



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSTGRADO

**EFFECTO COMBINADO DE LA LUZ UV-C Y ENVASES ACTIVOS
CON ANTIMICROBIANOS NATURALES SOBRE HOJAS DE
RÚCULA “BABY” (*Eruca sativa*).**

Tesis para optar al Grado de Magíster en Ciencias Agropecuarias,
Mención Producción Agroindustrial

RUTH ISABEL LUNA INCA

Directores de Tesis
CIELO DOLORES CHAR AUBRY
VÍCTOR HUGO ESCALONA CONTRERAS

Profesores Consejeros
JAIME GUILLERMO AUGER SAAVEDRA
SILVIA MATIACEVICH

Profesores Colaboradores
JAVIER OBANDO ULLOA
ANDREA HINOJOSA MORENO

SANTIAGO - CHILE
2014

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSTGRADO

EFFECTO COMBINADO DE LA LUZ UV-C Y ENVASES ACTIVOS CON
ANTIMICROBIANOS NATURALES SOBRE HOJAS DE RÚCULA “BABY” (*Eruca*
sativa)

Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al Grado de Magíster en Ciencias
Agropecuarias, Mención Producción Agroindustrial.

RUTH ISABEL LUNA INCA

Calificaciones

DIRECTORES DE TESIS

Cielo Dolores Char Aubry Aprobado
MSc., Dra., Bioquímica.

Víctor Hugo Escalona Contreras Aprobado
MSc., Dra., Agrónomo.

PROFESORES CONSEJEROS

Silvia Matiacevich Aprobado
MSc., Dra., Bioquímica.

Jaime Guillermo Auger Saavedra Aprobado
Msc. Ph.D. Agrónomo.

PROFESORES COLABORADORES

Javier Obando Ulloa
Andrea Hinojosa Moreno

Santiago, Chile
2014

AGRADECIMIENTO Y DEDICATORIA

Gracias a Dios por alcanzar un objetivo anhelado. Al proyecto SENESCYT (Ecuador), Fondecyt N° 1120274 y CONICYT (Chile), por los recursos invertidos en la capacitación del talento humano. A todos los que conformamos la familia del CEPOC. A Francisco, Bernardita, Julio y Beatriz por todo su amor y cariño que me hicieron sentir como en casa. A todos mis amigos que cuando estaba cansada me alentaron para continuar y aquellas personas que en el camino me enseñaron a realizar un mejor trabajo.

Dedicado a mi familia y a todos los que aspiramos a conquistar un reto más grande en la vida, y que cada día ponemos fe y actitud para alcanzarlo.

ÍNDICE

Índice de Contenido

	Pág.
RESUMEN GENERAL	i
ABSTRACT GENERAL	ii
A. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	1
1.1 PRODUCTOS MINIMAMENTE PROCESADOS EN FRESCO	2
1.1.1 Parámetros de calidad en los productos MPF	2
1.1.2 Compuestos funcionales en los productos MPF	3
1.2 TECNOLOGÍAS COMBINADAS DE PRESERVACIÓN	4
1.2.1 Envasado en atmósfera modificada pasiva	4
1.2.2 Envases activos	5
1.2.3 Antimicrobianos naturales	5
1.2.4 Luz UV-C	7
1.3 RÚCULA	8
B. HIPOTESIS DE TRABAJO	9
C. OBJETIVOS	9
CAPÍTULO I: EFECTO ANTIMICROBIANO DEL CITRAL APLICADO EN ENVASES ACTIVOS SOBRE LAS HOJAS RÚCULA “BABY”	10
RESUMEN	11
ABSTRACT	12
2.1 INTRODUCCIÓN	13
2.2 MATERIALES Y MÉTODOS	15
2.2.1 Lugar de estudio	15
2.2.2 Materiales	15
2.2.3 Metodología de proceso y tratamientos	15
2.2.4 Análisis y evaluaciones en hojas de rúcula “baby”	19
2.3 DISEÑO DE EXPERIMENTOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	22
2.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
2.4.1 Atmósfera modificada pasiva	23
2.4.2 Análisis microbiológico	25
2.4.3 Color	28
2.4.4 Evaluación sensorial	31
2.4.5 Compuestos funcionales	33
2.5 CONCLUSIONES	37
CAPITULO II: EFECTO ANTIMICROBIANO DEL CARVACROL APLICADO EN ENVASES ACTIVOS SOBRE LAS HOJAS DE RÚCULA “BABY”	38
RESUMEN	39
ABSTRACT	40
3.1 INTRODUCCIÓN	41
3.2 MATERIALES Y MÉTODOS	42
3.2.1 Lugar de estudio	42
3.2.2 Materiales	42
3.2.3 Metodología de proceso y tratamientos	42
3.2.4 Análisis y evaluaciones en hojas de rúcula “baby”	44

3.3	DISEÑO DE EXPERIMENTOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	45
3.4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
3.4.1	Atmósfera modificada pasiva	46
3.4.2	Análisis microbiológico	48
3.4.3	Color	51
3.4.4	Evaluación sensorial	53
3.4.5	Compuestos funcionales	55
3.5	CONCLUSIONES	58
	CAPITULO III: EFECTO COMBINADO DE LA LUZ UV-C Y ENVASES ACTIVOS CON CITRAL Y CARVACROL SOBRE HOJAS DE RÚCULA “BABY”	59
	RESUMEN	60
	ABSTRACT	61
4.1	INTRODUCCIÓN	62
4.2	MATERIALES Y MÉTODOS	64
4.2.1	Lugar de estudio	64
4.2.2	Materiales	64
4.2.3	Metodología de proceso y tratamientos	64
4.2.4	Análisis y evaluaciones en hojas de rúcula “baby”	66
4.3	DISEÑO DE EXPERIMENTOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	68
4.4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	69
4.4.1	Atmósfera modificada pasiva	69
4.4.2	Análisis microbiológico	71
4.4.3	Color	75
4.4.4	Evaluación sensorial	77
4.4.5	Compuestos funcionales	80
4.5	CONCLUSIONES	85
D.	CONCLUSIONES GENERALES	86
E.	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	87

Índice de Cuadros

		Pág.
Cuadro 2.1.	Tratamientos con diferentes dosis de citral aplicados en hojas de rúcula “baby”.	17
Cuadro 2.2.	Medios de cultivo y condiciones de incubación para microorganismos en hojas de rúcula “baby”.	19
Cuadro 3.1.	Tratamientos con diferentes dosis de carvacrol aplicados en hojas de rúcula “baby”.	42
Cuadro 4.1.	Tratamientos de luz UV-C y diferentes dosis de antimicrobianos naturales en hojas de rúcula “baby”.	66

Índice de Figuras

		Pág.
Figura 2.1.	Estructura química del citral.	14
Figura 2.2.	Lavado, desinfección y enjuague.	16
Figura 2.3.	Centrifugado y secado	17
Figura 2.4.	Incorporación del “sachet”.	17
Figura 2.5.	Diagrama de procesamiento de hojas de rúcula “baby” envasadas en una bolsa con “sachet” de citral.	18
Figura 2.6.	Medición de la atmósfera modificada pasiva	19
Figura 2.7.	Determinación de color.	20
Figura 2.8.	Evolución de la concentración de CO ₂ (A) y de O ₂ (B) en hojas de rúcula “baby” conservada en envases activos con citral, durante 9 días a 5°C.	25
Figura 2.9.	Recuento de aerobios mesófilos en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con citral, durante 9 días a 5°C.	25
Figura 2.10.	Recuento de enterobacterias en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con citral, durante 9 días a 5°C.	26
Figura 2.11.	Recuento de psicrótrofos en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con citral, durante 9 días a 5°C.	27
Figura 2.12.	Evaluación de los parámetros de color L* _{ab} (A), C*(B) y H _{ab} (C) en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con citral, durante 9 días a 5°C.	30
Figura 2.13.	Diferencia global de color en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con citral, durante 9 días a 5°C.	31
Figura 2.14.	Evaluación del contenido de fenoles totales en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con citral, durante 9 días a 5°C.	34
Figura 2.15.	Evaluación de la capacidad antioxidante en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con citral, durante 9 días a 5°C.	35
Figura 3.1.	Estructura química del carvacrol.	41
Figura 3.2.	Diagrama de procesamiento de hojas de rúcula “baby” envasadas en una bolsa con “sachet” de carvacrol.	42
Figura 3.3.	Evolución de la concentración de CO ₂ (A) y de O ₂ (B) en hojas de rúcula “baby” conservada en envases activos con carvacrol, durante 9 días a 5°C.	47
Figura 3.4.	Recuento de aerobios mesófilos en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con carvacrol, durante 9 días a 5°C.	48
Figura 3.5.	Recuento de enterobacterias en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con carvacrol, durante 9 días a 5°C.	49
Figura 3.6.	Recuento de psicrótrofos en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con carvacrol, durante 9 días a 5°C.	50
Figura 3.7.	Evaluación de los parámetros de color L* _{ab} (A), C*(B) y H _{ab} (C) en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con carvacrol, durante 9 días a 5°C.	52
Figura 3.8.	Diferencia global de color en hojas de rúcula “baby” conservadas en	53

	envases activos con carvacrol, durante 9 días a 5°C.	
Figura 3.9.	Evaluación del contenido de fenoles totales en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con carvacrol, durante 9 días a 5°C.	55
Figura 3.10.	Evaluación de la capacidad antioxidante en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con carvacrol, durante 9 días a 5°C.	56
Figura 4.1.	Diagrama de procesamiento de hojas de rúcula “baby” en combinación de luz UV-C y envases activos con citral y carvacrol.	65
Figura 4.2.	Aplicación de luz UV-C	66
Figura 4.3.	Evolución de la concentración de CO ₂ (A) y consumo de O ₂ (B) en bolsas de rúcula “baby” almacenadas en envases activos con antimicrobianos naturales y UV-C, durante 9 días a 5°C.	70
Figura 4.3.	Recuento de aerobios mesófilos en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con antimicrobianos naturales y UV-C, durante 9 días a 5°C.	71
Figura 4.5.	Recuento de enterobacterias en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con antimicrobianos naturales y UV-C, durante 9 días a 5°C.	72
Figura 4.6.	Recuento de <i>E.coli</i> en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con antimicrobianos naturales y UV-C, durante 9 días a 5°C.	73
Figura 4.7.	Recuento de psicrótrofos en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con antimicrobianos naturales y UV-C, durante 9 días a 5°C.	74
Figura 4.8.	Evaluación de los parámetros de color L _{ab} [*] (A), C [*] (B) y H _{ab} (C) en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con antimicrobianos naturales y UV-C, durante 9 días a 5°C.	76
Figura 4.9.	Evaluación de la variación global del color en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con antimicrobianos naturales y UVC, durante 9 días a 5°C.	77
Figura 4.10.	Variación del color en el transcurso del tiempo de hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con antimicrobianos naturales y UV-C, durante 9 días a 5°C.	79
Figura 4.10.	Evaluación del contenido de fenoles totales en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con antimicrobianos naturales y UV-C, durante 9 días a 5°C.	81
Figura 4.12.	Evolución de la capacidad antioxidante mediante ensayo DPPH [*] en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con antimicrobianos naturales y UV-C, durante 9 días a 5°C.	82
Figura 4.13.	Evolución de la capacidad antioxidante mediante ensayo FRAP en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con antimicrobianos naturales y UV-C, durante 9 días a 5°C.	83
Figura 4.14.	Concentración de vitamina-C en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con antimicrobianos naturales y UV-C, durante 9 días a 5°C.	84

Anexos

	Pág.
Anexo I. Evaluación sensorial “rúcula baby”.	97
Anexo II. Diseño de un envases para hoja de rúcula “baby”.	98
Anexo III. Nueva propuesta de Norma establecida por el Reglamento Sanitario N° 977/96, para frutas y otros vegetales comestibles pre-elaborados, listos para el consumo.	99

Apéndices

	Pág.
APÉNDICE 1. Ensayo 1	100
APÉNDICE 2. Ensayo 2	108
APÉNDICE 2. Ensayo 3	116

RESUMEN GENERAL

En los últimos años se ha incrementado la demanda de productos mínimamente procesadas en fresco, existiendo una real necesidad de encontrar alternativas de conservación que eviten el uso de antimicrobianos sintéticos. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de envases activos con distintas concentraciones de antimicrobianos naturales (cital y carvacrol) y posteriormente, combinar la luz UV-C (10 kJm^{-2}) utilizada como pretratamiento, con los envases activos seleccionados, sobre rúcula “baby” (*Eruca sativa*). La concentración atmosférica al interior de las bolsas (CO_2 y O_2) no se vio afectada por las dosis de citral (Ci: 100, 150 y 350 μL) ni de carvacrol (Ca: 75, 100 y 150 μL) evaluadas. El efecto antimicrobiano del citral fue positivo sólo en los 3 primeros días de conservación; mientras que la mayor inhibición microbiológica se logró con el tratamiento 75 Ca. El color de la rúcula en los envases activos no presentó variación entre tratamientos con el tiempo; sin embargo, el testigo BP tendió a mostrar hojas más claras. El contenido fenólico y la capacidad antioxidante no fue afectado por el citral; mientras que los tratamientos 75 y 100 Ca presentaron un mayor contenido fenólico y capacidad antioxidante respecto del control. El último ensayo combinó UV-C con los envases activos con las dosis seleccionadas de antimicrobianos (150 Ci; 75 Ca; mezcla 150 Ci + 75 Ca). La concentración de O_2 disminuyó rápidamente y visualmente las hojas no fueron afectadas. La aplicación de UV-C con la mezcla de antimicrobianos resultó ser más efectiva para reducir microorganismos aerobios mesófilos, enterobacterias y psicrótrofos. El contenido de fenoles y la vitamina C no se vieron afectados por los tratamientos, a diferencia de la capacidad antioxidante que disminuyó. Los envases activos con antimicrobianos naturales y el UV-C, podrían aportar como una técnica de métodos combinados innovadora para retrasar el crecimiento microbiano, manteniendo el color verde en ensaladas de rúcula “baby”.

Atmósfera modificada, Carvacrol, Citral, Cuarta gama, Fenoles.

ABSTRACT

In recent years, the demand for minimally processed fresh products has increased and there is a real need to find preservation alternatives that avoid the use of synthetic antimicrobials. The aim of this study was to evaluate the effect of active packaging with different concentrations of natural antimicrobials (citral and carvacrol) and then to combine the UV-C light (10 kJ m^{-2}) used as pre-treatment, with the selected active packages on baby arugula (*Eruca sativa*). The atmospheric concentration inside the bags (CO_2 and O_2) was not affected by the evaluated doses of citral (Ci: 100, 150 and 350 μL) or carvacrol (Ca: 75, 100 and 150 μL). The antimicrobial effect of citral was positive only in the first 3 days of storage, while most microbiological inhibition was achieved with 75 Ca treatment. The color of arugula in active packaging showed no variation between treatments over time, but the control (BP) tended to show clear leaves. The phenolic content and antioxidant activity were not affected by citral, while the 75 and 100 Ca treatments had a higher phenolic content and antioxidant capacity compared to the control. The last test combined UV-C with active packaging with selected antimicrobial doses (150 Ci; 75 Ca; mix 75 150 Ci + Ca). The O_2 concentration decreased rapidly and visually the leaves were not affected. The application of UV-C with the mixture of antimicrobials was more effective in reducing aerobic mesophilic and psychrotrophic microorganisms and enterobacteria. The content of phenols and vitamin C were not affected by the treatments, unlike antioxidant activity which decreased. Active packaging with natural antimicrobials and UV-C could contribute as an innovative technique of combined methods to retard microbial growth, maintaining the green color of baby arugula salads.

Modified atmosphere, Carvacrol, Citral, Fourth range, Phenols.

A. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 PRODUCTOS MÍNIMAMENTE PROCESADOS EN FRESCO

Una parte importante de las vitaminas y minerales de la dieta proviene del consumo de frutas y hortalizas. Hay evidencias de que el consumo de estos productos apoya el alivio de muchas enfermedades degenerativas como las cardiovasculares, el cáncer y el envejecimiento. El crecimiento de la industria de productos mínimamente procesados en fresco (MPF) se debe a esta creciente demanda de alimentos frescos, saludables y convenientes (Klein, 1987; Kaur y Kapoor, 2001).

Los productos MPF consisten en frutas y hortalizas preparadas y manipuladas mediante operaciones simples como el lavado, cortado, rallado o picado (Escalona *et al.*, 2008). Las técnicas de mínimo proceso han surgido para hacer frente al desafío de reemplazar los métodos tradicionales de preservación, y a la vez conservar la calidad nutricional y sensorial (Artes, 2006).

Es bien conocido, que el tratamiento de hortalizas promueve un deterioro más rápido debido a los cambios fisiológicos, bioquímicos y degradación microbiana del producto, incluso cuando se utilizan procesamientos ligeros, que pueden resultar en la degradación del color, textura y sabor (Abadias *et al.*, 2008).

1.1.1 Parámetros de calidad en los productos MPF

Los productos hortofrutícolas, desde su cosecha hasta que llegan al consumidor, son fácilmente atacados por microorganismos. La población dominante de bacterias durante el almacenamiento son principalmente especies del género *Pseudomonas* y enterobacterias (Ragaert *et al.*, 2007).

Los productos MPF, se deterioran mucho más rápido que los productos intactos o enteros, como resultado de heridas asociadas al procesamiento, el cual conduce a numerosos cambios físicos y fisiológicos. La vida útil de hortalizas mínimamente procesadas, generalmente, no supera los 8 días cuando se almacenan en condiciones adecuadas (Allende y Artés, 2003a).

Durante la senescencia en postcosecha, los pigmentos de clorofila verde se oxidan en sustancias incoloras que revelan los carotenoides amarillos (Toivonen y Brummell, 2008). La senescencia se lleva a cabo en todas las hojas después de la cosecha, pero a un ritmo diferente. Es así que en una bandeja de rúcula silvestre se encuentra una gran variabilidad biológica, donde las hojas tienen diferentes edades y pueden tener diferentes contenidos de clorofila (Koukounaras *et al.*, 2007).

La calidad de los productos MPF percibida por el consumidor es una combinación de parámetros que incluyen la apariencia, textura, sabor y valor nutricional. La importancia relativa de cada parámetro de calidad depende de la materia prima o el producto y si se come fresco (con o sin modificadores del sabor, tales como aderezos y salsas) o cocido (Kader, 2002).

Cuando el panel de jueces evalúa la calidad se basan en aspectos visuales como: el tamaño, forma, color, brillo, ausencia de defectos y pudriciones. Sin embargo, las compras

posteriores dependen de la satisfacción del consumidor en cuanto a la textura, frescura y el sabor del producto (Kader, 2002).

1.1.2 Compuestos funcionales en los productos MPF

Los alimentos frescos contienen compuestos antioxidantes, compuestos fenólicos y otros compuestos fitoquímicos que juegan un rol relevante en la nutrición y en la salud humana para la prevención del cáncer, enfermedades cardiovasculares y otras patologías de carácter inflamatorio, debiéndose evitar su pérdida durante el proceso y manipulación (Torales *et al.*, 2010).

Los antioxidantes son sustancias que presentan la propiedad de inhibir las alteraciones oxidativas que puede sufrir una molécula. Todas las moléculas presentes en la naturaleza son blancos potenciales de daño, formándose en el organismo especies reactivas, tales como radicales libres oxigenados, radicales de anión superóxido o alquil peróxido (Sotero *et al.*, 2009). Entre los principales antioxidantes de vegetales se encuentran los compuestos fenólicos, especialmente flavonoides, ácido ascórbico, vitamina E, tocoferoles y carotenoides (Krinsky, 2001).

Los compuestos fenólicos constituyen uno de los grupos de micronutrientes presentes en el reino vegetal considerados metabolitos secundarios, englobando más de 8.000 compuestos distintos que se caracterizan por presentar en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos, como por ejemplo, los flavanoles, flavonoles, chalconas, flavonas, flavanonas, isoflavonas, taninos, estilbenos, curcuminoides, ácidos fenólicos, coumarinas, lignanos, entre otros (Martínez *et al.*, 2000; Cai *et al.*, 2006).

La vitamina C, que incluye el L-ácido ascórbico y, su producto, el ácido dehidroascórbico, presenta muchas actividades biológicas en el cuerpo humano. Franke *et al.* (2004) manifiesta que la vitamina C puede reducir los niveles de proteína C-reactiva (CRP), un marcador de la inflamación y, posiblemente, un factor de predicción de la enfermedad cardíaca. En la dieta humana, más del 85% de la vitamina C se obtiene a partir de frutas y hortalizas (Lee y Kader, 2000).

En relación con la función biológica del L-ácido ascórbico, se puede indicar que éste actúa como un cofactor enzimático, eliminador de radicales libres, y como donante/aceptor en el transporte de electrones en la membrana plasmática (Davey *et al.*, 2000).

Los glucosinolatos (β -tioglucósido-*N*-hydroxysulfates), precursores de los isotiocianatos, han sido conocidos por sus propiedades fungicidas, bactericidas, nematocidas y alelopáticas, y recientemente han atraído el interés científico debido a sus atributos quimioprotectores contra el cáncer. Numerosas investigaciones se han ocupado de la presencia de glucosinolatos en los vegetales, principalmente de la familia *Brassicaceae* (syn. crucíferas, incluyendo *Brassica* spp. y *Raphanus* spp.) (Fahey *et al.*, 2001).

1.2 TECNOLOGÍAS COMBINADAS DE PRESERVACIÓN

El objetivo de las tecnologías combinadas, también llamadas tecnologías de obstáculos, es seleccionar y combinar factores de preservación o barreras de forma tal que la estabilidad y seguridad microbiológica puedan ser garantizadas, reteniendo las características sensoriales y nutricionales (Leistner, 1992).

Este método usa varias barreras que separadamente pueden no dar una adecuada preservación, pero que cuando se las combina pueden brindar la protección necesaria. Las barreras pueden incluir la disminución de la temperatura, pH empacado en atmósferas modificadas, empacado con antimicrobianos o la aplicación de UV-C (Leistner, 1992).

1.2.1 Envasado en atmósfera modificada pasiva

Los efectos beneficiosos del envasado en atmósfera modificada para MPF se ha revisado extensamente, la técnica de envasado en atmósfera modificada pasiva (AMP) consiste en envasar los productos alimenticios en materiales con barrera a la difusión de los gases, donde las bajas presiones parciales de O_2 y C_2H_4 y/o elevadas de CO_2 y vapor de agua frenan el metabolismo, reducen la transpiración, retrasan el deterioro fisiológico, microbiano y enzimático alargando la vida útil del producto (Artés, 2006).

En el envasado en AMP los vegetales frescos continúan sus procesos metabólicos, lo cual provoca una modificación de la atmósfera a su alrededor. Esta modificación se lleva a cabo pasivamente por efecto de la respiración natural del producto y la permeabilidad a los gases del material de envase empleado (Artés *et al.*, 2006).

El equilibrio en la concentración de los gases se logra después de un determinado tiempo, dependiendo de los requerimientos del producto vegetal y la permeabilidad, los cuales están en función de la temperatura y humedad relativa de almacenamiento. Cuando se alcanza el equilibrio, las concentraciones de gases pueden variar entre 2-8% de O_2 y 3-8% de CO_2 (Meneses *et al.*, 2008).

Se ha observado que estas concentraciones son eficaces para ampliar la vida útil de varias hortalizas retrasando los procesos de maduración y de senescencia, tales como la degradación de la clorofila, ablandamiento, pardeamiento enzimático y disminución de los síntomas de daño por frío (Artés, 2006). Sin embargo, cuando las hortalizas se exponen a concentraciones inferiores a 1% de O_2 y superiores al 20% de CO_2 se incrementa la respiración anaeróbica con la consecuente acumulación de etanol y acetaldehído, causando malos sabores y olores (Escalona *et al.*, 2008).

Koukounaras *et al.* (2007) indicó que en rúcula, la clorofila es la que presenta una mayor sensibilidad a la degradación después de la cosecha, lo cual trae como resultado el amarillamiento de las hojas. Esta reacción se pudo retrasar con la aplicación de bajas temperaturas durante el almacenamiento, demostrando que las hojas de rúcula se pueden almacenar con éxito a $0^\circ C$, hasta un máximo de 16 días. Por otro lado, demostró que a $5^\circ C$ se observó un ligero deterioro en la calidad, y la vida útil se redujo a 13 días, mientras que a $10^\circ C$ la vida útil fue sólo de 8 días.

La tecnología AMP suprime el crecimiento de la flora microbiana dependiendo de las características intrínsecas de los vegetales, tales como pH, alta actividad de agua, tasa respiratoria y contenido nutricional (Arvanitoyannis *et al.*, 2011).

1.2.2 Envases activos

El reglamento del Consejo Europeo (2009) establece que los envases activos son los materiales y objetos destinados a prolongar la vida útil o a mantener el estado del alimento envasado, y que están diseñados para incorporar intencionalmente componentes que liberan sustancias en el envase o absorben sustancias del alimento o de su entorno. Por otro lado Ozdemir y Floros (2004), también definen a los envases activos como un sistema inteligente que implica interacciones entre los componentes del envase y los alimentos o la atmósfera interna, cumpliendo con las exigencias del consumidor de mantener la alta calidad, fresca y seguridad del producto.

Ejemplos de envases activos incluyen absorbedores de oxígeno, de humedad, emisores o absorbedores de dióxido de carbono, absorbedores de etileno, emisores de etanol, sistemas de liberación de sabor, indicadores de tiempo y temperatura y controladores antimicrobianos (Labuza and Breene, 2007).

El envasado con antimicrobiano es una forma de envase activo y puede tomar varias formas como: la incorporación de agentes antimicrobianos volátiles y no volátiles directamente en polímeros, el revestimiento de antimicrobianos en superficies poliméricas, inmovilización de los agentes antimicrobianos a los polímeros por enlaces iónicos o covalentes, y la adición de sobres, bolsitas o almohadillas que contienen agentes antimicrobianos (Appendini y Hotchkiss, 2002).

1.2.3 Antimicrobianos naturales

Los antimicrobianos naturales son sustancias que se obtienen o derivan de materiales o procesos biológicos y que al añadirlo a los alimentos inhiben o afectan el crecimiento microbiano, conservando los alimentos por más tiempo (Dorman y Deans, 2008; Torres, 2004).

Pueden clasificarse según su origen en animal, microbiano y vegetal. Los de origen animal incluyen proteínas, enzimas líticas como la lisozima, las hidrolasas y los polisacáridos como el quitosano. Los grupos de origen microbiano incluyen compuestos producidos por microorganismos como nisina, lactocinas, carnocina, entre otros (Beuchat y Scouten, 2002). Los de origen vegetal son aceites esenciales líquidos, aceitosos, aromáticos y volátiles. Este grupo incluye compuestos fenólicos provenientes de cortezas, tallos, hojas, flores; ácidos orgánicos presentes en frutos y fitoalexinas producidas por las plantas (Oussalah *et al.*, 2007).

1.2.3.1 Aceites esenciales

Actualmente los aceites esenciales (AE) de plantas son reconocidos como seguros por la Food and Drug Administration (FDA) y muestran un amplio espectro de actividad antimicrobiana para el control de bacterias asociadas a los MPF (Gutiérrez *et al.*, 2009).

Las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales han sido empíricamente reconocidas desde hace siglos, pero sólo recientemente llamó la atención en postcosecha, puesto que su actividad antimicrobiana se ha comprobado contra un amplio rango de bacterias y hongos (Ayala *et al.*, 2005). Muchos estudios *in vitro* informan de una alta eficacia de AE contra los patógenos transmitidos por los alimentos y bacterias de deterioro (Dorman y Deans, 2008).

Raybaudi (2007) señala que los compuestos fenólicos de los AE sensibilizan la membrana celular de las bacterias y al saturarse los sitios de acción provocan que esta colapse, ocasionando así un daño irreversible. Los aspectos que pueden influir en la sensibilidad bacteriana son las propiedades intrínsecas de los alimentos (contenido de agua, proteína, grasa, antioxidantes, conservantes, pH, sal y otros aditivos) así como los factores extrínsecos (temperatura, características de envasado, microorganismos) (Gutiérrez *et al.*, 2008).

Sin embargo, se ha demostrado que se necesita una mayor concentración de AE para lograr el mismo efecto en los alimentos que en los sistemas modelo (Burt, 2004). Para que los aceites esenciales puedan ser aplicados ampliamente como agentes antibacterianos, se debe considerar el impacto organoléptico, ya que puede alterar el sabor de los alimentos (Nazer *et al.*, 2005).

Estudios con productos cárnicos, leche, productos lácteos, hortalizas, frutas y arroz cocido han demostrado que la concentración necesaria para lograr un efecto antibacteriano significativo con aceites esenciales es de alrededor de 0,5-20 $\mu\text{L g}^{-1}$ en alimentos y sobre 0,1-10 $\mu\text{L mL}^{-1}$ cuando se lo utiliza en soluciones para el lavado de frutas y hortalizas (Burt, 2004).

Citral

El Citral es un monoterpenoide volátil que contiene un grupo aldehído y un fuerte aroma a limón. Es el principal componente de la planta “lemongrass” (Karagözlü *et al.*, 2011). El “lemongrass” (*Cymbopogon citratus*) es una hierba perenne, perteneciente a la familia de las *Poaceae*. Es reconocida como una de las plantas medicinales más usadas en América Latina por sus múltiples usos terapéuticos y su agradable aroma a limón (Alvis *et al.*, 2012). Por otra parte, citral ha sido aprobado por la FDA (GRAS, 21 CFR 182 hasta 60) y también registrada por la Comisión Europea para su uso como saborizante en alimentos ya que su uso no presenta riesgo para la salud del consumidor (Burt, 2004).

La actividad antimicrobiana del aceite de limón y citral ha sido probada en las ensaladas a base de frutas, entre otros tipos de alimentos (Belletti *et al.*, 2008; Char *et al.*, 2010a). Estudios realizados *in vitro* por Somolinos *et al.* (2010) demuestran que la exposición a 200

$\mu\text{L L}^{-1}$ de citral provocó la inactivación en más de 5 ciclos log de células de *Escherichia coli* a partir de un inóculo inicial de 7 log UFC mL^{-1} .

Lanciotti *et al.* (2004) señalan que los aceites esenciales de cítricos constituyen herramientas para mejorar la vida útil y la seguridad de productos mínimamente procesados. Además, sus estudios demuestran que el uso de citral, citronelal y eugenol en ensaladas de frutas aumentaron la vida de útil y redujeron el crecimiento microbiano.

Carvacrol

El carvacrol posee un grupo hidroxilo en el anillo fenólico y constituye hasta el 80% del aceite esencial del orégano (*Origanum vulgare*), también aprobado por la FDA (Milos *et al.*, 2000; Burt 2004). García (2005) determinó que concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de 100 a 160 mL L^{-1} de carvacrol fueron efectivas contra *Listeria innocua* y *Salmonella typhimurium*.

Gutiérrez *et al.* (2009) señalan que los aceites esenciales de plantas como el orégano (*O. vulgare*) y tomillo (*Thymus vulgaris*) fueron eficientes para el control de la microflora natural de trozos de lechugas y discos de zanahorias mínimamente procesados. En dicho estudio, los tratamientos aplicados consistieron en dos soluciones aplicadas durante la etapa de lavado: 250 mL L^{-1} de orégano y la combinación mixta de 125 mL L^{-1} de orégano con 250 mL L^{-1} de tomillo. Los resultados de ambas soluciones mostraron una descontaminación comparable a la obtenida con el cloro (120 mL L^{-1}) y una buena aceptabilidad organoléptica en los trozos de zanahoria.

Muriel *et al.* (2013) desarrollaron envases para ensaladas mínimamente procesadas incorporando sustancias activas de antimicrobianos naturales a las películas plásticas. Las bolsas se fabricaron con una película de polipropileno y un copolímero de alcohol etílico-vinílico (PP/EVOH), incorporando una concentración conocida (7,5% p/p) de aceite esencial de orégano (AEO). Los resultados demostraron un aumento en la resistencia a la tracción de las películas plásticas y una reducción en el recuento de microorganismos, especialmente al comienzo del período de conservación. Las muestras de aceites esenciales de orégano redujeron el contenido inicial de enterobacterias en 1,38 log UFC g^{-1} , con respecto al testigo cuya carga inicial fue de 4,98 log UFC g^{-1} .

1.2.4 Luz UV-C

Dentro de las nuevas alternativas como método de desinfección para frutas y hortalizas se presenta la radiación no-ionizante UV-C, por ser un proceso que posee destacadas ventajas: no afecta significativamente la temperatura del producto, no deja residuos químicos ni radioactividad residual en el producto, no tiene restricciones legales, el costo es relativamente bajo y es eficiente para inhibir el crecimiento de bacterias, hongos y levaduras.

Con excepción de las bacterias fotosintéticas la mayoría de los microorganismos muestran susceptibilidad al daño de luz UV-C. Se ha informado que dosis de 0,5 a 20 kJ m^{-2} inhiben el crecimiento microbiano mediante la inducción de la formación de dímeros de pirimidina

que distorsionan la hélice de ADN, llegando a causar su muerte celular, sin alterar la estructura de las células vegetales (Char *et al.*, 2010b).

La luz ultravioleta también induce estrés biológico en plantas y desencadena mecanismos de defensa en los tejidos con la consiguiente producción de fitoalexinas. La acumulación de fitoalexinas podría ir acompañada de otros cambios inducibles, tales como la modificación de la pared celular, activación de enzimas y aumento de la actividad antioxidante, que se han reportado como beneficiosos para la salud (González *et al.*, 2007).

Varios estudios indican que la combinación de envasado en atmósferas modificadas (EAM) con luz UV-C en lechugas mínimamente procesadas, redujeron el contenido de bacterias coliformes y psicrotróficas; al igual que retardaron el crecimiento de levaduras sin afectar negativamente su calidad sensorial (Allende y Artés, 2003a).

1.3 LA RÚCULA

La búsqueda de nuevas formas y tamaños de hojas obliga a variar la oferta en los mercados, ya que hoy se exige hojas que van desde los 8 a 9 cm, a las cuales se les denomina hojas “baby” o “baby leaf”, tomando relevancia en el sector de las ensaladas tipo gourmet al proporcionar un sabor menos intenso que los productos de hojas adultas, es así como actualmente crece la demanda por el consumo de rúcula “baby” (Navarro *et al.*, 2010).

La rúcula (*Eruca sativa*) es un tipo de hortaliza perteneciente a la familia de las Brassicaceas, originaria del oeste asiático y de la cuenca del Mediterráneo (De Wolf *et al.*, 1987). Esta hortaliza se caracteriza por ser una planta semierguida, muy ramificada cuyas hojas son verdes, sus flores están agrupadas en racimos blancos o amarillos, de aroma picante y sabor amargo agradable (Barillari *et al.*, 2005).

Entre sus componentes se distingue una cantidad apreciable de fibra, un contenido alto de calcio, manganeso, hierro y potasio, lo que sugiere que su consumo diario puede contribuir en un porcentaje alto a los requerimientos diarios de estos minerales. También posee vitamina C, pro-vitamina A, triptófano y propiedades diuréticas y digestivas (Bennett *et al.*, 2004). La combinación de hierro y vitamina C le proporciona cualidades contra la anemia, mientras que las sustancias amargas (glucosinatos) estimulan las secreciones digestivas (Martínez *et al.*, 2006). Los glucosinolatos, particularmente glucorafanin, en el proceso de absorción alimenticio induce a la formación de sustancias desintoxicantes y antioxidantes y, por otra parte, ejerce un efecto directo antibiótico sobre *Helicobacter pylori*, el agente etiológico de la úlcera y la gastritis (Fahey *et al.*, 2001).

B. HIPÓTESIS DE TRABAJO

La combinación de tratamientos de luz UV-C y envases activos con los antimicrobianos naturales citral y carvacrol retardan el desarrollo microbiano en hojas de rúcula “baby” (*Eruca sativa* var. Vitale) sin perjudicar su calidad sensorial y funcional.

C. OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar el efecto combinado de la radiación UV-C y envases activos con antimicrobianos naturales sobre la calidad microbiológica, sensorial y funcional en hojas de rúcula “baby” (*Eruca sativa*).

Objetivos específicos

- Determinar concentraciones antimicrobianas de citral y carvacrol aplicadas en envases activos sobre hojas de rúcula “baby” y conservadas en refrigeración.
- Combinar el efecto de luz UV-C y envases activos con las mejores concentraciones de antimicrobianos naturales.
- Evaluar el efecto de los tratamientos sobre el contenido de compuestos bioactivos y la calidad sensorial de las hojas de rúcula “baby”.

**CAPITULO I: EFECTO ANTIMICROBIANO DEL CITRAL
APLICADO EN ENVASES ACTIVOS SOBRE LAS HOJAS DE
RÚCULA “BABY”**

RESUMEN

En los últimos años se ha incrementado en gran medida la demanda de productos mínimamente procesadas en fresco o listos para consumir, por los beneficios que éstas otorgan a la salud del consumidor. Sin embargo, estos productos pierden calidad principalmente por la deshidratación superficial, disminución del color verde y ataque microbiológico. El objetivo del presente trabajo fue combinar la técnica de envasado en atmósfera modificada pasiva (AMP) y compuestos antimicrobianos naturales para formar envases activos evaluando tres dosis de citral (150, 300, 450 μL) sobre rúcula “baby” (*Eruca sativa*). Se estudió el efecto de la atmósfera modificada, la calidad sensorial y microbiológica, así como el color, el contenido de fenoles y capacidad antioxidante de las hojas durante un periodo de conservación de 9 días a 5°C. Los resultados mostraron que la evolución de la concentración atmósfera (CO_2 y O_2) no se vio afectada por la aplicación de las diferentes dosis de citral y el efecto antimicrobiano fue positivo sólo en los 3 primeros días de conservación. El contenido fenólico totales se mantuvo al finalizar el tiempo de conservación en los tratamientos en AMP y la capacidad antioxidante no se vio afectada por la aplicación de diferentes dosis de citral.

Abstract

In recent years the demand for ready to eat "baby" arugula salads (*Eruca sativa* Mill) has greatly increased, due to the benefits it provides to the health. However, minimally processed fresh products are perishable products. Quality loss is mainly due to the surface dehydration, loss of green color and microbial proliferation. The aim of this study was to combine the technique of passive modified atmosphere packaging (PMA) and natural antimicrobials to make an active packaging, evaluating three doses (150, 300, 450 μL) of citral. The effect of the modified atmosphere, sensory and microbiological quality, color, phenolic content and antioxidant capacity was studied for 9 days at 5 ° C. The results showed that the evolution of the concentration of the atmospheric gases (CO_2 and O_2) was not affected by the application of the different doses of citral and the antimicrobial effect was positive only in the first 3 days of storage. The total phenolic content was maintained at the end of the shelf in the treatments AMP and antioxidant capacity was not affected by the application of different doses of citral.

2.1 INTRODUCCIÓN

En países desarrollados los consumidores de hoy han cambiado en la decisión de compra debido a varios factores, tales como: mayor poder adquisitivo, variedad de productos, menor tiempo para cocinar y, principalmente por una mayor información. Como respuesta a esto surge la creciente oferta en los mercados de productos mínimamente procesados en fresco (MPF), llamados también de IV gama (Artés *et al.*, 2006).

Los productos MPF se deterioran más rápidamente que los productos intactos o enteros y la vida útil de las hortalizas mínimamente procesadas, generalmente, no supera los 8 días (Escalona *et al.*, 2008). Dentro de los factores que generan la pérdida de calidad está el microbiológico, que supone un riesgo para el consumidor debido a la posible presencia de microorganismos patógenos o sus toxinas, además de pérdidas económicas causadas por la alteración (Raybaudi, 2007).

Los agentes antimicrobianos sintéticos como las zeolitas de plata son los más usados para incluir en polímeros usados como material de empaque, principalmente en Japón. Sin embargo, éstos presentan migración al alimento, existiendo una fuerte necesidad de reducir los posibles efectos secundarios perjudiciales y comprender mejor los principios del agente activo. Por este motivo, durante los últimos años varias investigaciones se han dedicado al diseño de envases antimicrobianos que contengan agentes antimicrobianos naturales (Appendini y Hotchkiss, 2002; Dainelli *et al.*, 2008).

