

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

Memoria de Título

**EFEECTO DEL USO DE SANITIZANTES EN LA CALIDAD DE GERMINADOS
DE SOYA (*Glycine max*) CONSERVADOS BAJO ATMÓSFERA MODIFICADA
Y REFRIGERACIÓN**

ESTER PRISCILA MAUREIRA INFANTE

Santiago, Chile
2013

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

Memoria de Título

**EFEECTO DEL USO DE SANITIZANTES EN LA CALIDAD DE GERMINADOS
DE SOYA (*Glycine max*) CONSERVADOS BAJO ATMÓSFERA MODIFICADA
Y REFRIGERACIÓN**

**EFFECT OF SANITIZERS IN THE QUALITY OF SOYBEAN SPROUTS
(*Glycine max*) UNDER MODIFIED ATMOSPHERE PACKAGING AND
REFRIGERATION**

ESTER PRISCILA MAUREIRA INFANTE

Santiago, Chile
2013

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

**EFEECTO DEL USO DE SANITIZANTES EN LA CALIDAD DE GERMINADOS
DE SOYA (*Glycine max*) CONSERVADOS BAJO ATMÓSFERA MODIFICADA
Y REFRIGERACIÓN**

**Memoria para optar al Título Profesional de:
Ingeniera Agrónoma**

Mención: Fruticultura

ESTER PRISCILA MAUREIRA INFANTE

Profesores Guías	Calificaciones
Sr. Víctor Escalona Contreras Ingeniero Agrónomo, Dr.	7,0
Sr. Hugo Núñez Kalasic Ingeniero Agrónomo, Mg.Sc.	6,5
Profesores Evaluadores	
Sr. Luis Luchsinger Lagos Ingeniero Agrónomo, Ph.D.	6,8
Sr. Ítalo Chiffelle Gómez Bioquímico, Dr.	6,8
Colaboradora	
Srta. Andrea Hinojosa Moreno Bioquímica	

Santiago, Chile
2013

AGRADECIMIENTOS

Primero y grandemente a Dios, por darme la vida, la salud y por abrir todas las puertas que me han permitido completar este proceso.

A todos los profesores que aportaron en mi formación profesional y humana, con competencia y dedicación.

A mi profesor guía Víctor Hugo, por darme la posibilidad de trabajar en su investigación. Por fortalecer mis debilidades y potenciar mis capacidades. Por su asertiva instrucción y constante motivación.

A Andrea Hinojosa, Alejandra Machuca, profesora Cielo Char, a los ayudantes Alejandra Jiménez, Erick Meneses, Karina Ubilla, Karin Morelli, por participar activamente en mi memoria; ya sea enseñando, supervisando u apoyando el trabajo, siendo los pilares fundamentales de mi proyecto, entregándome todas las herramientas necesarias para su realización y buen término.

Al ingeniero-químico Héctor Morales, en primer lugar, por su destacable paciencia, buena disposición e idoneidad en su labor. Y segundo, por convertirse en mi amigo y apoyo en la última fase de mi investigación.

Al profesor Ricardo Pertuzé, por disponer de su tiempo para resolver mis dudas y encauzar mi trabajo con nuevas ideas sumamente provechosas.

A mis padres y hermana, por su amor, perseverancia, sus interminables preocupaciones e incansable compañía y paciencia.

A Cote, por su apoyo incondicional y sabios consejos. Por alentarme, cuidarme y acompañarme en momentos muy importantes.

A mis compañeros y colegas Marta, Ives, Linda, Isabel, Claudia, Ruth, Valeria Jer, Dayana, Vanesca y muchos más, que me regalaron su experiencia, su tiempo, sus palabras de aliento, su energía.

A mi prima Valeska y a todos aquellos que guardo en mi corazón con mucha gratitud y cariño, que contribuyeron en diferente grado y manera, permitiendo dar culminación a esta larga y enriquecedora etapa.

Sincera y profundamente, muchas gracias.

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
MATERIALES Y MÉTODO.....	7
Lugar de estudio.....	7
Materiales.....	7
Material vegetal.....	7
Sanitizantes.....	7
Envasado.....	7
Método.....	8
Cosecha y transporte.....	8
Análisis a la materia prima.....	8
Procesamiento.....	8
Determinación de parámetros microbiológicos, fisiológicos, sensoriales y funcionales.....	13
Tasa respiratoria.....	13
Atmósfera modificada activa.....	15
Análisis microbiológico.....	15
Color.....	16
Evaluación sensorial.....	16
Compuestos funcionales.....	17
Contenido de fenoles totales.....	17
Actividad antioxidante total.....	17
Contenido de azúcares.....	18
Diseño experimental y análisis estadístico.....	19
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	20
Ensayo I.....	20
Tasa respiratoria.....	20
Atmósfera modificada activa.....	21
Análisis microbiológico.....	23
Color.....	27
Evaluación sensorial.....	31
Compuestos funcionales.....	33
Contenido de fenoles totales.....	33
Actividad antioxidante total.....	34
Conclusión Ensayo I.....	36

Ensayo II.....	37
Tasa respiratoria.....	37
Atmósfera modificada activa.....	38
Análisis microbiológico.....	40
Color.....	44
Evaluación sensorial.....	48
Compuestos funcionales.....	50
Contenido de fenoles totales.....	50
Actividad antioxidante total.....	51
Contenido de azúcares.....	52
Conclusión Ensayo II.....	54
CONCLUSIÓN GENERAL.....	55
BIBLIOGRAFÍA.....	56
ANEXO I.....	65
ANEXO II.....	66
APÉNDICE I.....	67
APÉNDICE II.....	71

RESUMEN

La industria de las hortalizas mínimamente procesadas en fresco (MPF) utiliza comúnmente hipoclorito de sodio (NaClO) para sanitizar tanto el producto como los equipos que se manipulan, sin embargo, existe motivación por reemplazarlo, debido a la generación de subproductos dañinos para la salud. Con este fin, se estudiaron tres sanitizantes alternativos: dióxido de cloro (5 y 10 mg·L⁻¹; OC-5 y OC-10), clorito de sodio acidificado (250 y 500 mg·L⁻¹; CS-250 y CS-500) y ácido peroxiacético (50 y 90 mg·L⁻¹; AP-50 y AP-90), junto con hipoclorito de sodio (100 mg·L⁻¹; HS-100) en germinados de soya (*Glycine max*) envasados en atmósfera modificada activa (AMA) durante 11 días a 5 °C.

En el primer ensayo se utilizó una bolsa plástica altamente permeable, la cual fue inicialmente barrida con N₂ gaseoso hasta lograr una concentración de 8% O₂. Los tratamientos HS-100 y CS (250 y 500 mg·L⁻¹) presentaron las mayores reducciones microbianas iniciales (entre 0,7 y 1,8 log ufc·g⁻¹), sin embargo, al final de la conservación todos los recuentos se concentraron alrededor de 8 log ufc·g⁻¹ para aerobios mesófilos, psicrótrofos y enterobacterias. Sensorialmente, OC-5 obtuvo las mayores puntuaciones tanto en apariencia como intensidad de color hasta el día 7, en contraste, desde el día 7, OC-10 y CS-500 fueron los tratamientos peor evaluados por el panel.

Para el segundo ensayo, se escogieron los sanitizantes más efectivos para controlar el crecimiento microbiano, seleccionando de esta forma hipoclorito de sodio (HS-100) dióxido de cloro (OC-5 y OC-10) y clorito de sodio acidificado (CS-250 y CS-500). Se utilizó una bolsa plástica prácticamente impermeable, la cual fue inicialmente barrida con O₂ hasta lograr una concentración de 90% O₂, alcanzando el día 11 una concentración promedio de 34% O₂ y 49% CO₂. CS-500 presentó la mayor reducción microbiana inicial (entre 0,8 y 1,1 log ufc·g⁻¹), sin embargo, al final de la conservación todos los valores se concentraron alrededor de 9 log ufc·g⁻¹ para aerobios mesófilos, psicrótrofos y enterobacterias. La mayor tasa respiratoria la presentó HS-100, que se ajustó también a un mayor gasto de O₂ dentro de la bolsa, pero que no se evidenció en un mayor consumo de azúcar. Sensorialmente, el panel evaluador no encontró diferencias entre tratamientos, que concuerda con la poca variación observada en los parámetros de L, C* y H_{ab}.

En ambos ensayos, tanto el contenido de fenoles totales como la actividad antioxidante total no se vieron afectados por la utilización de diferentes sanitizantes.

Palabras claves: sanitización, fisiología, calidad sensorial, compuestos funcionales, pardeamiento.

ABSTRACT

The industry of minimally processed vegetables commonly uses sodium hypochlorite (NaClO) to sanitize both the product and the equipment to be handled, however, there is interest to replace it due the generation of by-products harmful to health. For this aim, three alternative sanitizers were studied: chlorine dioxide (5 and 10 mg·L⁻¹; OC-5 and OC-10), acidified sodium chlorite (250 and 500 mg·L⁻¹; CS-250 and CS-500) and peroxyacetic acid (50 and 90 mg·L⁻¹; AP-50 and AP-90), and as control, sodium hypochlorite (100 mg·L⁻¹; HS-100), in soybean sprouts (*Glycine max*) under active modified atmosphere packaging for 11 days at 5 °C.

In the first assay was used highly permeable plastic bag, which was initially swept with N₂ until a concentration of 8% O₂. HS-100 and CS (250 and 500 mg·L⁻¹) treatments showed the highest initial microbial reductions (between 0,7 and 1,8 log cfu·g⁻¹), nevertheless, at the end of storage all counts were concentrated around 8 log cfu·g⁻¹ for aerobic mesophilic, psychrotrophic and enterobacteria. In sensorial evaluation, OC-5 obtained the highest scores in both appearance and color intensity until day 7, in contrast, from day 7, OC-10 and CS-500 were the worst treatments evaluated by the panel.

For the second assay, the most effective sanitizers by controlling microbial growth were chosen, thereby, sodium hypochlorite (HS-100), chlorine dioxide (OC-5 and OC-10) and acidified sodium chlorite (CS-250 and CS-500) were selected. The most impermeable plastic bag was used, which was initially swept with O₂ to achieve a concentration of 90% O₂, reaching for day 11 an average concentration of 34% O₂ and 49% CO₂. CS-500 showed the highest initial microbial reduction (between 0,8 and 1,1 log cfu·g⁻¹), however, at the end of storage all counts were concentrated around 9 log cfu·g⁻¹ for aerobic mesophilic, psychrotrophic and enterobacteria. HS-100 displayed the highest respiratory rate, which also adjusted to the highest consumption of O₂ inside the bag, but was not associated with increased consumption of sugar. In sensorial evaluation, panel found no difference between treatments, consistent with low variation observed in the parameters of L, C* and H_{ab}.

In both assays, the total phenolic content and total antioxidant activity were not affected by the use of different sanitizers.

Keywords: sanitation, physiology, sensorial quality, functional ingredients, browning.

INTRODUCCIÓN

La soya (*Glycine max* L.) es una fabácea de origen asiático, considerada como una de las cinco semillas sagradas para la comunidad China, que por su alto valor nutritivo y demás beneficios en la salud, ha sido llamada “el alimento del futuro” (FAO, 1995; Liu, 1997; Valencia y Garzón, 2004; García *et al.*, 2006). La soya de acuerdo con su uso se la puede clasificar en dos grandes grupos: como producto no procesado (legumbre u hortaliza) o como producto procesado (aceite y harina) (Conti *et al.*, 2006).

La composición química de la soya cambia en función del desarrollo de la semilla y del proceso que se le aplique (fresco, cocido, enlatado, congelado, almacenado), siendo los componentes principales de ella la proteína y el aceite. En el caso de la proteína, ésta se caracteriza por presentar un equilibrio adecuado de los aminoácidos esenciales, aproximándose a las normas de consumo recomendadas por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 1995).

Bates y Mathews (1975) observaron contenidos diferentes de vitaminas en la semilla verde-madura, la semilla seca-madura, y en los germinados; comprobando que los contenidos más bajos de ácido ascórbico y β -caroteno se encontraban en el estado seco-maduro de la semilla. Sin embargo, desde el momento de la germinación, el nivel de estas vitaminas aumentaba, lo que permite afirmar que la germinación de la semilla es una práctica significativa de regeneración de algunos de los nutrientes perdidos durante la maduración de la soya (Fordham *et al.*, 1975). En el caso del ácido ascórbico (vitamina C), éste se incrementa por sobre 200 veces al nivel encontrado en semillas no germinadas (Kim *et al.*, 1993).

En relación con lo anterior, los germinados de soya (también conocidos como brotes de soya o soya germinada), son uno de los derivados más conocidos. Se pueden consumir crudos o cocidos. En el primero de los casos conservan su característica textura crujiente, pero pueden resultar indigestos. Cuando se les somete a cocción (vapor o hervidos) pierden su textura crujiente, pero ganan en digestibilidad, ya que la cocción desactiva algunas sustancias inhibitoras de la digestión (Conti *et al.*, 2006).

Tan importante como el valor nutricional de los germinados de soya, es su condición sanitaria, aspecto fundamental para asegurar la salud de los consumidores. Por este motivo, la inocuidad ha pasado a ser una cuestión de alta prioridad para muchos gobiernos. La amplia divulgación mediática de enfermedades como cólera, hepatitis, etc., ha hecho evidente que abastecer a la población con alimentos contaminados puede tener consecuencias sanitarias, políticas y económicas (Loaharanu, 2001), en efecto, el número de enfermedades transmitidas por alimentos relacionadas con semillas y germinados ha aumentado rápidamente desde 1995 (O'Mahony *et al.*, 1990; Beuchat, 1997; NACMCF, 1999; Adrienne *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2002). A modo de ejemplo, organismos patógenos como *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* O157:H7, han sido aislados desde semillas germinadas, incluyendo alfalfa, soya verde, berro, soya y mostaza (Beuchat, 1996; Taormina y Beuchat, 1999; Stewart *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2002).

Existiendo entonces una auténtica necesidad de reducir el riesgo y consecuencias negativas relacionadas con la contaminación microbiana, se recurre a la desinfección como un mecanismo idóneo para lograr una inocuidad en este tipo de alimentos. Referente a este punto, el Ministerio de Salud de Chile (1996) define el término desinfección como “la reducción del número de microorganismos a un nivel que no dé lugar a contaminación nociva del alimento, sin menoscabo de la calidad de él, mediante agentes químicos y/o métodos higiénicamente satisfactorios”.

A pesar de los efectos variables que tienen los desinfectantes en la materia prima, debido a que en la práctica resulta dificultoso alcanzar un lavado y descontaminación efectiva en hortalizas frescas, especialmente en hortalizas mínimamente procesadas (debido a la mayor superficie expuesta), éstos son sin duda útiles para la higienización del agua de lavado, con el fin de evitar la contaminación de los productos con el uso de aguas que no son microbiológicamente seguras o mediante contaminación cruzada desde productos contaminados a productos sanos (Beuchat, 1998; Garmendia *et al.*, 2006).

La cloración es el método principal para reducir al mínimo la transmisión de patógenos desde productos vegetales infectados o fuentes externas contaminadas, a las superficies no infectadas, como aquellas dañadas mecánicamente durante la cosecha, el transporte, el procesamiento, heridas, o aberturas superficiales naturales (Artés *et al.*, 2007). Para desinfectar el producto, comúnmente se usa cloro en concentraciones de 50 a 200 mg·L⁻¹ con un tiempo de contacto de 1 a 2 minutos (Beuchat, 1998). El hipoclorito de sodio (NaClO) es un desinfectante muy potente con poderosas propiedades oxidantes, siendo el más utilizado por la industria alimentaria para la higienización tanto del producto como de los equipos involucrados en el área de proceso (Nieuwenhuijsen *et al.*, 2000). Es efectivo, además, la mayoría de las veces poco costoso y puede implementarse en operaciones de cualquier tamaño (Suslow, 1997). Su efectividad contra microorganismos depende del pH, temperatura, concentración, materia orgánica presente en el agua de lavado, material vegetal, tiempo de exposición, y carga microbiana inicial (Boyette *et al.*, 1993; Beuchat, 1998). La eficacia aumenta con la concentración cada vez mayor de cloro disponible, pero altos niveles pueden causar un riesgo para los operadores (Adam *et al.*, 1989) y residuos de sodio en el producto y el equipo (Ritenour y Crisosto, 1996). Cuando NaClO se disuelve en agua, se incrementa el pH y genera ácido hipocloroso (HClO), el cual es la especie activa antimicrobiana (Boyette *et al.*, 1993; Suslow, 1997). Utilizando soluciones a pH 6 se logra conseguir alta efectividad y estabilidad (Garmendia *et al.*, 2006). Sin embargo, NaClO también puede oxidar incompletamente constituyentes de los alimentos que contienen materia orgánica natural y producir subproductos no saludables en el agua de proceso, como el cloroformo (CHCl₃), ácidos haloacéticos u otros trihalometanos (THM), de los cuales se han conocido o sospechado efectos cancerígenos o mutagénicos, con toxicidad comprobada para el hígado y los riñones (Nieuwenhuijsen *et al.*, 2000). Estas desventajas han alentado la búsqueda de alternativas al NaClO disuelto en agua. Entre ellos algunas formulaciones de ácidos orgánicos, tales como ácido peroxiacético combinado con ácidos ascórbico y cítrico, dióxido de cloro (ClO₂), clorito de sodio (NaClO₂), peróxido de hidrógeno (H₂O₂), lactato de calcio, agua electrolizada (EW), inyecciones de vapor a chorro y componentes biológicos se han probado con variados resultados (Artés *et al.*, 2009).

La eficacia del ClO_2 depende mucho menos del pH y de la materia orgánica que NaClO . Presenta un gran poder antioxidante y no genera trihalometanos, sin embargo, es altamente inestable. Según la Agencia de Alimentos y Medicamentos (FDA, 2001), las concentraciones no deben superar 5 ppm para el tratamiento de frutas y hortalizas sin pelar. Respecto al clorito de sodio (NaClO_2), en solución, es muy alcalina y estable, pero cuando se acidifica forma el gas dióxido de cloro (ClO_2), el elemento activo de la reacción. El único residuo que deja en agua, alimentos o en el cuerpo después del tratamiento, es una pequeña cantidad de cloruro de sodio (NaCl). Por su parte, el ácido peroxiacético es un fuerte oxidante. Comercialmente se consigue como una mezcla de ácido peroxiacético, ácido acético y peróxido de hidrógeno. Los productos de reacción con la materia orgánica son ácido acético y oxígeno, los cuales no son tóxicos. Su actividad depende del pH, siendo más efectivo a pH más bajos, aunque se mantiene en un rango amplio de acción. Una cantidad recomendada de ácido peroxiacético para la desinfección de la superficie de los alimentos es de $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (Stampi *et al.*, 2001).

La forma usual de venta al detalle de los germinados de soya en Chile es como producto mínimamente procesado en fresco (MPF). Se entiende por MPF a aquellas hortalizas y frutas frescas acondicionadas (seleccionadas, lavadas, peladas, enteras o troceadas, envasadas) conservadas a bajas temperaturas (Cano, 2001), cuyo mínimo procesamiento, por lo general, los hace más perecederos que los mismos productos intactos y su vida útil suele ser de entre siete y diez días. Las modificaciones de calidad en estos productos se deben a la presencia de superficies cortadas y tejidos dañados (Cantwell y Suslow, 2002), que aumentan la tasa respiratoria. Una elevada respiración puede ocasionar una mayor pérdida de ácidos, azúcares y otros compuestos que determinan el sabor y la calidad nutritiva de los productos (Escalona *et al.*, 2008). Estas alteraciones influyen también en las concentraciones de compuestos funcionales. Los alimentos funcionales se definen como los productos alimenticios de origen animal o vegetal, que además de aportar nutrientes poseen compuestos funcionales. Estos compuestos son benéficos para la salud, pudiendo tener efectos terapéuticos como características antioxidantes o anticancerígenas (Beecher, 2003; Drago *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2008). En los productos hortícolas MPF se han identificado diferentes compuestos funcionales como: ácidos fenólicos, antocianinas, flavonoides, glucosinolatos y vitamina C. El papel beneficioso de la dieta en la salud en muchos casos se asocia a la presencia de las sustancias antioxidantes naturales que desde un punto de vista bioquímico, se conocen como metabolitos secundarios de origen vegetal, que la planta sintetiza como mecanismos de defensa (Steinmetz y Potter, 1996; Prior y Cao, 2000; Hyson, 2002).

Con respecto a la vida útil de las hortalizas, existe un orden de acciones aceptadas globalmente para extenderla. Primeramente, la temperatura es el factor ambiental que más influye en la velocidad de deterioro de los productos cosechados. En segundo término, la humedad relativa determina la pérdida de agua de frutas y hortalizas, es decir, la deshidratación está relacionada al déficit de vapor de agua entre el producto y el aire circundante (Nell y Reid, 2000; Gross *et al.*, 2002; Kader, 2002). Sin embargo, con frecuencia, el manejo convencional de estos factores no es suficiente para lograr una óptima calidad final de las hortalizas. Por lo tanto, se utilizan otras técnicas que complementan las anteriores, como es la modificación de la presión parcial de los gases que interactúan con el producto mediante el uso de envases plásticos, llamada atmósfera modificada. Variaciones en las concentraciones de O_2 y CO_2 , pueden retrasar o acelerar

el deterioro. La magnitud de estos efectos depende del producto, variedad, edad fisiológica, concentración e interacción de los gases, temperatura y tiempo de aplicación. Con el fin de acelerar este equilibrio, se realiza un vacío parcial y se inyecta N₂ o una mezcla gaseosa en el envase (modificación activa) para sustituir el aire del espacio de cabeza antes del cierre hermético (Artés y Escriche, 1988; Artés, 2000; Kader, 2002).

El principio utilizado en atmósferas altamente enriquecidas en O₂ es que, inicialmente, estas altas concentraciones protegen al vegetal del deterioro, y a medida que avanzan los días de almacenaje y los niveles de O₂ disminuyen se genera inversamente un aumento de CO₂ que va reemplazando paulatinamente la protección del O₂ (Jacxsens *et al.*, 2001). Sin embargo, es aún una tecnología no utilizada en la industria chilena, probablemente debido a la falta de comprensión de los mecanismos biológicos básicos involucrados en la inhibición/reducción del crecimiento microbiano, inhibición del pardeamiento enzimático, efecto en la actividad respiratoria, su efecto desconocido en la calidad nutricional de las frutas y hortalizas envasadas, y preocupaciones acerca de las posibles implicancias en la seguridad durante el envasado (BCGA, 1998).

De todo lo anterior, siguen siendo necesarias las investigaciones relacionadas con hortalizas mínimamente procesadas en fresco para la obtención de productos microbiológicamente seguros y de alta calidad sensorial y funcional (Soliva y Martín, 2003)

Objetivo

Evaluar el efecto de diferentes sanitizantes sobre la carga microbiana, el comportamiento fisiológico, la calidad sensorial y funcional en germinados de soya conservados en atmósfera modificada y refrigeración.

Este estudio se enmarca en el proyecto N° 1090059, titulado “Technological innovations applied to novel minimally fresh processed leaf vegetables: quality and food safety”, financiado por Fondecyt, Chile.

MATERIALES Y MÉTODO

Lugar de estudio

Los ensayos se realizaron en el Centro de Estudios Postcosecha (CEPOC) y en el laboratorio de cromatografía del Departamento de Agroindustria y Enología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, ubicados en Avenida Santa Rosa 11315, La Pintana, RM.

Materiales

Material vegetal

Se utilizaron germinados de soya (*Glycine max*) provenientes de cultivo hidropónico, mantenidos en cámaras climatizadas entre 22 y 25° C, con humedad relativa del 90%. La cosecha se realizó al día 7 desde su siembra, la cual fue de retiro completo del germinado, sin corte. La altura promedio de los germinados fue de 15 cm.

El material vegetal se obtuvo desde el huerto comercial “Más Vida S.A.”, ubicado en camino Lonquén, Comuna de Calera de Tango, Provincia de Maipo, Región Metropolitana.

Sanitizantes

Los sanitizantes usados en las soluciones fueron los siguientes:

- Dióxido de cloro (ClO_2) en solución al 5%, cuyo nombre comercial es Winzaclor-5 (Winkler).
- Clorito de sodio (NaClO_2) al 80% (Sigma-Aldrich), el cual se acidificó con ácido cítrico anhidro (RZBC) de pureza 99,97%.
- Ácido peroxiacético al 15%, cuyo nombre comercial es Tsunami100 (Ecolab).
- Hipoclorito de sodio (NaClO) al 4,9% (Clorox).

Envasado

Se utilizaron películas plásticas de polietileno con dos permeabilidades diferentes; una de alta permeabilidad, con valores de $6584 \text{ mL}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ de O_2 y $19752 \text{ mL}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ de CO_2 evaluada a 23 °C, proporcionada por la empresa San Jorge Packaging y la otra de baja permeabilidad, con valores de 3 a 6 $\text{mL}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ O_2 y de 9 a 18 $\text{mL}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ CO_2 evaluada a 23 °C (BB4L, Cryovac), proporcionada por la empresa Sealed Air Corporation Chile.

Método

Los dos ensayos de este estudio se desarrollaron en el año 2011, el primero en el mes de marzo y el segundo en el mes de octubre. En tanto, la evaluación de compuestos funcionales, se desarrolló en el año 2012, utilizando muestras congeladas (-80 °C).

Cosecha y transporte

A primera hora de la mañana, los germinados fueron cosechados manualmente y luego envasados en bolsas de plástico de 5 kg, para ser trasladados en frío hasta el CEPOC, donde se almacenaron en una cámara de frío a 5 °C hasta el procesamiento.

Análisis a la materia prima

Al momento de llegada de los germinados al laboratorio, se procedió a realizar diferentes análisis conducentes a caracterizar la materia prima y compararla con los resultados obtenidos en los ensayos, por lo tanto, la metodología es la misma que se explica más adelante. Las evaluaciones fueron las siguientes: para ambos ensayos, tasa respiratoria, análisis microbiológico y color, y sólo para el Ensayo 1, contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante total.

