Aa	3,7 Aa	6,5 Aa
APA 50	1,1 Aa	2,8 Aa	4,1 Aa
APA 90	1,0 Aa	2,7 Aa	6,9 Aa
CSA 250	1,2 Aa	4,6 Aa	9,5 Aa
CSA 500	1,6 Aa	2,7 Aa	6,2 Aa

¹ Letras mayúsculas distintas en cada columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0,05$), letras minúsculas distintas en cada fila indican diferencias significativas durante el tiempo de almacenamiento ($P \leq 0,05$), según la prueba de rango múltiple Tukey.

APÉNDICE II

Cuadro 1. Evolución de la tasa respiratoria ($\text{mg CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) en brotes de alfalfa lavados con distintos sanitizantes y conservados durante 7 días a 5° C.

Tratamiento	Días							
	0		1		4		7	
NaClO 100	68,0	Ca	67,1	ABa	61,6	Aa	62,2	Ba
ClO ₂ 5	67,5	Cb	58,6	ABab	55,6	Aa	57,2	ABa
ClO ₂ 10	64,0	ABCa	62,5	ABa	58,7	Aa	56,9	ABa
APA 50	65,4	BCb	57,7	ABab	55,1	Aa	54,0	ABa
APA 90	61,8	ABCb	57,5	ABb	56,3	Aab	46,6	Aa
CSA 250	55,1	ABa	51,4	Aa	52,1	Aa	54,6	ABa
CSA 500	52,5	Aa	51,7	Aa	57,2	Aa	53,3	ABa

¹ Letras mayúsculas distintas en cada columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0,05$), letras minúsculas distintas en cada fila indican diferencias significativas durante el tiempo de almacenamiento ($P \leq 0,05$), según la prueba de rango múltiple Tukey.

Cuadro 2. Variación en la concentración de CO₂ en brotes de alfalfa lavados con distintos sanitizantes, envasados en AM y conservados durante 7 días a 5° C.

Tratamiento	Días							
	0		1		4		7	
NaClO 100	1,5	ABa ¹	3,4	Cc	2,8	ABCb	2,7	Ab
ClO ₂ 5	1,6	ABa	3,2	BCc	2,8	ABb	2,8	Ab
ClO ₂ 10	1,7	Ba	3,2	BCc	2,6	Ab	2,6	Ab
APA 50	1,4	ABa	2,9	Ac	2,6	Ab	2,8	Abc
APA 90	1,4	Aa	3,3	Cd	3,1	CDc	2,8	Ab
CSA 250	1,5	ABa	3,1	ABb	3,2	Dcb	3,3	Bc
CSA 500	1,4	Aa	2,9	Ab	2,9	BCDb	4,1	Cc

¹ Letras mayúsculas distintas en cada columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0,05$), letras minúsculas distintas en cada fila indican diferencias significativas durante el tiempo de almacenamiento ($P \leq 0,05$), según la prueba de rango múltiple Tukey.

Cuadro 3. Variación en la concentración de O₂ en brotes de alfalfa lavados con distintos sanitizantes, envasados en AM y conservados durante 7 días a 5° C.

Tratamiento	Días			
	0	1	4	7
NaClO 100	17,4 Ac ¹	8,1 Ab	5,8 Aa	6,1 Ba
ClO ₂ 5	17,3 Ac	8,4 Ab	5,9 Aa	5,7 Ba
ClO ₂ 10	16,8 Ac	8,5 Ab	6,3 Aa	6,7 Ba
APA 50	17,2 Ad	10,1 BCc	6,7 Ab	5,2 ABa
APA 90	17,5 Ac	9,1 ABb	5,9 Aa	5,2 ABa
CSA 250	17,6 Ad	10,8 Cb	6,9 Ab	4,0 Aa
CSA 500	17,9 Ad	10,9 Cc	7,2 Ab	3,6 Aa

¹ Letras mayúsculas distintas en cada columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0,05$), letras minúsculas distintas en cada fila indican diferencias significativas durante el tiempo de almacenamiento ($P \leq 0,05$), según la prueba de rango múltiple Tukey.

Cuadro 4. Aerobios mesófilos (log ufc g⁻¹) en brotes de alfalfa lavados con distintos sanitizantes, envasados en AM y conservados durante 7 días a 5° C.

Tratamiento	Días		
	1	4	7
NaClO 100 (Bp)	5,3 Ca ¹	5,9 Eb	6,2 Dc
NaClO 100	5,2 Ca	5,8 DEb	6,2 Dc
ClO ₂ 5	5,1 Ca	4,9 Ba	6,2 Db
ClO ₂ 10	5,1 Ca	6,1 Eb	6,1 CDb
APA 50	5,0 Ca	5,4 CDb	5,8 Cc
APA 90	5,1 Ca	5,5 CDb	5,8 Cc
CSA 250	4,4 Ba	5,2 BCb	5,4 Bb
CSA 500	3,7 Aa	4,2 Ab	4,6 Ac

¹ Letras mayúsculas distintas en cada columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0,05$), letras minúsculas distintas en cada fila indican diferencias significativas durante el tiempo de almacenamiento ($P \leq 0,05$), según la prueba de rango múltiple Tukey.

Cuadro 5. Enterobacterias (log ufc g⁻¹) en brotes de alfalfa lavados con distintos sanitizantes, envasados en AM y conservados durante 7 días a 5° C.

Tratamiento	Días		
	1	4	7
NaClO 100 (Bp)	5,3 Da ¹	5,7 Db	5,8 Cb
NaClO 100	5,2 Cda	5,3 Ca	5,7 Cb
ClO ₂ 5	5,1 CDa	5,8 DEb	5,9 CDb
ClO ₂ 10	5,1 CDa	6,0 Eb	6,3 Ec
APA 50	5,2 CDa	5,9 Eb	6,1 DEb
APA 90	4,9 Ca	5,7 Db	6,0 Dc
CSA 250	4,2 Ba	4,9 Bb	5,3 Bc
CSA 500	3,7 Aa	4,3 Ab	4,9 Ac

¹ Letras mayúsculas distintas en cada columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0,05$), letras minúsculas distintas en cada fila indican diferencias significativas durante el tiempo de almacenamiento ($P \leq 0,05$), según la prueba de rango múltiple Tukey.

Cuadro 6. Psicrófilos ($\log \text{ufc g}^{-1}$) en brotes de alfalfa lavados con distintos sanitizantes, envasados en AM y conservados durante 7 días a 5° C.

Tratamiento	Días		
	1	4	7
NaClO 100 (Bp)	5,2 Da ¹	5,9 Db	6,8 Cc
NaClO 100	5,1 Da	5,2 ABa	6,2 Bb
ClO ₂ 5	5,1 CDa	5,6 BCDB	5,9 ABb
ClO ₂ 10	4,8 BCDA	5,9 CDb	5,9 ABb
APA 50	4,9 CDa	5,7 BCDB	5,8 ABb
APA 90	4,6 BCa	5,8 CDb	6,1 Bb
CSA 250	4,4 ABa	5,4 ABCb	5,7 ABb
CSA 500	4,0 Aa	4,9 Ab	5,5 Ac

¹ Letras mayúsculas distintas en cada columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0,05$), letras minúsculas distintas en cada fila indican diferencias significativas durante el tiempo de almacenamiento ($P \leq 0,05$), según la prueba de rango múltiple Tukey.