Por otro lado, evidencias científicas demuestran que el uso de aditivos químicos en exceso en diversas matrices alimenticias, es la causa de ciertas enfermedades degenerativas y que a largo plazo pueden producir cáncer. Es así que, en respuesta a la presión de los consumidores para reducir o eliminar los aditivos de síntesis química surge el interés por usar compuestos naturales y por investigar nuevas técnicas que permitan la obtención de productos frescos de calidad e inocuos (Gilliss *et al.*, 2011; Xu *et al.*, 2007).

Actualmente, se está difundiendo la aplicación de antimicrobianos naturales procedentes de aceites esenciales de plantas, reconocidos como seguros por la Food and Drug Administration (FDA). Estos muestran un amplio espectro para el control de microorganismos patógenos y bacterias deteriorantes que se asocian a los productos MPF (Gutiérrez *et al.*, 2009). Los aceites esenciales de especias y plantas disminuyen significativamente los recuentos de bacterias patógenas de los alimentos (Burt, 2004).

La combinación del envasado en atmósfera modificada pasiva (AMP) y envases activos con antimicrobianos es una alternativa posible para mejorar la calidad, la seguridad y la vida útil de los productos de este tipo, en el que los agentes antimicrobianos añadidos dentro del envase se liberan ejerciendo su actividad sobre el producto envasado (Martínez *et al.*, 2006).

El citral (3,7-dimetil.2,6-octadienal) es el principal componente (65-85%) de los aceites esenciales (AE) de la planta “lemongrass” (*Cymbopogon citratus*) y tiene una probada actividad antimicrobiana., Constituye una mezcla natural de dos isómeros aldehídos

monoterpenos acíclicos: geranial (trans-citral, citral A) y neral (cis-citral, citral B) (Celis *et al.*, 2007; Carlini *et al.*, 1986), cuyas estructuras se muestran en la Figura 2.1.

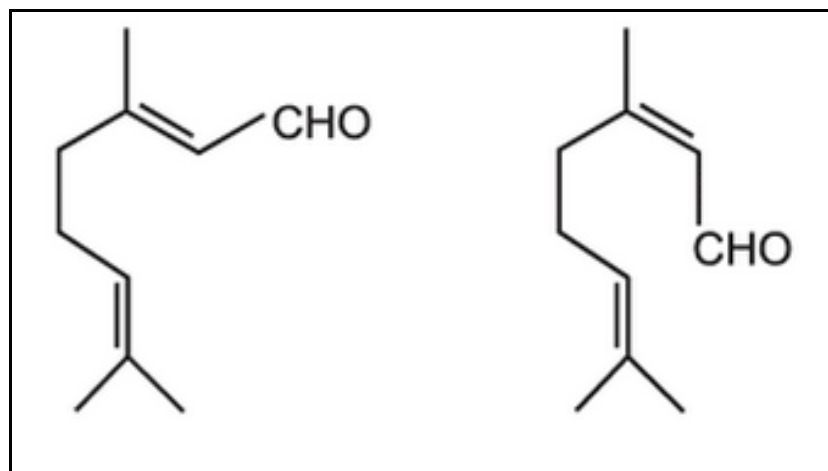


Figura 2.1. Estructura química del citral.

Belletti *et al.* (2008) indica que el citral fue efectivo para la inhibición del crecimiento de levaduras y bacterias ácido lácticas en ensaladas de frutas. En otro estudio sobre películas activas con citral se observó una disminución de microorganismos, principalmente durante los primeros 4 días de conservación a 4°C, presentando reducciones de 2,13 log UFC g⁻¹ de enterobacterias, 1,23 log UFC g⁻¹ de aerobios mesófilos y aproximadamente 2 log UFC g⁻¹ de levaduras y hongos (Muriel *et al.*, 2013).

Asimismo, es importante tener presente la necesidad de una mayor investigación sobre los aceites esenciales para establecer la posibilidad de su uso como agentes desinfectantes naturales en el procesamiento posterior a la cosecha de hortalizas (Burt, 2004).

Por lo expuesto, surge la necesidad de investigar ampliamente el efecto del antimicrobiano natural citral en hojas de rúcula “baby” envasadas en atmósfera modificada pasiva (AMP), para desarrollar un sistema de envase activo que alargue el tiempo de vida útil de un producto MPF, sin afectar la salud del consumidor.

2.2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.1 Lugar de estudio

El ensayo y las evaluaciones se realizaron en el Centro de Estudios Postcosecha (CEPOC) de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, localizados en la Av. Santa Rosa 11315, La Pintana, Región Metropolitana (R.M.).

La investigación fue financiada con los proyectos Fondecyt N° 1120274 “Innovations on hydroponic and post harvest technologies applied on the production of ready to eat baby leafy vegetables” y el proyecto CONICYT- Inserción de Capital Humano Avanzado en la Academia, 2010, Ref. N° 79100005.

2.2.2 Materiales

Se utilizaron hojas de rúcula “baby” (*Eruca sativa* var. Vitale), suministradas por la Sociedad Agrícola Oasis de Lampa Ltda., localizada en la comuna de Lampa, provincia de Chacabuco, R.M. Este lugar está geográficamente ubicado a 33° 16' 60" lat. Sur, 70° 54' long. Oeste y 753 msnm.

El sistema de cultivo fue por siembra directa y bajo invernadero. Para el riego se utilizó agua de pozo profundo aplicada a través de riego por goteo. La cosecha se realizó en agosto de 2012, aproximadamente 30 días después de la siembra, durante la mañana, de forma manual con un cuchillo. La caracterización de las hojas dio como resultado valores promedio de 0,58 g de peso, 11,8 cm de largo y 4,0 cm de ancho. Las hojas presentaron un color con un valor de luminosidad promedio de 49,4 con una saturación equivalente a 30,2 y de tono de 123,0 (Apéndice 1, Cuadro 1.1).

El citral utilizado fue provisto por MERCK Chile S.A. con una pureza de 99%. Las hojas de rúcula se envasaron en bolsas de 22 x 25 cm, empleándose una película de multicapa de poliolefina (PD-960 Sealed Air) (CRYOVAC-Chile), cuya permeabilidad a 23°C y a 1 atm fue de 6000 mL m⁻² día⁻¹ para O₂ y 19000 mL m⁻² día⁻¹ para CO₂.

El “sachet” impregnado con el antimicrobiano se preparó con papel de filtro estéril de 4 x 8 cm marca Macherey Nagel equivalente a Whatman N° 6 y, fue introducido en pequeñas bolsas perforadas de polipropileno de alta permeabilidad (6 perforaciones de 0,5 cm de diámetro).

2.2.3 Metodología de proceso y tratamientos

2.2.3.1 Recolección

Luego de la cosecha, las hojas de rúcula se trasladaron en contenedores refrigerados desde el huerto a la cámara de refrigeración del CEPOC, permaneciendo un máximo de 2 horas a 5°C y 90% de humedad relativa.

2.2.3.2 Acondicionamiento

El acondicionamiento de las hojas se realizó en una sala de proceso previamente desinfectada y mantenida a 8°C. En esta sala se seleccionaron las hojas de rúcula “baby”, eliminando aquellas con tamaños y colores no característicos (amarillas u otros), poca turgencia (deshidratadas) y daños físicos (manchas, cortes). También se eliminaron los tallos gruesos o muy largos mediante un corte manual con cuchillo de filo liso.

2.2.3.3 Almacenamiento

Tras la selección, las hojas fueron almacenadas 12 h a 5°C y 90% de humedad relativa. Se tomó 50 g de materia prima respectivamente, para caracterizar el peso, tamaño y color inicial.

2.2.3.4 Lavado, desinfección y enjuague

Las hojas se lavaron con agua potable a 5°C mediante inmersión y agitación constante durante 90 segundos, a fin de retirar cualquier material extraño. Luego, la materia prima se desinfectó con agua clorada a una concentración de 100 mg L⁻¹ de hipoclorito de sodio (NaClO, pH 6,6) a 5°C durante 90 segundos (Inostroza, 2011). Finalmente, las hojas fueron enjuagadas con agua estéril a 5°C por 90 segundos para evitar una posible contaminación (Figura 2.2). En las diferentes etapas de lavado se utilizaron 20 L de agua/kg de producto.



Figura 2.2. Lavado, desinfección y enjuague.

2.2.3.5 Centrifugado y secado

Una vez finalizado el lavado, las hojas fueron centrifugadas de forma manual durante 50 segundos. Posteriormente, se colocaron sobre una malla de acero inoxidable durante 5 min para su secado (Figura 2.3). Estos procedimientos fueron similares para todos los tratamientos y sus repeticiones.



Figura 2.3. Centrifugado y secado.

2.2.3.6 Envasado

Se procedió a pesar y envasar 50 g de hojas de rúcula en las bolsas plásticas, para cada tratamiento y repetición, respectivamente. Las hojas para el tratamiento BP fueron envasadas en bolsas perforadas (7 perforaciones de 0,7 mm de diámetro); mientras que para los demás tratamientos se utilizaron bolsas sin perforación.

2.2.3.7 Incorporación del “sachet”

En los tratamientos 150Ci, 300Ci y 450Ci (Cuadro 2.1) se dosificó el citral en el “sachet” a través de las perforaciones realizadas en condiciones de esterilidad, por medio de un mechero Bunsen. El “sachet” se fijó con una cinta adhesiva al espacio de cabeza de las bolsas, evitando el contacto directo con las hojas (Figura 2.4). Las diferentes dosis de citral se establecieron en base a experimentos preliminares.

Cuadro 2.1. Tratamientos con diferentes dosis de citral aplicados en hojas de rúcula “baby”.

Envasado	Concentración Citral (μL)	Código de tratamientos
BP (testigo)	0	BP
AMP (testigo)	0	AMP
AMP	150	150 Ci
AMP	300	300 Ci
AMP	450	450 Ci

BP: Bolsa perforada.; AMP: Atmósfera modificada pasiva.; Ci: Citral.



Figura 2.4. Incorporación del “sachet”.

2.2.3.8 Conservación

Tras el envasado e incorporación del “sachet” las bolsas se sellaron con una envasadora (Máquina Plaspak, BC/01, Chile). Se conservaron durante 9 días a 5°C (Figura 2.5).

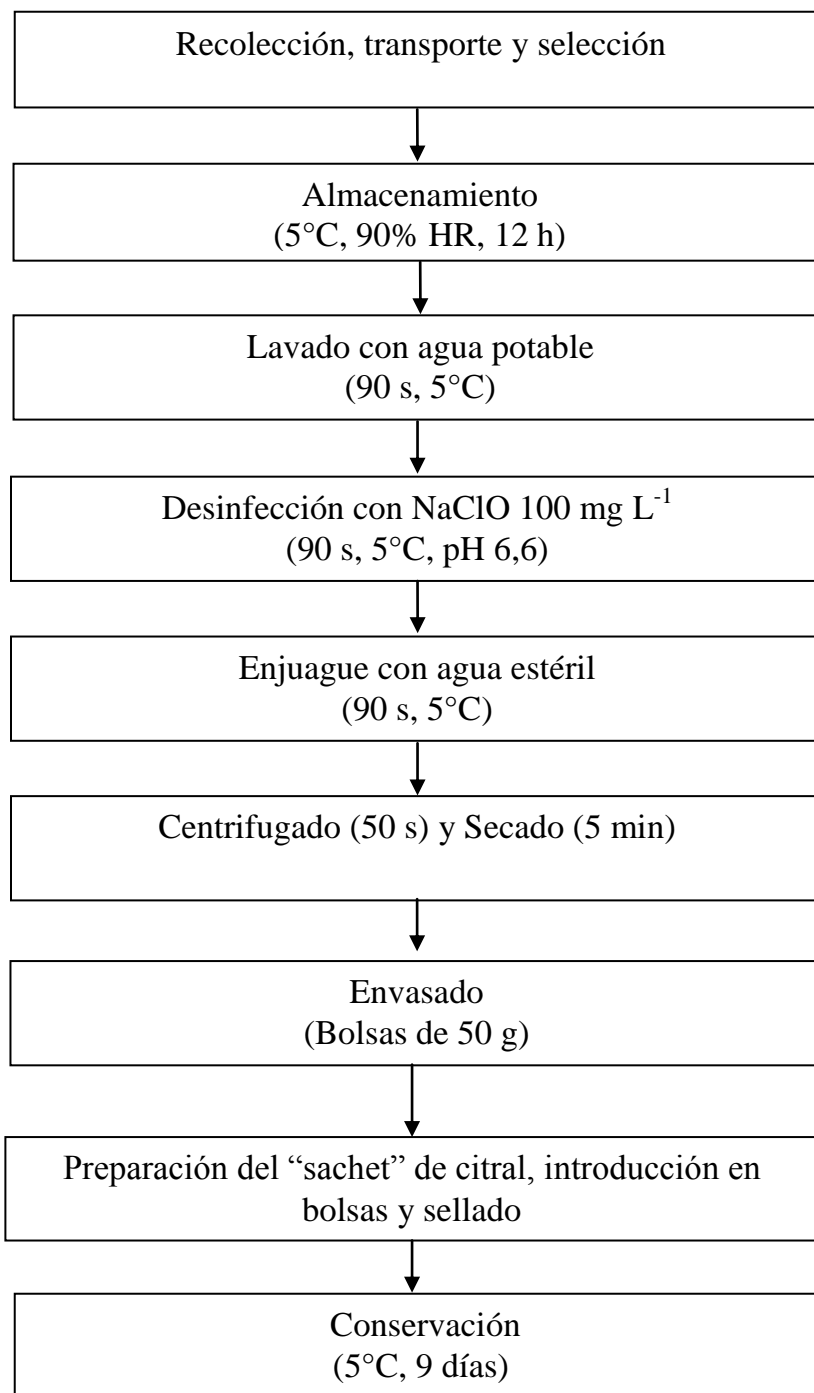


Figura 2.5. Diagrama de procesamiento de hojas de rúcula “baby” envasadas en una bolsa con “sachet” de citral.

2.2.4 Análisis y evaluaciones en hojas de rúcula “baby”

2.2.4.1 Atmósfera modificada pasiva

La evolución de la concentración de CO₂ y O₂ al interior de cada bolsa se determinó con un analizador de gases manual (Checkpoint, PBI Dansensor, Ringsted, Dinamarca) y los valores se expresaron como porcentaje de CO₂ y O₂. Para la toma de las muestras gaseosas se pegó un trozo de cinta adhesiva sobre la superficie de la bolsa y se pinchó con la aguja del analizador una sola vez. Se registró el valor entregado y se procedió a sellar el orificio con cinta adhesiva (Figura 2.6). En caso de que alguna bolsa presentara concentraciones de gases no concordantes con la evolución esperada, se prosiguió a eliminarla asumiendo posibles perforaciones o fallas en el sellado de la bolsa. Esta medición se realizó los días 0, 3, 6 y 9 posteriores al proceso.



Figura 2.6. Medición de la atmósfera modificada pasiva.

2.2.4.2 Análisis microbiológico

Para el análisis de la calidad microbiológica, se muestrearon 10 g de rúcula “baby” de cada tratamiento y repetición los días 0, 3, 6 y 9. La muestra se mezcló con 90 mL de agua peptonada tamponada estéril al 0,1% y se homogenizó en un digestor stomacher (IUL Instruments Barcelona, España) durante un minuto. En el Cuadro 2.2 se exponen los microorganismos, medios de cultivo y condiciones de incubación aplicados en el análisis.

Cuadro 2.2. Medios de cultivo y condiciones de incubación para microorganismos en hojas de rúcula “baby”.

Microorganismo	Medio de cultivo	Condiciones de Incubación	
		Temperatura (°C)	Tiempo (días)
Recuento de aerobios mesófilos (RAM)	Agar para Recuento en Placa (PCA)	37	2
Aerobios psicrótrofos	Agar para Recuento en Placa (PCA)	5	7
Enterobacterias	Agar Eosina Azul de Metileno (EMB)	37	2
<i>Escherichia coli</i>	Agar Eosina Azul de Metileno (EMB)	37	2

Luego se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-6} de acuerdo a lo necesario para cada recuento y siguiendo las recomendaciones de Char *et al.* (2012). Posteriormente, se pusieron en placas de Petri y se vertieron los medios de cultivo correspondientes.

Los resultados de los recuentos microbiológicos se expresaron como el logaritmo de la unidad formadora de colonia por gramo ($\log \text{UFC g}^{-1}$). Los parámetros microbiológicos se evaluaron de acuerdo con la legislación chilena para frutas y hortalizas comestibles pre-elaborado listas para el consumo (Reglamento Sanitario D.S. N° 977/96, 2012; Anexo III).

2.2.4.3 Color

Para medir este parámetro se tomaron 10 hojas de rúcula “baby” de cada bolsa por tratamiento y repetición (Artés *et al.*, 2006). El color se midió en la zona anversa de la hoja utilizando un colorímetro compacto triestímulo (Minolta, CR-300, Japón) bajo un fondo negro para evitar interferencia del color (Figura 2.7). Los parámetros de color se obtuvieron de forma automática para un luminante D_{65} y un ángulo observador de 0° . Los parámetros del espacio CIEL_{ab} evaluados fueron luminosidad (L^*_{ab}), croma métrica o saturación (C^*_{ab}) y tono (H^*_{ab}). También se calculó la variación de color global (ΔE_{00}) utilizando las ecuaciones propuestas por Sharma *et al.* (2005).



Figura 2.7. Determinación de color.

2.2.4.4 Determinación de la calidad sensorial

En cada ensayo se determinó la calidad sensorial a los días 0, 3, 6 y 9 de conservación. Se utilizó el método de análisis descriptivo-cuantitativo para un panel de 12 jueces entrenados, y se usó una pauta no estructurada de 0 a 15 cm (Anexo I). Cinco muestras correspondientes a los tratamientos fueron entregadas a cada juez, aleatoriamente y de forma codificada en 3 dígitos. El panel evaluó la apariencia, el color, olores extraños, turgencia y sabores extraños.

2.2.4.5 Compuestos funcionales

Contenido de fenoles totales

Para la determinación del contenido de fenoles totales se congelaron de 10 g de rúcula “baby” a -80°C , por cada tratamiento y repetición para su posterior análisis. Se utilizó el método propuesto por Singleton y Rossi (1965), con algunas modificaciones. Para la preparación del extracto fenólico se pesó 1 g de muestra y se mezcló con 10 mL de solución hidroalcohólica MeOH/H₂O (1:2) (v/v).

Luego, la solución se homogenizó utilizando un Ultra Turrax (IKA, T 18 Basic, Alemania) a 6000 g_n por 1 min. La mezcla fue colocada en tubos Eppendorf ámbar (2 mL) y centrifugada a 15000 g_n por 30 min a 4°C . El sobrenadante se filtró con papel Whatman N° 2 y se recogió en tubos Eppendorf nuevos.

La concentración de fenoles totales se determinó utilizando el reactivo Folin-Ciocalteu, midiendo la absorbancia de las muestras a 660 nm con un espectrofotómetro (T70 UV-Vis, PG Instruments Ltd, Leicester, Reino Unido). Los resultados se expresaron como μg equivalentes de ácido gálico por g de peso fresco ($\mu\text{g EAG g}^{-1}$ pf), realizando una curva de calibración.

Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se midió siguiendo la metodología de Brand *et al.* (1995), con algunas modificaciones. El método se basa en la reducción del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo hidratado (DPPH^{*}), siendo un radical estable que presenta una intensa coloración violeta y que absorbe a 515 nm. Una disminución de la absorbancia se traduce en una disminución de la concentración de DPPH^{*} por acción de los posibles compuestos antioxidantes que se encuentran en el extracto metanólico.

Para la obtención de la muestra se pesaron 5 g de hojas de rúcula “baby” congeladas, se mezcló con 25 mL MeOH puro y se homogenizó 2 min a alta velocidad (Ultra Turrax, IKA, T 18 Basic, Alemania). El homogenizado se incubó 12 h a 5°C . Posteriormente, se centrifugó 15 min a 10000 g_n y 4°C .

El sobrenadante se filtró con 4 capas de gasa y se almacenó en tubos Eppendorf ámbar a -20°C hasta su análisis por espectrofotometría, en máximo 48 horas. Se midió la absorbancia a 515 nm y los resultados se expresaron en μg equivalente de Trolox por g de peso fresco ($\mu\text{g T g}^{-1}$ pf).

2.3 DISEÑO DE EXPERIMENTOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado (DCA) con cinco tratamientos y tres repeticiones. La unidad experimental correspondió a una bolsa de 50 g de hojas de rúcula “baby”.

Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) con un 5% de significancia, y en caso de existir diferencias significativas entre los tratamientos se aplicaron pruebas de comparaciones múltiples de Tukey mediante el software estadístico InfoStat (versión 2008, Grupo InfoStat, FCA, Argentina). Las variables a evaluar fueron la concentración de gases al interior de las bolsas, el color de las hojas, la calidad sensorial, los recuentos microbiológicos, el contenido de fenoles y la actividad antioxidante. Se realizó correlación de compuestos funcionales para determinar relación o dependencia.

2.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.4.1 Atmósfera modificada pasiva

En la Figura 2.8 se muestra la evolución de la concentración de gases (CO_2 y O_2) al interior de las bolsas de rúcula "baby", mostrando un aumento de CO_2 y una disminución del O_2 con respecto al primer día de almacenamiento, causada por la respiración de los tejidos vegetales. Sin embargo, el tratamiento testigo bolsa perforada (BP) presentó una concentración constante de CO_2 (aprox. de 1 %) y O_2 (aprox. de 20 %), debido al intercambio presentado con la atmósfera externa de aire.

En el día 0 la concentración de CO_2 en todos los tratamientos estuvo entre 0,2 a 0,4 %. Al finalizar el tiempo de conservación la concentración de CO_2 presentó una tendencia similar al día 3 y 6. El tratamiento BP presentó un porcentaje de 0,8 de CO_2 , valor significativamente menor con respecto a los tratamientos en AMP, los que presentaron promedios entre 4,8 y 5,4 %, sin diferencias significativas entre sí. Lo que indica que la aplicación de citral en hojas de rúcula "baby" no afectó la concentración atmosférica del envase (Apéndice 1, Cuadro 1.2).

Con respecto al O_2 , en el día 0 presentó una concentración entre 20,3 a 20,5 %. No obstante, a partir del tercer día de almacenamiento, se observó una disminución en su concentración, encontrándose diferencias significativas entre el tratamiento testigo BP con respecto a los tratamientos en AMP. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos AMP, lo que podría indicar que la utilización de diferentes dosis de citral no tuvo efecto sobre la concentración de O_2 (Apéndice 1, Cuadro 1.3.).

De acuerdo con Kader (2002) para una adecuada conservación de hortalizas como espinaca, perejil y cilantro, la concentración atmosférica debería fluctuar entre 5 y 10% de CO_2 y 5 a 8% de O_2 . Del mismo modo, Guevara (2003) ratifica que la aplicación de atmósfera modificada pasiva en tallos frescos de nopal, redujeron significativamente las pérdidas de clorofila, peso y textura, así como la disminución de recuentos microbianos cuando se presentó una atmósfera de 7% de CO_2 y 8,9% de O_2 , en un almacenamiento de 35 días a 5°C.

Sin embargo, el desarrollo de la composición gaseosa alcanzada en este estudio fue similar a lo señalado por Inostroza (2011), quien obtuvo concentraciones entre 5,5 a 10,2% de CO_2 y 12,9% de O_2 a los 8 días de almacenamiento de hojas de rúcula.

Si bien las películas plásticas de baja permeabilidad utilizadas en el estudio modificaron la atmósfera al interior del envase, éstas no lograron la concentración gaseosa recomendada por diferentes autores, principalmente en O_2 , posiblemente porque se necesitaría un tiempo de conservación más largo para alcanzar una atmósfera de equilibrio, lo cual se lograría controlando la interacción entre la respiración del producto, la permeabilidad del polímero y la atmósfera externa (Artés, 2006). Sin embargo, existen otros factores como la variedad, tipo de cultivo, estado fisiológico inicial, temperatura, HR y duración del almacenamiento que deben ser estudiados más profundamente (Artés *et al.*, 2006).

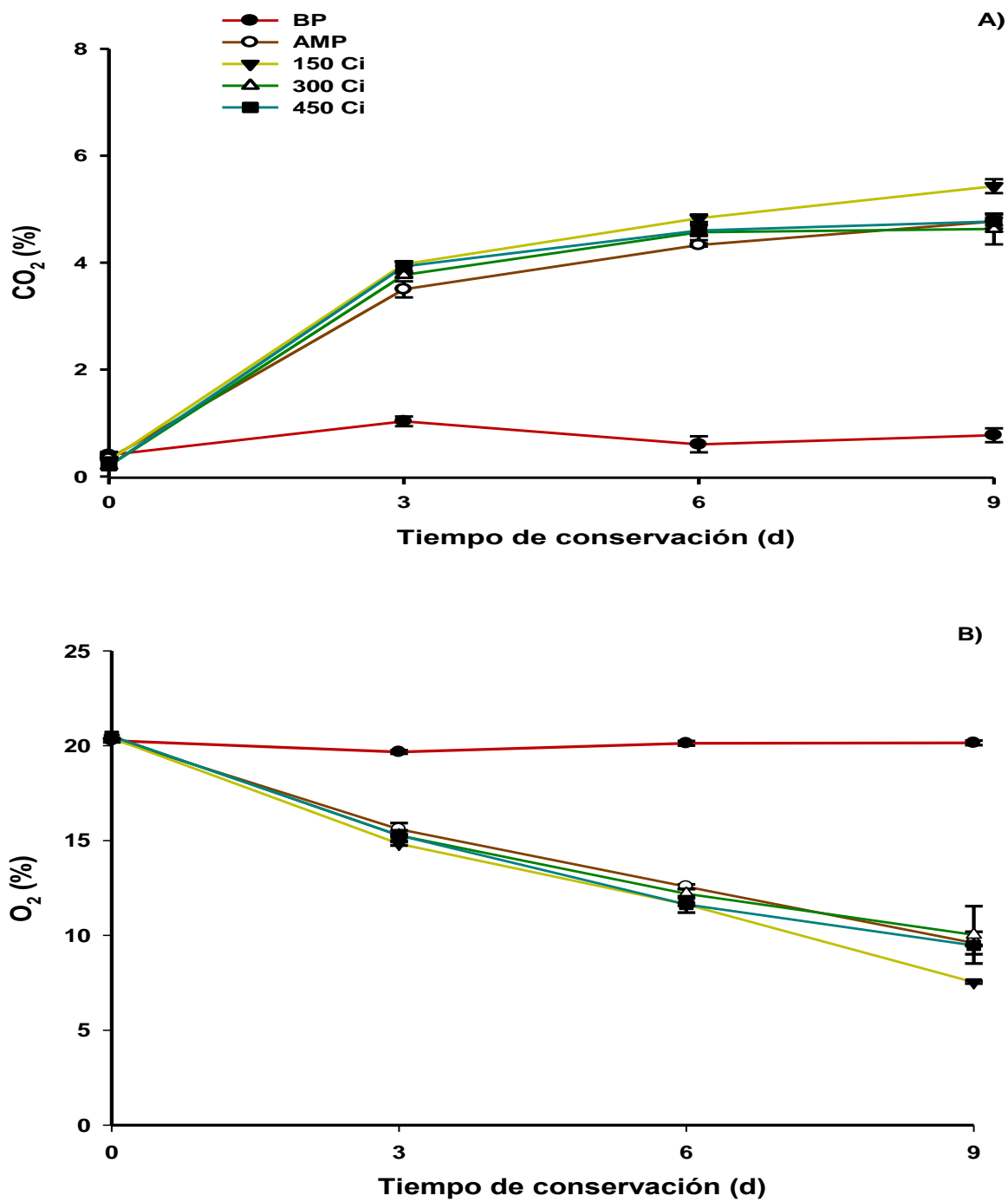


Figura 2.8. Evolución de la concentración de CO₂ (A) y de O₂ (B) en hojas de rúcula “baby” conservada en envases activos con citral, durante 9 días a 5°C.

2.4.2 Análisis microbiológico

2.4.2.1 Recuento de aerobios mesófilos

En el tiempo de conservación, los tratamientos con citral presentaron un aumento en el recuento de RAM. Sin embargo, esta tendencia no es observable para los tratamientos testigo (BP y AMP) como se muestra en la Figura 2.9.

En el día 0 no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos AMP. Sin embargo, se presentaron diferencias significativas entre el tratamiento 150 Ci con respecto al tratamiento testigo BP, observándose una disminución de 1,5 unidades logarítmicas con el tratamiento 150 Ci (Apéndice 1, Cuadro 1.4.). No obstante, todos los tratamientos iniciaron con valores de aerobios mesófilos dentro de los límites propuestos Reglamento Sanitario de los Alimentos (D.S. N° 977/2012; Anexo III).

A los 3 días de almacenamiento los tratamientos 150, 300 y 450 Ci presentaron reducciones de 1,1; 0,9 y 1,3 unidades logarítmicas, respectivamente, con relación al tratamiento testigo BP (Apéndice 1, Cuadro 1.4).

El día 6, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos testigo BP y AMP, presentando un recuento de 6,4 log UFC g⁻¹. Los tratamientos con citral presentaron recuentos significativamente mayores con respecto a los testigos, principalmente 150 y 450 Ci; con recuentos entre 7,2 a 7,5 log UFC g⁻¹.

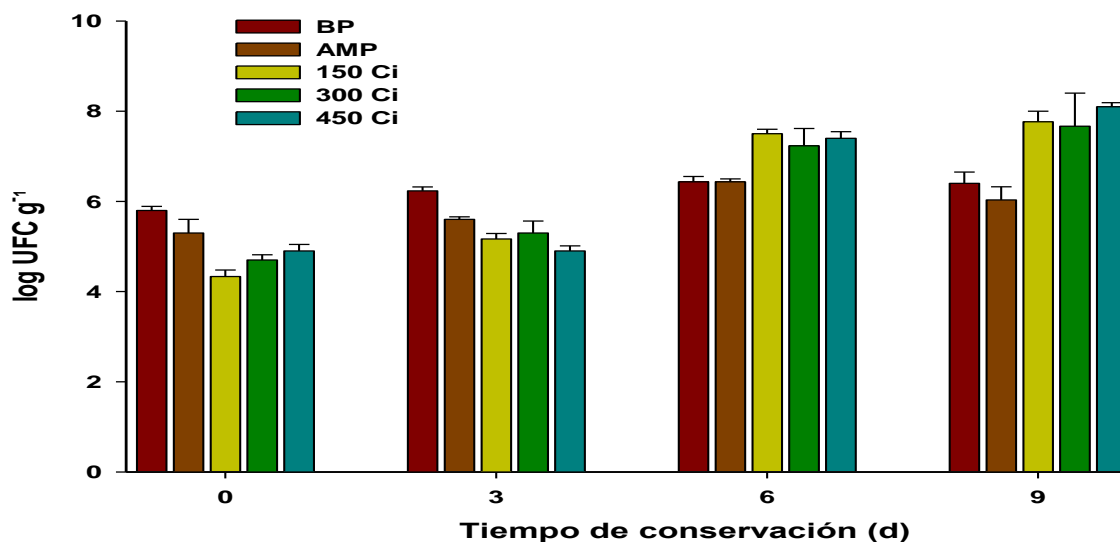


Figura 2.9. Recuento de aerobios mesófilos en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con citral, durante 9 días a 5°C.

Similar al día 6, al noveno día de almacenamiento no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos testigo BP y AMP, y entre los tratamientos con citral. Sin embargo, el recuento en 450 Ci fue significativamente mayor con respecto a los

testigos. Es importante destacar que los tratamientos con citral a partir del día 6 superaron los límites microbiológicos propuestos por el Reglamento Sanitario de los Alimentos (D.S. N° 977/2012; Anexo III).

2.4.2.2 Recuento de enterobacterias

Durante el tiempo de conservación el contenido de enterobacterias en los tratamientos testigos permaneció estable, sin embargo, el tratamiento AMP presentó una disminución en el noveno día. Los tratamientos con citral presentaron un incremento en los días 3 y 6, siendo estable en el día 9, a diferencia del tratamiento 150 Ci (Figura 2.10).

En el día 0 el tratamiento testigo BP presentó un recuento ($6,5 \log \text{ UFC g}^{-1}$) significativamente mayor con respecto a los tratamientos en AMP, superando desde este día los límites microbiológicos propuestos por el Reglamento Sanitario de los Alimentos (D.S. N° 977/2012; Anexo III). Los tratamientos AMP no presentaron diferencias significativas entre sí, alcanzando recuentos entre $4,3$ a $5,1 \log \text{ UFC g}^{-1}$ (Anexo III, Apéndice1, Cuadro 1.5).

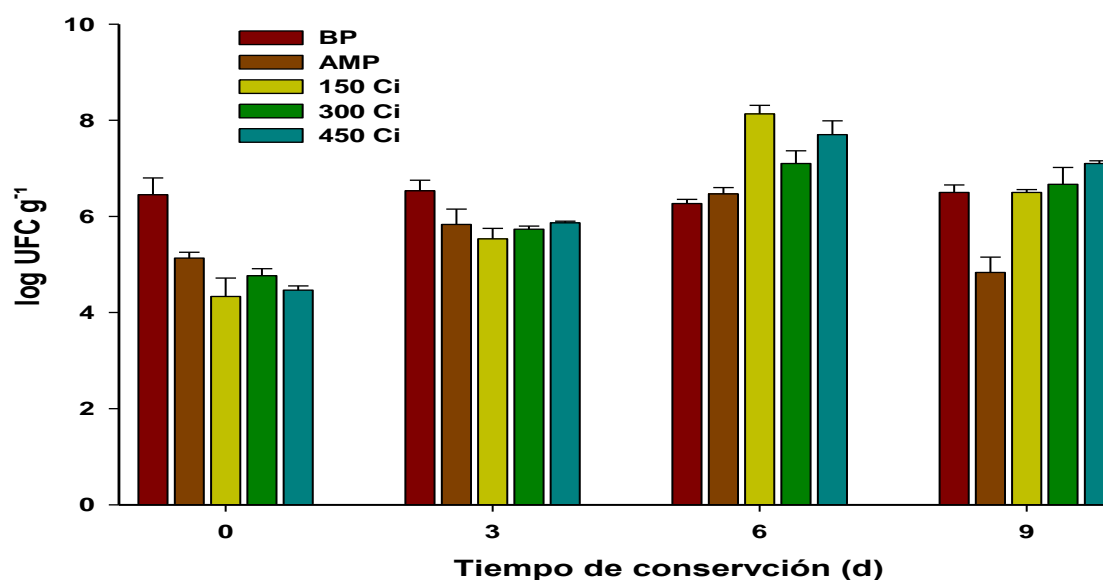


Figura 2.10. Recuento de enterobacterias en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con citral, durante 9 días a 5°C.

El día 3, el tratamiento 150 Ci presentó un recuento significativamente menor con respecto al tratamiento testigo BP. Tras 6 días de conservación los tratamientos con la aplicación de citral presentaron recuentos significativamente mayores con respecto a los tratamientos testigos, alcanzando valores entre $7,1$ a $8,1 \log \text{ UFC g}^{-1}$ (Apéndice1, Cuadro 1.5).

Al noveno día de conservación el tratamiento testigo AMP presentó recuentos significativamente menores con respecto a los demás tratamientos, los mismos que no presentaron diferencias significativas entre sí, alcanzando valores entre $6,5$ a $7,1 \log \text{ UFC g}^{-1}$.

¹. No obstante, a partir del día 3 todos los tratamientos superaron los límites propuestos en el Reglamento Sanitario de los Alimentos (D.S. N° 977/2012; Anexo III).

2.4.2.3 Recuento de aerobios psicrótrofos

En el tiempo de conservación los niveles de aerobios psicrótrofos de los tratamientos mostraron un comportamiento similar a las enterobacterias; es decir, el tratamiento testigo BP no presentó variabilidad en el tiempo y los tratamientos en AMP y aceites esenciales aumentaron con respecto a los recuentos iniciales del proceso.

De igual forma que en el recuento de RAM, en el día 0 no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos AMP. Sin embargo, se observaron diferencias significativas entre el tratamiento 150 Ci con respecto al tratamiento testigo BP, alcanzando disminuciones de 1,5 unidades logarítmicas con el tratamiento 150 Ci (Apéndice 1, Cuadro 1.6).

Los días 3, 6 y 9 de conservación no presentaron diferencias significativas entre tratamientos, a diferencia del tratamiento 150 Ci que en el día 6 presentó recuentos significativamente mayores con respecto a los testigos BP y AMP (Apéndice 1, Cuadro 1.6).

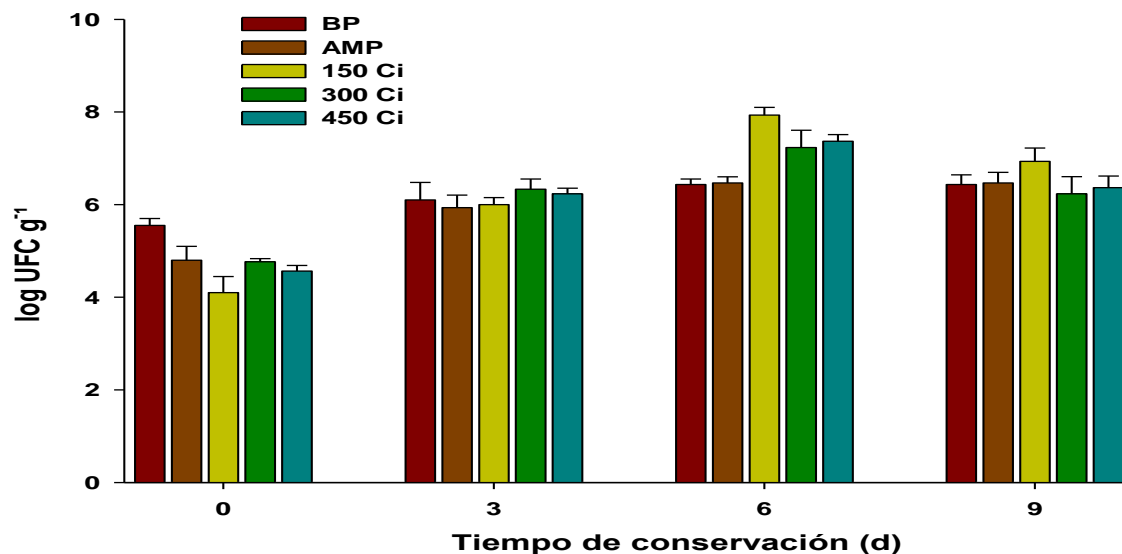


Figura 2.11. Recuento de psicrótrofos en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con citral, durante 9 días a 5°C.

Muriel *et al.* (2012) en ensayos con hortalizas envasadas en atmósfera modificada (EAM) usaron películas de PP/EVOH con aceite esencial de citral, al tercer día los tratamientos mostraron disminuciones significativas de RAM en comparación con el testigo, obteniendo reducciones de hasta 1,23 unidades logarítmicas. No obstante, a partir de este momento se observó un aumento en el recuento hasta el sexto día, alcanzando un promedio de 6 log UFC g⁻¹ en todos los casos. Tendencia similar se obtuvo en el presente ensayo, debido

posiblemente a su volatilidad, como se ha señalado anteriormente en las características del citral. Del mismo modo Muriel (2012) señala que la efectividad antimicrobiana mostrada en bolsas con PP/EVOH a las que se incorporó 5 y 10% de citral para su fabricación, puede atribuirse al hecho de que la ensalada estaba en contacto con una mayor área de superficie (750 cm^2 área de la bolsa), y por ende se presentó una mayor concentración del citral en el espacio de cabeza.

Cabe destacar que desde el inicio del proceso los tratamientos en el presente ensayo se encontraron al límite máximo de los parámetros microbiológicos propuestos en el Reglamento Sanitario de los alimentos (D.S. N° 977/96, 2012), posiblemente debido a deficiencias en las buenas prácticas agrícolas y además porque las hortalizas de hoja presentan una mayor superficie de exposición a los contaminantes a diferencia de las frutas. Estudios realizados en España muestran que las hortalizas recién cortadas como zanahoria rallada, rúculas y espinacas presentan mayores recuentos microbiológicos (RAM de 7,8, 7,5 y 7,4 $\log \text{ UFC g}^{-1}$ y enterobacterias de 6,2, 5,3 y 6,0 $\log \text{ UFC g}^{-1}$, respectivamente), en comparación con frutas mínimamente procesadas que presentan rangos de 4 a 5 $\log \text{ UFC g}^{-1}$ y de 3 a 4 $\log \text{ UFC g}^{-1}$, respectivamente (Abadias *et al.*, 2008).