Procesamiento

El proceso fue realizado en una sala de manipulación y acondicionamiento desinfectada previamente. Los manipuladores utilizaron delantal, cofia, mascarilla y guantes. Se trabajó a una temperatura ambiente de 8 °C (Figura 1).

En una superficie limpia, equipada con bandejas plásticas, el material vegetal se seleccionó, descartando aquellos germinados de soya que presentaron color no característico (amarillamiento u otro), poca turgencia (marchitamiento), contaminación con agentes externos (insectos, etc.), daño físico y podredumbres (Wiley, 1997).

Posterior a la selección visual, se procedió al lavado por inmersión en agua potable en un estanque de acero inoxidable durante 1 minuto a 5 °C, seguido inmediatamente de un lavado por inmersión durante 3 minutos a 5 °C, con uno de los siguientes sanitizantes: hipoclorito de sodio (NaClO), dióxido de cloro (ClO₂), clorito de sodio acidificado (NaClO₂) o ácido peroxiacético (Cuadros 1 y 2).



Figura 1. Procesamiento de germinados de soja. (A) Llegada de la materia prima a la cámara de refrigeración en envases de 5 kg. (B) Inmersión de los germinados de soja en agua potable (5 °C), utilizando un recipiente de acero inoxidable (C) Escurrimento de los germinados de soja en una malla de acero inoxidable. (D) Llenado y pesado de bolsas en la cámara de proceso a 8 °C.

Cuadro 1. Detalle de los tratamientos aplicados a los germinados de soya (Ensayo 1).

Tratamiento	Sanitizante	Concentración (mg·L ⁻¹)	Envasado
HS-100 aire (testigo)	Hipoclorito de sodio (NaClO) ^z	100	Bolsa perforada
HS-100	Hipoclorito de sodio (NaClO) ^z	100	AMA ^y
OC-5	Dióxido de cloro (ClO ₂)	5	AMA
OC-10	Dióxido de cloro (ClO ₂)	10	AMA
CS-250	Clorito de sodio acidificado (NaClO ₂)	250	AMA
CS-500	Clorito de sodio acidificado (NaClO ₂)	500	AMA
AP-50	Ácido peroxiacético	50	AMA
AP-90	Ácido peroxiacético	90	AMA

^z Hipoclorito de sodio fue acidificado con ácido cítrico 0.5 N hasta alcanzar un pH de 6,5.

^y Atmósfera modificada activa.

Cuadro 2. Detalle de los tratamientos aplicados a los germinados de soya (Ensayo 2).

Tratamiento	Sanitizante	Concentración (mg·L ⁻¹)	Envasado
HS-100 aire (testigo)	Hipoclorito de sodio (NaClO) ^z	100	Bolsa perforada
HS-100	Hipoclorito de sodio (NaClO) ^z	100	AMA ^y
OC-5	Dióxido de cloro (ClO ₂)	5	AMA
OC-10	Dióxido de cloro (ClO ₂)	10	AMA
CS-250	Clorito de sodio acidificado (NaClO ₂)	250	AMA
CS-500	Clorito de sodio acidificado (NaClO ₂)	500	AMA

^z Hipoclorito de sodio fue acidificado con ácido cítrico 0.5 N hasta alcanzar un pH de 6,5.

^y Atmósfera modificada activa.

Al finalizar cada lavado, los germinados de soya se escurrieron sobre una malla de acero inoxidable por 5 minutos y posteriormente fueron centrifugados con centrífuga manual durante 3 minutos.

Cada tratamiento tuvo 3 repeticiones para cada día de evaluación. Cada repetición consistió en bolsas herméticamente selladas. En el primer ensayo se utilizó la película de alta permeabilidad, con un tamaño de bolsa de 15x17 cm (255 cm²), en tanto, en el

segundo ensayo se utilizó la película de baja permeabilidad, con un tamaño de bolsa de 17x19 cm (323 cm²), conteniendo 60 y 70 g de germinados respectivamente, las cuales se sellaron con máquina termoselladora (Impulse Sealer Tew Equipmenti Co, Hsien, Taiwán). En el Ensayo 1 la concentración de O₂ ajustada en las bolsas fue de 8% mediante barrido y llenado con N₂ gaseoso (AMA) y en el ensayo 2, la concentración de O₂ fue de 90% mediante barrido y llenado con O₂ (AMA), exceptuando los tratamientos testigos, cuyas bolsas se perforaron (14 perforaciones) con un diámetro de 0,7 mm para obtener una concentración de O₂ >19% y CO₂ <1%. El número de perforaciones fue establecido en función de la tasa de respiración citado por Kader (2002) para germinados de poroto, la cual es considerada muy alta (40 a 60 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹ a 5 °C).

Finalizado el proceso, las bolsas selladas se almacenaron en una cámara frigorífica durante 1, 4, 7 y 11 días según el día de evaluación, a 5 °C y 90-95% de HR, de acuerdo con las indicaciones de Kader (2002) sobre las condiciones adecuadas de transporte y almacenamiento para hortalizas (Figura 2).

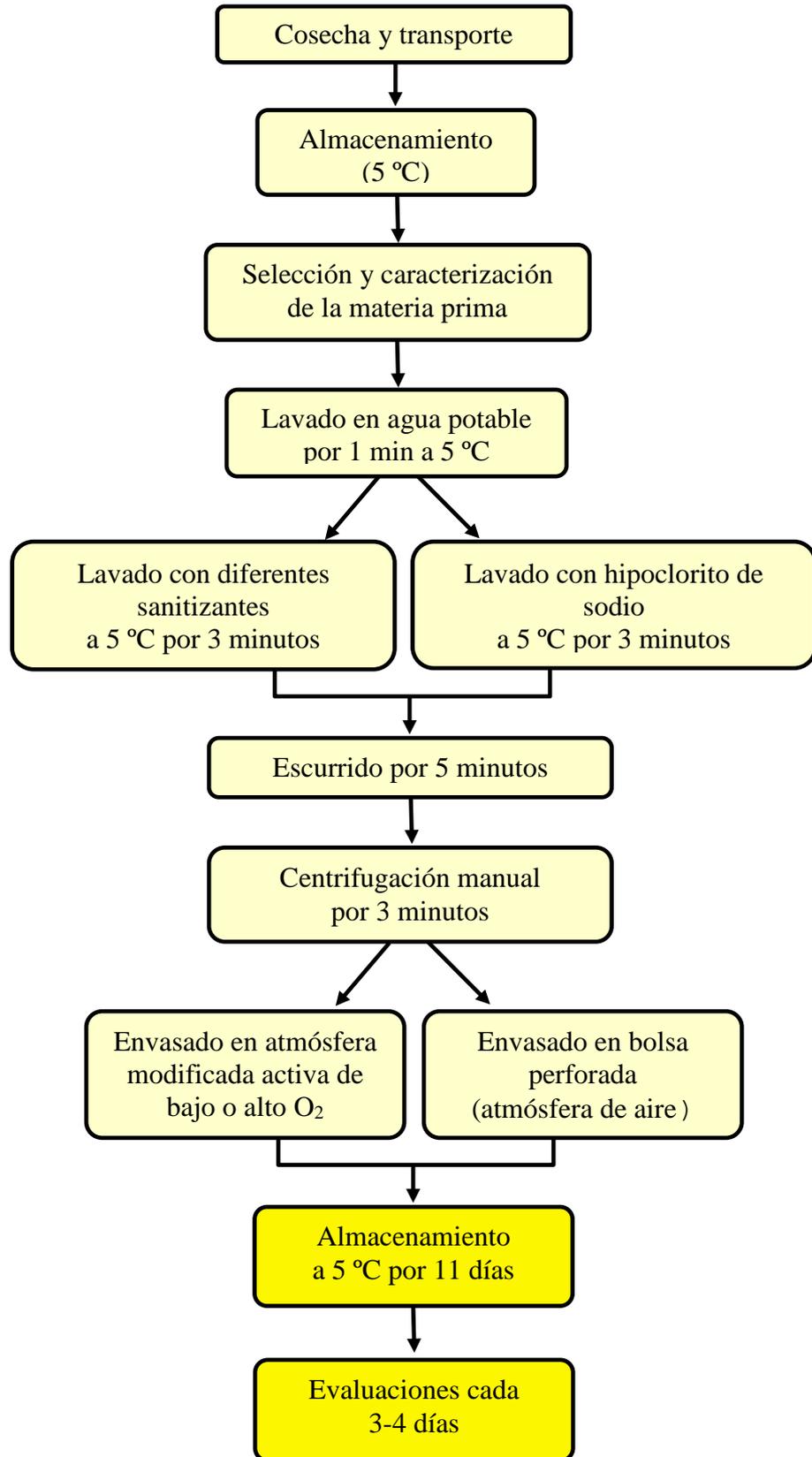


Figura 2. Diagrama de flujo para el procesamiento de germinados de soya.

Determinación de los parámetros fisiológicos, microbiológicos, sensoriales y funcionales.

Tasa respiratoria. La tasa respiratoria ($\text{mg CO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) se determinó con un método estático a 5°C (Kader, 2002).

Ensayo 1. En el procesamiento se colocaron 60 g de muestra en recipientes de plástico de 5 L y por medio de un septum de silicona ubicado en la tapa, se realizó un barrido con N_2 del aire contenido en el interior hasta conseguir una concentración de 10% O_2 , manteniéndose cerrado durante todo el almacenamiento.

Los germinados de soya fueron sometidos a las condiciones de atmósfera que se muestran en la Figura 3.

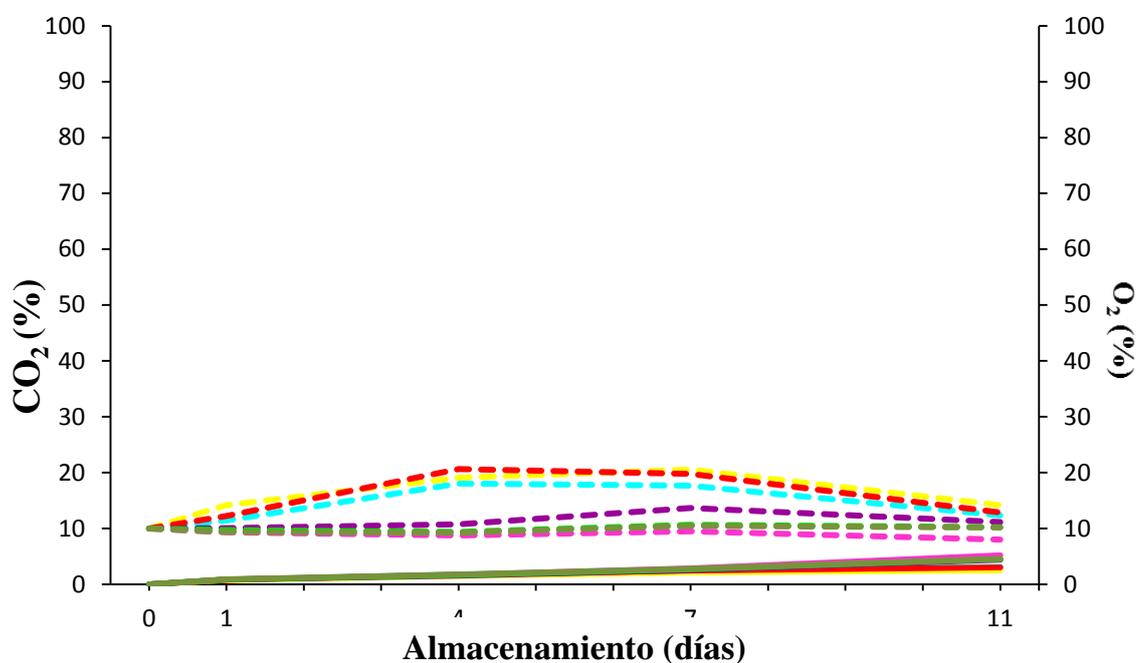


Figura 3. Evolución de la atmósfera interna (—% CO_2 y - - -% O_2) de los recipientes plásticos de 5 L conteniendo germinados de soya tratados con distintos sanitizantes a 5°C . (—) HS-100, (—) OC-5, (—) OC-10, (—) CS-250, (—) CS-500, (—) AP-50, (—) AP-90. El resto del porcentaje es balance de N_2 .

Ensayo 2. En el procesamiento se colocaron 60 g de muestra en recipientes de plástico de 5 L y por medio de un septum de silicona ubicado en la tapa se realizó un barrido con O_2 del aire contenido en el interior, hasta conseguir una concentración de 90% O_2 , manteniéndose cerrado durante todo el almacenamiento.

Los germinados de soya fueron sometidos a las condiciones de atmósfera que se muestran en la Figura 4.

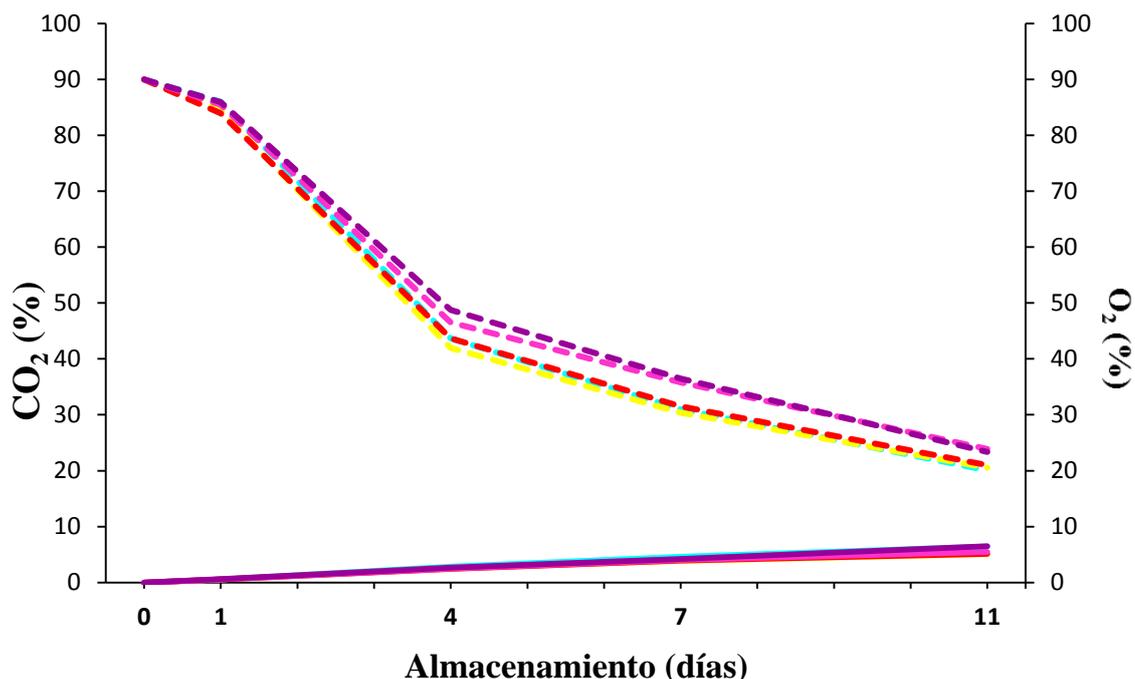


Figura 4. Evolución de la atmósfera interna (—% CO₂ y ---% O₂) de los recipientes plásticos de 5 L conteniendo germinados de soya tratados con distintos sanitizantes a 5 °C. (—) HS-100, (—) OC-5, (—) OC-10, (—) CS-250, (—) CS-500. El resto del porcentaje es balance de N₂.

Posteriormente, la tasa respiratoria fue medida cada 3 ó 4 días por medio del septum de silicona presente en su tapa, a través del cual se tomaron muestras gaseosas del espacio de cabeza de 10 mL con una jeringa de plástico. La composición del espacio de cabeza se monitoreó utilizando un cromatógrafo de gases (CG Hewlett Packard, 5890 A serie II, Palo Alto, CA, EE.UU.) provisto de un detector de conductividad térmica, con una columna PoraPack Q 80/100 (Waters. Milford MA, EE.UU) a una temperatura de horno e inyector de 50 °C y de detector de 200 °C. Se utilizó gas helio como gas transportador con una presión de 50 psi. La calibración del cromatógrafo se realizó empleando un patrón de gases con una concentración conocida de 10% CO₂ y 5% O₂ (INDURA, Chile).

Para determinar los mL CO₂·kg⁻¹·h⁻¹ primeramente se obtuvo la diferencia entre los porcentajes de CO₂ del día evaluado y los de la evaluación anterior, dividiendo esta diferencia por el número de horas transcurridas en ese periodo. Luego, se utilizó la siguiente fórmula (Kader, 2002).

Fórmula del método estático:

$$TR \text{ (mL CO}_2\text{·kg}^{-1}\text{·h}^{-1}\text{)} = \frac{\Delta \text{CO}_2\%}{100} \times \frac{\text{Volumen libre (mL)}}{\text{Peso de la muestra (kg)}} \times \frac{1}{\text{Tiempo (h)}}$$

Finalmente, los valores obtenidos fueron expresados en mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹.

Atmósfera modificada activa

Ensayo 1. Para obtener una atmósfera modificada activa (AMA) el día del procesamiento, se extrajo el aire contenido en las bolsas y se inyectó N₂ en estado gaseoso, provocando un barrido de los gases presentes, hasta llegar a una concentración de O₂ de 8±1%, realizando un sellado hermético inmediatamente.

Ensayo 2. Para obtener una atmósfera modificada activa (AMA) el día del procesamiento, se extrajo el aire contenido en las bolsas y se inyectó O₂, hasta llegar a una concentración de 90% O₂, realizando un sellado hermético inmediatamente.

En ambos ensayos se evaluó la evolución de la concentración de O₂ y CO₂ al interior de las bolsas plásticas cada 3-4 días a 5 °C. Para realizar estas mediciones, se utilizó un analizador de gases manual (Checkpoint, PBI Dansensor, Ringsted, Dinamarca), el cual entregó valores en porcentaje.

Análisis microbiológico. Para estos análisis se tomó una muestra de 10 g por repetición mezclado con 90 mL de agua peptonada tamponada estéril en una bolsa estéril, correspondiendo a la dilución 10⁻¹, la cual se homogeneizó durante 60 segundos en un masticador (Stomacher, IUL Instruments, Barcelona, España). A partir de ésta, se realizaron al menos 6 diluciones seriadas con la misma agua peptonada (Martínez, 2008). La siembra se realizó en profundidad con 1 mL de la dilución correspondiente en placas petri estériles, exceptuando levaduras y mohos, cuya siembra se realizó en superficie con 0,1 mL de dilución.

Se realizaron incubaciones para bacterias aerobias mesófilas, enterobacterias, hongos y levaduras, y por tratarse de un alimento refrigerado, bacterias psicrótrofas (Cuadro 3).

Cuadro 3. Microorganismos analizados, medio de cultivo, tiempo y temperatura de incubación.

Análisis	Medio de Cultivo	Condiciones de Incubación	
		Tiempo (días)	Temperatura (°C)
Aerobios mesófilos (RAM)	Agar de Conteo en Placa (PCA)	2	37
Psicrótrofas	Agar de Conteo en Placa (PCA)	7	5
Enterobacterias	Agar Violeta Rojo Bilis Glucosa (VRBD)	2	37
Levaduras y Mohos	Agar Papa Dextrosa (PD) ^z	5/7	27

^z Acidificado con ácido láctico para ajustar su pH a 3,3.

Color. Los hypocotilos fueron distribuidos en una placa petri, cubriendo el total de la superficie. La placa petri fue colocada sobre una superficie negra para evitar interferencias de color. Se midieron 10 puntos aleatorios por medio de un colorímetro compacto triestímulos CR 300 (Minolta, Ramsey, NJ, EE.UU.) utilizando el sistema de medición CIELab. Los parámetros medidos fueron luminosidad (L), saturación ($C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$) y tono ($H_{ab} = \arctg(b^*/a^*)$) (McGuire, 1992). El ángulo observador fue de 0° y la fuente iluminante es D_{65} . El equipo se calibró con estándar blanco.

Además, para evaluar el pardeamiento de los germinados de soya durante su almacenamiento, se elaboró una escala de color de 5 puntos, donde 1 corresponde a sin pardeamiento; 2 a levemente pardeado; 3 a moderadamente pardeado; 4 a altamente pardeado; 5 a severamente pardeado (Figura 5).

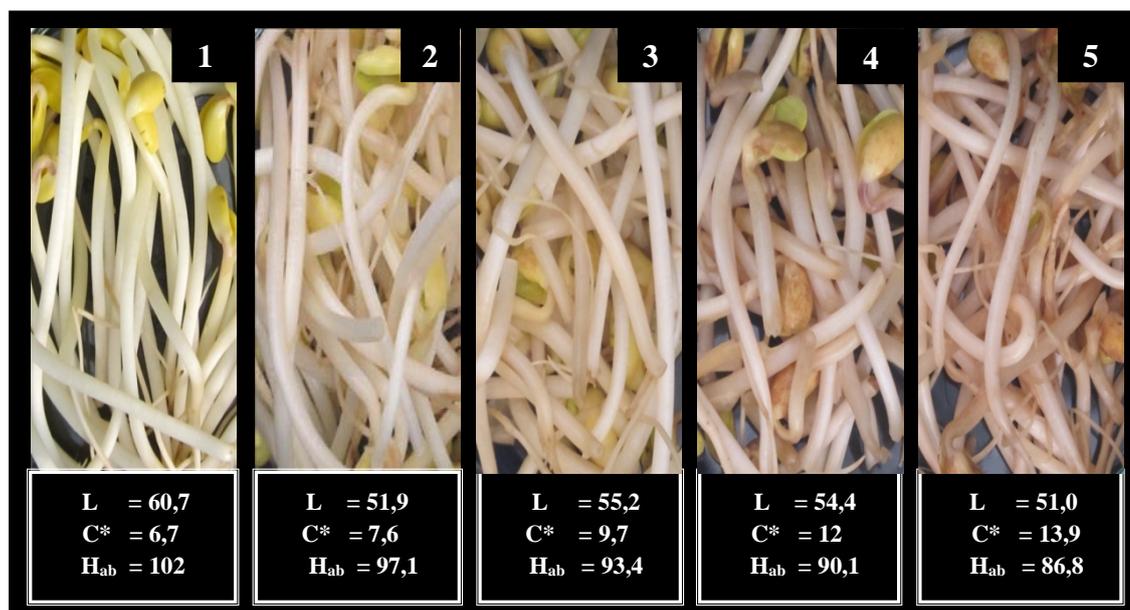


Figura 5. Escala de color utilizada en los germinados de soya.

Evaluación sensorial. Se utilizó el método de análisis descriptivo-cuantitativo, aplicado a un panel de 12 jueces semi-entrenados, usando una escala lineal de intensidad no estructurada de 0 a 15 cm, según la norma española (UNE 87-020-93) (Aenor, 1997) donde se evaluó apariencia, intensidad de color, turgencia y sabores extraños.

Para la evaluación visual, se utilizó una repetición de cada tratamiento elegido al azar, las cuales fueron dispuestas en una bandeja, en tanto, para la degustación, las muestras de germinados de soya proporcionadas a los evaluadores se obtuvieron de bolsas dedicadas especialmente para este fin, que se sirvieron en pocillos de cerámica blancos con código de 3 números.

La pauta de evaluación se presenta en el Anexo I (Araya, 2006).

Compuestos funcionales

Contenido de fenoles totales. El contenido de fenoles totales se determinó por el método fotocolorimétrico de Folin–Ciocalteu según lo descrito por Marigo (1973) con un espectrofotómetro UV-Visible (T 70 UV-Vis PG Instruments Ltd., Leicester, UK). La metodología de extracción fue la utilizada por Singleton y Rossi (1965), Siriphanich y Kader (1985), con modificaciones.

En una balanza analítica se pesó 1 g de cotiledón y 1 g de hipocotilo, formando la unidad muestral. La muestra se homogeneizó con 4 mL de metanol al 50% en ultraturrax (IKA, T 18 Basic, Alemania) durante 90 s a 15000 rpm. Posteriormente, el contenido se filtró con una gasa de cuatro capas. Las muestras se centrifugaron (Z 32K, Hermle Labortechnik, Wehngen, Alemania) a 4 °C durante 45 min con una velocidad de rotor de 21380 g_n . El sobrenadante fue filtrado con papel Whatman n°2 (Schleider y Schuell, Reino Unido). Con este procedimiento se obtuvo el extracto.

A una alícuota de 0,5 mL de extracto se adicionó 5 mL de reactivo C (Tartrato Na/K (0,02%), NaOH (0,2%), Na₂CO₃ (0,8%) y H₂O (99%)) y se incubó por 15 min a temperatura ambiente. Pasados los 15 min, se adicionó 1 mL de reactivo Folin-Ciocalteu en una solución de agua:reactivo 1:1 (v/v) y se incubó por 1 h a temperatura ambiente. Las lecturas de absorbancia se realizaron a una longitud de onda de 660 nm, utilizando como blanco una muestra de metanol:agua 1:1. El contenido de fenoles totales se calculó por medio de una curva de calibración realizada en base a una solución madre de ácido gálico 0,06 M, lo que permitió expresar los resultados como mg equivalentes de ácido gálico (EAG)·g⁻¹ de peso fresco.

Actividad antioxidante total. La capacidad antioxidante de los germinados de soya se evaluó sobre la capacidad de reducir metales, mediante el método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), descrito por Benzie y Strain (1996) con modificaciones.

En una balanza analítica se pesaron 2 g de hipocotilo. La muestra se cubrió con N₂ líquido, moliéndola hasta formar un polvo fino, luego se agregó 2 mL de etanol al 80%, homogenizando la mezcla. El contenido que se obtuvo se filtró en papel Whatman n°2 (Schleider y Schuell, Reino Unido) y posteriormente se centrifugó (Z 32K, Hermle Labortechnik, Wehngen, Alemania) a 4 °C durante 45 min a 21380 g_n .

