



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE POSTGRADO

**EFFECTO DE RADIACIÓN UV-C Y ATMÓSFERAS MODIFICADAS ACTIVAS
SOBRE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA Y FUNCIONAL DE RÚCULA**

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

IVES JULIAN YOPLAC TAFUR

Director de Tesis
VÍCTOR HUGO ESCALONA CONTRERAS

Profesores Consejeros
CARMEN SÁENZ HERNÁNDEZ
LUIS LUCHSINGER LAGOS

Colaboradora
CIELO CHAR AUBRY

SANTIAGO – CHILE
DICIEMBRE 2012

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSTGRADO**

**EFFECTO DE RADIACIÓN UV-C Y ATMÓSFERAS MODIFICADAS ACTIVAS SOBRE
LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA Y FUNCIONAL DE RÚCULA**

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

Ives Julian Yoplac Tafur

Director de Tesis	Calificaciones (Tesis de Grado)
Víctor Hugo Escalona Contreras Ingeniero Agrónomo, Dr.	Aprobado
Profesores Consejeros	
Carmen Sáenz Hernández Químico Farmacéutico, Dr.	Aprobado
Luis Luchsinger Lagos Ingeniero Agrónomo, Dr.	Aprobado
Colaboradora	
Cielo Char Aubry Bioquímica, Dr.	

Santiago, Chile
2012

A mi esposa Yesica

A mi hijo Jeremy Jhamil

AGRADECIMIENTOS

Ha sido un enorme sacrificio y un largo recorrido en un país diferente al mío, donde descubrí seres maravillosos. Es imposible dar valor al cariño y comprensión de todas estas personas, que guardaré en mi corazón y en mis recuerdos.

Son tantas las personas que posiblemente no las mencione, a los cuales les ruego me sepan disculpar, les doy las gracias y siempre tendrán un lugar en mis recuerdos y en mis agradecimientos.

En primer lugar agradezco a Dios.

Al Programa Internacional de Becas de la Fundación Ford, (EE.UU.), por haber depositado su confianza en mi persona y haber financiado mis estudios de postgrado, siendo mi identificación como becario el N° IFP-15104885. Al Instituto de Estudios Peruanos de Perú, Fundación Equitas de Chile, por su asesoramiento y supervisión durante todo el proceso de estudios de Magister.

Al proyecto Fondecyt-CONICYT N° 1120274 “Innovations on hydroponic and post harvest technologies applied on the production of ready to eat baby leafy vegetables” y el Proyecto de Inserción de Capital Humano Avanzado en la Academia, 2010-CONICYT, Ref. N° 79100005, por financiar la ejecución de esta Tesis de Magister.

Mis más sincero agradecimiento a mis directores de Tesis, el Dr. Víctor H. Escalona Contreras, por su dirección, por hacerme partícipe de sus conocimientos científicos.

A la Dra. Cielo Char Aubry, por su dedicación, asesoramiento y ayuda recibida durante el desarrollo de la presente Tesis de Magister.

A los profesores consejeros, Dra. Carmen Sáenz y Ph.D. Luis Luchsinger, por sus correcciones, aportes y acertados comentarios.

Gracias al personal profesional del Centro de Estudios Postcosecha (CEPOC) a Andrea Hinojosa, Alejandra Machuca y Daniela Cárdenas, por su apoyo, comprensión, paciencia y ánimos transmitidos.

Al Dr. Javier M. Obando Ulloa, por su ayuda, consejos y asesoramiento en la realización de análisis de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAR), así como en otras etapas del desarrollo de la presente Tesis.

A mi esposa Yesica, por estar siempre a mi lado, por comprenderme y apoyarme incondicionalmente, por ser una gran concejera y amiga; a mi hijo Jeremy Jhamil, quien es el motor y motivo para continuar en la senda de la superación.

Finalmente, y por ello no menos importante, quisiera agradecer a Héctor Morales, responsable del laboratorio de Cromatografía Líquida, por su apoyo en la realización de los análisis respectivos en dicho laboratorio.

ÍNDICE

CAPÍTULO I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

I.1. PRODUCTOS MINIMAMENTE PROCESADOS EN FRESCO Y SUS CARACTERÍSTICAS	2
1. Productos mínimamente procesados en fresco (MPF).....	2
2. Compuestos funcionales en los productos MPF	3
A) Compuestos fenólicos.....	4
B) Vitamina C.....	5
C) Capacidad antioxidante.....	5
3. Parámetros de calidad en los productos MPF	6
I.2. ENVASADO EN ATMÓSFERA MODIFICADA ACTIVA Y RADIACIÓN UV-C	6
1. Envasado en atmósfera modificada activa	6
A) Uso de altas concentraciones de oxígeno.....	7
B) Uso de gases no convencionales.....	9
2. Radiación ultravioleta	10
I.4. RÚCULA.....	12
I.5. HIPOTESIS DE TRABAJO	13
I.6. OBJETIVO.....	14

CAPÍTULO II. EFECTO DE LAS ATMÓSFERAS MODIFICADAS ACTIVAS CON GASES NO CONVENCIONALES SOBRE LA INHIBICIÓN DE *E. coli* INOCULADAS EN HOJAS DE RÚCULA

II.1. RESUMEN	16
ABSTRACT	17

II.2. INTRODUCCIÓN.....	18
II.3. MATERIALES Y MÉTODOS	20
1. Lugar de estudio.....	20
2. Materiales.....	20
II.4. PROCESAMIENTO Y TRATAMIENTOS	22
II.5. ANÁLISIS Y EVALUACIONES EN HOJAS DE RÚCULA.....	27
1. Atmósfera modificada activa	27
2. Análisis microbiológico	28
3. Determinación de color.....	29
II.6. DISEÑO DE EXPERIMENTOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	29
II.7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
1. Atmósfera modificada activa	30
2. Análisis microbiológico	32
A) Recuento de <i>E. coli</i>	32
B) Recuento de enterobacterias	33
II.8. CONCLUSIONES.....	35
CAPÍTULO III. EFECTO DE LA RADIACIÓN UV-C SOBRE LA INHIBICIÓN DE <i>E. coli</i> INOCULADAS EN HOJAS DE RÚCULA	
III.1. RESUMEN	37
ABSTRACT	38
III.2. INTRODUCCIÓN.....	39

III.3. MATERIALES Y MÉTODOS	41
1. Lugar de estudio.....	41
2. Materiales.....	41
III.4. PROCESAMIENTO Y TRATAMIENTOS	43
III.5. ANÁLISIS Y EVALUACIONES EN HOJAS DE RÚCULA.....	45
1. Atmósfera modificada.....	45
2. Análisis microbiológico	45
3. Determinación del color.....	45
4. Determinación del aspecto visual.....	45
III.6. DISEÑO DE EXPERIMENTOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	46
III.7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
1. Atmósfera modificada.....	47
2. Análisis microbiológico	48
A) Recuento de <i>E. coli</i>	48
B) Recuento de enterobacterias	50
3. Determinación del aspecto visual	51
A) Apariencia	51
B) Intensidad de color	53
III.8. CONCLUSIONES.....	54
CAPITULO IV. EFECTO DE LA RADIACIÓN UV-C COMBINADA CON ATMÓSFERAS MODIFICADAS ACTIVAS SOBRE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA Y FUNCIONAL EN HOJAS DE RÚCULA	
IV.1. RESUMEN	56
ABSTRACT	57

IV.2. INTRODUCCIÓN	58
IV.3. MATERIALES Y MÉTODOS	60
1. Lugar de estudio.....	60
2. Materiales.....	60
IV.4. PROCESAMIENTO Y TRATAMIENTOS	62
IV.5. ANÁLISIS Y EVALUACIONES EN HOJAS DE RÚCULA MPF	65
1. Tasa respiratoria	65
2. Producción de etileno	67
3. Atmósfera modificada activa	67
4. Análisis microbiológico	67
5. Determinación del color.....	68
6. Determinación de la calidad sensorial	68
7. Determinaciones químicas	69
A) concentración de azúcares	69
B) Contenido de fenoles totales (método de Folin-Ciocalteu).....	70
C) Capacidad antioxidante.....	70
IV.6. DISEÑO DE EXPERIMENTOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	73
IV.7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	74
1. Tasa respiratoria	74
2. Producción de etileno	75
3. Atmósfera modificada activa	77
4. Calidad microbiológica	80
A) Recuento de <i>E. coli</i>	80
B) Recuento de enterobacterias	81
C) Recuento de mesófilos aerobios (RAM).....	83
D) Recuento de bacterias psicrótrofas.....	84
E) Recuento de hongos y levaduras.....	86

5. Determinación del color.....	89
A) Luminosidad (L)	89
B) Saturación (C*).....	90
C) Tono (H _{ab})	92
6. Calidad sensorial.....	93
A) Apariencia	93
B) Intensidad de color	94
7. Determinaciones químicas	96
A) Concentración de glucosa.....	96
B) Contenido de fenoles totales.....	97
C) Capacidad antioxidante.....	99
IV.8. CONCLUSIONES	104
BIBLIOGRAFÍA	105
APÉNDICE	115
ANEXO I.....	144
ANEXO II.....	145

CAPÍTULO I

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

I.1. PRODUCTOS MINIMAMENTE PROCESADOS EN FRESCO Y SUS CARACTERÍSTICAS

1. Productos mínimamente procesados en fresco (MPF)

El actual ritmo de vida, con escaso tiempo para preparar comidas equilibradas, ha incrementado la demanda de productos hortícolas frescos y saludables, listos para el consumo como los productos MPF, denominados también productos de “cuarta gama” (Artés *et al.*, 2009). Otros términos usados para referirse a estos productos son “productos frescos cortados”, “ligeramente procesados”, “parcialmente procesados” o “listos para el consumo” (Escalona y Luchsinger, 2008). En los países de habla inglesa se les conoce como “minimally processed” o “slightly processed”, “ready to use” o “ready to eat”, y “fresh-cut” (Cantwell y Suslow, 2002).

La International Fresh-cut Produce Association (IFPA), define a los productos MPF como "cualquier fruta u hortalizas o su combinación, que se ha alterado físicamente su forma original, pero se mantiene en estado fresco" (Garrett, 2002). El mínimo proceso comprende distintas operaciones unitarias que, de forma general, se pueden resumir en las siguientes: selección, clasificación, acondicionamiento, deshojado, pelado, cortado, lavado y desinfección (Cantwell y Suslow, 2002). Una vez que los productos se procesan, se envasan en bolsas selladas o en bandejas cubiertas con plásticos, con o sin modificación de la atmósfera para, posteriormente, ser almacenados y transportados bajo refrigeración. Estos productos son, por lo general, más perecederos que los mismos productos intactos y en general su vida útil suele ser de entre siete y diez días. Las modificaciones de calidad en estos productos se deben a la presencia de superficies cortadas y tejidos dañados. Además durante el procesamiento no se asegura la estabilidad microbiológica del producto y su metabolismo sigue activo; así, las reacciones de degradación que se producen afectan al color, firmeza, aroma, sabor y valor nutricional haciéndoles más susceptibles a perder su calidad higiénico-sanitaria. En general, todos los productos hortícolas MPF deben almacenarse entre 0 a 5 °C para mantener su calidad higiénica – sanitaria y vida de anaquel (Cantwell y Suslow, 2002; Lobo y González, 2007).

A nivel mundial, la industria de los productos MPF o IV gama mantiene un crecimiento vertiginoso desde principios de la década del '90. Como ejemplo, según la AFHORLA (Asociación Española de Frutas y Hortalizas Lavadas), España es uno de los principales productores de este tipo de productos en Europa, el sector presenta un volumen de negocio aproximado de 200 millones de Euros, alcanzando tasas de crecimiento de un 20% anual, transformándose en el país europeo que más crece en este sector (AFHORLA, 2010). El principal país consumidor de estos productos en Europa es el Reino Unido, seguido por Francia y luego Italia (Redagráfica, 2012). En el mercado de los productos MPF las ventas crecieron a una tasa del 10% anual desde el 2000 (Alonso y Chiesa, 2009). El consumo per cápita de los productos MPF en los países de EE.UU., Reino Unido, Francia y España son de 30, 15, 6 y 1,5 kg/ persona/año, respectivamente (Borrero, 2010).

El sector de los productos MPF, corresponde a un sector incipiente en la economía chilena, actualmente menos del 5% de las hortalizas que se comercializan en supermercados corresponden a este tipo y, en su mayoría, se producen en la Región Metropolitana (Redagráfica, 2012). El volumen producido por las empresas procesadoras es de aproximadamente 250 toneladas al mes. Esta producción la lideran fundamentalmente dos empresas ubicadas en Santiago (DOLE y APOSTOLES), que abarcan el 70% de la producción nacional (Carrasco y Manríquez, 2009).

2. Compuestos funcionales en los productos MPF

Diversos compuestos funcionales que poseen efectos terapéuticos provienen de alimentos funcionales de origen animal o de plantas. Los alimentos funcionales se definen como los productos alimenticios de origen animal o vegetal, que además de aportar nutrientes poseen compuestos funcionales. Estos compuestos son benéficos para la salud, pudiendo tener características antioxidantes o anticancerígenas (Drago *et al.*, 2006).

En los productos hortícolas MPF se han identificado diferentes compuestos funcionales como: ácidos fenólicos, antocianinas, flavonoides, glucosinolatos y vitamina C. El papel

beneficioso de la dieta en la salud en muchos casos se asocia a la presencia de las sustancias antioxidantes naturales que desde un punto de vista bioquímico, se conocen como metabolitos secundarios de origen vegetal, que la planta sintetiza como mecanismos de defensa (Steinmetz y Potter, 1996).

Las principales características y propiedades de los compuestos fenólicos, vitamina C y capacidad antioxidante, se describen a continuación:

A) Compuestos fenólicos

Estos compuestos poseen la propiedad de captar radicales libres, además pueden establecer puentes de hidrógeno, formando complejos estables con otras moléculas. Los compuestos fenólicos protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioleta, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. (Parr y Bolwell, 2000). Además, pueden inhibir enzimas relacionadas con la tumorigénesis y reducir el riesgo de enfermedades coronarias o cáncer (Martínez, 2008).

Los compuestos fenólicos también participan en el crecimiento y reproducción de las plantas y en procesos defensivos frente a patógenos (Havsteen, 2002). Existe una gran variedad de compuestos fenólicos, que pueden estar representados por diferentes colores como el amarillo, blanco, azul, púrpura o rojo, conociéndose más de 8000 estructuras fenólicas, con un anillo bencénico hidroxilado como elemento común en sus distintas estructuras moleculares (Martínez, 2008).

Los principales compuestos fenólicos identificados en las especies vegetales son los ácidos fenólicos y flavonoides. Los ácidos fenólicos están formados por los ácidos cinámicos, ácido p-cumarico, ácido caféico, ácido ferúlico, ácido sináptico, los conjugados del ácido quínico (ácido clorogénico y ácido isoclorogénico) y otros conjugados hidroxicinámicos (ácido cafeoiltartárico y ácido cafeoilmálico) (Clifford, 1999; Drago *et al.*, 2006; Parr y Bolwell, 2000). Los flavonoides (difencilpropanoides) pertenecen al grupo de compuestos fenólicos más diversos, conociéndose más de 5000 compuestos diferentes en la naturaleza (Tomás *et al.*, 2000). Estos flavonoides se

subdividen en dos clases principales: los 3-hidroxi flavonoides (flavanoles, flavonoles, flavanonoles, antocianidinas) y los flavonoides no hidroxilados en posición 3 (flavonas, isoflavonas, flavanonas) (Martínez, 2008; Havsteen, 2002).

B) Vitamina C

Es un nutriente esencial para los mamíferos y su presencia se requiere para un cierto número de reacciones metabólicas en los animales y plantas y es sintetizada por casi todos los organismos, excepto los humanos (Davey *et al.*, 2000). La vitamina C incluye el ácido ascórbico (AA) y el producto de su oxidación, el ácido dehidroascórbico (ADHA). En general, las tres funciones del AA son: actuar como cofactor enzimático, captar radicales libres y actuar como donante o aceptor de electrones (Davey *et al.*, 2000). Para conocer el contenido en vitamina C es importante determinar tanto AA como ADHA (Davey *et al.*, 2000; Lee y Kader, 2000).

C) Capacidad antioxidante

Durante el desarrollo de la vida, las células humanas y de otros organismos están constantemente expuestas a una variedad de agentes oxidantes, estos dan lugar a la generación de radicales libres, los cuales son especies muy reactivas e inestables. El exceso de radicales libres puede reaccionar con determinados componentes celulares como lípidos (peroxidación lipídica), proteínas y ácidos nucleicos; lo cual causa un daño oxidativo en estas biomoléculas, conduciendo progresivamente a una disfunción celular y aumentando el riesgo de enfermedades cardiovasculares y cáncer (Liu, 2004).

Los antioxidantes son compuestos que ayudan a retrasar e inhiben la oxidación lipídica y cuando son adicionados a los alimentos, tienden a minimizar el envejecimiento, retrasan la formación de productos de oxidación tóxicos y ayudan a mantener la calidad nutricional e incrementar la vida útil del mismo. Los efectos benéficos por consumir frutas y hortalizas se atribuyen principalmente a las vitaminas antioxidantes, los carotenoides y los polifenoles. Los antioxidantes naturales están compuestos por diferentes polifenoles y compuestos relacionados, los cuales pueden actuar sinérgicamente y de forma complementaria entre ellos (Martínez, 2008; Liu, 2004).

3. Parámetros de calidad en los productos MPF

Los principales parámetros de calidad se agrupan en el aspecto visual, textura y sabor. En el aspecto visual incluyen el tamaño, forma, color, brillo y ausencia de defectos y pudriciones. Dentro de la textura incluyen la firmeza, frescura, jugosidad, harinosidad, y la dureza en función del tipo de producto. Dentro del sabor incluyen dulzor, acidez, astringencia, amargor, aroma y sabor (“flavor”) (Kader, 2002a).

I.2. ENVASADO EN ATMÓSFERA MODIFICADA ACTIVA Y RADIACIÓN UV-C

1. Envasado en atmósfera modificada activa

La técnica del envasado en atmósferas modificadas (EAM) se denomina a la contención de los productos MPF refrigerado dentro de una película plástica, generalmente de permeabilidad selectiva a los gases permanentes del aire, y sellada herméticamente. Esta película plástica debe ser capaz de regular adecuadamente los intercambios gaseosos entre el tejido vegetal y el ambiente que lo rodea, generando una atmósfera de equilibrio favorable para su supervivencia, relacionando la superficie del envase y el peso del producto (Artés, 2006; Kader, 2002b). Es importante considerar que la permeabilidad de una película se incrementa en menor medida, que la actividad metabólica de un producto vegetal, con el aumento de la temperatura, por lo cual, una película plástica recomendada para un producto a una temperatura puede no serlo para otra (Escalona *et al.*, 2008). Una de los objetivos del EAM es inhibir el desarrollo de microorganismos y por tanto, mantener una elevada calidad de un producto perecedero durante su vida comercial (Kader, 2002b; Martínez, 2010).

El uso del EAM debe considerarse como un complemento al manejo de la temperatura y humedad relativa. El beneficio potencial o riesgo del EAM depende del producto, cultivar o variedad, edad fisiológica, composición atmosférica, fluctuaciones de la temperatura de conservación, duración del almacenamiento, tasa respiratoria y características del polímero plástico. Las atmósferas en el EAM se generan de forma pasiva o activa con el concurso de un envase plástico. La generación del EAM activa

se establece por una modificación potente e intencionada de la atmósfera inicial en el momento de envasar el producto y se puede lograr creando un ligero vacío y reemplazando la atmósfera del envase con la mezcla de gases deseada (Kader, 2002b).

A continuación se describen las propiedades y características del uso de atmósferas modificadas activas con concentraciones altas de O₂ (>21%), Ar, He, N₂O y N₂; y su efecto de estos gases sobre la calidad microbiológica, funcional y sensorial, en hortalizas MPF.

A) Uso de altas concentraciones de oxígeno

Los productos MPF toleran concentraciones altas de O₂ (>21%), que en los mismos productos enteros no serían recomendadas (Escalona y Luchsinger, 2008). Las concentraciones de oxígeno mayores al 21% pueden influenciar la fisiología de postcosecha y la conservación de la calidad de los productos hortofrutícolas perecederos, ya sea directamente (vía la acción de radicales libres) o indirectamente (vía la modificación de las velocidades de producción o acción de CO₂ y C₂H₄) (Kader, 2002b). Por el contrario existen estudios realizados en productos MPF, donde reportan el efecto tóxico de las atmósferas con altas concentraciones de O₂ debido a varios factores; la mayoría de ellos se centran en su influencia negativa sobre el potencial de óxido-reducción celular, así como por oxidar algunas enzimas que poseen azufre en su estructura y por la acumulación de radicales libres (Kader y Ben-Yehoshua, 2000).

Estudios realizados en tiras de espinacas “baby” almacenadas a 5 °C, mostraron que en EAM con porcentajes de O₂/CO₂ (80/20 y 100/0), durante 12 días de evaluación, todos los tratamientos obtuvieron una tasa respiratoria similar que osciló entre 23,2 a 32,0 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹ (Allende *et al.*, 2004). Por otro lado, estudios realizados en tiras de lechuga mantequilla, almacenadas a 7 °C y envasadas con 5 % O₂ + 0 ó 15% CO₂, 75 % O₂ + 0 ó 15% CO₂ y testigo (aire), al final de 10 días presentaron tasas respiratorias que oscilaron entre 21 y 27 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹. Además, una reducción significativa de 6 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹ se obtuvo cuando las hojas se almacenaron a 5% O₂ y 0% CO₂, en relación a los demás tratamientos y al aire (Escalona *et al.*, 2007).

En cuanto al efecto de concentraciones altas de O₂ sobre la calidad microbiológica, existen resultados variables. Algunos estudios demostraron que altas concentraciones de O₂ (>70%) y bajas de CO₂ (<5%) redujeron muy levemente el recuento de bacterias aerobias mesófilas, bacterias psicrotóficas y enterobacterias en hojas de espinaca en tiras, mientras que altas concentraciones de O₂ combinado con 10 y 20% de CO₂ tuvo un efecto de reducción significativo en el desarrollo de microorganismos en pimiento en cubos (Allende *et al.*, 2004; Conesa *et al.*, 2007). En estudios realizados en tiras de lechuga, a 7 °C por 10 días, con 5% O₂ + 0 ó 15% CO₂; 75% O₂ + 0 ó 15% CO₂ y aire, mostraron recuentos de bacterias aerobias mesófilas que se incrementaron de 5,6 log UFC·g⁻¹ en el día 0, a 8,3-9,2 log UFC·g⁻¹ en el día 10; este último día las hojas envasadas en 5% O₂ y 0% CO₂, presentaron recuentos significativamente mayores en comparación con 75% O₂ y 0% CO₂. Además, cuando se combinaron 5 ó 75% O₂ con 15% CO₂ el recuento de aerobios mesófilos disminuyó significativamente en comparación con 5 ó 75% con 0% CO₂. Por otro lado, la concentración alta de O₂ tuvo un efecto significativo retrasando en 1 log UFC·g⁻¹ el recuento de aerobios mesófilos desde el día 0 al 10. Estos resultados demostrarían que las altas concentraciones de O₂ tienen un efecto sinérgico cuando se combinó con el CO₂ en la reducción del recuento de aerobios mesófilos (Escalona *et al.*, 2007). Sin embargo, se ha visto que concentraciones altas de O₂ pueden estimular o inhibir el recuento de levaduras según la especie y cepa en productos MPF (Van der Steen *et al.*, 2003).

En investigaciones realizadas en tiras de lechuga almacenadas a 5 °C por 10 días, se reportó que el EAM con altas concentraciones de O₂ (80%) tuvo efectos beneficiosos sobre la retención de ácido ascórbico y el grado de oxidación de los lípidos; además, no disminuyó los niveles de antioxidantes, en relación a las muestras almacenadas en aire (Kader y Ben- Yehoshua, 2000).

En otros estudios se observó que 80% O₂ + 20% CO₂ redujo el pardeamiento de lechuga en tiras almacenadas 10 días a 5 °C, comparada con el aire (Heimdal *et al.*, 1995, citado por Artés *et al.*, 2009). En estudios realizados en tiras de espinaca “baby”, con 80 y 100% O₂ después de 12 días a 5 °C, se obtuvo una apariencia aceptable, valores significativamente superiores en relación a las hojas almacenadas en aire que obtuvieron una puntuación inferior de 2,5 (Allende *et al.*, 2004). En atmósferas de 75%

O₂ + 15% CO₂ usadas en tiras de lechuga mantequilla, presentaron un mejor aspecto visual al final de 10 días a 7 °C, con respecto a las muestras almacenadas en aire (Escalona *et al.*, 2007).

B) Uso de gases no convencionales

Gorny y Agar (1998), han propuesto el uso de gases no convencionales como el argón (Ar), helio (He), u óxido nitroso (N₂O), con la finalidad de mantener la calidad de varios productos MPF. Los gases mencionados son por lo general químicamente inertes, pero pueden tener cierto efecto antimicrobiano y/o sobre la fisiología del vegetal, sin afectar la actividad enzimática.

Otras investigaciones señalan que las atmósferas enriquecidas con He o Ar pueden modificar la difusión del O₂, CO₂ y C₂H₄ (Burg y Burg, 1965; citado por Artés *et al.*, 2009). Las atmósferas con poco O₂ combinadas con alto Ar, He o N₂ tienen características difusivas diferentes ya que tanto el Ar como el He son monoatómicos y de menor tamaño que el N₂ diatómico (Jamie y Saltveit, 2002). Por su lado, Artés (2006) menciona que una de las innovaciones del EAM en productos MPF consiste en aplicar atmósferas enriquecidas en gases nobles (Ar, He), sustituyendo al N₂ y frenar así la actividad respiratoria y la biosíntesis del etileno.

En investigaciones con atmósferas de N₂/ N₂O (100/0, 50/50, 20/80 y 0/100) en bulbos de cebolla, almacenadas a 18 °C por 15 días, se obtuvo una tasa respiratoria menor que varió entre 4,4 y 6,6 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹, en relación al aire que se mantuvo constante en 7 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹. Estos resultados indicarían que atmósferas con N₂/ N₂O reducen la tasa respiratoria y por ende alargan la vida útil de estos bulbos, comparados con el aire (Benkeblia y Varoquaux, 2003). Según Magalhães *et al.* (2007), después de 12 días a 5 °C en 75% He o Ar combinados con 25% O₂ se redujo la respiración en tiras de espinaca en comparación con aire y 75% N₂ + 25% O₂. Por tanto, atmósferas con He y Ar podrían ser una alternativa innovadora en el uso de EAM activa en espinacas MPF.

En estudios realizados en hojas de mizuna en tiras envasadas en He (83 y 93%) independientemente de la concentración de CO₂ y O₂, después de 8 días a 5 °C, se

obtuvo una reducción de 1 log UFC·g⁻¹ en los recuento de mesófilos aerobios, respecto al aire con recuentos >7 log UFC·g⁻¹ (Robles *et al.*, 2010).

Tiras de lechuga Iceberg y lechuga mantequilla, almacenadas a 7 °C, después de 4 días; en aire se obtuvieron un contenido de compuestos fenólicos de 0,8 y 2,1 mg eq. ácido ascórbico·g⁻¹, respectivamente, superior en un 35% a las mismas hojas envasadas en 90% Ar, He y N₂ con 2% de O₂ (Jamie y Saltveit, 2002). Las hojas de mizuna en tiras conservadas en aire y He/O₂/CO₂/N₂ (83/2/15/0, 98/2/0/0 y 0/1/20/79), después de 8 días a 5 °C, presentaron una capacidad antioxidante total y un contenido de compuestos fenólicos de 0,2 mg eq. ácido ascórbico·g⁻¹ p. f. y 0,27 mg eq. ácido clorogénico·g⁻¹ p. f. respectivamente, sin diferencias entre tratamientos (Robles *et al.*, 2010). En este mismo estudio, en todos los tratamientos se obtuvo una apariencia general aceptable (Robles *et al.*, 2010).

2. Radiación ultravioleta

La radiación ultravioleta puede producirse artificialmente mediante lámparas de arco o fuentes de luz ultravioleta utilizadas en la industria; mientras que la de origen natural proviene principalmente del sol (Sliney, 2001). La intensidad de la radiación UV se expresa como irradiancia o flujo de intensidad (W·m⁻²) y la dosis que es una función de la intensidad y el tiempo de exposición, se expresa como exposición radiante (kJ·m⁻²) (Wright y Cairns, 2004). La radiación UV está dividida en tres porciones de radiación (UV-A, UV-B y UV-C) (Guerrero y Barbosa, 2004).