Del mismo modo, es posible que la alta carga microbiana inicial, las propiedades intrínsecas del producto, los determinantes extrínsecos y las características propias de los microorganismos pudieran influir en la escasa sensibilidad bacteriana al citral observadas en el estudio (Burt, 2004).

2.4.3 Color

2.4.3.1 Luminosidad (L^*_{ab})

En la Figura 2.12, se observa que en el tiempo de conservación los tratamientos no presentaron diferencias significativas del valor de L^*_{ab} . En el día 0 y 3, no se mostraron diferencias significativas entre tratamientos obteniendo valores promedios de 48,6 y 46,5, respectivamente (Apéndice 1, Cuadro 1.7). Al sexto día de almacenamiento el tratamiento testigo BP presentó diferencias significativas con los tratamientos en AMP, este tratamiento presentó un aumento en la luminosidad, lo que indica que las hojas se observaron más claras.

Al finalizar el tiempo de conservación no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos AMP, lo cual indicaría que la aplicación de citral no influyó en la luminosidad de las hojas de rúcula “baby”. Sin embargo, el tratamiento testigo BP presentó valores significativamente mayores con respecto al tratamiento 450 Ci.

2.4.3.2 Saturación (C^*_{ab}).

La saturación en el tiempo de conservación no presentó variación en los tratamientos testigos y 150 Ci. En los tratamientos 300 y 450 Ci la saturación aumentó en el día 3 y no presentó diferencias significativas hasta el término de la conservación (Figura 2.12).

En los diferentes días de evaluación no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, presentando valores promedios de 30,2 y 32,9 al inicio y finalización de la conservación, respectivamente (Apéndice 1, Cuadro 1.7).

2.4.3.2 Tono (H_{ab})

Con respecto a las evaluaciones del tono a lo largo del tiempo de conservación, los tratamientos testigo BP, AMP y 150 Ci, presentaron una disminución significativa en el noveno día de conservación, mientras que los tratamientos 300 y 450 Ci no presentaron diferencias de tono durante el tiempo de conservación (Figura 2.12).

A pesar de que el tono mostró una tendencia a disminuir, sólo se observaron diferencias significativas entre tratamientos al noveno día de conservación, donde el tratamiento BP registró un valor de 118,5, significativamente menor con respecto a los tratamientos en AMP, reflejando una reducción del color verde e incremento del amarillo en las hojas de rúcula “baby”, es decir, una disminución de la coordenada $-a^*$ y aumento de b^* posiblemente por la degradación de la clorofila en contacto con el aire (Apéndice 1, Cuadro 1.7).

Diversos autores señalan el efecto beneficioso de la conservación en bajo O_2 y alto CO_2 manteniendo el color verde de varias hortalizas durante mayor tiempo que cuando son conservadas en aire (Gómez y Artés, 2005). También la baja variación del color observado en las hojas puede ser atribuida a una mayor homogeneidad inicial en el color de las hojas empleadas en los ensayos (Martínez *et al.*, 2006).

Además, los resultados obtenidos sobre luminosidad coinciden con los reportados por Inestroza (2011), quien indicó que la luminosidad de las hojas de rúcula evaluadas a los 13 días de conservación a $5^\circ C$, no presentaron diferencias significativas entre tratamientos en AMP.

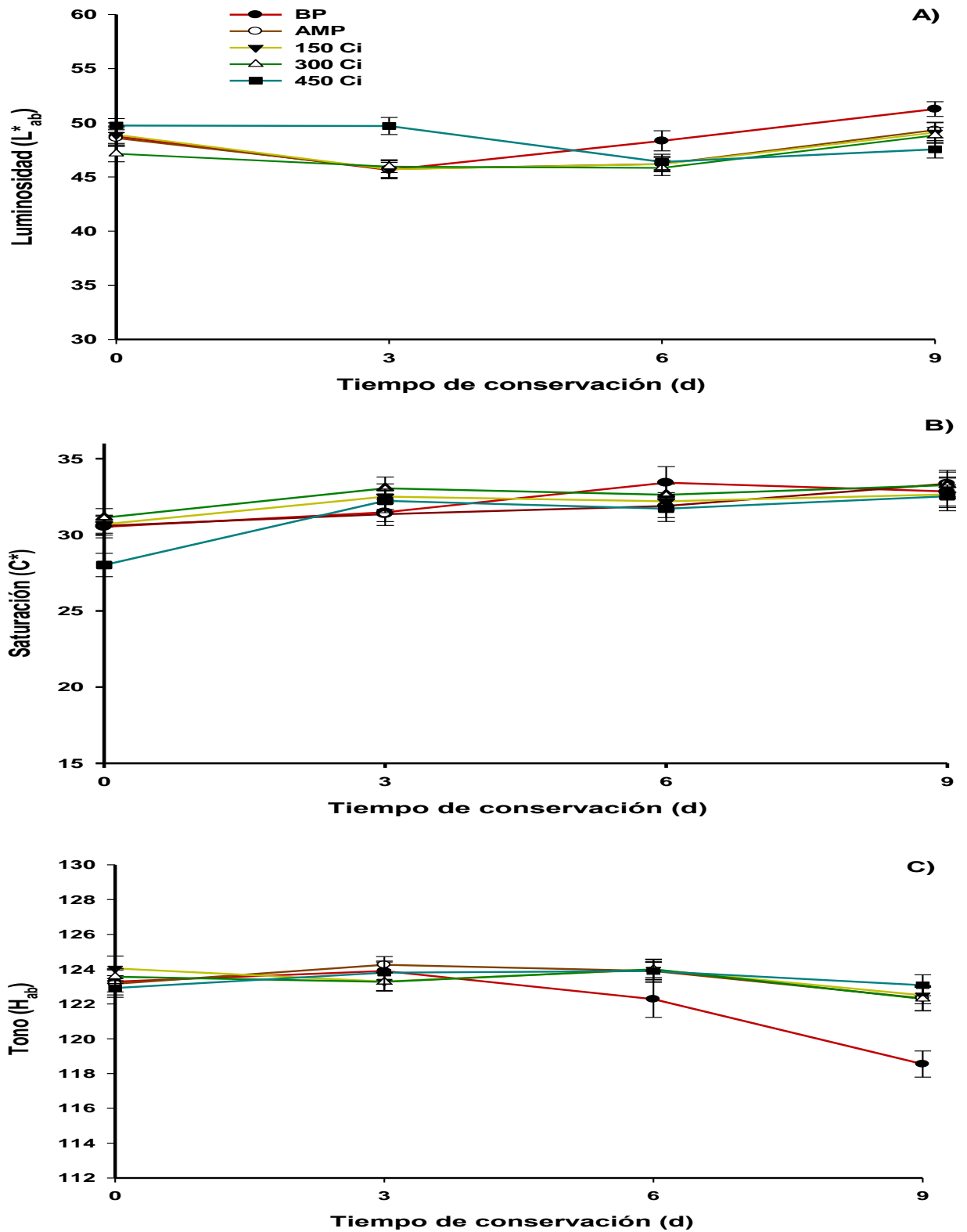


Figura 2.12. Evaluación de los parámetros de color L^* (A), C^* (B) y H_{ab} (C) en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con citral, durante 9 días a 5°C.

En la Figura 2.13 se indica la variación global de color (ΔE_{00}) en función del tiempo de conservación de hojas de rúcula “baby”. Valores mayores a 3 indica una diferencia total del color, independientemente de los valores de L^* (Sharma, 2004). Los tratamientos testigos (BP y AMP) presentaron ΔE_{00} de 3,6 y 3,7, respectivamente al finalizar la conservación, lo que se traduce en que existe diferencia de color observable. El tratamiento 150 Ci presentó solo una ΔE_{00} inicial, el tratamiento 300 Ci no presentó ΔE_{00} y del mismo modo el tratamiento 450 Ci presentó una ΔE_{00} inicial (Apéndice 1, Cuadro 1.8).

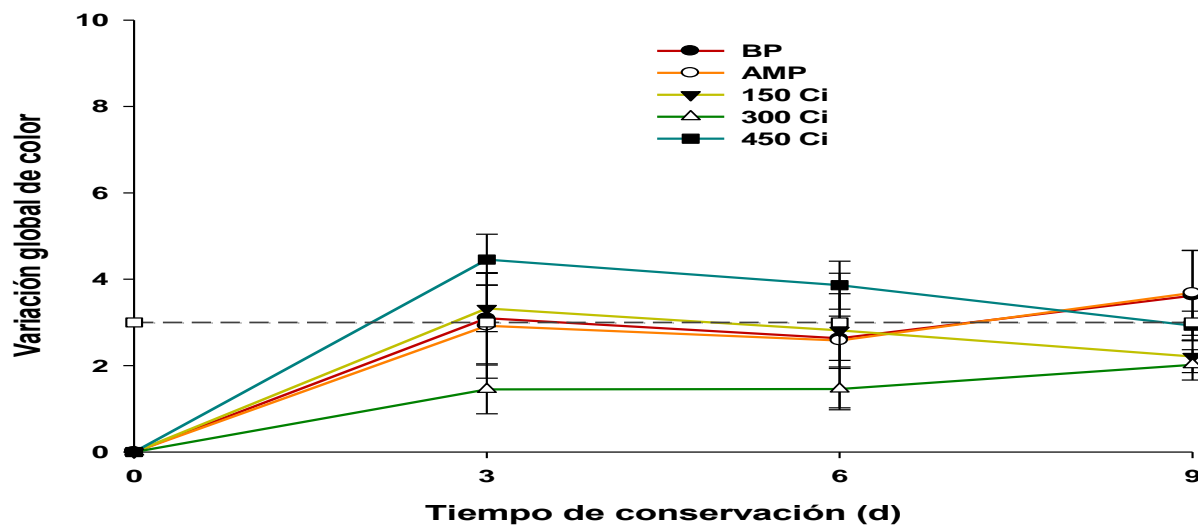


Figura 2.13. Diferencia global de color en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con citral, durante 9 días a 5°C.

2.4.4 Evaluación sensorial

2.4.4.1 Apariencia

Con respecto a la apariencia de las hojas de rúcula “baby”, en el tiempo de conservación, el tratamiento BP presentó paulatinamente una disminución de este atributo en 8,1 puntos, a la vez los tratamientos AMP, 150, 300 y 450 Ci presentaron disminuciones significativas solamente en el último día de conservación (Apéndice 1, Cuadro 1.9).

El día 0 de proceso, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos, presentando un rango entre 12,7 y 13,6 puntos, rango de apariencia “muy buena”. En el día 3 y 6 los tratamientos en AMP y citral fueron los mejor evaluados con respecto al tratamiento BP, presentando rangos entre 12,4 y 13,5 y entre 11,1 y 12,4, respectivamente (Apéndice 1, Cuadro 1.9).

Al noveno día de conservación el tratamiento en BP disminuyó significativamente este atributo, obteniendo 4,6 puntos, rango de “muy malo”; a la vez, los tratamientos 150 y 300 Ci fueron los mejor evaluados con valores de 11,5 y 10,5 puntos, respectivamente y los tratamientos AMP y 450 Ci presentaron una puntuación más baja.

2.4.4.2 Intensidad del color

Durante el tiempo de conservación, la intensidad del color en los diferentes tratamientos disminuyó paulatinamente (Apéndice 1, Cuadro 1.10). En los días 1, 3 y 6 de conservación las hojas de rúcula “baby” no mostraron diferencias significativas entre tratamientos, presentando valores entre 12,2 y 13,5, entre 10,9 y 12,2 y entre 8,6 y 11,2, respectivamente, todos los valores estuvieron dentro del rango calificado de “muy bueno”.

Solo el último día de medición se observaron diferencias significativas entre tratamientos, el tratamiento BP presentó un valor significativamente menor con respecto a los tratamientos en AMP y citral, valor de 5,0 puntos en el rango de “insuficiente”; los tratamientos AMP y 150 Ci presentaron valores de 7,8 y 8,9, respectivamente; a su vez los tratamientos 300 y 450 Ci presentaron valores más altos de color de 9,4 y 9,6, respectivamente. Resultados que se relacionan con el color medido.

2.4.4.3 Olores extraños

En el transcurso del tiempo de conservación los tratamientos testigos BP y AMP no variaron en su percepción de olor; a su vez, los tratamientos con citral presentaron olores extraños significativamente más altos con respecto al día inicial de proceso (Apéndice 1, Cuadro 1.11).

En el día 0 el tratamiento 450 Ci presentó un valor significativamente más alto (3,18 puntos), posiblemente por la mayor concentración de citral. Sin embargo, todos los tratamientos mantuvieron rangos de “no afectado”, con calificaciones entre 0,13 y 3,18 (Apéndice 1, Cuadro 1.11).

En el día 3, no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, registrando calificaciones entre 0,6 a 2,3 considerándose en un rango de “no afectados”. Tras 6 días, el tratamiento testigo BP fue calificado con un valor de 0,6, valor significativamente menor con respecto a los tratamientos con citral; a su vez, el tratamiento 450 Ci fue calificado con 3,5 puntos, es decir, tratamiento con la presencia significativa de olor extraño respecto al testigo.

En el último día de almacenamiento los tratamientos con la aplicación de citral presentaron valores más altos principalmente el tratamiento 450 Ci, con respecto a los tratamientos testigos (BP y AMP), registrando calificaciones de 2,7; 3,2 y 4,8 puntos, respectivamente. Esto indica que el cambio en la intensidad del olor fue detectado claramente en los tratamientos con citral. Sin embargo, los valores se encontraron dentro de un rango de “no afectado”. Es importante destacar que dentro de las observaciones entregadas por el panel de jueces, los tratamientos con citral presentaron olores parecidos a limón, que si bien son extraños al testigo en bolsa BP, no son olores desagradables en dosis bajas.

2.4.4.4 Turgencia

En el día de proceso la turgencia presentó valores entre 12,0 y 13,5 puntos sin diferencias significativas entre tratamientos, la turgencia no se vio afectada por la aplicación de citral presentando un rango de “muy bueno” (Apéndice 1, Cuadro 1.12). A partir del día 3, no se

realizaron evaluaciones pues en ensayos anteriores existió el riesgo que los tratamientos superan el límite microbiológico recomendado por el Reglamento Sanitario de los Alimentos (D.S. N° 977/2012; Anexo III).

2.4.4.5 Sabor extraño

Los valores presentados el día de proceso fueron de 0,4 a 2,1, sin diferencias significativas entre tratamientos (Apéndice 1, Cuadro 1.12). Para el entrenamiento de los jueces se le asignó otra muestra de rúcula “baby” sin someterlo a ningún tratamiento, solamente lavados con agua potable, para que pudieran distinguir el sabor característico de este producto. A partir del día 3, no se realizaron pues en ensayos anteriores existió el riesgo que los tratamientos superan el límite microbiológico que recomienda por el Reglamento Sanitario de los Alimentos (D.S. N° 977/2012; Anexo III).

Estos resultados concuerdan con otros autores, los cuales señalan que el empacado en AMP mejora la calidad sensorial (Gómez y Artés, 2005; Artés *et al.*, 2006). Del mismo modo como era de esperarse, el tratamiento testigo en bolsa perforada presentó una disminución paulatina de la buena apariencia y color, principalmente al finalizar la conservación. Pues la pérdida de calidad de estos vegetales está asociada a la presencia del amarillamiento que es un proceso común de senescencia (Koukounaras *et al.*, 2007).

Resultados similares fueron obtenidos por Martínez *et al.* (2006), quienes demostraron que la calidad sensorial de las hojas de rúcula salvaje, almacenadas en condiciones de aire, no eran comercialmente aceptable después de 10 días de conservación a 4° C, con respecto a las hojas en AM.

Por lo que se puede decir que el empleo de atmósferas modificadas mantendría la calidad sensorial en hojas de rúcula “baby” a medida que transcurre la conservación, del mismo modo la aplicación de citral no tendría mayor efecto sobre estos atributos.

2.4.5 Compuestos funcionales

2.4.5.1 Contenido de fenoles totales

Durante el almacenamiento, el contenido de fenoles totales presentó un aumento al tercer día y posteriormente una disminución que permaneció estable hasta finalizar el almacenamiento, a excepción del tratamiento 150 Ci que disminuyó significativamente en el día 9 (Figura 2.14). En el día 0, no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, presentando valores entre 44,2 y 46,2 $\mu\text{g EAG g}^{-1}$ pf (Apéndice 1, Cuadro 1.13). En el día 3 los tratamientos testigos BP y AMP presentaron valores significativamente menores (47,9 y 50,1 EAG g^{-1} pf, respectivamente), en relación al tratamiento 150 Ci que presentó un valor de 53,6 $\mu\text{g EAG g}^{-1}$ pf.

En el transcurso del día 6, los tratamientos 150 Ci y 300 Ci mostraron valores significativamente más altos con relación a los testigos, de 50,5 y 48,7 $\mu\text{g EAG g}^{-1}$ pf, respectivamente. En el noveno día de evaluación, los tratamientos en AMP presentaron valores significativamente altos con respecto al tratamiento testigo BP, registrando valores de 46,1 y 40,8 $\mu\text{g EAG g}^{-1}$ pf, respectivamente (Apéndice 1, Cuadro 1.13).

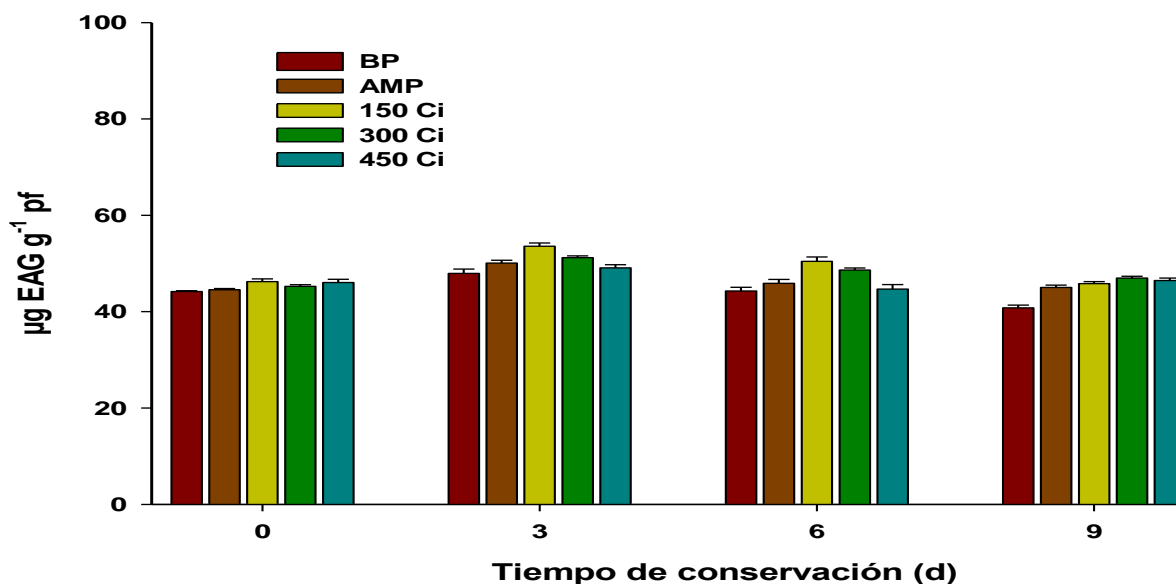


Figura 2.14. Evaluación del contenido de fenoles totales en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con citral, durante 9 días a 5°C.

Estos resultados sugieren poca variación del contenido fenólico, coincidiendo con estudios donde se manifiesta que el contenido fenólico de lechuga “*Lollo Rosso*” y espinacas frescas cortadas permaneció estable durante el tiempo de almacenamiento refrigerado (Gill *et al.*, 1988; Bottino *et al.*, 2009). Del mismo modo Odriozola *et al.* (2008) no encontraron variación de fenoles totales en tomates cortados, almacenados durante 14 días a temperatura de refrigeración y en bandejas de atmósfera modificada.

Sin embargo, se observó el efecto beneficioso del envasado en AMP en los respectivos tratamientos, principalmente en el último día de conservación, donde no hubo degradación del contenido fenólico, a diferencia del tratamiento en aire que empieza la degradación del contenido fenólico; resultados similares a los obtenidos por Gil *et al.* (1998) en acelga “Swiss chard”.

Por otro lado, el aumento transitorio de fenoles totales en el tercer día puede ser debido a la ruptura de los enlaces glucosídicos del tejido celular, que conducen a la formación de compuestos fenólicos (Singleton *et al.*, 1999).

2.4.5.2 Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante de las hojas de rúcula “baby” disminuyó en el tiempo de almacenamiento (Figura 2.14). En el día 0 y 3 no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, presentando valores entre 26,4 y 29,8 y entre 16,2 y 19,0 $\mu\text{g Trolox g}^{-1}$ pf, respectivamente (Apéndice 1, Cuadro 1.15).

En los días 6 y 9 de conservación el tratamiento 150 Ci presentó valores significativamente mayores con respecto al tratamiento BP (15,9 y 15,1 $\mu\text{g Trolox g}^{-1}$ pf, respectivamente) (Apéndice 1, Cuadro 1.14).

Resultados similares con respecto a la capacidad antioxidante fueron reportados por Viña y Chaves (2006), manifestando que la capacidad antioxidante de apios mínimamente procesados, almacenados a 0 y 10 °C, disminuyó después de 7 días de almacenamiento. De igual forma Gil *et al.* (1999), observaron una disminución de la actividad antioxidante total durante el almacenamiento de espinacas mínimamente procesadas y envasadas en atmósfera modificada, atribuyendo el efecto a la sensibilidad de los compuestos antioxidantes.

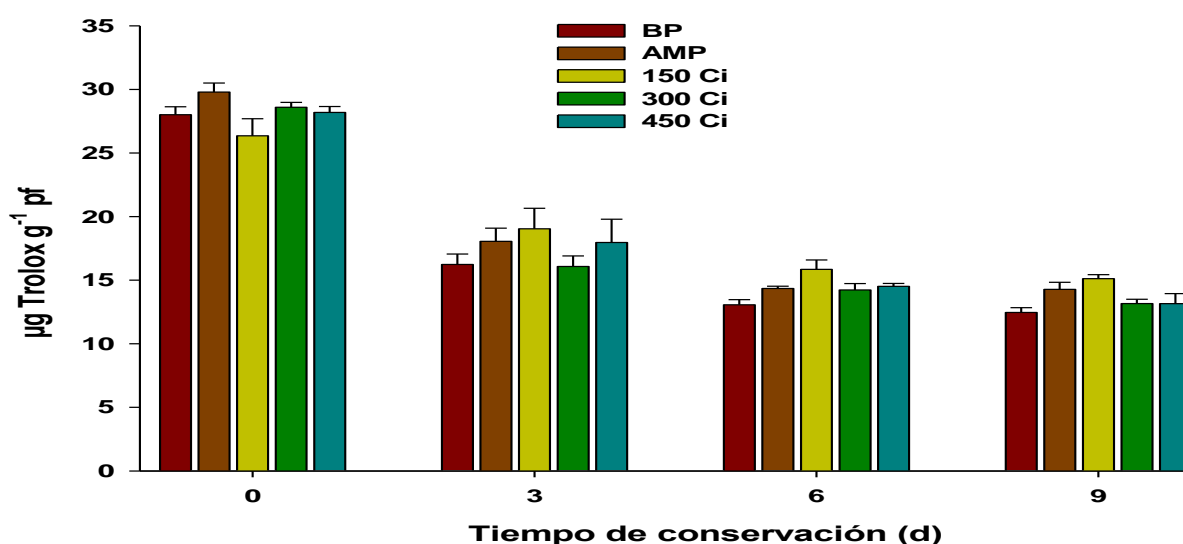


Figura 2.15. Evaluación de la capacidad antioxidante en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con citral, durante 9 días a 5°C.

Existen escasos estudios del efecto del citral sobre la capacidad antioxidante de hortalizas, sin embargo, estos resultados sugieren que la aplicación de citral no tuvo efecto sobre la capacidad antioxidante de las hojas de rúcula “baby”, ya que el citral es un monoterpene acíclico inestable a la oxidación, por lo que no se puede usar como producto funcional para aumentar la capacidad antioxidante (Carlini *et al.*, 1986).

Al analizar la posible relación entre la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales de las hojas de rúcula “baby”, se obtuvo una correlación no significativa ($p < 0,05$) en los días 3, 6 y 9, cuyos coeficientes de correlación lineal de Pearson fueron 0,19; 0,52 y -0,13, respectivamente (Apéndice 1, Cuadro 1.15).

Martínez (2008) indicó que cuando la rúcula sufrió un mínimo proceso, el poder antioxidante aumentó significativamente a la primera hora de conservación, para luego mantenerse constante durante el almacenamiento, por lo que una de sus conclusiones fue que el poder antioxidante de las hortalizas de hoja es dependiente no sólo del contenido de

fenoles en la cosecha, sino también del contenido de vitaminas antioxidantes, carotenoides y diferentes polifenoles, los cuales se degradan parcialmente en el procesamiento y almacenamiento, lo que explicaría una correlación lineal no significativa en este estudio.

Sin embargo, la literatura contrasta la evidencia sobre la relación entre fenoles y capacidad antioxidante, y algunos autores han observado una relación positiva (Serrano *et al.*, 2006) mientras que otros reportaron una correlación débil (Imeh y Khokhar, 2002).

Esto indicaría que, en este estudio, la capacidad antioxidante de hojas de rúcula “baby” no sería explicada sólo en base a su contenido de compuestos fenólicos. Esto concuerda con lo encontrado por Martínez *et al.* (2006) en rúcula, quienes señalan que la capacidad antioxidante podría ser atribuida a otros compuestos que no fueron determinados en dicho estudio, ya que la capacidad antioxidante de hortalizas es conocida por depender de varios compuestos. Se ha indicado que varios fitoquímicos como flavonoides, ácidos fenólicos, aminoácidos, ácido ascórbico, tocoferoles y pigmentos podrían contribuir con la actividad antioxidante de hortalizas (Viña y Chaves, 2006).

2.5 CONCLUSIONES

La evolución atmosférica de los tratamientos no se vio afectada por la aplicación de las diferentes dosis de citral y sólo se encontró una variación de color total en el testigo con aire.

La utilización de citral en las dosis estudiadas en hojas de rúcula “baby” mantuvo bajos recuentos microbianos en los primeros 3 días de conservación a 5°C, respecto de los testigos.

El almacenamiento en envases activos con citral mantuvo las características sensoriales de las hojas de rúcula “baby”; sin embargo una mayor dosis de citral podría relacionarse con un rechazo por parte del consumidor.

El contenido fenólico al finalizar el tiempo de conservación se mantuvo en los tratamientos en AMP

La capacidad antioxidante de las hojas de rúcula “baby” no se vio afectada por la aplicación de diferentes dosis de citral, resultando semejante al testigo en AMP. Sin embargo, el tratamiento 150 Ci presentó los mayores valores de compuestos fenólicos.

**CAPITULO II: EFECTO ANTIMICROBIANO DEL CARVACROL
APLICADO EN ENVASES ACTIVOS SOBRE LAS HOJAS DE
RÚCULA “BABY”**

RESUMEN

El objetivo del presente ensayo fue evaluar envases activos con tres concentraciones de carvacrol y sus efectos sobre la calidad microbiológica, las variaciones de color y los compuestos funcionales de hojas de rúcula “baby”, conservadas durante 9 días a 5°C. Después del lavado, desinfección y enjuague, las hojas fueron envasadas en atmósfera modificada pasiva (AMP) con un “sachet” de 75, 100 y 150 µL de carvacrol. Asimismo, se incluyó un testigo en bolsa perforada (BP) y un testigo en AMP. La concentración atmosférica de los tratamientos al finalizar la conservación registró porcentajes de CO₂ de 4,3 a 4,5 % y de O₂ de 7,0 a 9,4 %, sin diferencias significativas entre tratamientos. Al finalizar la conservación el tratamiento con mejores recuentos microbiológicos fue el de 75 µL de carvacrol, obteniendo reducciones de 1,1 log UFC g⁻¹ de aeróbios mesófilos, 1,5 log UFC g⁻¹ de enterobacterias y 1,4 log UFC g⁻¹ de psicrótrofos. La luminosidad, saturación y tono de las hojas de rúcula “baby” no presentaron variación en el transcurso del tiempo ni entre tratamientos; sin embargo, el tratamiento BP tendió a mostrar hojas más claras. Los tratamientos 75 y 100 Ca presentaron un mayor contenido fenólico en el último día de conservación con valores de 70,3 y 68,6 µg EAG g⁻¹ pf, respectivamente; además de una mayor capacidad antioxidante con valores entre 16,4 y 16,9 µg Trolox g⁻¹ pf. Con la adición de carvacrol se obtuvieron efectos beneficiosos que permitieron retrasar el crecimiento microbiano y reducir la pérdida de los compuestos funcionales.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the active packaging with three concentrations of carvacrol and its effect on the microbiological quality, color changes and the functional compounds content of baby arugula leaves, stored for 9 days at 5°C. After washing, disinfection and rinse, the leaves were packed under passive modified atmosphere with a sachet containing 75, 100 or 150 µL of carvacrol. One control in perforated bag (BP) and another in passive modified atmosphere (AMP) were included. The gas composition inside the bags at the end of the storage period was between 4.3 and 4.5 % CO₂ and between 7.0 and 9.4 % O₂, with no statistical difference among the treatments. At the end of the storage, active package with 75 µL carvacrol, showed reductions of 1.1 log CFU g⁻¹ of total aerobic mesophiles, 1.5 log CFU g⁻¹ of enterobacteria and 1.4 log CFU g⁻¹ of psychrotrophic bacteria. Initial lightness was between 46.4 and 47.1 with no significant difference among the active packages with carvacrol. At the end of the storage the treatments of 75 Ca and 100 Ca showed high phenolic content with values of 70.3 and 68.6 µg AGE g⁻¹ fw, respectively, and a high antioxidant capacity with values between 16.4 and 16.9 µg Trolox g⁻¹ fw. Beneficial effects by addition of carvacrol were obtained in terms of delaying the microbial growth and reducing the lose op functional compounds.

3.1 INTRODUCCIÓN

Nuevas tendencias en nutrición y estilo de vida moderno están produciendo una creciente demanda de productos mínimamente procesados, encontrándose entre los productos más solicitados, ya que proporcionan un alto valor nutricional y mantienen su atractiva frescura (Burt, 2004). Por otro lado, la búsqueda del antimicrobianos de origen natural para la conservación de alimentos recibe cada vez más atención debido a la preocupación de los consumidores por productos alimenticios naturales y una resistencia a los conservantes convencionales (Gould, 1996).

El carvacrol, 2-metil-5-isopropil fenol, es el componente de varios aceites esenciales, principalmente constituye el 80% del aceite esencial de orégano y ha demostrado que ejerce una fuerte actividad antimicrobiana (Edwin *et al.*, 2006). Su estructura química está representada por un grupo fenólico (Figura 3.1) con un alto poder hidrofóbico. El carvacrol es capaz de desintegrar la membrana externa de la bacterias Gram negativas, permitiendo la salida de lipopolisáríidos e incrementando la permeabilidad de la membrana citoplasmática (Lambert *et al.*, 2001; Burt, 2004).

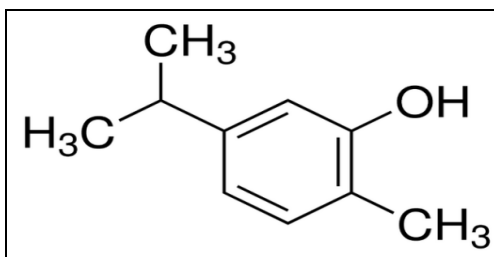


Figura 3.1. Estructura química del carvacrol.

Burt (2004) determinó que las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de carvacrol son de 0,05 a 5 mL L⁻¹, mientras que Baganboula *et al.* (2004) evaluó el potencial del carvacrol 0,5% y 1,0% v/v para la descontaminación de lechuga y mostró principalmente la inhibición de *Shigella sp.* Así mismo Skandamis y Nychas (2000) determinaron que el aceite esencial de orégano entre 7 a 21 g L⁻¹, fue eficaz en la inhibición de *Escherichia coli* O157:H7 y la reducción de poblaciones microbianas en productos mínimamente procesados de berenjena en comparación con el control sin tratar.

Por otro lado, Bagamboula *et al.* (2004) reportaron reducciones de 2,6 unidades logarítmicas con la aplicación de 0,1 % (v/v) de carvacrol en la desinfección de hojas de lechuga inoculada con *Shigella sp.*, almacenadas a 7°C y analizadas tras 24 horas. A pesar de estos datos, hay poca información del uso de estos compuestos durante el procesamiento y almacenamiento en hortalizas mínimamente procesadas. Es por ello la importancia de investigar la posibilidad de utilizar diferentes concentraciones de carvacrol en envases activos para hojas de rúcula, como una alternativa al uso de productos químicos sintéticos para mantener la vida útil del producto; así como sus efectos sobre la concentración atmosférica, la calidad microbiológica, las variaciones de color y el impacto sobre el contenido funcional de hojas de rúcula “baby”.

3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1 Lugar de estudio

El ensayo y las evaluaciones se realizaron en el Centro de Estudios Postcosecha (CEPOC) de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, localizados en la Av. Santa Rosa 11315, La Pintana, Región Metropolitana (R.M.).

3.2.2 Materiales

Se utilizaron hojas de rúcula “baby” (*Eruca sativa* var. Vitale), suministradas por la Sociedad Agrícola Oasis de Lampa Ltda., localizada en la comuna de Lampa, provincia de Chacabuco, R.M. Este lugar está geográficamente ubicado a 33° 16' 60" lat. Sur, 70° 54' long. Oeste y 753 msnm. La forma de cosecha se encuentra detallada en la Sección 2.2 Materiales y Métodos del Capítulo II.

La materia prima en el día de cosecha fue caracterizada tomando 30 hojas de rúcula “baby”, las cuales presentaron en promedio 6,1 g de peso; 9,6 cm de largo y 3,3 cm de ancho. El color presentó un valor de luminosidad de 46,0; una saturación de 31,4 y tono de 123,7 (Apéndice 2, Cuadro 2.1).

La procedencia del carvacrol, los detalles específicos de las bolsas de envasado, así como el “sachet” empleado se detalla en la Sección 2.2 Materiales y Método del Capítulo II.

3.2.3 Metodología de proceso y tratamientos

Los procedimientos aplicados en las distintas etapas de procesamiento para hojas de rúcula “baby” se describen detalladamente en la Sección 2.3 Procedimientos y Tratamientos del Capítulo II y se resumen en la Figura 3.2.

El tipo de envasado y las diferentes dosis aplicadas en los tratamientos se detalla en el Cuadro 3.1. Las dosis de carvacrol se establecieron en base a experimentos preliminares.

Cuadro 3.1. Tratamientos con diferentes dosis de carvacrol aplicados en hojas de rúcula “baby”.

Envasado	Concentración Carvacrol μL	Código de tratamientos
BP(testigo)	0	BP
AMP(testigo)	0	AMP
AMP	75	75 Ca
AMP	100	100 Ca
AMP	150	150 Ca

BP: Bolsa perforada.; AMP: Envasado en atmósfera modificada pasiva.; Ca. Carvacrol.

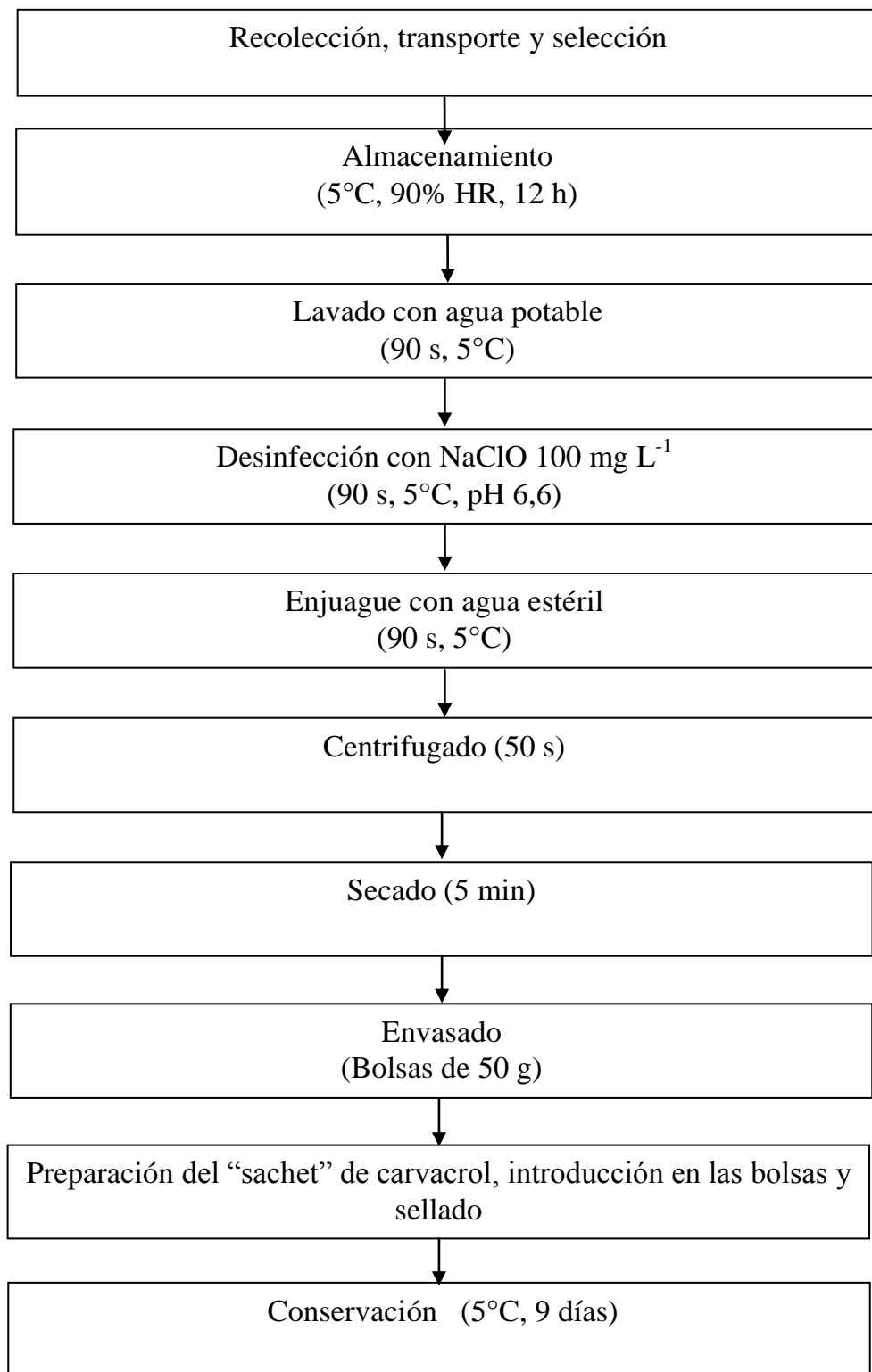


Figura 3.2. Diagrama de procesamiento de hojas de rúcula "baby" envasadas en una bolsa con "sachet" de carvacrol.

3.2.4 Análisis y evaluaciones en hojas de rúcula “baby”

3.2.4.1 Atmósfera modificada pasiva

La evolución de la concentración de CO₂ y O₂ al interior de cada bolsa se determinó con un analizador de gases manual (Checkpoint, PBI Dansensor, Ringsted, Dinamarca) y los valores se expresaron como porcentaje de CO₂ y O₂. La metodología que se siguió se encuentra detallada en la Sección 2.2.4 Análisis y Evaluaciones en las hojas de rúcula “baby” del Capítulo II. Esta medición se realizó los días 0, 3, 6 y 9 posteriores al procesamiento.

3.2.4.2 Análisis microbiológico

Para el análisis de la calidad microbiológica, se muestreó 10 g de rúcula “baby” de cada tratamiento y repetición los días 0, 3, 6 y 9. Se realizó un recuento de aerobios mesófilos, un conteo de psicrótrofos y enterobacterias. La metodología utilizada se encuentra detallada en la Sección 2.2.4 Análisis y Evaluaciones en las hojas de rúcula “baby” del Capítulo II.

3.2.4.3 Color

La metodología utilizada se encuentra detallada en la Sección 2.2.4 Análisis y Evaluaciones en las hojas de rúcula “baby” del Capítulo II.