En tubos eppendorf se colocaron 900 µL de reactivo FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), el cual fue previamente activado durante 10 min a baño maría a 37-40 °C y se adicionó 100 µL de extracto. Posteriormente, la solución fue incubada durante 15 min a 37-40 °C. La actividad antioxidante se basó en valores de absorbancia en aumento a 593 nm registrados cada 30 s durante 5 min. La actividad antioxidante total fue calculada por medio de una curva de calibración realizada en base a una solución madre de Trolox 0,05 M, lo que permitió expresar los resultados como mg equivalentes de Trolox (ET)·g⁻¹ de peso fresco.

Contenido de azúcares. Este análisis realizado en el ensayo 2 se determinó mediante cromatografía líquida de alta resolución (CLAR), en un cromatógrafo de líquidos (Hitachi, Lachrom, L-7200, Tokio, Japón) equipado con detector de índice de refracción (Knauer, Berlín, Alemania) y con una columna Zorbax (Agilent Technologies, Oswego, IL, EE.UU.) de 4,6 x 150 mm, 5 μm , a una temperatura de 30 °C, durante 20 min, en alícuotas de 50 μL , usando como fase móvil una solución de acetonitrilo:agua desionizada (85:15 v/v) con un flujo de 1,5 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, a una presión de 125 bar (Obando *et al.*, 2009).

Primeramente, se pesó la materia prima de cada bolsa en una balanza de precisión para obtener la jugosidad, e inmediatamente se realizó la extracción del jugo de los diferentes tratamientos con sus respectivas repeticiones en un sacajugo (Naturezza Ex-750, Somela), que luego fueron filtrados con una gasa de cuatro capas, para eliminar la mayor cantidad de partículas presentes. Posteriormente fueron almacenados en tubos eppendorf, debidamente rotulados y se registró el volumen extraído por bolsa, junto con esto, se pesó 1 mL de cada repetición, para obtener la densidad. El material fue congelado a -80 °C hasta su análisis.

En el momento del análisis, 4 mL de cada repetición fueron descongelados a 0 °C, los cuales se centrifugaron a 21380 g_n durante 1 h a 4 °C (Z 32K, Hermle Labortechnik, Wehngen, Alemania). Nuevamente se filtraron en una gasa de cuatro capas, para luego ser pasados a través de cartuchos Millex y Sep-Pak (Waters, Massachusetts, EE.UU.), estos últimos previamente activados con 1 mL de metanol y 10 mL de agua desionizada.

Obtenido el extracto, éste fue diluido en una proporción de 1:4 (extracto: agua desionizada) en viales de vidrio de 2 mL para CLAR (Obando-Ulloa *et al.*, 2009). Las muestras fueron colocadas en el cromatógrafo de una en una, para evitar que éstas aumentaran su temperatura y precipitaran.

Los azúcares analizados fueron fructosa, glucosa y sacarosa (Varoquaux *et al.*, 1996; Jiao *et al.*, 2012), sin embargo, sólo se registró la presencia de glucosa y fructosa, siendo expresados como la sumatoria de ellos.

Diseño experimental y análisis estadístico

Para ambos ensayos se elaboró un diseño experimental completamente aleatorizado (DCA). El primer ensayo constó de 8 tratamientos y el segundo ensayo constó de 6 tratamientos. Cada tratamiento tuvo tres repeticiones. La unidad experimental fue la bolsa plástica.

Al inicio del almacenamiento, la materia prima fue comparada con los tratamientos tanto en los análisis microbiológicos como en los parámetros de color en ambos ensayos y con la tasa respiratoria solamente en el ensayo 1.

Para evaluar la efectividad de los sanitizantes y sus diferentes concentraciones bajo las mismas condiciones de atmósfera, se procedió a realizar los análisis estadísticos sin el testigo (HS-100 aire).

Para evaluar el efecto de la atmósfera modificada, se realizó un análisis estadístico entre el tratamiento testigo HS-100 aire y HS-100.

En el caso de la concentración de gases al interior de las bolsas (AM), las evaluaciones se realizaron considerando todos los tratamientos.

Los datos obtenidos se evaluaron previamente mediante análisis exploratorios por una prueba de normalidad para detectar datos anómalos y evaluar la normalidad de las muestras, junto con una prueba de igualdad de varianzas. Posteriormente, se procedió a realizar análisis de varianza (ANDEVA) al 5%. En el caso de encontrar diferencias significativas entre las medias de los tratamientos para cada día evaluado, se aplicó el test de comparaciones múltiples de TUKEY a $P < 0,05$. Estos análisis se ejecutaron en el programa estadístico MINITAB 16.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ENSAYO I

Tasa respiratoria. La materia prima presentó una tasa respiratoria de 115,5 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹ (Figura 6), la cual disminuyó drásticamente al momento de ser refrigerada. Según Kader (2002), el efecto de la temperatura sobre la disminución en la velocidad de deterioro (Q₁₀) en productos no sensibles al daño por frío desde 25 a 5 °C es de 3,75, lo cual explica el comportamiento observado en los germinados de soya conservados a 5 °C comparados con la tasa respiratoria de los germinados recién cosechados.

Entre los tratamientos bajo AM se observaron diferencias significativas tanto al inicio como al final del almacenamiento (Cuadro 1, Apéndice I). El día 1, OC-5 y OC-10 (36,2 y 37,3 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹, respectivamente) presentaron las menores tasas respiratorias, diferenciándose de CS-500, AP-50 y AP-90 (43,1; 43,7 y 44,7 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹, respectivamente), las tasas más altas. En los días 4 y 7, se produjo una disminución general en los valores con respecto al día 1, observándose tasas respiratorias entre 16,0 y 26,2 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹. Al final del almacenamiento, los germinados tratados con dióxido de cloro (OC) y en HS-100 (valores entre 6,7 y 10,0 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹) presentaron una caída notoria en la tasa respiratoria. Por el contrario, los germinados tratados con clorito de sodio acidificado (CS) y ácido peroxiacético (AP) aumentaron su producción de CO₂ (valores entre 29,4 y 38,6 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹), que pudo deberse tanto a una mayor actividad metabólica como microbiológica.

Varoquaux *et al.* (1996), sugirieron que el incremento en la tasa respiratoria en germinados de soya verde (*Vigna radiata* cv. desconocido) se debe principalmente a un crecimiento sustancial de microorganismos y que la subsecuente disminución corresponde a una progresiva muerte de los tejidos vegetales y a una estabilización del desarrollo microbiano. Lo último concuerda con lo planteado por Kays (1991), quien postuló que la tasa respiratoria decrece debido a la senescencia de los tejidos. De lo anterior se deduce que, tanto los germinados tratados con dióxido de cloro (OC) como HS-100 comenzaron un proceso de senescencia al final del almacenamiento.

En un estudio anterior, la tasa respiratoria de germinados de alfalfa tratados con diferentes sanitizantes bajo atmósfera modificada (12% O₂ y 3% CO₂) se presentó entre 28 y 71 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹ (Soto, 2011). En la misma especie, bajo sanitizantes clorados y atmósfera modificada (1,2% O₂ y 21% CO₂), reportó valores entre 46 y 68 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹ (Maureira, 2012).

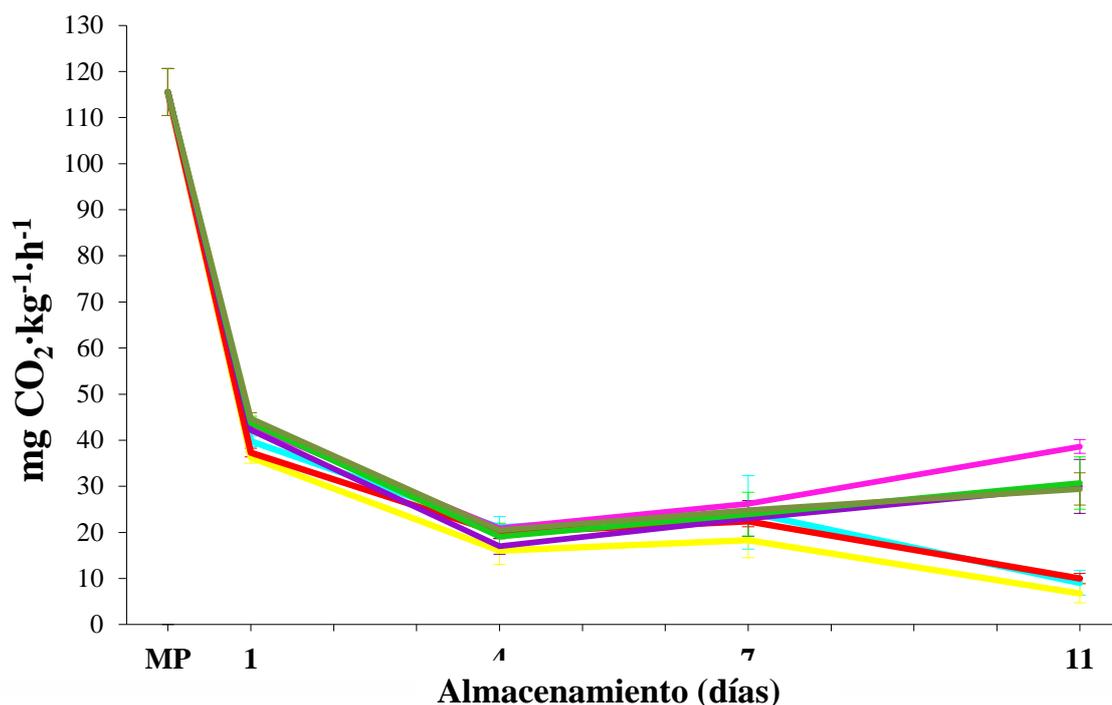


Figura 6. Evolución de la tasa respiratoria de germinados de soja tratados con distintos sanitizantes y atmósfera modificada de bajo oxígeno a 5 °C. Los valores corresponden a la media (n=3) y las líneas verticales indican el error estándar. (—) HS-100, (—) OC-5, (—) OC-10, (—) CS-250, (—) CS-500, (—) AP-50, (—) AP-90. MP: materia prima.

Atmósfera modificada activa (AMA). Todos los tratamientos presentaron una tendencia a disminuir la concentración de O₂ y aumentar la concentración de CO₂, tanto en condición de atmósfera de aire (testigo) como en atmósfera modificada de bajo oxígeno, a lo largo de la conservación refrigerada (Figura 7).

La atmósfera de equilibrio para O₂ y CO₂ se logró a partir del día 4 en CS-500 y el día 7 en los tratamientos HS-100 y OC-10, el resto de tratamientos no logró atmósfera de equilibrio. Estudios similares realizados por Varoquaux *et al.* (1996), indicaron que envases con diferentes permeabilidades en germinados de soja verde no consiguieron el estado de equilibrio en ningún momento del almacenamiento. Esta situación pudo deberse a que los germinados de porotos presentan una alta tasa respiratoria y deben ser envasados en películas microperforadas o microporosas (Day, 1990). Varoquaux *et al.* (1996), concluyeron que la permeabilidad óptima de la película para germinados de soja verde fue alrededor de 50000 mL m⁻²·d⁻¹·atm⁻¹ de O₂ y que bajo estas condiciones, la vida útil es aproximadamente 5 días a 5 °C y 9 días a 1 °C. Sin embargo, no concuerda con los resultados obtenidos en este estudio, cuya permeabilidad utilizada fue alrededor de 7000 mL·m⁻²·d⁻¹·atm⁻¹ de O₂.

En relación al CO₂, el testigo HS-100 aire, presentó un porcentaje significativamente menor con respecto al resto de tratamientos durante todo el almacenamiento, debido a las perforaciones presentes en sus repeticiones. Bajo AM, se observaron diferencias significativas todos los días evaluados (Cuadro 2, Apéndice I). El día 1, OC-5 (3,5%) presentó el mayor porcentaje, significativo con respecto al menor, AP-50 (2,7%). El día 4, la concentración más alta, CS-500 (4,2%), se diferenció de OC-5 (3,3%), el menor valor. El día 7, los porcentajes de CO₂ en germinados tratados con HS y OC (valores entre 4,4 y 4,9%) fueron mayores que los germinados tratados con CS y AP (valores entre 3,4 y 3,9%). El día 11, AP-90 (4,5%) acumuló la mayor concentración de CO₂ al interior de las bolsas mostrando diferencias con las menores concentraciones, CS-250 y AP-50 (3,9 y 3,5%).

En relación al O₂, el testigo HS-100 aire, presentó un porcentaje significativamente mayor con respecto al resto de tratamientos durante todo el almacenamiento, debido a las perforaciones presentes en las bolsas. Bajo AM, se observaron diferencias significativas todos los días evaluados (Cuadro 2, Apéndice I). El día 1, OC-10 (2,5%) fue el valor más bajo, significativo con respecto al mayor, AP-50 (5,8%). El día 4, CS-500 (1,4%) presentó la menor concentración, diferenciándose de las mayores, OC-5 y OC-10 (2,9 y 2,8%). El día 7, los menores porcentajes de O₂ fueron alcanzados por HS-100 y OC-10 (1,5 y 1,3%), mientras que OC-5 (5,4%) fue el mayor. El día 11, CS-250 (1%) alcanzó el menor porcentaje observado a través del almacenamiento, siendo significativo comparado con el mayor porcentaje, AP-90 (3,6%).

Existen reportes de varios autores que aseveran que el envasado en AM a bajas concentraciones de O₂ y elevadas de CO₂ mantienen la calidad del producto fresco y extienden su vida útil (Nguyen y Carlin, 1994; Soylemez *et al.*, 2001), aun cuando el total de microorganismos no fue impactado por el envasado en AM. Bennik *et al.* (1998) encontraron que endibia cortada almacenada bajo atmósfera controlada (1,5% O₂, 20% CO₂, balance N₂) tuvo una buena apariencia después de 9-13 días de almacenamiento a 8 °C, aunque el conteo total de mesófilos y *Enterobacteriaceae* alcanzaron 8-8,5 log ufc·g⁻¹. Mientras que muestras almacenadas bajo aire fueron inaceptables después de 6 días debido a pudrición blanda y pardeamiento. De manera opuesta, Varoquaux *et al.* (1996) observaron que el envasado en AM tuvo un pronunciado efecto reductor en las tasas de crecimiento de la flora aeróbica.

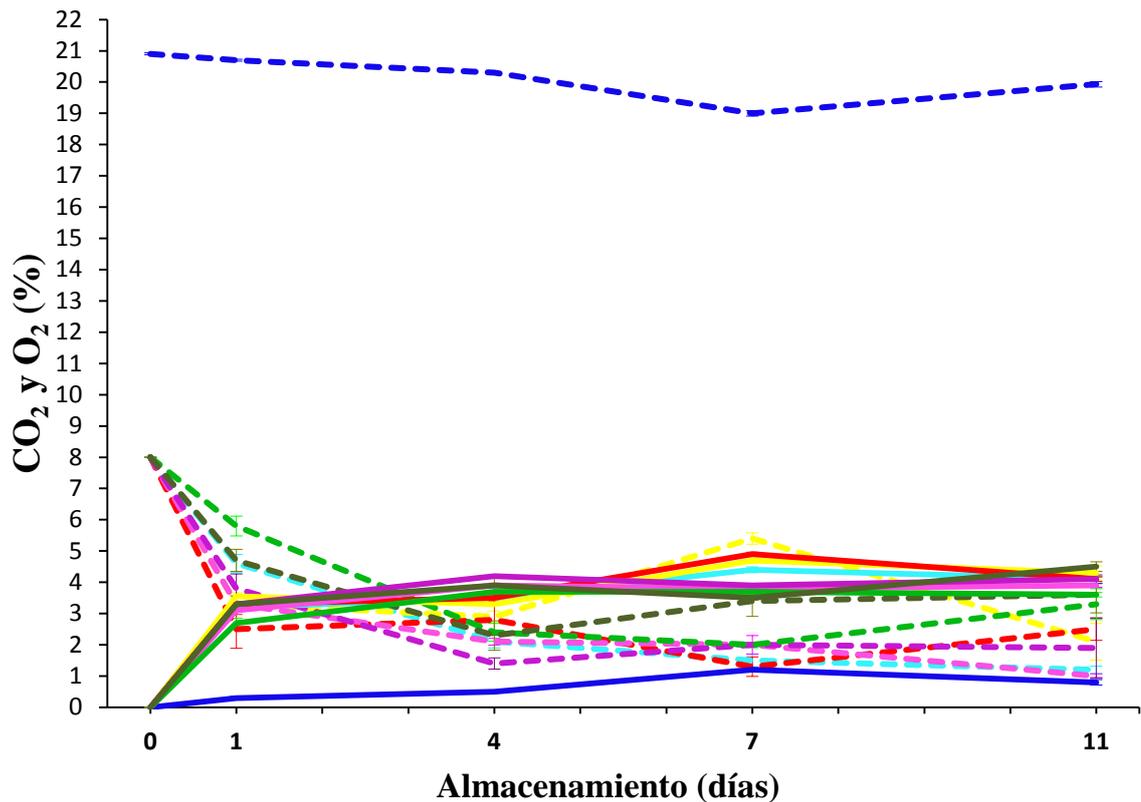


Figura 7. Evolución de la atmósfera interna (—% CO₂ y ---% O₂) de los envases de germinados de soja tratados con distintos sanitizantes y atmósfera modificada de bajo oxígeno a 5 °C. Los valores corresponden a la media (n=3) y las líneas verticales indican el error estándar. (—) HS-100 aire, (—) HS-100, (—) OC-5, (—) OC-10, (—) CS-250, (—) CS-500, (—) AP-50, (—) AP-90.

Análisis Microbiológico

Recuentos aerobios mesófilos (RAM). La materia prima (MP) presentó una carga microbiana inicial de $7,7 \log \text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$. Este recuento no disminuyó significativamente al ser lavado con agua potable ($7,5 \log \text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$).

Se observó a través del almacenamiento un aumento permanente de los recuentos en todos los tratamientos, habiendo todos sobrepasado la carga microbiana inicial (MP) el día 7.

Respecto a la efectividad de los sanitizantes bajo AM, se observaron diferencias significativas entre tratamientos, exceptuando el día 7, cuyos recuentos se mantuvieron entre $7,7$ y $8,4 \log \text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$ (Cuadro 4). El día 1, HS-100 logró la mayor reducción microbiana ($1,6 \log \text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$ de reducción) con respecto a la materia prima, con un valor de $6,1 \log \text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$, que junto con CS-250 y CS-500 ($6,7$ y $6,5 \log \text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$, respectivamente) presentaron los menores recuentos. El resto de tratamientos se mantuvo entre $7,2$ y $7,7 \log \text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$. El día 4, HS-100 y CS-500 ($7,3$ y $7,1 \log \text{ufc} \cdot \text{g}^{-1}$, respectivamente) continuaron presentando los recuentos más bajos, mostrando

diferencias con AP-50 y AP-90 (8,1 y 7,9 log ufc·g⁻¹, respectivamente). El día 11, todos los tratamientos superaron los 8 log ufc·g⁻¹, siendo HS-100 y OC-5 (8,2 y 8,2 log ufc·g⁻¹, respectivamente) más bajos que los germinados tratados con ácido peroxiacético (AP), los cuales presentaron los mayores recuentos durante todo el almacenamiento.

La AM presentó un efecto reductor en los recuentos de aerobios mesófilos el día 1, puesto que HS-100 aire (7,3 log ufc·g⁻¹) fue significativamente mayor que HS-100 (6,1 log ufc·g⁻¹). Posteriormente, se observaron diferencias significativas, sin embargo, en la práctica, no son concluyentes.

Según el Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile (Ministerio de Salud, 1997), el límite máximo de microorganismos aerobios mesófilos por gramo de producto fresco es de 5,7 log ufc·g⁻¹. De lo anterior, ningún tratamiento fue apto para consumo, puesto que superaron el límite máximo durante toda la conservación. Sin embargo, estas altas poblaciones no son indicativas necesariamente de problemas de deterioro, ya que 8 log ufc·g⁻¹ no es considerado una gran población, debido a las condiciones de producción asociadas con los germinados (Splitstoesser *et al.*, 1983).

De la Rosa (2007), encontró en germinados de alfafa con 4 días de germinación, provenientes de semillas lavadas y desinfectadas con 100 mg·L⁻¹ de NaClO, recuentos de 9,2 log ufc·g⁻¹ para aerobios mesófilos y de 8 log ufc·g⁻¹ para coliformes. Resultados similares fueron reportados por Soylemez *et al.* (2001) en germinados de alfalfa provenientes de semillas lavadas con 200 mg·L⁻¹ de cloro activo y AM (5% O₂ y 10% CO₂), cuyos recuentos para aerobios mesófilos fue cercano a 8 log ufc·g⁻¹ durante todo el almacenamiento y para coliformes 5,6 y 7,3 log ufc·g⁻¹ el día 0 y 8 de almacenamiento respectivamente.

Cuadro 4. Recuento microbiológico de bacterias aerobias mesófilas (RAM) en germinados de soya tratados con distintos sanitizantes y atmósfera modificada de bajo oxígeno a 5 °C durante 11 días. Los valores corresponden a la media (n=3).

Bacterias aerobias mesófilas (log ufc·g⁻¹)				
Tiempo (días)				
Tratamiento	1	4	7	11
HS-100	6,1 d B ^{zy}	7,3 c B	7,9 ns A	8,2 b B
OC-5	7,2 ab	7,4 bc	8,0	8,2 b
OC-10	7,5 a	7,6 abc	8,2	8,4 ab
CS-250	6,7 bc	7,5 bc	8,2	8,5 ab
CS-500	6,5 cd	7,1 c	7,7	8,5 ab
AP-50	7,5 a	8,1 a	8,4	8,7 a
AP-90	7,7 a	7,9 ab	8,3	8,6 a
HS-100 aire	7,3 A	7,5 A	8,0 A	8,5 A

^z Letras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas (p < 0,05) entre tratamientos. ns, no significativo.

^y Letras mayúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas (p < 0,05) entre tratamientos.

Bacterias psicrótrofas. La materia prima (MP) presentó una carga microbiana inicial de $7,7 \log \text{ufc}\cdot\text{g}^{-1}$. Este recuento no disminuyó significativamente al ser lavado con agua potable ($7,5 \log \text{ufc}\cdot\text{g}^{-1}$).

En general, se observó a través del almacenamiento un aumento permanente de los recuentos. Todos los tratamientos presentaron valores menores comparados con la carga microbiana inicial (MP) hasta el día 4 de almacenamiento, exceptuando los tratamientos con ácido peroxiacético (AP), que sobrepasaron el valor desde el día 4.

Respecto a la efectividad de los sanitizantes bajo AM, existieron diferencias significativas entre tratamientos, exceptuando el día 7, cuyos recuentos se mantuvieron entre $7,6$ y $8,2 \log \text{ufc}\cdot\text{g}^{-1}$ (Cuadro 5). El día 1, HS-100 logró la mayor reducción microbiana ($1,8 \log \text{ufc}\cdot\text{g}^{-1}$ de reducción) con respecto a la materia prima, con un valor de $5,9 \log \text{ufc}\cdot\text{g}^{-1}$, que junto con CS-500 ($6,1 \log \text{ufc}\cdot\text{g}^{-1}$) presentaron los menores recuentos. El resto de tratamientos se mantuvo entre $6,6$ y $7,6 \log \text{ufc}\cdot\text{g}^{-1}$. El día 4, CS-250 y CS-500 ($7,1$ y $6,8 \log \text{ufc}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente) fueron los tratamientos más bajos, mostrando diferencias con AP-50 y AP-90 (ambos $7,7 \log \text{ufc}\cdot\text{g}^{-1}$). El día 11, todos los tratamientos superaron los $8 \log \text{ufc}\cdot\text{g}^{-1}$, siendo HS-100, OC-5 y OC-10 ($8,1$; $8,0$ y $8,0 \log \text{ufc}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente) significativamente más bajos que CS-500 y AP-50 ($8,4$ y $8,5 \log \text{ufc}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente).

Cuadro 5. Recuento microbiológico de bacterias psicrótrofas en germinados de soya tratados con distintos sanitizantes y atmósfera modificada de bajo oxígeno a 5°C durante 11 días. Los valores corresponden a la media ($n=3$).

Tratamiento	Bacterias psicrótrofas ($\log \text{ufc}\cdot\text{g}^{-1}$)			
	Tiempo (días)			
	1	4	7	11
HS-100	5,9 d B ^{zy}	7,3 abc B	7,6 ns A	8,05 bcd A
OC-5	7,0 ab	7,4 ab	7,7	8,02 cd
OC-10	7,4 a	7,5 ab	8,0	7,97 d
CS-250	6,6 bc	7,1 bc	8,1	8,37 abc
CS-500	6,1 cd	6,8 c	7,6	8,44 a
AP-50	7,5 a	7,7 a	8,2	8,53 a
AP-90	7,6 a	7,7 a	8,1	8,43 ab
HS-100 aire	7,2 A	7,4 A	7,8 A	8,3 A

^zLetras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas ($p < 0,05$) entre tratamientos. ns, no significativo.

^yLetras mayúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas ($p < 0,05$) entre tratamientos.

La AM presentó un efecto reductor en los recuentos de bacterias psicrótrofas al inicio del almacenamiento, puesto que HS-100 aire ($7,2 \log \text{ufc}\cdot\text{g}^{-1}$) fue significativamente mayor que HS-100 ($5,9 \log \text{ufc}\cdot\text{g}^{-1}$). Posteriormente, se observaron diferencias significativas, sin embargo, no son concluyentes.

Inferiores a los valores presentados en este estudio, Tardón *et al.* (2011) observaron en germinados de alfalfa lavados con hipoclorito de sodio ($100 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) almacenados en AM ($5\% \text{O}_2$ y $2,5\% \text{CO}_2$), conteos cercanos a $3,5 \log \text{ufc}\cdot\text{g}^{-1}$ en bacterias psicrófilas durante 8 días de almacenamiento a 5°C .