La radiación UV-C tiene su máximo pico de emisión a 254 nm donde presenta su mayor acción germicida, por lo que ha sido ampliamente estudiada sobre varios tejidos vegetales (Artés y Allende, 2005). El efecto bactericida de la UV es básicamente a nivel del ácido nucleico promoviendo la formación de enlaces entre nucleótidos adyacentes, con lo que se crean moléculas dobles o dímeros. Si bien la formación de dímeros de timina-timina son los más comunes, también suelen ocurrir dímeros de citosina-citosina, citosina - timina, y dimerización del uracilo. Un enlace cruzado entre timina y citosina en la misma cadena de ADN ocurre por la radiación de UV-C. Los fotoproductos más

comunes de ADN son dímeros ciclobutil pirimidina (Díaz y Serrano, s.a.; Guerrero y Barbosa, 2004). El efecto obtenido por la formación de un número suficiente de dímeros dentro del microbio impide que éste replique su ADN y ARN, comprometiendo a las funciones celulares, reproducción y eventualmente produciendo la muerte celular (Wright y Cairns, 2004).

Allende y Artés (2003), al estudiar el efecto de la radiación UV-C con dosis desde 0,81 a 8,14 kJ·m⁻² en tiras de lechuga conservadas a 5 °C después de 6 días encontraron que dosis de 2,4 a 8,14 kJ·m⁻² presentaron tasas respiratorias de 74 y 80 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹, valores significativamente superiores a la muestra sin radiación que presentó una tasa de 48 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹. Este aumento en la respiración pudo deberse al estrés que generó la radiación en las hojas. El efecto de estas dosis UV-C sobre el recuento de bacterias psicotróficas, coliformes y levaduras en tiras de lechuga, provocó una reducción significativa con dosis de 4,07 y 8,14 kJ·m⁻² comparada con el testigo sin radiación; tal es así que, al final de los 10 días el recuento de bacterias psicrotóficas para 8,14 kJ·m⁻² fue de 5,5 log UFC·g⁻¹ y para el testigo de 7,5 log UFC·g⁻¹. En cuanto al los recuentos de coliformes y levaduras en el día 10, el testigo con la dosis 8,14 kJ·m⁻² se diferenciaron en 0,5 y 1,5 log UFC·g⁻¹, respectivamente, siendo el testigo el que presentó un mayor recuento.

Los patógenos más frecuentes encontrados en hortalizas MPF son la *Listeria monocytogenes*, *Shigella sonnei*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp* (Zhuang *et al.*, 1995). El uso de la radiación UV-C ofrece una alternativa en la reducción de estos y otros patógenos, debido a su acción germicida; además es un proceso que no deja residuos y no tiene restricciones legales (Yousef y Marth, 1988; citado por Zhuang *et al.*, 1995). En estudios realizados en lechuga en tiras, se inocularon con *E. coli* O157:H7 y *Salmonella spp*, cuyos recuentos iniciales fueron de 5,5 log UFC·g⁻¹ y 5,4 log UFC·g⁻¹, respectivamente; se aplicó dosis UV-C de 3 a 24 kJ·m⁻² y realizó el recuento en las 6 horas siguientes. Ambos microorganismos requirieron una dosis UV-C de 6 kJ·m⁻² para lograr una reducción de 2 unidades log, y con la mayor dosis de 24 kJ·m⁻² se obtuvieron máximas reducciones de 2,7 y 2,8 unidades log para *Salmonella* y *E. coli*, respectivamente, debido probablemente a que con el aumento de la dosis UV-C, también se aumentó el número de células dañadas (Yaun *et al.*, 2003).

Por otro lado, estudios con UV-C han demostrado estimular la síntesis de la enzima fenilalanina amino-liasa (PAL), a partir del cual se catabolizan la síntesis de fenoles, fitoalexinas y ligninas (Rivera *et al.*, 2007).

En estudios realizados en hojas de repollo MPF, irradiadas con luz UV-C en dosis de 6 y 12 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ almacenadas a 6 °C durante 9 días mostraron que el contenido de ácido ascórbico (AA) se mantuvo en $0,13 \text{ mg AA}\cdot\text{g}^{-1}$, en todos los tratamientos incluidos el testigo (sin tratar). En lo que respecta al contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante, estos disminuyeron hasta las 24 h después del proceso en $0,4 \text{ mg ác. clorogénico}\cdot\text{g}^{-1}$ y $0,12 \text{ mg Trolox eq}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente. Esta disminución se debería al estrés provocado por el corte de las hojas y la radiación UV-C. Después de las 24 h hasta el final de los 9 días de estudio, el contenido fenólico de las muestras tratadas fue mayor ($1,2 \text{ mg ác. clorogénico}\cdot\text{g}^{-1}$) en relación al testigo ($1,1 \text{ mg ác. clorogénico}\cdot\text{g}^{-1}$), estos resultados indicarían que estos compuestos se sintetizan en respuesta a la UV-C. A la vez, la actividad antioxidante de las muestras tratadas fue mayor ($1,38 \text{ mg Trolox Eq}\cdot\text{g}^{-1}$) en relación al testigo ($1,20 \text{ mg Trolox Eq}\cdot\text{g}^{-1}$); resultados que tendrían relación directa con el contenido de fenoles totales (Ruiz *et al.*, 2010).

En investigaciones en tiras de lechugas, tratadas con dosis desde 0,4 a $8,14 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ almacenadas a 5 °C por 10 días, reportaron que 2,44 a $8,14 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ redujeron significativamente el pardeamiento sobre la superficie de hojas, comparados con las hojas sin tratar (Allende y Artés, 2003).

I.4. RÚCULA

La rúcula (*Eruca vesicaria*, L o *Eruca sativa*, Mill.) es una hortaliza que pertenece a la familia *Brassicaceae*. Es originaria de la cuenca del Mediterráneo y Asia occidental y en épocas romanas (Siglo VI a.c.) se la recolectaba como hierba silvestre para su consumo. El órgano de consumo lo forman las hojas y tallos jóvenes, los que se consumen crudos en ensalada. Actualmente su consumo se ha incrementado y en países europeos se la distingue por su sabor amargo agradable y característico, así como por su contenido de compuestos funcionales con potencial saludable, como los

carotenoides, vitaminas C, fibras, flavonoides y glucosinolatos. Para conservar las hojas frescas de rúcula se recomienda una temperatura de almacenamiento 0°C y una HR de 95 a 100% (Barillari *et al.*, 2005; Martínez *et al.*, 2006ab).

Según resultados obtenidos por Martínez (2008), la rúcula salvaje (*Diplotaxis tenuifolia*) posee una elevada tasa respiratoria. Tras 24 h del procesado en tiras se obtuvo una tasa de 12 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹, la cual fue aumentando hasta 54 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹ a los 14 días a 4 °C. Sáenz *et al.* (2010) estudiaron el efecto de diferentes sanitizantes alternativos al hipoclorito de sodio (dióxido de cloro, clorito de sodio acidificado y ácido peroxiacético), en hojas de rúcula teniendo después de 10 días a 5 °C, una tasa respiratoria de 55 a 70 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹.

La tasa de producción de etileno de hojas de rúcula bajo atmósferas con Ar, He y N₂ incluidos el testigo (aire) a 5 °C por 11 días, parte el día de proceso con 1 µL·kg⁻¹·h⁻¹ y después de 2 días disminuyó hasta 0,1 µL·kg⁻¹·h⁻¹, que se mantuvo constante hasta el final del almacenamiento (Inestroza, 2011). Estos resultados coinciden con los valores reportados para otras hortalizas de hojas, que según Kader (2002c) se clasifican por una producción etileno muy baja cercana a 0,1 µL·kg⁻¹·h⁻¹.

I.5. HIPOTESIS DE TRABAJO

El uso de radiación UV-C combinado con atmósfera modificada activa mediante la inyección de gases no convencionales y O₂, reducen el recuento microbiano, la tasa respiratoria y de producción de etileno en hojas de rúcula conservadas en refrigeración, sin afectar sus características funcionales ni sensoriales.

I.6. OBJETIVO

Evaluar el efecto de la radiación UV-C combinada con atmósfera modificada activa mediante la inyección de gases no convencionales y O₂, sobre el recuento microbiológico, calidad sensorial y funcional en hojas de rúcula (*Eruca vesicaria*) conservadas bajo refrigeración.

Este trabajo de investigación fue financiado con los proyectos CONICYT – Fondecyt N° 1120274 titulado “Innovations on hydroponic and post harvest technologies applied on the production of ready to eat baby leafy vegetables” e Inserción de Capital Humano Avanzado en la Academia, Ref. N° 79100005.

CAPÍTULO II

**EFFECTO DE LAS ATMÓSFERAS MODIFICADAS ACTIVAS
CON GASES NO CONVENCIONALES SOBRE LA INHIBICIÓN
DE *E. coli* INOCULADOS EN HOJAS DE RÚCULA**

II.1. RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de gases no convencionales como el argón (Ar), helio (He), óxido nitroso (N₂O), altas concentraciones de O₂ y aire, sobre el crecimiento microbiológico en hojas de rúcula (*Eruca vesicaria*) MPF inoculadas con *Escherichia coli*. Después de desinfectar con hipoclorito de sodio (95 mg·L⁻¹, pH 6,5) y enjuagar con agua estéril, las hojas se inocularon con *E. coli* (6,5 log UFC·g⁻¹) y se envasaron en diferentes ambientes enriquecidos con Ar (53% Ar + 41% O₂ + 6% N₂); He (53% He + 42% O₂ + 5% N₂); N₂O (53% N₂O + 42% O₂ + 5% N₂), O₂ (80% O₂ + 20% N₂) más un testigo envasado en aire (21% O₂ + 80% N₂), y se almacenaron a 5 °C durante 10 días. Las concentraciones de gases al interior de las bolsas, *E. coli* y enterobacterias se determinaron periódicamente.

La composición del gas al interior de las bolsas cambió durante el almacenamiento debido principalmente a la respiración de las hojas de rúcula. La concentración de O₂ disminuyó desde 40% a 20-26% en las atmósferas enriquecidas con Ar, He y N₂O, y de 80 a 58% en el tratamiento O₂. Las concentraciones de CO₂ aumentaron en todas las bolsas aproximadamente a 20-23%, salvo en He que alcanzó el 10%. Las atmósferas con Ar y He fueron las más efectivas para disminuir el recuento de *E. coli* (<5,0 log UFC·g⁻¹) y enterobacterias (<7,0 log UFC·g⁻¹) después de 10 días. Los gases no convencionales Ar y He redujeron el crecimiento microbiano en hojas de rúcula.

Palabras clave: Seguridad alimentaria, *Eruca vesicaria*, argón, helio, óxido nitroso, enterobacterias.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of novel gases such as argon (Ar), helium (He), nitrous oxide (N₂O), O₂ and air, on *Escherichia coli* inoculated on arugula leaves (*Eruca vesicaria*). The samples were disinfected with sodium hypochlorite (95 mg·L⁻¹, pH 6.5) and rinsed with sterile water; the leaves were inoculated with *E. coli* (6,5 log CFU·g⁻¹) and packed in different atmospheres enriched with Ar (53% Ar + 41% O₂ + 6% N₂); He (53% He + 42% O₂ + 5% N₂); N₂O (53% N₂O + 42% O₂ + 5% N₂), O₂ (80% O₂ + 20% N₂) plus a control packed with air (21% O₂ + 80% N₂) and stored at 5 °C for 10 days. The gas concentrations inside the bags, *E. coli* and *Enterobacteriaceae* were periodically determined.

The headspace gas composition inside the bags during storage changed mainly due to the respiration of the arugula leaves. The concentration of O₂ decreased from 40% to 20-26% in the Ar, He and N₂O enriched atmospheres, and from 80 to 58% in the O₂ atmosphere treatment. The concentration of CO₂ levels increased in all bags approximately to 20-23%, except in the bags with He which reached 10%. The Ar and He atmospheres were the most effective in reducing the count of *E. coli* (<5.0 log CFU·g⁻¹) and *Enterobacteriaceae* (<7.0 log CFU·g⁻¹) after 10 days. Novel gases Ar and He had the greater reduction in microbial growth on arugula leaves.

Keywords: Food safety, *Eruca vesicaria*, argon, helium, nitrous oxide, *Enterobacteriaceae*.

II.2. INTRODUCCIÓN

En estos últimos años la industria de las hortalizas mínimamente procesadas en fresco (MPF) ha tenido una mayor tasa de crecimiento en respuesta a una mayor demanda por los consumidores. Sin embargo uno de los grandes desafíos que enfrenta esta industria, es el rápido deterioro de la calidad y la reducción de la vida útil de estos productos debido principalmente a los desórdenes fisiológicos, deterioro por microorganismos, desarrollo de malos olores, decoloración, y el ablandamiento de tejidos (Allende *et al.*, 2004; Kader, 2002a).

Una de las tecnologías para mantener la calidad y prolongar la vida útil de las hortalizas MPF es el envasado en atmósfera modificada activa (EAMA). Existen diferentes investigaciones donde se ha estudiado la aplicación de esta tecnología; entre las que se pueden citar estudios con altas concentraciones de O₂ (>70%) utilizados en lechuga mantequilla y espinaca en tiras (Escalona *et al.*, 2007; Allende *et al.*, 2004); atmósferas modificadas con helio (He), argón (Ar), nitrógeno (N₂) y óxido nitroso (N₂O) utilizados en brócoli, lechuga y mizuna (Jamie y Saltveit, 2002; Robles *et al.*, 2010).

En estudios realizadas en hortalizas de hojas MPF, con altas concentraciones de O₂ (>70%) combinado con concentraciones altas de CO₂ (10 y 20%) se obtuvo una reducción significativa en el recuento bacteriano, en relación a las muestras con altas concentraciones de O₂ combinadas con <5% de CO₂ y muestras en aire (Artés y Allende, 2005; Allende *et al.*, 2004). Sin embargo, altas concentraciones de O₂ pueden causar un impacto negativo en la fisiología postcosecha y la calidad de estas hortalizas (Kader y Ben-Yehoshua, 2000).

Estudios realizados en hojas de espinacas en tiras con Ar/O₂ (80/20 y 100/0) y una muestra testigo (aire), demuestran que las hojas con Ar+O₂ y aire no mostraron una reducción de la actividad de enzimas (ACC oxidasa), en relación a las muestras con 100% Ar que sí produjo una reducción significativa de este metabolismo; además, el Ar incrementaría la difusión de gases como el CO₂ y etileno desde los tejidos vegetales, debido a su densidad mayor al N₂ (Gorny y Agar, 1998). Day (1998), demostró que atmósferas con He aumentarían la difusión de O₂, por lo que disminuiría la gradiente de

concentración entre el interior y exterior de la célula, minimizando el riesgo de fermentación; además, el He al mezclarse con el O₂, presenta una baja densidad y un elevado coeficiente de difusión y, por tanto, facilita la llegada del O₂ a las células y la eliminación del CO₂ de éstas.

Según Rocculi *et al.* (2005) observaron que una atmósfera de 90% Ar, 5% O₂ y 5% CO₂, mantuvieron la firmeza y aceptabilidad de rebanadas de kiwi hasta 8 días a 4 °C, pero con alteraciones en el color. Además, se observó que 90% N₂O, 5% O₂ y 5% CO₂ fue mejor en la retención de color, firmeza y contenido de sólidos solubles. Estos autores concluyeron que los efectos del N₂O y Ar podrían deberse a la alta capacidad de estos gases de disolverse en el interior de las células de la pulpa, reduciendo la actividad respiratoria y metabólica.

En investigación realizada en hojas de berros a 5 °C con atmósferas de 90% de N₂, Ar, He y N₂O combinados con 10% de O₂ y aire; obtuvieron que, después de 13 días la concentración del N₂ se mantuvo constante, el Ar disminuyó hasta 55% y el He hasta 16%, en cambio el N₂O en el día 3 disminuyó a 0% hasta el final del periodo. El recuento de aerobios mesófilos (RAM) de los tratamientos N₂, Ar y Aire promediaron 5,6 log UFC·g⁻¹, inferiores a los demás tratamientos de 5,9 log UFC·g⁻¹; del día 6 al 9, y He presentó recuentos significativamente mayores, respecto a los demás tratamientos. El recuento de enterobacterias aumentó en todos los tratamientos, los seis primeros días las atmósferas con Ar y N₂ mostraron los menores recuentos promediando 6,2 log UFC·g⁻¹; del día 6 al 13 no hubo diferencias significativas (Araneda, 2012).

Inestroza (2012), en hojas enteras de rúcula a 5 °C, con atmósferas de 90% O₂ con 10% N₂; 90% de Ar, He, N₂ y N₂O con 10% O₂ y aire, presentaron RAM inicial de 5,2 log UFC·g⁻¹, del día 7 al 11 no se observaron diferencias significativas, siendo los recuentos al final del periodo de 5 y 6,4 log UFC·g⁻¹. Los recuentos iniciales de enterobacterias fueron de 4,1 log UFC·g⁻¹, al final del almacenamiento el aire obtuvo los recuentos mayores de 5,6 log UFC·g⁻¹, y los demás tratamientos de 3,1 a 4,4 log UFC·g⁻¹; resultados que demuestran que atmósferas con gases no convencionales y altas concentraciones de O₂ tienen efecto significativo sobre las enterobacterias, pero no sobre el RAM.

Una de las metodologías usadas en investigaciones de productos MPF para evaluar la efectividad del tratamiento sobre el crecimiento microbiano es la inoculación de estos productos con bacterias, dentro de las cepas más usadas son *Escherichia coli* (*E. coli*), *Salmonella spp* y *Listeria monocytogenes*; además, con esto se garantiza que todos los tratamientos se inicien en similares condiciones de infección (Yaun *et al.*, 2003).

De acuerdo a diversos antecedentes de investigación, la utilización de altas concentraciones de O₂ y gases no convencionales como el Ar, He y N₂O mediante EAMA podría mostrar resultados prometedores en hortalizas MPF. Sin embargo, no existen estudios *in vivo* en los que se haya investigado el efecto de estas atmósferas sobre el crecimiento microbiano de hortalizas MPF inoculadas con bacterias, y mucho menos en hojas de rúcula.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del EAMA con inyección de gases Ar, He, N₂O y altas concentraciones de O₂ sobre el crecimiento microbiológico en hojas de rúcula (*Eruca vesicaria*) inoculadas con *E. coli* y almacenadas durante 10 días a 5 °C.

II.3. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Lugar de estudio

Este trabajo se realizó en el Centro de Estudios Postcosecha (CEPOC), de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

2. Materiales

Se utilizaron hojas de rúcula (*Eruca sativa var. Vesicaria*) provenientes del huerto comercial de la empresa “Hidrohuerta Tango Ltda.” ubicada en la comuna de Calera de Tango (Región Metropolitana), Chile. Estas hojas se cosecharon en el mes de enero de 2012, se cultivaron en suelo, con una siembra escalonada, bajo invernadero. El tiempo

transcurrido desde la siembra hasta la cosecha fue de 30 días. La forma de cosecha fue manual con tijera (Figura 2.1). Las características iniciales promedio de las hojas de rúcula fueron un peso de 0,4 g, largo de 7,6 cm y ancho de 3,3 cm. En color, las hojas tuvieron una luminosidad de 43,9, saturación de 30,1 y tono de 125,4 (Apéndice 1, Cuadro 1.5).

Para la inoculación de hojas de rúcula se utilizó cepas bacterianas de *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 35218 no patógena, obtenido de la distribuidora autorizada Agrobiotek Internacional (ABT®) en forma de “pellets” liofilizado en un vial de 10 g y conservadas a 0 °C.

Para generar el envasado en atmósferas modificadas activas (EAMA), los gases que se emplearon fueron: Ar, He, N₂O, N₂ y O₂ a concentraciones altas; obtenidos de la empresa INDURA S.A., Santiago (Chile).

Las hojas de rúcula se envasaron en bolsas de polipropileno (PP) de 10 x 20 cm. La película presentó una baja permeabilidad al O₂ (25 mL·m⁻²·día⁻¹·bar⁻¹) y al CO₂ (71 mL·m⁻²·día⁻¹·bar⁻¹), y fue provista por la empresa “Plaspak Maquinaria”.



Figura 2.1. Hojas de rúcula utilizadas en la inoculación con *E. coli* y EAMA.

II.4. PROCESAMIENTO Y TRATAMIENTOS

A continuación se describen las etapas de la línea de flujo (Figura 2.2).

Cosecha y almacenamiento: Las hojas de rúcula se trasladaron inmediatamente cosechadas desde el campo de cultivo, en un recipiente plástico hasta una cámara del CEPOC, posteriormente las hojas se almacenaron en oscuridad a 5 °C y 95% HR hasta el día siguiente, en bolsas plásticas.

Selección, clasificación y pre-acondicionamiento: Al día siguiente, las hojas se llevaron a la sala de manipulación y acondicionamiento a 8 °C, donde previo al procesamiento se seleccionaron eliminando aquellas hojas que presentaron un color no característico (amarillamiento u otro), marchitas, suciedad y daños físicos (por insectos); y se clasificaron por tamaño utilizándose aquellas entre 6,8 y 8,3 cm de largo y de 3,0 a 3,6 cm de ancho. El acondicionamiento consistió en la eliminación de los tallos mediante un corte manual con cuchillo de filo liso (Figura 2.3). Además, se caracterizaron 3 muestras representativas de aproximadamente 20 g de hojas cada muestra, a las cuales se les determinó de color, tamaño de hoja (largo y ancho) y peso.

Lavado en agua potable: El lavado de las hojas se realizó por inmersión en agua potable a 5 °C durante 1 minuto con el fin de eliminar la suciedad presente, seguido de un escurrimiento por 3 minutos.

Lavado en agua clorada: Posteriormente se realizó un lavado de las hojas por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio (NaClO 95 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 6,5) a 5 °C durante 1 minuto, seguido de un escurrimiento por 3 minutos.

Enjuague en agua estéril: Las hojas se sumergieron en agua estéril (agua destilada que 24 h antes fue autoclavada a 121 °C por 15 min, luego enfriada a 5 °C) por 1 minuto, para retirar los residuos de NaClO .

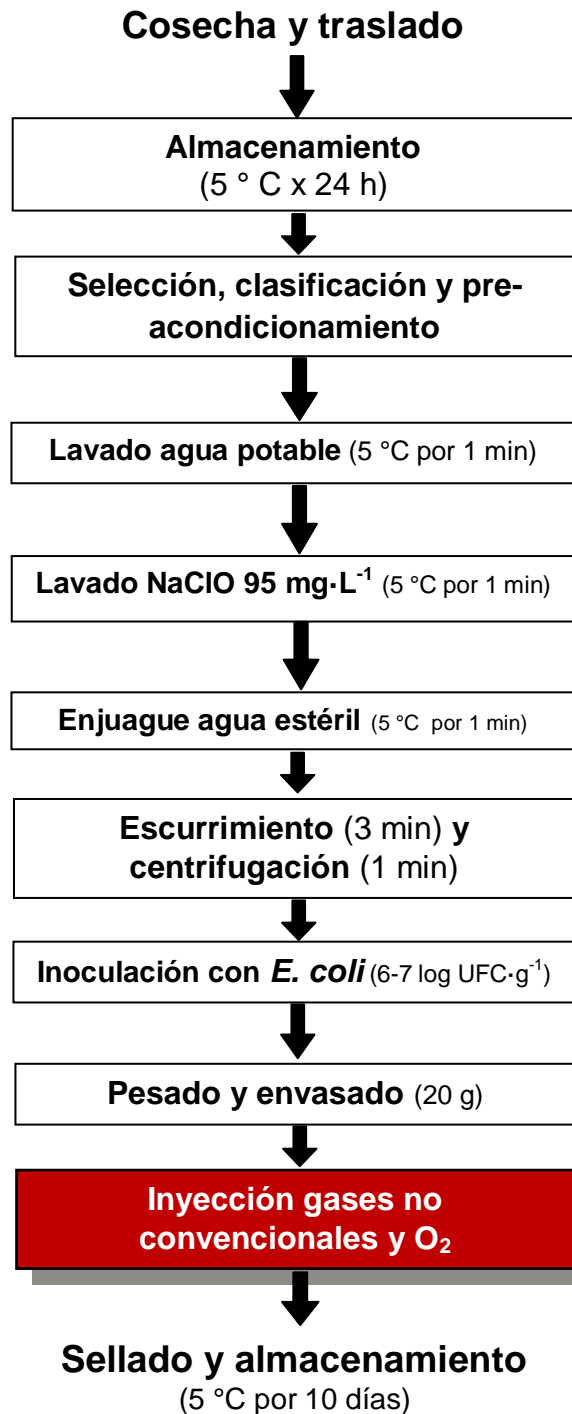


Figura 2.2. Diagrama de flujo de procesamiento e inoculación con *E. coli* y EAMA de hojas de rúcula.



Figura 2.3. Selección y clasificación de las hojas de rúcula.

En los lavados se utilizó 10 L de agua a 5 °C por cada kg de hojas, las cuales se agitaron, mediante una paleta metálica con bordes lisos, por 1 minuto (Figura 2.4). La caracterización de los parámetros de las aguas de proceso (contenido de cloro libre, pH y potencial Redox) utilizadas en las diferentes etapas de lavado se presentan en el Apéndice 1 (Cuadro 1.6).



Figura 2.4. Lavados de las hojas de rúcula con agitación manual.

Escurrimiento y centrifugación: Las hojas se escurrieron sobre una malla de acero inoxidable por 3 minutos, seguido de una centrifugación manual de 1 minuto (Figura 2.5). En esta etapa se realizó un muestreo representativo de tres muestras de 20 g cada una para realizar una evaluación microbiológica de las hojas y determinar el recuento inicial de enterobacterias antes de la inoculación.



Figura 2.5. Centrífuga manual utilizada en el procesamiento de las hojas de rúcula

Preparación del inóculo: El inóculo se preparó transfiriendo un cultivo conservado en un tubo de ensayo a 0 °C de *E. coli* ATCC 35218 no patógena, a un matraz Erlenmeyer con 100 mL de Caldo Tripteína Soja con 0,6 % de Extracto de Levadura (CTS-E) y se incubó con agitación a 37 °C durante 24 h.

Inoculación: La inoculación se realizó por inmersión de las hojas de rúcula en una solución compuesta por 1 mL de inóculo por cada 1000 mL de agua peptona al 0,1% (Dilución 1: 1000), que presentó un recuento inicial de *E. coli* de 8 log UFC·g⁻¹. Las hojas de rúcula ya inoculadas se colocaron en un recipiente estéril dentro de la cabina de flujo laminar para reducir el exceso de humedad, a una temperatura de 30 °C durante 30 minutos.

Pesado y envasado: Después de inocular el material vegetal, se pesaron muestras de 20 g y se envasaron en bolsas de polipropileno (PP) de 10 x 20 cm. Seguidamente, se llevó a una envasadora al vacío y termoselladora de bolsa (Plaspak, BC/01, Santiago, Chile), en la cual se extrajo el aire; luego, este mismo equipo realizó un termosellado de forma automatizada.

Envasado en atmósfera modificada activa (EAMA) y aire: A cada bolsa con la rúcula en condiciones de vacío, se practicó una perforación a través de la cual se inyectó una de las mezclas de gases señalada en el Cuadro 2.1, empleando un panel mezclador de

gases (Figura 2.6). En el caso del tratamiento de aire, a las bolsas con hojas de rúcula, se le realizaron 7 perforaciones a cada cara, con una aguja de 0,8 mm de diámetro.

Cuadro 2.1. Detalle de los tratamientos del envasado en atmósferas modificadas activas para las hojas de rúcula.

Tratamiento	EAMA inicial	Tratamientos
1	Aire (21% O ₂ + 79% N ₂) ^a	Aire
2	53% Ar + 41% O ₂ + 6% N ₂	Ar
3	53% He + 42% O ₂ + 5% N ₂	He
4	53% N ₂ O + 42% O ₂ + 5% N ₂	N₂O
5	80% O ₂ + 20% N ₂	O₂

^a Uso de bolsas perforadas (7 perforaciones a cada lado con una aguja de 0,8 mm de diámetro).

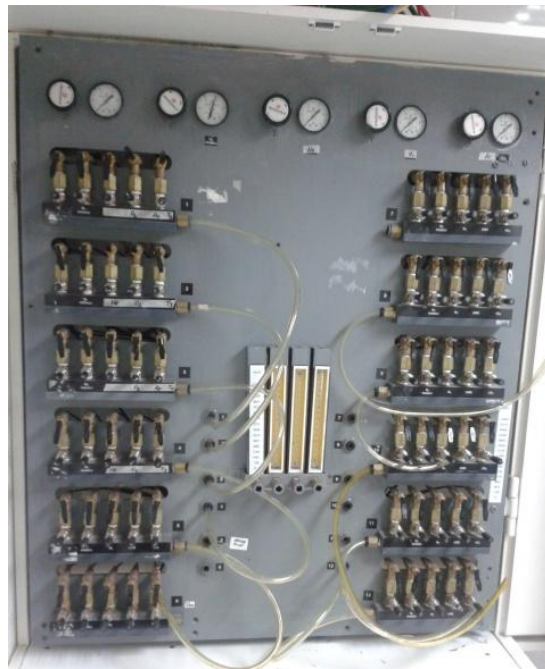


Figura 2.6. Panel mezclador de gases utilizado para la mezcla e inyección de los gases.