3.2.4.4 Determinación de la calidad sensorial

Se determinó la calidad sensorial a los días 0, 3, 6 y 9 de conservación. La metodología utilizada se encuentra detallada en la Sección 2.2.4 Análisis y Evaluaciones en las hojas de rúcula “baby” del Capítulo II.

3.2.4.5 Compuestos funcionales

Contenido de fenoles totales

Para la determinación del contenido de fenoles totales se congelaron muestras de 10 g de rúcula “baby” a -80°C, por cada tratamiento y repetición para su posterior análisis. La metodología utilizada se encuentra detallada en la Sección 2.2.4 Análisis y Evaluaciones en las hojas de rúcula “baby” del Capítulo II.

Capacidad antioxidante

La metodología utilizada se encuentra detallada en la Sección 2.2.4 Análisis y Evaluaciones en las hojas de rúcula “baby” del Capítulo II.

3.3 DISEÑO DE EXPERIMENTOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado (DCA) con cinco tratamientos y tres repeticiones. La unidad experimental correspondió a una bolsa de 50 g de hojas de rúcula “baby”.

Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) con un 5% de significancia, y en caso de existir diferencias significativas entre los tratamientos se aplicaron pruebas de comparaciones múltiples de Tukey mediante el software estadístico InfoStat (versión 2008, Grupo InfoStat, FCA, Argentina). Las variables a evaluar fueron la concentración de gases al interior de las bolsas, el color de las hojas, la calidad sensorial, los recuentos microbiológicos, el contenido de fenoles y la actividad antioxidante. Se realizó correlación de compuestos funcionales para determinar relación o dependencia.

3.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.4.1 Atmósfera modificada pasiva

La Figura 3.3 muestra la evolución de la concentración de gases (CO_2 y O_2) al interior de las bolsas de rúcula "baby". En el tiempo de conservación los tratamientos en AMP aumentaron la concentración CO_2 , alcanzando su estabilidad a partir del sexto día; así mismo, se observó una disminución paulatina de O_2 .

En el día de proceso la concentración de CO_2 no presentó diferencias significativas entre los tratamientos, mostrando un valor de alrededor del 0,6 %. En los subsiguientes días sólo se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos AMP, 75, 100 y 150 Ca con respecto al tratamiento testigo BP, registrando promedios de 3,0; 4,5 y 4,6 % en los días 3, 6, y 9, respectivamente. La concentración de CO_2 en el tratamiento BP fluctuó entre 0,5 y 1,1 % (Apéndice 2, Cuadro 2.2).

Con respecto al O_2 , inicialmente los tratamientos presentaron una concentración entre 19,9 y 20,5 % que paulatinamente fue disminuyendo, sin alcanzar la atmósfera de equilibrio. Posteriormente solo se encontraron diferencias significativas con respecto al tratamiento testigo BP, cuya concentración fluctuó entre 19,7 y 20,3 %, lo que demostró las condiciones de atmósfera de aire en todo el tiempo de conservación. Los tratamientos en AMP en los días 3, 6, 9 registraron valores de 16,5; 3,9 y 8,5 % de O_2 (Apéndice 2, Cuadro 2.3).

Diversos estudios indican que el empobrecimiento de O_2 y/o enriquecimiento con CO_2 puede reducir la respiración, retrasar la maduración, disminuir la producción de etileno, retardar el ablandamiento de la textura y frenar los cambios asociados a la maduración, dando como resultado una prolongación del tiempo de vida útil (Das *et al.*, 2006).

Generalmente las concentraciones de 3 a 8 % CO_2 y 2 a 5 % O_2 se recomiendan para el almacenamiento de frutas y hortalizas mínimamente procesadas en AMP (Farber, 1991). En la presente investigación se obtuvieron resultados similares en cuanto al contenido de CO_2 , por lo que es posible que efectos beneficiosos semejantes a los señalados se hayan mostrado en las hojas de rúcula "baby". De igual forma, se demostró que la presencia de carvacrol no tuvo efecto en la concentración atmosférica.

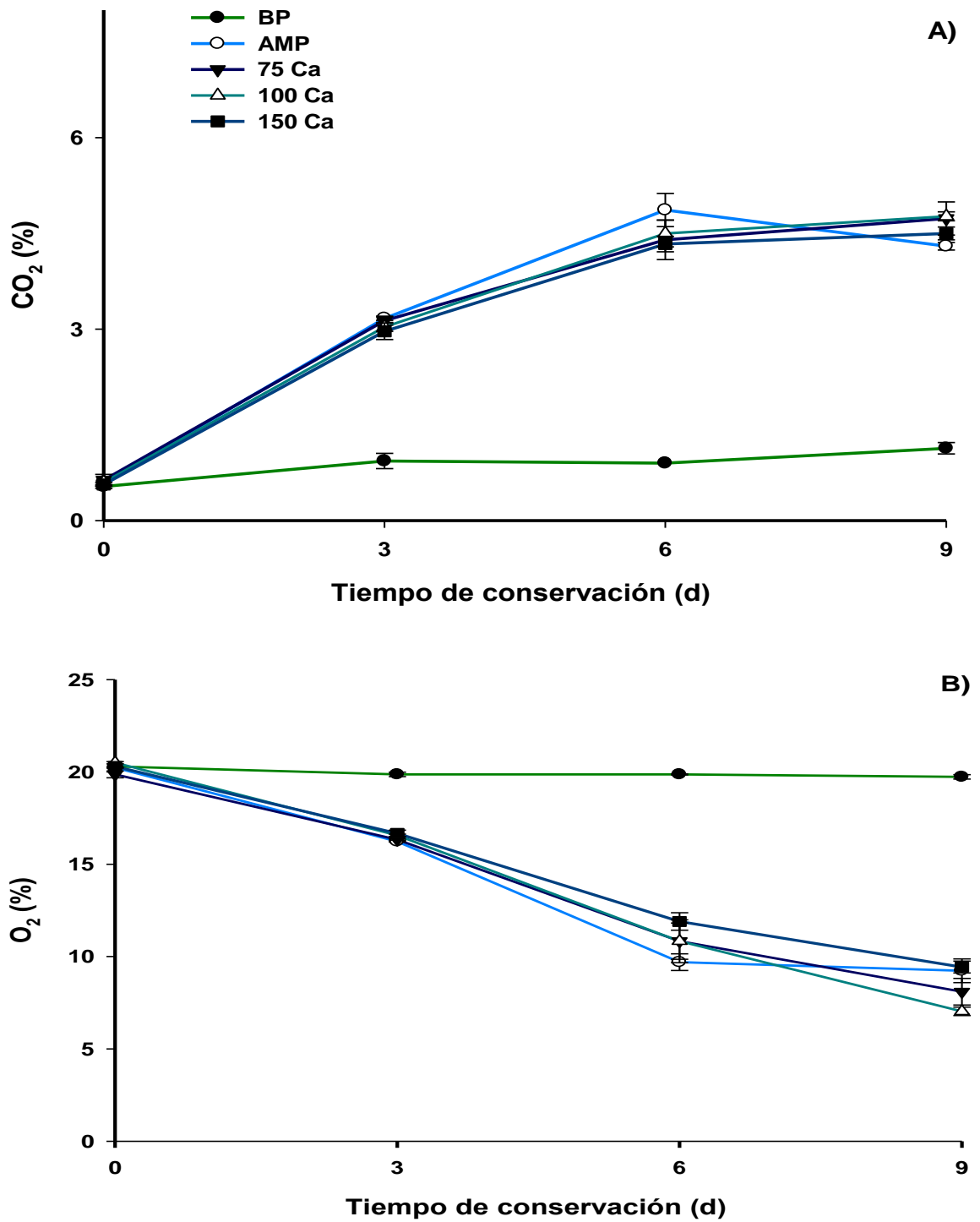


Figura 3.3. Evolución de la concentración de CO_2 (A) y de O_2 (B) en hojas de rúcula “baby” conservada en envases activos con carvacrol, durante 9 días a 5°C .

3.4.2 Análisis microbiológico

3.4.2.1 Recuento de aerobios mesófilos

En el tiempo de conservación todos los tratamientos aumentaron el recuento de aerobios mesófilos, permaneciendo por debajo del límite microbiológico máximo permitido en la el Reglamento Sanitario de los Alimentos (D.S. N° 977/2012; Anexo III). Sin embargo, el tratamiento testigo BP, al finalizar la conservación llegó a un recuento de 7,4 log UFC g⁻¹, superando dicha reglamento (Figura 3.4).

En el día 0, los tratamientos con carvacrol presentaron recuentos significativamente menores con respecto al tratamiento testigo BP, estos tratamiento registraron recuentos entre 5,0 y 5,5 log UFC g⁻¹ (Apéndice 2, Cuadro 2.4).

Desde el tercero al noveno día de conservación los tratamientos 75 Ca y 100 Ca presentaron recuentos significativamente menores con respecto a los testigos, mientras que el tratamiento 150 Ca presentó un comportamiento similar al testigo AMP, lo que hace suponer que en este tratamiento hay un exceso en la dosis. Con 75 Ca y 100 Ca se alcanzó una reducción de 1,1 unidades logarítmicas con respecto al tratamiento BP (Apéndice 2, Cuadro 2.4).

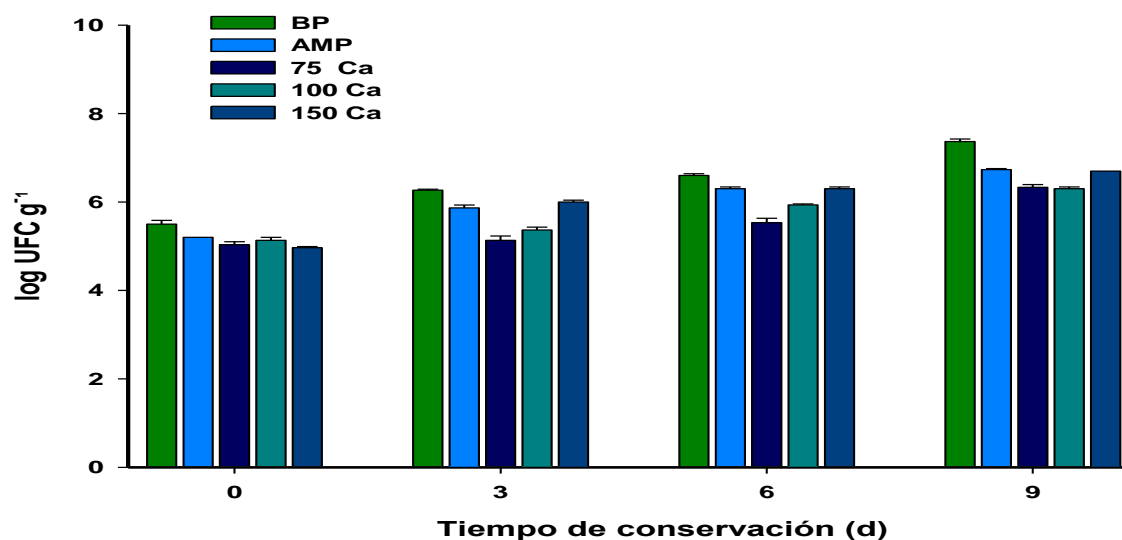


Figura 3.4. Recuento de aerobios mesófilos en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con carvacrol, durante 9 días a 5°C.

3.4.2.2 Recuento de enterobacterias

En el tiempo de conservación, todos los tratamientos aumentaron el contenido de enterobacterias y a partir del sexto día superaron los límites microbiológicos propuestos en el Reglamento Sanitario de los Alimentos (D.S. N° 977/2012; Anexo III; Figura 3.5).

En el día de proceso los tratamientos testigos presentaron una carga microbiológica significativamente mayor con respecto a los tratamientos en los que se usó carvacrol, los que presentaron recuentos de $5,5 \log \text{ UFC g}^{-1}$. Con los tratamientos 75 Ca, 100 Ca y 150 Ca se alcanzaron reducciones de 0,4 y 0,7 unidades logarítmicas con respecto al tratamiento testigo BP (Apéndice 2, Cuadro 2.5).

El tratamiento 75 Ca presentó recuentos significativamente menores con respecto a los dos testigos desde el tercer al noveno día de conservación, finalizando con una reducción de 1,5 unidades logarítmicas con respecto al testigo BP. Finalmente, a pesar del aumento de los recuentos microbiológicos en el tiempo de conservación, se observó una disminución significativa de enterobacterias con la aplicación de carvacrol respecto de los testigos (Apéndice 2, Cuadro 2.5).

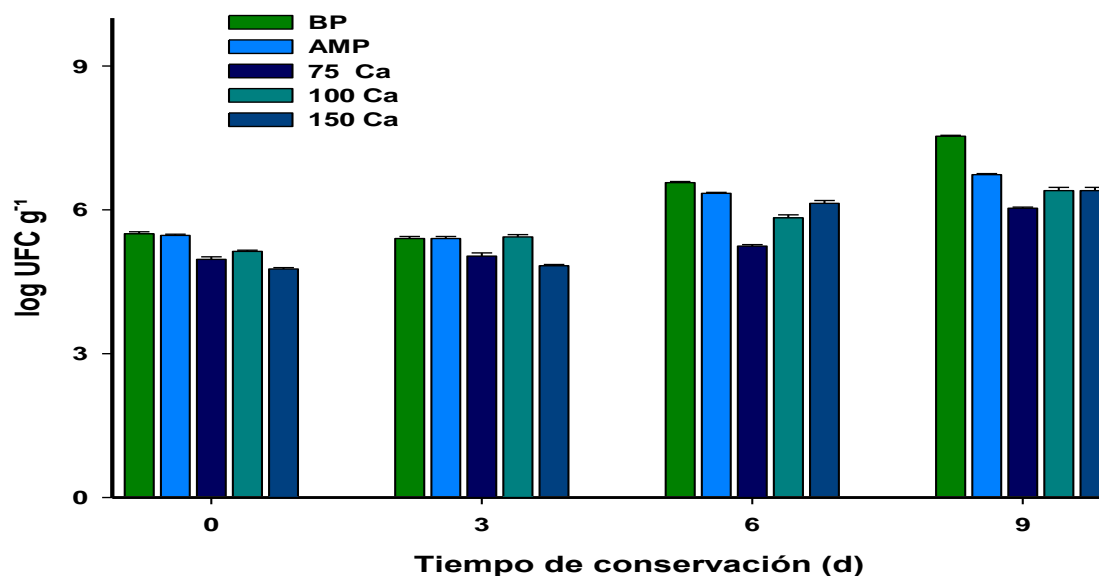


Figura 3.5. Recuento de enterobacterias en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con carvacrol, durante 9 días a 5°C.

3.4.2.3 Recuento de psicrótrofos

En el tiempo de conservación el contenido de psicrótrofos aumentó en todos los tratamientos (Figura 3.6). En el día de proceso el tratamiento 150 Ca presentó recuentos significativamente menores en comparación con los tratamientos testigos (BP y AMP) alcanzando reducciones de 1,7 y 1,3 unidades logarítmicas, respectivamente.

Sin embargo, el tratamiento 75 Ca presentó la mayor efectividad a partir del tercer día de almacenamiento, alcanzando reducciones de hasta 1,4 unidades logarítmicas con respecto del testigo BP (Apéndice 2, Cuadro 2.6). De esta forma, al noveno día de conservación los tratamientos con carvacrol presentaron reducciones significativas con respecto a los testigos (BP y AMP) a pesar del incremento de los recuentos microbiológicos con el tiempo de conservación.

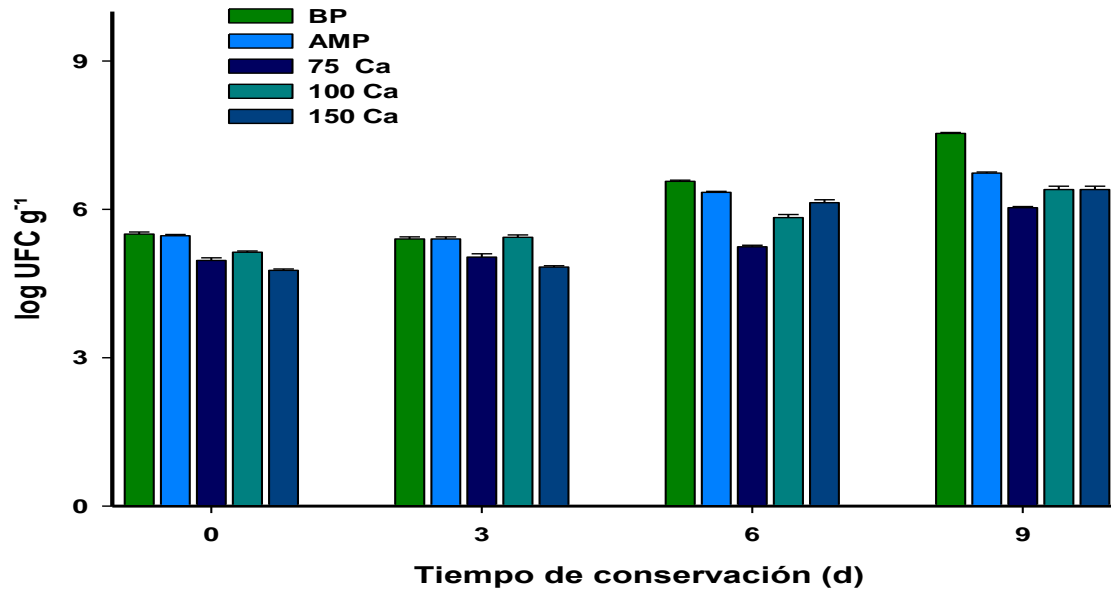


Figura 3.6. Recuento de psicrotrofos en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con carvacrol, durante 9 días a 5°C.

Resultados similares a este estudio fueron obtenidos en investigaciones realizadas por Muriel *et al.* (2012), quienes determinaron la efectividad antimicrobiana de bolsas con estructuras de PP/EVOH adicionadas con carvacrol sobre ensaladas de hortalizas mínimamente procesadas inoculadas con patógenos (*E. coli*, *S. enterica* y *L. monocytogenes*) y conservadas durante dos días a 4 °C. Estos autores reportaron reducciones principalmente de bacterias Gram-negativas de 0,32 y 1,4 unidades logarítmicas, atribuyendo el efecto a una mayor superficie de contacto con las hortalizas debido a la bolsa.

En este ensayo, la materia prima después del lavado con agua potable y desinfección con cloro presentó un elevado recuento de aerobios mesófilos (5,5 log UFC g⁻¹) en comparación con estudios de espinacas mínimamente procesadas y envasadas en atmósfera modificada, cuyo recuento de aerobios mesófilos fue de 3,6 a 4,3 log UFC g⁻¹ (Rodríguez *et al.*, 2010).

Por lo comentado, es posible que a pesar de encontrar disminuciones microbianas con la aplicación de carvacrol, estos recuentos estén fuera de los límites de aceptabilidad microbiológica en el transcurso del tiempo de conservación, principalmente en el caso de enterobacterias, ya que se ha determinado que muchos factores influyen en la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales incluyendo la cantidad de flora nativa inicial, la temperatura y el tipo de organismo (Lambert, 2000).

La disminución de la efectividad del carvacrol frente a altas poblaciones de enterobacterias puede deberse a sus características. Investigadores afirman que en las hortalizas de hojas se presenta una microflora dominada por bacterias Gram-negativas (*Pseudomonas*, *Erwinia*, *Enterobacter*), que en general son menos sensibles a los aceites esenciales o sus compuestos fenólicos lipofílicos (afinidad por los lípidos), posiblemente por la dificultad

que estos poseen para difundir a través de la doble capa lipídica (Jacxsens, 2002; Hulin *et al.*, 1998; Nychas y Tassou, 2000).

Referente a esto, Gutiérrez *et al.* (2008) manifiestan que para obtener buenos resultados en matrices alimenticias generalmente se requieren concentraciones elevadas de aceites esenciales de plantas. Sin embargo, la aplicación de aceites esenciales en los alimentos puede estar limitada por los cambios que se producen en la calidad organoléptica y textura de cada producto (Devlieghere *et al.*, 2004).

3.4.3 Color

3.4.3.1 Luminosidad (L^*_{ab})

En el día de proceso y el día 3 no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, presentando valores promedios de 46,9 y 44,1, respectivamente. En los días 6 y 9, se presentaron diferencias significativas en los tratamientos 100 Ca y 150 Ca con respecto al tratamiento BP. El aumento de L^*_{ab} en el tratamiento BP se traduce en hojas más claras. En el noveno día los tratamientos en AMP promediaron un valor de 44,8 (Figura 3.7; Apéndice 2, Cuadro 2.7).

3.4.3.2 Saturación (C^*)

En cuanto a la saturación, no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos en los días de evaluación, y de igual forma en el tiempo de conservación (Figura 3.7; Apéndice 2, Cuadro 2.7).

3.4.3.3 Tono (H_{ab})

Los valores de tono no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos y se mantuvieron constantes en el transcurso del tiempo. En el día 0 se registraron valores promedios de 125,0 y en el día 9 también valores de 125,0 (Figura 3.7; Apéndice 2, Cuadro 2.7).

En cuanto a la diferencia global de color (ΔE_{00}) de las hojas de rúcula “baby” en función del tiempo de conservación, no se encontró diferencias de color observable, a excepción de los tratamientos 100 y 150 Ca en el día 6 de conservación. La poca variación concuerda con los resultados obtenidos en los parámetros de color (Figura 3.8; Apéndice 2, Cuadro 2.8).

La poca variación de luminosidad, saturación y tono puede estar ligado al manejo de las temperaturas de almacenamiento, ya que los procesos de senescencia pueden ser significativamente retrasados por el uso de bajas temperaturas, probablemente debido a la reducida actividad metabólica global (Koukounaras *et al.*, 2007).

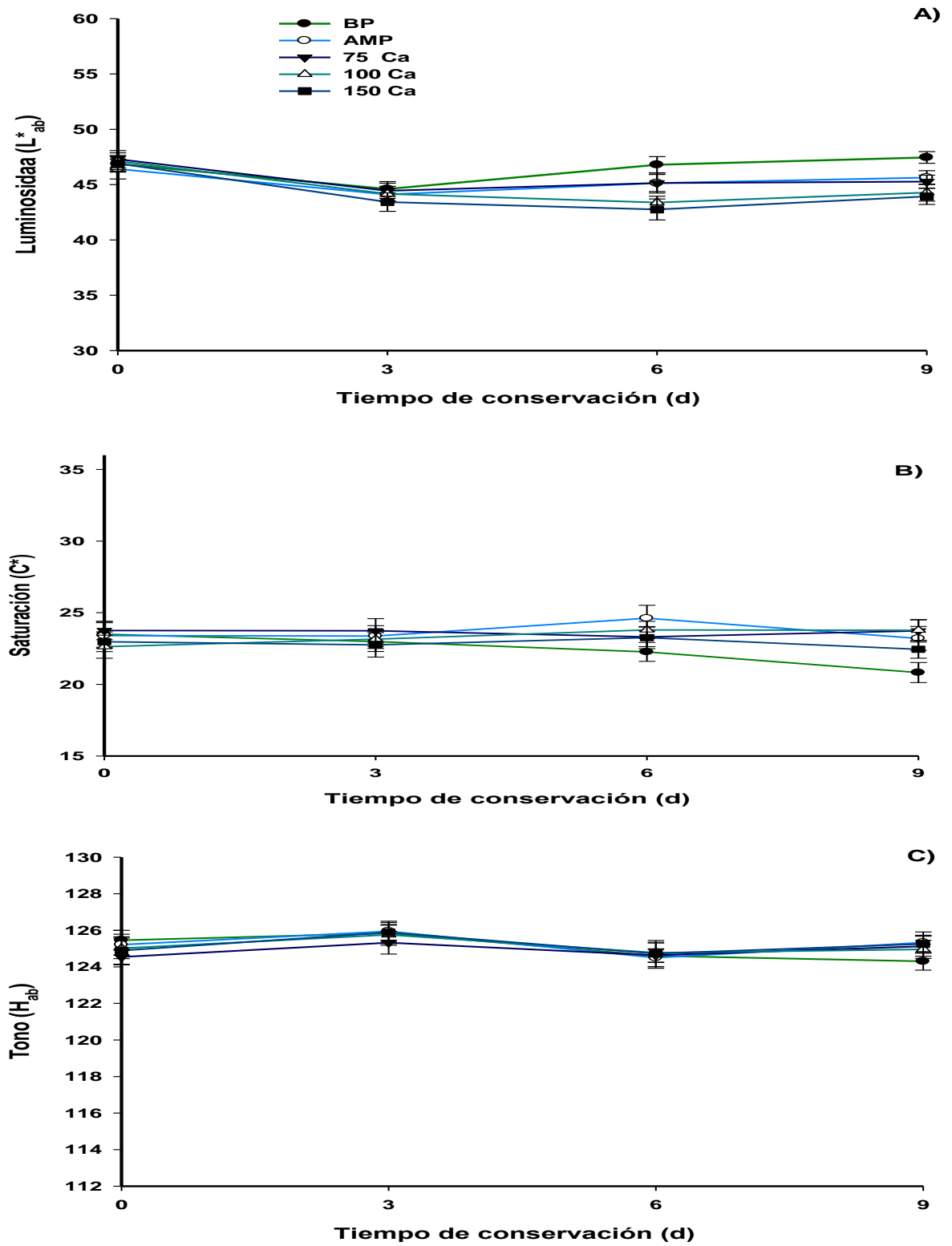


Figura 3.7. Evaluación de los parámetros de color L^*_{ab} (A), C^* (B) y H^*_{ab} (C) en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con carvacrol, durante 9 días a 5°C.

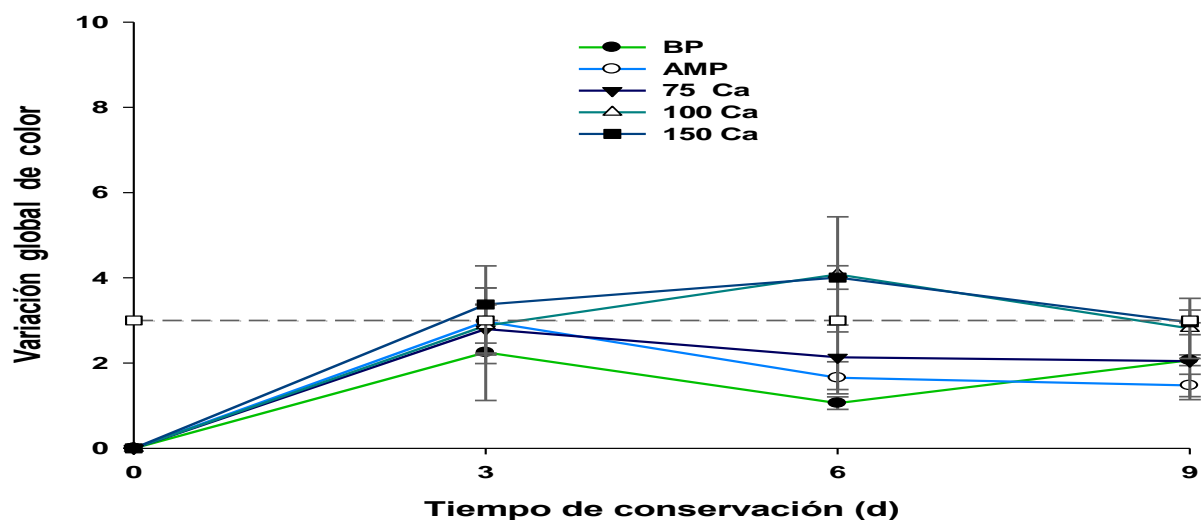


Figura 3.8. Diferencia global de color en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con carvacrol, durante 9 días a 5°C.

Sin embargo, la presencia de hojas claras en el tratamiento testigo BP puede estar ligado al contacto con el aire, efecto que se empieza a marcar al finalizar la conservación (Koukounaras *et al.*, 2010). Resultados similares son respaldados por Serrano *et al.* (2006), donde el tratamiento de brócoli envasado en bolsas con macro-perforaciones presentó variaciones en L^*_{ab} , C^* y H_{ab} , a diferencia de los tratamientos expuestos en bolsas con micro-perforaciones y bolsas no perforadas, durante 28 días a 1°C.

Por otro lado, Koukounaras *et al.* (2007) encontraron que los cortes en las hojas pueden ser un factor para la variación de L^*_{ab} , manifiestan que hojas de rúcula enteras, cortadas en mitades y en cuartos conservadas bajo AMP a 8°C tras 14 días mostraron un aumento significativo de L^*_{ab} (valores de 46,89; 47,69 y 48,03, respectivamente), lo que indicaría, que en este estudio la manipulación en tratamientos en AMP se adecuada y no provocó mayor variación.

3.4.4 Evaluación sensorial

3.4.4.1 Apariencia

La apariencia de las hojas de rúcula “baby” en el período de almacenamiento no mostró una variación significativa. En el día 0 la apariencia fue calificada con valores de 11,4 a 13,0 puntos. A partir del tercer día y hasta el noveno día de conservación hubo diferencias significativas entre los tratamientos en AMP con respecto al tratamiento BP, el cual fue calificado con una menor puntuación, con valores de 9,3 y 8,5, respectivamente. Sin embargo, todos los tratamientos estuvieron en un rango de apariencia “muy buena” (Apéndice 2, Cuadro 2.9).

Dentro de las observaciones dadas por los jueces, se señaló la presencia de colores pardos y marchitamiento en hojas expuestas al contacto directo con el antimicrobiano, efecto encontrado en el noveno día de almacenamiento en el tratamiento con la dosis más alta de carvacrol. Sin embargo, no se encontró una variación visual significativa con respecto a este atributo.

3.4.4.2 Intensidad del color

La intensidad de color observado en todos los tratamientos fue similar en el transcurso del tiempo de conservación. A excepción del tratamiento 100 Ca, que en el día 0 y 3 presentó un color más intenso en comparación con el tratamiento BP, sin embargo todos los tratamientos presentaron valores por encima del límite de aceptación (Apéndice 2, Cuadro 2.10). Al finalizar el ensayo, el tratamiento testigo BP presentó un valor significativamente menor (8,5 puntos) con respecto de los tratamientos en AMP, cuya media fue de 10,9. No obstante todos los tratamientos se encontraron dentro de un rango de color “bueno”. Resultados que se relacionan con el color medido.

3.4.4.3 Olores extraños

En el transcurso del tiempo de conservación no se presentó una variación significativa de la percepción de olores extraños. Inicialmente los jueces calificaron al tratamiento 150 Ca como el producto con mayor presencia de olores extraños en comparación con el tratamiento BP (Apéndice 2, Cuadro 2.11). Sin embargo, en los diferentes días de evaluación no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, presentando valores dentro de un rango de “no afectado” (Apéndice 2, Cuadro 2.11).

3.4.4.4 Turgencia

En el día 1 y 3 se obtuvieron valores de turgencia entre 11,0 y 12,1 y entre 9,3 y 11,2 respectivamente, sin diferencias significativas entre tratamientos. La turgencia no se vio afectada por la aplicación de carvacrol siendo calificada en el rango de “muy bueno” (Apéndice 2, Cuadro 2.12). Este parámetro fue evaluado solo hasta el tercer día, pues en ensayos anteriores existió el riesgo que los tratamientos superan el límite microbiológico recomendado por el Reglamento Sanitario de los Alimentos (D.S. N° 977/2012; Anexo III) a partir de este día.

3.4.4.5 Sabor extraño

Los valores obtenidos en el día 1 y 3 presentaron un rango de 0,7 a 1,5 y de 0,9 a 2,2, respectivamente, valores que están en el rango de producto “no afectado”. A excepción del tratamiento 100 Ca que presentó un valor mayor con respecto al tratamiento testigo BP en el día 3 lo que significa que el sabor se vio afectado (Apéndice 2, Cuadro 2.12). Este parámetro al igual que la turgencia se determinó solo hasta el día 3, por las mismas causas descritas anteriormente.

La pérdida de apariencia establecida por los jueces en el tratamiento BP al finalizar la conservación, concuerda con la determinación instrumental del color y posiblemente se deba a la degradación de la clorofila, a diferencia de los tratamientos en AMP, lo que

demuestra nuevamente los beneficios del envasado en atmósferas modificadas para mantener las características sensoriales (Key y Morris, 1994; Zhuang *et al.*, 1995; Gómez y Artés, 2005).

Los tratamientos con diferentes dosis de carvacrol no presentaron diferencias significativas en los parámetros de apariencia, color y olor, resultados comparables con los estudios realizados por Muriel *et al.* (2012). A excepción de la presencia de sabor extraño encontrados en el tratamiento 150 Ca al día 3 de conservación, por lo que se debe considerar las posibles afecciones que pueden provocar altas dosis de carvacrol.

Sin embargo, estos resultados difieren con los encontrados por Baganboula *et al.* (2004), quienes encontraron que la aplicación de carvacrol en el lavado de lechuga para descontaminación, produjo defectos en las propiedades sensoriales, presentándose pardeamiento y un olor fuerte. Por otro lado, se indica que existe una disminución de la intensidad del olor en el transcurso del tiempo de almacenamiento, ya que los compuestos activos de aceites esenciales son muy volátiles (Hulin *et al.*, 1998; Friedman *et al.*, 2002), lo que puede justificar que no se hayan encontrado diferencias significativas entre tratamientos al finalizar el tiempo de conservación.

3.4.5 Compuestos funcionales

3.4.5.1 Contenido de fenoles totales

En el tiempo de conservación, el contenido de fenoles totales en los tratamientos BP, AMP, 75 y 100 Ca presentó disminuciones significativas, seguido de una estabilidad a partir del día 6, a diferencia del tratamiento 150 Ca, el cual no presentó fluctuaciones (Figura 3.9).

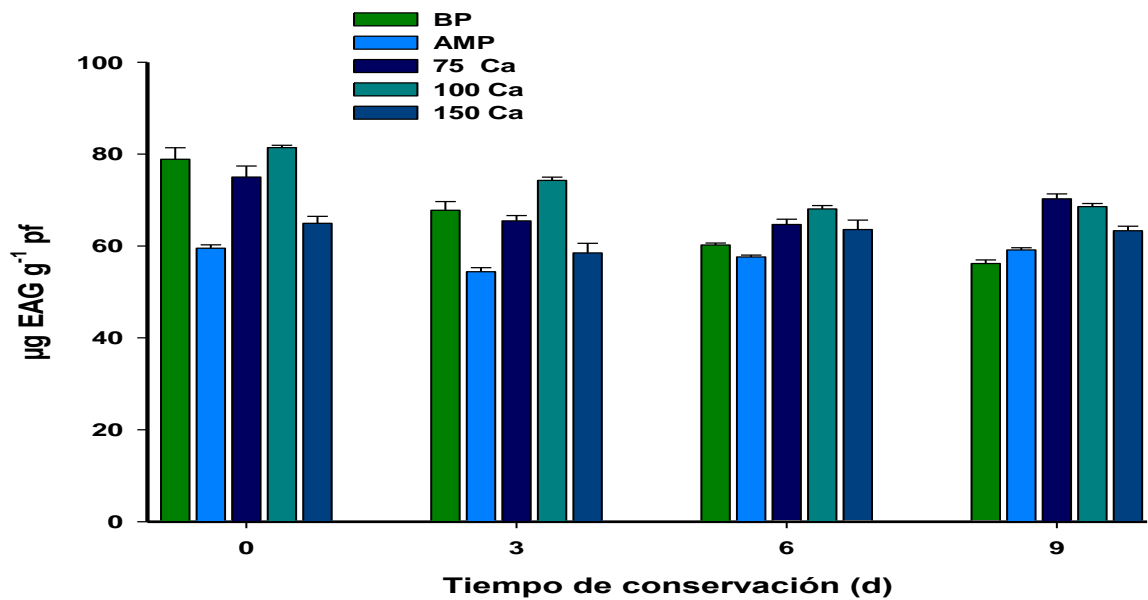


Figura 3.9. Evaluación del contenido de fenoles totales en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con carvacrol, durante 9 días a 5°C.

En el día de proceso, los tratamientos BP, 75 y 100 Ca presentaron valores de 78,9, 75,0 y 81,4 $\mu\text{g EAG g}^{-1}$ pf, respectivamente, valores significativamente altos con respecto a los tratamientos AMP y 150 Ca, los cuales presentaron valores de 59,5 y 64,9 $\mu\text{g EAG g}^{-1}$ pf, respectivamente (Apéndice 2, Cuadro 2.13).

De igual forma, en el tercer día de evaluación los tratamientos BP, 75 Ca y 100 Ca presentaron valores significativamente altos de compuestos fenólicos con respecto a los tratamientos AMP y 150 Ca, alcanzando valores de 67,8; 65,5 y 74,3 $\mu\text{g EAG g}^{-1}$ pf, respectivamente (Apéndice 2, Cuadro 2.13.). Al sexto día, solo los tratamientos con carvacrol presentaron un contenido fenólico significativamente alto en comparación con los testigos, presentando valores entre 64,1 y 67,2 $\mu\text{g EAG g}^{-1}$ pf (Apéndice 2, Cuadro 2.13).

En el día 9, los tratamientos 75 Ca y 100 Ca presentaron valores significativamente altos de compuestos fenólicos con respecto a los testigos, seguido de 150 Ca, los cuales presentaron valores de 70,3; 68,6 y 63,3 $\mu\text{g EAG g}^{-1}$ pf, respectivamente (Apéndice 2, Cuadro 2.13).

La relativa estabilidad del contenido fenólico en los tratamientos con carvacrol se debió probablemente al efecto directo de este AE, considerado como compuesto fenólico isoprenilo (Ochoa *et al.*, 2012).

3.4.5.2 Capacidad antioxidante

Todos los tratamientos tendieron a disminuir su capacidad antioxidante en el día 3 y a permanecer sin fluctuación en el tiempo de conservación, a diferencia del tratamiento BP que fue más afectado en los días 6 y 9 con respecto al inicio de la conservación (Figura 3.10).

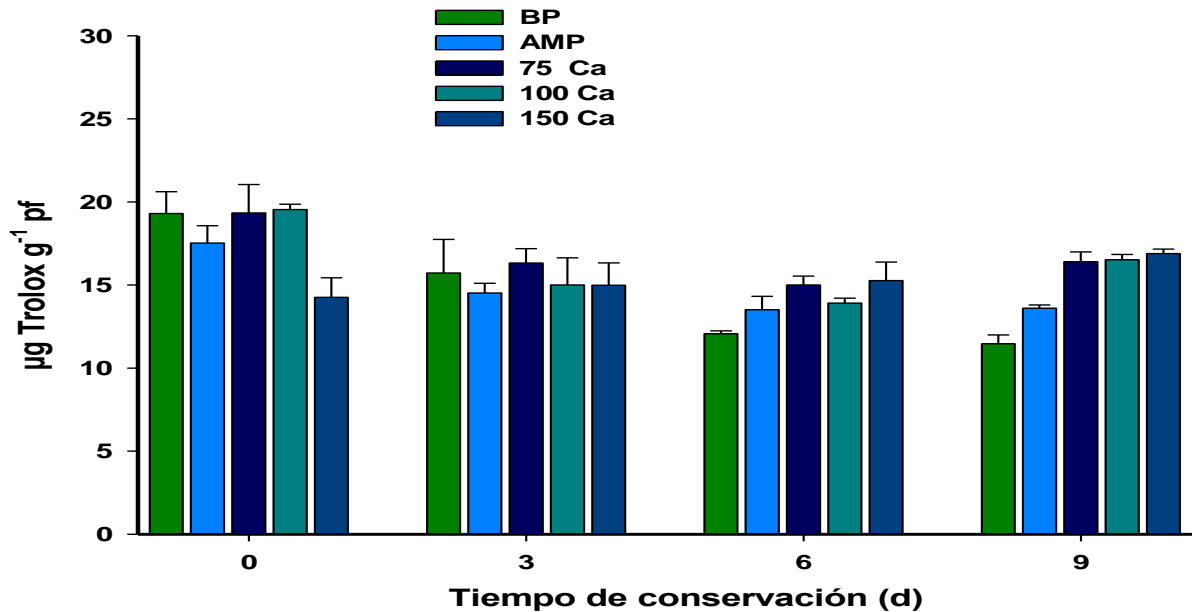


Figura 3.10. Evaluación de la capacidad antioxidante (DPPH) en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con carvacrol, durante 9 días a 5°C.

En el día 0 y 3 no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, presentando valores de 14,3 a 19,5 y 14,5 a 16,3 $\mu\text{g Trolox g}^{-1}$ pf, respectivamente (Apéndice 2, Cuadro 2.14).