Cabe destacar que, patógenos psicrótróficos tales como *Listeria monocytogenes*,

Aeromonas hydrophila y *Yersinia enterocolitica* pueden presentar un riesgo en la salud de los consumidores en productos envasados bajo AM almacenados a temperaturas de refrigeración, ya que sobreviven y crecen a bajas concentraciones de O₂ (Aytac y Gorris, 1994). Sin embargo Geiges *et al.* (1990), reportan nulo crecimiento de *L. monocytogenes* durante el almacenamiento de germinados de soya a 4 y 22 °C. De igual forma Aytac y Gorris (1994), observaron nulo desarrollo de *A. hydrophila* y *L. monocytogenes* en germinado de alfalfa envasado en AM y refrigerado durante 7 días.

Enterobacterias La materia prima (MP) presentó una carga microbiana inicial de 7,4 log ufc·g⁻¹. Este recuento no disminuyó significativamente al ser lavado con agua potable (7,3 log ufc·g⁻¹).

Se observó a través del almacenamiento un aumento permanente de los recuentos de enterobacterias, con excepción del testigo HS-100 aire, OC-5 y AP-90, los cuales presentaron sus valores más bajos el día 4.

Respecto a la efectividad de los sanitizantes bajo AM, existieron diferencias significativas entre tratamientos al inicio y final del almacenamiento (Cuadro 6). El día 1, CS-500 (6,1 log ufc·g⁻¹) logró una reducción microbiana de 1,3 log ufc·g⁻¹ con respecto a la materia prima, que junto con CS-250 (6,6 log ufc·g⁻¹) presentaron los menores recuentos, diferenciándose de AP-90 (7,5 log ufc·g⁻¹), el recuento más alto. Los días 4 y 11 se observaron recuentos entre 6,5 y 7,7 log ufc·g⁻¹. Al final del almacenamiento, el comportamiento fue similar que al inicio, en donde los germinados tratados con clorito de sodio acidificado (CS; ambos 7,7 log ufc·g⁻¹) y OC-10 (7,9 log ufc·g⁻¹) fueron más bajos que AP-50 y AP-90 (8,5 y 8,2 log ufc·g⁻¹, respectivamente).

La AM presentó un efecto reductor en los recuentos de enterobacterias el día 1, puesto que HS-100 aire (7,2 log ufc·g⁻¹) fue significativamente mayor que HS-100 (6,7 log ufc·g⁻¹). Posteriormente, no se observaron diferencias significativas.

En germinados de alfalfa provenientes de semillas contaminadas con *E. coli* y desinfectadas con hipoclorito de sodio (50 y 200 mg L⁻¹), con tiempos de lavado de 3 y 10 min, sólo se consiguió bajar la carga microbiana inicial en < 1 log ufc·g⁻¹ (De la Rosa, 2007).

Allende *et al.* (2008) observó que, independientemente de la aplicación (inmersión o aspersión), la reducción obtenida en el recuento de mesófilos y coliformes después de un tratamiento con ácido peroxiacético en lechuga recién cortada varió entre 0,5 y 1,5 log ufc·g⁻¹.

Cuadro 6. Recuento microbiológico de enterobacterias en germinados de soya tratados con distintos sanitizantes y atmósfera modificada de bajo oxígeno a 5 °C durante 11 días. Los valores corresponden a la media (n=3).

Enterobacterias (log ufc·g⁻¹)				
Tiempo (días)				
Tratamiento	1	4	7	11
HS-100	6,7 abc B ^{zy}	6,7 ns A	7,1 ns A	8,0 bc A
OC-5	7,2 ab	7,1	7,3	8,0 bc
OC-10	7,2 ab	7,2	7,6	7,9 cd
CS-250	6,6 bc	7,0	7,5	7,7 d
CS-500	6,1 c	6,5	7,1	7,7 d
AP-50	7,2 ab	7,4	7,7	8,5 a
AP-90	7,5 a	7,3	7,8	8,2 ab
HS-100 aire	7,2 A	6,9 A	7,3 A	8,0 A

^z Letras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas (p < 0,05) entre tratamientos. ns, no significativo.

^y Letras mayúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas (p < 0,05) entre tratamientos.

Según el Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile (Ministerio de Salud, 1997), el límite máximo de enterobacterias por gramo de producto fresco es de 4,7 log ufc·g⁻¹. De lo anterior, ningún tratamiento fue apto para consumo, puesto que superaron el límite máximo durante toda la conservación (Anexo II). Contrariamente, el NACMCF (1999) (National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Food) señaló que altos niveles microbianos *per se* no son necesariamente una preocupación de salud pública, más bien, es la presencia y crecimiento de microorganismos patógenos, como es el caso, por ejemplo, de *Escherichia coli* O157:H7.

En relación a las tasas de crecimiento de bacterias aerobias mesófilas, bacterias psicrótrofas y enterobacterias, se observó que tanto los germinados tratados con dióxido de cloro (OC) y ácido peroxiacético (AP), presentaron los menores crecimientos durante el almacenamiento, a diferencia de aquellos sanitizantes que lograron las mayores reducciones inicialmente.

Color. En el día 7 no se realizó análisis estadístico, debido a que algunos datos no reflejaron fielmente el comportamiento observado en el resto de las evaluaciones.

Luminosidad (L). Al inicio del almacenamiento no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos bajo AM, ni tampoco de éstos con respecto a la materia prima (57,3); sus valores se concentraron entre 52,1 y 55,7 (Figura 8A). Desde el día 4 hasta el final del almacenamiento, los tratamientos HS-100, OC-5 y OC-10, conservaron una luminosidad similar a la de la materia prima (entre 57,2 y 58,8), mostrando diferencias significativas con los germinados tratados con clorito de sodio acidificado (CS) y ácido peroxiacético (AP), los cuales mostraron una disminución del parámetro el día 4, para mantenerse bajos hasta el día 11 (valores entre 44 y 51,6) (Cuadro 3, Apéndice I).

La AM no presentó un efecto en la luminosidad en comparación con la atmósfera de aire.

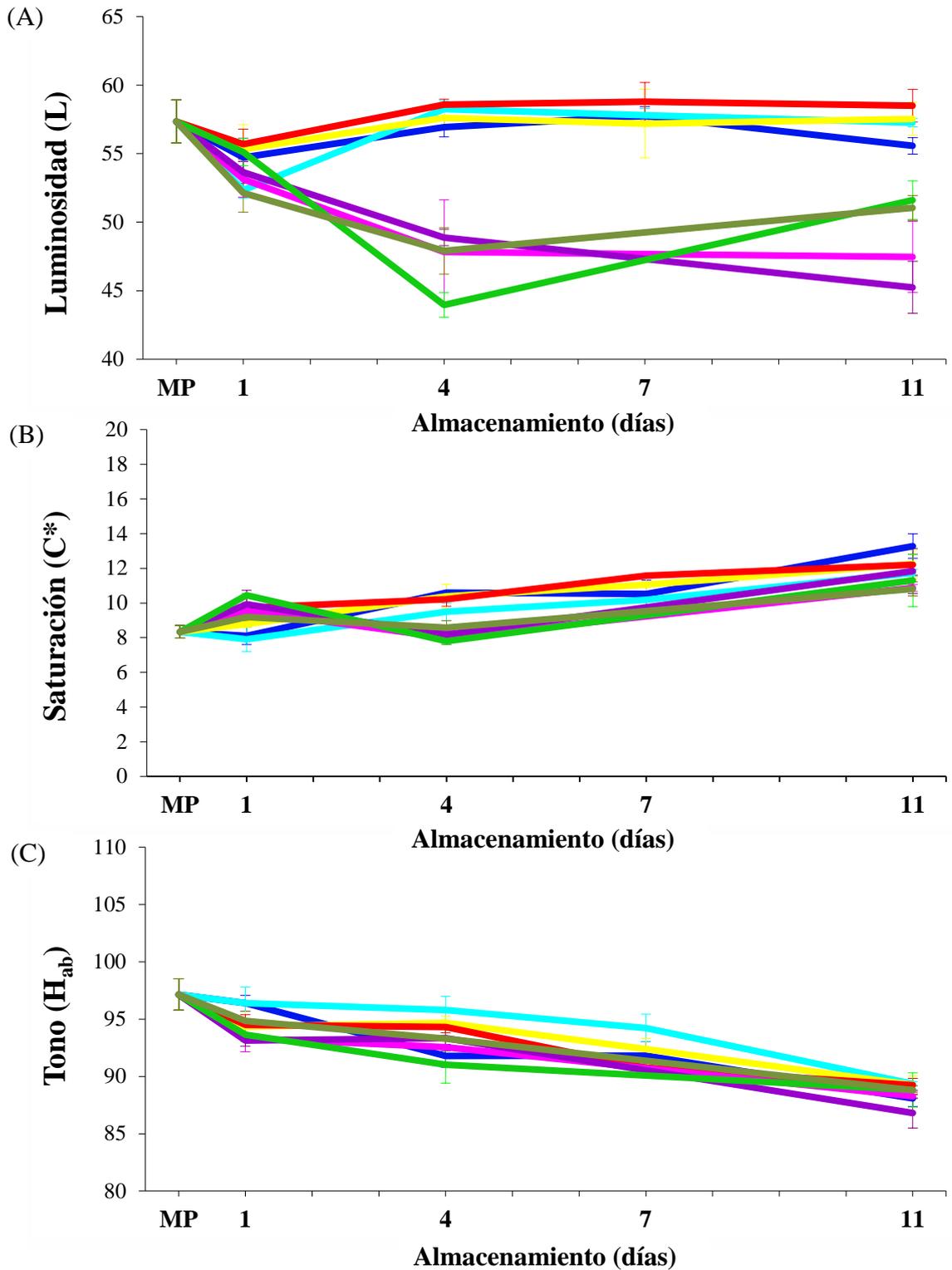


Figura 8. Evolución de los parámetros luminosidad (A), saturación (B) y tono (C) del color de germinados de soja tratados con distintos sanitizantes y AM de bajo oxígeno a 5 °C. Los valores corresponden a la media (n=3) y las líneas verticales indican el error estándar. (—) HS-100 aire, (—) HS-100, (—) OC-5, (—) OC-10, (—) CS-250, (—) CS-500, (—) AP-50, (—) AP-90. MP: materia prima.

Saturación (C*). No se observaron diferencias con respecto a la materia prima, la cual presentó una saturación de 8,3. Entre los tratamientos bajo AM se observaron diferencias significativas hasta el día 4 de almacenamiento (Figura 8B). El día 1, el valor de saturación más alto lo presentó AP-50 (10,4), el cual se diferenció del valor más bajo, HS-100 (7,9). El día 4, el valor más alto OC-5 (10,4), presentó diferencias con AP-50 (7,8), tratamiento que de presentar la mayor saturación el día 1, pasó a ser la menor. Al final del almacenamiento, se observó un aumento general de la saturación, junto con una concentración de los valores, los cuales se presentaron entre un rango de 10,8 a 12,3.

La AM sólo presentó un efecto positivo en la saturación al final del almacenamiento. Siendo HS-100 (11,7) significativamente menor que HS-100 aire (13,3).

Tono (H_{ab}). Se observó una leve disminución paulatina del tono a través del almacenamiento. Sin embargo, en general, la aplicación de soluciones sanitizantes no provocó diferencias significativas entre tratamientos bajo AM (Figura 8C), como tampoco con respecto a la materia prima (97,2). Sus valores se presentaron entre un rango de 86,8 a 96,4. La AM no presentó un efecto en el tono en comparación con la atmósfera de aire.

En base a los resultados obtenidos en la evaluación sensorial de los germinados (datos mostrados más adelante), se estableció que el pardeamiento provocó la pérdida de calidad visual en el tiempo. Al inicio del almacenamiento, es la luminosidad y el tono los que explicaron el pardeamiento, posteriormente, se explicó con la interacción entre la disminución de la luminosidad (L), el aumento de la saturación (C*) y la disminución del tono (H_{ab}) (Figura 9). Las diferencias de color observadas entre los distintos tratamientos cada día evaluado, se explicaron estadísticamente con respecto a los parámetros L y C* (Cuadro 3, Apéndice I).

Otros autores observaron que, en germinados de soya verde (*Vigna radiata* cv. desconocido) conservados en AM, el primer aspecto de deterioro fue la pérdida visual de luminosidad (L), posteriormente, los valores permanecieron constantes por 12 días. En la evaluación sensorial visual, no se encontraron diferencias significativas entre envases con diferentes permeabilidades y fueron aceptables por sobre 6 días de almacenamiento (Varoquaux *et al.*, 1996).

Según la escala de color para germinados de soya mostrada en la Figura 5, el día 1 los germinados tratados con hipoclorito de sodio (HS) se presentaron levemente pardeados (nivel 2), a diferencia del resto de tratamientos que presentaron un pardeamiento moderado (nivel 3). Al final del almacenamiento, el tratamiento testigo (HS-100 aire) se observó extremadamente pardeado (nivel 5), a diferencia de los tratamientos en AM de bajo O₂, los cuales se mostraron altamente pardeados (nivel 4).

	HS-100 aire	HS-100	OC-5	OC-10	CS-250	CS-500	AP-50	AP-90
Día 1								
	L = 54,7 C* = 8,1 H _{ab} = 96,4	L = 52,3 C* = 7,9 H _{ab} = 96,4	L = 55,3 C* = 8,8 H _{ab} = 94,3	L = 55,7 C* = 9,7 H _{ab} = 94,5	L = 53,1 C* = 9,5 H _{ab} = 93,4	L = 53,6 C* = 9,9 H _{ab} = 93,1	L = 55,1 C* = 10,4 H _{ab} = 93,7	L = 52,1 C* = 9,2 H _{ab} = 94,8
Día 4								
	L = 56,9 C* = 10,6 H _{ab} = 91,8	L = 58,2 C* = 9,5 H _{ab} = 95,8	L = 57,6 C* = 10,4 H _{ab} = 94,7	L = 58,6 C* = 10,2 H _{ab} = 94,3	L = 47,8 C* = 8 H _{ab} = 92,6	L = 48,9 C* = 8,2 H _{ab} = 93,3	L = 44 C* = 7,8 H _{ab} = 91	L = 47,9 C* = 8,6 H _{ab} = 93,3
Día 7								
	L = 57,7 C* = 10,5 H _{ab} = 91,8	L = 57,8 C* = 10,2 H _{ab} = 94,2	L = 57,2 C* = 11,0 H _{ab} = 92,4	L = 58,8 C* = 11,6 H _{ab} = 90,8				
Día 11								
	L = 55,7 C* = 13,3 H _{ab} = 88,1	L = 57,3 C* = 11,7 H _{ab} = 89,4	L = 57,5 C* = 12,3 H _{ab} = 89,3	L = 58,5 C* = 12,2 H _{ab} = 89,2	L = 47,5 C* = 10,9 H _{ab} = 88,3	L = 45,2 C* = 11,8 H _{ab} = 86,8	L = 51,6 C* = 11,3 H _{ab} = 88,8	L = 51,1 C* = 10,8 H _{ab} = 88,8

Figura 9. Evolución del color de germinados de soja tratados con distintos sanitizantes y atmósfera modificada de bajo oxígeno a 5 °C durante 11 días.

Evaluación sensorial

Los parámetros turgencia y sabores extraños no fueron evaluados en este ensayo, debido a la alta carga microbiana de los germinados, la cual superó en todo momento los niveles aceptados por la norma chilena.

En general, se observa una disminución en la calidad visual de los germinados de soya a través del almacenamiento.

Apariencia. Entre los tratamientos bajo AM, existieron diferencias significativas todos los días evaluados (Cuadro 4, Apéndice I). Hasta el día 7 de almacenamiento, el tratamiento OC-5 (valores desde 12,8 a 11,5), conservó la mejor apariencia del grupo, presentando poca variación en su puntuación, el resto de tratamientos presentó valores entre 7,6 y 12. El día 11, OC-10 (6,3) y CS-500 (5,9), obtuvieron las menores puntuaciones, en tanto, el resto de tratamientos mantuvo valores entre 8,4 y 9,2 (Figura 10A).

La AM presentó un efecto positivo en la conservación de la apariencia, puesto que desde el día 4 hasta el final del almacenamiento se presentaron diferencias significativas entre HS-100 (valores entre 9,2 y 12,0) y HS-100 aire (6,9 y 10,5).

Intensidad de color. Entre los tratamientos bajo AM, se observaron diferencias significativas desde el día 4 hasta el final del almacenamiento. Al inicio de la conservación, los germinados presentaron una puntuación entre 10,0 y 12,0. El día 4, OC-5 (11,4) presentó la mayor intensidad de color, el resto de tratamientos se mantuvo entre 7,7 y 10,0. El día 7, OC-5 (11,1) continuó siendo el tratamiento mejor evaluado, en tanto, OC-10 (6,2) y CS-500 (7,1) fueron los valores más bajos. El día 11, OC-10 (4,9) y CS-500 (6,9) nuevamente obtuvieron las puntuaciones más bajas, mientras los demás fueron valorados entre 7,5 y 8,9 (Figura 10B).

En general, la AM presentó un efecto positivo en la conservación del color, puesto que se presentaron diferencias significativas durante todo el almacenamiento, exceptuando el día 4. HS-100 (valores entre 8,0 y 11,5) fue mejor evaluado que HS-100 aire (valores entre 5,8 y 10,0).

Los mayores problemas asociados con hortalizas mínimamente procesadas son el desarrollo de pardeamiento, ablandamiento de tejidos, fuertes olores desagradables y pudrición, (Willockx, 1995; López-Gálvez *et al.*, 1997). En el caso de los germinados de soya conservados bajo AM, la pérdida de calidad visual no se asocia aparentemente con signos de deshidratación, ablandamiento de tejidos ni pudrición, sino más bien al cambio paulatino de color blanco-amarillo a pardo en hipocotilos y raíces, y de verde-amarillo a pardo en cotiledones, concluyendo por lo tanto, que la apariencia y la intensidad de color están directamente relacionadas. Lo anterior está en concordancia con lo planteado por otros autores, quienes observaron que en muchos productos la tasa de pardeamiento determina la vida útil sensorial (Jacxsens *et al.*, 2002; Jacxsens *et al.*, 2003), por lo tanto, las características visuales son muy importantes para la diferenciación de calidad en la compra (Ragaert *et al.*, 2007).

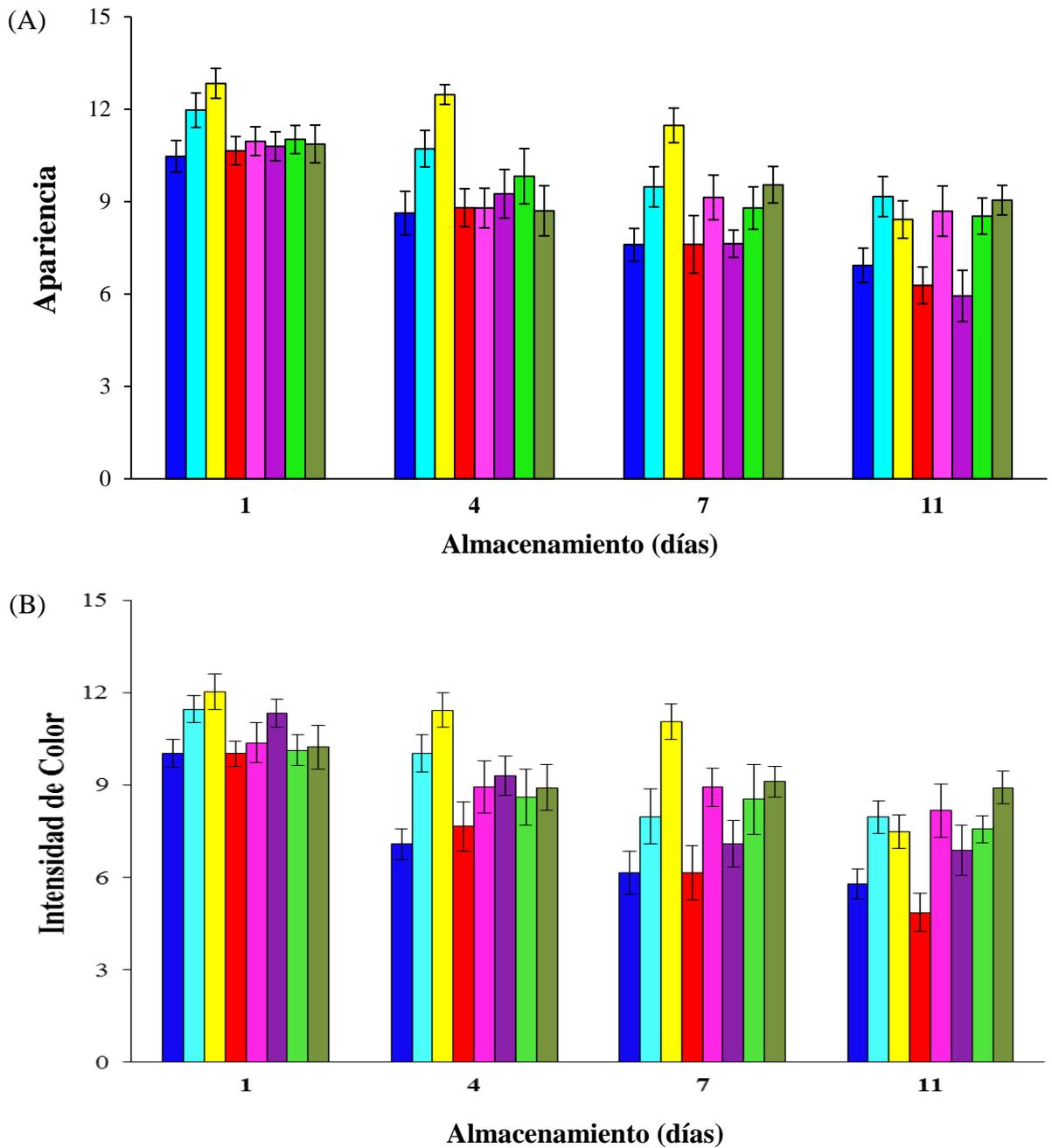


Figura 10. Valoración de la apariencia (A), intensidad de color (B) de germinados de soja tratados con diferentes sanitizantes y atmósfera modificada de bajo oxígeno a 5 °C por un panel de 12 jueces semi-entrenados. Las barras corresponden a la media (n=12) y las líneas verticales indican el error estándar. (■) HS-100 aire, (■) HS-100, (■) OC-5, (■) OC-10, (■) CS-250, (■) CS-500, (■) AP-50, (■) AP-90.

Compuestos funcionales

Contenido de fenoles totales. El valor que presentó la materia prima fue de 0,41 mg EAG·g_{p.f.}⁻¹. En la conservación, se observó en general una tendencia al aumento del contenido fenólico a través del tiempo, a excepción de los germinados tratados con hipoclorito de sodio (HS), los cuales mostraron una elevada concentración al inicio de la conservación, para luego disminuir (Figura 11). Entre los tratamientos bajo AM, el día 1, HS-100 (0,92 mg EAG·g_{p.f.}⁻¹) obtuvo el valor más alto observado durante el almacenamiento y presentó diferencias significativas con todos los tratamientos (valores entre 0,54 y 0,66 mg EAG·g_{p.f.}⁻¹). No existieron diferencias significativas los días 4 y 7 (valores entre 0,61 y 0,78 mg EAG·g_{p.f.}⁻¹). El día 11, OC-10 (0,83 mg EAG·g_{p.f.}⁻¹) mostró el mayor contenido fenólico, diferenciándose del valor más bajo, AP-90 (0,70 mg EAG·g_{p.f.}⁻¹) (Cuadro 5, Apéndice I).

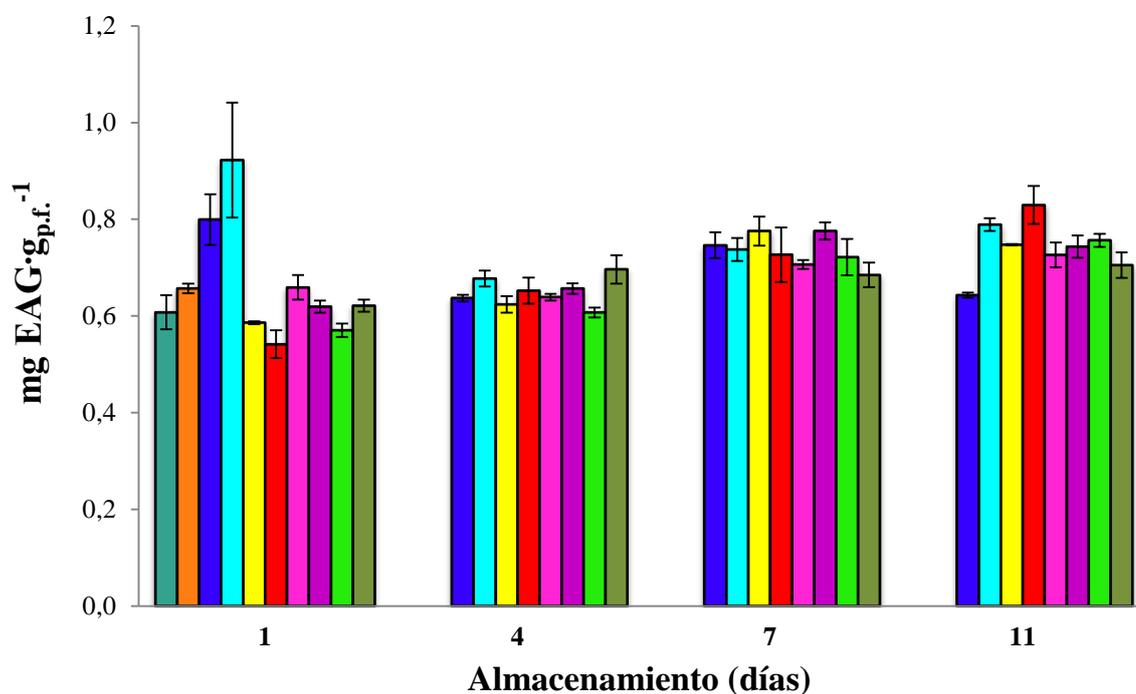


Figura 11. Evolución del contenido de fenoles totales de germinados de soja tratados con distintos sanitizantes y atmósfera modificada de bajo oxígeno 5 °C. Las barras corresponden a la media (n=3) y las líneas verticales indican el error estándar. (■) MP, (■) ML, (■) HS-100 aire, (■) HS-100, (■) OC-5, (■) OC-10, (■) CS-250, (■) CS-500, (■) AP-50, (■) AP-90.