Sellado y almacenamiento: Inmediatamente después de la inyección de gases, se realizó un termosellado final empleando un equipo sellador de bolsas plásticas (Impulse Sealer Tew Equipment Co, Hsien, Taiwán). Las bolsas selladas con las hojas de rúcula se almacenaron a $5 \pm 0,5$ °C durante 10 días.

II.5. ANÁLISIS Y EVALUACIONES EN HOJAS DE RÚCULA

1. Atmósfera modificada activa

La evolución de la concentración de gases de CO_2 y O_2 al interior de las bolsas de plástico con las hojas de rúcula se determinó por medio de un analizador de gases manual (Checkpoint, PBI Dansensor, Ringsted, Dinamarca), para lo cual se colocó una cinta adhesiva sobre las bolsas selladas y se pinchó directamente sobre ella, se volvió a sellar el orificio con otra cinta adhesiva (Figura 2.7). Adicionalmente en este ensayo se determinó la concentración del N_2 al interior de las bolsas para lo que se utilizó un cromatógrafo de gases (CG) (Hewlett Packard, 5890 A serie II, Palo Alto, CA, EE.UU.) y por diferencia se determinó la concentración del Ar, He y N_2O durante el almacenamiento. Para tomar las muestras gaseosas para el CG se extrajeron 10 mL del gas de la zona con la cinta adhesiva con una jeringa plástica, la cual se llevó al cromatógrafo de gases antes mencionado. Las concentraciones se expresaron como porcentajes de CO_2 , O_2 , Ar, N_2 , He y N_2O . Esta medición se realizó los días 0, 2, 6 y 10.



Figura 2.7. Medición de la concentración interna de CO_2 y O_2 en las bolsas de plástico por medio de un analizador de gases manual.

2. Análisis microbiológico

Se realizaron los análisis microbiológicos para el aislamiento y enumeración de *E. coli* y enterobacterias. Para ello se tomaron muestras de 10 g de hojas por cada repetición los días 0, 2, 6 y 10. Cada muestra se mezcló con agua peptonada tamponada al 0,1% estéril y se homogenizó durante 30 segundos en un digestor (Stomacher) (IUL Instruments, Barcelona, España). Se realizaron diluciones seriadas y se sembraron en Agar Eosina Azul de Metileno, las placas se incubaron a 37 °C por 48 h. Los recuentos microbiológicos se expresaron como el logaritmo de unidad formadora de colonia por gramo ($\log \text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$).

Para el recuento de *E. coli*, se contabilizaron aquellas colonias con características morfológicas inherentes a la cepa de *E. coli* ATCC 35218 no patógena, con bordes regulares, tamaño de 3 a 6 mm de diámetro, superficie plana con color metálico, con centro oscuro y un halo claro, tal como se muestra en la Figura 2.8. En el recuento de enterobacterias se tiene en cuenta las enterobacterias que forman parte de la flora normal de las hojas de rúcula y las bacterias *E. coli* inoculadas.

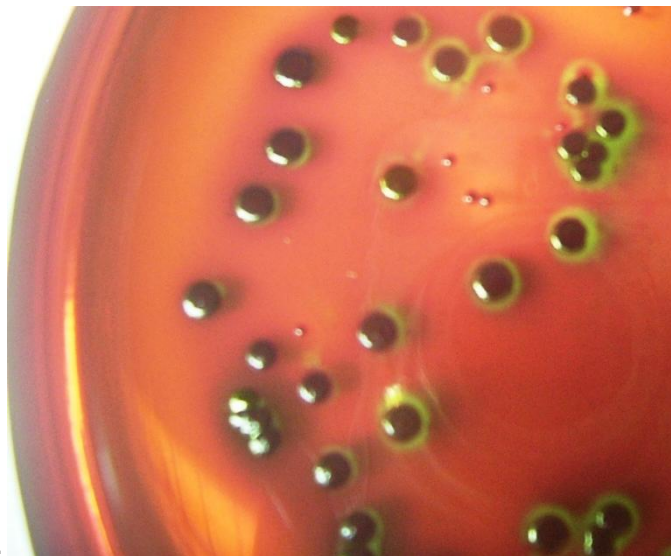


Figura 2.8. Colonias de *E. coli* ATCC 35218 no patógena, utilizadas como inóculo.

3. Determinación de color

El color de las hojas se midió en un punto de la zona anversa o haz, tal como se muestra en la Figura 2.9, utilizando un colorímetro compacto triestímulo (Minolta, CR-300, Japón) con iluminante D_{65} , un ángulo observador de 0° y calibrado con un estándar blanco y usando el sistema CIE Lab, obteniendo los parámetros L que indica luminosidad del color, saturación (C^*) y tono (H_{ab}). Esta medición se realizó en la caracterización inicial de tres muestras de materia prima (10 hojas por cada muestra).

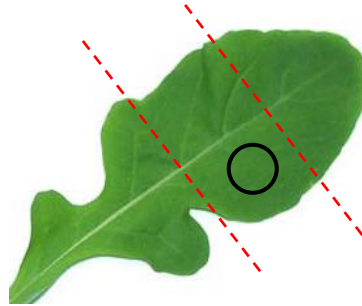


Figura 2.9. Lugar de medición del color en las hojas de rúcula, indicada por la circunferencia.

II.6. DISEÑO DE EXPERIMENTOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En este estudio se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con 5 tratamientos y 3 repeticiones cada uno, donde cada mezcla del EAMA correspondió a un tratamiento (Cuadro 2.1). La unidad experimental correspondió a una bolsa con 20 g de hojas de rúcula.

Los resultados obtenidos de la evaluación microbiológica y composición atmosférica fueron evaluados con un análisis de varianza (ANDEVA) con un 5% de significancia. Cuando se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos se aplicó la prueba de comparación múltiple de Tukey ($\alpha \leq 0,05$). Los datos se analizaron estadísticamente mediante el programa Minitab Release 16.1, software estadístico de acceso libre para Windows, disponible en: <http://www.minitab.com>.

II.7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Atmósfera modificada activa

Concentración de CO₂ (Figura 2.10A): el tratamiento con aire se mantuvo constante (0,4%) durante toda la conservación. En los demás tratamientos como era de esperar, la concentración de CO₂ aumentó gradualmente hasta el final del periodo, alcanzando un máximo de 20 a 23%, excepto en el tratamiento He en donde el CO₂ se incrementó a 10%. Estos resultados muestran que desde el día 2 al 10, el tratamiento con He fue significativamente inferior al Ar, N₂O y O₂ y mayor al aire (Apéndice 1, Cuadro 1.1).

Concentración de O₂ (Figura 2.10B): el tratamiento con aire se mantuvo constante en 21% durante el almacenamiento. Sin embargo, los demás tratamientos disminuyeron gradualmente hasta el día 10, He y N₂O disminuyeron desde 42 a 27% O₂; en Ar hubo un descenso de 41 a 20% O₂; y en O₂ disminuyó desde 80 a 58% O₂. Desde el día de proceso hasta el día 6, los tratamientos Ar, He y N₂O fueron significativamente superiores al tratamiento con aire y menores que el tratamiento con O₂. El día 10, Aire, Ar, He y N₂O fueron significativamente menores que O₂ (Apéndice 1, Cuadro 1.2).

Concentración de gases no convencionales: las concentraciones de Ar y He durante el almacenamiento fue de 52 a 53%; mientras que el N₂O, desde el día de proceso al día 10, disminuyó de 53 a 47% (Figura 2.10C).

Los antecedentes descritos señalan que el tratamiento He, desde el día 2 hasta el final del periodo, presentó una menor concentración de CO₂ en relación a los tratamientos Ar, N₂O y O₂, esto puede deberse a que He es un gas que podría reducir la respiración en hortalizas de hoja (Day, 1998). En estudios reportados en hojas de berros se obtuvo una respuesta diferente, al final de los 13 días a 5 °C, el tratamiento N₂O tuvo menor CO₂ de 1,8% en relación a los demás tratamientos N₂, Ar y He de 4,3 a 4,8% CO₂ (Araneda, 2012).

En relación a la concentración de O₂, los resultados muestran que desde el día 6 al 10, el tratamiento Ar presentó un mayor disminución de O₂ en relación al He y N₂O, esto se

atribuiría a que Ar facilita la difusión del O_2 al interior de los tejidos de rúcula, favoreciendo un mayor consumo de O_2 (Gorny y Agar, 1998).

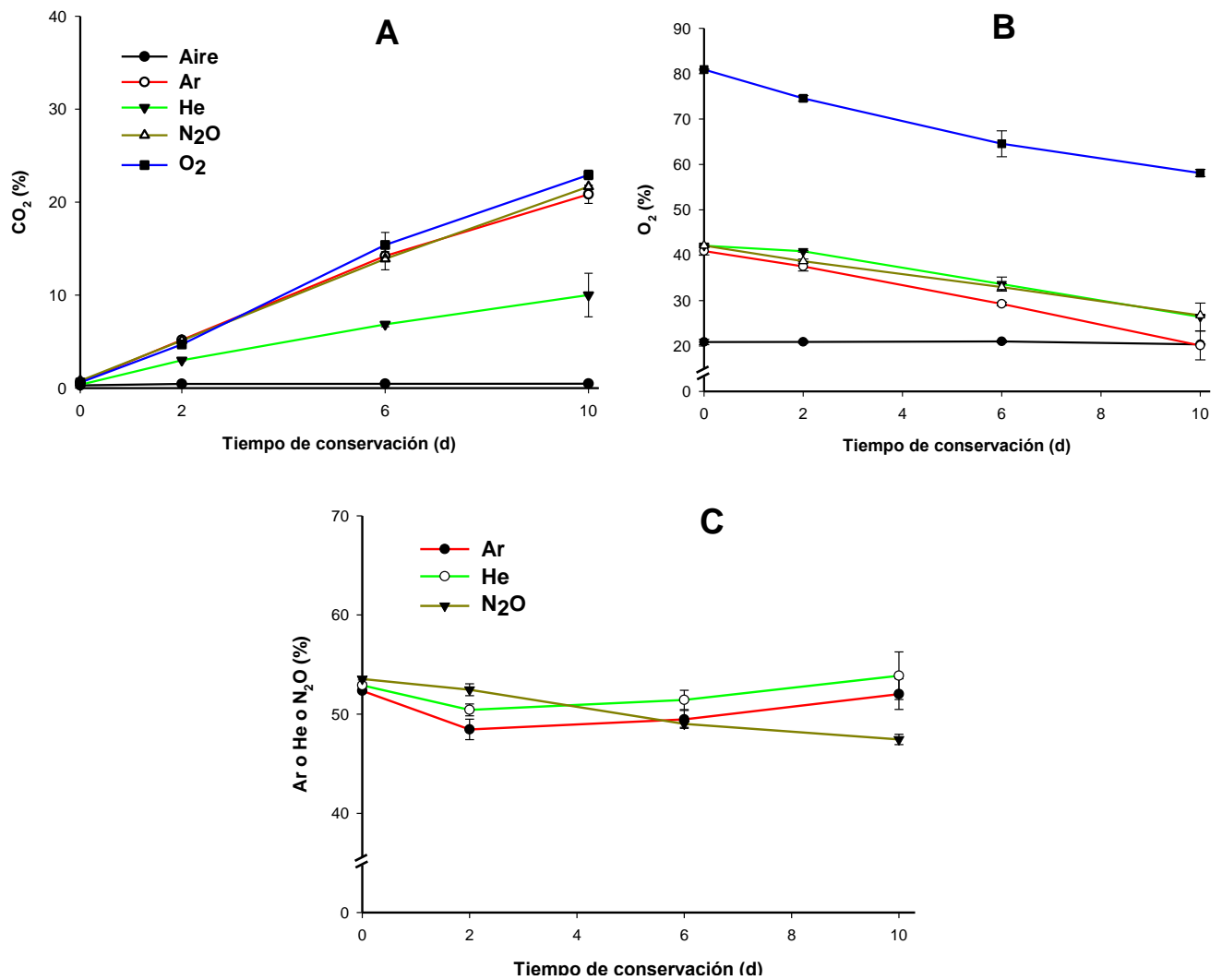


Figura 2.10. Evolución de los gases CO_2 (A), O_2 (B) y Ar, He o N_2O (C) de hojas de rúcula envasadas en atmósfera modificada activa durante 10 días a 5 °C. Las barras indican el error estándar (n=3).

Los gases Ar y He se mantuvieron constantes en el interior de las bolsas, debido a la baja permeabilidad de la película plástica y al hecho de que estos gases son inertes y no participarían de los procesos metabólicos de la rúcula. En cambio el N₂O si experimentó una leve disminución, esto debido probablemente a su estructura química lineal lo cual le confiere una alta solubilidad (Gouble *et al.*, 1995) y por ende, una mayor difusividad a través de la película plástica. Araneda (2012), obtuvo una respuesta similar en hojas de berros a 5 °C, donde observó una mayor pérdida de N₂O a partir del día 3, en relación del Ar y He.

Inestroza (2011), en estudios en hojas de rúcula con gases no convencionales, observó que la concentración de CO₂ se estabilizó a partir del segundo día a 5 °C, para todos los tratamientos en valores de 3 a 4% CO₂. La concentración de O₂ en todos los tratamientos se mantuvo entre 10 y 15% durante los 11 días, excepto en el tratamiento con O₂ que disminuyó de 85 a 15% O₂; este comportamiento no coincide al obtenido en éste trabajo, debido probablemente a las diferentes condiciones de trabajo como: permeabilidad de las bolsas, concentración inicial de los gases, cantidad de hojas por bolsa y tiempo de almacenamiento.

Allende *et al.* (2004), en estudios realizados en tiras de espinaca, envasadas en atmósferas con 21, 80 y 100% O₂, empleando bolsas de baja permeabilidad, encontraron que las hojas envasadas a 80% de O₂ experimentaron una disminución de 80 a 60% O₂ y un aumento de 0 a 20% CO₂; siendo este comportamiento similar al observado en el presente estudio.

2. Análisis microbiológico

A) Recuento de *E. coli*

La hojas de rúcula procesadas presentaron recuentos iniciales de <1 log UFC·g⁻¹. Después de ser inoculadas los tratamientos alcanzaron de 6,0 a 6,7 log UFC·g⁻¹ (Figura 2.11). Durante la conservación, el recuento en los tratamientos experimentó una ligera disminución; notándose que del día 2 al 10, hubo diferencias significativas de los

tratamientos aire, Ar y He con los tratamientos N₂O y O₂ (Apéndice 1, Cuadro 1.3). Al final del periodo, Aire, Ar y He presentaron recuentos menores de 4,8 a 5,0 log UFC·g⁻¹, respecto al N₂O y O₂ de 5,5 a 5,8 log UFC·g⁻¹.

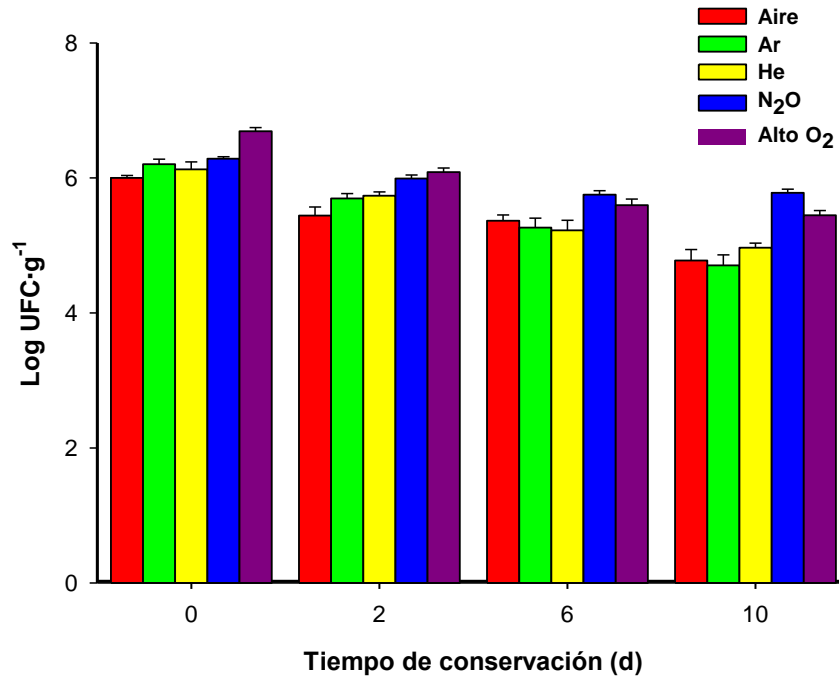


Figura 2.11. Recuento de *E. coli* de hojas de rúcula envasadas en atmósfera modificada activa durante 10 días a 5 °C. Las barras indican el error estándar (n=3).

La ligera disminución de los recuentos de *E. coli*, podría atribuirse al incremento en la concentración de CO₂ en las bolsas y a su efecto bactericida (Ahn *et al.*, 2005; Arvanitoyannis *et al.*, 2011; Devlieghere *et al.*, 2000 citado por Allende *et al.*, 2004); y a la competencia con otros tipos enterobacterias; o a ambos.

B) Recuento de enterobacterias

El día de proceso, las hojas procesadas sin inocular presentaron un recuento inicial de 4,8 log UFC·g⁻¹ (Figura 2.12); después de ser inoculadas los tratamientos alcanzaron recuentos de 6,0 a 6,7 log UFC·g⁻¹. Durante la conservación, los recuentos en los

tratamientos experimentaron un ligero aumento. El día 6, los recuentos de He y Ar promediaron $6,1 \log \text{ UFC}\cdot\text{g}^{-1}$, que fueron significativamente inferiores a los demás tratamientos con valores de $6,3$ a $6,7 \log \text{ UFC}\cdot\text{g}^{-1}$ (Apéndice 1, Cuadro 1.4). El día 10, He presentó recuentos significativamente menores de $6,7 \log \text{ UFC}\cdot\text{g}^{-1}$, en comparación con los demás tratamientos con valores de $6,8$ y $7,4 \log \text{ UFC}\cdot\text{g}^{-1}$.

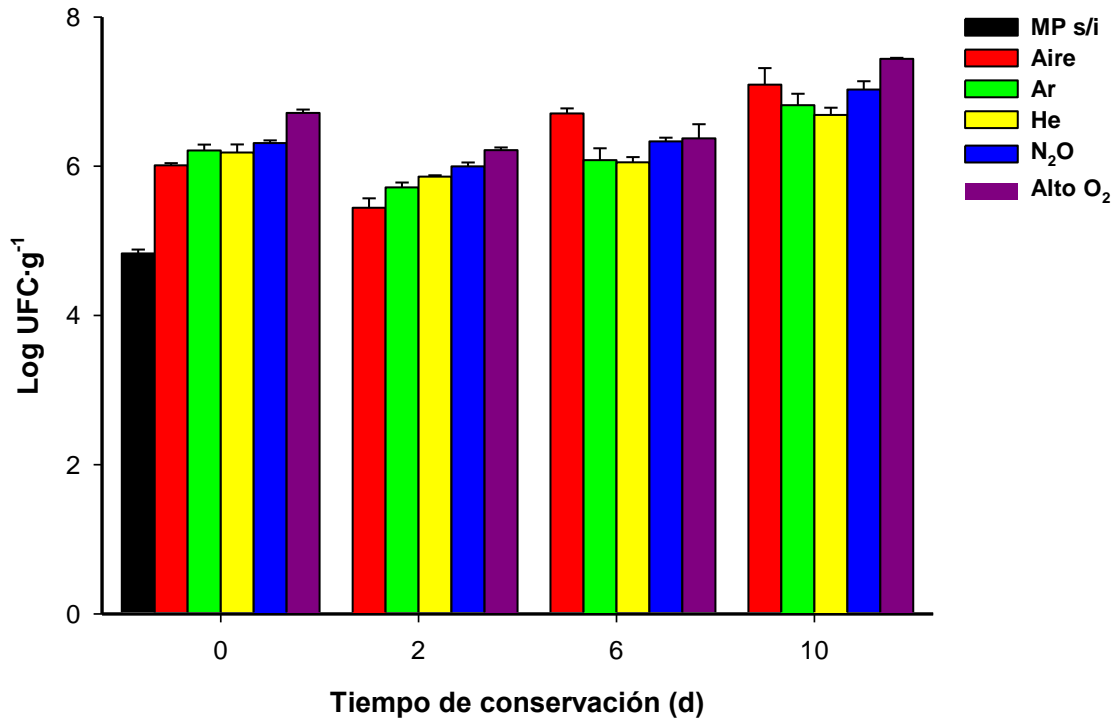


Figura 2.12. Recuento de enterobacterias de hojas de rúcula envasadas en atmósfera modificada activa durante 10 días a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$. MP s/i: Materia prima procesada sin inocular. Las barras indican el error estándar ($n=3$).

Las mayores diferencias significativas entre los tratamientos se observaron a partir del segundo día, esto podría deberse al incremento del CO_2 en la bolsa, ya que este gas como se mencionó tiene efecto antimicrobiano (Ahn *et al.*, 2005; Arvanitoyannis *et al.*, 2011; Devlieghere *et al.*, 2000 citado por Allende *et al.*, 2004).

Según Araneda (2012), hojas de berros a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ con aire, Ar, N_2 , He y N_2O , presentaron recuentos iniciales de enterobacterias de $4,7 \log \text{ UFC}\cdot\text{g}^{-1}$; y tras 6 días, Ar y N_2

obtuvieron recuentos menores de 6,1 a 6,2 log UFC·g⁻¹ en relación a los demás tratamientos.

Según Inestroza (2011), las hojas de rúcula después de 7 días a 5 °C y conservadas en aire, Ar, N₂, He, O₂ y N₂O, tuvieron recuentos de 3 log UFC·g⁻¹ y aquellas en aire de 5,6 log UFC·g⁻¹. Robles *et al.* (2010), encontraron que hojas de mizuna almacenados 8 días a 5 °C, en atmósferas de 83% He + 15% CO₂ + 2% O₂ redujeron de 1 a 1,5 unidades los recuentos de enterobacterias, en comparación al testigo en aire.

Allende *et al.* (2004), en hojas de espinaca en tiras a 5 °C con 21, 80 y 100% O₂ combinado con N₂, encontraron que tras 12 días en 100% O₂ hubo 6,8 log UFC·g⁻¹ de enterobacterias, 0,6 unidades log menos que con 80 y 21% O₂.

II.8. CONCLUSIONES

Los gases Ar y He presentaron una menor difusión en películas plásticas de baja permeabilidad, en comparación con el N₂O.

Los recuentos de *E. coli* experimentaron una ligera disminución en el tiempo, debido probablemente a la acción bactericida del CO₂ y a la competencia con otras bacterias.

Las atmósferas con Ar y He, presentaron una mayor reducción en el crecimiento de *E. coli* y enterobacterias en las hojas de rúcula.

CAPÍTULO III

**EFFECTO DE LA RADIACIÓN UV – C SOBRE LA INHIBICIÓN
DE *E. coli* INOCULADOS EN HOJAS DE RÚCULA**

III.1. RESUMEN

En este ensayo se evaluó el efecto de la luz ultravioleta (UV-C) sobre el crecimiento microbiano y la calidad sensorial en hojas de rúcula, inoculadas con *Escherichia coli* (*E. coli*). Las hojas se lavaron con NaOCl (100 mg·L⁻¹, pH 6,5) y se inocularon con *E. coli* (6,2 log UFC·g⁻¹); posteriormente se trataron con radiación UV-C de 5 a 25 kJ·m⁻² y un testigo sin aplicación; se envasaron en bolsas perforadas (aire) y almacenaron a 5 °C durante 10 días.

La radiación UV-C disminuyó el recuento inicial de enterobacterias y *E. coli* (entre 0,1 y 0,8 unidades log, respectivamente) con respecto al testigo. Las altas dosis, iguales o superiores a 20 kJ·m⁻² afectaron negativamente la apariencia general e intensidad de color de las hojas. Las dosis entre 5 y 15 kJ·m⁻² presentaron una mayor reducción en el crecimiento de *E. coli* y enterobacterias; así como también, una mejor apariencia e intensidad de color en hojas de rúcula.

Palabras clave: Dosis UV-C, enterobacterias, apariencia, intensidad de color.

ABSTRACT

The effect of ultraviolet light (UV-C) over the microbial growth and organoleptic quality of arugula leaves inoculated with *Escherichia coli* was evaluated. The leaves were washed with a NaOCl solution (100 mg·L⁻¹, pH 6,5) and inoculated with *E. coli* (6,2 log CFU·g⁻¹). The leaves were treated with UV-C radiation with doses from 5 to 25 kJ·m⁻² and also a control without treatment was considered. The treated arugula was packaged in perforated plastic bags (air) and stored at 5 °C for 10 days.

The UV-C light reduced the initial count of *Enterobacteriaceae* and *E. coli* (between 0,1 and 0,8 log units) compared with the control. High doses, equal or higher than 20 kJ·m⁻², negatively affected the general appearance and color intensity of the leaves. Doses between 5 and 15 kJ·m⁻² showed a greater reduction in the growth of *E. coli* and *Enterobacteriaceae* and the arugula leaves presented a better appearance and color intensity.

Keywords: UV-C Doses, *Enterobacteriaceae*, appearance, color intensity.

III.2. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, se ha centrado cada vez más la atención en la seguridad microbiana de hortalizas mínimamente procesadas en fresco (MPF), principalmente en los métodos de intervención para disminuir o eliminar los patógenos microbianos de los productos MPF (Martínez *et al.*, 2006ab). Las hortalizas de hoja MPF son muy susceptibles a los daños mecánicos, y al crecimiento de hongos y bacterias que reducen drásticamente su vida útil. Los productos MPF por lo general, contienen microorganismos tales como bacterias aerobias psicrotrofas, coliformes fecales, hongos, mohos y bacterias pectolíticas (Cantwell y Kasmire, 2002). El cloro ha sido utilizado por varias décadas y sigue siendo el desinfectante común en la industria alimentaria. Sin embargo, a menudo su uso es insuficiente para reducir la microflora normal que puede incluir patógenos transmitidos por alimentos (Garrett, 2002; Martínez *et al.*, 2006b).

Con el fin de disminuir la contaminación microbiana, se han estudiado agentes de desinfección alternativos o complementarios al hipoclorito de sodio (NaClO). Uno de estos agentes desinfectantes es la radiación ultravioleta-C (UV-C), con longitudes de onda de 200 a 280 nm. El equipo que se utiliza es relativamente barato, fácil de usar, generando una radiación que es letal para la mayoría de los microorganismos (Escalona *et al.*, 2010). La desinfección por radiación UV-C es un tratamiento físico que no deja residuos, daña el ADN microbiano y puede causar la muerte celular, sin alterar la estructura de las células vegetales (Artés *et al.*, 2009). Sin embargo, después de la radiación existen sistemas de reparación en los microorganismos, tales como la fotoreparación y factores proteicos, aunque se ha demostrado que con un ambiente oscuro puede evitarse la fotoreactivación en células expuestas a la luz UV-C (Wright y Cairns, 2004; Bintsis *et al.*, 2000). La eficacia de la radiación UV-C parece ser independiente de la temperatura (en el rango de 5 a 37 °C), pero depende de la incidencia de la radiación determinada por la estructura y la topografía de la superficie de los productos tratados (Bintsis *et al.*, 2000).

Según Escalona *et al.* (2010), en hojas de espinacas tiernas MPF conservadas a 5 °C, la radiación UV-C redujo inicialmente el recuento de *L. monocytogenes* inoculado en las hojas; durante la conservación experimentaron un aumento y después de 13 días los recuentos fueron inferiores al testigo sin tratar. De igual modo en hojas inoculadas con *Salmonella entérica* la radiación UV-C redujo los recuentos, en comparación al testigo; estos se mantuvieron bajos hasta el día 2, después se incrementaron gradualmente llegando a valores superiores que las muestras sin tratar. Estos resultados demostrarían una disminución de los recuentos inmediatamente después de la aplicación UV-C, debido a la acción microbicida inmediata de la luz UV-C (Guerreo y Barbosa, 2004).