En el día 6, sólo la capacidad antioxidante del tratamiento 150 Ca fue significativamente mayor (15,3 $\mu\text{g Trolox g}^{-1}$ pf) con respecto al testigo BP (12,1 $\mu\text{g Trolox g}^{-1}$ pf). Al finalizar el tiempo de conservación, los tratamientos con carvacrol presentaron valores significativamente altos de capacidad antioxidante, presentando valores promedios de 16,6 $\mu\text{g Trolox g}^{-1}$ pf, a diferencia de los tratamientos testigo BP y AMP que presentaron valores de 11,5 y 13,6 $\mu\text{g Trolox g}^{-1}$ pf, respectivamente (Apéndice 2, Cuadro 2.14).

Es posible que la estabilidad de la capacidad antioxidante al noveno día de conservación esté relacionada a la actividad antioxidante propia del carvacrol, de acuerdo con lo señalado por Guerra *et al.* (2008).

Resultados semejantes se obtuvieron en estudios realizados por Ochoa *et al.* (2012), quienes evaluaron la calidad de rodajas de manzana sumergidas en diferentes soluciones de aceite esencial de orégano y conservadas a 5°C, indicando que la aplicación de este aceite esencial incrementó significativamente la actividad antioxidante de la fruta.

La relación entre la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales de hojas de rúcula “baby”, inicialmente, no presentó correlación lineal significativa ($p < 0,05$), el coeficiente de Pearson estuvo entre 0,14 y 0,57 (Apéndice 2, Cuadro 2.15). Al finalizar el tiempo de conservación, se mostró que la capacidad antioxidante tuvo correlación significativa ($p < 0,05$) con el contenido de fenoles totales, resultados que concuerdan con la presencia de carvacrol.

Estos resultados concuerdan con los estudios de Odriozola *et al.* (2008), quienes encontraron que la capacidad antioxidante de rodajas de tomate se correlacionó bien con el contenido fenólico.

3.5 CONCLUSIONES

La atmósfera generada con el carvacrol contribuyó a retardar los efectos causados por la senescencia, conservando el color y apariencia de las hojas de rúcula “baby” en el tiempo de conservación evaluado, siendo posible asumir un mayor tiempo de vida útil.

El carvacrol en envases activos fue efectivo para retardar el desarrollo microbiano en hojas de rúcula “baby” en comparación con el testigo, aunque sus efectos beneficiosos se vieron disminuidos en el tiempo debido a la elevada carga microbiológica inicial. La mejor aplicación fue la de 75 μ L de carvacrol, obteniendo reducciones en RAM, enterobacterias y psicrótrofos.

Las características sensoriales de hojas de rúcula “baby” en envases activos con carvacrol no se vieron afectadas, manteniendo una adecuada apariencia y color. Sin embargo, en los tratamientos con las mayores dosis de carvacrol evaluadas el panel percibió un nivel bajo de sabores extraños.

El uso de envases activos con carvacrol redujo la pérdida de compuestos funcionales y mantuvo elevados niveles de capacidad antioxidante en el tiempo de conservación del producto.

**CAPITULO III: EFECTO COMBINADO DE LA LUZ UV-C Y
ENVASES ACTIVOS CON CITRAL Y CARVACROL SOBRE HOJAS
DE RÚCULA “BABY”**

RESUMEN

Existe una real necesidad de encontrar alternativas de conservación para hortalizas mínimamente procesadas, que mejoren la eficacia del lavado y eviten el uso de antimicrobianos sintéticos. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la luz UV-C como pre-tratamiento junto con envases activos con antimicrobianos naturales para la conservación de hojas de rúcula “baby”. Se evaluaron los efectos producidos sobre la concentración atmosférica, la calidad microbiológica, las variaciones de color y el impacto dado sobre el contenido de compuestos funcionales. Las hojas fueron lavadas y tratadas 4 min con luz UV-C (10 kJ m^{-2}) para luego ser envasadas en bolsas de polipropileno de baja permeabilidad con antimicrobianos naturales, conservándolas durante 9 días a 5°C . Los antimicrobianos se aplicaron en “sachet” (150 μL citral; 75 μL carvacrol; mezcla de 150 μL citral y 75 μL carvacrol) dentro de cada bolsa. También se incluyó un testigo sin tratar (BP) y un testigo con UV-C sin antimicrobiano. La concentración de O_2 en el tercer día disminuyó aproximadamente de 20% a 10% y en el noveno día hasta valores entre 0,5% y 3%. Las concentraciones de CO_2 aumentaron en todos los envases (excepto en BP), aproximadamente desde 1% a 8,0 % en el tiempo de conservación. Todos los tratamientos redujeron el recuento de RAM, enterobacterias y psicrótrofos entre 1 a 2 log UFC g^{-1} en comparación con el testigo sin tratar. La combinación de luz UV-C y la mezcla de antimicrobianos redujeron significativamente la carga microbiana durante 6 días. Los parámetros de color permanecieron estables en todos los tratamientos, a excepción del tratamiento BP que incrementó su luminosidad al final de la conservación. Visualmente las hojas no fueron afectadas pero se encontraron olores extraños con respecto al testigo, principalmente en los primeros días. El contenido de fenoles totales fue mayor en los tratamientos con UV-C y antimicrobianos naturales, y a su vez disminuyó al noveno día de conservación, a diferencia de la capacidad antioxidante que disminuyó paulatinamente. Los resultados sugieren que los envases activos con antimicrobianos naturales y luz UV-C podrían ser utilizados como una técnica innovadora para retrasar el crecimiento microbiano y mantener el color en rúcula “baby” mínimamente procesada.

ABSTRACT

Nowadays, there is a real need to find alternative means for preservation of fresh-cut vegetables, to improve washing efficiency and to avoid the use of synthetic antimicrobials. The objective of this work was to assess the effect of UV-C light used as a pre-treatment and active packaging with natural antimicrobials for arugula baby leaves. The effect on atmosphere evolution, microbiological quality, color changes and the impact on functional quality were evaluated. The leaves were washed, treated for 4 min with UV-C light (10 KJ m^{-2}), packed in low permeability polypropylene bags with a sachet containing natural antimicrobials and stored for 9 days at 5°C . The sachets contained the following essential oils: 150 μL citral; 75 μL carvacrol; mix of 150 μL citral y 75 μL carvacrol. Also, one untreated control and one UV-C treated control with no antimicrobial addition were included. The O_2 concentration decreased approximately from 20 to 10% on the third day and from 3 to 0,5% on the ninth day. The CO_2 concentration increased in all packages (except in the control BP) from 1% to 8,0% at the end of the storage period. All the treatments reduced the aerobic mesophilic, psychrotrophic bacteria and enterobacteria between 1 and 2 log CFU/g in comparison with the untreated control. The combination of UV-C light and the antimicrobial mix significantly reduced the microbial load during 6 days. Color parameters were maintained constant in all the treatments, except the BP treatment which increased lightness at the end of the storage. Visually, the leaves were no affected; whereas, strange odors were found compared with the control, especially on the first days. The total phenolic content was higher in the treatments with UV-C and natural antimicrobials, and it decreased on the ninth day of storage; conversely, the antioxidant capacity decreased gradually with time. The results suggest that active packaging with natural antimicrobials and UV-C light could be used as an innovative technique to delay the microbial growth and maintain the green color of baby arugula salads.

4.1 INTRODUCCIÓN

Las ensaladas mínimamente procesadas se encuentran entre los productos más solicitados, ya que proporcionan un alto valor nutricional, manteniendo su atractiva frescura. Es por ello que existe una real necesidad para encontrar alternativas para la conservación de las frutas y hortalizas mínimamente procesadas, para mejorar la eficacia del lavado y evitar el uso de antimicrobianos sintéticos. Se han propuesto alternativas o métodos modificados, como el envasado en atmósfera modificada, la adición de antimicrobianos naturales (AN) y la luz ultravioleta (Rico *et al.*, 2007).

La luz ultravioleta (UV) de onda corta (UV-C, 254 nm) puede ser considerada como una nueva tecnología para prolongar la vida postcosecha de frutas y hortalizas enteras y cortadas (Rivera *et al.*, 2007). Se puede reducir drásticamente la carga microbiana con la aplicación con un equipo relativamente económico y es considerada como una técnica, fácil de usar, sujeto a ciertas precauciones de seguridad por lo que fue recientemente aprobada por la Administración de Alimentos y Medicamentos de EE.UU. (FDA) (Bintsis *et al.*, 2000).

Se ha informado que dosis de 0,5 a 20 kJ m⁻² inhiben el crecimiento microbiano mediante la inducción de la formación de dímeros de pirimidina que distorsionan la hélice de ADN, llegando a causar la muerte celular, sin alterar la estructura de las células vegetales. La eficacia de la radiación UV-C parece ser independiente de la temperatura en el intervalo de 5 a 37 °C (Artés *et al.*, 2009).

Hay evidencia del efecto positivo del tratamiento de UV-C, lo cual aumenta las propiedades nutraceuticas de los alimentos y la síntesis de compuestos que actúan con los mecanismos de defensa natural de los vegetales expuestos a estrés (Cisneros, 2003). De igual forma Rivera *et al.* (2007) manifiestan que la aplicación de UV-C podría modificar las propiedades nutricionales de frutas y hortalizas, observando una acumulación de fitoalexinas y el incremento de algunas vitaminas y antioxidantes. Así como un incremento en la actividad de la enzima fenilalanina amino-liasas (PAL), precursora de compuestos fenólicos y ligninas.

Allende y Artés (2003a) estudiaron el efecto combinado de AMP y radiación UV-C (254 nm) en lechuga mínimamente procesada, demostrando reducir las poblaciones microbianas relacionadas con el deterioro y pudrición del producto. Pero también, encontraron efectos negativos como el aumento del estrés biológico, la tasa de respiración y la posible lignificación en el proceso, que cambia la apariencia de las muestras.

Otros estudios informan que la radiación UV-C inhibió el crecimiento microbiano, retrasando el deterioro y la senescencia del zapallo italiano (*Cucurbita pepo*) cortado en rodajas y conservado por 12 días a 5 y 10°C (Erkan *et al.*, 2001).

De igual forma Allende *et al.* (2006) ratifican que la aplicación de dosis altas de UV-C, como 7,11 kJ m⁻² y un almacenamiento en atmósfera modificada pasiva a 5°C por 10 días, fue efectivo para reducir la microflora natural de lechugas “roble rojo” mínimamente procesadas.

Sin embargo, se encuentran pocos estudios sobre la aplicación de UV-C y antimicrobianos naturales en hortalizas de hoja. Es por ello que el objetivo de este trabajo fue evaluar el envasado activo con antimicrobianos naturales (citral y carvacrol) aplicados por separado y en combinación dentro de bolsas con rúcula “baby” y aplicando luz UV-C (10 kJ.m^{-2}) como un pre-tratamiento, a fin de controlar el crecimiento microbiano durante la postcosecha y mantener la calidad general.

4.2 MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1 Lugar de estudio

El ensayo y las evaluaciones se realizaron en el Centro de Estudios Postcosecha (CEPOC) de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, localizados en la Av. Santa Rosa 11315, La Pintana, Región Metropolitana (R.M.).

4.2.2 Materiales

Se utilizaron hojas de rúcula “baby” (*Eruca sativa* var. Vitale), suministradas por la Sociedad Agrícola Oasis de Lampa Ltda., localizada en la comuna de Lampa, provincia de Chacabuco, R.M. Este lugar está geográficamente ubicado a 33° 16' 60" lat. Sur, 70° 54' long. Oeste y 753 msnm. Las hojas de rúcula “baby” fueron cosechadas en el mes de noviembre. Estas plantas crecieron por siembra directa y la forma de cosecha se encuentra detallada en la Sección Materiales y Métodos del Capítulo II.

La materia prima en el día de cosecha fue caracterizada tomando 30 hojas de rúcula “baby”, las cuales presentaron en promedio 6,1 g de peso, 9,6 cm de largo y 3,1 cm de ancho. El color presentó un valor de luminosidad de 44,6, con una saturación de 28,1 y de tono de 235,2 (Apéndice 3, Cuadro 3.1). La procedencia del citral y carvacrol, así como las especificaciones de las bolsas para envasado, como el sachet empleado se detallan en la Sección Materiales y Métodos del Capítulo II y III.

4.2.3 Metodología de proceso y tratamientos

Los procedimientos aplicados en las distintas etapas de procesamiento para hojas de rúcula “baby” son similares a los descritos en la Sección Procedimientos y Tratamientos del Capítulo II, a los que adicionalmente posterior al lavado y secado se aplicó luz UV-C. La Figura 4.1 muestra los procedimientos realizados en este ensayo.

Aplicación de luz UV-C

La cámara de luz UV-C utilizada estaba provista con 6 lámparas germicidas sin filtro de 36 W (TUV 36W/G36 T8, Philips, Holanda), 3 de ellas ubicadas en la parte superior y las otras 3 en la parte inferior a 18 cm de la rejilla central. Las hojas de rúcula fueron colocadas sobre la rejilla (1,3 x 0,5 x 0,7 m) de la cámara UV-C (Figura 4.2). Posteriormente se aplicó una dosis de 10 kJ.m⁻² de UV-C, en un tiempo de 4 minutos, la dosis fue seleccionada basándose en informes anteriores, la cual fue verificada con un radiómetro (Hinojosa *et al.*, 2013).

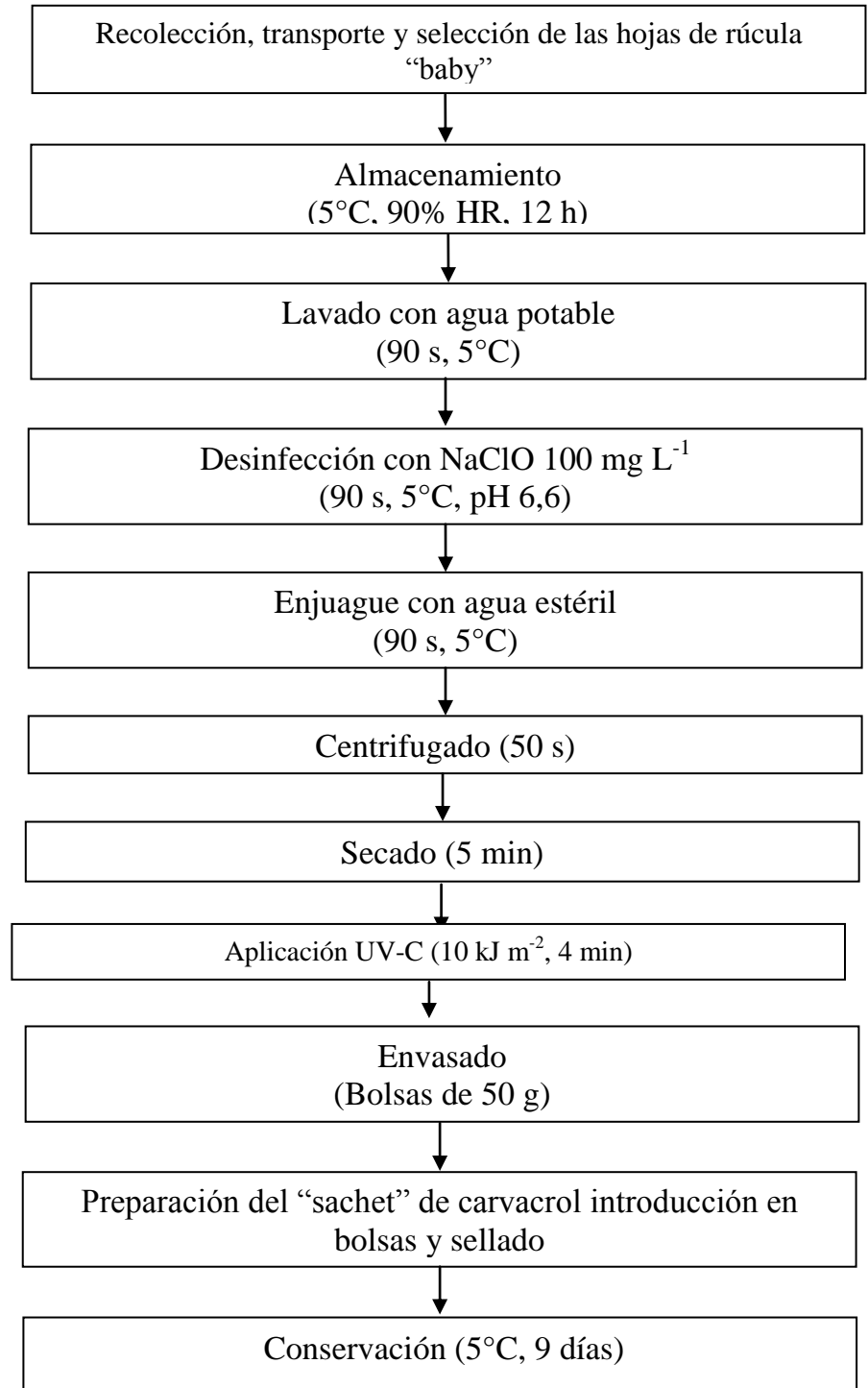


Figura 4.1. Diagrama de procesamiento de hojas de rúcula "baby" en combinación de luz UV-C y envases activos con citral y carvacrol.



Figura 4.2. Aplicación de luz UV-C

El tipo de envasado y las diferentes dosis aplicadas en los tratamientos se detallan en el siguiente Cuadro 4.1. Las dosis se seleccionaron en base a experimentos preliminares.

Cuadro 4.1. Tratamientos de luz UV-C y diferentes dosis de antimicrobianos naturales en hojas de rúcula “baby”.

Envasado	Dosis luz UV-C kJ m ⁻²	Concentración AN μL	Código de tratamientos
BP(testigo)	0	0	BP
UVC(testigo)	10	0	UVC
AMP	10	150	150 Ci
AMP	10	75	75 Ca
AMP	10	150+75	150Ci+75Ca

BP: Bolsa perforada.; AMP: Envasado en atmósfera modificada pasiva.

4.2.4 Análisis y evaluaciones en hojas de rúcula “baby”

4.2.4.1 Atmósfera modificada pasiva

La evolución de la concentración de CO₂ y O₂ al interior de cada bolsa se determinó con un analizador de gases manual (Checkpoint, PBI Dansensor, Ringsted, Dinamarca) y los valores se expresaron como porcentaje de CO₂ y O₂. La metodología que se siguió se encuentra detallada en la Sección Análisis y Evaluaciones en las hojas de rúcula “baby” del Capítulo II. Esta medición se realizó los días 1, 3, 6 y 9 posteriores al proceso.

4.2.3.2 Análisis microbiológico

Para el análisis de la calidad microbiológica, se muestrearon 10 g de rúcula “baby” de cada tratamiento y repetición los días 1, 3, 6 y 9. Se realizó un recuento de aerobios mesófilos, enterobacterias, psicrótrofos y adicionalmente de *E.coli*. La metodología utilizada se encuentra detallada en la Sección Análisis y Evaluaciones en las hojas de rúcula “baby” del Capítulo II.

4.2.3.3 Color

La metodología utilizada se encuentra detallada en la Sección Análisis y Evaluaciones en las hojas de rúcula “baby” del Capítulo II.

4.2.3.4 Determinación de la calidad sensorial

Se determinó la calidad sensorial a los días 1, 3, 6 y 9 de conservación. La metodología utilizada se encuentra detallada en la Sección Análisis y Evaluaciones en las hojas de rúcula “baby” del Capítulo II.

4.2.3.5 Compuestos funcionales

Contenido de fenoles totales

Para la determinación del contenido de fenoles totales se congelaron a -80°C muestras de 10 g de rúcula “baby” para su posterior análisis. Las muestras correspondieron a los días 1, 3, 6 y 9 de conservación, de cada tratamiento y repetición. La metodología utilizada se encuentra detallada en la sección compuestos funcionales del Capítulo II.

Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se midió por el método 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo hidratado (DPPH^{*}). La evaluación correspondió a los días 1, 3, 6 y 9 de conservación, de cada tratamiento y repetición, cuya metodología se encuentra detallada en la Sección de Compuestos Funcionales del Capítulo II.

Adicionalmente también se evaluó por el método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), donde la capacidad antioxidante de las hojas se evaluó como la capacidad para reducir Fe^{+3} a Fe^{+2} , según el método de Benzie y Strain (2006) con modificaciones. El reactivo empleado fue el TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina) (Sigma, Saint Louis, Missouri, EE.UU.), el cual es incoloro cuando está unido al Fe^{+3} , pero adquiere un color azulado al reducir de férrico a ferroso a bajo pH. La actividad antioxidante se midió en un espectrofotómetro (OPTIZEN, ARQUIMED Chile) a 593 nm cada 10 s por 5 min, observando el aumento de la absorbancia.

Las curvas de calibrado se realizaron empleando como estándar un análogo sintético de la vitamina E, conocido como Trolox (ácido-6- hidroxil- 2, 5, 7, 8 tetrametilcromano-2-carboxílico) (Sigma, Saint Louis, Missouri, EE.UU.).

Determinación de vitamina C

El contenido de vitamina C se determinó como ácido ascórbico (AA), siguiendo la metodología propuesta por Zapata y Dufour (1992) con modificaciones. Se homogenizaron 5 g de hojas con 8 ml de extractante (0,1 M ácido cítrico + 0,05% EDTA + 5% MeOH + 95% agua + 4mM NaF). Luego se filtró por gasa y filtro Millipore de 0,45 micras estandarizando a un pH de 2,2 a 2,4. El derivatizante empleado fue el ortofenilén diamina (OPDA) y la muestra fue analizada utilizando un cromatógrafo HPLC (Agilent Technologies

1200 series, EE.UU.) a 261 nm. Se logró separar el AA en una columna de Kromasil 100-5C18 (250 x 4,6 mm; Akzonobel, Barcelona, España). La fase móvil fue de MeOH / H₂O (5:95 v/v) con 5 mM cetrimida y 50 mM de fosfato dihidrógeno de potasio a pH 4,5. Se detectó a una longitud de onda de 261 nm.

Se utilizó para la cuantificación una curva estándar de L -ácido ascórbico puro (Sigma, Saint Louis, Missouri, EE.UU). Los resultados se expresaron como µg de ácido ascórbico por g de peso fresco. La vitamina C se analizó los días 1, 3 y 9 de conservación.

4.3 DISEÑO DE EXPERIMENTOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado (DCA) con cinco tratamientos y tres repeticiones (Cuadro 4.1). La unidad experimental correspondió a una bolsa de 50 g de hojas de rúcula “baby”.

Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) con un 5% de significancia, y en caso de existir diferencias significativas entre los tratamientos se aplicaron pruebas de comparaciones múltiples de Tukey mediante el software estadístico InfoStat (versión 2008, Grupo InfoStat, FCA, Argentina). Las variables a evaluar fueron la concentración de gases al interior de las bolsas, el color de las hojas, la calidad sensorial, los recuentos microbiológicos, el contenido de fenoles y la actividad antioxidante. Se analizó la correlación de compuestos funcionales para determinar relación o dependencia.

4.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.4.1 Atmósfera modificada pasiva

La Figura 4.3 muestra la evolución de la concentración de gases al interior de las bolsas de rúcula "baby" durante el tiempo de conservación, la cual refleja un incremento de CO₂ y una fuerte disminución del O₂ principalmente en los tratamientos con UV-C y antimicrobianos naturales con respecto al tratamiento testigo BP. El tratamiento testigo BP presentó de 1,0 a 1,7 % CO₂ y 19,4 % O₂, naturalmente por el intercambio con la atmósfera externa.

En el día 1, el CO₂ en los tratamientos con UV-C y antimicrobianos naturales presentaron concentraciones entre 0,9 a 1,5 %. Posteriormente, en el día 3 se observaron diferencias significativas entre el tratamiento testigo BP y los tratamientos con la aplicación de UV-C el cual fue significativamente menor, a la vez los tratamientos con UV-C y aplicación de antimicrobianos naturales no mostraron diferencias significativas entre sí. El mismo efecto se presentó en el día 9, donde los tratamientos con UV-C presentaron valores alrededor del 8,0 % CO₂ (Apéndice 3, Cuadro 3.2).

Con respecto al O₂, inicialmente los tratamientos presentaron una concentración entre 19,2 y 19,9 % que paulatinamente fue disminuyendo, sin alcanzar la atmósfera de equilibrio. Posteriormente los tratamientos con UV-C en los días 3, 6, 9 registraron valores promedios de 11,3; 3,9 % y 1 % de O₂ (Apéndice 3, Cuadro 3.3).

Los cambios atmosféricos al interior de la bolsa son causados por la respiración de los tejidos vegetales y las tasas de difusión de los gases a través de la película (Gil et al., 1998). En este estudio se observó que los tratamientos con UV-C tuvieron un descenso del O₂ más rápido que los tratamientos AMP en los ensayos 1 y 2, probablemente por un aumento en la tasa de respiración de las hojas de rúcula "baby" en respuesta al estrés provocado por la luz UV-C.

Allende y Artés (2003) señalan que cuando se aumentó las dosis de radiación UV-C en lechuga fresca cortada, se observaron aumentos significativos de la tasa de respiración, induciendo a mayores concentraciones de CO₂ y consumo de O₂ en las bolsas almacenadas a 5°C.

Este aumento de la respiración por UV-C se debería a que en los tejidos de las plantas dañadas se altera la permeabilidad de la membrana y presentan un aumento en la frecuencia respiratoria (Erkan *et al.*, 2001). Asimismo, Tardón *et al.* (2011) observaron que brotes de alfalfa tratados con diferentes dosis de radiación UV-C (0,35; 5,26 y 10,18 kJ. m⁻²), presentaron inmediatamente tasas respiratorias más altas en comparación al testigo, cuyo producto fue almacenado 8 días a 5 °C.

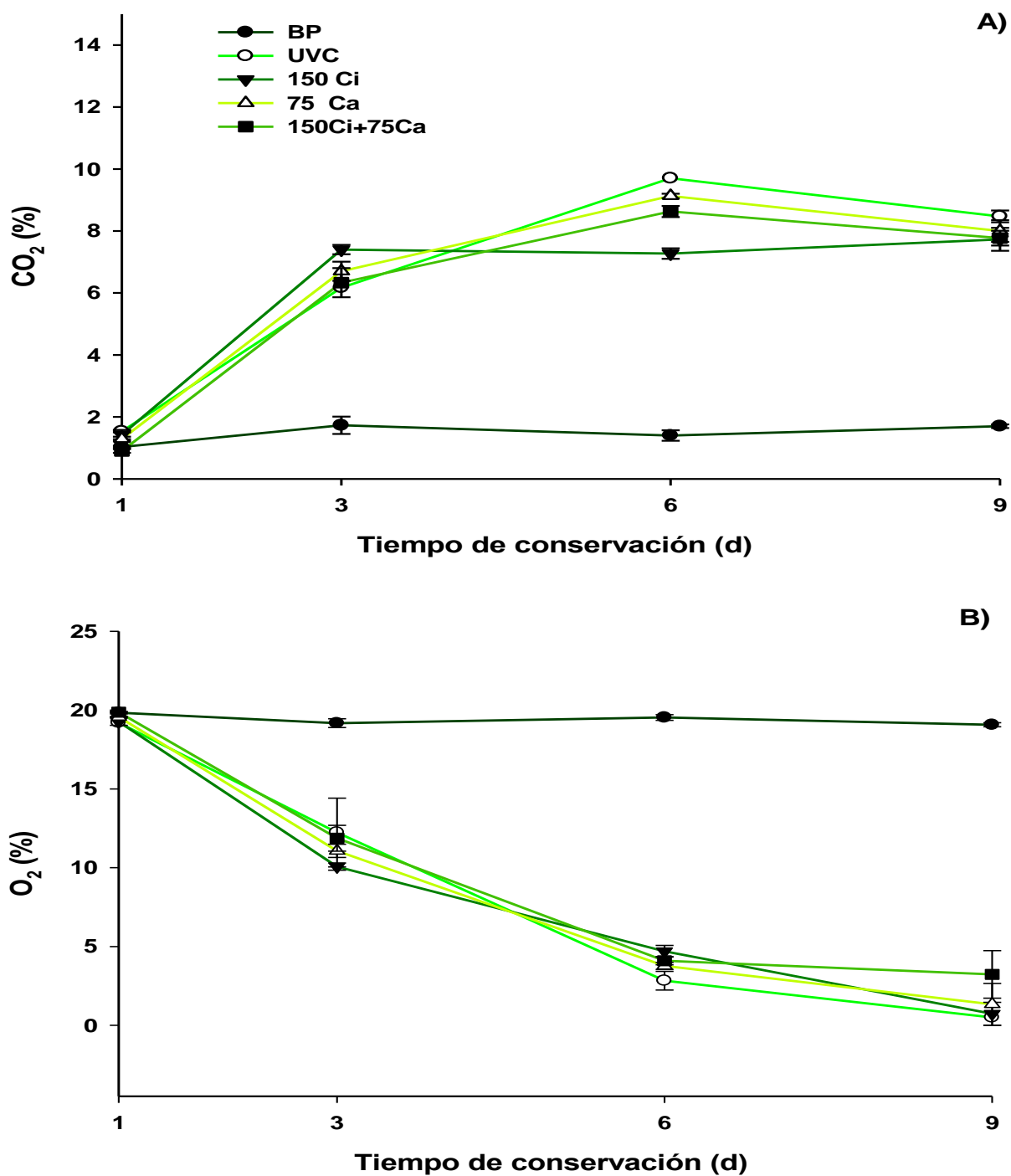


Figura 4.3. Evolución de la concentración de CO₂ (A) y consumo de O₂ (B) en bolsas de rúcula “baby” almacenadas en envases activos con antimicrobianos naturales y UV-C, durante 9 días a 5°C.

4.4.2 Análisis microbiológico

4.4.2.1 Recuento de aerobios mesófilos

En el tiempo de conservación todos los tratamientos aumentaron significativamente el recuento de aerobios hasta el sexto día, a partir del cual permaneció estable (Figura 4.3). Todos los tratamientos se encontraron con niveles dentro del Reglamento Sanitario de los Alimentos (D.S. N° 977/2012; Anexo III).

En el día 1, los tratamientos con UV-C presentaron diferencias significativas con respecto al tratamiento testigo BP mostrando recuentos significativamente menores. A su vez, el tratamiento de UV-C con la mezcla combinada de antimicrobianos (150Ci+75Ca) mostró la mayor reducción significativa de 1,6 unidades logarítmicas con respecto al testigo BP (Apéndice 3, Cuadro 3.4). Resultados similares se presentaron al tercer día donde los tratamientos con antimicrobianos naturales resultaron ser más efectivos con respecto a los tratamientos testigos.

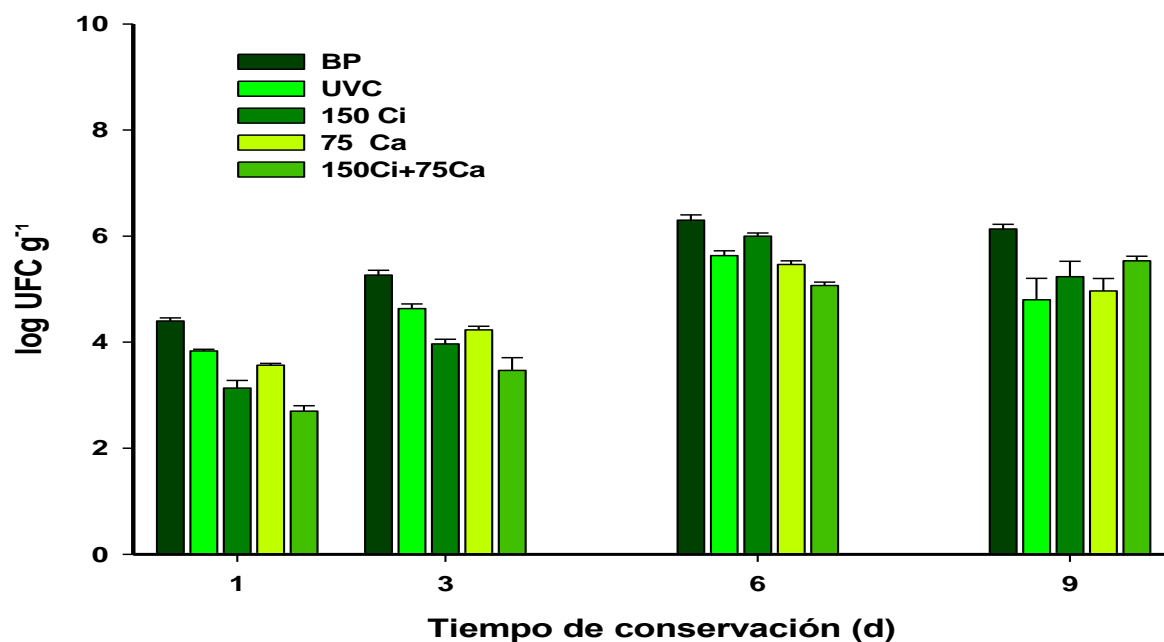


Figura 4.3. Recuento de aerobios mesófilos en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con antimicrobianos naturales y UV-C, durante 9 días a 5°C.

En el día 6, los tratamientos BP y 150 Ci presentaron recuentos significativamente altos promediando $6,2 \log \text{ UFC g}^{-1}$, seguido del tratamiento testigo UV-C y la aplicación de $75 \mu\text{L}$ de carvacrol. Sin embargo, la combinación de antimicrobianos (150Ci+75Ca) continuó siendo más efectiva, presentado reducciones de 1,2 y 0,5 log con respecto a los testigos (BP y UVC). En el día 9, los tratamientos con UV-C y antimicrobianos naturales presentaron recuentos significativamente menores con respecto al tratamiento testigo BP y se alcanzó una reducción de 1,0 unidad logarítmica (Apéndice 3, Cuadro 3.4).

4.4.2.2 Recuento de enterobacterias

Durante el almacenamiento los recuentos de enterobacterias aumentaron paulatinamente en todos los tratamientos (Figura 4.5). En el día 1, los tratamientos con UV-C y antimicrobianos naturales presentaron recuentos entre 2,5 y 3,4 log UFC g⁻¹, recuentos significativamente menores con respecto al tratamiento testigo BP, que presentó un recuento de 4,5 log UFC g⁻¹. A su vez, el tratamiento con la mezcla de AN obtuvo reducciones significativas de más de 2 ciclos logarítmicos respecto al testigo BP (Apéndice 3, Cuadro 3.5).

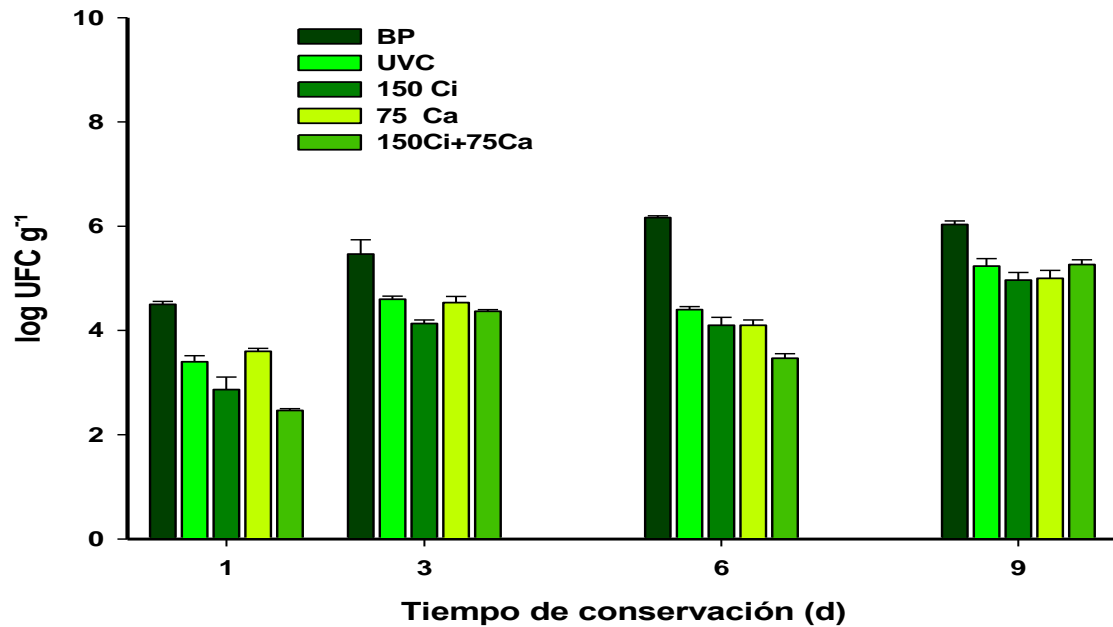


Figura 4.5. Recuento de enterobacterias en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con antimicrobianos naturales y UV-C, durante 9 días a 5°C.

Del mismo modo, en el tercer día y hasta el noveno, los tratamientos con UV-C y envases activos presentaron recuentos de enterobacterias significativamente menores en comparación con el tratamiento testigo BP, alcanzando reducciones promedios de 1,4; 1,8 y 0,9 unidades logarítmicas, respectivamente. Cabe destacar que en el sexto día, el tratamiento 150Ci+75Ca presentó reducciones de hasta 2,7 unidades logarítmicas con respecto al tratamiento testigo BP (Apéndice 3, Cuadro 3.5).

4.4.2.3 Recuento de *E. coli*

Al aumentar el tiempo de conservación también aumentó el recuento de *E. coli* (Figura 4.6). Inicialmente no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos con UV-C y el testigo BP, a excepción del tratamiento 150Ci+75Ca, que fue significativamente menor con respecto al tratamiento testigo BP, mostrando reducciones de 3,4 unidades logarítmicas (Apéndice 3, Cuadro 3.6). Sin embargo, solo los tratamientos con la aplicación de

antimicrobianos naturales se encontraron dentro de los límites microbiológicos dados en el Reglamento Sanitario de los Alimentos (D.S. N° 977/2012; Anexo III).

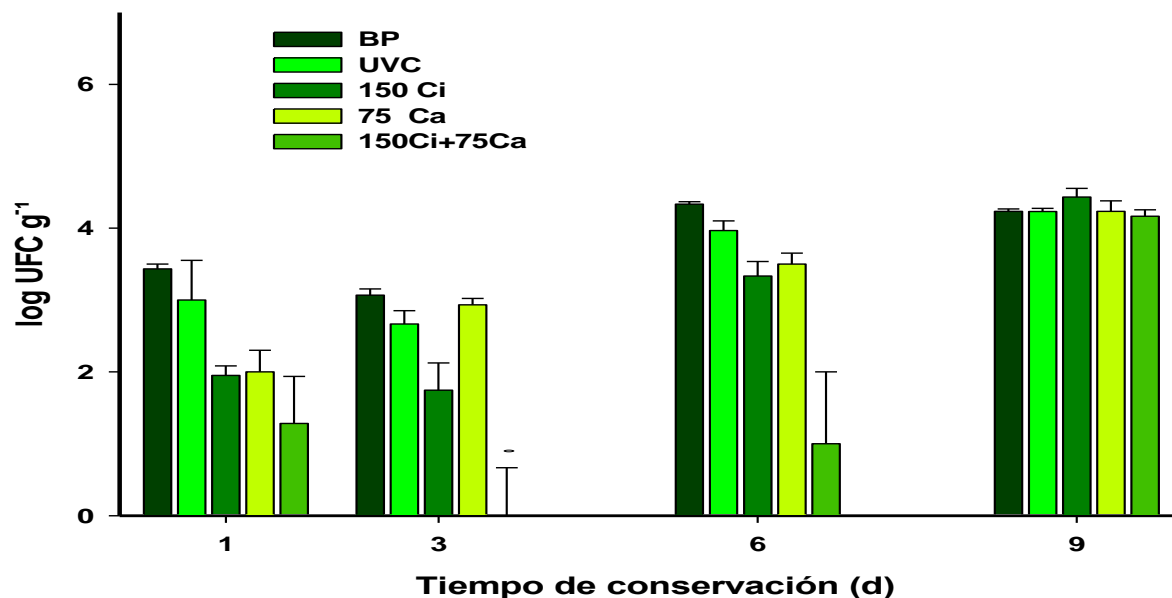


Figura 4.6. Recuento de *E.coli* en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con antimicrobianos naturales y UV-C, durante 9 días a 5°C.