En general, no se observó un efecto positivo de la AM en el contenido de fenoles con respecto a la atmósfera de aire, sin embargo, al final del almacenamiento, HS-100 (0,79 mg EAG·g_{p.f.}⁻¹) fue significativamente mayor que HS-100 aire (0,64 mg EAG·g_{p.f.}⁻¹).

Las isoflavonas, que se encuentran en grandes cantidades en la soja, son polifenoles que tienen una estructura similar a los estrógenos y pueden exhibir efectos estrogénicos, por lo tanto, han sido llamados fitoestrógenos (Reinli y Block, 1996; Lee *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2013).

En un estudio realizado en India en germinados de soya, el contenido de flavonoides totales representó el 71% del contenido de fenoles totales (CFT). El contenido de isoflavonas registró un valor de $0,682 \text{ mg}\cdot\text{g}_{\text{p.s.}}^{-1}$ y un CFT de $25,5 \text{ mg EAG}\cdot\text{g}_{\text{p.f.}}^{-1}$ (Akitha Devi *et al.*, 2009).

Los germinados de poroto mungo (*Vigna mungo* L.) a diferentes densidades de plantación durante 4 días, presentaron un contenido de fenoles totales entre 8 y 14 $\text{mg EAG}\cdot\text{g}_{\text{p.s.}}^{-1}$ (Choon *et al.*, 2010).

Actividad antioxidante total. La materia prima presentó una actividad antioxidante de $0,18 \text{ mg ET}\cdot\text{g}_{\text{p.f.}}^{-1}$. La aplicación de distintas soluciones sanitizantes no provocó diferencias significativas entre tratamientos (valores entre $0,14$ y $0,22 \text{ mg ET}\cdot\text{g}_{\text{p.f.}}^{-1}$) (Cuadro 5, Apéndice I). Cabe destacar que los germinados tratados con hipoclorito de sodio (HS) mostraron una actividad mayor que la materia prima durante toda la conservación como lo muestra la Figura 12. La AM no presentó un efecto en la capacidad antioxidante comparada con la atmósfera de aire.

En legumbres, los antioxidantes más importantes son vitamina C, vitamina E, compuestos fenólicos y glutatión (Fernandez *et al.*, 2008).

La capacidad antioxidante total de *Glycine max* cv. *Jutro* con 4 días de germinación fue de $10,3 \text{ mg ET}\cdot\text{g}_{\text{p.s.}}^{-1}$, lo cual se debió a la contribución del contenido de fenoles totales (CFT) (86-88%), glutatión reducido (11-13%) y vitamina E (0,4-1,1%). Para *Glycine max* cv. *Merit* con 6 días de germinación fue de $18 \text{ mg ET}\cdot\text{g}_{\text{p.s.}}^{-1}$, explicado por la contribución del CFT (87-90%), glutatión reducido (10-13%) y vitamina E (~0,2%) (Fernandez *et al.*, 2008).

Cevallos y Cisneros (2010), confirmaron que los compuestos fenólicos son responsables de la mayoría de las propiedades antioxidantes de los extractos metanólicos de 13 muestras estudiadas (entre ellas soya), reforzando así la validez de expresar la capacidad antioxidante total en una base fenólica.

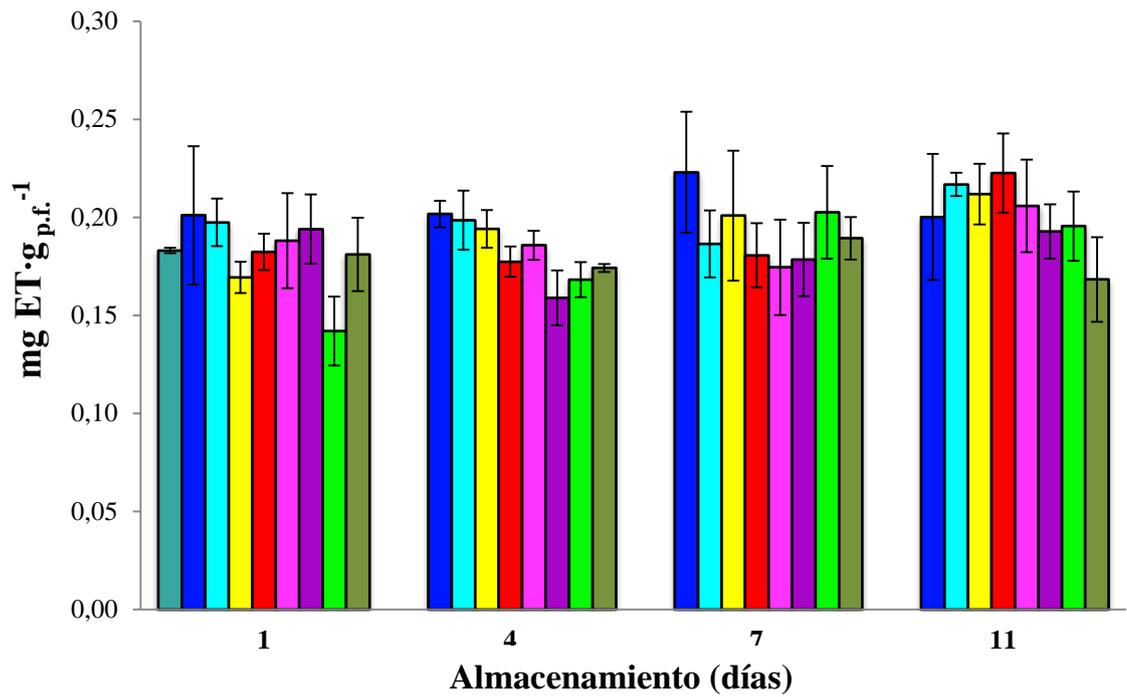


Figura 12. Evolución de la actividad antioxidante total de germinados de soya tratados con diferentes sanitizantes y atmósfera modificada de bajo oxígeno a 5 °C. Las barras corresponden a la media (n=3) y las líneas verticales indican el error estándar. (■) MP, (■) HS-100 aire, (■) HS-100, (■) OC-5, (■) OC-10, (■) CS-250, (■) CS-500, (■) AP-5, (■) AP-90.

CONCLUSIÓN ENSAYO I

Los germinados que logran la mayor reducción en su carga microbiana son aquellos tratados con HS-100 y clorito de sodio acidificado (CS). El ácido peroxiacético presenta las menores reducciones iniciales y los recuentos más altos durante el almacenamiento.

Clorito de sodio acidificado (CS) y ácido peroxiacético (AP) presentan las mayores tasas respiratorias.

La permeabilidad del envase permite mantener los germinados de soya en una concentración de O₂ entre 1-6% y de CO₂ entre 3-5%.

La pérdida de calidad se manifiesta principalmente por el aumento gradual del pardeamiento, el cual se explica por una disminución de la luminosidad, un aumento de la saturación y una disminución del tono. Tanto HS-100 como los germinados tratados con dióxido de cloro (OC) presentan los menores pardeamientos a través del almacenamiento, siendo OC-5 el que obtuvo las mayores puntuaciones por parte del panel sensorial hasta el día 7, en contraste, desde el día 7, OC-10 y CS-500 presentan un gran deterioro.

La AM de bajo O₂ muestra un efecto reductor en la carga microbiana al inicio de la conservación. En evaluación sensorial, mantiene una mejor calidad de los germinados. Sin embargo, no tiene ningún efecto en los parámetros de color.

En general, no se observa efecto de los diferentes sanitizantes ni de la AM sobre los compuestos funcionales, sin embargo, se presenta un mayor contenido de fenoles totales en el tratamiento HS-100 al inicio de la conservación.

ENSAYO II

Tasa respiratoria. La materia prima presentó una tasa respiratoria de $330 \text{ mg CO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, la cual disminuyó drásticamente al momento de ser refrigerada. Según Kader (2002), el efecto de la temperatura sobre la disminución en la velocidad de deterioro (Q_{10}) en productos no sensibles al daño por frío desde 25 a 5 °C es de $3,75$, lo cual explica el comportamiento observado en los germinados de soya conservados a 5 °C comparados con la tasa respiratoria de los germinados recién cosechados.

En general, todos los tratamientos bajo AM de alto O_2 presentaron una tendencia a la disminución de la tasa respiratoria, mostrando dos caídas pronunciadas el día 4 y el día 11 (Figura 13). El día 1, la tasa más alta la presentó HS-100 ($79,9 \text{ mg CO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), mostrando diferencias significativas con el resto, exceptuando OC-5 (valores de los tratamientos entre $63,9$ y $71,6 \text{ mg CO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$). El día 4, las tasas se mantuvieron entre $40,2$ y $46,1 \text{ mg CO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. El día 7, HS-100 ($52,1 \text{ mg CO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) continuó siendo el tratamiento con mayor producción de CO_2 , diferenciándose con la menor tasa, OC-5 ($37,3 \text{ mg CO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$). El día 11, CS-500 ($26,0 \text{ mg CO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), presentó diferencias con los geminados tratados con OC ($\sim 13,5 \text{ mg CO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) (Cuadro 1, Apéndice II).

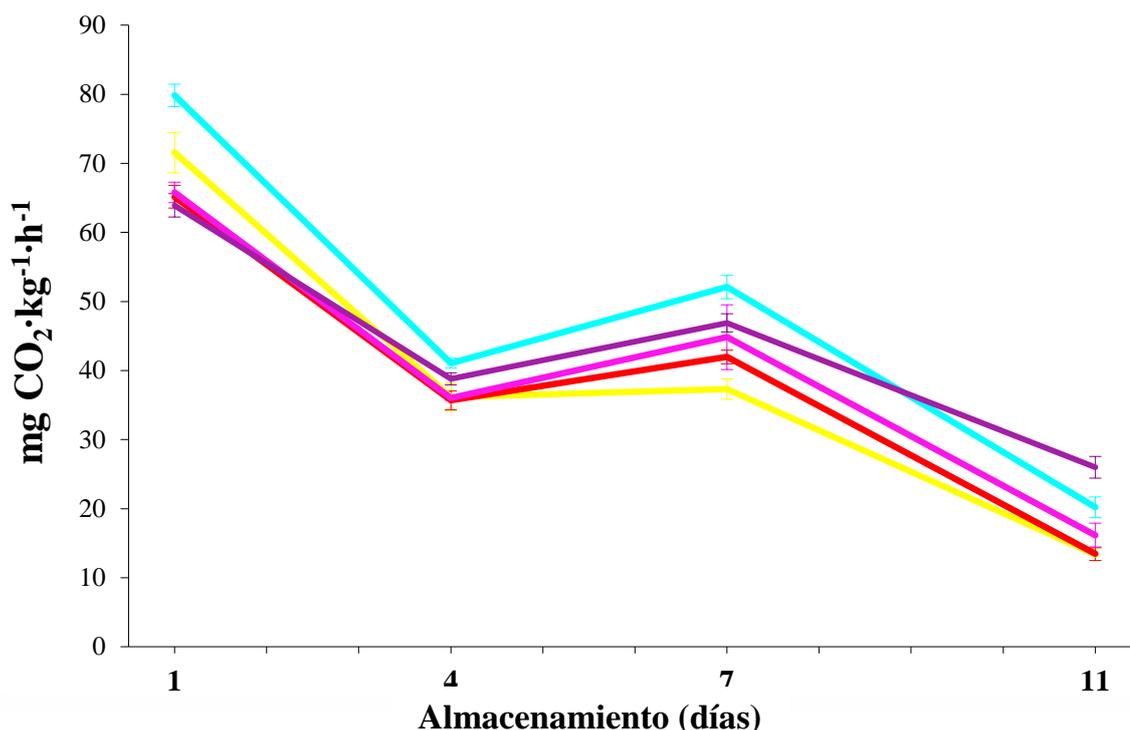


Figura 13. Evolución de la tasa respiratoria de germinados de soya tratados con distintos sanitizantes y atmósfera modificada de alto O_2 a 5 °C. Los valores corresponden a la media ($n=3$) y las líneas verticales indican el error estándar. (—) HS-100, (—) OC-5, (—) OC-10, (—) CS-250, (—) CS-500.

Además de la actividad microbiológica en sí misma, la presencia de áreas dañadas por acción mecánica e invasión microbiológica, provocan una respuesta de estrés por parte de la planta, tales como un incremento en la tasa respiratoria y producción de etileno

dando lugar a una tasa metabólica más alta (Kang y Saltveit, 2002; Laurila y Ahvenainen, 2002; Lamikanra, 2005), lo que explicaría el comportamiento de los germinados de soya desde el día 4 hasta el día 7, junto con esto, la caída en la producción de CO₂ al final del almacenamiento, podría deberse a la entrada en la fase de senescencia.

Atmósfera modificada de alto O₂. Todos los tratamientos presentaron una tendencia a disminuir la concentración de O₂ y al aumento de la concentración de CO₂, tanto en condición de atmósfera de aire (testigo) como de alto oxígeno, a lo largo de la conservación refrigerada (Figura 14).

En relación al CO₂, el tratamiento testigo HS-100 aire (valores entre 0,5 y 2%) presentó diferencias significativas con el resto de tratamientos durante todo el almacenamiento (Cuadro 2, Apéndice II), mostrando porcentajes de CO₂ muy por debajo de la media de cada día evaluado. No se presentaron diferencias significativas entre tratamientos bajo AM de alto O₂.

En relación al O₂, el tratamiento testigo HS-100 aire presentó diferencias significativas con todos los tratamientos hasta el día 7, debido a que sus valores estuvieron muy por debajo de la media (Cuadro 2, Apéndice II). El día 11, en cambio, presentó una concentración de O₂ de 19,3%, diferenciándose sólo de CS-500 (50,2%). Con respecto a los tratamientos bajo AM de alto O₂, se observaron diferencias significativas sólo el día 11, en donde el mayor porcentaje, CS-500 (50,2%), mostró diferencias con el menor, OC-10 (18,6%).

Respecto al gasto relativo de O₂, cabe destacar el elevado consumo que llevaron a cabo OC-5 y OC-10 (55,3 y 53,6% del total de O₂ consumido durante 11 días), medido desde el día 7 hasta el día 11 de conservación, comparado con el promedio de ese intervalo de tiempo (22,8% del total de O₂ consumido durante 11 días). En este mismo sentido, se hizo notoria la alta producción de CO₂ observada en los tratamientos HS-100, OC-5 y OC-10, los cuales duplicaron sus valores el día 11 con respecto al día 7 de almacenamiento.

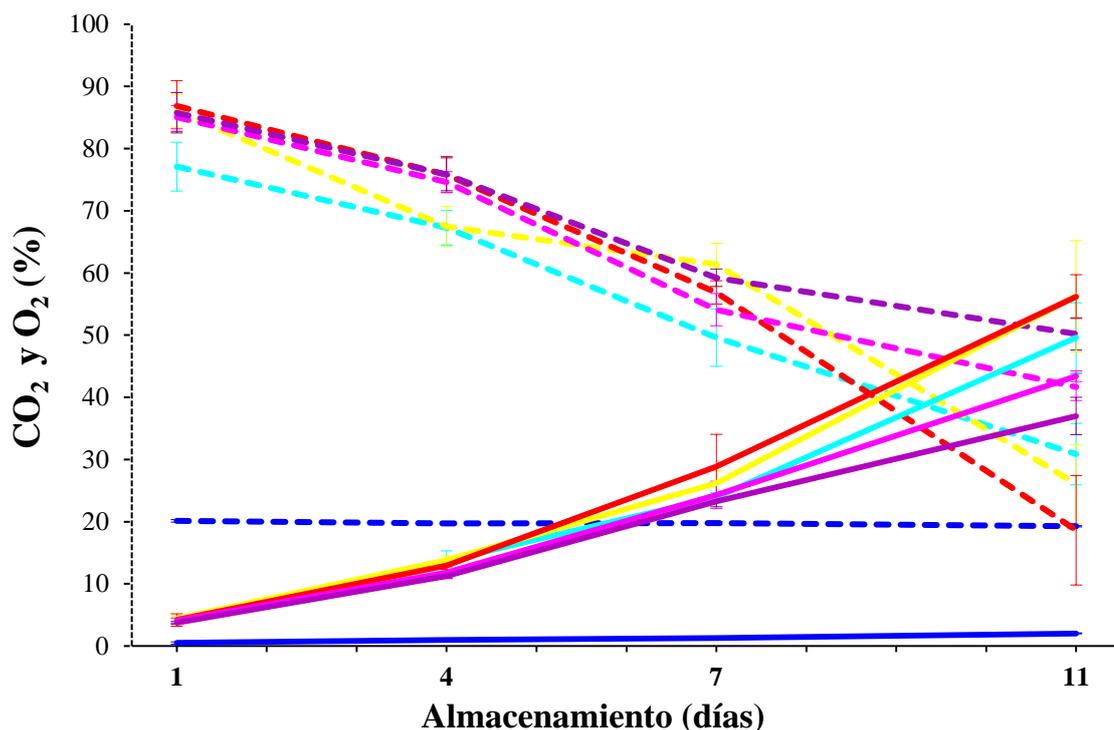


Figura 14. Evolución de la atmósfera interna (—% CO₂ y - - - % O₂) de los envases de germinados de soya tratados con distintos sanitizantes y atmósfera modificada de alto O₂ a 5 °C. Los valores corresponden a la media (n=3) y las líneas verticales indican el error estándar. (—) HS-100 aire, (—) HS-100, (—) OC-5, (—) OC-10, (—) CS-250, (—) CS-500.

Day (2001), ha reportado que el tratamiento de O₂ superatmosférico es un medio efectivo para inhibir tanto el crecimiento microbiano como el pardeamiento enzimático y prevenir reacciones de fermentación anaeróbica.

Allende *et al.* (2004), sugirieron que la adición de O₂ superatmosférico a los tratamientos envasados de hojas de espinaca baby contribuyeron a disminuir la pérdida de electrolitos desde el tejido vegetal y a elevar las puntuaciones de calidad sensorial del producto, comparado con los tratamientos sin la adición de altas concentraciones de O₂. También notaron que una atmósfera modificada prácticamente impermeable en dos niveles de O₂ (21 y 100% O₂ inicial) mostró reducciones significativas en el crecimiento de aerobios mesófilos comparadas con aquellas envasadas en películas perforadas.

Amanatidou *et al.* (1999) concluyeron que cuando alto O₂ o alto CO₂ son aplicados solos, el efecto inhibitorio en el crecimiento microbiano es altamente variable. Una inhibición en el crecimiento microbiano más fuerte y mucho más consistente puede ser obtenida cuando los dos gases son usados en combinación.

La actividad antimicrobiana del CO₂ en altas concentraciones ha sido bien establecida (Devlieghere *et al.*, 2000; Bennik *et al.*, 1998). Una atmósfera de 80% O₂ y 20% CO₂ causó una reducción en las tasas de crecimiento de *P. fluorescens* y *E. agglomerans*, observándose también un incremento en la duración de la fase lag (Amanatidou *et al.*,

1999). Estos mismos autores también encontraron un mayor efecto inhibitorio en el crecimiento bacterial cuando altas concentraciones de O₂ (80 y 90%) fueron combinadas con altas concentraciones de CO₂ (10 y 20%), sin embargo, observaron que Enterobacteriaceae fue inhibida bajo 50% O₂ y 30% CO₂, pero estimulada bajo 80 ó 90% O₂.

Análisis microbiológico

Recuentos aerobios mesófilos (RAM). La materia prima (MP) presentó una carga microbiana inicial de 7,9 log ufc·g⁻¹. Este recuento no disminuyó significativamente al ser lavado con agua potable (7,7 log ufc·g⁻¹). Desde el día 7 de almacenamiento, todos los tratamientos sobrepasaron la carga microbiana inicial (MP).

Respecto a la efectividad de los sanitizantes bajo AM de alto O₂, existieron diferencias significativas durante todo el almacenamiento (Cuadro 7). El día 1, CS-500 (7,1 log ufc·g⁻¹) logró la mayor reducción microbiana con respecto a la MP (0,8 log ufc·g⁻¹ de reducción), diferenciándose con la carga más alta, HS-100 (7,9 log ufc·g⁻¹). El día 4, HS-100 y CS-250 (7,7 y 7,5 log ufc·g⁻¹, respectivamente) presentaron los menores recuentos comparados con el resto de tratamientos (valores entre 8,1 y 8,4 log ufc·g⁻¹). Desde el día 7, todos los tratamientos sobrepasaron los 8,0 log ufc·g⁻¹, siendo HS-100 (8,1 log ufc·g⁻¹) significativamente menor que el tratamiento OC-5 (8,7 log ufc·g⁻¹), el recuento más alto. Al final del almacenamiento, OC-5 (9,2 log ufc·g⁻¹), continuó presentando el conteo más alto, mostrando diferencias con CS-500 (8,5 log ufc·g⁻¹), el menor valor.

Al inicio del almacenamiento la AM de alto O₂ presentó un efecto negativo en los recuentos de aerobios mesófilos, puesto que HS-100 aire (6,8 log ufc·g⁻¹) fue significativamente menor que HS-100 (7,9 log ufc·g⁻¹). Contrariamente, desde el día 4, HS-100 (valores entre 7,7 y 8,9 log ufc·g⁻¹) fue menor que HS-100 aire (valores entre 8,3 y 9,4 log ufc·g⁻¹).

Según el Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile (Ministerio de Salud, 1997), el límite máximo de microorganismos aerobios mesófilos por gramo de producto fresco es de 5,7 log ufc·g⁻¹ (Anexo II). De lo anterior, ningún tratamiento fue óptimo para consumo, puesto que superaron el límite máximo durante toda la conservación.

Cuadro 7. Recuento microbiológico de bacterias aerobias mesófilas (RAM) en germinados de soya tratados con distintos sanitizantes y atmósfera modificada de alto O₂ a 5 °C durante 11 días. Los valores corresponden a la media (n=3).

Bacterias Aerobias Mesófilas (log ufc·g⁻¹)				
Tiempo (días)				
Tratamiento	1	4	7	11
HS-100	7,9 a A ^{zy}	7,7 b B	8,1 b B	8,9 ab B
OC-5	7,7 ab	8,4 a	8,7 a	9,2 a
OC-10	7,6 ab	8,4 a	8,5 ab	9,0 ab
CS-250	7,6 ab	7,5 b	8,3 ab	8,7 bc
CS-500	7,1 b	8,1 a	8,4 ab	8,5 c
HS-100 aire	6,8 B	8,3 A	9,0 A	9,4 A

^z Letras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas (p < 0,05) entre tratamientos.

^y Letras mayúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas (p < 0,05) entre tratamientos.

En un estudio previo realizado por Abadías *et al.* (2008), germinados de soya y alfalfa presentaron altos recuentos en aerobios mesófilos (7,9 log cfu·g⁻¹), microorganismos psicrótrofos (7,3 log cfu·g⁻¹) y enterobacterias (7,2 log cfu·g⁻¹), mostrando una alta incidencia a *E. coli* (40% de las muestras). En tanto Cava *et al.* (2009), reportaron conteos de aerobios mesófilos de 10,3 log ufc·g⁻¹ para los germinados de *Phaseolus* negras y 8,9 log ufc·g⁻¹ para *Phaseolus* blancas.

Bacterias psicrótrofas. La materia prima (MP) presentó una carga microbiana inicial de 7,9 log ufc·g⁻¹. Este recuento no disminuyó significativamente al ser lavado con agua potable (7,6 log ufc·g⁻¹).

Se observó un aumento permanente de los recuentos de bacterias psicrótrofas en todos los tratamientos. Cabe destacar, que HS-100 y CS-250 sobrepasaron la carga microbiana inicial (MP) desde el día 7, en cambio, el resto de tratamientos, ya la habían sobrepasado desde el día 4 (Cuadro 8).

En relación con los tratamientos bajo AM de alto O₂, se presentaron diferencias significativas durante todo el almacenamiento, sin embargo, en la práctica, los valores estuvieron dentro de un rango acotado. El día 1, CS-500 (6,7 log ufc·g⁻¹), logró la mayor reducción microbiana con respecto a la MP (1,2 log ufc·g⁻¹ de reducción), el cual fue significativamente menor que OC-5 (7,8 log ufc·g⁻¹). Desde el día 4, los germinados tratados con OC (valores entre 8,4 y 9,0 log ufc·g⁻¹) presentaron siempre los recuentos más altos. Cabe destacar que desde el día 7, todos los tratamientos sobrepasaron los 8 log ufc·g⁻¹.

Cuadro 8. Recuento microbiológico de bacterias psicrótrofas en germinados de soya tratados con distintos sanitizantes y atmósfera modificada de alto O₂ a 5 °C durante 11 días. Los valores corresponden a la media (n=3).

Bacterias psicrótrofas (log ufc·g⁻¹)				
Tiempo (días)				
Tratamiento	1	4	7	11
HS-100	7,8 ab A ^{zy}	7,8 b B	8,2 b B	8,9 a A
OC-5	7,8 a	8,4 a	8,7 a	9,0 a
OC-10	7,6 ab	8,4 a	8,8 a	9,0 a
CS-250	7,2 bc	7,8 b	8,4 b	8,7 ab
CS-500	6,7 c	8,1 ab	8,2 b	8,5 b
HS-100 aire	6,8 B	8,5 A	9,0 A	9,2 A

^z Letras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas (p < 0,05) entre tratamientos.

^y Letras mayúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas (p < 0,05) entre tratamientos.