En estudios realizados en tiras de espinaca a 5 °C, con radiación de UV-C de 4,5 a 11,4 kJ·m⁻²; se obtuvieron recuentos iniciales de aerobios mesófilos (RAM) de 4,2 a 4,5 log UFC·g⁻¹, en relación a 5,2 log UFC·g⁻¹ del testigo sin tratar (Artés-Hernández *et al.*, 2008).

En estudios realizados en tiras de lechuga a 5 °C, tratadas con dosis UV-C de 1,18; 2,37 y 7,11 kJ·m⁻² tuvieron un RAM promedio de 5,0 log UFC·g⁻¹ hasta el día 6. Después de 11 días, las muestras tratadas obtuvieron recuentos de 6,5 y 7,2 log UFC·g⁻¹, y el testigo 8,0 log UFC·g⁻¹ (Allende *et al.*, 2006).

Según los antecedentes descritos se puede observar el efecto de la radiación UV-C en la reducción del recuento de microorganismo. Sin embargo la información existente es limitada en estudios *in vivo* donde se haya evaluado el efecto de la radiación UV-C sobre hortalizas, inoculadas con microorganismos y muy en especial en hojas de rúcula inoculadas con *Escherichia coli* (*E. coli*).

En este estudio se evaluó el efecto de la radiación UV-C para reducir el crecimiento de *E. coli* previamente inoculadas en hojas de rúcula (*Eruca vesicaria*), durante 10 días a 5 °C.

III.3. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Lugar de estudio

Este trabajo se realizó en el Centro de Estudios Postcosecha (CEPOC) de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

2. Materiales

Se utilizaron hojas de rúcula (*Eruca sativa* var. *vesicaria*), provenientes del huerto comercial de la empresa “Hidrohuerta Tango Ltda.” ubicada en la Comuna de Calera de Tango (Región Metropolitana, Chile). Estas hojas se cultivaron en verano (Figura 3.1). La forma de cosecha fue manual con tijera, realizada en el mes de febrero de 2012. Las características iniciales promedio de las hojas fueron un peso de 0,5 g, largo de 8,8 cm y ancho de 3,6 cm. En cuanto al color, las hojas tuvieron una luminosidad de 44,8, saturación de 30,0 y tono de 125,6 (Apéndice 2, Cuadro 2.7).



Figura 3.1. Hojas de rúcula utilizadas en la inoculación con *E. coli* y radiación UV-C.

Para la inoculación de hojas de rúcula se utilizó cepas bacterianas de *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 35218 no patógena, obtenida de la distribuidora autorizada Agrobiotek Internacional (ABT®) en forma de “pellets” liofilizado en un vial de 10 g y conservadas a 0 °C.

Para la aplicación de las dosis de radiación UV-C se utilizó una cabina cerrada cuyas dimensiones fueron 1,25 m de largo, 0,5 m de ancho y 0,6 m de alto. El equipo estuvo provisto de 6 lámparas germicidas sin filtro de 36 W (TUV 36W/G36 T8, Philips), ubicadas tres en la parte superior y tres en la inferior. Al centro a una distancia de 0,3 m del lado superior e inferior sobre una malla de acero inoxidable fija, se colocó en promedio 300 g de hojas por vez (Figura 3.2).



Figura 3.2. Cabina para la aplicación de radiación de UV-C en hojas de rúcula.

Las hojas de rúcula se envasaron en bolsas de polipropileno (PP), con una baja permeabilidad al O_2 ($25 \text{ mL} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{día}^{-1} \cdot \text{bar}^{-1}$) y baja permeabilidad al CO_2 ($71 \text{ mL} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{día}^{-1} \cdot \text{bar}^{-1}$) obtenidas de la empresa “Plaspak Maquinaria”; cuyas dimensiones fueron de 10 x 20 cm. Se practicaron 7 perforaciones en cada cara de las bolsas, con una aguja de 0,8 mm de diámetro, con el propósito de alcanzar una atmósfera similar al aire ($O_2 > 19\%$ y $CO_2 < 1,0\%$)

III.4. PROCESAMIENTO Y TRATAMIENTOS

Las etapas dentro de la línea de flujo se realizaron siguiendo la metodología empleada en el ensayo anterior (Sección II.4) y que se describen en la Figura 3.3.

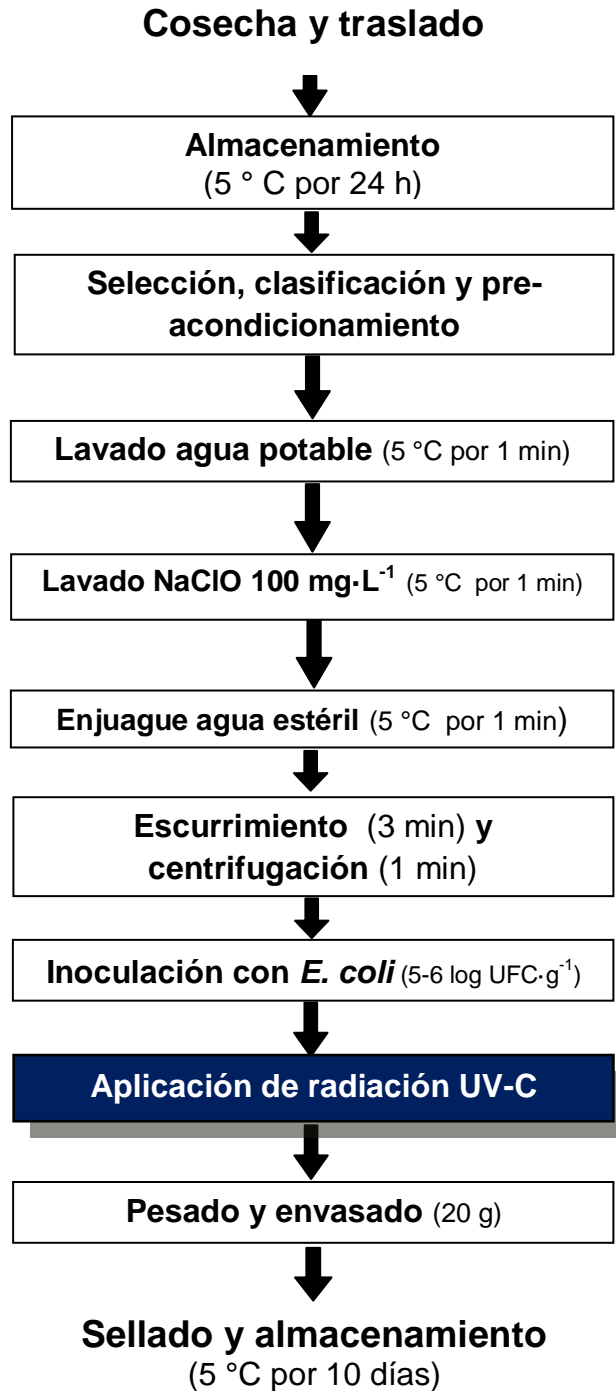


Figura 3.3. Diagrama de flujo, inoculación de *E. coli* y aplicación de radiación UV-C en hojas de rúcula.

Las hojas se clasificaron por tamaño utilizándose aquellas entre 8,0 y 9,5 cm de largo y de 3,2 a 3,9 cm de ancho. Se preparó un inóculo de *E. coli* en una disolución inóculo: agua peptonada (1:1000) con un recuento de 9 log UFC·g⁻¹. Las características de las soluciones empleadas en las etapas de lavado se presentan en el Apéndice 2, Cuadro 2.7.

Aplicación de radiación UV-C: Para las aplicaciones de luz UV-C se utilizó una cabina cerrada descrita en la Sección III.3. La intensidad de la luz UV-C y la distancia se mantuvieron constantes, y la dosis de aplicación varió con los tiempos de exposición. La intensidad se determinó con un radiómetro (Black Ray[®], modelo J225, Upland, EE. UU.) que mide la intensidad UV-C en kW·m⁻². Así mediante la multiplicación de la intensidad y el tiempo de exposición en segundos, se obtiene la dosis en kJ·m⁻². Las dosis de radiación que se emplearon se muestran en el Cuadro 3.1.

Cuadro 3.1. Dosis de radiación ultravioleta (UV-C) aplicadas en hojas de rúcula inoculadas con *E. coli*.

Tratamiento	Dosis de radiación UV-C (kJ·m ⁻²)
1	0
2	5
3	10
4	15
5	20
6	25

Pesado y envasado: Después de la inoculación, se pesaron 20 g de hojas y envasaron en bolsas perforadas.

Sellado y almacenamiento: Después del pesado, se realizó un termosellado empleando un equipo sellador de bolsas plásticas (Impulse Sealer Tew Equipment Co, Hsien, Taiwán). Las bolsas se almacenaron a 5 ± 0,5 °C durante 10 días.

III.5. ANÁLISIS Y EVALUACIONES EN HOJAS DE RÚCULA

1. Atmósfera modificada

La evolución de la concentración de gases (CO_2 y O_2) al interior de las bolsas de PP con las hojas de rúcula se determinó por medio de un analizador de gases manual (Checkpoint, PBI Dansensor, Ringsted, Dinamarca) y se expresó como porcentajes de CO_2 y O_2 . La medición de estos gases se detalla en la Sección II.5, parte 1, del Capítulo II. Esta medición se realizó los días 0, 2, 6 y 10.

2. Análisis microbiológico

La metodología y el equipo utilizado se encuentran detallados en la Sección II.5, parte 2, del Capítulo II. Los recuentos microbiológicos se expresaron como el logaritmo de unidad formadora de colonia por gramo ($\log \text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$). Esta medición se realizó los días 0, 2, 6 y 10 de almacenamiento.

3. Determinación del color

La metodología se detalla en la Sección II.5, parte 3, del Capítulo II. Esta medición solamente se realizó en la caracterización inicial a tres muestras (10 hojas por cada muestra) de las hojas de rúcula, que se obtuvo momentos previos al procesamiento.

4. Determinación del aspecto visual

Las hojas de rúcula inoculadas con *E. coli*, se evaluaron sensorialmente por su aspecto visual en apariencia e intensidad de color. Se utilizó el método de análisis descriptivo-cuantitativo, aplicado a un panel de 10 jueces semi-entrenados conocedores de la rúcula, usando una pauta no estructurada de 0 a 15 cm (Anexo 1). A cada juez se le proporcionó una bolsa sellada con las hojas. Esta evaluación se realizó el día 10.

III.6. DISEÑO DE EXPERIMENTOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con 6 tratamientos y 3 repeticiones cada uno, donde cada dosis de UV-C correspondió a un tratamiento (Cuadro 3.1). La unidad experimental correspondió a una bolsa con 20 g de hojas. Los resultados obtenidos de la concentración atmosférica al interior de las bolsas, recuento microbiológico y aspecto visual se evaluaron con un análisis de varianza (ANDEVA) con un 5% de significancia. Cuando se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos se aplicó la prueba de comparación múltiple de Tukey ($\alpha \leq 0,05$).

Los datos se analizaron estadísticamente mediante el programa Minitab Release 16.1, software estadístico de acceso libre para Windows, disponible en: <http://www.minitab.com>.

III.7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Atmósfera modificada

La concentración de CO_2 se mantuvo constante sin diferencias entre tratamientos durante la conservación, similar al aire, con valores de 0,1 a 0,3% (Figura 3.4A; Apéndice 2, Cuadro 2.1).

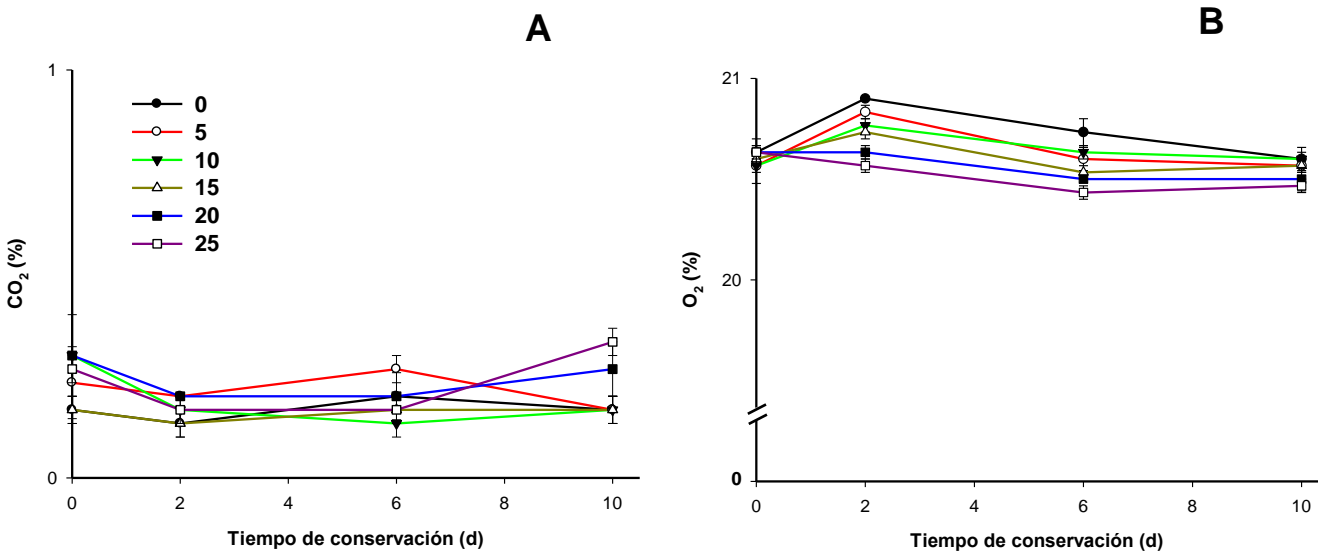


Figura 3.4. Evolución de la concentración de CO_2 (A) y O_2 (B) en el interior de las bolsas perforadas con hojas de rúcula, tratadas con UV-C ($\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$) durante 10 días a $5\text{ }^\circ\text{C}$. Las barras indican el error estándar ($n=3$).

La concentración del O_2 en el interior de las bolsas fue similar al aire, sin presentar diferencias significativas entre tratamientos (Figura 3.4B y Apéndice 2, Cuadro 2.2).

Artés-Hernández *et al.* (2008), en tiras de espinaca a $5\text{ }^\circ\text{C}$, envasadas en atmósfera modificada pasiva, con dosis de 0 a $11,35\text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$, después de 13 días obtuvieron de 8 a 11% O_2 y de 7 a 10 % CO_2 ; mostrando que la radiación UV-C no afectó los cambios de estos gases dentro de las bolsas. Allende *et al.* (2006), en tiras de lechuga, envasadas en bolsas de poliestireno con atmósfera modificada pasiva a $5\text{ }^\circ\text{C}$ por 10 días y tratadas con UV-C, obtuvieron un aumento de la concentración de CO_2 a medida que se

incrementó la dosis; de igual modo, observaron que la menor concentración de O₂ se produjo con el aumento de radiación UV-C.

2. Análisis microbiológico

A) Recuento de *E. coli*

Las hojas de rúcula procesadas presentaron recuentos iniciales $<1 \log \text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$. Después de ser inoculadas el testigo sin radiación alcanzó un recuento inicial de $6,2 \log \text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$ (Figura 3.5), el cual fue significativamente mayor a las muestras tratadas con $5,4$ a $5,8 \log \text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$ (Apéndice 2, Cuadro 2.3). Esto indicaría un efecto de reducción inicial de la radiación UV-C sobre la población de *E. coli*. El recuento del *E. coli* en el tiempo presentó una ligera disminución. El día 10, las dosis 10 y $15 \text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ presentaron recuentos significativamente menores de $4,0 \log \text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$, en comparación a los otros tratamientos. El efecto de la radiación UV-C se observó al inicio y posteriormente los recuentos se mantendrían hasta el final del almacenamiento. Un comportamiento similar obtuvo Escalona *et al.* (2010) y Artés-Hernández *et al.* (2008). La disminución del recuento en el tiempo se podría deber a la competencia de *E. coli* con otras enterobacterias presentes en las hojas.

Según Escalona *et al.* (2010), en estudios en tiras de espinaca inoculadas con *Salmonella entérica* a $5 \text{ }^\circ\text{C}$, se observó que la radiación UV-C redujo en 1 unidad log, respecto al testigo sin UV-C; sin embargo, en el tiempo estos recuentos fueron aumentando alcanzando valores mayores que el testigo.

Yuan *et al.* (2003), en estudios realizados en diferentes productos hortofrutícolas inoculados con *Salmonella spp.* y *E. coli* O157: H7, tratado con UV-C observaron que dosis de 5 a $24 \text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ redujeron los recuentos de *E. coli* en la superficie de manzana Red Delicious enteras sin encerar. En cambio dosis de 9 a $24 \text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ lograron una mayor reducción de *Salmonella spp.* y *E. coli* O157: H7 en la superficie de hojas de lechuga.

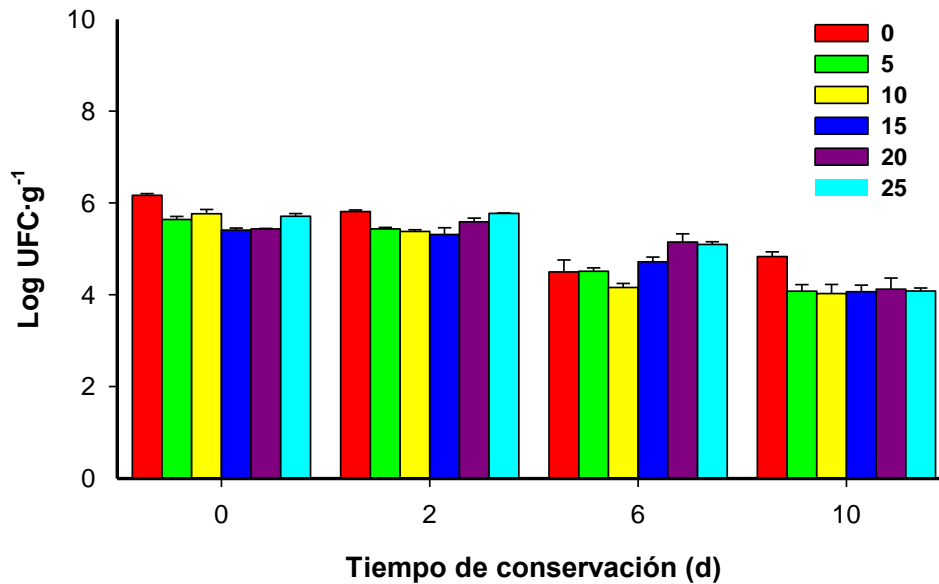


Figura 3.5. Recuento de *E. coli* de hojas de rúcula tratadas con UV-C ($\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$) durante 10 días a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Las barras indican el error estándar ($n=3$).

En estudios realizados en tiras de lechuga, las reducciones máximas del recuento de bacterias se obtuvieron entre 2 y 6 días de almacenamiento con dosis de 2,37 y 7,11 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ (Allende *et al.*, 2006). En rodajas de pepino, la mayor reducción de mesófilos aerobios fue con 4,93 y 9,86 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ (Erkan *et al.*, 2001). La eficacia de la radiación UV-C dependería de la dosis, la estructura y la topografía de la superficie del producto sobre el cual se aplica. La sensibilidad de las bacterias a los rayos UV-C varía según la especie y también entre las distintas cepas de la misma especie (Rivera *et al.*, 2007). Por su lado, Zhaung *et al.* (1995), en tomates enteros lavados con solución clorada de $320\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ a $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ y tratados con UV-C, después de 8 días observaron que este tratamiento fue eficaz para reducir la *Salmonella montevideo*, en comparación a las muestras lavadas con soluciones cloradas de 60 y $110\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y almacenadas a 20 y $30\text{ }^{\circ}\text{C}$.

B) Recuento de enterobacterias

El día de proceso, las hojas de rúcula sin inocular presentaron un recuento inicial de $3,7 \log \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$, tras la inoculación y aplicación de UV-C los recuentos fueron de $5,4$ a $5,8 \log \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$ (Figura 3.6) y el testigo sin UV-C de $6,2 \log \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$ (Apéndice 2, Cuadro 2.4). Estos resultados muestran un efecto inicial de la radiación UV-C sobre este grupo de bacterias, respuesta que también fue observada por Escalona *et al.* (2010); Allende *et al.* (2006); y Artés-Hernández *et al.* (2008) en hojas de espinaca y lechuga.

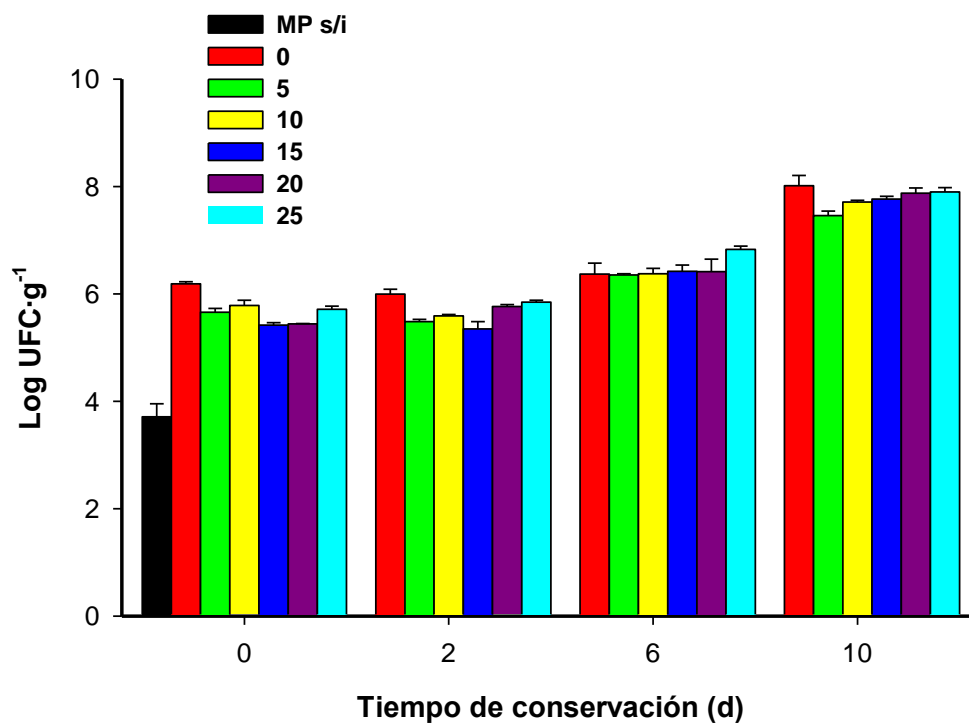


Figura 3.6. Recuento de enterobacterias de hojas de rúcula tratadas con UV-C ($\text{kJ} \cdot \text{m}^{-2}$) durante 10 días a $5 \text{ }^\circ\text{C}$. MP s/i: Materia prima procesada sin inocular. Las barras indican el error estándar ($n=3$).

Los recuentos de enterobacterias presentaron un aumento progresivo durante el almacenamiento. El día 2, las dosis de 5 a $15 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2}$, obtuvieron los menores recuentos con $5,4$ a $5,6 \log \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$. El día 6, los recuentos fueron de $6,4$ a $6,8 \log \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$, sin diferencias significativas entre tratamientos. El día 10, dosis de 5 a $15 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2}$

presentaron recuentos significativamente menores de 7,5 a 7,8 log UFC·g⁻¹ en comparación al testigo con 8,0 log UFC·g⁻¹.

Allende *et al.* (2006), en hojas de lechuga conservadas a 5 °C, encontraron que dosis UV-C entre 1,18 y 7,11 kJ·m⁻² fueron eficaces para reducir el recuento de microorganismos entéricos hasta el día 2, en comparación al testigo sin UV-C que mostró un aumento progresivo durante los 10 días de almacenamiento. Artés-Hernández *et al.* (2008), en tiras de espinaca, tratadas con 4,5 a 11,4 kJ·m⁻², observaron que el recuento de enterobacterias se incrementó de 3,5 a 7,0 log UFC·g⁻¹, después de 6 días a 5 °C. Según Tardón *et al.* (2011), en brotes de alfalfa, observaron que estos recuentos fueron menores cuando los tratamientos correspondieron a 15 y 20 kJ·m⁻².

Varios estudios reportan que las bacterias y levaduras tienen un potente mecanismo de foto-reactivación; la exposición de células a la luz visible después de la radiación UV-C induce a una foto-reparación mediante el cual estos microorganismos pueden restaurar la integridad del ADN (Wright y Cairns, 2004). Por lo tanto, la foto-reactivación hace que las bacterias puedan recuperar su viabilidad después de la radiación UV-C (Sliney, 2001; Arroyo, 2010). Debido a esto las hojas se deberían envasar rápidamente y almacenar en oscuridad.

3. Determinación del aspecto visual

A) Apariencia

La apariencia se evaluó el día 10, donde se obtuvo valores de 8,0 a 10,4 puntos para los tratamientos de 0 a 15 kJ·m⁻² (Figura 3.7); mientras que mayores dosis de 20 y 25 kJ·m⁻² alcanzaron valores de 7,4 y 7,0, respectivamente. La dosis 5 kJ·m⁻² presentó un puntaje significativamente mayor con 10,4 en comparación a los demás tratamientos (Apéndice 2, Cuadro 2.5).

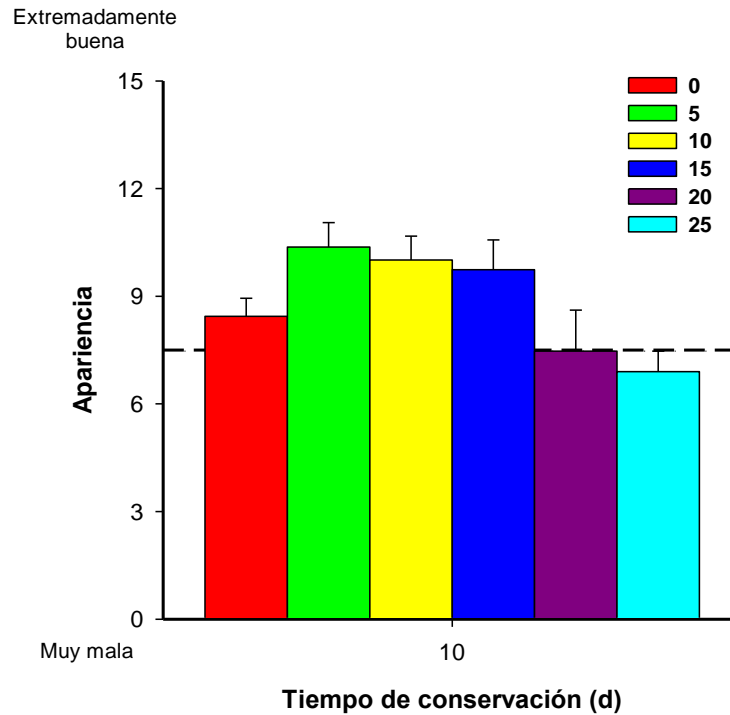


Figura 3.7. Apariencia de las hojas de rúcula tratadas con UV-C ($\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$) durante 10 días a 5 °C. Las barras indican el error estándar ($n=3$).

Estos resultados demostrarían que las altas dosis UV-C, afectan la apariencia de las hojas (D'Hallewin *et al.*, 2000; citado por Rivera *et al.*, 2007); esto se debería al desarrollo de necrosis en las hojas tratadas, la que se acentúa con el tiempo de almacenamiento. Según Artés-Hernández *et al.* (2008), también reporta que altas dosis de 7,9 y 11,4 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$, causan daño en las hojas de espinaca, lo que se manifiesta después de 10 días a 5 °C. Allende *et al.* (2006), en hojas de lechuga picadas, después de 10 días a 5 °C observaron que dosis de 7,1 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ causó pardeamiento y daños en la textura, respecto a la dosis 1,2 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$. Estas dosis altas aumentarían la producción de radicales libres y la senescencia de los tejidos vegetales; por otro lado, la reducción de la textura de los tejidos estaría ligada a los cambios progresivos de la pared celular, así como a la separación de la pared celular, debido a la solubilización de las láminas ricas en pectina, que serían estimuladas y aceleradas por la radiación UV-C (Brady, 1987).

Por el contrario, Ruiz *et al.* (2010), en repollo en tiras reportaron que las hojas tratadas con 6 y 12 kJ·m⁻² presentaron mejor apariencia general, en comparación a las muestras sin UV-C, después de 9 días a 5 °C.

B) Intensidad de color

Después de 10 días, las hojas que recibieron dosis de 0 a 15 kJ·m⁻² presentaron una intensidad de color significativamente mayor con valores de 12,2 a 12,3, en comparación a las dosis 20 y 25 kJ·m⁻² con 9,5 y 10,5 (Figura 3.8; Apéndice 2, Cuadro 2.6). Estos resultados muestran que las mayores dosis afectan la intensidad de color de las hojas de rúcula.