En el día 3 y 6 el tratamiento 150Ci+75Ca presentó valores significativamente menores con respecto a los otros tratamientos, alcanzando reducciones de 2,0 y 3,3 unidades logarítmicas con respecto al tratamiento BP, respectivamente. Los demás tratamientos no presentaron diferencias significativas entre sí y a su vez sobrepasaron los límites microbiológicos en el Reglamento Sanitario de los Alimentos (D.S. N° 977/2012; Anexo III).

Al finalizar el tiempo de conservación no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos testigos y los envases con la aplicación de antimicrobianos naturales, en este período todos los tratamientos sobrepasaron los límites propuestos en el Reglamento Sanitario de los Alimentos (D.S. N° 977/2012; Anexo III).

4.4.2.4 Recuento de psicrótrofos

En el día 1, la aplicación de UV-C resultó ser efectiva presentando recuentos significativamente menores con respecto al tratamiento testigo BP. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre las diferentes dosis de antimicrobianos naturales (Figura 4.7; Apéndice 3, Cuadro 3.7).

En el tercer día de evaluación el tratamiento testigo BP presentó un recuento significativamente mayor ($4,3 \log \text{ UFC g}^{-1}$), mientras que los tratamientos con UV-C y

antimicrobianos naturales presentaron recuentos entre 2,6 a 3,3 log UFC g⁻¹, a su vez la aplicación de 150 Ci fue más efectiva con respecto a los testigos (Apéndice 3, Cuadro 3.7).

En el sexto día la combinación de antimicrobianos fue el tratamiento más efectivo y presentó el menor recuento, alcanzando reducciones de hasta 2,2 unidades logarítmicas con respecto al tratamiento testigo BP (Apéndice 3, Cuadro 3.7). En el último día de conservación se encontraron diferencias significativas entre el testigo BP y los tratamientos con UV-C, con los que se alcanzaron reducciones entre 0,5 y 0,7 unidades logarítmicas.

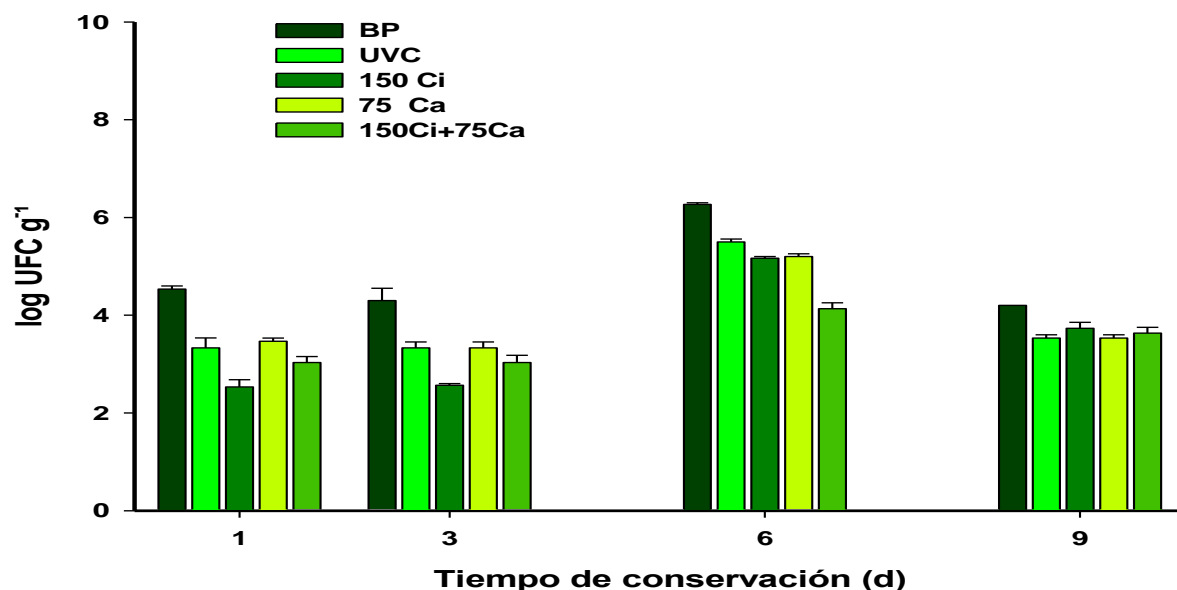


Figura 4.7. Recuento de psicrótrofos en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con antimicrobianos naturales y UV-C, durante 9 días a 5°C.

La efectividad de la luz UV-C en cuanto a mesófilos aerobios, se ve reportada en estudios realizados por Alegría *et al.* (2012), quienes señalan que la aplicación de UV-C (0,78 kJ m⁻²) en zanahorias ralladas almacenadas a 5°C por 10 días, logró una reducción de 1,7 ciclos log en comparación con la carga inicial de este microorganismo, siendo tan eficaz como la descontaminación con cloro. Pero también señala que el recuento aumentó en el séptimo día de conservación, sin encontrar diferencias significativas con respecto al tratamiento control, resultados semejantes a los obtenidos en este estudio.

Para enterobacterias y bacterias psicrótrofas los tratamientos con UV-C y la combinación de antimicrobianos naturales fue efectiva hasta el noveno día de conservación, lo cual fue similar a lo obtenido por Allende y Artés (2003b), los que indican que la aplicación de la dosis de UV-C (8,14 kJ m⁻²) fue efectiva para controlar el desarrollo de psicrótrofos hasta el octavo día en trozos de lechuga fresca.

Estas diferencias se deben posiblemente a que la mayoría de los microorganismos tienen un sistema reparador de ADN que puede eliminar dímeros de pirimidina. Este proceso de reparación, a menudo presenta su propio conjunto de mutaciones en el ADN que pueden

afectar la viabilidad y/o la tasa de crecimiento de las células microbianas (Allende *et al.*, 2006). Esta misma razón podría justificar lo sucedido en el recuento de *E. coli* al finalizar la conservación.

Por otro lado, estudios *in vitro* realizados por Gutiérrez *et al.* (2008) indican que la combinación de orégano con tomillo presentó una mayor eficacia que al aplicarlo por separado, frente a cuatro agentes patógenos estudiados (*B. cereus*, *E. coli*, *L. monocytogenes* y *P. aeruginosa*). Burt (2004) manifiesta que este efecto puede deberse a que los grupos hidroxilo mejoran la eficacia del AN y que la mezcla puede tener un efecto sinérgico o potenciador a causa de su composición, y como resultado las combinaciones pueden mejorar la eficacia porque cada uno afecta a distintos sitios del microorganismo. En este caso se combinó un terpenoide (citral) con un polifenol (carvacrol) lo que confirmaría que la mezcla de citral y carvacrol podría ser más efectiva contra la carga microbiana de hojas de rúcula “baby”.

Sin embargo, el mecanismo de acción, así como la composición de antimicrobianos naturales merece ser estudiado con más detalle a fin de aclarar por qué las combinaciones de antimicrobianos naturales con una actividad antimicrobiana moderada producen efectos sinérgicos (Lambert *et al.*, 2001).

Factores como una adecuada AMP y reducida carga microbiana se ven reflejados en la efectividad de los tratamientos, principalmente en los primeros días de conservación (Artés, 2006).

4.4.3 Color

4.4.3.1 Luminosidad (L^*_{ab})

En el tiempo de conservación no se encontraron variaciones significativas de L^* (Figura 4.8). En los días 1, 3 y 6 no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, las hojas de rúcula “baby” presentaron un promedio de L^* de 46,1; 45,8 y 46,7, respectivamente (Apéndice 3, Cuadro 3.8). El último día de conservación se observaron diferencias significativas entre el tratamiento testigo BP con respecto a los tratamientos con UV-C y antimicrobianos naturales, presentando valores significativamente más altos. Este aumento se tradujo en hojas más claras en contacto con el aire.

4.4.3.2 Saturación (C^*)

En cuanto a la saturación, no se presentaron diferencias significativas en el transcurso del periodo de conservación y de igual forma entre tratamientos evaluados. Inicialmente se presentó un rango de 23,5 a 24,5 y al finalizar el almacenamiento un rango entre 24,9 y 27,1 (Figura 4.8; Apéndice 3, Cuadro 3.8).

4.4.3.3 Tono (H_{ab})

Los valores de tono no presentaron diferencias significativas en el transcurso del tiempo de conservación y de igual forma entre tratamientos. Esto significa que no hubo cambio en la intensidad color verde con la aplicación de antimicrobianos naturales y UV-C durante la conservación (Figura 4.8; Apéndice 3, Cuadro 3.8).

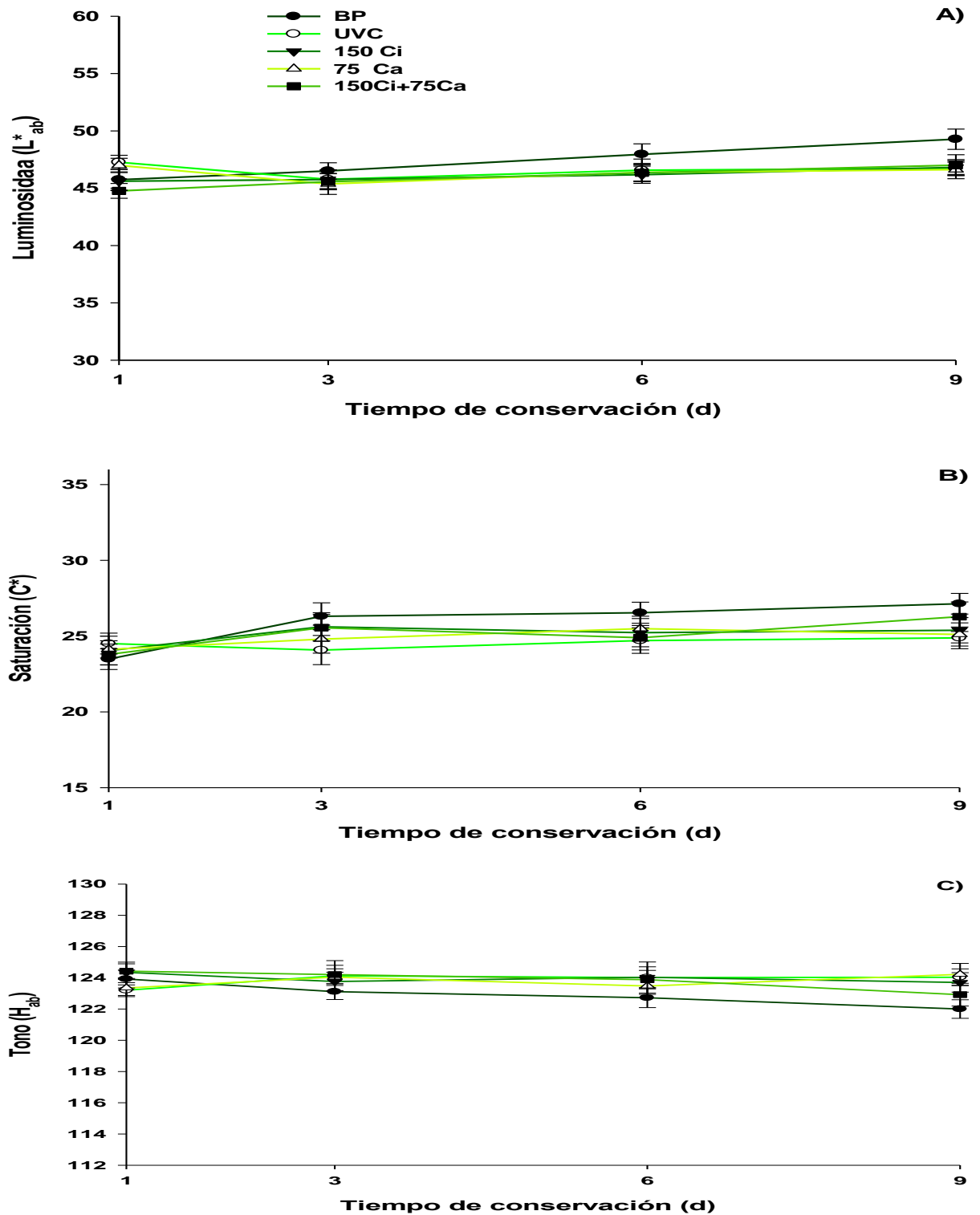


Figura 4.8. Evaluación de los parámetros de color L^*_{ab} (A), C^* (B) y H_{ab} (C) en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con antimicrobianos naturales y UV-C, durante 9 días a 5°C.

En la Figura 4.9 se indica la diferencia total de color (ΔE_{00}) en función del tiempo de conservación en hojas de rúcula “baby”. Valores mayores a 3 indica una diferencia total del color, independientemente de los valores de L^*_{ab} (Sharma, 2004). El tratamiento BP presentó ΔE_{00} observables a partir del día 6, a diferencia de los demás tratamientos que no presentaron ΔE_{00} en el tiempo de conservación, datos que se presentan en el Apéndice 3, Cuadro 3.9.

Estudios realizados por Lemoine *et al.* (2007) ratifican que con la aplicación de luz UV-C (8 kJ m^{-2}) se retrasó el amarillamiento de brócolis mínimamente procesado, encontrando valores más altos de tono y valores más bajos de L^*_{ab} . Estos resultados se asemejan a los encontrados en el último día de conservación.

Del mismo modo, Costa *et al.* (2006) observaron en brócolis sometidos a elevadas temperaturas de almacenamiento que los niveles de clorofila a y b se redujeron después de 4 días a $20 \text{ }^\circ\text{C}$. Sin embargo, con la aplicación de luz UV-C (10 kJ m^{-2}) se retrasó la degradación de la clorofila tanto a como b. Esto se debería a que con luz UV-C se puede inducir diferentes respuestas bioquímicas como la disminución de la actividad de las enzimas clorofilasa y Mg-desquelatasa, dos de las enzimas implicadas en el catabolismo de la clorofila (Costa *et al.*, 2006).

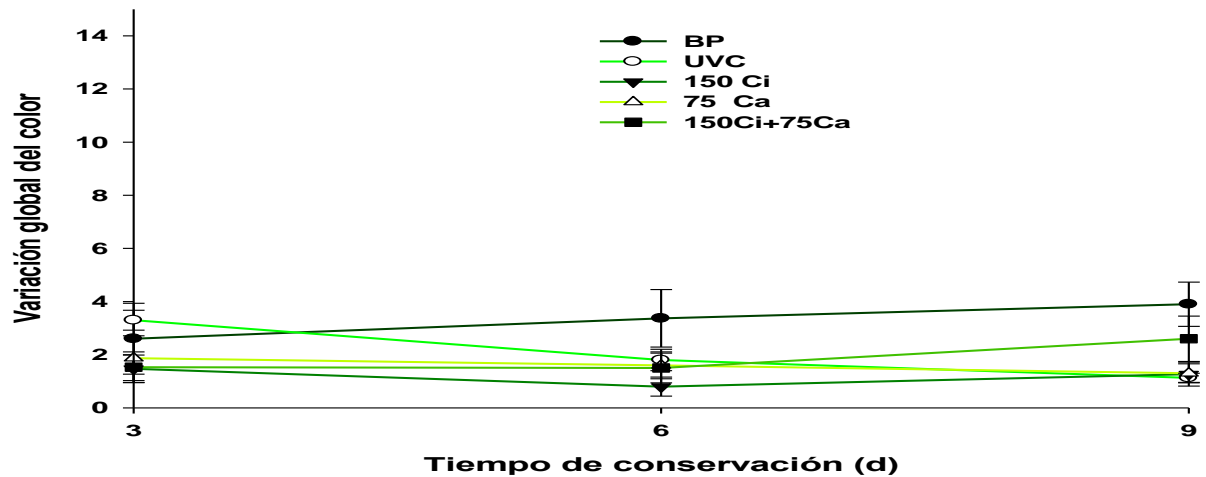


Figura 4.9. Evaluación de la variación global del color en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con antimicrobianos naturales y UVC, durante 9 días a 5°C .

4.4.4 Evaluación sensorial

4.4.4.1 Apariencia

La apariencia de las hojas de rúcula “baby” no presentó diferencias significativas en el tiempo de conservación. En el día de proceso no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos con la aplicación de UV-C y el tratamiento testigo BP, a su vez la

aplicación de antimicrobianos naturales no afectó la apariencia. Los jueces evaluaron las muestras en un rango de 12,5 a 13,7 puntos (Apéndice 3, Cuadro 3.10).

De igual forma, no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en los días 3, 6 y 9 presentando valores promedios de 11,8; 12,0 y 10,9, respectivamente. Estos rangos califican al producto en un rango de apariencia “buena” hasta el noveno día de almacenamiento (Apéndice 3, Cuadro 3.10).

4.4.4.2 Intensidad del color

Este atributo no presentó diferencias significativas en el tiempo de conservación y a su vez entre tratamientos (Figura 4.10; Apéndice 3, Cuadro 3.11) Con excepción del día 3, donde el tratamiento 150 Ci presentó una mayor intensidad del color verde, con respecto a los tratamientos testigos (BP y UVC). Los rangos presentados estuvieron sobre la media aceptable durante el tiempo de conservación y son valores que se relacionan con el color medido.

4.4.4.3 Olores extraños

La percepción de olores extraños no varió de forma significativa en el transcurso del tiempo. En día 1, los jueces consideraron a los tratamientos testigos (BP y UVC) como productos sin olores extraños. Mientras que el tratamiento 150 Ci presentó olores extraños significativamente más altos, asemejándolo al limón (Apéndice 3, Cuadro 3.12).

En el día 3 los tratamientos testigos (BP y UVC) y 75 Ca fueron considerados como productos no afectados con la presencia de olores extraños; sin embargo, 150 Ci y 150Ci+75Ca presentaron valores superiores.

Al sexto día el tratamiento 150 Ci fue considerado como el tratamiento con la presencia de olores extraños, significativamente más alta que el testigo BP. Al finalizar el almacenamiento los tratamientos no presentaron diferencias significativas, manteniendo valores dentro de un rango de “no afectado”, posiblemente por la volatilidad de los antimicrobianos.

4.4.4.4 Turgencia

En los días 0 y 3 no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, presentando valores promedio de 8,5 y 9,2, respectivamente (Apéndice 3, Cuadro 3.13). La turgencia fue evaluada solo hasta el tercer día, pues en ensayos anteriores existió el riesgo que los tratamientos superan los límites máximos del Reglamento Sanitario de los Alimentos (D.S. N° 977/2012; Anexo III).

4.4.4.5 Sabor extraño

Las hojas de rúcula “baby” en el día 1 y 3 no presentaron diferencias significativas entre tratamientos, considerando la presencia de sabores extraños en un rango entre 1,8 y 2,7 y entre 3,0 y 4,1 respectivamente, valores calificados en el rango de “no afectado” (Apéndice

3, Cuadro 3.13). Este parámetro al igual que la turgencia se determinó solo hasta el día 3, por las mismas causas descritas anteriormente.

La medición instrumental de color coincidió con el color de la evaluación sensorial informada por el panel de 10 jueces.

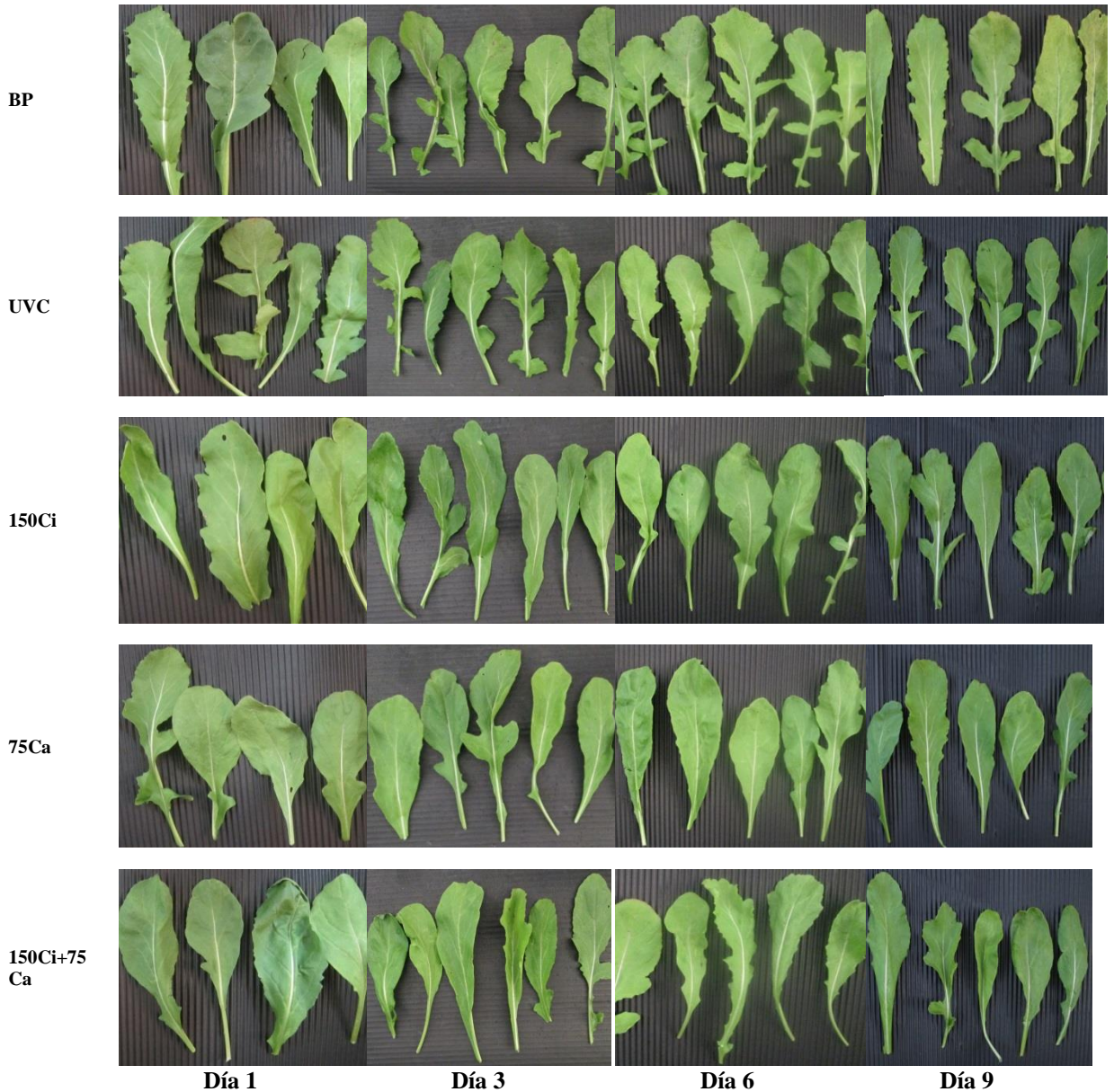


Figura 4.10. Variación del color en el transcurso del tiempo de hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con antimicrobianos naturales y UV-C, durante 9 días a 5°C.

En el presente estudio los resultados de la evaluación sensorial son similares a los obtenidos por otros autores, los cuales encontraron efectos beneficiosos de la luz UV-C relacionados principalmente con el retraso de la senescencia. Posiblemente porque se estimulan reguladores como las poliaminas en respuesta al estrés, sosteniendo que estos reguladores suprimen la degradación de la pared celular (Shama *et al.*, 2005).

Estudios en rebanadas de zapallo italiano (*Curcubita pepo* L.) sometidos a UV-C ($11 \text{ J} \cdot \text{m}^{-2}$) ratifican que no se encontraron daños sensoriales con la aplicación de luz UV-C después de 12 días a 5°C (Neves *et al.*, 2012). De igual forma Allende y Artés (2003a) evaluaron la textura, sabor y apariencia de lechugas Red Oak Leaf a las que se aplicó dosis de 0,4 a $8,14 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2}$, observando buenos valores hasta el séptimo día, sin diferencias significativas entre los distintos tratamientos. Sin embargo, Artés *et al.* (2008) indicaron que la aplicación de $7,94$ a $11,35 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2}$ de UV-C en hojas de espinaca mostró síntomas de deshidratación excesiva a los 10 días de almacenamiento refrigerado.

Por otro lado, Artés (2006) manifestó que la presencia de anaerobiosis (O_2 menor al 1%) puede causar la presencia de olores anómalos debido a la acumulación de etanol y acetaldehído, lo que puede explicar el inicio de la presencia de olores desagradables, indicando que dependiendo del producto, esto puede retardarse por algunos días más pero no por semanas, lo que puede explicar el inicio de la presencia de aromas desagradables.

Resultados semejantes en envases activos fueron reportados por Muriel *et al.* (2013) quienes indicaron que el octavo día de almacenamiento, no se registraron diferencias significativas de olor, apariencia, textura y aceptación general en bolsas ensaladas MPF con antimicrobianos (aceite esencial de orégano y citral).

4.4.5 Compuestos funcionales

4.4.5.1 Contenido de fenoles totales

En el tiempo de conservación los tratamientos BP, UVC, 150Ci y 75Ca presentaron un aumento en el contenido de fenoles totales en el tercero y sexto día de conservación, volviendo a disminuir en el noveno día (Figura 4.11).

En el día 1, no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, se registraron valores entre $91,1$ y $106,2 \mu\text{g EAG g}^{-1} \text{ pf}$ (Apéndice 3, Cuadro 3.14). En el tercer día, el tratamiento 150Ci+75Ca presentó el mayor contenido de fenoles, con un valor de $127,4 \mu\text{g EAG g}^{-1} \text{ pf}$. Al sexto día, el tratamiento testigo BP presentó el menor contenido con respecto al tratamiento 150Ci+75Ca que presentó el valor de $135,54 \mu\text{g EAG g}^{-1} \text{ pf}$, los demás tratamientos no presentaron diferencias significativas entre sí (Apéndice 3, Cuadro 3.14).

Al noveno día de conservación, el tratamiento testigo BP presentó un menor contenido de fenoles totales con respecto a los productos tratados con UV-C y en AMP; a su vez, no se observaron diferencias significativas en los envases con antimicrobianos naturales (Apéndice 3, Cuadro 3.14).

Estudios sugieren que el tratamiento con UV-C ha estimulado la síntesis de la enzima fenilalanina amonio-lisa, que es clave en la síntesis de fenilpropanoides, y da lugar a la formación de fenoles, fitoalexinas y ligninas (Rivera *et al.*, 2007). Por lo que la aplicación de luz UV-C resultaría ser efectiva para inducir la acumulación de fenoles; sin embargo, en el presente estudio es a partir del tercer día donde se observaron los efectos señalados con la aplicación de luz UV-C.

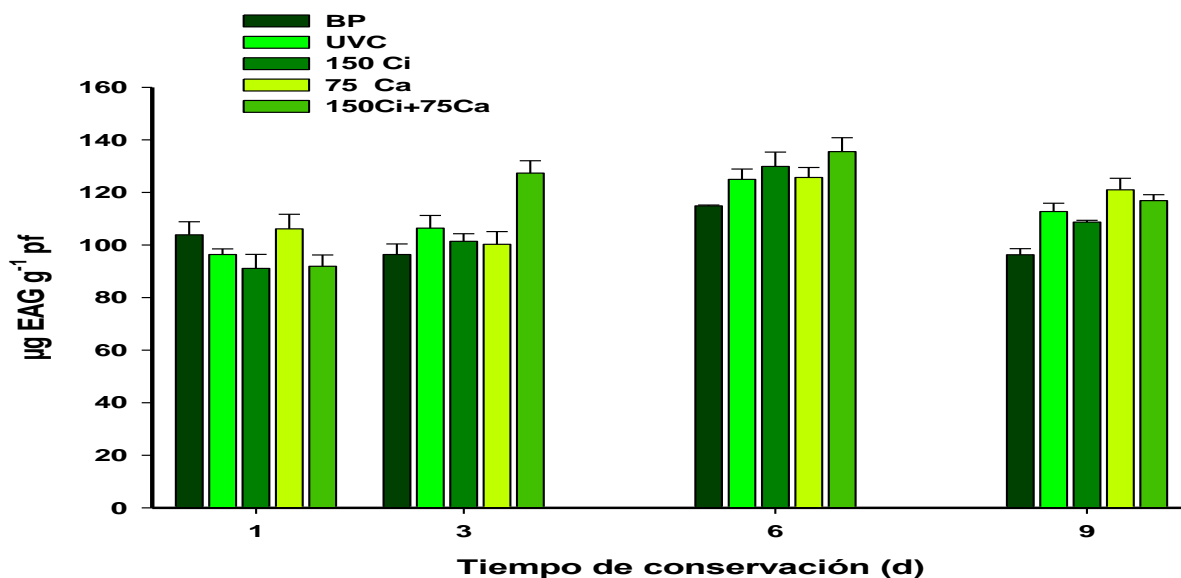


Figura 4.10. Evaluación del contenido de fenoles totales en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con antimicrobianos naturales y UV-C, durante 9 días a 5°C.

Lemoine *et al.* (2007) observaron en brócolis mínimamente procesados almacenados durante 21 días a 4°C, que el contenido de compuestos fenólicos se mantuvo constante hasta el día 14 y se incrementó en 21 días en los tratamientos con aplicación luz UV-C (8 kJ m⁻²). Sin embargo, estas afirmaciones contrastan con lo observado por Costa *et al.* (2006), quienes señalan que el contenido de fenoles totales en cabezas de brócoli almacenadas por 6 días a una temperatura de 20°C, solo aumentó el primer día de haber aplicado luz UV-C (10 kJ m⁻²) y que posteriormente no tuvo efecto con respecto al tratamiento control.

Por el contrario, Artés *et al.* (2008) indicaron que el efecto de la aplicación de UV-C (0; 4,54; 7,94 y 11,35 kJ m⁻²) en hojas de espinaca almacenada durante un período de 13 días a 5 y 8°C no fue significativo sobre el contenido de fenoles totales, también observó una disminución gradual sobre todo después de 10 días.

4.4.5.2 Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante analizada por medio del ensayo DPPH* disminuyó significativamente al final del tiempo de conservación en comparación con el día de inicio, a diferencia del tratamiento 150 Ci, que permaneció estable en el tiempo. En el día 1 los tratamientos con UV-C no presentaron diferencias significativas con respecto al tratamiento control en BP, se registraron valores entre 24,9 y 34,4 $\mu\text{g Trolox g}^{-1}$ pf (Figura 4.12; Apéndice 3, Cuadro 3.15).

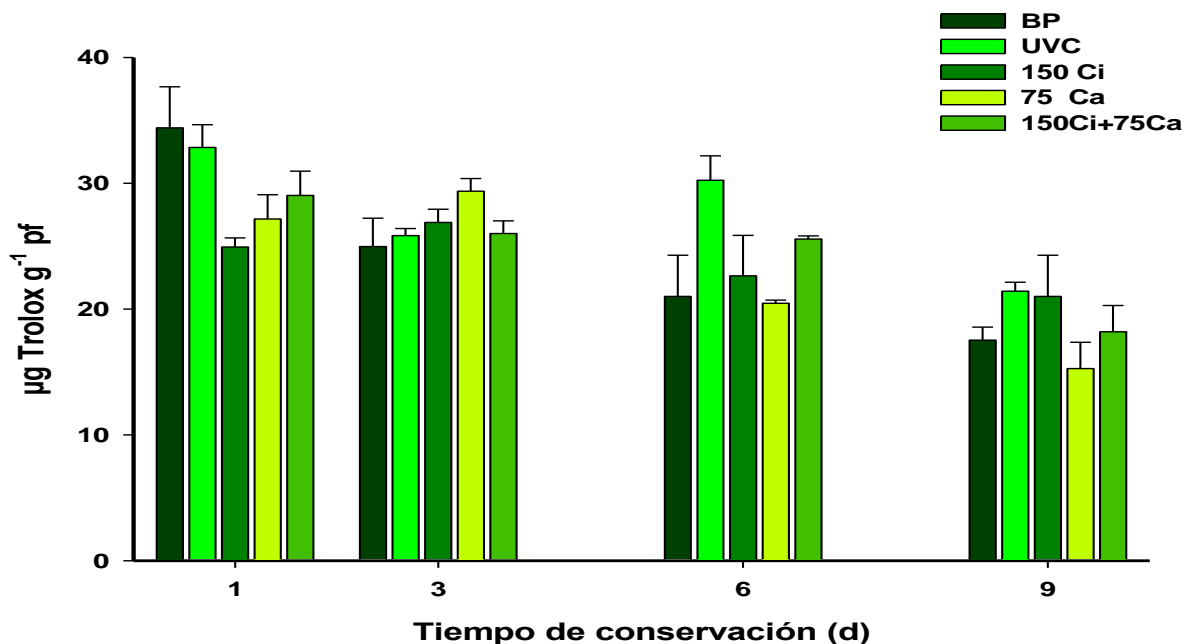


Figura 4.12. Evolución de la capacidad antioxidante mediante ensayo DPPH* en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con antimicrobianos naturales y UV-C, durante 9 días a 5°C.

En los subsiguientes días de evaluación (3, 6 y 9) no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos con los factores UV-C y antimicrobianos naturales, presentando valores entre 25,0 y 29,4; entre 20,5 y 30,2 y entre 15,3 y 21,4 $\mu\text{g Trolox g}^{-1}$ pf, respectivamente (Apéndice 3, Cuadro 3.14). Por lo que, en el presente estudio, la aplicación de antimicrobianos naturales como un factor adicional no tuvo un efecto significativo sobre la capacidad antioxidante.

Tales disminuciones en la capacidad antioxidante pueden ser explicadas por que los tejidos mínimamente procesados están sometidos principalmente al estrés oxidativo, por daños en su membrana celular que afectan el contenido de compuestos antioxidantes (Artés *et al.*, 2009).

Resultados similares fueron encontrados por Costa *et al.* (2006), quienes observaron que la capacidad antioxidante en floretes de brócoli sometidas a una dosis de 10 $\text{KJ}\cdot\text{m}^{-2}$ de UV-C

se mantuvo constante hasta el sexto día, a 20°C en comparación con el testigo sin UV-C, que presentó una disminución significativa desde el cuarto día.

Por el contrario, López *et al.* (2010) mostraron que moderadas dosis de UV-C (0,6 y 1,2 KJ·cm⁻²) pueden aumentar los niveles de actividad antioxidante (DPPH*) en repollo blanco mínimamente procesado almacenado durante 9 días a 6°C.

La capacidad antioxidante determinada por el método FRAP presentó inicialmente poca variación, disminuyendo en el último día de almacenamiento (Figura 4.13). En el día de proceso no se observaron diferencias significativas entre tratamientos testigos. Sin embargo, en los tratamientos con antimicrobianos naturales, 75 Ca y la combinación presentaron la mayor capacidad antioxidante con respecto a 150 Ci (Apéndice 3, Cuadro 3.16).

En el sexto día de conservación el testigo UVC presentó valores significativamente mayores con respecto a BP. Sin embargo, al finalizar el tiempo de conservación no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, mostrando valores entre 1,7 y 2,2 mg Trolox g⁻¹ pf.

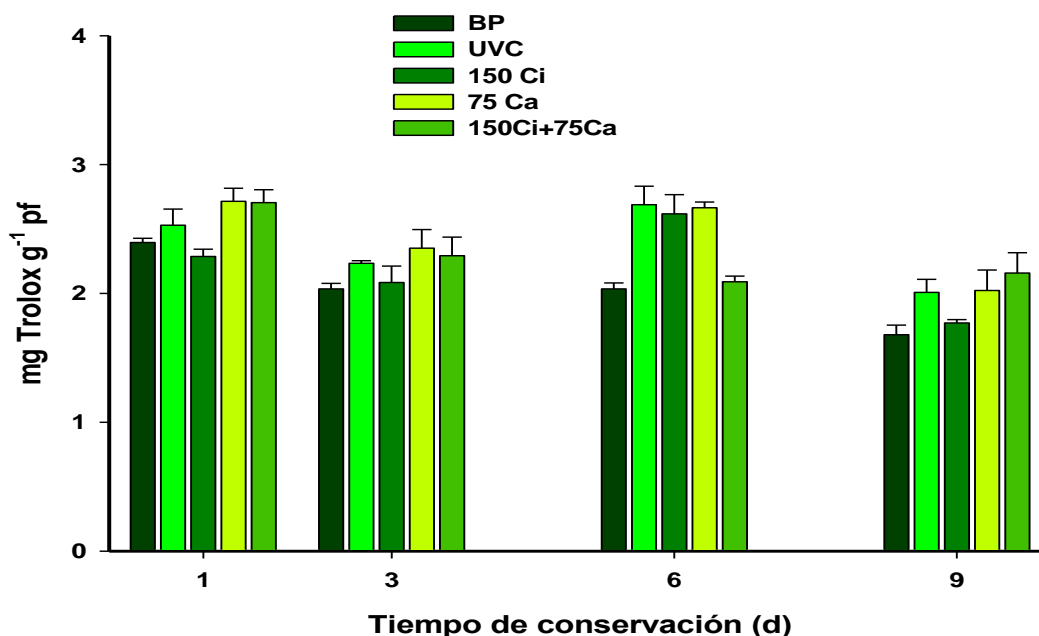


Figura 4.13. Evolución de la capacidad antioxidante mediante ensayo FRAP en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con antimicrobianos naturales y UV-C, durante 9 días a 5°C.

Resultados similares se obtuvieron en estudios de Bottino *et al.* (2009) los que indicaron que la capacidad antioxidante por FRAP, realizada en hojas enteras de espinaca enteras almacenadas por una semana a 4°C, no cambió durante las primeras 72 horas de almacenamiento, pero se redujo significativamente en un 71% al finalizar del almacenamiento.

4.4.5.3 Determinación de vitamina C

En los días 1, 3 y 9 de conservación el contenido de ácido ascórbico (AA) en las hojas de rúcula “baby” permaneció estable, a su vez no se observaron diferencias significativas entre tratamientos, presentando valores entre 5,8 y 6,5, entre 5,8 y 6,4 y entre 6,1 y 8,1 $\mu\text{g AA g}^{-1}$ pf (Figura 4.14; Apéndice 3, Cuadro 3.17).

Jiang *et al.* (2010) informan que la aplicación de UV-C (4 kJ m^{-2}) en hongos comestibles (*Lentinus edodes*) dio como resultado un alto nivel de firmeza durante 15 días a 1°C , ratificando que las muestras tratadas mostraron mayores flavonoides totales y ácido ascórbico. De igual forma Vicente *et al.* (2005) indicaron que en pimientos rojos sometidos a 7 kJ m^{-2} de UV-C, almacenados 18 días a 10°C el incremento de ácido ascórbico fue mayor.

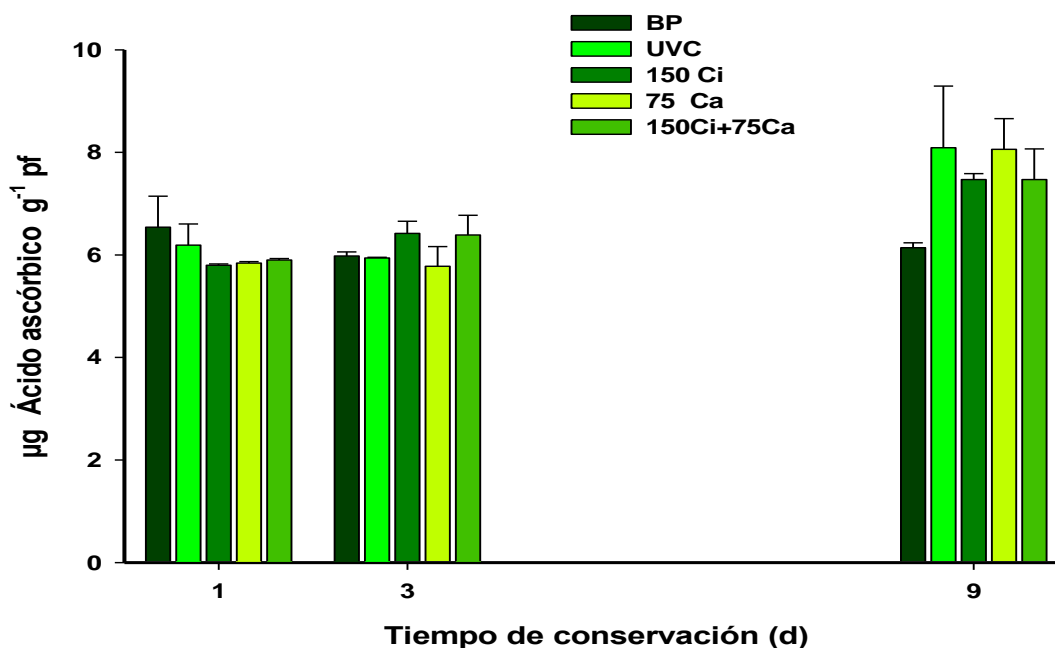


Figura 4.14. Concentración de vitamina-C en hojas de rúcula “baby” conservadas en envases activos con antimicrobianos naturales y UV-C, durante 9 días a 5°C .