Al inicio del almacenamiento la AM de alto O₂ no presentó un efecto de reducción sobre el recuento de bacterias psicrótrofas en comparación con HS-100 aire (6,8 log ufc·g⁻¹), ya que este último fue significativamente menor que HS-100 (7,8 log ufc·g⁻¹). Contrariamente, el día 4 y 7, HS-100 (7,8 y 8,2 log ufc·g⁻¹, respectivamente) fue menor que HS-100 aire (8,5 y 9,0 log ufc·g⁻¹, respectivamente). Al final del almacenamiento no se reportaron diferencias.

Reportes anteriores han mostrado que conteos de psicrotróficos menores a 8 log ufc·g⁻¹ no son suficientes para defectos visuales (Jacques y Morris, 1995).

La combinación de tratamiento con dióxido de cloro y atmósferas modificadas fue útil para inhibir la contaminación microbiana y mantener la calidad de los germinados durante el almacenamiento (Jin y Lee, 2007). Sin embargo, el efecto del lavado sería distinto para diferentes microorganismos. Las bacterias epífitas pueden ser más accesibles a los tratamientos químicos que las bacterias patógenas que pueden estar ocultas en el tejido vegetal o protegida por tejidos dañados (Zagory, 1999).

Enterobacterias. La materia prima (MP) presentó una carga microbiana inicial de 7,6 log ufc·g⁻¹. Este recuento no disminuyó significativamente al ser lavado con agua potable (ML) (7,4 log ufc·g⁻¹). Se observó a través del almacenamiento un aumento permanente de los recuentos de enterobacterias.

Respecto a la efectividad de los sanitizantes bajo AM de alto oxígeno, existieron diferencias significativas durante todo el almacenamiento (Cuadro 9), aun cuando los valores fluctúan entre rangos reducidos. El día 1, CS-500 (6,5 log ufc·g⁻¹) logró la mayor reducción microbiana con respecto a la MP (1,1 log ufc·g⁻¹ de reducción), diferenciándose con HS-100 y OC-5 (7,5 y 7,6 log ufc·g⁻¹, respectivamente). El día 4 y 7, los tratamientos HS-100 y CS-250 (valores entre 7,1 y 7,8 log ufc·g⁻¹) mostraron los recuentos más bajos en comparación con el resto de tratamientos (valores entre 7,8 y 8,3 log ufc·g⁻¹). El comportamiento al final del almacenamiento fue similar al día 1, en donde CS-500 (8,2 log ufc·g⁻¹) fue significativamente menor que HS-100 y OC-5 (8,6 y 8,6 log ufc·g⁻¹, respectivamente).

Cuadro 9. Recuento microbiológico de enterobacterias en germinados de soya tratados con distintos sanitizantes y atmósfera modificada de alto O₂ a 5 °C durante 11 días. Los valores corresponden a la media (n=3).

Enterobacterias (log ufc·g ⁻¹)				
Tiempo (días)				
Tratamiento	1	4	7	11
HS-100	7,5 a A ^{z,y}	7,1 b B	7,4 b B	8,6 a A
OC-5	7,6 a	7,8 a	8,3 a	8,6 a
OC-10	7,1 ab	7,8 a	8,3 a	8,5 ab
CS-250	7,1 ab	7,2 b	7,8 ab	8,3 bc
CS-500	6,5 b	7,8 a	8,2 a	8,2 c
HS-100 aire	6,8 B	7,8 A	8,3 A	8,3 A

^z Letras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas (p < 0,05) entre tratamientos.

^y Letras mayúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas (p < 0,05) entre tratamientos.

Al inicio del almacenamiento la AM de alto O₂ presentó un efecto negativo en los recuentos de enterobacterias, puesto que HS-100 aire (6,8 log ufc·g⁻¹) fue significativamente menor que HS-100 (7,5 log ufc·g⁻¹). Contrariamente, el día 4 y 7, HS-100 (7,1 y 7,4 log ufc·g⁻¹, respectivamente) fue menor que HS-100 aire (7,8 y 8,3 log ufc·g⁻¹, respectivamente). Al final del almacenamiento no se reportaron diferencias.

Según el Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile (Ministerio de Salud, 1997), el límite máximo de enterobacterias por gramo de producto fresco es de 4,7 log ufc·g⁻¹. De lo anterior, ningún tratamiento es óptimo para consumo, puesto que superaron el límite máximo durante toda la conservación. No obstante, altos recuentos de coliformes totales no representan siempre un riesgo para la salud, más bien, por su naturaleza fermentativa y proteolítica, contribuyen a la putrefacción del producto, alteración de las características organolépticas, producción de olores desagradables y disminución de la vida útil (Jay *et al.*, 2005).

En semillas germinadas de *Phaseolus* variedad negra, la población de coliformes totales fue de 7,5 log ufc·g⁻¹ y en la variedad blanca fue de 6,5 log ufc·g⁻¹ (Cava *et al.*, 2009).

Sería de esperar que la aplicación de altos niveles de O₂ llevaran a la generación intracelular de especies de oxígeno reactivas en los microorganismos (ROS, O₂⁻, H₂O₂, OH*), que afectasen los componentes celulares vitales y redujeran la viabilidad celular (Fridovich, 1986). Sin embargo, evidentemente, los microorganismos pueden desarrollar estrategias tales como inducción de enzimas descomponedoras de O₂ (catalasa, peroxidasa, superóxido dismutasa) o captadores de radicales (glutatión) en orden a evitar daños letales por oxígeno (Amanatidou *et al.*, 1999).

Hongos y levaduras. La materia prima (MP) presentó una carga microbiana inicial de 1,9 log ufc·g⁻¹. Este recuento no disminuyó significativamente al ser lavado con agua potable (ML) (1,7 log ufc·g⁻¹). Con respecto a la carga microbiana inicial (MP), ésta nunca fue superada durante el almacenamiento por los tratamientos sanitizados con hipoclorito de sodio (HS) y dióxido de cloro (OC).

Respecto a la efectividad de los sanitizantes bajo AM de alto O₂, sólo se observaron diferencias significativas el día 4, donde HS-100 y OC-5 (ambos <1 log ufc g⁻¹) mostraron diferencias con el mayor recuento, CS-500 (2 log ufc g⁻¹). En los demás días evaluados se presentaron valores <3,1 log ufc g⁻¹ (Cuadro 10).

Cuadro 10. Recuento microbiológico de hongos y levaduras en germinados de soya tratados con distintos sanitizantes y atmósfera modificada de alto O₂ a 5 °C durante 11 días. Los valores corresponden a la media (n=3).

Tratamiento	Hongos y levaduras (log ufc·g ⁻¹)			
	Tiempo (días)			
	1	4	7	11
HS-100	0,0 ns A ^{xy}	0,0 b A	0,0 ns A	1,5 ns A
OC-5	1,4	0,0 b	0,8	1,7
OC-10	1,0	1,3 ab	0,7	1,6
CS-250	1,6	1,3 ab	0,0	2,6
CS-500	0,7	2,0 a	1,7	3,1
HS-100 aire	0,0 A	0,0 A	0,7 A	1,0 A

^x Letras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas (p < 0,05) entre tratamientos. ns, no significativo.

^y Letras mayúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas (p < 0,05) entre tratamientos.

La AM de alto O₂ no generó un efecto en los recuentos de hongos y levaduras en comparación con la atmósfera de aire.

Los germinados de *Phaseolus* blancas presentaron poblaciones de mohos y levaduras de 4,2 y 3,0 log ufc g⁻¹, respectivamente (Cava *et al.*, 2009).

Color

Luminosidad (L). Comparando la materia prima con los valores obtenidos el día 1, ésta fue significativamente mayor (60,7) que los tratamientos HS-100 aire (testigo), HS-100 y CS-500 (49,8, 51,9 y 52,0, respectivamente) (Figura 15A).

Bajo AM de alto O₂, los valores de luminosidad se mantuvieron estables en el tiempo entre un rango de 48,7 y 55,7.

La AM de alto O₂ no presentó efecto en la luminosidad en comparación con la atmósfera de aire (Cuadro 3, Apéndice II).

Saturación (C*). Comparando la materia prima con los valores obtenidos el día 1, ésta fue significativamente menor (6,7) que el tratamiento OC-10 (8,8).

No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos bajo AM de alto O₂ durante todo el almacenamiento, sin embargo, se observó un aumento en la saturación a través del tiempo, siendo CS-500 el que presentó siempre los menores valores y los germinados tratados con OC, presentaron en general, los valores más altos (Figura 15B).

La AM de alto O₂ presentó un efecto positivo en la conservación de la saturación el día 7 y 11, en donde HS-100 (7,6 y 8,8, respectivamente) fue significativamente menor que HS-100 aire (12,0 y 13,9, respectivamente).

Tono (H_{ab}). Comparando la materia prima con los valores obtenidos el día 1, ésta fue significativamente mayor (102,1) que el tratamiento OC-5 (95,7).

Con respecto a los tratamientos bajo AM de alto O₂, sólo se presentaron diferencias significativas al inicio del almacenamiento, en donde el tono más bajo, OC-5 (95,7) se diferenció del resto de tratamientos, exceptuando CS-500 (valores entre 98,4 y 99,6). Desde el día 4, los valores se mantuvieron estables entre un rango de 94,3 y 98,7 (Figura 15C).

La AM de alto O₂ presentó un efecto positivo en la conservación del tono desde el día 4 hasta el final de la conservación. HS-100 (valores entre 96,3 y 97,2) fue significativamente mayor que HS-100 aire (valores entre 86,8 y 93,4).

El pardeamiento de los germinados se observó principalmente al inicio del almacenamiento en contraste con la materia prima, debido a los procesos de manipulación y lavado, manifestándose en una disminución de L y H_{ab}, y en un aumento del C*. Posteriormente, la conservación en altas concentraciones de O₂ provocaron un retardo del pardeamiento durante los 11 días de almacenamiento comparado con el tratamiento testigo (HS-100 aire), que se explica claramente en la evolución de los valores de C* y H_{ab} (Figura 16).

En lechugas Iceberg tratadas con diferentes concentraciones de dióxido de cloro (0, 5, 10, 50 mL·L⁻¹), almacenadas a 4 °C por 4 días, los parámetros de color no fueron significativamente afectados entre tratamientos. Sin embargo, los parámetros L y C* explican bien la decoloración a través del almacenamiento. L aumenta en promedio desde 62,9 a 70,1 y C* aumenta en promedio desde 32,9 a 40,1 (Kim *et al.*, 2008).

Según la escala de color para germinados de soya mostrada en la Figura 4, el día 1 todos los tratamientos presentaron un pardeamiento leve (nivel 2). Al final del almacenamiento, el tratamiento testigo (HS-100 aire) se observó extremadamente pardeado (nivel 5), a diferencia de los tratamientos en AM de alto O₂, los cuales permanecieron levemente pardeados (nivel 2), exceptuando el tratamiento OC-10 que presentó un pardeamiento moderado (nivel 3).

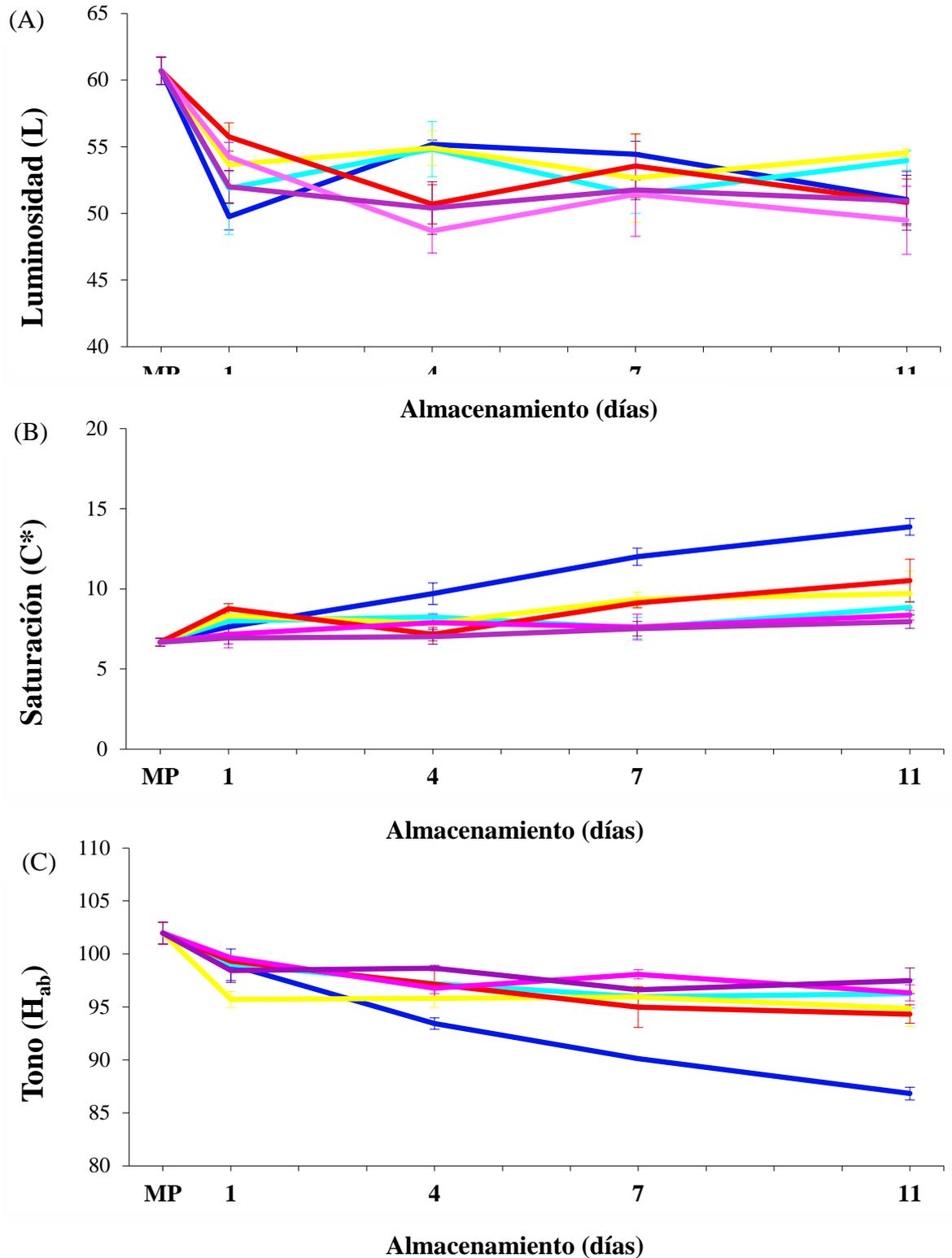


Figura 15. Evolución de los parámetros luminosidad (A), saturación (B) y tono (C) del color de germinados de soja tratados con distintos sanitizantes y atmósfera modificada de alto O₂ a 5 °C. Los valores corresponden a la media (n=3) y las líneas verticales indican el error estándar. (—) HS-100 aire, (—) HS-100, (—) OC-5, (—) OC-10, (—) CS-250, (—) CS-500. MP: materia prima.

	HS-100 Aire	HS-100	OC-5	OC-10	CS-250	CS-500	Materia Prima
Día 1							
	L = 49,8 C* = 7,6 H _{ab} = 99	L = 51,9 C* = 8 H _{ab} = 99	L = 53,7 C* = 8,3 H _{ab} = 95,7	L = 55,7 C* = 8,8 H _{ab} = 99,3	L = 54,2 C* = 7,2 H _{ab} = 99,6	L = 52 C* = 6,9 H _{ab} = 98,4	L = 60,7 C* = 6,7 H _{ab} = 102,1
Día 4							
	L = 55,2 C* = 9,7 H _{ab} = 93,4	L = 54,8 C* = 8,2 H _{ab} = 97,2	L = 54,9 C* = 7,8 H _{ab} = 95,8	L = 50,7 C* = 7,2 H _{ab} = 97,1	L = 48,7 C* = 7,9 H _{ab} = 96,8	L = 50,4 C* = 7 H _{ab} = 98,7	
Día 7							
	L = 54,4 C* = 12 H _{ab} = 90,1	L = 51,4 C* = 7,6 H _{ab} = 96	L = 52,7 C* = 9,3 H _{ab} = 95,9	L = 53,6 C* = 9,1 H _{ab} = 95	L = 51,4 C* = 7,6 H _{ab} = 98,1	L = 51,8 C* = 7,5 H _{ab} = 96,6	
Día 11							
	L = 51 C* = 13,9 H _{ab} = 86,8	L = 54 C* = 8,8 H _{ab} = 96,3	L = 54,5 C* = 9,7 H _{ab} = 94,9	L = 50,8 C* = 10,5 H _{ab} = 94,3	L = 49,5 C* = 8,4 H _{ab} = 96,3	L = 50,9 C* = 8 H _{ab} = 97,5	

Figura 16. Evolución del color de germinados de soya tratados con distintos sanitizantes y atmósfera modificada de alto oxígeno a 5 °C durante 11 días.

Evaluación sensorial

Los parámetros turgencia y sabores extraños no fueron evaluados en este ensayo, debido a la alta carga microbiana de los germinados, la cual superó en todo momento los niveles aceptados por la norma chilena.

Apariencia. No se presentaron diferencias significativas entre tratamientos bajo AM de alto O₂ (Figura 17A). Los puntajes obtenidos fluctuaron entre 10,2 y 14,7, observándose en general, una disminución de la apariencia a través del tiempo (Cuadro 4, Apéndice II).

La AM de alto O₂ presentó un efecto positivo en la conservación de la apariencia, puesto que desde el día 4 hasta el final del almacenamiento se presentaron diferencias significativas entre HS-100 (valores entre 10,4 y 11,3) y HS-100 aire (0,9 y 8,9).

Intensidad de color. No se presentaron diferencias significativas entre tratamientos bajo AM de alto O₂ (Figura 17B). Los puntajes obtenidos fluctuaron entre 8,9 y 14,4, observándose en general, una disminución de la intensidad de color a través del tiempo.

La AM de alto O₂ presentó un efecto positivo en la conservación del color el día 7 y 11. HS-100 (10,5 y 8,9, respectivamente) fue significativamente mayor que HS-100 aire (3,8 y 0,7, respectivamente).

Se puede deducir en este ensayo, que los criterios utilizados por el panel para evaluar apariencia no sólo se vieron influenciados por la evolución del color (aumento del pardeamiento), puesto que la apariencia obtuvo valores más altos que la intensidad de color. Estas mayores puntuaciones se podrían explicar por una buena calidad inicial del producto, con hipocotilos gruesos y sin defectos notorios. Tampoco se manifestaron signos de deshidratación, ablandamiento de tejidos ni pudrición en los germinados bajo AM de alto O₂, que sí fueron visibles en el tratamiento testigo (HS-100 aire).

Abadías *et al.* (2008) advirtieron que los germinados de alfalfa y soya colectadas desde supermercados antes de su fecha de vencimiento, aun presentando elevados conteos microbiológicos no mostraron deterioro en su apariencia visual. Observaciones similares fueron postuladas por Ragaert *et al.* (2007), quienes aseveraron que conteos por sobre 7-8 log ufc·g⁻¹ no siempre se traduce en aparición de defectos visuales, ya que tanto la actividad microbiológica como fisiológica juega un rol en el deterioro de hortalizas MPF.

Al comparar las variables de evaluación sensorial en ensalada mixta (lechuga y achicoria), el color fue el atributo más determinante por sobre el resto de atributos que definen la calidad visual del producto. La ensalada mixta almacenada bajo elevadas concentraciones de O₂ y CO₂ obtuvieron mejores puntuaciones para este parámetro que aquellas almacenadas a 3-5% O₂ y 6-8% CO₂ (Allende *et al.*, 2002). Estudios anteriores concuerdan con estos autores, reportando que lechuga iceberg procesada fresca almacenada bajo 80% O₂ y 20% CO₂ mostró menos pardeamiento que aquella almacenada en atmósfera modificada pasiva a 5 °C (Heimdal *et al.*, 1995).

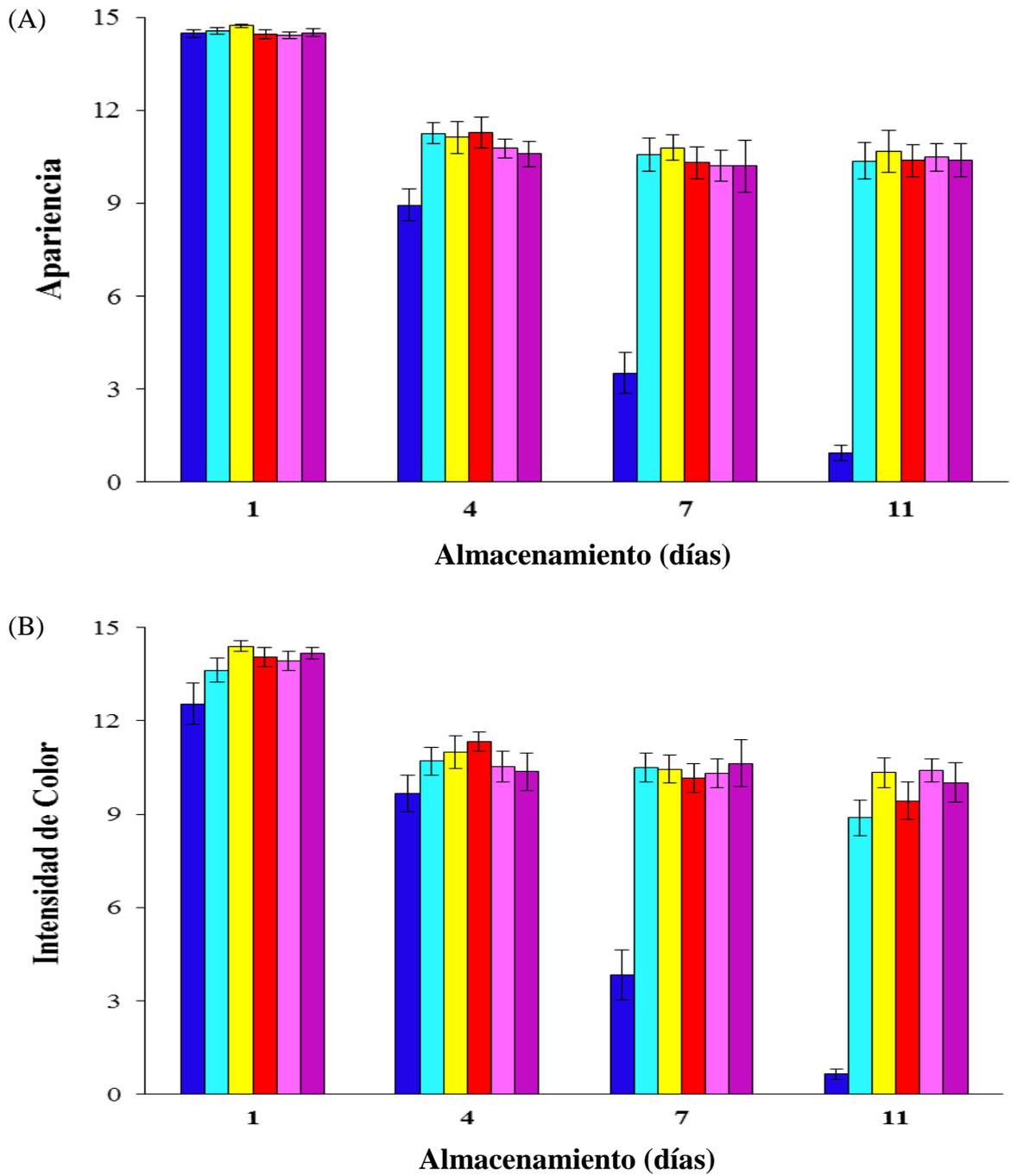


Figura 17. Valoración de la apariencia (A) e intensidad de color (B) de germinados de soya tratados con diferentes sanitizantes y atmósfera modificada de alto O₂ a 5 °C por un panel de 12 jueces semi-entrenados. Las barras corresponden a la media (n=12) y las líneas verticales indican el error estándar. (■) HS-100 aire, (■) HS-100, (■) OC-5, (■) OC-10, (■) CS-250, (■) CS-500.

Compuestos funcionales

Contenido de fenoles totales. La aplicación de soluciones sanitizantes no provocó diferencias significativas entre tratamientos bajo AM de alto O₂ (Cuadro 5, Apéndice II), sin embargo, los valores tendieron a aumentar a lo largo de la conservación. Como se aprecia en la Figura 18, los contenidos de fenoles totales fluctuaron entre 0,48 y 0,75 mg EAG·g_{p.f.}⁻¹, en donde HS-100, presentó en general, los valores más bajos.

Durante el almacenamiento no se observó un efecto de la AM de alto O₂ en el contenido de fenoles con respecto a la atmósfera de aire, salvo al final, donde HS-100 aire (0,73 mg EAG·g_{p.f.}⁻¹) fue significativamente mayor que HS-100 (0,58 mg EAG·g_{p.f.}⁻¹).

Cevallos y Cisneros (2010), reportaron para semilla de soya un contenido de fenoles totales de 2 mg EAC·g_{p.f.}⁻¹ (Equivalentes de ácido clorogénico), para semilla embebida un valor de 1,0 mg EAC·g_{p.f.}⁻¹ y para soya con 7 días de germinación un valor de 1,5 mg EAC·g_{p.f.}⁻¹. Estos autores sugirieron un efecto de dilución de los fenoles después de la imbibición y crecimiento, debido a un incremento en la absorción de agua.