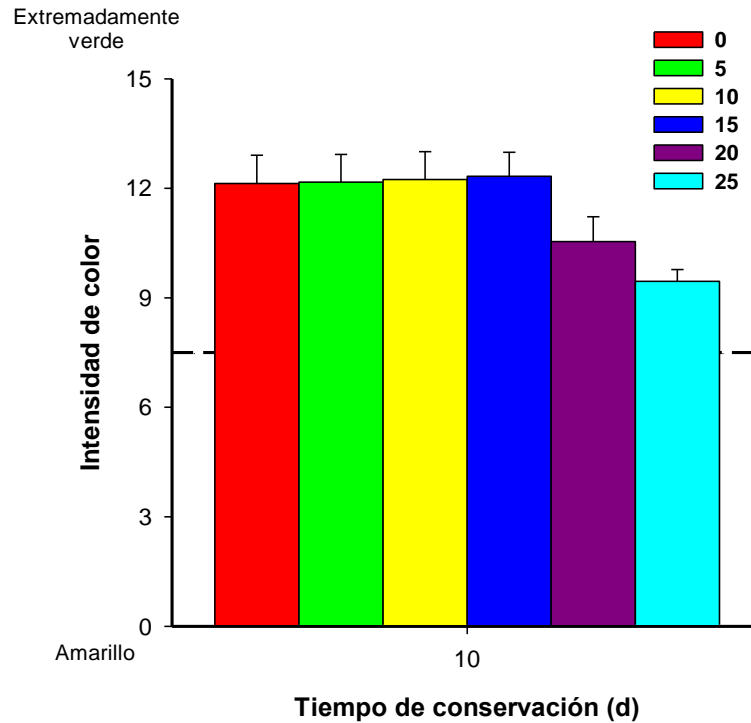


Figura 3.8. Intensidad de color de las hojas de rúcula tratadas con UV-C (kJ·m⁻²) durante 10 días a 5 °C. Las barras indican el error estándar (n=3).

En estudios en tiras de lechuga, tratadas con 7,9 y 11,4 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$, se observó pardeamiento (Allende *et al.*, 2006); debido probablemente a un daño sobre las paredes y membranas celulares (Rivera *et al.*, 2007). Por el contrario, estudios en rodajas de pepino, obtuvieron un aspecto visual similar con dosis UV-C de 2 a 12 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ después de 12 días a 5 °C (Erkan *et al.*, 2001).

De acuerdo a los resultados obtenidos las dosis inferiores de 15 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$, aplicadas en la superficie de hojas de rúcula, no alterarían significativamente la apariencia e intensidad de color.

III.8. CONCLUSIONES

La radiación UV-C tuvo un efecto en la reducción del recuento inicial tanto de *E. coli* como de enterobacterias.

La apariencia e intensidad de color de las hojas de rúcula se vio afectada con dosis UV-C iguales o superiores a 20 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$.

Las dosis de 5 a 15 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ presentaron una mayor reducción en el crecimiento de microorganismos y una mejor apariencia e intensidad de color en hojas de rúcula durante 10 días a 5 °C.

CAPITULO IV

**EFFECTO DE LA RADIACIÓN UV-C COMBINADA CON
ATMÓSFERAS MODIFICADAS ACTIVAS SOBRE LA CALIDAD
MICROBIOLÓGICA Y FUNCIONAL EN HOJAS DE RÚCULA**

IV.1. RESUMEN

Se estudió el efecto de la luz UV-C combinado con envasado en atmósferas modificadas activas sobre la calidad microbiológica, funcional y sensorial en hojas de rúcula. Los tratamientos se aplicaron siguiendo un arreglo factorial 2x2 con dos dosis de UV-C (10 ó 15 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$) y en dos atmósferas enriquecidas en argón (54% Ar + 42% O_2 + 4% N_2) o helio (53% He + 42% O_2 + 5% N_2). Las muestras de 80 g se almacenaron a 5°C por 10 días. Las concentraciones de O_2 disminuyeron (desde 42 a 22–26%) y las concentraciones de CO_2 aumentaron (desde 0 a 15%) durante el almacenamiento, mientras que el Ar y He se mantuvieron constantes (entre 52 y 57%). La tasa respiratoria durante la conservación se mantuvo constante entre 10 y 20 $\text{mg CO}_2\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, observándose una relación directa entre la tasa respiratoria y la dosis UV-C. La producción de etileno disminuyó con el tiempo desde 0,9 a 0,06 $\mu\text{L C}_2\text{H}_4\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, alcanzando sus valores mínimos al cuarto día. Los recuentos iniciales de microorganismos aerobios mesófilos totales, enterobacterias, *Escherichia coli* y hongos y levaduras fueron 6,0; 5,5; 3,8 y 2,6 $\log \text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente y disminuyeron entre 0,2 y 0,8 unidades log con la aplicación de los tratamientos, respecto del testigo. La concentración de glucosa aumentó con el tiempo desde 9 a 14 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ p.f., siendo mayor en todos los tratamientos respecto al testigo. La capacidad antioxidante determinado con DPPH*, en las muestras tratadas con 15 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ UV-C aumentó hacia el segundo día (1,3 $\text{mg Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$ p.f.); sin embargo, los últimos días disminuyó en los tratamientos respecto del testigo. La concentración de fenoles totales se mantuvo durante el almacenamiento. Los tratamientos combinados de radiación UV-C con Ar ó He resultaron una buena alternativa a los tratamientos convencionales para reducir los recuentos microbianos, mejorar la calidad funcional, sin alterar el color y la calidad sensorial de las hojas de rúcula almacenadas a 5 °C durante 10 días.

Palabra clave: Argón, Helio, capacidad antioxidante, fenoles, glucosa.

ABSTRACT

The effect of UV-C light combined with active modified atmosphere packaging on the microbiological, sensorial and functional quality in arugula leaves was studied. The treatments were applied following a 2x2 factorial arrangement with two doses of UV-C (10 to 15 kJ·m⁻²) and two enriched atmospheres with Argon (54% Ar + 42% O₂ + 4% N₂) or Helium (53% He + 42% O₂ + 5% N₂). The samples of 80 g were stored at 5 °C for 10 days. O₂ concentrations decreased (from 42 to 22-26%) and CO₂ concentrations increased (from 0 to 15%) during storage, while the Ar and He concentrations remained constant (between 52 and 57%). The respiratory rate during storage was kept constant (between 10 and 20 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹), showing a direct relationship between respiratory rate and UV-C dose. Ethylene production decreased over time from 0.9 to 0.06 μL C₂H₄·kg⁻¹·h⁻¹, reaching their minimum values on the fourth day. The initial counts of total mesophilic aerobic microorganisms, *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*, mold and yeasts were 6.0, 5.5, 3.8 and 2.6 log CFU·g⁻¹, respectively, decreased from 0.2 to 0.8 log units with the application of the treatments, compared to the control. The glucose concentration increased with time from 9 to 14 mg·g⁻¹ f.w., being higher in all treatments compared to the control. The antioxidant capacity determined by DPPH* increased on the second day (1.3 mg Trolox·g⁻¹ f.w.), by the application of 15 kJ·m⁻² UV-C; however, the antioxidant capacity decreased in relation to the control treatment at the end the storage. The total phenol concentration remained constant during storage. The combined treatments UV-C with Ar or He were a good alternative to conventional treatments in reducing microbial counts and improving the functional quality without altering the color or the sensory quality of arugula leaves stored at 5 °C for 10 days.

Keywords: Argon, Helium, Antioxidant capacity, Phenols, Glucose

IV.2. INTRODUCCIÓN

En la actualidad se vienen investigando nuevas técnicas para mantener la calidad microbiológica, funcional y sensorial de productos mínimamente procesados en fresco (MPF). Entre ellas se pueden mencionar a la aplicación de radiación UV-C en hojas de lechuga mantequilla, Lollo Rosso (Allende *et al.*, 2002; Allende *et al.*, 2006; Allende y Artés, 2003); espinaca en tiras (Artés – Hernández *et al.*, 2008; Escalona *et al.*, 2010); repollo en tiras (Ruiz *et al.*, 2010); floretes de brócoli (Costa *et al.*, 2006). Estos estudios reportan que la radiación UV-C causa un aumento de la tasa respiratoria debido al estrés que su aplicación provoca, reducen el crecimiento bacteriano, incrementa el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante.

En rodajas de pepino a 5 °C, la radiación UV-C no tuvo efecto significativo sobre la concentración de azúcares y de ácido málico, en relación al testigo sin UV-C; mientras que sí se observó una reducción significativa del recuento de mesófilos aerobios (RAM) cuando las dosis fueron de 4,93 y 9,86 kJ·m⁻² en comparación a dosis menores de 2 kJ·m⁻² (Erkan *et al.*, 2001). Estudios en duraznos enteros, mostraron que el aumento de la dosis UV-C de 5 a 20 kJ·m⁻², favoreció la síntesis de fenilalanina amonio-liasa y el contenido de fenoles totales, retrasando la maduración y disminuyendo significativamente la producción de etileno (Stevens *et al.*, 1998).

Otra técnica nueva que se está investigando es el envasado en atmósferas modificadas activas (EAMA) sobre hortalizas MPF (Kader, 2002b; Artés, 2006). Los principales beneficios del EAMA en hortalizas son reducción de: la respiración, la producción de etileno y el ablandamiento de tejidos. Por el contrario si se exponen a bajas concentraciones de O₂ y altas de CO₂ puede causarse un deterioro acelerado de las hortalizas (Kader *et al.*, 1989).

Se recomendaría utilizar la radiación UV-C en combinación con otras técnicas de conservación, ya que el daño sobre el ADN bacteriano parece que disminuirían el número total de estas células, pero no garantiza una esterilización completa (Guerrero y Barbosa, 2004). Por lo tanto, una combinación de tratamientos de conservación es recomendable, ya que proporciona una mejor protección; además, simultáneamente

puede conservar las propiedades sensoriales del producto, tales como color, sabor, textura y valor nutricional (Allende y Artés, 2003).

En estudios con radiación UV-C combinado con atmósfera modificada pasiva en lechuga en tiras a 5 °C, después de 6 días, la radiación UV-C aumentó significativamente la tasa respiratoria en un 50% en relación al testigo sin UV-C; y alcanzó al final de 9 días con un promedio de 5% de O₂ y 9% de CO₂, en comparación al testigo con 10% de O₂ y 7% de CO₂. Además, la radiación UV-C redujo los recuentos iniciales de bacterias psicrótrofas, enterobacterias y levaduras, en relación al testigo; sin afectar la calidad sensorial de la lechuga (Allende y Artés, 2003).

Inestroza (2011), aplicó dosis de 4 y 5 kJ·m⁻² en hojas de rúcula a 5 °C y después de 13 días de conservación no afectaron la apariencia, intensidad de color y sabores de las hojas.

Existen muy pocos estudios en los que se reporte el uso combinado de la radiación UV-C y EAMA con gases no convencionales como el argón (Ar) y helio (He), en hortalizas de hoja. Por tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la combinación de radiación UV-C y EAMA con Ar y He, sobre la calidad microbiológica, sensorial y funcional de hojas de rúcula (*Eruca vesicaria*) durante 10 días a 5 °C.

IV.3. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Lugar de estudio

El experimento se realizó en el Centro de Estudios Postcosecha (CEPOC) y en el Departamento de Agroindustria y Enología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

2. Materiales

Se utilizaron hojas de rúcula (*Eruca sativa* var. *Vesicaria*), provenientes del huerto comercial de la empresa “Hidrohuerta Tango Ltda.” ubicada en la Comuna de Calera de Tango (Región Metropolitana, Chile). Estas hojas se cosecharon en el mes de marzo de 2012, se cultivaron en suelo, con una siembra escalonada, bajo invernadero. El tiempo transcurrido desde la siembra hasta la cosecha fue de 30 días. La forma de cosecha fue manual con tijera (Figura 4.1). Las características iniciales promedio de las hojas de rúcula fueron un peso de 0,9 g, largo de 10,4 cm y ancho de 4,7 cm. El color de las hojas fue de luminosidad = 43,9, saturación = 28,0 y tono = 126,1 (Apéndice3, Cuadro 3.39).



Figura 4.1. Hojas de rúcula utilizadas en el estudio de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas.

La aplicación de la radiación UV-C se realizó en una cámara con las características antes descritas en la Parte 2, Sección III.3, Capítulo III.

Para generar el envasado en atmósferas modificadas activas (EAMA), los gases que se emplearon fueron argón (Ar), helio (He) y oxígeno (O₂); obtenidos de la empresa INDURA S.A., Santiago (Chile).

Las hojas de rúcula se envasaron en bolsas de polipropileno (PP) de 20 x 28 cm. La película presentó una baja permeabilidad al O₂ (25 mL·m⁻²·día⁻¹·bar⁻¹) y al CO₂ (71 mL·m⁻²·día⁻¹·bar⁻¹), y fue provista por la empresa “Plaspak Maquinaria”.

IV.4. PROCESAMIENTO Y TRATAMIENTOS

Las etapas de la línea de flujo se realizaron siguiendo la metodología empleada en el ensayo anterior (Sección II.4) y se describen en la Figura 4.2.

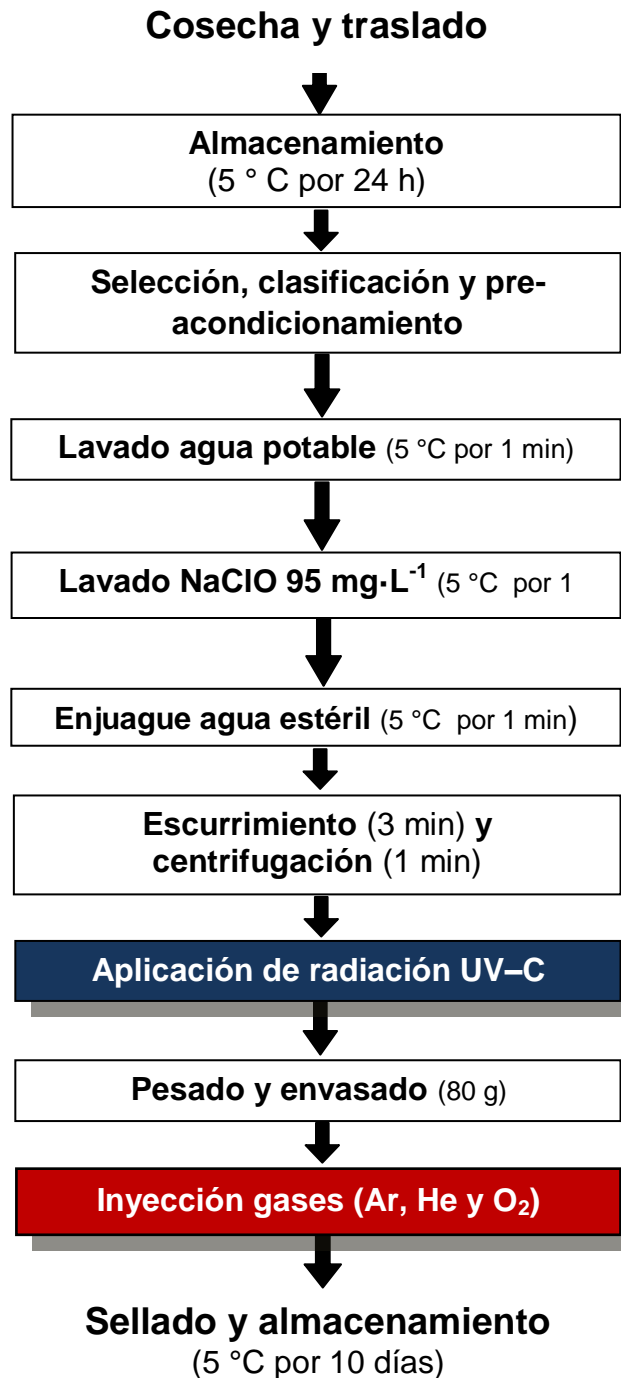


Figura 4.2. Diagrama de flujo de procesamiento, aplicación de radiación UV-C y EAMA en hojas de rúcula.

Las hojas se clasificaron por tamaño utilizándose aquellas con 9,7 a 11,1 cm de largo y 4,2 a 5,1 cm de ancho. En la caracterización inicial de la materia prima se determinó peso, dimensiones, color y recuentos microbiológicos. Las características de las soluciones empleadas en las etapas de lavado se presentan en el Apéndice 3, Cuadro 3.40.

Aplicación de radiación UV-C: Se aplicaron dos dosis de UV-C de 10 y 15 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$, tal como se indicó en la Sección III.4, del Capítulo III.

Pesado y envasado: Se pesaron 80 g de hojas y envasaron en bolsas de PP. Seguidamente, se llevó a una envasadora al vacío y termoselladora de bolsa (Plaspak, BC/01, Santiago, Chile), en la cual se extrajo el aire; luego, este mismo equipo realizó un termosellado.

Envasado de atmósfera modificada activa (EAMA): Se utilizaron Ar y He, cada uno combinado con O_2 , tal como se indicó en la Sección II.4 del Capítulo II.

Sellado y almacenamiento: Inmediatamente después de la inyección de gases, se realizó un termosellado final, empleando un equipo sellador (Impulse Sealer Tew Equipment Co, Hsien, Taiwán). Las bolsas con las hojas se almacenaron a $5 \pm 0,5$ °C durante 10 días.

Los cinco tratamientos evaluados se indican en el Cuadro 4.1 y 4.2. Para el tratamiento testigo en aire, a las bolsas se les realizaron 7 perforaciones a cada cara, con una aguja de 0,8 mm de diámetro.

Cuadro 4.1. Tratamientos aplicados en las bolsas con hojas de rúcula.

Dosis de radiación UV-C (kJ·m⁻²)	EAMA inicial	Tratamientos
0	Aire (21% O ₂ + 79% N ₂) ^a	Testigo
10	54% Ar + 42% O ₂ + 4% N ₂	10 + Ar
10	54% He + 42% O ₂ + 4% N ₂	10 + He
15	54% Ar + 42% O ₂ + 4% N ₂	15 + Ar
15	52% He + 42% O ₂ + 6% N ₂	10 + He

^a Uso de bolsas perforadas (7 perforaciones a cada lado con una aguja de 0,8 mm de diámetro).

Cuadro 4.2. Tratamientos aplicados en los contenedores de 2 L con hojas de rúcula, para la determinación de la tasa respiratoria y producción de etileno.

Dosis de radiación UV-C (kJ·m⁻²)	EAMA inicial	Tratamientos
0	Aire (21% O ₂ + 79% N ₂) ^a	Testigo
10	52% Ar + 42% O ₂ + 6% N ₂	10 + Ar
10	53% He + 42% O ₂ + 5% N ₂	10 + He
15	52% Ar + 42% O ₂ + 6% N ₂	15 + Ar
15	54% He + 42% O ₂ + 4% N ₂	10 + He

^a Uso de bolsas perforadas (7 perforaciones a cada lado con una aguja de 0,8 mm de diámetro).

IV.5. ANÁLISIS Y EVALUACIONES EN HOJAS DE RÚCULA MPF

1. Tasa respiratoria

Se colocaron 100 g de hojas de rúcula en contenedores plásticos herméticos de 2 L. Los contenedores estuvieron provistos de un septum de silicona en su tapa a través del cual se tomaron muestras de gases y dos orificios de 0,8 cm de diámetro conectados con mangueras de goma por los cuales se inyectó la mezcla de gases (Cuadro 4.2). Los tratamientos se inyectaron los días 0, 3, 6 y 10, durante 15 minutos, previo a la evaluación, con el objetivo de mantener un alto porcentaje del gas a evaluar (Ar y $\text{He} > 40\%$ y $\text{O}_2 > 25\%$). En aire (testigo) se dejó abierto el recipiente (Figura 4.3). Una vez inyectados los tratamientos, se cerró herméticamente y luego se tomaron dos muestras gaseosas, la primera luego de 24 h y la segunda a las 29 h con jeringas plásticas 10 mL. Estas muestras gaseosas se inyectaron en un cromatógrafo de gases CG (Hewlett Packard, 5890 A serie II, Palo Alto, CA, EE.UU.) provisto de un detector de conductividad térmica, con una columna PoraPack Q 80/100 (Waters, Milford MA, EE.UU.) con una temperatura de horno e inyector de 50 °C y de detector de 200 °C. Se utilizó gas helio como gas transportador con una presión de 45 psi. Entre evaluaciones los contenedores se mantuvieron cerrados. La tasa respiratoria se expresó como la producción de CO_2 ($\text{mg CO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$). Esta medición se realizó a los 1, 7 y 11 días a 5 °C (Figura 4.4).

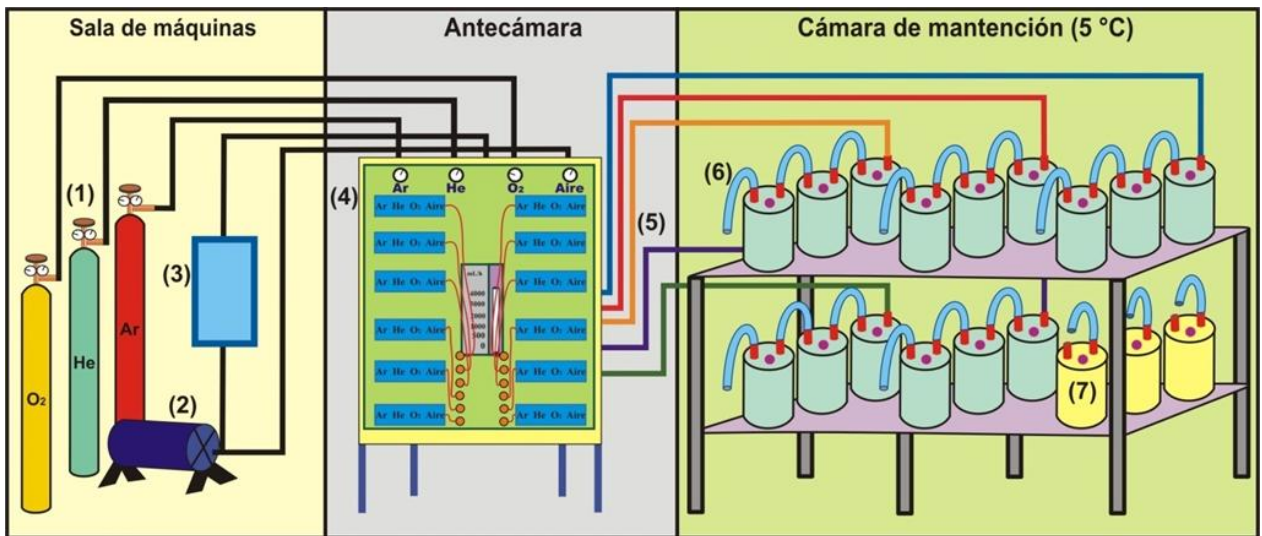


Figura 4.3. Esquema de la inyección de gases para hojas de rúcula tratadas con UV-C y atmósferas modificadas activas a 5 °C. (1): cilindro de gases. (2): compresor de aire. (3): unidad de módulos de membrana. (4): panel mezclador de gases. (5): mangueras de distribución de las diferentes mezclas gaseosas. (6): contenedores de 2 L, tratamientos. (7): Contenedores de 2 L, testigo.

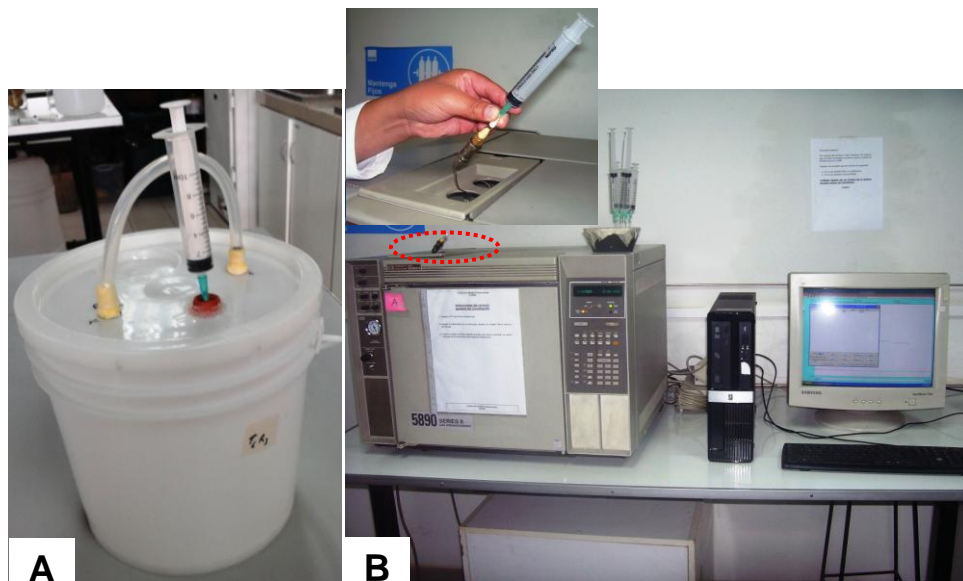


Figura 4.4. Medición de la tasa respiratoria mediante cromatógrafo de gases a 5 °C. (A) toma de muestra del contenedor plástico; (B) inyección de las muestras de gases en el cromatógrafo de gases.

2. Producción de etileno

Las muestras se tomaron siguiendo la metodología descrita para tasa respiratoria, pero empleando una jeringa plástica de 1 mL (BD Plastic, Brasil). Las muestras se inyectaron en un cromatógrafo de gases (Agilent Technologies 7820A, CG System, EE.UU.) provisto de un detector de ionización de llama y una columna Porapak QN 80/100 (1,20 m × 3,18 mm) (Norwalk, Connecticut, EE.UU.). La temperatura del inyector (FID), horno y detector fueron de 200, 50 y 200 °C, respectivamente. Se utilizó gas helio como gas transportador con un flujo de 55 mL·min⁻¹. Los resultados fueron expresados en $\mu\text{L C}_2\text{H}_4\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$. Esta medición se realizó a los 1, 4, 7 y 11 días a 5 °C.

3. Atmósfera modificada activa

La evolución de la concentración de gases CO₂ y O₂ al interior de las bolsas con rúcula se determinó con un analizador de gases manual (Checkpoint, PBI Dansensor, Ringsted, Dinamarca). Adicionalmente se determinó la concentración de N₂ con un CG (Hewlett Packard, 5890 A serie II, Palo Alto, CA, EE.UU.) y por diferencia se calculó la concentración del Ar y He al interior de los envases; la metodología se encuentra descrita en la Parte 1, Sección II.5, del Capítulo II. Esta medición se realizó a los 0, 2, 6 y 10 días de almacenamiento a 5 °C.

4. Análisis microbiológico

La metodología se encuentra detallada en la Parte 2, Sección II.5, del Capítulo II. En este estudio, además del recuento de *E. coli* y enterobacterias, también se determinaron los recuentos de aerobios mesófilos (RAM), de bacterias psicrótrofas y de hongos y levaduras (Cuadro 4.3).

Cuadro 4.3. Medios de cultivo y condiciones de incubación para diferentes recuentos de microorganismos.

Microorganismo	Medio de cultivo	Condiciones incubación	
		Temperatura (°C)	Tiempo (días)
Aerobios mesófilos (RAM)	Agar para Conteo en Placa (PCA)	37	2
Bacterias psicrótrofas	Agar para Conteo en placa (PCA)	5	7
Levaduras y hongos	Agar Papa Dextrosa (APD)	25	5 - 7

Los recuentos microbiológicos se expresaron como logaritmo de unidad formadora de colonia por gramo ($\log \text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$). Los parámetros microbiológicos se evaluaron de acuerdo al Reglamento Sanitario de los Alimentos del Ministerio de Salud (MINSAL, 2010). Estas mediciones se realizaron los días 0, 2, 6 y 10 de almacenamiento.

5. Determinación del color

El color de las hojas se midió siguiendo la metodología descrita en la Parte 3, Sección II.5, del Capítulo II. Esta medición se realizó en la caracterización inicial de tres muestras de la materia prima (10 hojas de cada muestra); y además, se realizó los días 0, 2 y 10 de almacenamiento, para lo cual se muestrearon 8 hojas por bolsa.

6. Determinación de la calidad sensorial

Se realizaron evaluaciones de calidad sensorial a partir de muestras obtenidas de las bolsas. Para estas evaluaciones se utilizó un método de análisis descriptivo-cuantitativo, aplicado a un panel de 12 jueces semi-entrenados, usando una pauta no estructurada de 0 a 15 cm (Anexo 1), donde se evaluó apariencia, intensidad de color (aspecto visual).

El grupo de 12 panelistas estuvo conformado por un 23% de hombres y 77% de mujeres; en edades comprendidas entre 18 y 25 años (46%), 25 y 34 años (42%) y mayores de 35 años (12%); quienes en su mayoría, participaron en todos los días de evaluación.