4.5 CONCLUSIONES

La aplicación de UV-C y el uso de películas plásticas de baja permeabilidad en envases activos con citral y carvacrol aceleraron la depleción de O₂ dentro de la bolsa de hojas de rúcula “baby”; a pesar de esto, al noveno día aún no se presentaron efectos significativamente negativos.

La aplicación combinada de luz UV-C y antimicrobianos naturales ayudó a mantener los parámetros de color y retrasar la senescencia, a diferencia de lo observado para el control no tratado.

La aplicación combinada de luz UV-C con la mezcla de citral y carvacrol resultó ser el tratamiento más efectivo para reducir los microorganismos aerobios mesófilos, enterobacterias y psicrotrofos en hojas de rúcula “baby”, manifestando efectos sinérgicos beneficiosos hasta el sexto día de almacenamiento.

Sensorialmente la apariencia y el color de la rúcula se mantuvieron estables durante 9 días. Sin embargo, la liberación de antimicrobianos naturales produjo olor no típico con la dosis de 150 µL de citral principalmente al inicio de la conservación. La combinación de antimicrobianos naturales en dosis bajas minimizó los sabores indeseables y cambios sensoriales en el producto.

Los tratamientos con UV-C y carvacrol tendieron a mantener el contenido de fenoles totales, mientras que la capacidad antioxidante tendió a disminuir sin afectar la aplicación de UV-C y antimicrobianos naturales. Por otro lado el uso de UV-C no afectó el contenido de ácido ascórbico.

Estos resultados sugieren que los envases activos con antimicrobianos naturales y un factor de preservación adicional como la luz UV-C, podrían aportar como una técnica de métodos combinados innovadora para retrasar el crecimiento microbiano, manteniendo el color verde en ensaladas de rúcula “baby”.

D. CONCLUSIONES GENERALES

Las diferentes dosis de citral (150, 300, 450 μL) tuvieron un efecto antimicrobiano positivo hasta los 3 primeros días de conservación. No se afectó la concentración atmosférica de O_2 y CO_2 dentro del envase ni el color de las hojas. Los parámetros sensorialmente fueron estables y del mismo modo, con la aplicación de citral no se afectó el contenido de fenoles totales ni la actividad antioxidante.

Con la adición de carvacrol (75, 100, 150 μL) se obtuvieron efectos beneficiosos que permitieron retrasar el crecimiento microbiano, principalmente con 75 μL de carvacrol. No se afectó la concentración atmosférica dentro del envase ni el color de las hojas de rúcula. Los tratamientos con carvacrol conservaron el contenido de fenoles totales.

La aplicación combinada de luz UV-C con la mezcla de citral y carvacrol produjo efectos sinérgicos beneficiosos para reducir los microorganismos aerobios mesófilos, enterobacterias y psicrótrofos en hojas de rúcula "baby".

Los envases activos con luz UV-C y antimicrobianos naturales podrían ser utilizados como una técnica innovadora para retrasar el crecimiento microbiano y mantener el color en rúcula "baby" mínimamente procesada.

E. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Abadias, M., J. Usall, M. Anguera, C. Solsona and I. Viñas. 2008. Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *International Journal of Food Microbiology* 123(12): 121-129.

Alegria, C., J. Pinheiro, M. Duthoit, E. Gonçalves, M. Martins and M. Abreu. 2012. Fresh-cut carrot (cv. Nantes) quality as affected by abiotic stress (heat shock and UV-C irradiation) pre-treatments. *Food Science and Technology* 48(2): 197-203.

Allende, A. and F. Artés. 2003a. Combined ultraviolet-C and modified atmosphere packaging treatments for reducing microbial growth of fresh processed lettuce. *Food Science and Technology* 36(8): 779-786.

Allende, A. and F. Artés. 2003b. UV-C radiation as a novel technique for keeping quality of fresh processed “*Lollo Rosso*” lettuce *Food Research International* 36(7): 739-746.

Allende, A., J. McEvoy, I. Yaguang, F. Artes and C. Wang. 2006. Effectiveness of two-sided UV-C treatments in inhibiting natural microflora and extending the shelf-life of minimally processed ‘Red Oak Leaf’ lettuce. *Food Microbiology* 23 (3): 241-249.

Allende, A., M. Selma, F. López, R. Villaescusa and M. Gil. 2008. Role of commercial sanitizers and washing systems on epiphytic microorganisms and sensory quality of fresh-cut escarole and lettuce. *Postharvest Biology and Technology* 49(1): 155-163.

Alvis, A., Walter Martínez y Guillermo Arrazola. 2012. Obtención de extractos hidroalcohólicos de limoncillo (*Cymbopogon citratus*) como antioxidante natural. *Información Tecnológica* 23(2): 3-10.

Appendini, P. and J. Hotchkiss. 2002. Review of antimicrobial food packaging. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 3(2): 113-126.

Artés, F. 2006. El envasado en atmósfera modificada mejora la calidad de consumo de los productos hortofrutícolas intactos y mínimamente procesados en fresco. *Tecnología Iberoamericana de Postcosecha* 7(2): 61-85.

Artés, F., P. Gómez and F. Artés. 2006. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. *Stewart Postharvest Review* 5(2): 1-13.

Artés, F., V. Escalona, P. Robles, G. Martínez and F. Artés. 2009. Effect of UV-C radiation on quality of minimally processed spinach leaves. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 89(3): 414-421.

Arvanitoyannis, I., A. Bouletis, E. Papa, D. Gkagtzis, C. Hadjichristodoulou and C. Papaloucas. 2011. Microbial and sensory quality of “*Lollo verde*” lettuce and rocket salad stored under active atmosphere packaging. *Anaerobe* 17(6): 307-309.

Ayala, J., M. Villegas, F. Cuamea y G. González. 2005. Compuestos volátiles de origen natural. En *Nuevas Tecnologías de Conservación de Productos Vegetales Frescos Cortados*. Ed. Logiprint Digital S. Guadalajara, México. 558p.

- Bagamboula, C., M. Uyttendaele and J. Debevere. 2004. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiology* 21(1): 33-42.
- Barillari, J., D. Canistro, M. Paolini, F. Ferroni, G. Pedulli, R. Lori, and L. Valgimigli. 2005. Direct antioxidant activity of purified glucoerucin, the dietary secondary metabolite contained in rocket (*Eruca sativa Mill.*) seeds and sprouts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(7): 2475-2482.
- Belletti, N., R. Lanciotti, F. Patrignani and F. Gardini. 2008. Antimicrobial efficacy of citron essential oil on spoilage and pathogenic microorganisms in fruit-based salads. *Journal of Food Science* 73(7): 331-338.
- Bennett, R., F. Mellon and P. Kroon. 2004. Screening crucifer seeds as sources of specific intact glucosinolates using ion-pair high-performance liquid chromatography negative ion electrospray mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(3): 428-438.
- Benzie I. and J. Strain. 2006. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239(1): 70-76.
- Beuchat, I. and A. Scouten. 2002. Combined effects of water activity, temperature and chemical treatments on the survival of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa seeds. *Journal of Applied Microbiology* 92(3): 382-395.
- Bintsis, T., E. Litopoulou, R. Robinson. 2001. Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry: review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80(6): 637-645.
- Bottino, A., E. Degl'Innocenti, L. Guidi, G. Graziani and V. Fogliano. 2008. Bioactive compounds during storage of fresh-cut spinach: The role of endogenous ascorbic acid in the improvement of product quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(7): 2925-2931.
- Brand, W., M. Cuvelier and C. Berset. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT. Food Science and Technology* 28(1): 25-30.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: review. *Journal of Food Microbiology* 94(3): 223-253.
- Cai, Y., M. Sun, J. Xing, Q. Luo and H. Corke. 2006. Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Science* 78(25): 2872-2888.
- Carlini E., J. Contar, A. Silva, N. Silveira, M. Frochtengarten and O. Bueno. 1986. Pharmacology of lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf). I. Effects of teas prepared from the leaves on laboratory animals. *Journal Ethnopharmacology* 17(1): 37-64.

- Celis, C., P. Escobar, J. Isaza, J. Martínez y E. Stashenko. 2007. Estudio comparativo de la composición y actividad biológica de los aceites esenciales extraídos de *Lippia alba*, *Lippia origanoides* y *Phyla dulcis*, especies de la familia *verbenaceae*. *Scientia Technica* 8(33): 103-105.
- Char, C., A. Silveira, C. Inestroza, A. Hinojosa, A. Machuca and V. Escalona. 2012. Effect of noble gas-enriched atmospheres on the overall quality of ready-to-eat arugula salads. *Postharvest Biology and Technology* 73: 50-55
- Char, C., E. Mitiinaki, S. Guerrero and S. Alzamora. 2010a. Use of high intensity ultrasound and UV-C light to inactivate some microorganisms in fruit juices. *Food and Bioprocess Technology* 3(6): 797-803.
- Char, C., S. Guerrero and S. Alzamora. 2010b. Mild thermal process combined with vanillin plus citral to help shorten the inactivation time for *Listeria innocua* in orange juice. *Food and Bioprocess Technology* 3(5): 752-761.
- Cisneros, L. 2003. The use of controlled postharvest abiotic stresses as tool for enhancing the nutraceutical content and adding-value of fresh fruits and vegetables. *Journal of Food Science* 68(5): 1560-1565.
- Combes, S., L. Preziosi, N. Gontard and P. Chalier. 2006. Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. *Letters in Applied Microbiology* 43(2): 149-154.
- Concejo Europeo. 2009. Reglamento N° 450/2009, diario oficial de la Unión Europea. de la comisión 29 de mayo del 2009.
- Costa, L., A. Vicente, P. Civello, A. Chaves and G. Martínez. 2006. UV-C treatment delays postharvest senescence in broccoli florets. *Postharvest Biology* 39(2): 204-210.
- Dainelli, D., N. Gontard, D. Spyropoulos, E. Zondervan and P. Tobback. 2008. Active and intelligent food packaging: legal aspects and safety concerns. *Trends in Food Science and Technology* 19(1): 103-112.
- Das, E., G. Candan, A. Bayındırlı. 2006. Effect of controlled atmosphere storage, modified atmosphere packaging and gaseous ozone treatment on the survival of *Salmonella Enteritidis* on cherry tomatoes. *Food Microbiology* 23(5): 430-438.
- Davey, M., M. Montagu, D. Inze, M. Sanmartin, A. Kanellis and N. Smirnoff. 2000. Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *Science of Food and Agriculture* 80(7): 825-860.
- De Wolf, G., J. Wilson, T. Eltzroth and K. Widin. 1987. Taylor's guide to vegetables and herbs. Houghton Mifflin. Boston, United States of America. 479p.

- Devlieghere, F., K. Francois, K. Vereecken, A. Geeraerd, J. Impe and J. Debevere. 2004. Effect of chemicals on microbial evolution in foods. *Journal of Food Protection* 67(9): 1977-1990.
- Dorman, D. and S. Deans. 2008. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology* 88(2): 308-316.
- Edwin, J., J. Tjeerdsma, Cindy Zwejtzer, S. Burt and H. Haagsman. 2006. Structural requirements for the antimicrobial activity of carvacrol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(5): 1874-1879.
- Erkan, M., C. Wanga and D. Krizek. 2001. UV-C irradiation reduces microbial populations and deterioration in *Cucurbita pepo* fruit tissue. *Environmental and Experimental Botany* 45(1): 1-9.
- Escalona, V., L. Luchsinger and A. Lizana. 2008. Efecto del envasado en atmósfera modificada sobre la calidad y la conservación de frutas y hortalizas. *Revista Aconex* 98: 16-24.
- Fahey, J., A. Zalcmann and P. Talalay. 2001. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Journal of Food Science* 56(1): 5-51.
- Farber, J. 1991. Microbiological aspects of modified-atmosphere packaging technology: review. *Journal of Food Protection* 54(1): 58-70.
- Franke, A., L. Custer, C. Arakaki and S. Murphy. 2004. Vitamin C and flavonoid levels of fruits and vegetables consumed in Hawaii. *Journal of Food Composition and Analysis* 17(1): 1-35.
- Friedman, M., P. Henika and R. Mandrell. 2002. Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica*. *Journal of Food Protection* 65(10): 1545-1560.
- García, R. 2005. Agentes bactericidas a partir de sorbato de potasio, carvacrol y timol. Máster en Ciencia de Alimentos. Facultad de Ingeniería Química y Alimentos. Universidad de las Américas. Puebla, México. 147p.
- Gil, M., M. Castañer, F. Ferreres, F. Artés and F. Barberán. 1998. Modified-atmosphere packaging of minimally processed "Lollo Rosso" (*Lactuca sativa*). *Food Science and Technology* 206(5): 350-354.
- Gilliss, D., A. Cronquist, M. Cartter, M. Tobin, D. Blythe and K. Smith *et al.* 2011. Vital signs science: incidence and trends of infection with pathogens transmitted commonly through food-borne diseases active surveillance network, 10 U.S. Sites, 1996-2010. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 60: 749-755.

- Gómez, P. and F. Artés. 2005. Improved keeping quality of minimally fresh processed celery sticks by modified atmosphere packaging. *International Journal of Food Science and Technology* 38(4): 323-329.
- González, G., M. Villegas, M. Martínez, A. Gardea and J. Ayala. 2007. Improving antioxidant capacity of fresh-cut mangoes treated with UV-C. *Journal of Food Science* 72(3): 197-202.
- Gould, G. 1996. Methods for preservation and extension of shelf life. *International Journal of Food Microbiology* 33(1): 51-64.
- Guevara, J., E. Yahia, E. Brito de la Fuente and S. Bisserka. 2003. Effects of elevated concentrations of CO₂ in modified atmosphere packaging on the quality of prickly pear cactus stems (*Opuntia* spp.). *Postharvest Biology and Technology* 29(2): 167-176.
- Gutiérrez, J., C. Ryan and P. Bourke. 2008. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *International Journal of Food Microbiology* 124(1): 91-97.
- Gutiérrez, J., P. Bourke, J. Lonchamp and C. Barry. 2009. Impact of plant essential oils on microbiological, organoleptic and quality markers of minimally processed vegetables. *Food Science and Emerging Technologies* 10(2): 195-202.
- Hinojosa, A., A. Silveira, M. Ospina, C. Char, C. Saenz and V. Escalona. 2013. Safety of ready-to-eat watercress using environmentally friendly sanitization methods. *Journal of Food Quality* 36(1): 66-76.
- Hulin, V., A. Mathot, P. Mafart and L. Dufossé. 1998. Antimicrobial properties of essential oils and flavour compounds. *Sciences des Aliments* 18: 563-582.
- Imeh, U. and S. Khokhar. 2002. Distribution of conjugated and free phenols in fruits: antioxidant activity and cultivar variations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(22): 6301-6306.
- Inestroza, C. 2011. Efecto de atmósferas modificadas activas y sanitizantes alternativos al cloro sobre la calidad microbiológica y funcional en hojas de rúcula (*Eruca vesicaria*). Tesis Magister en Ciencia Agronómicas, Mención Producción Agroindustrial. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 159p.
- Jacxsens, L., 2002. Influencia de los parámetros de conservación de la calidad de las verduras frescas cortadas. Tesis para obtener el grado de Doctoral en Ciencias Biológicas Aplicadas, Facultad de Agricultura y Ciencias Biológicas Aplicadas. Gante, Bélgica. 145p.
- Jiang, T., M. Muzammil, Z. Jiang, X. Lu and T. Ying. 2010. Influence of UV-C treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and texture of postharvest shiitake (*Lentinus edodes*) mushrooms during storage. *Postharvest Biology and Technology* 56(3): 209-215.

Kader, A. 2002. Fresh-cut fruits and vegetables: science, technology and market. Edit. Olusola Lamikanra. Florida, EE.UU. 480p.

Karagözlü, N., B. Ergonul and D. Ozcan. 2011. Determination of antimicrobial effect of mint and basil essential oils on survival of *E. coli* O157:H7 and *S. typhimurium* in fresh-cut lettuce and purslane. *Food Control* 22(11): 1851-1855.

Kaur, C and H. Kapoor. 2001. Antioxidants in fruits and vegetables the millennium's health. *International Journal of Food Science and Technology* 36(7): 703-725.

King, G. and S. Morris. 1994. Physiological changes of broccoli during early postharvest senescence and through the preharvest-postharvest continuum. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 119(2): 270-275.

Klein, B. 1987. Nutritional consequences of minimal processing of fruits and vegetables. *Journal of Food Quality* 10(3): 179-193.

Koukounaras, A., A. Siomos and E. Sfakiotakis. 2010. Effects of degree of cutting and storage on atmosphere composition, metabolic activity and quality of rocket leaves under modified atmosphere packaging. *Journal of Food Quality* 33(1): 303-316.

Koukounaras, A., A. Siomos and E. Sfakiotakis. 2007. Postharvest CO₂ and ethylene production and quality of rocket (*Eruca sativa* Mill.) leaves as affected by leaf age and storage temperature. *Postharvest Biology and Technology* 46(2): 167-173.

Krinsky. N. 2001. Carotenoids as antioxidants. *Nutrition* 7(10): 815-817.

Labuza, T. and W. Breene. 2007. Applications of active packaging for improvement of shelf-life and nutritional quality of fresh and extended shelf-life foods. *Journal of Food Processing and Preservation* 13(1): 1-69.

Lambert, R. 2000. Susceptibility testing inoculum size dependency of inhibition using the Colworth MIC technique. *Journal of Applied Microbiology* 89(2): 275-279.

Lambert, R., P. Skandamis, P. Coote and G. Nychas. 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology* 91(3): 453-462.

Lanciotti, R., A. Gianotti, F. Patrignani, N. Belletti, M. Guerzoni and Gardini, F. 2004. Use of natural aroma compounds to improve shelf-life and safety of minimally processed fruits. *Trends in Food Science and Technology* 15(3-4): 201-208.

Lee, S. and A. Kader. 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology* 20(3): 207-220.

Leistner, L. 1992. Food preservation by combined methods. *Food Research International* 25(2): 151-158.

Lemoine, M., P. Civello, A. Martínez and A. Chaves. 2007 Influence of postharvest UV-C treatment on refrigerated storage of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea* var. *Itálica*). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87 (6): 1132-1139.

López, G., A. Qüesta y S. Rodríguez. 2010. Efecto de luz UV-C sobre las propiedades antioxidantes y calidad sensorial de repollo mínimamente procesado. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 11 (1): 101-108.

Lunadei, L., B. Diezma, L. Lleo, L. Ruiz, S. Cantalapiedra and M. Ruiz. 2012. Monitoring of fresh-cut spinach leaves through a multispectral vision system. *Postharvest Biology and Technology* 63(1): 74-84.

Martínez, A. 2008. Caracterización de compuestos bioactivos en crucíferas de uso en IV gama: aspectos relacionados con la fisiología y tecnología postrecolección. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Cartagena. 267p.

Martínez, A., N. Allende, F. Bennett, S. Ferrere and M. Gil. 2006. Microbial, nutritional and sensory quality of rocket leaves as affected by different sanitizers. *Postharvest Biology and Technology* 42(1): 86-97.

Martínez, I., M. Periago and G. Ros. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos Latinoamericanos Nutrición* 50(1): 5-18.

Meneses, O., S. Marcela, C. Valenzuela and J. Régulo. 2008. La atmósfera modificada: una alternativa para la conservación de los alimentos. *Investigación Lasallista* 5(2): 112-123.

Milos, M., J. Mastelic and I. Jerkovic. 2000. Chemical composition and antioxidant effect of glycosidically bound volatile compounds from orégano (*Origanum vulgare* L. *hirtum*). *Food Chemistry* 71(1): 79-83.

Muriel, V., J. Cerisuelo, G. López, M. Lara, R. Gavara and P. Hernández. 2012. Development of antimicrobial films for microbiological control of packaged salad. *International Journal of Food Microbiology* 157(2): 195-201.

Muriel, V., J. Cerisuelo, G. López, S. Aucejo, R. Gavara, and P. Hernández. 2013. Evaluation of EVOH-coated PP films with oregano essential oil and citral to improve the shelf-life of packaged salad. *International Journal of Food Microbiology* 30(1): 137-143.

Navarro, H., S. Carrasco, M. Gildan y C. Lucchini. 2010. Efecto de la utilización de diferentes sustratos en el rendimiento y calidad de rúcula y espinaca baby cultivados en el sistema hidropónico de bandejas flotantes desde siembra a cosecha. Universidad de Talca. Escuela de Agronomía. Ingeniero agrónomo. 48p.

Nazer, A., A. Kobilinsky, J. Tholozana and F. Brissoneta. 2005. Combinations of food antimicrobials at low levels to inhibit the growth of *Salmonella* sv. *Typhimurium*: a synergistic effect?. *Food Microbiology* 22(5): 391-398.

Nychas, G. and C. Tassou. 2000. Traditional preservatives, oils and spices. Encyclopedia of Food Microbiology. Academic Press. Londres, Reino Unido. 1717-1722p.

Ochoa, C., J. Luna y F. Pérez. 2012. Efecto de la aplicación de aceite esencial de orégano Mexicano (*Lippia graveolens*) y tomillo (*Thymus vulgaris*) en factores de calidad de rodajas de manzana (*Malus domestica*). Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos 3(2): 247-269.

Odriozola, I., R. Soliva and O. Martín. 2008 Effect of minimal processing on bioactive compounds and color attributes of fresh-cut tomatoes. Food Science and Technology 41(2): 217-226.

Oussalah, M., S. Caillet, L. Saucier and M. Lacroix. 2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Food Control 18(5): 414-420.

Ozdemir, M. and J. Floros. 2004. Active food packaging technologies critical: review. Food Science and Nutrition 44(3): 185-193.

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

Raybaudi, R. 2007. Uso de sustancias antimicrobianas naturales en combinación con compuestos estabilizadores de la calidad para controlar microorganismos patógenos. Universidad de Lleida. 45-65p.

Rico, D., A. Martín, J. Barat and C. Ryan. 2007. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: review. Trends in Food Science and Technology 18(7): 373-386.

Rivera, D., A. Gardea, M. Martínez, M. Rivera and G. González. 2007. Efectos bioquímicos postcosecha de la irradiación UV-C en frutas y hortalizas. Revista Fitotecnia Mexicana 30(4): 361-372.

Rodríguez, S., F. Artés, P. Gómez, J. Fernández and F. Artés. 2010. Quality of fresh-cut baby spinach grown under a floating trays system as affected by nitrogen fertilization and innovative packaging treatments. Journal of the Science of Food and Agriculture 90 (6): 1089-1097.

Serrano, M., D. Martínez, F. Guillén, S. Castillo and D. Valero. 2006. Maintenance of broccoli quality and functional properties during cold storage as affected by modified atmosphere packaging. Postharvest Biology and Technology 39(1): 61-68.

Sharma, G., W. Wu and E. Dalal. 2005. The CIEDE2000 Color-Difference, Formula: Implementation notes, supplementary test data, and mathematical observations. 30: 21-30.

Singleton, V. and J. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. *Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-158.

Singleton, V., R. Orthofer and R. Lamuela. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299: 152-178.

Skandamis, P. and G. Nychas. 2000. Development and evaluation of a model predicting the survival of *E. coli* O157:H7 NCTC 12900 in homemade eggplant salad at various temperatures, pH, and oregano essential oil concentrations. *Applied and Environmental Microbiology* 66(4): 1646-1653.

Somolinos, M., D. García, S. Condón, B. Mackey and R. Pagán. 2010. Inactivation of *Escherichia coli* by citral. *Journal of Applied Microbiology* 108(6): 1928-1939.

Sotero, V., L. Doza, D. Sotero y S. Correa. 2009. Evaluación de la actividad antioxidante de la pulpa, cáscara y semilla del fruto del camu camu (*Myrciaria dubia* H.B.K.). *Revista de la Sociedad Química del Perú* 75(3): 293-299.

Suppakul, P., J. Miltz, K. Sonneveld and S. Bigger. 2006. Active packaging technologies with an emphasis on antimicrobial packaging and its applications. *Journal of Food Science* 68(2): 408-420.

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

Toivonen, P. and D. Brummell. 2008. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables: review. *Postharvest Biology and Technology* 44(3): 185-194.

Torales, A., A. Chávez y S. Rodríguez. 2010. Cambios en la calidad de rúcula mínimamente procesada. Efecto de distintos envases. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 11(2): 126-203.

Torres, C. 2004. Investigación en la transformación secundaria de frutos, tubérculos, flores, hojas y tallos de especies pertenecientes a ecosistemas andinos. *Jardín Botánico José Celestino, Subdirección Científica* 39: 2-14.

Vicente, A., C. Pineda, L. Lemoine, P. Civello, G. Martinez and A. Chaves. 2005. UV-C treatments reduce decay, retain quality and alleviate chilling injury in pepper. *Postharvest Biology and Technology* 35(1): 69-78.

Viña, S. and A. Chaves. 2006. Antioxidant responses in minimally processed celery during refrigerated storage. *Food Chemistry* 94(1): 68-74.

Xu, W., W. Qu, K. Huang, F. Guo, J. Yang, H. Zhao and Y. Luo. 2007. Antibacterial effect of grapefruit seed extract on food-borne pathogens and its application in the preservation of minimally processed vegetables. *Postharvest Biology and Technology* 45(1): 126-133.

Zapata, S. and J. Dufour. 1992. Ascorbic, dehydroascorbic and isoascorbic acid simultaneous determinations by reverse phase Ion interaction HPLC. *Jornal of Food Science* 57(2): 506-511.

Zhuang, H., D. Hildebrand and M. Barth. 1995. Senescence of broccoli buds is related to changes in lipid peroxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43(10): 2585-2591.

ANEXOS

Anexo I. Evaluación sensorial “rúcula baby”.

Nombre:

Fecha:

Por favor evalúe los siguientes productos cuidadosamente e indique con una línea vertical la intensidad de su sensación para cada atributo en la línea correspondiente.

Muestra N° _____

Aspecto visual

1. Apariencia

0		15
	Muy mala	Extremadamente buena

2. Intensidad color

0		15
	Amarillo	Extremadamente verde

Aspecto olfativo

3. Olores extraños

0		15
	Ausente	Extremadamente Presente

Aspecto gustativo

4. Turgencia

0		15
	Sin turgencia	Extremadamente turgente

5. Sabores extraños

0		15
	Sin sabor	Extremadamente intenso

¿Qué olor o sabor extraño le parece encontrar? _____

Comentarios adicionales:

Anexo II. Diseño de un envases para hoja de rúcula “baby”.

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

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

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

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

En donde:

RO₂: actividad respiratoria O₂ consumido [mL/kg h]

M: masa del producto [kg]

S: superficie total del envase [m²]

0,21: concentración de O₂ atmosférico [%]

O_{2env}: concentración de O₂ en el interior del envase [%]

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

y: permeabilidad al O₂ de la película plástica [mL m⁻² d⁻¹]

Para los cálculos de permeabilidad se utilizó una tasa respiratoria de 34,4 mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ (Inestroza, 2011). En este modelo se asumió un cociente respiratorio (CR) igual a la unidad. Se consideró como una concentración adecuada para mantener la calidad de las hojas de rúcula un 5% de O₂ y 5% de CO₂. Se confeccionaron bolsas de 22 x 25 cm (0,055 m²) para una cantidad de 50 g de hojas de rúcula por bolsa.

Calculo de permeabilidad al O₂:

Sustituyendo los datos en la formula se obtiene

$$y = \frac{34,4 \text{ [mL/kg h]} \times 0,05 \text{ [kg]} \times 24 \text{ [h/d]}}{0,0550 \text{ [m}^2\text{]} \times (0,21 - 0,05)}$$

$$y = 5773,43 \text{ mL m}^{-2} \text{ d}^{-1} \text{ O}_2$$

De acuerdo a estos cálculos, se eligió la bolsa plástica de baja permeabilidad modelo PD-961EZ, con una permeabilidad de 7000 mL m⁻² d⁻¹ para O₂ ya que se encuentra en el rango de permeabilidad deseada para el envase de hojas de rúcula “baby”.

**Anexo III. Nueva propuesta del Reglamento Sanitario de los Alimentos N° 977/96,
para frutas y otros vegetales comestibles pre-elaborados, listos para el consumo.**

Plan de muestreo					Límite por gramo	
Parámetro	Categoría	Clase	n	c	m	M
RAM	3	3	5	1	5×10^6 (6,69 log)	5×10^7 (7,69 log)
Enterobacterias	6	3	5	1	5×10^4 (4,69 log)	5×10^5 (5,69)
<i>E. coli</i>	6	3	5	1	10	10^2 (2 log)
<i>S. aureus</i>	6	3	5	1	10	10^2 (2 log)
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

APÉNDICE 1. Ensayo 1

Cuadro 1.1. Caracterización inicial de las hojas de rúcula “baby” utilizadas en el ensayo de envases activos con citral durante 9 días a 5°C.

Repeticiones	Color			Dimensiones (cm)		Peso (g)
	Luminosidad (L^*_{ab})	Saturación (C^*_{ab})	Tono (H^*_{ab})	Largo	Ancho	
R1	48,9 \pm 1,6	29,3 \pm 1,0 ¹	123,6 \pm 0,5 ¹	12,3 \pm 0,8	4,2 \pm 0,5	5,7 \pm 0,6
R2	51,5 \pm 1,1	28,9 \pm 1,3	122,4 \pm 0,3	11,1 \pm 1,4	3,7 \pm 0,3	6,1 \pm 1,5
R3	47,7 \pm 1,0	32,3 \pm 0,7	123,0 \pm 0,3	12,1 \pm 0,5	4,2 \pm 0,3	5,5 \pm 0,7
	49,4 \pm1,2	30,2 \pm1,0	123,0 \pm0,4	11,8 \pm0,9	4,0 \pm0,4	5,8 \pm0,9

1/Los valores indican el promedio \pm desviación estándar (n=30).

Cuadro 1.2. Evolución porcentual del CO₂ en hojas de rúcula “baby” en envases activos con citral durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	Evolución de CO ₂ (%)			
	Día 0	Día 3	Día 6	Día 9
BP	0,4 \pm 0,1 ¹ b ² A ³	1,0 \pm 0,1 a B	0,6 \pm 0,2 a AB	0,8 \pm 0,1 a AB
AMP	0,3 \pm 0,0 ab A	3,5 \pm 0,2 b B	4,3 \pm 0,0 b C	4,8 \pm 0,1 bc C
150 Ci	0,3 \pm 0,0 ab A	4,0 \pm 0,0 c B	4,8 \pm 0,1 b C	5,4 \pm 0,1 c D
300 Ci	0,2 \pm 0,0 a A	3,8 \pm 0,0 bc B	4,6 \pm 0,2 b C	4,6 \pm 0,3 b C
450 Ci	0,2 \pm 0,0 a A	3,9 \pm 0,1 c B	4,6 \pm 0,1 b C	4,8 \pm 0,1 bc C

1/Los valores indican el promedio \pm desviación estándar (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 1.3. Evolución porcentual del O₂ en hojas de rúcula “baby” en envases activos con citral durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	Evolución de O ₂ (%)			
	Día 0	Día 3	Día 6	Día 9
BP	20,3 ±0,1 ¹ a ² B ³	19,7 ±0,1 b A	20,13 ±0,1 b AB	20,2 ±0,1 b AB
AMP	20,4 ±0,0 ab D	15,6 ±0,3 a C	12,6 ±0,1 a B	9,6 ±0,6 a A
150 Ci	20,4 ±0,0 ab D	14,8 ±0,3 a C	11,6 ±0,1 a B	7,5 ±0,1 a A
300 Ci	20,5 ±0,0 b C	15,3 ±0,1 a B	12,2 ±0,3 a AB	10,0 ±1,5 a A
450 Ci	20,5 ±0,0 b D	15,3 ±0,3 a C	12,3 ±0,4 a B	9,5 ±0,0 a A

1/Los valores indican el promedio ± desviación estándar (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 1.4. Recuento de mesófilos aerobios (log UFC g⁻¹) en hojas de rúcula “baby” en envases activos con citral durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	log UFC g ⁻¹			
	Día 0	Día 3	Día 6	Día 9
BP	5,8 ¹ b ² A ³	6,2 c A	6,4 a A	6,4 a A
AMP	5,3 ab A	5,6 bc AB	6,4 a B	6,0 a AB
150 Ci	4,3 a A	5,2 ab A	7,5 b B	7,8 ab B
300 Ci	4,7 ab A	5,3 ab AB	7,2 ab BC	7,7 ab C
450 Ci	4,9 ab A	4,9 a A	7,4 b B	8,1 b C

1/Los valores indican el promedio (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 1.5. Recuento de enterobacterias (log UFC g⁻¹) en hojas de rúcula “baby” en envases activos con citral durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	log UFC g ⁻¹								
	Día 0			Día 3		Día 6		Día 9	
BP	6,5 ¹	b ²	A ³	6,5	b A	6,3	a A	6,5	b A
AMP	5,1	a	A	5,8	ab AB	6,5	a B	4,8	a A
150 Ci	4,3	a	A	5,5	a B	8,1	c C	6,5	b B
300 Ci	4,8	a	A	5,7	ab AB	7,1	ab B	6,7	b B
450 Ci	4,5	a	A	5,9	ab B	7,7	bc C	7,1	b C

1/Los valores indican el promedio (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 1.6. Recuento de aerobios psicrótrofos (log UFC g⁻¹) en hojas de rúcula “baby” en envases activos con citral durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	log UFC g ⁻¹								
	Día 0			Día 3		Día 6		Día 9	
BP	5,6 ¹	b ²	A ³	6,1	a A	6,4	a A	6,4	a A
AMP	4,8	ab	A	5,9	a B	6,5	a B	6,5	a B
150 Ci	4,1	a	A	6,0	a B	7,9	b C	6,9	a BC
300 Ci	4,8	ab	A	6,3	a B	7,2	ab B	6,2	a B
450 Ci	4,6	ab	A	6,2	a B	7,4	ab C	6,4	a B

1/Los valores indican el promedio (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 1.7. Evolución de los parámetros de luminosidad, tono y croma de hojas de rúcula “baby” en envases activos con citral durante 9 días a 5°C.

	Tratamiento	Color											
		Día 0			Día 3			Día 6			Día 9		
Luminosidad (L*_{ab})	BP	48,7	±0,8 ¹	a ² ₃ AB	45,6	±0,7	a A	48,3	±0,9	b AB	51,3	±0,7	b B
	AMP	48,6	±0,8	a A	45,7	±0,8	a A	46,2	±0,7	a A	49,3	±0,7	ab A
	150 Ci	48,9	±0,8	a B	45,7	±0,9	a A	46,2	±0,6	a AB	49,1	±0,7	ab B
	300 Ci	47,1	±0,7	a AB	45,9	±0,6	a A	45,8	±0,7	a A	48,8	±0,7	ab B
	450 Ci	49,7	±0,6	a B	49,7	±0,8	a A	46,4	±0,7	a AB	47,6	±0,8	a B
		BP	30,5	±0,7	a A	31,5	±0,6	a AB	33,4	±1,1	a B	32,8	±1,0
Saturación (C*)	AMP	30,6	±0,6	a A	31,4	±0,7	a A	31,9	±0,8	a A	33,4	±0,9	a A
	150 Ci	30,7	±0,6	a A	32,5	±0,8	a A	32,2	±0,6	a A	32,7	±1,1	a A
	300 Ci	31,1	±0,6	a A	33,1	±0,7	a B	32,6	±0,7	a B	33,3	±0,9	a B
	450 Ci	28,0	±0,8	a A	32,2	±0,8	a B	31,7	±0,8	a B	32,5	±0,7	a B
		BP	123,3	±0,8	a B	123,9	±0,5	a B	122,3	±1,1	a B	118,5	±0,8
Tono (H_{ab})	AMP	123,2	±0,5	a B	124,3	±0,5	a AB	123,9	±0,5	a B	122,3	±0,7	a A
	150 Ci	124,0	±0,7	a B	123,3	±0,5	a AB	124,0	±0,5	a B	122,5	±0,7	a A
	300 Ci	123,6	±0,4	a A	123,3	±0,6	a A	124,0	±0,6	a A	122,3	±0,7	a A
	450 Ci	122,9	±0,5	a A	123,8	±0,7	a A	123,9	±0,7	a A	123,1	±0,6	a A

1/Los valores indican el promedio ± desviación estándar (n=30).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 1.8. Variación global de color (ΔE_{00}) de hojas de rúcula “baby” en envases activos con citral durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	Variación global de color (ΔE_{00})								
	Día 3			Día 6			Día 9		
BP	3,1	$\pm 1,1$ ¹	A ²	2,6	$\pm 0,5$	A	3,6	$\pm 1,0$	A
AMP	2,9	$\pm 1,2$	A	2,6	$\pm 1,6$	A	3,7	$\pm 1,0$	A
150 Ci	3,3	$\pm 0,5$	A	2,8	$\pm 0,9$	A	2,2	$\pm 0,4$	A
300 Ci	1,5	$\pm 0,6$	A	1,5	$\pm 0,5$	A	2,0	$\pm 0,4$	A
450 Ci	4,5	$\pm 0,6$	A	3,9	$\pm 0,6$	A	2,9	$\pm 0,3$	A

1/Los valores indican el promedio \pm desviación estándar (n=3).