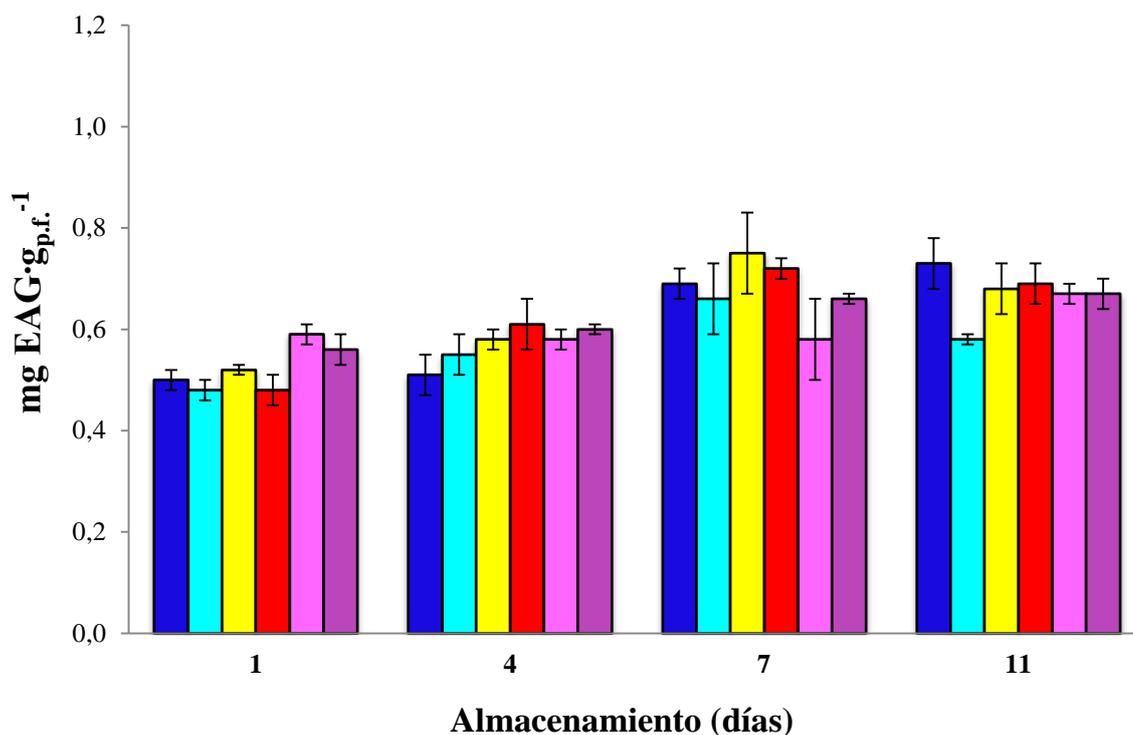


Figura 18. Evolución del contenido de fenoles totales de germinados de soya tratados con diferentes sanitizantes y atmósfera modificada de alto oxígeno a 5 °C. Las barras corresponden a la media (n=3) y las líneas verticales indican el error estándar. (■) HS-100 aire, (■) HS-100, (■) OC-5, (■) OC-10, (■) CS-250, (■) CS-500.

Actividad antioxidante total. La aplicación de soluciones sanitizantes no afectó este parámetro en los tratamientos con AM de alto O₂ (Figura 19), obteniéndose valores de 0,10 y 0,18 mg ET·g_{p.f.}⁻¹. Cabe destacar que, en general, se observa un incremento en la capacidad antioxidante total durante el almacenamiento (Cuadro 5, Apéndice II).

La AM de alto O₂ no reportó efectos en la capacidad antioxidante en comparación con la atmósfera de aire.

En un estudio anterior se observó que la capacidad antioxidante del poroto chino (*Vigna sinensis* var. *Carilla*) con 4 y 6 días de germinación fue de 10,5 mg ET·g_{p.s.}⁻¹ y 10,9 mg ET·g_{p.s.}⁻¹, respectivamente (Doblado *et al.*, 2007). Resultados similares fueron obtenidos por Cevallos y Cisneros (2010), quienes reportaron para semilla de soya una capacidad antioxidante total de 1,1 mg ET·g_{p.s.}⁻¹ y para soya con 7 días de germinación un valor 3,2 mg ET·g_{p.s.}⁻¹, por lo que la capacidad antioxidante total durante la germinación de la semilla aumenta.

González y Day (1998) reportaron que una atmósfera modificada de alto O₂ tuvo un efecto benéfico en la retención de ácido ascórbico y en el grado de oxidación lipídica. Estos autores también señalaron que una AM de alto O₂ comparada con una de bajo O₂ no disminuyó los niveles de antioxidantes en lechugas preparadas.

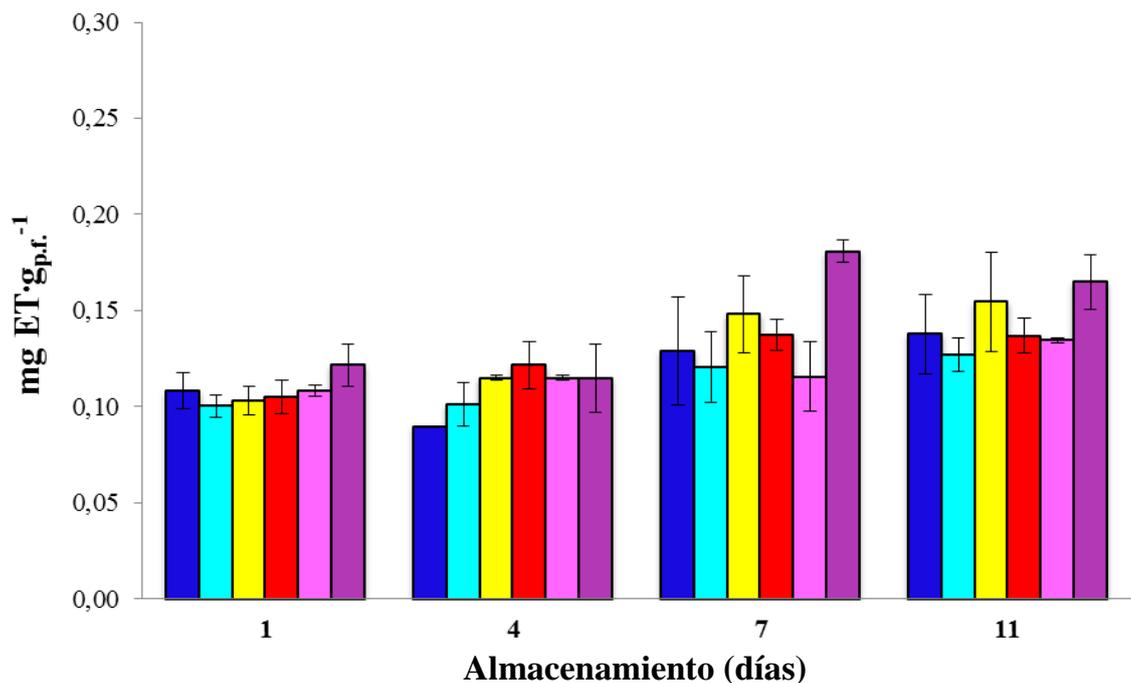


Figura 19. Evolución de la actividad antioxidante total de germinados de soya tratados con diferentes sanitizantes y atmósfera modificada de alto oxígeno a 5 °C. Las barras corresponden a la media (n=3) y las líneas verticales indican el error estándar. (■) HS-100 aire, (■) HS-100, (■) OC-5, (■) OC-10, (■) CS-250, (■) CS-500.

Contenido de azúcares. No se observó la presencia de sacarosa. El cromatógrafo detectó fructosa y glucosa, realizándose la sumatoria de ambos monosacáridos, analizándolos como glucosa en su totalidad.

En todos los tratamientos se presentó una caída significativa en el contenido de azúcares al final del almacenamiento (Figura 20), disminuyendo sus concentraciones en más de la mitad con respecto al día 1, no obstante, no se produjeron diferencias significativas entre tratamientos bajo AM de alto O₂. El día 1, los valores se mantuvieron entre 12,5 y 14,8 mg azúcar·g_{p.f.}⁻¹ y el día 11, entre 3,9 y 6,4 mg azúcar·g_{p.f.}⁻¹.

La AM de alto O₂ no reportó efectos en el contenido de azúcares en comparación con atmósfera de aire (Cuadro 6, Apéndice II).

Kader (2002), aseveró que la “pérdida durante la respiración de reservas alimenticias almacenadas en el producto significa el aceleramiento de la senescencia conforme las reservas que proporcionan energía para mantener el status viviente del producto se agotan”. Lo anteriormente expuesto, explica la disminución de la tasa respiratoria observada desde el día 7 hasta el final el almacenamiento (Figura 13), que concuerda con un bajo contenido de monosacáridos digeribles como lo son glucosa y fructosa, provenientes de oligosacáridos de la semilla tales como estaquiosa y rafinosa catalizados durante la germinación (Kim *et al.*, 1993).

Varoquaux *et al.* (1996) encontraron en germinados de soya verde (*Vigna radiata*, cv. desconocido) almacenados a 8 °C contenidos iniciales aproximados de 9 mg·g_{p.f.}⁻¹ de mono y disacáridos, principalmente fructosa, glucosa y sacarosa. Los contenidos de azúcar aumentaron inmediatamente después del envasado y alcanzaron 12 mg·g_{p.f.}⁻¹ dentro de 5 días y fue independiente de la permeabilidad de la película. Desde entonces, disminuyeron debido tanto al metabolismo de la planta como al de los microorganismos. Los valores de 10,5; 8,5 y 5,5 mg·g_{p.f.}⁻¹ se encontraron después de 7, 9 y 12 días de almacenamiento respectivamente.

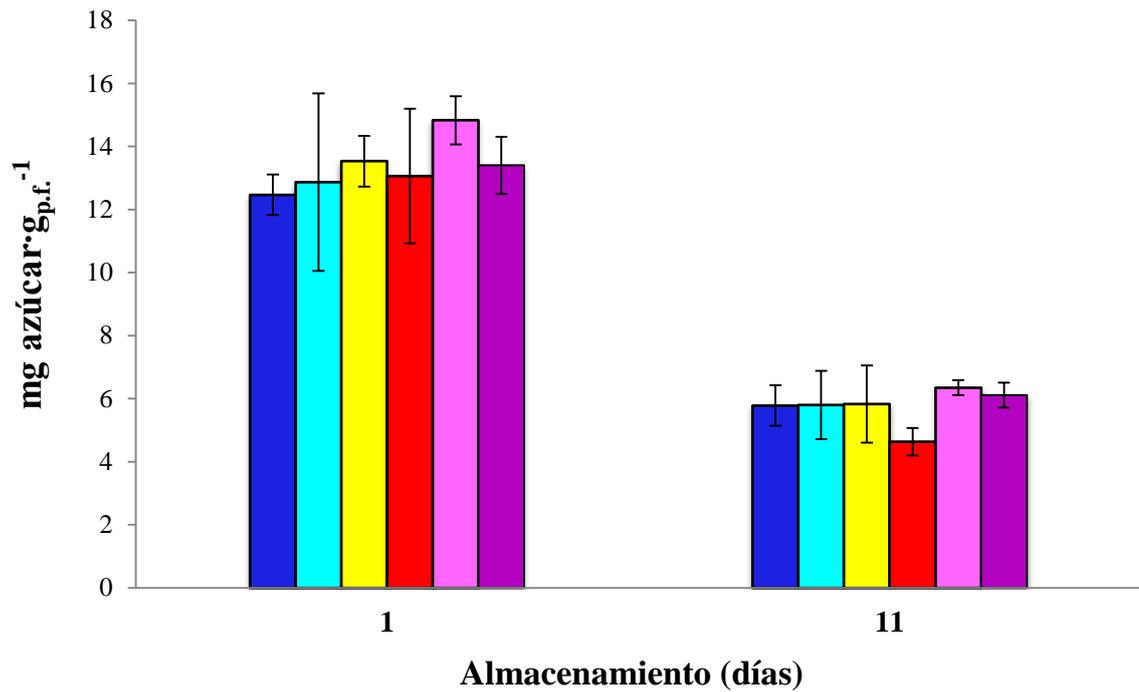


Figura 20. Evolución del contenido de azúcares en germinados de soya tratados con diferentes sanitizantes y atmósfera modificada de alto oxígeno a 5 °C. Las barras corresponden a la media (n=3) y las líneas verticales indican el error estándar. (■) HS-100 aire, (■) HS-100, (■) OC-5, (■) OC-10, (■) CS-250, (■) CS-500.

CONCLUSIÓN ENSAYO II

Los menores recuentos microbianos iniciales se observan en los germinados tratados con clorito de sodio acidificado (CS), que junto con HS-100 presentan los valores más bajos durante el almacenamiento.

La mayor tasa respiratoria se presenta en HS-100.

En general, el consumo de O₂ y producción de CO₂ dentro de las bolsas no son afectados por el uso de distintos sanitizantes. Sin embargo, cabe destacar, el acentuado consumo de O₂ que manifiestan los germinados de soya tratados con dióxido de cloro (OC) al final de la conservación.

La pérdida de calidad se manifiesta principalmente por el aumento gradual del pardeamiento, el cual se explica por una disminución de la luminosidad, un aumento de la saturación y una disminución del tono. La utilización de diferentes sanitizantes no afecta ni el color ni la calidad sensorial de los germinados, aún cuando dióxido de cloro (OC) presenta un mayor deterioro desde el día 7.

La AM de alto O₂ presenta efectos variables en los recuentos microbiológicos. Por otro lado, muestra efectos positivos en los parámetros C* y H_{ab}. En evaluación sensorial, mejora sustancialmente la apariencia y la intensidad de color de los germinados.

No se observa un efecto tanto de los sanitizantes como de la AM en los compuestos funcionales ni en el contenido de azúcar.

CONCLUSIÓN GENERAL

Estadísticamente, clorito de sodio acidificado (CS) se presenta como una alternativa al uso del hipoclorito de sodio (HS) en la reducción microbiana, no obstante, dióxido de cloro (OC) puede también ser considerado, puesto que las diferencias existentes entre los sanitizantes a lo largo del almacenamiento no son concluyentes.

La pérdida de calidad se manifiesta principalmente por el aumento gradual del pardeamiento, el cual se explica por una disminución de la luminosidad, un aumento de la saturación y una disminución del tono.

La utilización de sanitizantes alternativos al hipoclorito de sodio (HS) no presenta variaciones en el contenido de compuestos funcionales.

La atmósfera modificada, tanto de alto como bajo O₂, propicia condiciones favorables para la conservación de los germinados de soya a 5 °C en comparación con la atmósfera de aire.

BIBLIOGRAFÍA

- Abadías, M., J. Usall, M. Anguera, C. Solsona and I. Viñas. 2008, mar. Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *Int. J. Food Microbiol.*, 123(1-2): 121-129.
- Adam, M. R., A.D. Hartley and L.J. Cox. 1989, jun. Factors affecting the efficacy of washing procedures used in the production of prepared salads. *Food Microbiol.*, 6(2): 69-77.
- Adrienne, E., H. Shearer, M.S. Christine and D.J. Rolf. 2001. Evaluation of a polymerase chain reaction-based system for detection of *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria* spp., and *Listeria monocytogenes* on fresh fruits and vegetables. *J. Food Prot.*, 64(6): 788-795.
- Aenor. 1997. Análisis sensorial. Tomo 1. Alimentación. Recopilación de norma española UNE 87-020-93. Madrid, España: Aenor. 253p.
- Akitha-Devi, M.K., M. Gondi, G. Sakthivelu, P. Giridhar, T. Rajasekaran and G.A. Ravishankar. 2009, jun. Functional attributes of soybean seeds and products, with reference to isoflavone content and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 114(3): 771-776.
- Allende, A., L. Jacxsens, F. Devlieghere, J. Debevere and F. Artés. 2002, oct. Effect of superatmospheric oxygen packaging on sensorial quality, spoilage, and *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas caviae* growth in fresh processed mixed salad. *J. Food Protect.*, 65(10): 1565-1573.
- Allende, A., Y. Luo, J.L. McEvoy, F. Artés and C.Y. Wang. 2004, jul. Microbial and quality changes in minimally processed baby spinach leaves stored under super atmospheric oxygen and modified atmosphere conditions. *Postharvest Biology and Technology*, 33(1): 51-59.
- Allende, A., M.V. Selma, F. López, R. Villaescusa and M.I. Gil. 2008, jul. Role of commercial sanitizers and washing systems on epiphytic microorganisms and sensory quality of fresh-cut escarole and lettuce. *Postharvest Biology and Technology*, 49(1): 155-163.
- Amanatidou, A., E.J. Smid and L.G.M. Gorris. 1999, mar. Effect of elevated oxygen and carbon dioxide on the surface growth of vegetable-associated micro-organisms. *Journal of Applied Microbiology*, 86(3): 429-438.
- Araya E. 2006. Guía de laboratorio. Evaluación Sensorial de alimentos. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Santiago, Chile. 81 p.

Artés, F. y A.J. Escriche. 1988. Nuevas tecnologías de frigoconservación hortofrutícola. (pp. 173-194). En: Maduración y Postrecolección de Frutas y Hortalizas. Murcia, España: SEFV y CSIC.

Artés, F. 2000. Conservación de los productos vegetales en atmósfera modificada. (pp. 105-125). En: M. Lamúa (Ed.). Aplicación del frío en los alimentos. Madrid, España: AMV- Mundiprensa.

Artés, F., P. Gómez, F. Artés, E. Aguayo and V. Escalona. 2007, aug. Improved strategies for keeping overall quality of fresh-cut produce. *Acta Horticulturae (ISHS)*, 746: 245-258.

Artés, F., P. Gómez, E. Aguayo, V. Escalona and F. Artés. 2009, mar. Sustainable sanitation techniques for keeping quality and safety of fresh-cut plant commodities. *Postharvest Biology and Technology*, 51(3): 287–296.

Aytac, S.A. and L.G.M. Gorris. 1994, nov. Survival of *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* on fresh vegetables stored under moderate vacuum. *World Journal of Microbiology Biotechnology*, 10(6): 670-672.

Bates, R.P. and R.F. Matthews. 1975. Ascorbic acid and β -carotene in soybeans as influenced by maturity, sprouting, processing, and storage (pp. 266-271). En: Annual Meeting of the Florida State Horticultural Society (88, november of 1975, Lake Buena Vista, Florida, USA). Florida State Horticultural Society. Florida, USA.

Beecher, G. R. 2003, oct. Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrences and intake. *The Journal of Nutrition*, 133(10): 3248-3254.

Bennik, M.H.J., W. Vorstman, E.J. Smid and L.G.M. Gorris. 1998, oct. The influence of oxygen and carbon dioxide on the growth of prevalent *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas* species isolated from fresh and controlled-atmosphere-stored vegetables. *Food Microbiology*, 15(5): 459–469.

Benzie I. F. F. and J. J. Strain. 1996, jul. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1):70-76.

Beuchat, L.R. 1996, aug-oct. *Listeria monocytogenes*: incidence in vegetables. *Food Control*, 7(4-5): 223-228.

Beuchat, L.R. 1997, mar. Comparison of chemical treatments to kill *Salmonella* on alfalfa seeds destined for sprout production. *International Journal of Food Microbiology*, 34(3): 329-333.

Beuchat, L. 1998. Surface decontamination of fruits and vegetables eaten raw: a review. Food Safety Unit and World Health Organization. WHO/FSF/FOS/98.2. 42 p.

BCGA (British Compressed Gases Association). 1998. The Safe Application of Oxygen Enriched Atmospheres When Packaging Food. British Compressed Gases Association, Hampshire, UK. 39 p.

Boyette, M.D., D.F. Ritchie, S.J. Carballo, S.M. Blankenship and D. Sanders. 1993, dec. Chlorination and postharvest disease control. HortTechnology 3(4): 395-400.

Cano, M.P. 2001. Procesado y conservación de alimentos vegetales. Horticultura global: Revista de industria, distribución y socioeconomía hortícola: frutas, hortalizas, flores, plantas, árboles ornamentales y viveros, 150: 110-114.

Cantwell, M. I. y T. V. Suslow. 2002. Sistemas de manejo, postcosecha: Frutas y hortalizas precortadas (mínimamente procesadas). (pp. 497-518). En: Kader, A. A. (Ed). Tecnología postcosecha de cultivos hortofrutícolas. 3ra edición. Universidad de California, Filadelfia, EE.UU. 580p.

Cava, R., E. Sangronis, M. Rodríguez y J. Colina. 2009, nov. Calidad microbiológica de semillas germinadas de *Phaseolus vulgaris*. Interciencia, 34(11): 796-800.

Cevallos, B.A. and L. Cisneros. 2010, apr. Impact of germination on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species. Food Chemistry, 119(4): 1485-1490.

Choon, S.Y., S.H. Ahmad, P. Ding, U.R. Sinniah and A.A. Hamid. 2010. Morphological and chemical characteristics of black gram (*Vigna mungo* L.) sprouts produced in a modified atmosphere chamber at four seeding densities. Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science, 33(2): 179-191.

Conti, P., R. Simonetti, L. Lozano y L. Figueroa. 2006. El libro de la soja. 1° Ed. Buenos Aires, Argentina: Pluma y Papel. 128 p.

Day, B. 1990. Modified atmosphere packaging of selected prepared fruits and vegetables. (pp. 3230-3232). En: Proc COST 91 Final Seminar. Elsevier Science Publishers, Amsterdam.

Day, B. 2001. Fresh prepared produce: GMP for high oxygen MAP and non-sulphite dipping. Guideline N° 31. Chipping Campden, Gloucestershire, UK: Campden and Chorleywood Food Research Association. 76 p.

Day, B. 2003. Novel MAP applications for fresh-prepared produce. (cap. 10, pp.189-207). En: Ahvenainen R. Novel food packaging. 1° edición. Cambridge, UK: Woodhead Publishing Limited. 590 p.

De la Rosa, M.C. 2007. Comportamiento de microorganismos indicadores de higiene y *Escherichia Coli* patógena en germinado de alfalfa y evaluación de la eficiencia de tres desinfectantes sobre germinado de alfalfa contaminado con *E. coli* patógena. Tesis Químico en Alimentos. Hidalgo, México: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Centro de Investigaciones Químicas. 76 p.

Drago, M.E., M. López y T.R. Sainz. 2006, oct-nov. Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 37(4): 58-68.

Devlieghere, F., J. Debevere, J. Van Impe. 1998, aug. Concentration of carbon dioxide in the water-phase as a parameter to model the effect of a modified atmosphere on microorganisms. *International Journal of Food Microbiology*, 43(1-2): 105-113.

Doblado, R., J. Frías, C. Vidal. 2007. Changes in vitamin C content and antioxidant capacity of raw and germinated cowpea (*Vigna sinensis var. carilla*) seeds induced by high pressure treatment. *Food Chemistry*, 101(3): 918-923.

Escalona V. y L. Luchsinger. 2008. Una revisión sobre frutas y hortalizas mínimamente procesadas en fresco. *Aconex*, 99: 23-28.

FAO (Food and Agriculture Organization). 1995. El cultivo de la soya en los trópicos: mejoramiento y producción. Colección FAO: Producción y protección vegetal 27. Roma, Italia. 254 p.

FDA (Food and Drug Administration). (cap.5). Methods to reduce/eliminate pathogens from fresh and fresh-cut produce. En: Analysis and evaluation of preventive control measures for the control and reduction/elimination of microbial hazards on fresh and fresh-cut produce. [en línea]. Recuperado en: <<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/SafePracticesforFoodProcesses/ucm091363.htm>>. Consultado el: 10 de septiembre de 2013.

Fernandez, R., J. Frias, H. Zielinski, M.K. Piskula, H. Kozłowska and C. Vidal. 2008, dec. Kinetic study of the antioxidant compounds and antioxidant capacity during germination of *Vigna radiata cv. Emerald*, *Glycine max cv. Jutro* and *Glycine max cv. Merit*. *Food chemistry*, 111(3): 622-630.

Fordham, J. R., C. E. Wells and L. H. Chen. 1975, may. Sprouting of seeds and nutrient composition of seeds and sprouts. *Journal of Food Science*, 40(3):552-556.

Fridovich, I. 1986, may. Biological effects of the superoxide radical. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 247(1): 1-11.

García, E., M. López, R. Valencia, V. Garzón, G. Navas, C. Salamanca, *et al.* 2006. Soya (*Glycine max* (L.) Merrill) alternativa para los sistemas de producción de la Orinoquia Colombiana. 1º edición. Villavicencio, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA. 224 p.

Garmendia, G y S. Vero. 2006, dic. Métodos para la desinfección de frutas y hortalizas. *Horticultura* 197:18-27.

Geiges, O., B. Staehlin and B. Baumann. 1990. The microbiological evaluation of prepared salad vegetables and sprouts. *Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg.*, 81: 684-271.

González, M. and B. Day. 1998. The effect of elevated oxygen and carbon dioxide modified atmospheres on psychrotrophic pathogens and spoilage microorganisms associated with fresh prepared produce. En: Campden and Chorleywood Food Research Association (ed.). *Research Summary Sheets*. 206 p.

Gross, K., C.Y. Wang and M. Saltveit (eds.). 2004, apr. The commercial storage of fruit, vegetables, and florist and nursery stocks. *USDA Agriculture Handbook*, 66.

Heimdal, H., B.F. Kuhn, L. Poll and L.M. Larsen. 1995, nov. Biochemical changes and sensory quality of shredded and MA-packaged iceberg lettuce. *Journal of Food Science*, 60(6):1265-1268.

Hyson, D. 2002. The health benefits of fruit and vegetables. A scientific overview for health professionals. Wilmington, Delaware, USA: Better Health Foundation.

Jacques, M.A. and C.E. Morris. 1995, apr. Bacterial population dynamics and decay on leaves of different ages of ready-to-use broad-leaved endive. *International Journal of Food Science and Technology*, 30(2): 221-236.

Jacxsens, L., F. Devlieghere, C. Van der Steen and J. Debevere. 2001, dec. Effect of high oxygen modified atmosphere packaging on microbial growth and sensorial qualities of fresh-cut produce. *International Journal of Food Microbiology*, 71(2-3): 197-210.

Jacxsens, L., F. Devlieghere and J. Debevere. 2002, aug. Temperature dependence of shelf-life as affected by microbial proliferation and sensory quality of equilibrium modified atmosphere packaged fresh produce. *Postharvest Biology and Technology*, 26(1): 59-73.