A cada juez se le proporcionó una bolsa por tratamiento, identificada con un código de tres dígitos seleccionada al azar; donde evaluaron la apariencia e intensidad de color. Se consideró una puntuación sobre 7,5 como media aceptable. Las evaluaciones se realizaron los días 0, 2, 6 y 10.

7. Determinaciones químicas

A) Concentración de azúcares

Las hojas de cada bolsa (tres bolsas por tratamiento y día de evaluación), se almacenaron a - 80 °C en un congelador (Sanyo, MDF-U33V, Japón), hasta su preparación. Las cantidades almacenadas fueron de 20 g por bolsa. Estas mediciones se realizaron los días 0, 2, 6 y 10 de almacenamiento.

- a) **Preparación de las muestras:** Se pesaron 20 g de las hojas de rúcula ($P1$) en una balanza analítica (Radwag, Hilden, Alemania). Seguidamente se extrajo el jugo triturando las hojas con un mortero y pilón de porcelana durante 2 minutos, se filtraron con 4 capas de gasa de 75x75 mm en un embudo plástico. El jugo obtenido se pesó ($P2$) y posteriormente se centrifugó a 4180 g_n por 45 minutos a 4 °C, en una centrífuga (Eppendorf Z326K, HermleLabortechnik GMBH Wehingen, Alemania); el sobrenadante obtenido se filtró en papel Whatman n° 2. El jugo filtrado se distribuyó en 3 tubos Eppendorf de 2 mL y se almacenó a -80°C hasta su análisis. Además, se determinó la jugosidad (jugosidad = $P2/P1$) y densidad del jugo que sirvió para expresar los datos en mg de azúcar por g de peso fresco.
- b) **Análisis de la concentración de azúcares:** El jugo se descongeló durante 2 h a 4 °C, se centrifugó a 21380 g_n durante 30 min a 4 °C. Luego, las muestras filtraron en

una membrana PVDF de 13 mm de diámetro y 0,22 micras (Millex, Barueri, São Paulo, Brazil) y luego en cartucho (SepPack, Waters, Milford, Massachussets, EE.UU.). Las muestras se transfirieron a viales de vidrio de 2 mL de capacidad (Obando-Ulloa *et al.*, 2009).

La concentración de azúcares se determinó en alícuotas de 50 μ L de jugo. Las muestras se analizaron en cromatógrafo de líquidos de alta resolución (CLAR) (Hitachi, Lachrom, L-7200, Tokio, Japón) equipado con detector de índice de refracción (Knauer, Berlín, Alemania) y con una columna Zorbax (Agilent technologies, 4,6x150 mm, 5 μ m, Alemania) a 25 °C, durante 20 min, usando como fase móvil una solución de acetonitrilo: agua desionizada (85:15 v/v) con un flujo de 1,5 mL·min⁻¹, a una presión de 125 bar (Obando-Ulloa *et al.*, 2009).

B) Contenido de fenoles totales (método de Folin-Ciocalteu)

Se preparó una solución hidroalcohólica MeOH: H₂O (1:1), siguiendo el método propuesto por Tawaha *et al.* (2007), con modificaciones. Para la obtención del extracto se pesó 1 g de hojas por repetición y se mezcló con 9 mL de solución hidroalcohólica, se trituró utilizando un homogenizador (Ultra Turrax, IKA, T 18 Basic, Alemania) a 4180 g_n por 2 min. La mezcla se centrifugó a 1000 g_n por 30 min a 4 °C, se recuperó el sobrenadante y filtró en un papel Whatman n° 2.

La concentración de fenoles totales se determinó mediante la adición del reactivo de Folin-Ciocalteu. Se midió la absorbancia de las muestras a 660 nm con un espectrofotómetro UV-Vis (T70 PG Instruments Ltd, Leicester, Reino Unido). Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de peso fresco (mg EAG·g⁻¹ p.f.).

C) Capacidad antioxidante

a) Preparación del extracto metanólico: La obtención del extracto se realizó según el método descrito por Martínez (2008), con modificaciones. Se pesó 1 g de hojas, se

trituro en un mortero y se aadió 4 mL de metanol al 50%. La mezcla se transfirió a un tubo falcon, se agitó en el vortex por 1 min, se centrifugó a 4180 g_n por 30 min a 4 °C, se recuperó el sobrenadante y transfirió a otro tubo falcon. Al precipitado se le aadió 2 mL de metanol (100%), se agitó en un vortex por 1 min, se centrifugó a 4180 g_n por 30 min a 4 °C y el sobrenadante obtenido se transfirió al tubo con el primer sobrenadante. Este extracto metanólico se vertió en tubo Eppendorf ámbar y se almacenó a -20 °C hasta su uso.

- b) Ensayo DPPH*:** La capacidad antioxidante de las hojas se evaluó según el método mencionado por Martínez (2008), con modificaciones. Este ensayo está basado en la disminución de la absorbancia que se produce por la reacción entre el radical DPPH* y los posibles compuestos antioxidantes que se encuentren en el extracto metanólico.

Una cantidad de 8,4 mg de DPPH* (radical comercial, Sigma, Saint Louis, Missouri, EE.UU.), se disolvió en 100 mL de metanol (100%), obteniendo una solución madre de DPPH*, a la cual se le midió la absorbancia (abs) a 515 nm obteniendo un promedio de 1,8 abs. Esta solución madre se diluyó con metanol (100%) hasta obtener absorbancia de 1,1 a la misma longitud de onda. En una cubeta se aadió 2850 µL de solución diluida de DPPH* y 150 µL de extracto metanólico a evaluar. La reacción se registró después de 3 h y 30 min a 25 °C, mediante el espectrofotómetro a 515 nm. Como blanco se empleó metanol (100%). Los resultados se expresaron como miligramos de Trolox por gramo de peso fresco (mg Trolox·g⁻¹ p. f.). Esta medición se realizó los días 0, 2, 6 y 10 de almacenamiento.

- c) Ensayo FRAP:** La capacidad antioxidante de las hojas se evaluó como la capacidad de reducir el Fe⁺³ a Fe⁺², según el método de Martínez (2008), 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 esta unido al Fe⁺³, pero adquiere un color azulado al reducirse de férrico a ferroso a bajo pH. La disolución FRAP empleada constó de 50 mL de tampón acetato 300 mM a pH 3,5, 5 mL de TPTZ (10 mM en 40 mM de HCl) y 5 mL de cloruro férrico 20 mM. En una cubeta se aadió

900 μL del reactivo FRAP, 80 μL de agua desionizada y 20 μL del extracto metanólico a evaluar, se llevó a incubación en baño maría entre 37 y 40°C por 1 h. El aumento de absorbancia se registró a 593 nm mediante el espectrofotómetro antes descrito. Los resultados se expresaron como miligramos de Trolox por gramo de peso fresco ($\text{mg Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$ p. f.). Esta medición se realizó los días 0, 2, 6 y 10 de almacenamiento.

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

IV.6. DISEÑO DE EXPERIMENTOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En este estudio se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con estructura factorial 2x2. Los factores evaluados correspondieron al factor dosis UV-C con 2 niveles (10 y 15 kJ·m⁻²) y el factor atmósfera con dos niveles (Ar y He), de esta combinación surgieron 4 tratamientos cada uno con tres repeticiones. La unidad experimental correspondió a una bolsa con 80 g de rúcula. Los residuos obtenidos a partir de los datos de las variables evaluadas se sometieron a una prueba de normalidad y homogeneidad de varianza. Luego de verificar los supuestos, se procedió a realizar un análisis de varianza (ANDEVA) con un 5% de significancia.

Cuando hubo interacción significativa entre los factores se aplicó una prueba de comparaciones de medias de Tukey ($\alpha \leq 5\%$) entre los tratamientos.

Cuando sólo hubo diferencias significativas en los niveles de al menos un factor, se realizó una prueba de comparación de medias de Tukey ($\alpha \leq 5\%$) entre los niveles de ese factor.

En este estudio, a la estructura factorial se adicionó un tratamiento testigo (sin UV-C y envasado en aire). Los datos obtenidos se evaluaron mediante un DCA con cinco tratamientos, realizándose un ANDEVA al 5% de significancia. Para aquellas variables en que se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,05$) se aplicó la prueba de comparación múltiple de Dunnet (testigo vs. el resto) a un nivel de significancia de 5%.

Los resultados se analizaron estadísticamente mediante el programa Minitab Release 16.1, software estadístico de acceso libre para Windows, disponible en: <http://www.minitab.com>.

IV.7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Tasa respiratoria

El día 1, se observó valores de 19,4 a 22,8 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹, sin diferencias significativas entre tratamientos (Figura 4.5). El día 11, se registraron diferencias significativas entre los factores dosis y atmósfera (Apéndice 3, Cuadro 3.1). La dosis 10 kJ·m⁻² presentó valores significativamente menores de 8,7 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹ a la dosis 15 kJ·m⁻² con 20,4 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹. Por otro lado, este mismo día, la atmósfera He presentó una tasa menor de 12,3 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹ comparado al Ar que obtuvo 16,8 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹. Además, el día 11, el testigo obtuvo una tasa de 14,4 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹ significativamente mayor que el tratamientos 10+He con 6,2 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹, y significativamente menor que el tratamiento 15+He con 22,4 mg CO₂·kg⁻¹·h⁻¹ (Apéndice 3, Cuadro 3.2).

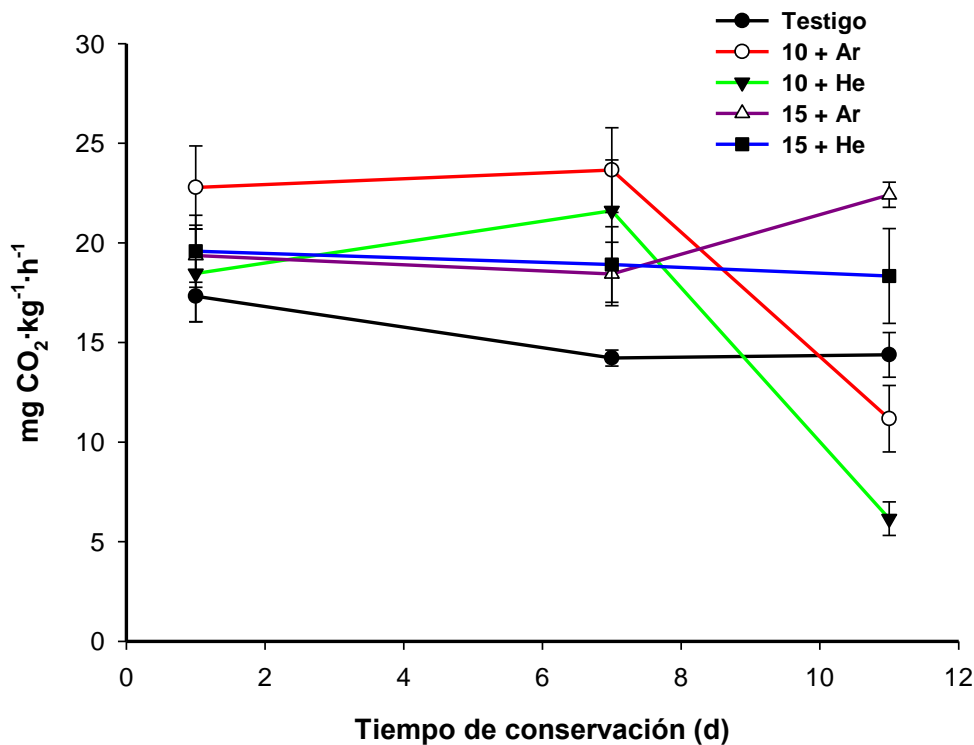


Figura 4.5. Evolución de la tasa respiratoria de hojas de rúcula tratadas con UV-C y atmósferas modificadas activas durante 10 días a 5 °C. Las barras indican el error estándar (n=3).

Según los antecedentes descritos, se puede observar que después de 11 días, tanto el factor dosis UV-C y el factor atmósfera, tuvieron un efecto significativo sobre la tasa respiratoria; siendo la mayor dosis de $15 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ y la atmósfera Ar los que presentaron una mayor tasa respiratoria. Estos resultados siguen la tendencia observada por Allende y Artés (2003), donde la UV-C, después de 6 días a $5 \text{ }^\circ\text{C}$ aumentó la tasa respiratoria de hoja de lechuga, respecto al testigo. Asimismo, Escalona *et al.* (2010), observaron que tiras de espinaca a $5 \text{ }^\circ\text{C}$, tratadas con UV-C, presentaron una mayor tasa respiratoria en comparación al testigo, durante 14 días de almacenamiento. Este aumento de la respiración por UV-C se debería al daño celular que altera la permeabilidad de la membrana, acelerando procesos biológicos, entre ellos la tasa respiratoria de los tejidos tratados (Erkan *et al.*, 2001).

El día 11 respecto al día 7, los tratamientos 10+Ar y 10+He mostraron una reducción de la tasa respiratoria, donde el tratamiento 10+He con $6,2 \text{ mg CO}_2\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ alcanzó una mayor disminución, comparado con el tratamiento 10+Ar con $11,2 \text{ mg CO}_2\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$. El He podría reducir la tasa respiratoria, en relación al Ar; probablemente debido a que posee un menor peso atómico, controlando mejor los procesos respiratorios (Gorny y Agar, 1998). En estudios realizados en espárragos, la combinación de Ar y He con O_2 redujo la tasa respiratoria, la pérdida de ácido ascórbico y el contenido de clorofila (Zhang *et al.*, 2008, citado por Artés-Hernández *et al.*, 2009). Por otro lado Magalhães *et al.* (2007), observaron que atmósferas de 75% He ó Ar combinados con 25% O_2 redujeron la tasa respiratoria de hojas de espinaca comparada con 25, 50 y 75 % O_2 combinado con N_2 a $15 \text{ }^\circ\text{C}$.

2. Producción de etileno

El día 1, el testigo presentó $0,93 \text{ } \mu\text{L C}_2\text{H}_4\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, valor significativamente mayor a los demás tratamientos con 0,62 a $0,71 \text{ } \mu\text{L C}_2\text{H}_4\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (Figura 4.6; Apéndice 3, Cuadro 3.3 y Cuadro 3.4). El día 11, la producción varió de 0,05 a $0,09 \text{ } \mu\text{L C}_2\text{H}_4\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ sin diferencias significativas entre tratamientos. Del día 1 al 11, hubo una disminución promedio de $0,5 \text{ } \mu\text{L C}_2\text{H}_4\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$. Char *et al.* (2012), en hojas de rúcula conservadas a

5 °C, obtuvieron el día de proceso valores promedio de $0,8 \mu\text{L C}_2\text{H}_4 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ y después de 8 días un promedio de $0,05 \mu\text{L C}_2\text{H}_4 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, sin diferencias significativas entre tratamientos.

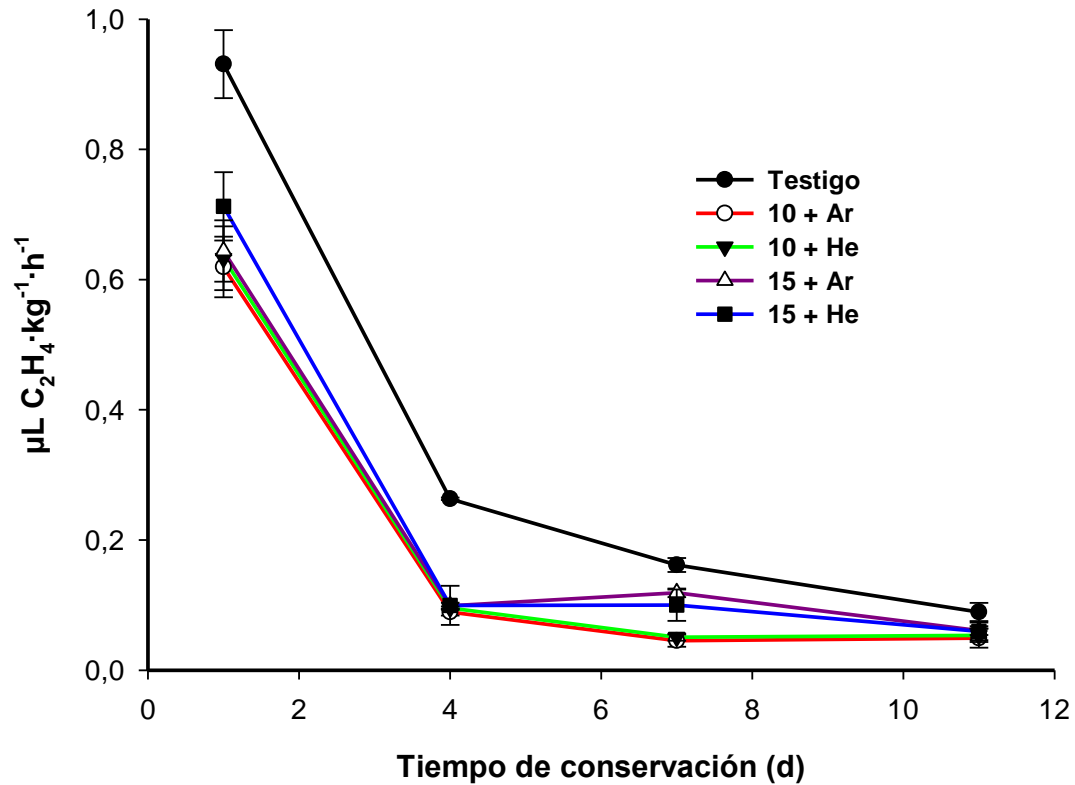


Figura 4.6. Evolución de la producción de etileno de hojas de rúcula tratadas con UV-C y atmósferas modificadas activas durante 10 días a 5 °C. Las barras indican el error estándar (n=3).

El día 7, la producción significativamente menor se obtuvo con la dosis de $10 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2}$ ($0,05 \mu\text{L C}_2\text{H}_4 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), mientras $15 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2}$ alcanzó $0,11 \mu\text{L C}_2\text{H}_4 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Los hortalizas al ser expuestas a la radiación UV-C, presentarían un mayor daño celular de sus tejidos; el que podría influir en la disminución de la producción de etileno (Erkan *et al.*, 2001).

Según Kader (2002a), reporta valores menores a $1 \mu\text{L C}_2\text{H}_4 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ para hortalizas de hojas a 5°C . Artés-Hernández *et al.* (2008), en tiras de espinaca a 5°C , tratadas con UV-C obtuvieron valores inferiores a $0,01 \mu\text{L C}_2\text{H}_4 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$.

La concentración de CO_2 en el interior de los contenedores plásticos con rúcula inmediatamente después de la inyección de los gases en promedio fue de 0,07 % en todos los tratamientos (Apéndice 3, Cuadro 3.41). Durante la conservación, 24 h después de la inyección de los gases, la concentración del CO_2 presentó valores de 1,0 a 1,3% en todos los tratamientos, excepto el testigo que mantuvo el valor inicial; tras 5 h, aumentaron entre 0,1 y 0,3% y el testigo aumentó en un promedio de 0,2%. La disminución de producción de etileno el día 4, se debería al aumento de la concentración de CO_2 , debido a su efecto inhibitorio de este sobre el etileno (Char *et al.*, 2012). Según Kader (2002a), atmósferas modificadas con bajo O_2 y alto CO_2 reducen la biosíntesis de etileno.

3. Atmósfera modificada activa

La concentración de CO_2 , en el tratamiento testigo aire se mantuvo constantes (0,5%) durante la conservación (Figura 4.7A). En los demás tratamientos el incremento de la concentración de CO_2 del día 2 hasta el final del periodo fue gradual, alcanzando un máximo entre 13 y 16%. El día 1, se observó diferencia significativa entre los niveles del factor dosis; la dosis $15 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2}$ obtuvo 0,4 % CO_2 y se diferenció de $10 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2}$ con 0,7 % (Apéndice 3, Cuadro 3.5). De igual modo, el día 10, la dosis $15 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2}$ presentó 13,6 % CO_2 , significativamente menor a $10 \text{ kJ} \cdot \text{m}^{-2}$ con 15,7 %.

El día 2, se encontró interacción significativa entre los factores; el tratamiento 15+He presentó 3,1%, significativamente menor a 15+Ar que obtuvo 4,0%; además, el tratamiento 15+He presentó 3,1% y se diferenció de 10+He que obtuvo 3,8% (Apéndice 3, Cuadro 3.6). También en este día, el testigo obtuvo 0,5 % CO_2 , significativamente menor a los demás tratamientos con 3,1 a 4,0 %. El día 10, el testigo obtuvo 0,6 %

menor y diferente a los demás tratamientos que mostraron concentraciones de 12,8 a 16,6 % (Apéndice 3, Cuadro 3.9).

Según los resultados obtenidos, las dosis más altas de UV-C aumentaron significativamente la concentración de CO₂. Estudios en hojas de lechuga en tiras a 5 °C, por Allende y Artés (2003), desde el día 2 al 9, obtuvieron una mayor concentración de CO₂ en la mayor dosis UV-C de 8,1 kJ·m⁻², comparado con 0,4 y 0,8 kJ·m⁻².

La concentración del O₂, en el tratamiento testigo aire se mantuvo constante en 21%, durante la conservación (Figura 4.7B). Sin embargo, los demás tratamientos disminuyeron gradualmente hasta el día 10, llegando a concentraciones entre 22,5 y 26,7%. El día 0 y 2 no se encontró diferencias significativas en la interacción de los factores, ni entre los niveles de éstos (Apéndice 3, Cuadro 3.8). Los días 6 y 10, las diferencias se manifestaron en los niveles del factor atmósfera. El día 6, la atmósfera Ar obtuvo 28,9 % O₂, significativamente menor al He que alcanzó 30,2%. El día 10, el Ar presentó una concentración significativamente menor de 22,6%, en relación al He que obtuvo 26,0%.

Además, el día 0 el testigo obtuvo 20,8 % diferente significativamente a los demás tratamientos que presentaron de 41,7 a 42,9 % (Apéndice 3, Cuadro 3.8). El día 10, el testigo obtuvo un valor significativamente menor de 20,3 % en relación a los demás tratamientos que obtuvieron de 22,5 a 26,7 %

Con los resultados obtenidos el día 6 y 10, se podría decir que el factor atmósfera tuvo efecto en el consumo de O₂, siendo el He quien redujo el consumo de O₂; resultados similares obtuvo Araneda (2012), en hojas de berros conservadas a 5 °C durante 13 días. El He y Ar a pesar de ser monoatómicos y gases inertes, se diferencian en el efecto fisiológico que causan en los tejidos vivos (Jamie y Saltveit, 2002).

La concentración del Ar y He (Figura 4.7C). En todos los tratamientos se inyectaron 54% de Ar y He, excepto en el tratamiento 15+He que se inyectó 52% de He. Durante la conservación, el Ar a las dos dosis de UV-C aumentó en 3%; mientras que He disminuyó en 1%. El hecho de que se presentó un ligero aumento del Ar, podría estar relacionado con una mayor disminución del O₂. Estos resultados son similares a los

obtenidos por Araneda (2012), en hojas de berros a 5 °C después de 13 días, que mostró una mayor reducción de He con respecto al Ar.

Allende *et al.* (2006), en lechuga picadas a 5 °C por 10 días, obtuvieron una mayor concentración de CO₂ de 6 % en aquellas muestras tratadas con UV-C, respecto al testigo sin tratar que aumentó en 3%. De igual forma en las muestras con UV-C la concentración de O₂ disminuyó a 5% y el testigo a 15%.

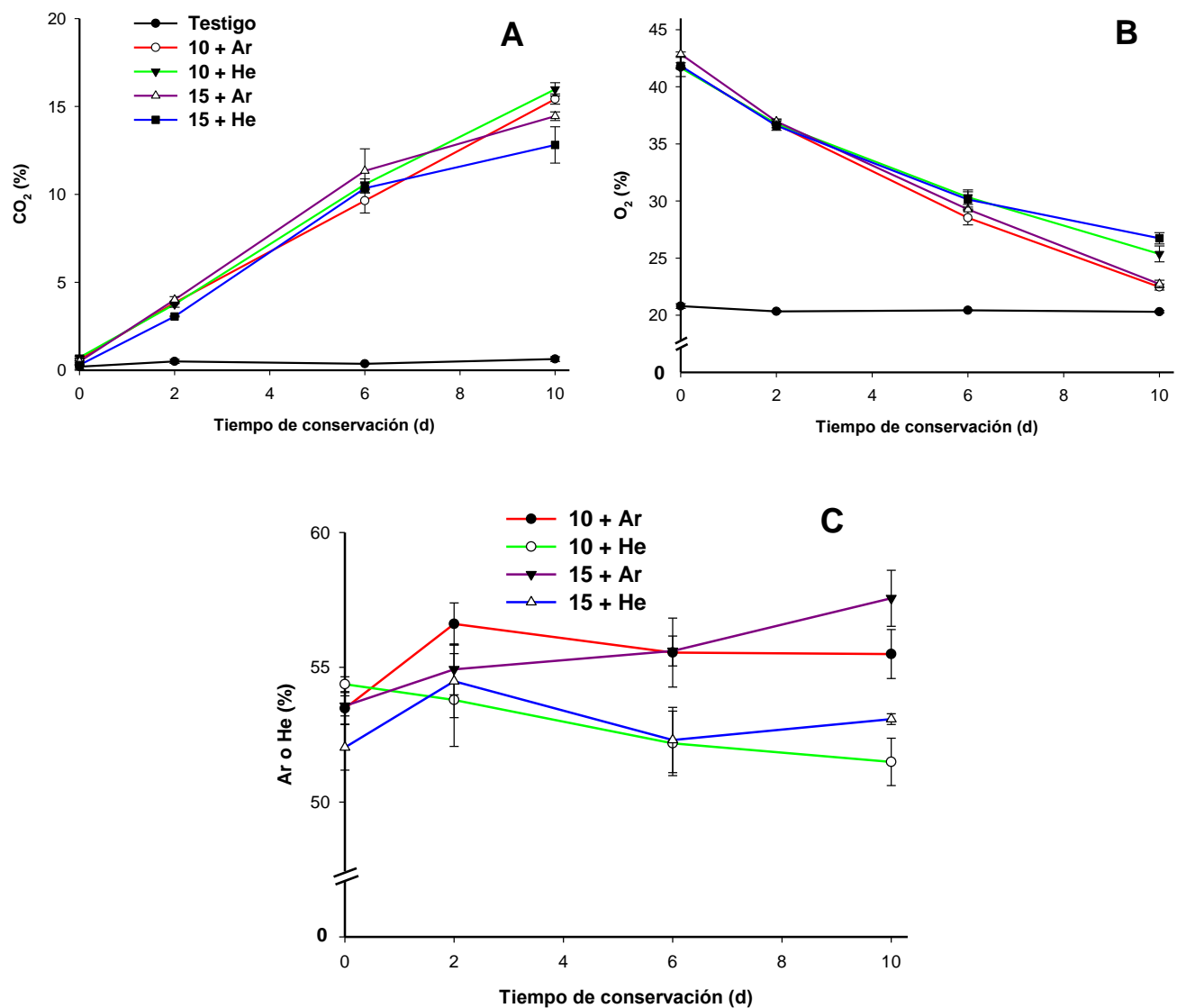


Figura 4.7. Evolución de los gases CO₂ (A), O₂ (B) y Ar ó He (C) de hojas de rúcula tratadas con UV-C y atmósferas modificadas activas durante 10 días a 5 °C. Las barras indican el error estándar (n=3).

4. Calidad microbiológica

A) Recuento de *E. coli*

La materia prima presentó un recuento inicial de 4,2 log UFC·g⁻¹ (Figura 4.8); después del proceso y aplicado los tratamientos disminuyó a recuentos de 3,0 a 3,8 log UFC·g⁻¹ sin diferencias entre tratamientos.