2/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 1.9. Evaluación sensorial de la apariencia de hojas de rúcula “baby” en envases activos con citral durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	Apariencia											
	Día 0			Día 3			Día 6			Día 9		
BP	12,7	$\pm 0,2$ ¹	a ² D ³	10,9	$\pm 0,4$	a C	8,8	$\pm 0,4$	a B	4,6	$\pm 0,2$	a A
AMP	12,7	$\pm 0,2$	a B	12,4	$\pm 0,6$	ab B	11,5	$\pm 0,5$	b B	8,5	$\pm 0,1$	b A
150 Ci	13,5	$\pm 0,3$	a BC	13,5	$\pm 0,4$	b BC	12,4	$\pm 0,5$	b B	11,0	$\pm 0,3$	c A
300 Ci	13,6	$\pm 0,2$	a B	12,8	$\pm 0,4$	b B	12,1	$\pm 0,6$	b AB	10,5	$\pm 0,4$	c A
450 Ci	13,4	$\pm 0,3$	a C	12,8	$\pm 0,6$	b C	11,1	$\pm 0,6$	b B	8,8	$\pm 0,2$	b A

1/Los valores indican el promedio \pm desviación estándar (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 1.10. Evaluación sensorial del color de hojas de rúcula “baby” en envases activos con citral durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	Color			
	Día 0	Día 3	Día 6	Día 9
BP	12,2 \pm 0,3 ¹ a ² C ³	11,8 \pm 0,7 a C	8,6 \pm 0,9 a B	5,0 \pm 0,1 a A
AMP	13,1 \pm 0,4 a C	11,7 \pm 0,7 a BC	10,1 \pm 0,8 a B	7,8 \pm 0,1 b A
150 Ci	13,5 \pm 0,2 a C	11,1 \pm 0,7 a B	11,2 \pm 0,9 a B	8,6 \pm 0,1 bc A
300 Ci	13,2 \pm 0,3 a B	12,2 \pm 0,6 a B	11,2 \pm 0,8 a AB	9,4 \pm 0,2 cd A
450 Ci	13,2 \pm 0,1 a B	10,9 \pm 0,9 a A	10,1 \pm 0,8 a A	9,6 \pm 0,1 cd A

1/Los valores indican el promedio \pm desviación estándar (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 1.11. Evaluación sensorial de olores extraños de hojas de rúcula “baby” en envases activos con citral durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	Olores extraños			
	Día 0	Día 3	Día 6	Día 9
BP	0,13 \pm 0,0 ¹ a ² A ³	0,6 \pm 0,2 a A	0,6 \pm 0,2 a A	0,6 \pm 0,1 a A
AMP	0,60 \pm 0,2 a A	1,6 \pm 0,6 a A	1,7 \pm 0,4 ab A	0,6 \pm 0,1 a A
150 Ci	1,36 \pm 0,2 a A	2,1 \pm 0,6 a AB	2,2 \pm 0,5 bc B	2,7 \pm 0,1 b B
300 Ci	1,49 \pm 0,3 a A	2,3 \pm 0,6 a AB	3,1 \pm 0,4 bc AB	3,2 \pm 0,1 b B
450 Ci	3,18 \pm 0,4 b A	2,3 \pm 0,5 a A	3,5 \pm 0,4 c AB	4,8 \pm 0,1 c B

1/Los valores indican el promedio \pm desviación estándar (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 1.12. Evaluación sensorial de la turgencia y sabor extraño de hojas de rúcula “baby” en envases activos con citral durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	Turgencia				Sabores extraños			
BP	12,0	$\pm 0,5$ ¹	a ²	C ³	0,4	$\pm 0,1$	a	A
AMP	13,3	$\pm 0,4$	a	C	0,6	$\pm 0,4$	a	A
150 Ci	13,2	$\pm 0,4$	a	C	0,9	$\pm 0,3$	ab	A
300 Ci	13,5	$\pm 0,6$	a	C	1,5	$\pm 0,4$	ab	A
450 Ci	13,0	$\pm 0,6$	a	C	2,1	$\pm 0,4$	b	A

1/Los valores indican el promedio \pm desviación estándar (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 1.13. Evolución del contenido de fenoles totales ($\mu\text{g EAG g}^{-1}$ pf) en hojas de rúcula “baby” en envases activos con citral durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	$\mu\text{g EAG g}^{-1}$ pf															
	Día 0		Día 3		Día 6		Día 9									
BP	44,2	$\pm 0,2$ ¹	a ²	B ³	47,9	$\pm 0,9$	a	C	44,3	$\pm 0,8$	a	B	40,8	$\pm 0,6$	a	A
AMP	44,6	$\pm 0,2$	a	A	50,1	$\pm 0,6$	ab	B	45,9	$\pm 0,8$	ab	A	45,0	$\pm 0,5$	b	A
150 Ci	46,2	$\pm 0,6$	a	A	53,6	$\pm 0,7$	c	C	50,5	$\pm 0,9$	c	B	45,8	$\pm 0,4$	b	A
300 Ci	45,3	$\pm 0,3$	a	A	51,2	$\pm 0,4$	bc	C	48,7	$\pm 0,4$	bc	B	47,0	$\pm 0,4$	b	B
450 Ci	46,1	$\pm 0,7$	a	AB	49,1	$\pm 0,6$	ab	B	44,7	$\pm 0,9$	a	A	46,5	$\pm 0,5$	b	AB

1/Los valores indican el promedio \pm desviación estándar (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 1.14. Evolución de la capacidad antioxidante ($\mu\text{g Trolox g}^{-1}$ pf) en hojas de rúcula “baby” en envases activos con citral durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	$\mu\text{g Trolox g}^{-1}$ pf			
	Día 0	Día 3	Día 6	Día 9
BP	28,0 \pm 0,6 ¹ a ² C ³	16,2 \pm 0,8 a B	13,1 \pm 0,4 ¹ a ² A ³	12,5 \pm 0,4 a A
AMP	29,8 \pm 0,7 a C	18,1 \pm 1,0 a B	14,4 \pm 0,2 ab A	14,3 \pm 0,6 ab A
150 Ci	26,4 \pm 1,3 a B	19,0 \pm 1,6 a A	15,9 \pm 0,7 b A	15,1 \pm 0,3 b A
300 Ci	28,6 \pm 0,4 a C	16,1 \pm 0,8 a B	14,2 \pm 0,5 ab AB	13,2 \pm 0,3 ab A
450 Ci	28,2 \pm 0,5 a C	18,0 \pm 1,8 a B	14,5 \pm 0,2 ab B	13,2 \pm 0,8 ab A

1/Los valores indican el promedio \pm desviación estándar (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

Cuadro 1.15. Relación entre la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales de hojas de rúcula “baby” en envases activos con citral durante 9 días a 5°C.

Cap. Antioxidante/fenoles totales	r^1	$p < 0,05$
Día 3	0,19	0,50
Día 6	-0,52	0,06
Día 9	-0,13	0,25

1/Coeficiente de correlación

APÉNDICE 2. Ensayo 2

Cuadro 2.1. Caracterización inicial de las hojas de rúcula “baby” utilizadas en el ensayo de envases activos con carvacrol durante 9 días a 5°C.

Repeticiones	Color			Dimensiones (cm)		Peso (g)
	Luminosidad (L^*_{ab})	Saturación (C^*_{ab})	Tono (H^*_{ab})	Largo	Ancho	
R1	45,9 \pm 0,5 ¹	30,3 \pm 0,3 ¹	124,2 \pm 0,4 ¹	10,2 \pm 0,6	3,7 \pm 0,3	5,9 \pm 0,6
R2	45,5 \pm 0,4	31,4 \pm 0,6	123,9 \pm 0,3	9,6 \pm 1,0	3,3 \pm 0,2	5,8 \pm 0,5
R3	46,6 \pm 0,7	32,3 \pm 0,3	122,9 \pm 0,2	9,0 \pm 1,0	3,0 \pm 0,3	6,5 \pm 0,7
	46,0 \pm0,5	31,4 \pm0,4	123,7 \pm0,3	9,6 \pm0,9	3,3 \pm0,3	6,1 \pm0,3

1/Los valores indican el promedio \pm desviación estándar (n=30).

Cuadro 2.2. Evolución porcentual del CO₂ en hojas de rúcula “baby” en envases activos con carvacrol, almacenadas a 5 °C por 9 días.

Tratamiento	Evolución del CO ₂ (%)			
	Día 0	Día 3	Día 6	Día 9
BP (T ₁)	0,5 \pm 0,0 ¹ a ² A ³	0,9 \pm 0,1 a B	0,9 \pm 0,0 a B	1,1 \pm 0,1 a B
AMP (T ₂)	0,6 \pm 0,0 a A	3,2 \pm 0,0 b B	4,9 \pm 0,3 b C	4,3 \pm 0,1 b C
75 Ca	0,6 \pm 0,1 a A	3,1 \pm 0,1 b B	4,4 \pm 0,3 b C	4,7 \pm 0,3 b C
100 Ca	0,6 \pm 0,0 a A	3,0 \pm 0,1 b B	4,5 \pm 0,2 b C	4,8 \pm 0,1 b C
150 Ca	0,6 \pm 0,0 a A	3,0 \pm 0,1 b B	4,3 \pm 0,1 b C	4,5 \pm 0,1 b C

1/Los valores indican el promedio \pm desviación estándar (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 2.3. Evolución porcentual del O₂ en hojas de rúcula “baby” en envases activos con carvacrol durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	Evolución del O ₂ (%)			
	Día 0	Día 3	Día 6	Día 9
BP	20,3 ±0,0 ¹ b ² B ³	19,9 ±0,1 b A	19,9 ±0,0 b A	19,7 ±0,1 c A
AMP	20,2 ±0,0 ab C	16,2 ±0,0 a B	9,7 ±0,5 a A	9,2 ±0,6 b A
75 Ca	19,9 ±0,2 a D	16,3 ±0,0 a C	11,4 ±1,2 a B	8,1 ±0,7 ab A
100 Ca	20,5 ±0,1 a D	16,6 ±0,1 a C	10,8 ±1,0 a B	7,0 ±0,2 a A
150 Ca	20,3 ±0,0 b D	16,7 ±0,2 a C	11,9 ±0,5 a B	9,4 ±0,3 b A

1/Los valores indican el promedio ± desviación estándar (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 2.4. Recuento de mesófilos aerobios (log UFC g⁻¹) en hojas de rúcula “baby” en envases activos con carvacrol durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	log UFC g ⁻¹			
	Día 0	Día 3	Día 6	Día 9
BP	5,5 ¹ b ² A ³	6,3 b B	6,6 c B	7,4 c C
AMP	5,2 ab A	5,9 b B	6,3 c B	6,7 b C
75 Ca	5,0 a A	5,1 a A	5,5 a A	6,3 a B
100 Ca	5,1 a A	5,4 a A	5,9 b B	6,3 a C
150 Ca	5,0 a A	6,0 b B	6,3 c C	6,7 b D

1/Los valores indican el promedio (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 2.5. Recuento de enterobacterias (log UFC g⁻¹) en hojas de rúcula “baby” en envases activos con carvacrol durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	log UFC g ⁻¹											
	Día 0			Día 3			Día 6			Día 9		
BP	5,5 ¹	c ²	A ³	5,4	b	A	6,6	d	B	7,5	d	C
AMP	5,5	c	A	5,4	b	A	6,3	cd	B	6,7	c	C
75 Ca	5,0	ab	A	5,0	a	A	5,2	a	A	6,0	a	B
100 Ca	5,1	b	A	5,4	b	A	5,8	b	B	6,4	b	C
150 Ca	4,8	a	A	4,8	a	A	6,1	c	B	6,4	b	B

1/Los valores indican el promedio (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 2.6. Recuento de psicrótrofos (log UFC g⁻¹) en hojas de rúcula “baby” en envases activos con carvacrol durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	log UFC g ⁻¹											
	Día 0			Día 3			Día 6			Día 9		
BP	5,8 ¹	c ²	A ³	6,6	d	B	7,5	c	C	8,7	d	D
AMP	5,4	bc	A	6,2	c	A	7,3	bc	B	8,0	c	B
75 Ca	5,2	b	A	5,4	a	A	6,9	a	B	7,3	a	C
100 Ca	5,3	b	A	5,9	b	B	7,0	a	C	7,6	b	D
150 Ca	4,1	a	A	6,1	bc	B	7,1	ab	C	7,7	b	D

1/Los valores indican el promedio (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 2.7. Evolución de los parámetros de luminosidad, tono y croma de hojas de rúcula “baby” en envases activos con carvacrol durante 9 días a 5°C.

	Tratamiento	Color															
		Día 0		Día 3		Día 6		Día 9									
Luminosidad (L*_{ab})	BP	47,1	$\pm 0,7^1$	a ²	B ³	43,6	$\pm 0,7$	a	A	46,8	$\pm 0,7^1$	b ²	B ³	47,5	$\pm 0,5$	b	B
	AMP	46,4	$\pm 0,9$	a	A	44,1	$\pm 0,6$	a	A	45,1	$\pm 0,9$	ab	A	45,6	$\pm 0,6$	ab	A
	75 Ca	47,3	$\pm 0,8$	a	B	44,4	$\pm 0,7$	a	A	45,1	$\pm 0,8$	ab	A	45,3	$\pm 0,6$	ab	A
	100 Ca	47,1	$\pm 0,8$	a	A	44,2	$\pm 0,7$	a	A	43,4	$\pm 0,6$	a	A	44,3	$\pm 0,8$	a	A
	150 Ca	46,9	$\pm 0,7$	a	B	43,4	$\pm 0,8$	a	A	42,8	$\pm 0,9$	a	A	43,9	$\pm 0,7$	a	A
Saturación (C*)	BP	23,5	$\pm 0,9$	a	A	23,0	$\pm 0,7$	a	A	22,3	$\pm 0,7$	a	A	20,8	$\pm 0,7$	ab	A
	AMP	23,4	$\pm 0,9$	a	A	23,4	$\pm 0,7$	a	A	24,6	$\pm 1,0$	a	A	23,2	$\pm 0,8$	ab	A
	75 Ca	23,8	$\pm 0,6$	a	A	23,7	$\pm 0,8$	a	A	23,3	$\pm 0,7$	a	A	23,7	$\pm 0,8$	b	A
	100 Ca	22,6	$\pm 0,8$	a	A	23,2	$\pm 0,7$	a	A	23,8	$\pm 0,6$	a	A	23,8	$\pm 0,8$	b	A
	150 Ca	23,0	$\pm 0,7$	a	A	22,8	$\pm 0,9$	a	A	23,3	$\pm 0,8$	a	A	22,5	$\pm 0,7$	ab	A
Tono (H_{ab})	BP	125,5	$\pm 0,5$	a	A	125,8	$\pm 0,4$	a	A	124,6	$\pm 0,3$	a	A	124,3	$\pm 0,5$	a	A
	AMP	125,2	$\pm 0,6$	a	A	125,9	$\pm 0,5$	a	A	124,5	$\pm 0,5$	a	A	125,3	$\pm 0,6$	a	A
	75 Ca	124,5	$\pm 0,4$	a	A	125,3	$\pm 0,6$	a	A	124,6	$\pm 0,7$	a	A	125,1	$\pm 0,5$	a	A
	100 Ca	125,0	$\pm 0,6$	a	A	125,8	$\pm 0,6$	a	A	124,8	$\pm 0,5$	a	A	125,0	$\pm 0,5$	a	A
	150 Ca	124,9	$\pm 0,7$	a	A	125,9	$\pm 0,6$	a	A	124,7	$\pm 0,7$	a	A	125,3	$\pm 0,5$	a	A

1/Los valores indican el promedio \pm desviación estándar (n=30).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 2.8. Coordenadas de color L, a y b y variación global de color (ΔE_{00}) de hojas de rúcula “baby” en envases activos de carvacrol durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	Variación global de color (ΔE_{00})								
	Día 3			Día 6			Día 9		
BP	2,3	$\pm 1,1$ ¹	A ²	1,1	$\pm 0,1$	A	2,1	$\pm 0,1$	A
AMP	3,0	$\pm 0,8$	A	1,7	$\pm 0,4$	A	1,5	$\pm 0,3$	A
75 Ca	2,8	$\pm 0,6$	A	2,1	$\pm 0,8$	A	2,0	$\pm 0,9$	A
100 Ca	2,9	$\pm 0,9$	A	4,1	$\pm 1,4$	A	2,8	$\pm 0,7$	A
150 Ca	3,4	$\pm 0,9$	A	4,0	$\pm 0,3$	A	3,0	$\pm 0,3$	A

1/Los valores indican el promedio \pm desviación estándar (n=3).

2/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

Cuadro 2.9. Evaluación sensorial de la apariencia de hojas de rúcula “baby” en envases activos con carvacrol durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	Apariencia											
	Día 0			Día 3			Día 6			Día 9		
BP	11,4	$\pm 0,4$ ¹	ab ² B ³	10,3	$\pm 0,5$	a AB	9,3	$\pm 0,5$	a A	8,5	$\pm 0,6$	a A
AMP	12,3	$\pm 0,5$	a A	11,4	$\pm 0,6$	b A	11,4	$\pm 0,6$	b A	11,0	$\pm 0,7$	b A
75 Ca	13,0	$\pm 0,5$	bc A	11,4	$\pm 0,4$	b A	11,4	$\pm 0,8$	b A	11,0	$\pm 0,9$	b A
100 Ca	12,7	$\pm 0,4$	c A	12,0	$\pm 0,4$	b A	10,7	$\pm 0,7$	b A	11,1	$\pm 0,5$	b A
150 Ca	12,7	$\pm 0,4$	c A	12,1	$\pm 0,6$	b A	11,7	$\pm 0,6$	b A	10,6	$\pm 0,5$	b A

1/Los valores indican el promedio \pm desviación estándar (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

Cuadro 2.10. Evaluación sensorial del color de hojas de rúcula “baby” en envases activos con carvacrol durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	Color											
	Día 0			Día 3			Día 6			Día 9		
BP	11,9	$\pm 0,4$ ¹	a ² C ³	10,3	$\pm 0,8$	a BC	9,6	$\pm 0,4$	a AB	8,2	$\pm 0,5$	a A
AMP	12,9	$\pm 0,5$	ab A	11,8	$\pm 0,7$	ab A	10,7	$\pm 0,7$	ab A	11,4	$\pm 0,7$	b A
75 Ca	12,6	$\pm 0,4$	b A	11,3	$\pm 0,7$	ab A	11,6	$\pm 0,6$	b A	11,2	$\pm 0,7$	b A
100 Ca	13,2	$\pm 0,3$	b B	11,9	$\pm 0,6$	ab AB	11,2	$\pm 0,6$	b AB	10,6	$\pm 0,7$	b A
150 Ca	13,1	$\pm 0,3$	c B	11,9	$\pm 0,5$	b AB	11,1	$\pm 0,8$	b AB	10,7	$\pm 0,8$	b A

1/Los valores indican el promedio \pm desviación estándar (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 2.11. Evaluación sensorial de olores extraños en hojas de rúcula “baby” en envases activos con carvacrol durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	Olores extraños											
	Día 0			Día 3			Día 6			Día 9		
BP	0,3	$\pm 0,1$ ¹	a ² A ³	1,2	$\pm 0,2$	a B	0,4	$\pm 0,2$	a AB	0,9	$\pm 0,3$	a AB
AMP	1,0	$\pm 0,2$	ab A	0,7	$\pm 0,2$	a A	0,7	$\pm 0,3$	a A	0,9	$\pm 0,3$	a A
75 Ca	1,6	$\pm 0,3$	b A	1,0	$\pm 0,2$	a A	0,6	$\pm 0,1$	a A	1,2	$\pm 0,4$	a A
100 Ca	1,8	$\pm 0,4$	b A	1,4	$\pm 0,2$	a A	1,0	$\pm 0,2$	a A	1,5	$\pm 0,5$	a A
150 Ca	3,8	$\pm 0,7$	c A	2,7	$\pm 0,3$	a A	2,0	$\pm 0,6$	b A	2,2	$\pm 0,7$	a A

1/Los valores indican el promedio \pm desviación estándar (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 2.12. Evaluación sensorial de turgencia y sabores extraños de hojas de rúcula “baby” en envases activos con carvacrol durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	Turgencia		Sabores extraños	
	Día 0	Día 3	Día 0	Día 3
BP	10,6 ±0,8 ¹ a ² B ³	9,6 ±0,6 a B	0,7 ±0,2 a A	0,9 ±0,1 a A
AMP	12,1 ±0,6 a B	10,9 ±0,6 a B	1,3 ±0,4 a A	0,8 ±0,2 a A
75 Ca	12,0 ±0,7 a B	10,6 ±0,6 a AB	1,0 ±0,3 a A	0,9 ±0,2 a A
100 Ca	11,0 ±0,6 a C	9,3 ±0,7 a C	1,2 ±0,4 a A	2,2 ±0,4 b A
150 Ca	11,0 ±0,7 a C	11,2 ±0,4 a C	1,5 ±0,2 a A	1,7 ±0,3 ab A

1/Los valores indican el promedio ± desviación estándar (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 2.13. Evolución del contenido de fenoles totales ($\mu\text{g EAG g}^{-1}$ pf) en hojas de rúcula “baby” en envases activos con carvacrol durante 9 días a 5°C.

Tratamientos	($\mu\text{g EAG g}^{-1}$ pf)			
	Día 0	Día 3	Día 6	Día 9
BP	78,9 ±2,5 ¹ b ² C ³	67,8 ±1,9 bc B	58,8 ±1,6 ab A	56,2 ±0,8 a A
AMP	59,5 ±0,7 a B	54,4 ±0,9 a A	57,2 ±0,1 a B	59,1 ±0,5 a B
75 Ca	75,0 ±2,4 b B	65,5 ±1,2 b A	64,7 ±1,2 bc A	70,3 ±1,1 c AB
100 Ca	81,4 ±0,5 b C	74,3 ±0,7 c B	67,2 ±0,7 c A	68,6 ±0,7 c A
150 Ca	64,9 ±1,5 a A	58,5 ±2,1 a A	64,1 ±2,1 bc A	63,3 ±1,0 b A

1/Los valores indican el promedio ± desviación estándar (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 2.14. Evolución de la capacidad antioxidante (ensayo DPPH) en hojas de rúcula “baby” en envases activos con carvacrol durante 9 días a 5°C.

Tratamientos	$\mu\text{g Trolox g}^{-1} \text{ pf}$			
	Día 0	Día 3	Día 6	Día 9
BP	19,3 \pm 1,3 ¹ a ² B ³	15,7 \pm 2,0 a AB	12,1 \pm 0,2 a A	11,5 \pm 0,5 a A
AMP	17,5 \pm 1,0 a B	14,5 \pm 0,6 a AB	13,5 \pm 0,8 ab A	13,6 \pm 0,2 a AB
75 Ca	19,3 \pm 1,7 a A	16,3 \pm 0,9 a A	15,0 \pm 0,5 ab A	16,4 \pm 0,6 b A
100 Ca	19,5 \pm 0,3 a B	15,0 \pm 1,6 a A	13,9 \pm 0,3 ab A	16,5 \pm 0,3 b AB
150 Ca	14,3 \pm 1,2 a A	15,0 \pm 1,4 a A	15,3 \pm 1,1 b A	16,9 \pm 0,3 b A

1/Los valores indican el promedio \pm desviación estándar (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 2.15. Relación entre la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales de hojas de rúcula “baby” en envases activos con carvacrol durante 9 días a 5°C.

Cap. Antioxidante/fenoles totales	r^1	p <0,05
Día 3	0,25	0,57
Día 6	0,40	0,14
Día 9	0,65	0,01

1/Coeficiente de correlación

APÉNDICE 3. Ensayo 3

Cuadro 3.1. Caracterización inicial de las hojas de rúcula utilizadas en el ensayo de envases activos con aceite esencial, durante 9 días a 5°C.

Repeticiones	Color			Dimensiones (cm)		Peso (g)
	Luminosidad (L^*_{ab})	Saturación (C^*_{ab})	Tono (H^*_{ab})	Largo	Ancho	
R1	45,2 \pm 1,1	28,5 \pm 0,7	235,7 \pm 0,7	9,6 \pm 0,3	3,4 \pm 0,3	6,0 \pm 0,7
R2	45,0 \pm 1,1	28,3 \pm 0,9	235,8 \pm 0,6	9,6 \pm 0,4	3,2 \pm 0,1	5,5 \pm 0,8
R3	43,8 \pm 0,7	27,6 \pm 0,4	234,1 \pm 0,3	7,5 \pm 0,3	2,6 \pm 0,2	5,7 \pm 0,7
	44,6 \pm0,1	28,1 \pm0,7	235,2 \pm0,5	9,6 \pm0,9	3,1 \pm0,2	6,1 \pm0,7

1/ Valores de promedio y error estándar (n=30).

Cuadro 3.2. Evolución porcentual del CO₂ en hojas de rúcula “baby” en envases activos con aceites esenciales de citral y carvacrol con una dosis de UV-C, durante 9 días a 5°C.

Tratamientos	Evolución del CO ₂ (%)			
	Día 0	Día 3	Día 6	Día 9
BP	1,0 \pm 0,0 ¹ a ² A ³	1,7 \pm 0,3 a A	1,4 \pm 0,2 a A	1,7 \pm 0,1 a A
UVC	1,5 \pm 0,0 b A	6,2 \pm 0,0 b B	9,7 \pm 0,0 d C	8,5 \pm 0,2 b D
150Ci	1,4 \pm 0,1 b A	7,4 \pm 0,2 b B	7,3 \pm 0,2 b B	7,7 \pm 0,4 b B
75Ca	1,3 \pm 0,1 ab A	6,7 \pm 0,3 b B	9,1 \pm 0,1 c D	8,0 \pm 0,4 b C
150Ci+75Ca	0,9 \pm 0,1 a A	6,3 \pm 0,5 b B	8,6 \pm 0,2 cd C	7,8 \pm 0,2 b C

1/Los valores indican el promedio \pm desviación estándar (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 3.3. Evolución porcentual del O₂ en hojas de rúcula “baby” en envases activos con aceites esenciales de citral y carvacrol con una dosis de UV-C, durante 9 días a 5°C.

Tratamientos	Evolución del O ₂ (%)			
	Día 0	Día 3	Día 6	Día 9
BP	19,8 ±0,1 ¹ c ² A ³	19,2 ±0,3 a A	19,5 ±0,2 c A	19,1 ±0,1 b A
UVC	19,2 ±0,0 a D	12,2 ±0,0 b C	2,8 ±0,6 a B	0,5 ±0,0 a A
150Ci	19,3 ±0,1 ab D	10,1 ±0,2 b C	4,7 ±0,4 a B	0,7 ±0,7 a A
75Ca	19,6 ±0,0 bc C	11,1 ±0,4 b B	3,8 ±0,2 a A	1,3 ±1,3 a A
150Ci+75Ca	19,9 ±0,0 c C	11,9 ±0,8 b B	4,1 ±0,3 a A	3,2 ±1,5 a A

1/Los valores indican el promedio ± desviación estándar (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 3.4. Recuento de mesófilos aerobios (log UFC g⁻¹) en hojas de rúcula “baby” en envases activos con aceites esenciales de citral y carvacrol con una dosis de UV-C, durante 9 días a 5°C.

Tratamientos	log UFC g ⁻¹			
	Día 0	Día 3	Día 6	Día 9
BP	4,3 ¹ d ² A ³	5,3 d B	6,3 c C	6,1 b C
UVC	3,8 c A	4,6 c A	5,6 b B	4,8 a AB
150Ci	3,1 b A	4,0 ab B	6,0 c C	5,2 ab C
75Ca	3,6 c A	4,2 b B	5,5 b C	5,0 ab C
150Ci+75Ca	2,7 a A	3,5 a B	5,1 a C	5,5 ab C

1/Los valores indican el promedio (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 3.5. Recuento de enterobacterias (log UFC g⁻¹) en hojas de rúcula “baby” en envases activos con aceites esenciales de citral y carvacrol con una dosis de UV-C, durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	log UFC g ⁻¹							
	Día 0		Día 3		Día 6		Día 9	
BP	4,5 ¹	d ² A ³	5,5	b B	6,2	c BC	6,0	d C
UVC	3,4	bc A	4,6	a B	4,4	b B	5,2	a C
150Ci	2,9	ab A	4,1	a B	4,1	b B	5,0	a C
75Ca	3,6	c A	4,5	a BC	4,1	b AB	5,0	a C
150Ci+75Ca	2,5	a A	4,4	a C	3,5	a B	5,3	a D

1/Los valores indican el promedio (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 3.6. Recuento de *E. coli* (log UFC g⁻¹) en hojas de rúcula “baby” en envases activos con aceites esenciales de citral y carvacrol con una dosis de UV-C, durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	log UFC g ⁻¹							
	Día 0		Día 3		Día 6		Día 9	
BP	3,4	b ² B	3,1	b A	4,3	b C	4,2	a C
UVC	3,0	ab AB	2,7	b A	4,0	b AB	4,2	a B
150Ci	2,0	ab A	1,7	ab A	3,3	b B	4,4	a C
75Ca	2,0	ab A	2,9	b B	3,5	b BC	4,2	a C
150Ci+75Ca	1,3	a AB	1,1	a AB	1,0	a A	4,2	a B

1/Los valores indican el promedio (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 3.7. Recuento de psicrótrofos (log UFC g⁻¹) en hojas de rúcula “baby” en envases activos con aceites esenciales de citral y carvacrol con una dosis de UV-C, durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	log UFC g ⁻¹											
	Día 0			Día 3			Día 6			Día 9		
BP	4,5 ¹	c ²	A ³	4,3	c	A	6,3	c	B	4,2	b	A
UVC	3,3	b	A	3,3	b	A	5,5	b	B	3,5	a	A
150Ci	2,5	a	A	2,6	a	A	5,2	b	C	3,7	a	B
75Ca	3,5	b	A	3,3	b	A	5,2	b	B	3,5	a	A
150Ci+75Ca	3,0	ab	A	3,0	ab	A	4,1	a	B	3,6	a	B

1/Los valores indican el promedio (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 3.8. Evolución de los parámetros de luminosidad, tono y croma de hojas de rúcula “baby” en envases activos con aceites esenciales de citral y carvacrol con una dosis de UV-C, durante 9 días a 5°C.

	Tratamiento	Color																
		Día 0		Día 3		Día 6		Día 9										
Luminosidad (L*_{ab})	BP	45,7	±0,7	a	A	46,5	±0,7	a	A	47,5	±0,9 ¹	a	A ³	49,3	±0,9	b	A	
	UVC	47,3	±0,6	a	A	45,8	±0,8	a	A	46,6	±1,0	a	A	46,7	±0,5	a	A	
	150Ci	45,6	±0,8	a	A	45,8	±0,9	a	A	46,2	±0,7	a	A	46,8	±0,7	a	A	
	75Ca	47,0	±0,6	a	A	45,4	±0,9	a	A	46,4	±0,8	a	A	46,6	±0,8	a	A	
	150Ci+75Ca	44,8	±0,6	a	A	45,6	±0,7	a	A	46,3	±0,7	a	A	47,0	±0,9	a	A	
		BP	23,5	±0,7	a	A	26,3	±0,9	a	A	26,5	±0,7	a	A	27,1	±0,7	a	A
Saturación (C*)	UVC	24,5	±0,7	a	A	24,1	±1,0	a	A	24,7	±0,8	a	A	24,9	±0,7	a	A	
	150Ci	24,0	±0,9	a	A	25,6	±0,9	a	A	25,2	±0,9	a	A	25,4	±0,8	a	A	
	75Ca	24,1	±0,6	a	A	24,8	±0,9	a	A	25,5	±0,8	a	A	25,1	±0,8	a	A	
	150Ci+75Ca	23,8	±0,7	a	A	25,6	±0,9	a	A	24,9	±0,8	a	A	26,3	±1,0	a	A	
		BP	123,9	±0,6	a	A	123,1	±0,5	a	A	122,7	±0,6	a	A	122,0	±0,6	a	A
	Tono (H_{ab})	UVC	123,2	±0,3	a	A	124,1	±1,0	a	A	124,0	±1,0	a	A	124,0	±0,5	a	A
150Ci		124,3	±0,7	a	A	123,8	±0,6	a	A	124,0	±0,7	a	A	123,1	±0,6	a	A	
75Ca		123,3	±0,6	a	A	124,0	±0,5	a	A	123,5	±0,5	a	A	124,2	±0,7	a	A	
150Ci+75Ca		124,4	±0,5	a	A	124,2	±0,6	a	A	123,9	±0,6	a	A	122,9	±0,7	a	A	

1/Los valores indican el promedio ± desviación estándar (n=30).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 3.9. Coordenadas de color L^* , a y b y variación global de color (ΔE_{00}) de hojas de rúcula “baby” en envases activos de aceites esenciales de citral y carvacrol con una dosis de UV-C, durante 9 días a 5°C.

Tratamientos	Variación global de color (ΔE_{00})								
	Día 3			Día 6			Día 9		
BP	2,6	$\pm 1,33$	A	3,3	$\pm 1,08$	A	3,9	$\pm 0,8$	A
UVC	3,3	$\pm 0,37$	A	1,8	$\pm 0,40$	A	1,1	$\pm 0,2$	A
150Ci	0,9	$\pm 0,52$	A	0,8	$\pm 0,36$	A	1,3	$\pm 0,5$	A
75Ca	1,9	$\pm 0,84$	A	1,6	$\pm 0,51$	A	1,3	$\pm 0,4$	A
150Ci+75Ca	1,6	$\pm 0,58$	A	1,7	$\pm 0,56$	A	2,6	$\pm 0,9$	A

1/Los valores indican el promedio \pm desviación estándar (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

Cuadro 3.10. Evaluación sensorial de la apariencia de hojas de rúcula “baby” en envases con aceites esenciales de citral y carvacrol con una dosis de UV-C, durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	Apariencia															
	Día 0				Día 3				Día 6				Día 9			
BP	12,5	$\pm 0,7$	a ²	A	10,1	$\pm 1,1$	a	A	12,0	$\pm 0,8$	a	A	9,5	$\pm 1,0$	a	A
UVC	13,1	$\pm 0,5$	a	A	11,0	$\pm 1,0$	a	A	11,4	$\pm 0,8$	a	A	11,4	$\pm 1,1$	a	A
150Ci	13,4	$\pm 0,4$	a	A	12,4	$\pm 0,7$	a	A	12,6	$\pm 0,8$	a	A	11,1	$\pm 1,2$	a	A
75Ca	13,7	$\pm 0,5$	a	A	12,5	$\pm 0,8$	a	A	12,1	$\pm 0,9$	a	A	11,5	$\pm 0,9$	a	A
150Ci+75Ca	12,5	$\pm 0,8$	a	A	12,8	$\pm 0,5$	a	A	11,9	$\pm 0,9$	a	A	10,8	$\pm 1,1$	a	A

1/Los valores indican el promedio \pm desviación estándar (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

Cuadro 3.11. Evaluación sensorial del color de hojas de rúcula “baby” en envases con aceites esenciales de citral y carvacrol con una dosis de UV-C, durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	Color							
	Día 0		Día 3		Día 6		Día 9	
BP	12,9 ±0,7 ¹	a ² A ³	9,7 ±1,1	a A	10,9 ±0,8	a A	9,4 ±1,0	a A
UVC	13,0 ±0,8	a A	10,3 ±0,9	a A	10,7 ±0,8	a A	10,4 ±1,3	a A
150Ci	12,5 ±1,0	a A	12,1 ±0,6	b A	12,0 ±0,8	a A	11,1 ±1,2	a A
75Ca	13,9 ±0,6	a A	11,3 ±0,9	ab A	11,4 ±0,9	a A	10,9 ±1,1	a A
150Ci+75Ca	12,5 ±1,2	a A	10,6 ±0,9	ab A	11,6 ±1,0	a A	11,3 ±1,0	a A

1/Los valores indican el promedio ± desviación estándar (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 3.12. Evaluación sensorial de olores extraños en hojas de rúcula “baby” en envases activos con aceites esenciales de citral y carvacrol con una dosis de UV-C, durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	Olores extraños							
	Día 0		Día 3		Día 6		Día 9	
BP	1,6 ±0,8 ¹	a ² A	2,7 ±1,0	a A	0,7 ±0,5	a A	2,5 ±1,0	a A
UVC	2,0 ±0,5	ab A	1,9 ±0,5	a A	3,5 ±1,6	ab A	3,0 ±1,0	a A
150Ci	7,5 ±2,1	c A	8,5 ±1,6	bc A	5,0 ±1,3	b A	5,0 ±1,6	a A
75Ca	6,0 ±1,7	bc A	2,9 ±1,0	a A	2,7 ±1,1	ab A	3,3 ±1,6	a A
150Ci+75Ca	5,5 ±1,5	bc A	6,6 ±1,3	b A	3,4 ±1,5	ab A	4,3 ±1,3	a A

1/Los valores indican el promedio ± desviación estándar (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 3.13. Evaluación sensorial de turgencia y sabores extraños de hojas de rúcula “baby” en envases activos con aceites esenciales de citral y carvacrol con una dosis de UV-C, durante 9 días a 5°C.

Tratamiento	Turgencia		Sabores extraños	
	Día 0	Día 3	Día 0	Día 3
BP	8,7 \pm 1,2 ¹ a ² A ³	8,1 \pm 1,0 a A	1,8 \pm 0,8 a A	3,0 \pm 1,0 a A
UVC	9,7 \pm 1,6 a A	9,2 \pm 1,3 a A	2,3 \pm 1,1 a A	3,6 \pm 1,2 a A
150Ci	8,6 \pm 1,3 a A	10,1 \pm 1,1 a A	2,5 \pm 0,9 a A	3,7 \pm 1,3 a A
75Ca	7,2 \pm 1,8 a A	8,5 \pm 1,6 a A	2,4 \pm 1,1 a A	2,2 \pm 0,6 a A
150Ci+75Ca	8,2 \pm 1,8 a A	9,9 \pm 0,9 a A	2,7 \pm 1,5 a A	4,1 \pm 0,7 a A

1/Los valores indican el promedio \pm desviación estándar (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 3.14. Evolución del contenido de fenoles totales ($\mu\text{g EAG g}^{-1}$ pf) en hojas de rúcula “baby” en envases activos con aceites esenciales de citral y carvacrol con una dosis de UV-C, durante 9 días a 5°C.

Tratamientos	Contenido de fenoles totales ($\mu\text{g EAG g}^{-1}$ pf)			
	Día 0	Día 3	Día 6	Día 9
BP	103,9 \pm 5,0 ¹ a ² AB ³	96,9 \pm 4,0 a A	114,9 \pm 0,3 a B	96,3 \pm 0,8 a A
UVC	96,4 \pm 2,1 a A	106,4 \pm 4,8 a A	125,0 \pm 4,0 ab B	112,7 \pm 0,5 b AB
150Ci	91,1 \pm 5,4 a A	101,4 \pm 2,9 a A	129,9 \pm 5,5 ab B	108,7 \pm 1,1 ab A
75Ca	106,2 \pm 5,5 a AB	100,3 \pm 4,8 a A	125,7 \pm 0,7 ab B	121,0 \pm 0,7 b AB
150Ci+75Ca	91,9 \pm 5,4 a A	127,4 \pm 4,7 b B	135,5 \pm 2,1 b B	116,9 \pm 1,0 b B

1/Los valores indican el promedio \pm desviación estándar (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (p<0,05).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey (p<0,05).

Cuadro 3.15. Evolución de la capacidad antioxidante (DPPH) en hojas de rúcula “baby” en envases activos con aceites esenciales de citral y carvacrol con una dosis de UV-C, durante 9 días a 5°C.

Tratamientos	Capacidad antioxidante ($\mu\text{g Trolox g}^{-1}$ pf)											
	Día 0			Día 3			Día 6			Día 9		
BP	34,4	$\pm 3,3$	b B	25,0	$\pm 2,3$	a AB	21,0	$\pm 3,3$	a A	17,5	$\pm 1,0$	a A
UVC	32,9	$\pm 1,8$	ab C	25,8	$\pm 0,6$	a AB	30,2	$\pm 1,9$	a BC	21,4	$\pm 0,7$	a A
150Ci	24,9	$\pm 0,7$	a A	26,9	$\pm 1,1$	a A	22,6	$\pm 3,2$	a A	21,0	$\pm 3,3$	a A
75Ca	27,2	$\pm 1,1$	ab B	29,4	$\pm 3,3$	a B	20,5	$\pm 3,0$	a AB	15,3	$\pm 2,1$	a A
150Ci+75Ca	29,0	$\pm 1,9$	ab B	26,0	$\pm 1,0$	a B	25,6	$\pm 0,2$	a B	18,2	$\pm 2,1$	a A

1/Los valores indican el promedio \pm desviación estándar (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

Cuadro 3.16. Evolución de la capacidad antioxidante (FRAP) en hojas de rúcula “baby” en envases activos con aceites esenciales de citral y carvacrol con una dosis de UV-C, durante 9 días a 5°C..

Tratamientos	Capacidad antioxidante (mg Trolox g^{-1} pf)											
	Día 0			Día 3			Día 6			Día 9		
BP	2,4	$\pm 0,0$	ab C	2,0	$\pm 0,0$	a B	2,0	$\pm 0,0$	a B	1,7	$\pm 0,1$	a A
UVC	2,5	$\pm 0,1$	ab B	2,2	$\pm 0,0$	a AB	2,7	$\pm 0,1$	b B	2,0	$\pm 0,1$	a A
150Ci	2,3	$\pm 0,1$	a BC	2,1	$\pm 0,1$	a AB	2,6	$\pm 0,1$	b C	1,8	$\pm 0,0$	a A
75Ca	2,7	$\pm 0,0$	b B	2,4	$\pm 0,2$	a AB	2,7	$\pm 0,1$	b B	2,0	$\pm 0,2$	a A
150Ci+75Ca	2,7	$\pm 0,1$	b B	2,3	$\pm 0,1$	a AB	2,1	$\pm 0,0$	a A	2,2	$\pm 0,2$	a A

1/Los valores indican el promedio \pm desviación estándar (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

Cuadro 3.17. Evolución de la vitamina-C en hojas de rúcula “baby” en envases activos con aceites esenciales de citral y carvacrol con una dosis de UV-C, durante 9 días a 5°C.

Tratamientos	$\mu\text{g Ácido ascórbico g}^{-1} \text{ pf}$		
	Día 0	Día 3	Día 9
BP	6,5 \pm 0,6 a A	6,0 \pm 0,1 a A	6,1 \pm 0,1 a A
UVC	6,2 \pm 0,4 a A	5,9 \pm 0,0 a A	8,1 \pm 1,2 a A
150Ci	5,8 \pm 0,0 a A	6,4 \pm 0,2 a A	7,5 \pm 0,1 a B
75Ca	5,8 \pm 0,0 a A	5,8 \pm 0,3 a A	8,1 \pm 0,7 a B
150Ci+75Ca	5,9 \pm 0,0 a A	6,4 \pm 0,4 a A	7,5 \pm 0,6 a A

1/Los valores indican el promedio \pm desviación estándar (n=3).

2/Letras minúsculas distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

3/Letras mayúsculas distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los distintos días de conservación, según la prueba de Tukey ($p < 0,05$).