Jacxsens, L., F. Devlieghere, P. Ragaert, E. Vanneste and J. Debevere. 2003, jun. Relation between microbiological quality, metabolite production and sensory quality of equilibrium modified atmosphere packaged fresh-cut produce. *International Journal of Food Microbiology*, 83(3): 263-280.

Jay, J., M. Loessner, D. Golden. 2005. *Modern Food Microbiology*. 7^o edición. New York, USA: Board. 790 p.

Jiao, Z., X.X. Si, Z.M. Zhang, G.K. Li and Z.W. Cai. 2012, nov. Compositional study of different soybean (*Glycine max* L.) varieties by ¹H NMR spectroscopy, chromatographic and spectrometric techniques. *Food Chemistry*, 135(1): 285-291.

Jin, H.H. and S.Y. Lee. 2007, nov-dec. Combined effect of aqueous chlorine dioxide and modified atmosphere packaging on inhibiting *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* in mungbean sprouts. *Journal of Food Science*, 72(9): 441-445.

Kader, A (ed.). 2002. Tecnología postcosecha de cultivos hortofrutícolas. 3ª edición. Postharvest Technology Research and Information Center. 584 p.

Kang, H.M. and M.E. Saltveit. 2002, nov. Antioxidant capacity of lettuce leaf tissue increases after wounding. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 50(26): 7536-7541.

Kays, S. J. 1991. Postharvest physiology of perishable plant products. New York, USA: Van Nostrand Reinhold. 526 p.

Kim, S.D., S.H. Kim and E.H. Hong. 1993. Composition of soybean sprout and its nutritional value. *Korean Soybean Digest.*, 10: 1-9.

Kim, Y.J., S.H. Lee, J. Park, J. Park, M. Chung, K. Kwon, *et al* . 2008, nov-dec. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* on stored iceberg lettuce by aqueous chlorine dioxide treatment. *Journal of food Science*, 73(9): 418-422.

Lamikanra, O. 2005. (cap.4, pp. 79-115). Mechanical injury of fresh produce. En: Ukuku, D., S. Imam and O. Lamikanra (eds.). *Produce degradation: Pathways and prevention*. Boca Raton, Florida, USA: Taylor and Francis Group. 642 p.

Laurila, E. and R. Ahvenainen. 2002. (pp. 219-244). Minimal processing in practice: fresh fruits and vegetables. En: Ohlsson, T. and N. Bengtsson. *Minimal processing technologies in the food industry*. Cambridge, UK: Woodhead Publishing Limited.

Lee, S.Y., K.M. Yun, J. Fellman and D.H. Kang. 2002, jul. Inhibition of *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* in mung bean sprouts by chemical treatment. *Journal of Food Protection*, 65(7): 1088-1092.

Lee, Y.W., J.D. Kim, J. Zheng and K.H. Row. 2007, aug. Comparisons of isoflavones from Korean and Chinese soybean and processed products. *Biochemical Engineering Journal*, 36(1): 49-53.

Liu, K. 1997. Soybeans: chemistry, technology, and utilization. New York, E.E.U.U: Chapman & Hall. 535 p.

Liu, Q., W. Cai and X. Shao. 2008, dec. Determination of seven polyphenols in water by high performance liquid chromatography combined with preconcentration. *Talanta*, 77(2): 679-683.

Loaharanu, P. 2001. Creciente demanda de alimentos inocuos: la tecnología de las radiaciones constituye una respuesta oportuna. *OIEA boletín*, 43(2): 37-42.

- López, G., G. Peiser, X. Nie and M. Cantwell. 1997, jul. Quality changes in packaged salad products during storage. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A*, 205(1): 64-72.
- Marigo, G. 1973. Methode de fractionnement et d'estimation des composés phenoliques chez les vegetaux. *Analysis*, 2(2): 106-110.
- Martínez, A. 2008. Caracterización de compuestos bioactivos en crucíferas de uso en IV gama: aspectos relacionados con la fisiología tecnología post-recolección. Tesis doctoral. Murcia, España: Universidad Politécnica de Cartagena, Departamento de Producción Vegetal. 267p.
- Maureira, Y. 2012. Aplicación de sanitizantes en brotes de alfalfa (*Medicago sativa* L.) conservados bajo atmósfera modificada. Memoria Ingeniera Agrónoma. Santiago, Chile: Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. 62 p.
- McGuire, R. 1992, dec. Reporting of objective color measurements. *HortScience*, 27(12):1254-1255.
- Ministerio de Salud, Chile. 1996. Reglamento sanitario de los alimentos. [en línea]. Recuperado en: <http://www.redsalud.gov.cl/portal/url/page/minsalcl/g_proteccion/g_alimentos/reglamento_sanitario_alimentos.html>. Consultado el: 13 de abril de 2012.
- NACMCF (National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Food). 1999, nov. Microbiological safety evaluations and recommendations on sprouted seeds. *International Journal of Food Microbiology*, 52(3):123-153.
- Nell, T.A. and M.S. Reid. 2000. Flower and plant care. Alexandria, Virginia, USA: Society of American Florists.
- Nieuwenhuijsen, M.J., M.B. Toledano and P. Elliott. 2000. Uptake of chlorination disinfection by-products; a review and a discussion of its implications for exposure assessment in epidemiological studies. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*, 10: 586-599.
- Nguyen-the C. and F. Carlin. 1994. The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34(4): 371-401.
- Obando, J.M., I. Eduardo, A.J. Monforte and J.P. Fernández. 2009, aug. Identification of QTLs related to sugar and organic acid composition in melon using near-isogenic lines. *Scientia Horticulturae*, 121(4):425-433.
- O'Mahony, M., J. Cowden, B. Smyth, D. Lynch, M. Hall, B. Rowe, *et al.* 1990, apr. An outbreak of *Salmonella saint-paul* infection associated with bean sprouts. *Epidemiology and Infection*, 104(2):229-235.

Prior, R.L. and G. Cao. 2000, jul. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables: diet and health implications. *HortScience*, 35(4):588-592.

Ragaert, P., F. Devlieghere and J. Debevere. 2007, jun. Role of microbiological and physiological spoilage mechanisms during storage of minimally processed vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 44(3):185-194.

Reinli, K. and G. Block. 1996, apr. Phytoestrogen content of foods: a compendium of literature values. *Nutrition and Cancer*, 26(2):123-148.

Ritenour, M.A. and C.H. Crisosto. 1996. Hydrocooler water sanitation in the San Joaquin Valley stone fruit industry. *Central Valley Postharvest Newsletter*, 15(2):3-6.

Silva, L.R., M.J. Pereira, J. Azevedo, R.F. Gonçalves, P. Valentão, P. Guedes de Pinho, *et al.* 2013, jan. *Glycine max* (L.) Merr., *Vigna radiata* L. and *Medicago sativa* L. sprouts: A natural source of bioactive compounds. *Food Research International*, 50(1):167-175.

Singleton, V.L. and J.A. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3):144-158.

Siriphanich, J. and A.A. Kader. 1985, mar. Effects of CO₂ on total phenolics, phenylalanine ammonia lyase, and polyphenol oxidase in lettuce tissue. *Journal of American Society Horticulture Sciences*, 110(2):249-253.

Soliva, R.C. and O. Martín. 2003, sep. New advances in extending the shelf-life of fresh-cut fruits: a review. *Trends in Food Science and Technology*, 14(9): 341-353.

Soto, D. 2011. Efectos de distintos sanitizantes en las características funcionales y microbiológicas en brotes de alfalfa bajo condiciones de atmósfera modificada. Memoria Ingeniera Agrónoma. Santiago, Chile: Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. 61 p.

Soylemez, G., M.M. Brashears, D.A. Smith and S.L. Cuppett. 2001, jan. Microbial quality of alfalfa seeds and sprouts after a chlorine treatment and packaging modifications. *Journal of Food Science*, 66(1):153-157.

Stampi, S., G. De Luca and F. Zanetti. 2001, nov. Evaluation of the efficiency of peracetic acid in the disinfection of sewage effluents. *Journal of Applied Microbiology*, 91(5):833-838.

Steinmetz, K.A. and J.D. Potter. 1996, oct. Vegetables, fruit, and cancer prevention: A review. *Journal of the American Dietetic Association*, 96(10):1027-1039.

Stewart, D.S., K.F. Reineke, J.M. Ulaszek and M.L. Tortorello. 2001, may. Growth of *Salmonella* during sprouting of alfalfa seeds associated with Salmonellosis outbreaks. *Journal of Food Protection*, 64(5):618-22.

Suslow, T. 1997. Postharvest chlorination: Basic properties and key points for effective disinfection. [En línea]. Division of Agriculture and Natural Resources. University of California. Publication 8003. 8 p. Recuperado en: <anrcatalog.ucdavis.edu/pdf/8003.pdf>. Consultado el: 10 de septiembre de 2013.

Taormina, P.J. y L.R. Beuchat. 1999, apr. Comparison of chemical treatments to eliminate enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa seeds. *Journal of Food Protection*, 62(4):318-324.

Tardón, A., J. Obando, A. Hinojosa, L. Luchsinger y V.H. Escalona. 2011, jun. Efecto de la aplicación de radiación UV-C sobre la calidad de brotes de alfalfa mínimamente procesadas en fresco. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 12(1):87-93.

Valencia R. y A. Garzón . 2004. Potencialidades de la soya y usos en la alimentación humana y animal. 2ª Edición. Villavicencio, Colombia: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA). Boletín divulgativo N° 13. 31 p.

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(2):224-230.

Wiley, C.R. 1997. Frutas y hortalizas mínimamente procesadas y refrigeradas. Zaragoza, España: Acribia. 376 p.

Willockx, F. 1995. Evaluation of microbial and visual quality of minimally processed foods: a case study on the product life cycle of cut endive. Tesis doctoral. Leuven, Belgium: Catholic University of Leuven.

Zagory, D. 1999, mar. Effects of post-processing handling and packaging on microbial populations. *Postharvest Biology and Technology*, 15(3):313-321.

ANEXO I

EVALUACIÓN DE CALIDAD PANEL SEMI-ENTRENADO

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

Muestra N° _____

Aspecto Visual

1. Apariencia

_____	_____
0	15
Muy mala	Extremadamente buena

2. Intensidad de color

_____	_____
0	15
Amarillo pardo	Blanco

Aspecto gustativo

1. Sabores extraños

_____	_____
0	15
Extremadamente extraño	Sin sabores extraños

2. Turgencia

_____	_____
0	15
Sin turgencia	Extremadamente turgente

Comentarios:_____

Muchas gracias

ANEXO II

Reglamento sanitario de los alimentos, Ministerio de Salud, decreto n° 977/96.
Especificaciones microbiológicas por grupo de alimentos.

Frutas y otros vegetales comestibles pre-elaborados, listos para consumo

Plan de muestreo					Límite por gramo	
Parámetro	Categoría	Clases	N	c	M	M
RAM	6	3	5	1	5×10^4 (4,7 log)	5×10^5 (5,7 log)
Enterobacterias	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	---

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

APÉNDICE I

Cuadro 1. Evolución de la tasa respiratoria de germinados de soya tratados con distintos sanitizantes y atmósfera modificada de bajo oxígeno a 5 °C durante 11 días.

Tratamiento	Tasa respiratoria (mg CO ₂ ·kg ⁻¹ ·g ⁻¹)			
	Tiempo (días)			
	1	4	7	11
HS-100	39,8abc ^z	21,1 ns	24,3 ns	9,1 b
OC-5	36,2 c	16,0	18,3	6,7 b
OC-10	37,3 bc	19,9	22,4	10,0 b
CS-250	43,1 a	20,9	26,2	38,6 a
CS-500	42,2 ab	17,0	23,0	30,0 a
AP-50	43,7 a	19,1	23,9	30,7 a
AP-90	44,7 a	20,5	24,8	29,4 a

^z Letras diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas ($p < 0,05$) entre tratamientos. ns, no significativo.

Cuadro 2. Composición de la atmósfera interna de las bolsas (% O₂ y % CO₂) de germinados de soya tratados con distintos sanitizantes y atmósfera modificada de bajo oxígeno a 5 °C durante 11 días.

	Tratamiento	Atmósfera interna (%)			
		Tiempo (días)			
		1	4	7	11
O ₂	HS-100 aire	20,7 a ^z	20,3 a	19,0 a	19,9 a
	HS-100	4,6 bc	2,1 bc	1,5 d	1,2 cd
	OC-5	3,3 cd	2,9 b	5,4 b	2,1 bcd
	OC-10	2,5 d	2,8 b	1,3 d	2,5 bcd
	CS-250	3,3 cd	2,1 bc	2,0 cd	1,0 d
	CS-500	3,8 cd	1,4 c	2,0 cd	1,9 bcd
	AP-50	5,8 b	2,4 bc	2,0 cd	3,3 bc
	AP-90	4,7 bc	2,3 bc	3,4 c	3,6 b
CO ₂	HS-100 aire	0,3 c	0,5 d	1,2 e	0,8 d
	HS-100	3,0 ab	3,5 bc	4,4 b	4,1 ab
	OC-5	3,5 a	3,3 c	4,7 ab	4,3 ab
	OC-10	3,3 ab	3,5 bc	4,9 a	4,1 ab
	CS-250	3,1 ab	3,9 ab	3,8 c	3,9 bc
	CS-500	3,3 ab	4,2 a	3,9 c	4,1 ab
	AP-50	2,7 b	3,7 bc	3,7 cd	3,5 c
	AP-90	3,3 ab	3,9 ab	3,4 d	4,5 a

^z Letras diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas ($p < 0,05$) entre tratamientos.

Cuadro 3. Evolución de los parámetros de color (luminosidad, saturación y tono) de germinados de soya tratados con distintos sanitizantes y atmósfera modificada de bajo oxígeno a 5 °C durante 11 días.

		Color			
		Tiempo (días)			
	Tratamiento	1	4	7	11
Luminosidad (L)	HS-100	52,3 ns A ^{zy}	58,2 a A	57,8 A	57,3 ab A
	OC-5	55,3	57,6 a	57,2	57,5 ab
	OC-10	55,7	58,6 a	58,8	58,5 a
	CS-250	53,1	47,8 b		47,5 c
	CS-500	53,6	48,9 b		45,2 c
	AP-50	55,1	44,0 b		51,6 abc
	AP-90	52,1	47,9 b		51,1 bc
	HS-100 aire	54,7 A	56,9 A	57,7 A	55,7 A
Saturación (C*)	HS-100	7,9 b A	9,5 abc A	10,2 A	11,7 ns B
	OC-5	8,8 ab	10,4 a	11,0	12,3
	OC-10	9,7 ab	10,2 ab	11,6	12,2
	CS-250	9,5 ab	8,0 c		10,9
	CS-500	9,9 ab	8,2 bc		11,8
	AP-50	10,4 a	7,8 c		11,3
	AP-90	9,2 ab	8,6 abc		10,8
	HS-100 aire	8,1 A	10,6 A	10,5 A	13,3 A
Tono (Hue°)	HS-100	96,4 ns A	95,8 ns A	94,2 a A	89,4 ns A
	OC-5	94,3	94,7	92,4 ab	89,3
	OC-10	94,5	94,3	90,8 ab	89,2
	CS-250	93,4	92,6		88,3
	CS-500	93,1	93,3		86,8
	AP-50	93,7	91,0		88,8
	AP-90	94,8	93,3		88,8
	HS-100 aire	96,4 A	91,8 A	91,8 A	88,1 A

^z Letras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas ($p < 0,05$) entre tratamientos. ns, no significativo.

^y Letras mayúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas ($p < 0,05$) entre tratamientos.

Cuadro 4. Evaluación sensorial de la apariencia e intensidad de color de germinados de soya tratados con distintos sanitizantes y atmósfera modificada de bajo oxígeno a 5 °C durante 11 días.

		Evaluación sensorial			
		Tiempo (días)			
	Tratamiento	1	4	7	11
Apariencia	HS-100	12,0 ab A ^{zy}	10,7 ab A	9,5 ab A	9,2 a A
	OC-5	12,8 a	12,5 a	11,5 a	8,4 abc
	OC-10	10,7 ab	8,8 b	7,6 b	6,3 bc
	CS-250	11,0 ab	8,8 b	9,1 ab	8,7 ab
	CS-500	10,8 ab	9,3 b	7,6 b	5,9 c
	AP-50	11,0 ab	9,8 ab	8,8 b	8,5 abc
	AP-90	10,9 ab	8,7 b	9,5 ab	9,0 a
	HS-100 aire	10,5 A	8,6 B	7,6 B	6,9 B
Intensidad de color	HS-100	11,5 ns A	10,0 ab A	8,0 ab A	8,0 ab A
	OC-5	12,0	11,4 a	11,1 a	7,5 ab
	OC-10	10,0	7,7 bc	6,2 b	4,9 c
	CS-250	10,4	8,9 abc	8,9 ab	8,2 ab
	CS-500	11,3	9,3 abc	7,1 b	6,9 abc
	AP-50	10,1	8,6 bc	8,5 ab	7,6 ab
	AP-90	10,2	9,0 abc	9,1 ab	8,9 a
	HS-100 aire	10,0 B	7,1 B	6,2 A	5,8 B

^zLetras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas ($p < 0,05$) entre tratamientos. ns, no significativo.

^yLetras mayúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas ($p < 0,05$) entre tratamientos.

Cuadro 5. Contenido de fenoles totales y actividad antioxidante total de germinados de soya tratados con distintos sanitizantes y atmósfera modificada de bajo oxígeno a 5 °C durante 11 días.

		Compuestos funcionales			
		Tiempo (días)			
	Tratamiento	1	4	7	11
Fenoles totales (mg EAG • g _{p.f.} ⁻¹)	HS-100	0,92 a A ^{zy}	0,68 ns A	0,74 ns A	0,79 ab A
	OC-5	0,59 b	0,62	0,78	0,75 ab
	OC-10	0,54 b	0,65	0,73	0,83 a
	CS-250	0,66 b	0,64	0,71	0,73 ab
	CS-500	0,62 b	0,66	0,78	0,74 ab
	AP-50	0,57 b	0,61	0,72	0,76 ab
	AP-90	0,62 b	0,70	0,68	0,70 b
	HS-100 aire	0,80 A	0,64 A	0,75 A	0,64 B
Actividad antioxidante total (mg ET • g _{p.f.} ⁻¹)	HS-100	0,20 ns A	0,20 ns A	0,19 ns A	0,22 ns A
	OC-5	0,17	0,19	0,20	0,21
	OC-10	0,18	0,18	0,18	0,22
	CS-250	0,19	0,19	0,17	0,21
	CS-500	0,19	0,16	0,18	0,19
	AP-50	0,14	0,17	0,20	0,20
	AP-90	0,18	0,17	0,19	0,17
	HS-100 aire	0,20 A	0,20 A	0,22 A	0,20 A

^zLetras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas ($p < 0,05$) entre tratamientos. ns, no significativo.

^yLetras mayúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas ($p < 0,05$) entre tratamientos.

APÉNDICE II

Cuadro 1. Evolución de la tasa respiratoria de germinados de soya tratados con distintos sanitizantes y atmósfera modificada de alto oxígeno a 5 °C durante 11 días.

Tratamiento	Tasa respiratoria (mg CO ₂ ·kg ⁻¹ ·g ⁻¹)			
	Tiempo (días)			
	1	4	7	11
HS-100	79,9 a ^z	46,1 ns	52,1 a	20,2 ab
OC-5	71,6 ab	41,6	37,3 b	13,4 c
OC-10	65,2 b	40,2	42,0 ab	13,5 c
CS-250	65,8 b	41,0	44,8 ab	16,1 bc
CS-500	63,9 b	43,9	46,9 ab	26,0 a

^zLetras diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas ($p < 0,05$) entre tratamientos. ns, no significativo.

Cuadro 2. Composición de la atmósfera interna de las bolsas (% O₂ y % CO₂) de germinados de soya tratados con distintos sanitizantes y atmósfera modificada de alto oxígeno a 5 °C durante 11 días.

Tratamiento	Atmósfera interna (%)				
	Tiempo (días)				
	1	4	7	11	
O ₂	HS-100 aire	20,1 b ^z	19,7 b	19,8 b	19,3 b
	HS-100	77,1 a	67,3 a	49,6 a	30,9 ab
	OC-5	86,1 a	67,5 a	61,4 a	26,0 b
	OC-10	86,9 a	75,8 a	56,9 a	18,6 b
	CS-250	85,1 a	74,6 a	54,1 a	41,7 ab
	CS-500	85,8 a	75,9 a	59,2 a	50,2 a
CO ₂	HS-100 aire	0,5 b	1,0 b	1,3 b	2,0 b
	HS-100	4,1 a	13,7 a	23,9 a	49,6 a
	OC-5	4,4 a	13,8 a	26,2 a	56,3 a
	OC-10	4,2 a	12,9 a	28,9 a	56,2 a
	CS-250	4,1 a	11,8 a	24,3 a	43,4 a
	CS-500	3,7 a	11,3 a	23,3 a	37,0 a

^zLetras diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas ($p < 0,05$) entre tratamientos.

Cuadro 3. Evolución de los parámetros de color (luminosidad, saturación y tono) de germinados de soya tratados con distintos sanitizantes y atmósfera modificada de alto oxígeno a 5 °C durante 11 días.

		Color			
		Tiempo (días)			
	Tratamiento	1	4	7	11
Luminosidad (L)	HS-100	51,9 ns A ^{zy}	54,8 ns A	51,4 ns A	54,0 ns A
	OC-5	53,7	54,9	52,7	54,5
	OC-10	55,7	50,7	53,6	50,8
	CS-250	54,2	48,7	51,4	49,5
	CS-500	52,0	50,4	51,8	50,9
	HS-100 aire	49,8 A	55,2 A	54,4 A	51,0 A
Saturación (C*)	HS-100	8,0 ns A	8,2 ns A	7,6 ns B	8,8 ns B
	OC-5	8,3	7,8	9,3	9,7
	OC-10	8,8	7,2	9,1	10,5
	CS-250	7,2	7,9	7,6	8,4
	CS-500	6,9	7,0	7,5	8,0
	HS-100 aire	7,6 A	9,7 A	12,0 A	13,9 A
Tono (Hue°)	HS-100	99,0 a A	97,2 ns A	96,0 ns A	96,3 ns A
	OC-5	95,7 b	95,8	95,9	94,9
	OC-10	99,3 a	97,1	95,0	94,3
	CS-250	99,6 a	96,8	98,1	96,3
	CS-500	98,4 ab	98,7	96,6	97,5
	HS-100 aire	99,0 A	93,4 B	90,1 B	86,8 B

^z Letras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas ($p < 0,05$) entre tratamientos. ns, no significativo.

^y Letras mayúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas ($p < 0,05$) entre tratamientos.

Cuadro 4. Evaluación sensorial de la apariencia e intensidad de color de germinados de soya tratados con distintos sanitizantes y atmósfera modificada de alto oxígeno a 5 °C durante 11 días.

		Evaluación sensorial			
		Tiempo (días)			
	Tratamiento	1	4	7	11
Apariencia	HS-100	14,6 ns A ^{zy}	11,3 ns A	10,6 ns A	10,4 ns A
	OC-5	14,7	11,1	10,8	10,7
	OC-10	14,5	11,3	10,3	10,4
	CS-250	14,4	10,8	10,2	10,5
	CS-500	14,5	10,6	10,2	10,4
	HS-100 aire	14,5 A	8,9 B	3,5 B	0,9 B
Intensidad de color	HS-100	13,6 ns A	10,7 ns A	10,5 ns A	8,9 ns A
	OC-5	14,4	11,0	10,4	10,3
	OC-10	14,1	11,3	10,2	9,4
	CS-250	13,9	10,5	10,3	10,4
	CS-500	14,2	10,4	10,6	10,0
	HS-100 aire	12,6 A	9,7 A	3,8 B	0,65 B

^z Letras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas ($p < 0,05$) entre tratamientos. ns, no significativo.

^y Letras mayúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas ($p < 0,05$) entre tratamientos.

Cuadro 5. Contenido de fenoles totales y actividad antioxidante total de germinados de soya tratados con distintos sanitizantes y atmósfera modificada de alto oxígeno a 5 °C durante 11 días.

		Compuestos funcionales			
		Tiempo (días)			
	Tratamiento	1	4	7	11
Fenoles totales (mg EAG·g _{p.f.} ⁻¹)	HS-100	0,48 ns A ^{zy}	0,55 ns A	0,66 ns A	0,58 ns B
	OC-5	0,52	0,58	0,75	0,68
	OC-10	0,48	0,61	0,72	0,69
	CS-250	0,59	0,58	0,58	0,67
	CS-500	0,56	0,60	0,66	0,67
	HS-100 aire	0,50 A	0,51 A	0,69 A	0,73 A
Actividad antioxidante total (mg ET·g _{p.f.} ⁻¹)	HS-100	0,10 ns A	0,10 ns A	0,12 ns A	0,13 ns A
	OC-5	0,10	0,12	0,15	0,15
	OC-10	0,11	0,12	0,14	0,14
	CS-250	0,11	0,12	0,12	0,13
	CS-500	0,12	0,11	0,18	0,16
	HS-100 aire	0,11 A	0,14 A	0,13 A	0,14 A

^z Letras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas ($p < 0,05$) entre tratamientos. ns, no significativo.

^y Letras mayúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas ($p < 0,05$) entre tratamientos.

Cuadro 6. Evolución del contenido de azúcares expresado en glucosa de germinados de soya tratados con distintos sanitizantes y atmósfera modificada de alto oxígeno a 5 °C durante 11 días.

		Contenido de azúcares (mg azúcar·g_{p.f.}⁻¹)	
		Tiempo (días)	
	Tratamiento	1	11
	HS-100	12,9 ns A ^{zy}	5,8 ns A
	OC-5	13,5	5,8
	OC-10	13,1	4,6
	CS-250	14,8	6,4
	CS-500	13,4	6,1
	HS-100 aire	12,5 A	5,8 A

^z Letras minúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas ($p < 0,05$) entre tratamientos. ns, no significativo.

^y Letras mayúsculas diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas ($p < 0,05$) entre tratamientos.