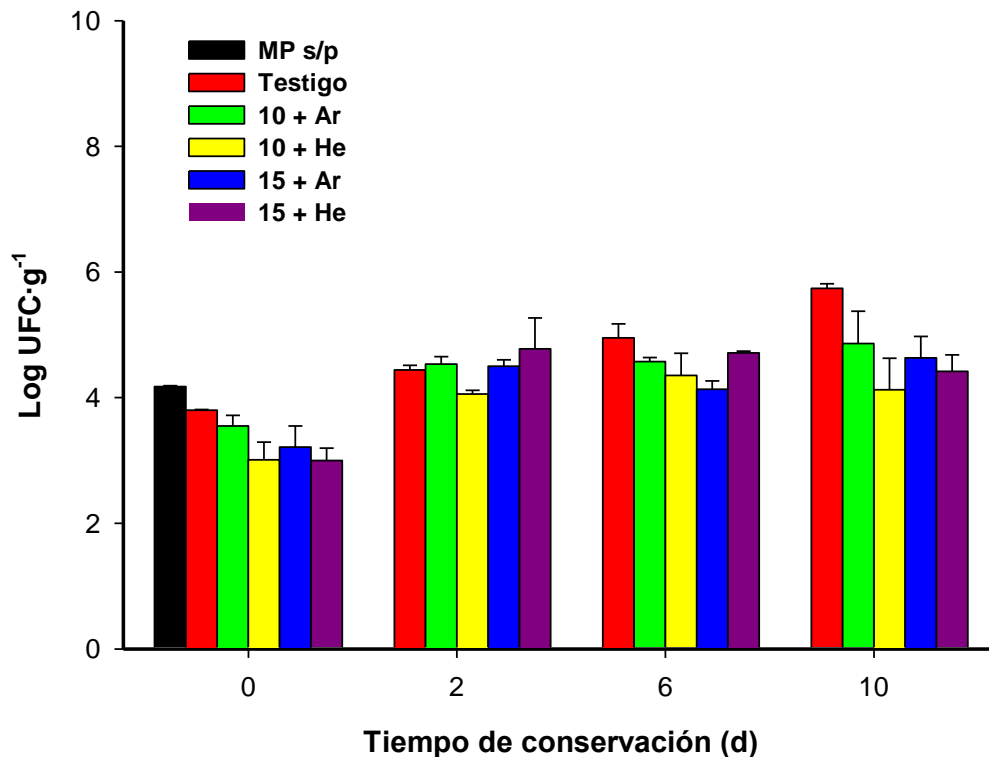


Figura 4.8. Recuento de *E. coli* de hojas de rúcula tratadas con UV-C y atmósferas modificadas activas durante 10 días a 5 °C. MP s/p: Materia prima sin procesar. Las barras indican el error estándar (n=3).

El día 2, el testigo no presentó diferencias significativas con los demás tratamientos, con recuentos de 4,1 a 4,8 log UFC·g⁻¹ (Apéndice 3, Cuadro 3.11). El día 6, el testigo presentó un recuento significativamente menor de 5 log UFC·g⁻¹, respecto al tratamiento 15+Ar que alcanzó 4,1 log UFC·g⁻¹. El día 10, el testigo presentó valores de 5,7 log UFC·g⁻¹ significativamente más altos a 10+He que obtuvo 4,1 log UFC·g⁻¹.

Las mínimas diferencias entre el testigo y los tratamientos UV-C durante los primeros días, se deberían a un menor efecto bactericida de UV-C, ya que posterior a su uso las hojas estuvieron expuestas a la luz, lo que podría haber favorecido una foto reparación de la *E. coli*. (Wright y Cairns, 2004; Sliney, 2001). A partir del día 6 se observaron diferencias significativas, que podrían explicarse por el incremento del CO₂ en las bolsas, que redujo el crecimiento microbiano, respecto al testigo en aire (Allende *et al.*, 2004).

Contrario a los resultados obtenidos en esta investigación, Allende y Artés (2003), en lechuga en tiras a 5 °C, reportaron una reducción significativa del recuento inicial de patógenos como *E. coli* al aplicar radiación UV-C y atmósfera modificada pasiva respecto al testigo sin UV-C y en aire. Al parecer la radiación UV-C induciría la síntesis de sustancias naturales antimicrobianas que limitarían el crecimiento microbiano y causan daño del ADN celular (Aguayo *et al.*, 2007; Rivera *et al.*, 2007).

B) Recuento de enterobacterias

La materia prima presentó un recuento inicial de 6,1 log UFC·g⁻¹ (Figura 4.9); después del proceso y aplicado los tratamientos no se observaron diferencias significativas, los recuentos disminuyeron a 5,0 y 5,9 log UFC·g⁻¹.

Del el día 0 al 10, hubo diferencias significativas entre los niveles del factor dosis (Apéndice 3, Cuadro 3.12). El día 0, la dosis 10 kJ·m⁻² presentó recuentos más bajos de 5,1 log UFC·g⁻¹, mientras 15 kJ·m⁻² obtuvo 5,8 log UFC·g⁻¹. El día 6, la dosis 10 kJ·m⁻² alcanzó recuentos de 5,8 log UFC·g⁻¹, significativamente menor que 15 kJ·m⁻² con 6,1 log UFC·g⁻¹. El día 10, la dosis 10 kJ·m⁻² obtuvo recuentos más bajo de 7,4 log UFC·g⁻¹, en comparación a 15 kJ·m⁻² con 7,7 log UFC·g⁻¹.

El día 2; el testigo presentó un recuento significativamente mayor de 6,6 log UFC·g⁻¹, respecto a los tratamientos 10+Ar y 10+He que alcanzaron 5,7 y 5,9 log UFC·g⁻¹, respectivamente (Apéndice 3, Cuadro 3.13). El día 10, el testigo mostró un recuento

más alto de $7,9 \log \text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$, mientras que los tratamientos 10+Ar y 10+He obtuvieron 7,3 y 7,5 $\log \text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente.

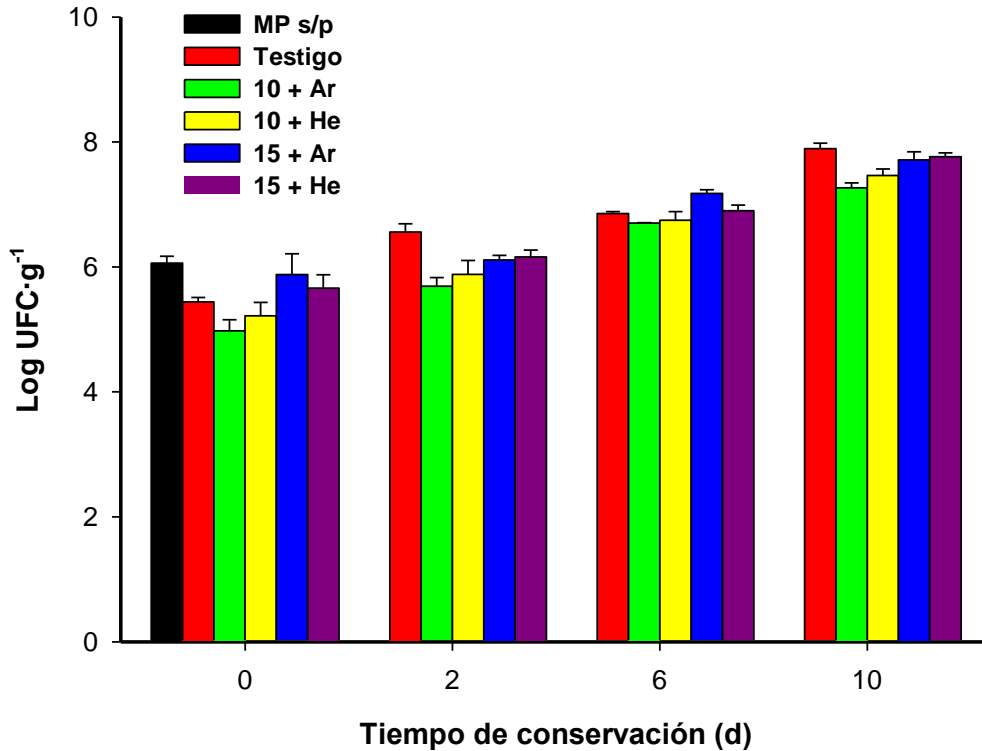


Figura 4.9. Recuento de enterobacterias de hojas de rúcula tratadas con UV-C y atmósferas modificadas activas durante 10 días a 5 °C. MP s/p: Materia prima sin procesar. Las barras indican el error estándar (n=3).

Según los resultados descritos, las reducciones iniciales de los recuentos entre los tratamientos y el testigo fueron mínimas; probablemente debido a las mismas causas descritas para *E. coli*. No obstante, durante la conservación el factor dosis UV-C mostró un efecto sobre el recuento de enterobacterias, donde la menor dosis presentó una mayor reducción, en comparación a la mayor dosis; esto podría deberse a que dosis UV-C iguales o mayores de $15 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$, al causar un mayor daño en los tejidos vegetales, liberan sustratos intercelulares que son aprovechados por los microorganismos para su desarrollo (Artés-Hernández *et al.*, 2009). Las dosis de 5 a $10 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ tienen mejor efecto sobre el recuento de enterobacterias sin afectar los tejidos

de las hortalizas (Yaun *et al.*, 2003). Allende y Artés (2003), en lechuga “Lollo rosso” en tiras obtuvieron que dosis de 4,1 a 8,2 kJ·m⁻² presentaron una mayor reducción del recuento de bacterias coliformes, respecto a dosis de 0,4 a 2,4 kJ·m⁻² y sin tratar, tras 10 días a 5 °C.

Artés-Hernández *et al.* (2008), en espinaca en tiras conservadas a 5 °C, después de 13 días, la dosis 11,4 kJ·m⁻² obtuvieron una mayor reducción respecto a las dosis de 4,5 y 7,9 kJ·m⁻². Tardón *et al.* (2011) en brotes de alfalfa a 5 °C, observaron que dosis más altas de 15 y 20 kJ·m⁻² redujeron los recuentos de enterobacterias.

C) Recuento de mesófilos aerobios (RAM)

La materia prima presentó un recuento inicial de 6,9 log UFC·g⁻¹ (Figura 4.10); después del proceso, el testigo disminuyó a 6,0 log UFC·g⁻¹, recuento significativamente mayor a los demás tratamientos que disminuyeron a recuentos de 5,8 a 5,9 log UFC·g⁻¹. Este mismo día, se presentó una diferencia significativa entre los niveles del factor dosis; la menor dosis 10 kJ·m⁻² obtuvo un recuento significativamente menor de 5,8 log UFC·g⁻¹, mientras la dosis 10 kJ·m⁻² alcanzó 5,9 log UFC·g⁻¹ (Apéndice 3, Cuadro 3.14 y Cuadro 3.15).

El día 6; el testigo obtuvo un recuento menor de 8,0 log UFC·g⁻¹ y se diferenció del tratamiento 15+He con 7,5 log UFC·g⁻¹. El día 10, el testigo presentó un recuento más bajo de 9,1 log UFC·g⁻¹, diferente a los demás tratamientos que alcanzaron de 8,5 a 8,7 log UFC·g⁻¹.

Según los resultados descritos, la radiación UV-C tuvo un efecto en la reducción inicial de RAM; estos resultados son similares a los reportados por Allende y Artés (2003), en lechuga en tiras conservadas a 5 °C, que obtuvieron una reducción inicial significativa del RAM, en comparación a las muestras sin tratar, siendo las dosis 4,1 y 8,2 kJ·m⁻² las que mostraron reducciones significativamente mayores. Escalona *et al.* (2010), en espinaca en tiras a 5 °C, observaron que con dosis 12 y 24 kJ·m⁻² se redujo los recuentos iniciales de 1 a 1,5 unidades log, respecto al testigo sin tratar.

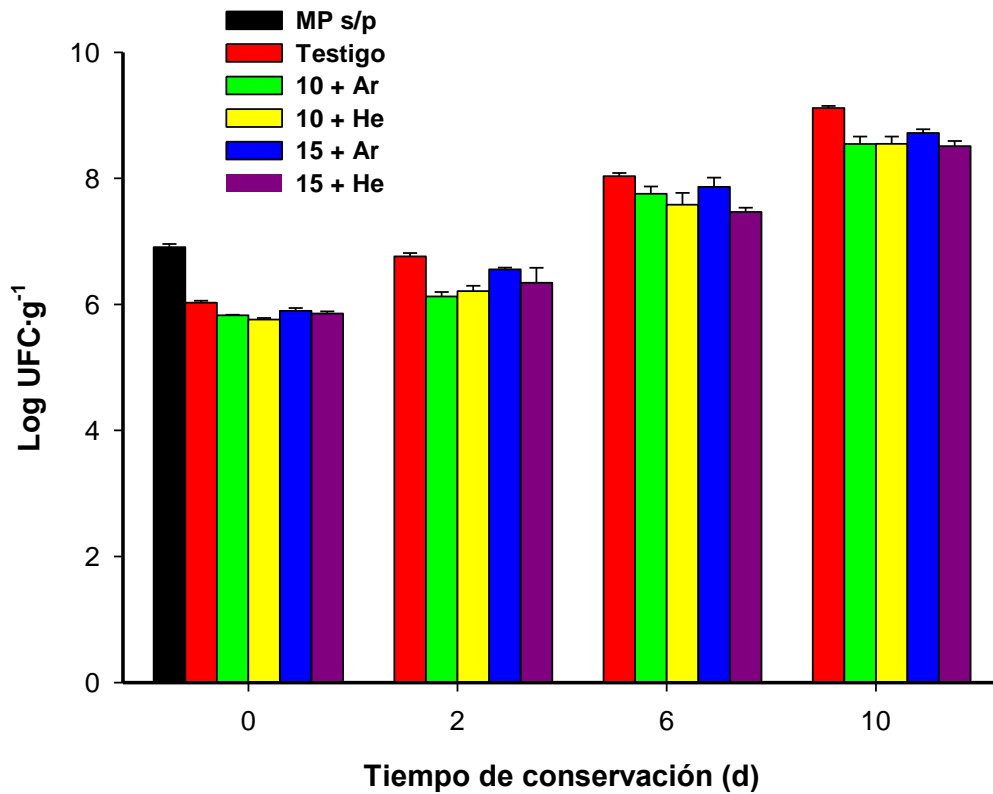


Figura 4.10. Recuento de mesófilos aerobios de hojas de rúcula tratadas con UV-C y atmósferas modificadas activas durante 10 días a 5 °C. MP s/p: materia prima sin procesar. Las barras indican el error estándar (n=3).

Artés-Hernández *et al.* (2008), en espinaca en tiras conservadas a 5 °C y tratadas con UV-C, obtuvieron una reducción inicial en el RAM de 0,3 a 1,0 unidades log, respecto al testigo. Allende *et al.* (2006), en hojas de lechuga a 5 °C, desde el día de proceso hasta el día 10, reportaron RAM menores en las muestras tratadas con UV-C, comparado con el testigo sin tratar.

D) Recuento de bacterias psicrótrofas

El recuento inicial de la materia prima fue de 7,1 log UFC·g⁻¹ (Figura 4.11); después del proceso, el testigo disminuyó a 6,2 log UFC·g⁻¹, significativamente mayor a los demás

tratamientos que disminuyeron a recuentos de 5,9 a 6,1 log UFC·g⁻¹. Este día de proceso, se obtuvo diferencias significativas entre los niveles del factor dosis, donde la dosis de 10 kJ·m⁻² presentó un recuento significativamente menor de 5,9 log UFC·g⁻¹, mientras que la dosis 15 kJ·m⁻² alcanzó 6,0 log UFC·g⁻¹ (Apéndice 3, Cuadro 3.16).

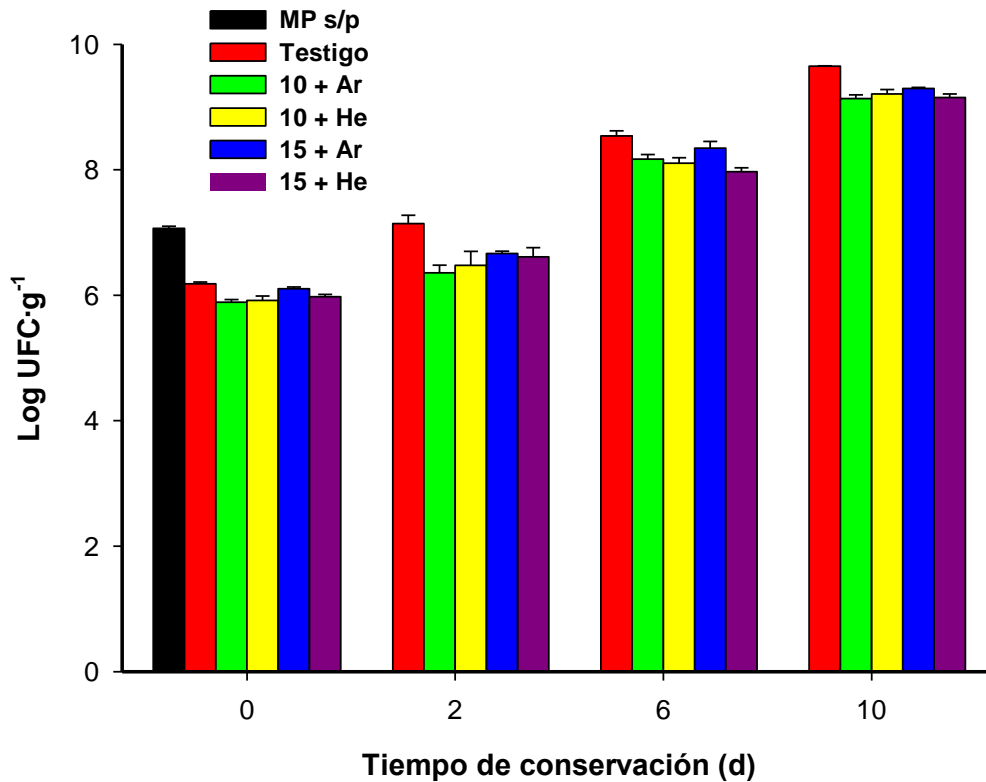


Figura 4.11. Recuento de bacterias psicrótrofas de hojas de rúcula tratadas con UV-C y atmósferas modificadas activas durante 10 días a 5 °C. MP s/p: materia prima sin procesar. Las barras indican el error estándar (n=3).

El día 6, se observó diferencias significativas entre los niveles del factor atmósfera. La atmósfera He mostró un recuento significativamente menor de 8,0 log UFC·g⁻¹, mientras el Ar obtuvo 8,3 log UFC·g⁻¹. Este mismo día, el testigo presentó 8,5 log UFC·g⁻¹ significativamente mayor a los demás tratamientos con 8,0 a 8,2 log UFC·g⁻¹; excepto al tratamiento 15+Ar que obtuvo 8,4 log UFC·g⁻¹. El día 10, el testigo mostró un recuento

mayor de $9,7 \log \text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$, diferente a los demás tratamientos que presentaron de 9,1 a $9,3 \log \text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$ (Apéndice 3, Cuadro 3.17).

Al igual que en el recuento de enterobacterias y RAM, la radiación UV-C tuvo efecto sobre el recuento inicial de bacterias psicrótrofas, donde la menor dosis de $10 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ mostró una mayor reducción. Resultados similares obtuvieron Allende y Artés (2003), en lechuga en tiras tratadas con UV-C a 5°C , reportando una reducción de los recuentos iniciales de psicrótrofos de 0,3 a 0,8 unidades log, en relación con el testigo. Escalona *et al.* (2010) en hojas de espinaca conservadas a 5°C obtuvieron un efecto significativo de la radiación UV-C sobre el recuento inicial, comparado con el testigo sin tratar; con la diferencia que durante la conservación estos recuentos se incrementaron y al final de 13 días, las hojas tratadas con radiación UV-C obtuvieron mayores recuentos que el testigo.

Char *et al.* (2012), en hojas de rúcula envasadas con gases no convencionales y aire, obtuvieron recuentos inferiores a los obtenidos en esta investigación, reportando recuentos iniciales de 4 a $5 \log \text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$, debido a la baja carga microbiana de la materia prima con la que trabajaron. Además, en este mismo estudio, después de 10 días las muestras enriquecidas con He y Ar presentaron recuentos menores de 4,1 a $3,8 \log \text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$, comparado al N_2 con $4,7 \log \text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$.

E) Recuento de hongos y levaduras

La materia prima presentó un recuento inicial de $3,2 \log \text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$ (Figura 4. 12), después de los lavados y la aplicación de tratamientos se redujo a valores de 2,2 y $2,9 \log \text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$ sin diferencias significativas entre tratamientos. Este mismo día, se observaron diferencias significativas en la interacción entre factores (Apéndice 3, Cuadro 3.18); siendo los niveles del factor dosis diferentes cuando se usó atmósfera Ar; el tratamiento 10+Ar presentó un recuento significativamente menor de $2,2 \log \text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$, mientras el tratamiento 15+Ar alcanzó $2,8 \log \text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$ (Apéndice 3, Cuadro 3.19).

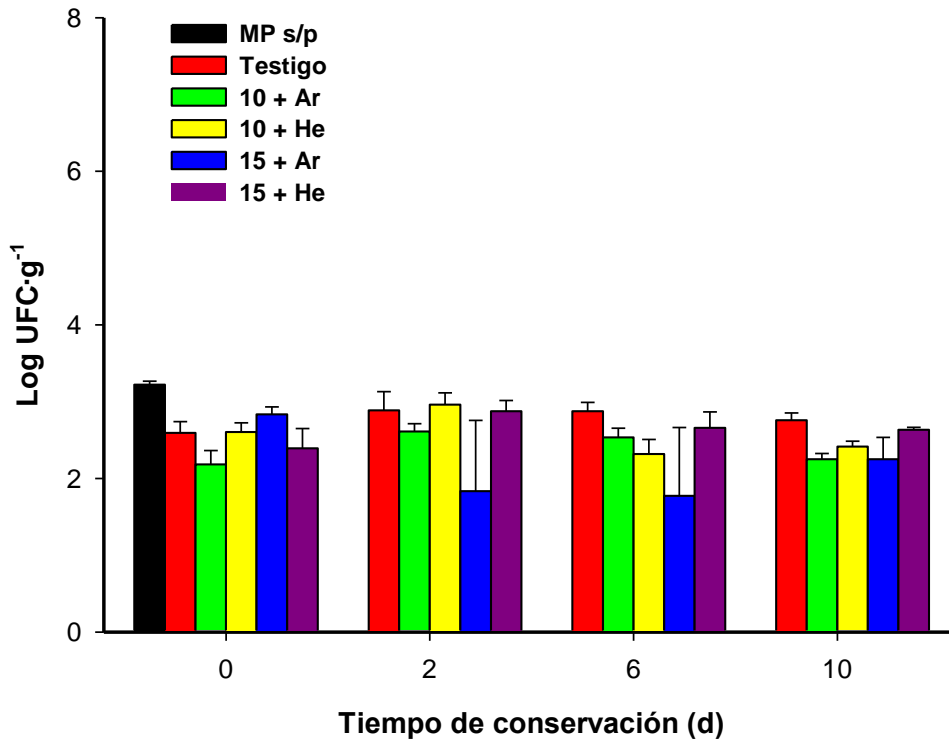


Figura 4.12. Recuento de hongos y levaduras de hojas de rúcula tratadas con UV-C y atmósferas modificadas activas durante 10 días a 5 °C. MP s/p: materia prima sin procesar. Las barras indican el error estándar (n=3).

Además, el día de proceso, el testigo no mostró diferencias significativas con los demás tratamientos, con recuentos de 2,2 a 2,8 log UFC·g⁻¹ (Apéndice 3, Cuadro 3.20). El día 6, el testigo y los demás tratamientos obtuvieron recuentos de 1,8 a 2,9 log UFC·g⁻¹, sin diferencias significativas. El día 10, los recuentos fueron de 2,3 a 2,8 log UFC·g⁻¹ sin diferencias significativas entre el testigo y los demás tratamientos.

Según los resultados descritos, solo el día del proceso se observó un efecto de la interacción entre los factores dosis y atmósfera sobre el recuento inicial de hongos y levaduras, esto se debería a la acción antimicrobiana de UV-C (Guerrero y Barbosa, 2004). Escalona *et al.* (2010), en hojas de espinaca a 5 °C, obtuvieron una reducción inicial significativa de 1,0 a 1,5 unidades log en las muestras tratadas con UV-C, en relación al testigo; después de 14 días, los recuentos oscilaron entre 3,2 y 3,6 log

UFC·g⁻¹ sin diferencias significativas entre tratamientos. Según Char *et al.* (2012), en hojas de rúcula envasadas con gases no convencionales a 5 °C, solo el día 1 obtuvieron recuentos de 1 a 2,7 log UFC·g⁻¹ sin diferencias significativas entre tratamientos.

Allende *et al.* (2006), en lechuga picadas conservadas a 5 °C, tratadas con UV-C y un testigo sin tratar, tanto al inicio como al final de 10 días, presentaron recuentos de hongos y levaduras sin diferencias significativas entre tratamientos.

El límite recomendado para los hongos y levaduras es de 5 log UFC·g⁻¹ para garantizar la calidad sensorial de hortalizas MPF (Debevere, 1996, citado por Allende *et al.*, 2006). Teniendo en cuenta estos valores, las hojas de rúcula utilizadas en esta investigación no superaron este límite máximo.

Según el MINSAL (2010), para que las hortalizas MPF sean consideradas microbiológicamente “aceptables”, deben tener RAM inferiores a 4,7 log UFC·g⁻¹ y de enterobacterias inferiores a 3,7 log UFC·g⁻¹. Con recuentos entre 4,7 y 5,7 log UFC·g⁻¹ de RAM y entre 3,7 y 4,7 log UFC·g⁻¹ de enterobacterias, las hortalizas MPF son consideradas “medianamente aceptables”. Las hojas utilizadas en esta investigación, superaron el límite “medianamente aceptable” desde el día de proceso, no siendo aptas para el consumo directo. Estos resultados podrían explicarse porque hortalizas de hojas sueltas como la rúcula, durante todo el tiempo de crecimiento en campo están expuestas a contaminación ambiental. En cambio hortalizas compactas como lechuga iceberg, sus hojas internas están protegidas (Martínez, 2008); otros factores que pueden afectar son las inadecuadas prácticas agrícolas, por ejemplo durante la fertilización, riego y cosecha. Por lo tanto, es necesario el abastecimiento con materia prima de alta calidad, teniendo en consideración que las operaciones realizadas a los productos MPF dañan sus tejidos y se favorece el crecimiento microbiano (Artés-Hernández *et al.*, 2009).

La radiación UV-C tuvo un efecto en los recuentos iniciales de enterobacterias, aerobios mesófilos y psicrótrofos; debido probablemente a que inhibe el crecimiento microbiano mediante la inducción a la formación de dímeros de pirimidina que alteran la hélice del

ADN, como consecuencia de ello las células pierden la capacidad de replicarse y reproducirse llevándoles hasta la muerte (Guerrero y Barbosa, 2004; Allende y Artés, 2003; Artés-Hernández *et al.*, 2009).

5. Determinación del color

A) Luminosidad (L)

En la Figura 4.13, se observó que la luminosidad, durante la conservación no presentó diferencias significativas en la interacción de factores, ni en los niveles de factores (Apéndice 3, Cuadro 3.21).

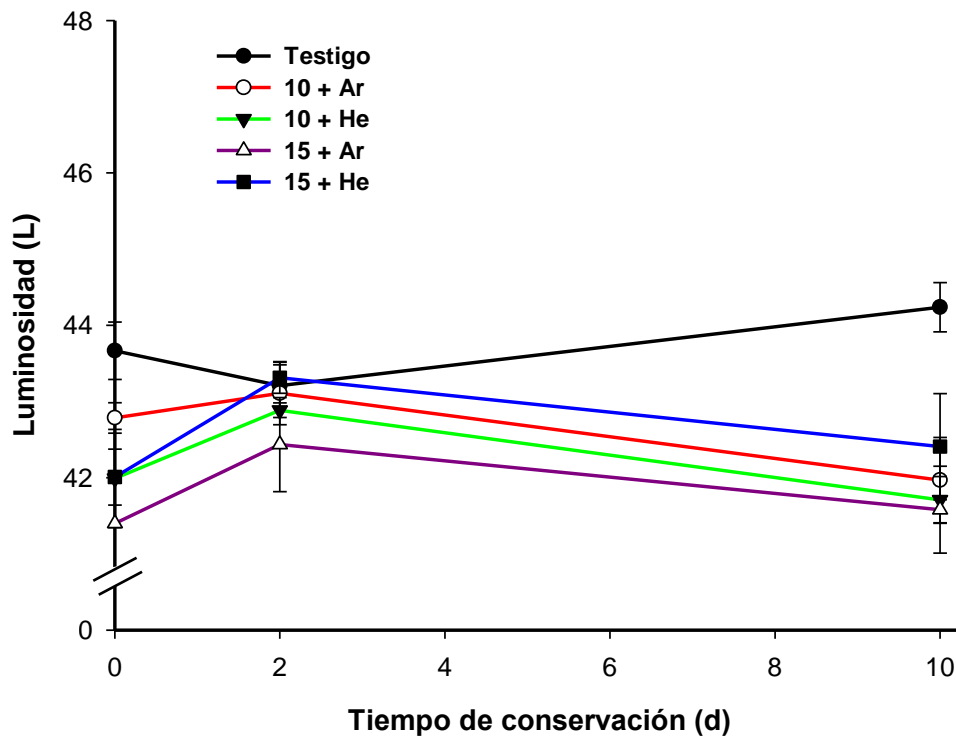


Figura 4.13. Evolución de la luminosidad de las hojas de rúcula tratadas con UV-C y atmósferas modificadas activas durante 10 días a 5 °C. Las barras indican el error estándar (n=3).

Al comparar el testigo con los demás tratamientos (Apéndice 3, Cuadro 3.22); el día 0, el testigo obtuvo 43,7, significativamente mayor al tratamiento 15+Ar que mostró 41,4. El día 2, el testigo no mostró diferencias significativas con los demás tratamientos, con valores de 42,4 a 43,3. El día 10, el testigo obtuvo el valor más alto de 44,2 y diferente con los demás tratamientos con 41,6 a 42,0; excepto a 15+He que alcanzó 42,4.

En base a los resultados presentados, en los dos primeros días, no hubo un efecto de los factores dosis y atmósferas, sobre la luminosidad. El efecto de estos factores se observó a partir del día 10, donde las hojas tratadas presentaron una menor luminosidad con respecto al testigo. Resultados similares obtuvieron Artés-Hernández *et al.* (2008), en hojas de espinaca, donde a partir del sexto día las muestras tratadas con UV-C presentaron una disminución significativa, en relación al testigo sin UV-C. Esto probablemente se debió al daño celular de las hojas causado por la radiación UV-C (Artés-Hernández *et al.*, 2008; Rivera *et al.*, 2007).

Por el contrario, Inestroza (2011), en hojas de rúcula conservadas a 5 °C en alto Ar, He, N₂ y N₂O combinado con 10 % O₂, durante 11 días no encontraron diferencias entre tratamientos. Tomás-Callejas *et al.* (2011), en acelgas en tiras a 5 °C y envasadas en O₂, He, N₂ y N₂O (100%) y aire, obtuvieron al inicio, una luminosidad de 43,2; estos valores se incrementaron después de 8 días, hasta valores de 46,4 a 47,4, sin diferencias entre tratamientos.

B) Saturación (C*)

En la Figura 4.14, se observa que la saturación, durante la conservación no presentó diferencias significativas en la interacción entre factores, así como, en los niveles de éstos (Apéndice 3, Cuadro 3.23). El día 0, varió entre 26,9 y 27,5 sin diferencias significativas entre tratamientos y el día 2 entre 27,4 y 28,0, también sin diferencias entre tratamientos (Apéndice 3, Cuadro 3.24). El día 10, el testigo presentó un valor de 28,7 significativamente mayor al tratamiento 15+Ar con 25,7.

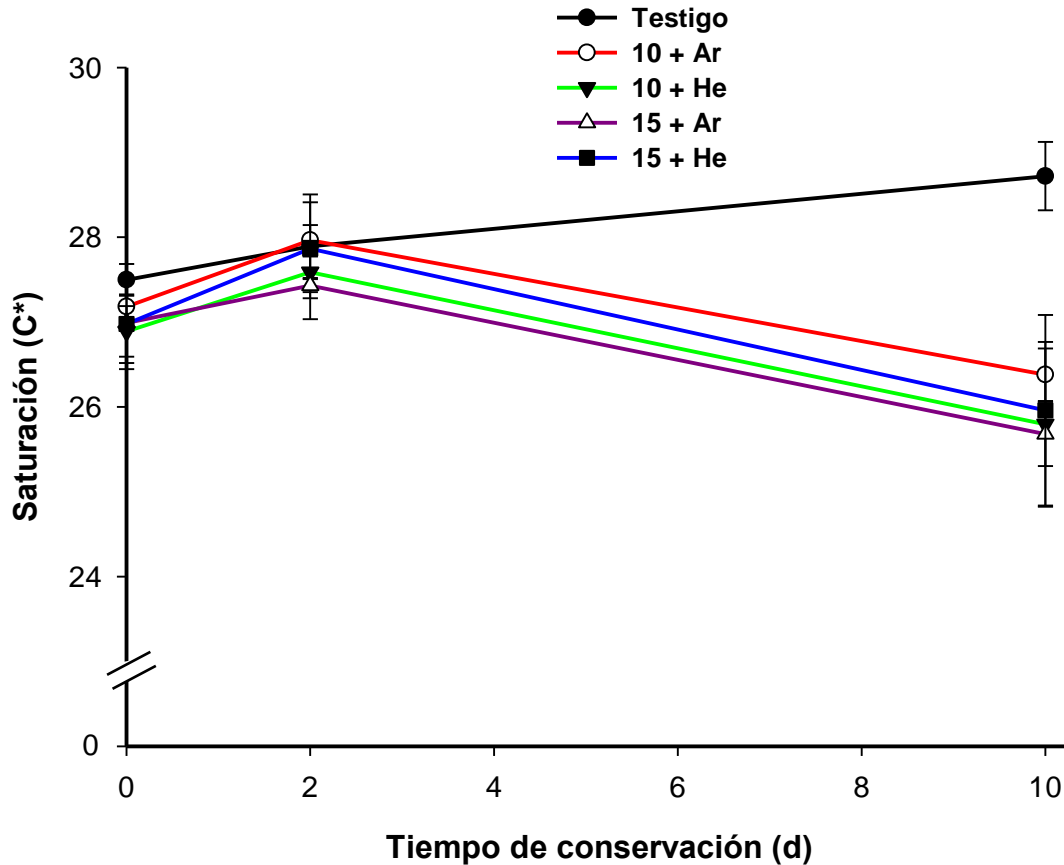


Figura 4.14. Evolución de la saturación de las hojas de rúcula tratadas con UV-C y atmósferas modificadas activas durante 10 días a 5 °C. Las barras indican el error estándar (n=3).

Los factores dosis y atmósfera no obtuvieron un efecto inicial sobre la saturación hasta el día 2. Después del día 10, se pudo observar un efecto de estos factores, ya que las hojas tratadas presentaron una disminución de la saturación con respecto al testigo; podría deberse al aumento de las concentraciones de CO_2 al interior de las bolsas (Char *et al.*, 2012). Artés-Hernández *et al.* (2008), en espinacas en tiras a 5 °C, tratadas con radiación UV-C y un testigo sin tratar; inicialmente no obtuvieron diferencias significativas entre tratamientos; a partir del día 10, reportaron una disminución significativa de la saturación en las muestras tratadas, respecto al testigo. Char *et al.* (2012), en hojas de rúcula conservadas a 5 °C, tras 7 días reportaron una disminución significativa de la saturación, donde en Ar y He se obtuvieron los valores más bajos comparado con N_2 .

C) Tono (H_{ab})

El día 0, varió entre 126,7 y 127,2, sin diferencias significativas entre tratamientos (Figura 4.15,). El día 2, también no se observaron diferencias entre tratamientos con valores de 126,2 a 126,6 (Apéndice 3, Cuadro 3.25 y Cuadro 3.26). El día 10, el testigo mostró un valor significativamente menor de 125,0, en comparación a los otros tratamientos con valores de 126,8 a 127,4.

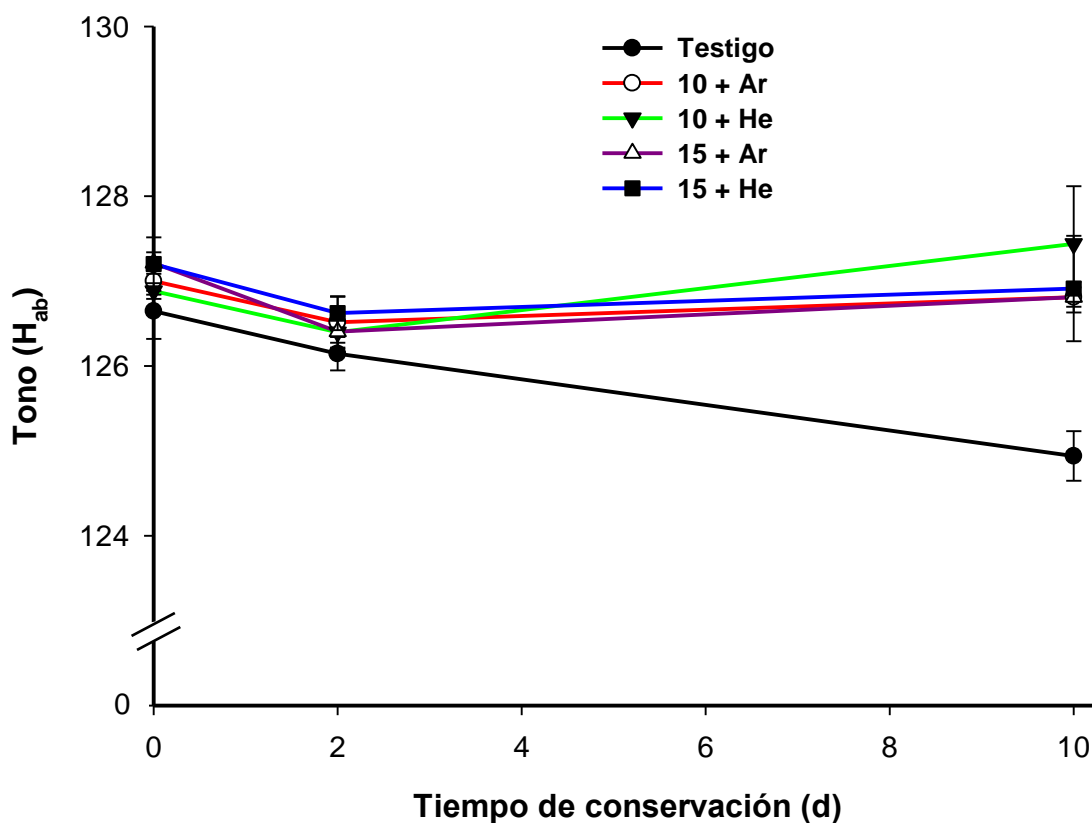


Figura 4.15. Evolución del tono de las hojas de rúcula tratadas con UV-C y atmósferas modificadas activas durante 10 días a 5 °C. Las barras indican el error estándar (n=3).

Los factores dosis y atmósfera no tuvieron efecto inicial sobre el tono hasta el día 2. El efecto de estos factores se observó en el día 10, donde las hojas tratadas presentaron mayores valores con respecto al testigo; debido probablemente a un aumento en la concentración de CO_2 y una reducción en el O_2 . Martínez (2008), en hojas de rúcula

almacenadas a 4 °C, del día 8 al 12 obtuvo aumento significativo en el tono, en aquellas muestras con 11 a 13% de CO₂ comparados con muestras envasadas en aire.

Por su lado Artés-Hernández *et al.* (2008), en hojas de espinaca conservadas a 5 °C, tratadas con radiación UV-C, durante 13 días no observaron diferencias significativas en los valores de tono, con respecto al testigo.

6. Calidad sensorial

A) Apariencia

Durante la conservación no se presentaron diferencias significativas en la interacción entre factores, ni en los niveles de éstos (Apéndice 3, Cuadro 3.27). De igual modo, durante el almacenamiento, el testigo no mostró diferencias significativas con los demás tratamientos (Apéndice 3, Cuadro 3.28). El día 0, se obtuvieron valores de 10,1 a 11,3; el día 6 de 9,5 a 10,8 y el día 10 una apariencia de 8,8 a 10,0 (Figura 4.16A). Estos resultados demostrarían que los factores dosis y atmósfera no tuvieron efecto significativo sobre la apariencia, al compararlos con el testigo. En esta investigación las concentraciones de O₂ fueron superiores a 21%, en todo el almacenamiento, por lo que no hubo una anaerobiosis, fenómeno que suele afectar la apariencia de hortalizas de hoja en atmósfera modificada (Inestroza, 2011).

Según Char *et al.* (2012), en hojas de rúcula conservadas a 5 °C, observaron que luego de 5 y 7 días atmósferas ricas en Ar y He obtuvieron mayores puntajes de apariencia respecto al N₂. Allende *et al.* (2004), en hojas de espinacas a 5 °C, tras 9 a 12 días observaron pérdida de integridad del tejido, debido a una combinación de O₂ extremadamente baja y altas concentraciones de CO₂ al interior de los envases.

Artés-Hernández *et al.* (2008), en hojas de espinaca a 5 °C, tratadas con UV-C, observaron una deshidratación significativa en las hojas con dosis de 7,9 y 11,4 kJ·m⁻², tras 13 días; debido probablemente al daño que causa la luz UV-C en la permeabilidad de la membrana celular de las hojas.

B) Intensidad de color

El día 0, se registró una intensidad de color de 12,0 a 12,8; el día 6, de 10,8 a 11,7 y el día 10, de 11,1 a 12,0; sin diferencias significativas entre tratamientos (Figura 4.16B; Apéndice 3, Cuadro 3.30). Durante la conservación no se presentaron diferencias significativas en la interacción entre factores; así como, en los niveles de factores (Apéndice 3, Cuadro 3.29).

En hojas de berros conservadas a 5 °C, envasadas en Ar, He, N₂, N₂O y aire, Araneda (2012), no obtuvo diferencias significativas en la intensidad de color. Las hojas de lechuga tratadas con UV-C a 5 °C, obtuvieron un aspecto visual similar al testigo sin tratar (Allende y Artés, 2003).

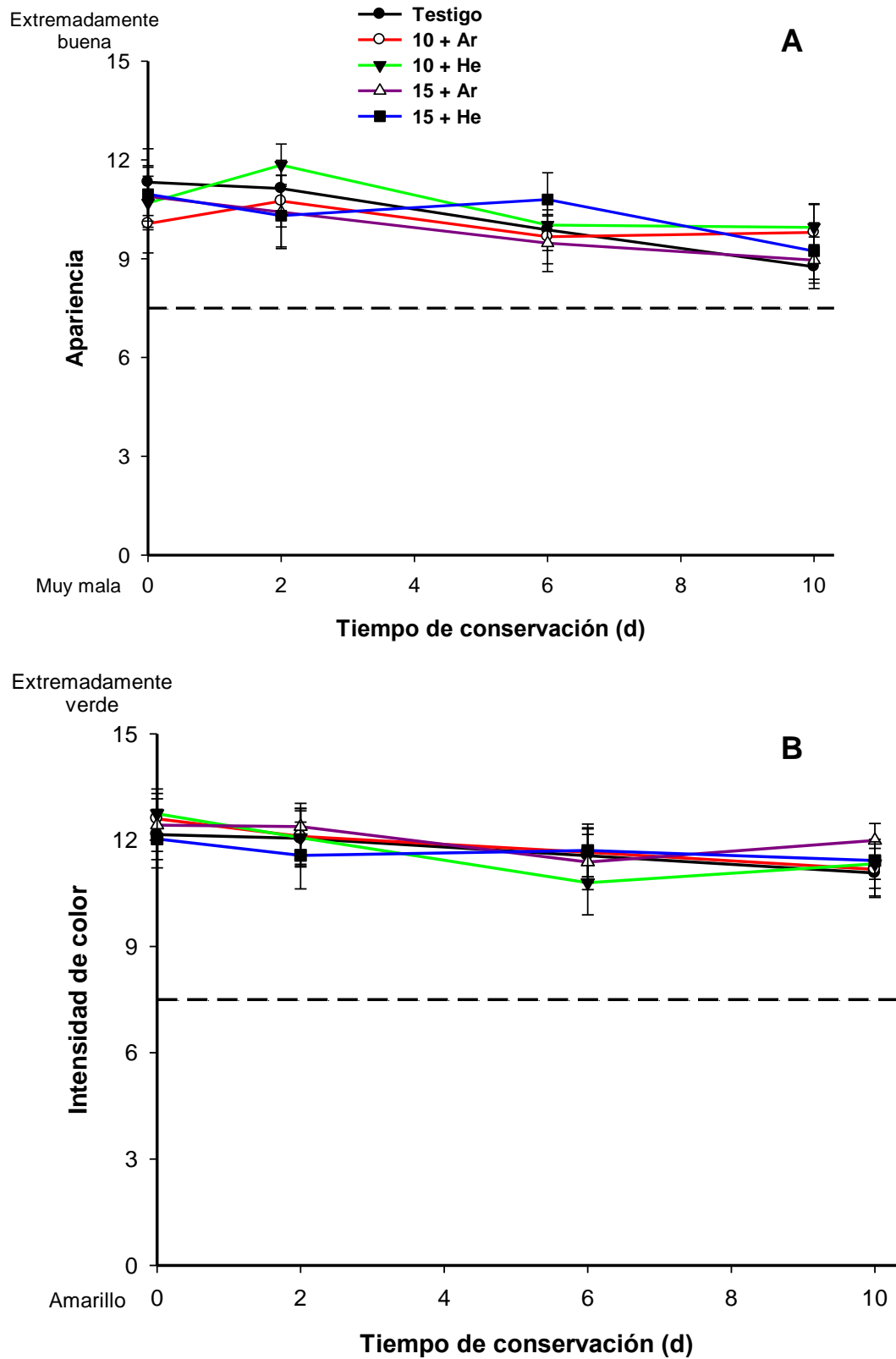


Figura 4.16. Evolución de la apariencia (A) e intensidad de color (B) de las hojas de rúcula tratadas con UV-C y atmósferas modificadas activas durante 10 días a 5 °C. Las barras indican el error estándar (n=3).

7. Determinaciones químicas

A) Concentración de glucosa

El día de proceso, el tratamiento 15+Ar presentó 11,0 mg·g⁻¹ p.f. de glucosa, significativamente superior a los demás tratamientos que obtuvieron de 8,9 a 10,4 mg·g⁻¹ p.f. (Figura 4.17). El día 2, se obtuvo diferencia significativa en el factor dosis; la dosis 10 kJ·m⁻² presentó una mayor concentración de glucosa de 12,4 mg·g⁻¹ p.f., mientras que la dosis 15 kJ·m⁻² de 10 mg·g⁻¹ p.f. (Apéndice 3, Cuadro 3.31). El día 6, se encontró una diferencia significativa en el factor atmósfera; He presentó un valor de 13,7 mg·g⁻¹ p.f. superior significativamente al Ar con 11,8 mg·g⁻¹ p.f.

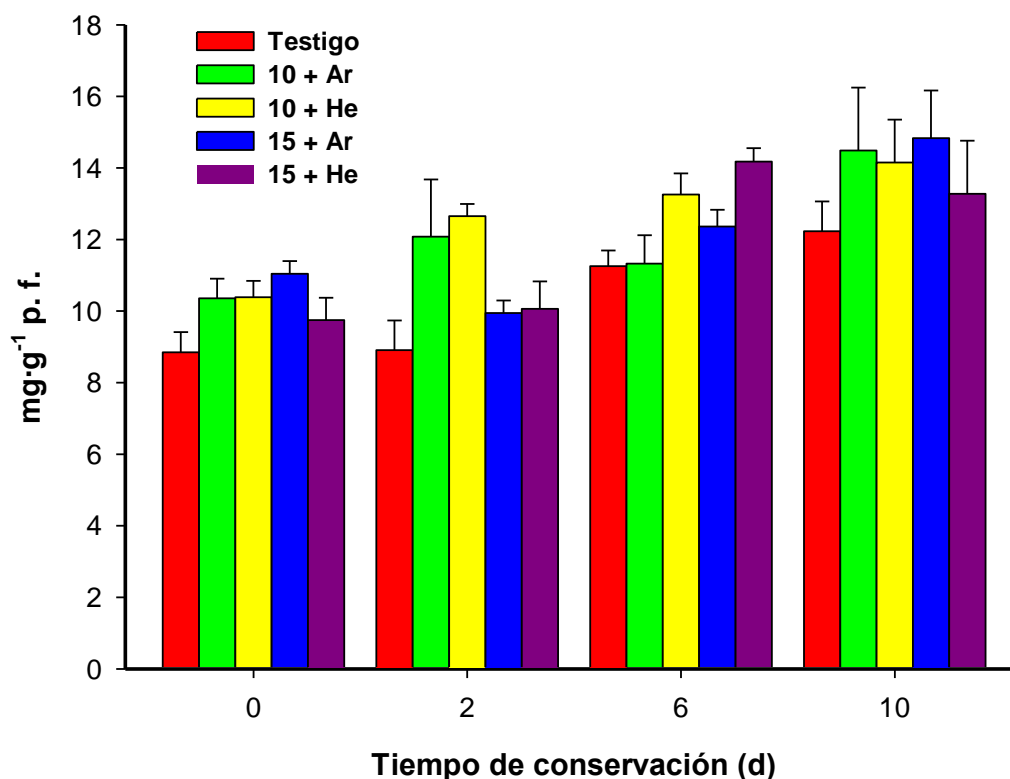


Figura 4.17. Evolución de la concentración de glucosa de las hojas de rúcula tratadas con UV-C y atmósferas modificadas activas durante 10 días a 5 °C. Las barras indican el error estándar (n=3).

Al comparar el testigo con los demás tratamientos (Apéndice 3, Cuadro 3.32); el día 2, el testigo obtuvo una concentración significativamente menor de $8,9 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ p.f. respecto al tratamiento 10+He con $12,7 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ p.f. El día 6, el testigo obtuvo la concentración más baja de $11,3 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ p.f., diferente a 15+He con $14,2 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ p.f. El día 10, varió entre $12,2$ y $14,8 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ p.f. sin diferencias significativas entre tratamientos.

Durante la conservación se observó un ligero aumento; probablemente debido al efecto de la radiación UV-C (Rivera *et al.*, 2007). Existen evidencias de aumento en la concentración de glucosa en hortalizas frescas por causa de UV-C (Cisneros-Zevallos, 2003). Estudios previos reportaron niveles significativamente altos de almidón en raíces de camotes tratados con UV-C, en comparación al testigo sin tratar (Stevens *et al.*, 1999, citado por Rivera *et al.*, 2007).

En turiones de espárragos y pepino en rodajas conservadas a $5 \text{ }^\circ\text{C}$, se observaron que atmósferas de 21% O_2 y 79% Ar ó N_2 , aumentaron la concentración de glucosa y sacarosa, con respecto al aire (Sidorkin *et al.*, 1989, citado por Artés-Hernández *et al.*, 2009).

Villatoro (2011), encontró que la glucosa, al ser producto de la fotosíntesis primaria, fue el azúcar predominante en hojas de rúcula, alcanzando valores de $6,24$ y $7,72 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ p.f. Este azúcar representó más del 70% de los hidratos de carbono solubles totales; la sacarosa, fructosa, arabinosa, galactosa y manosa se encontraron en concentraciones inferiores a $0,4 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ p.f.

B) Contenido de fenoles totales

El día de proceso se obtuvieron valores entre $1,5$ y $1,9 \text{ mg EAG}\cdot\text{g}^{-1}$ p.f. (Figura 4.18); sin diferencias entre tratamientos. Durante todo el almacenamiento no se presentaron diferencias significativas en la interacción entre factores, ni entre los niveles de factores (Apéndice 3, Cuadro 3.33). Además, en general no hubo diferencias significativas, entre el testigo y los demás tratamientos (Apéndice 3, Cuadro 3.34). El día 6, el contenido de fenoles totales varió de $1,5$ a $1,8 \text{ mg EAG}\cdot\text{g}^{-1}$ p.f. El día 10, alcanzó valores de $1,1$ a $1,7 \text{ mg EAG}\cdot\text{g}^{-1}$ p.f.

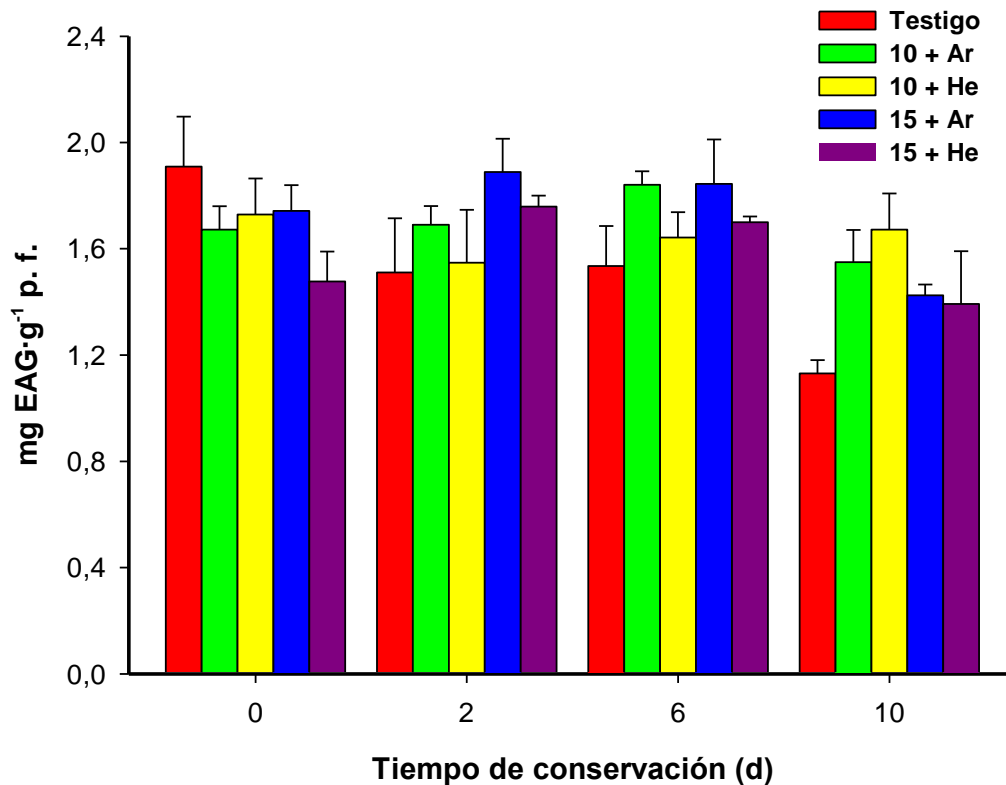


Figura 4.18. Evolución del contenido de fenoles totales de las hojas de rúcula tratadas con UV-C y atmósferas modificadas activas durante 10 días a 5 °C. Las barras indican el error estándar (n=3).

Al final de la conservación, en el testigo este contenido disminuyó en un 45 % en relación al inicio; mientras los demás tratamientos mantuvieron sus valores iniciales. Según Rivera *et al.* (2007), la radiación UV-C al ser aplicada en hortalizas frescas, tiene un efecto significativo sobre el aumento de contenidos de fenoles totales, al estimular la producción de fenilalanina amonio-*liasa* (PAL) y la formación de fitoalexinas (compuestos fenólicos). Ruiz *et al.* (2010), en hojas de repollo tratadas con UV-C observaron un aumento significativo del contenido de fenoles totales con respecto al testigo, tras 2 y 9 días a 6 °C.

Según Char *et al.* (2012), en hojas de rúcula tras 7 días a 5 °C envasadas en atmósferas de Ar, He y N₂ presentaron contenidos de fenoles significativamente superiores de 7,1 a 7,3 mg EAG·g⁻¹ p.f. Tomás-Callejas *et al.* (2011), en acelga

envasadas en atmósferas modificadas activa con O₂, N₂, He y N₂O, obtuvieron después de 8 días a 5 °C un incremento de 61 a 93% con respecto al valor inicial.

Martínez (2008), en estudios realizados en hojas de rúcula, almacenadas en atmósfera controlada con 5 % de O₂ y 5 ó 10 % de CO₂ a 4 °C, después de 14 días de almacenamiento, obtuvo valores entre 1,38 y 1,52 mg ácido clorogénico (AC)·g⁻¹ p.f. significativamente superiores al aire con 0,6 mg AC·g⁻¹ p.f.

Artés-Hernández *et al.* (2008), observaron que hojas de espinaca conservadas a 5 °C, tratadas con UV-C presentaron valores iniciales de 2,4 y 2,8 mg AC·g⁻¹ p.f.; a partir del día 10, estos valores disminuyeron a 1,9 y 2,2 mg AC·g⁻¹ p.f.

Según Villatoro (2011), los compuestos fenólicos más abundantes identificados en hojas de rúcula fueron los compuestos de la clase de los flavonoides como la quercetina-3-β-glucósido (isoquercetina) y rutina. Otros compuestos fenólicos identificados en menor cantidad fueron la quercetina y myricetina, de la clase de flavonoles; el ácido ferúlico y ácido cumárico, de la clase de ácidos fenólicos.

C) Capacidad antioxidante

a) Ensayo DPPH*: El día de proceso, se obtuvieron valores de 0,5 a 0,6 mg Trolox·g⁻¹ p.f., sin diferencias significativas entre el testigo y los demás tratamientos (Figura 4.19A; Apéndice 3, Cuadro 3.36). Este mismo día, se observaron diferencias significativas entre los niveles del factor dosis, donde 15 kJ·m⁻² presentó un valor mayor de 0,7 mg Trolox·g⁻¹ p.f., mientras que 10 kJ·m⁻² obtuvo 0,5 mg Trolox·g⁻¹ p.f. (Apéndice 3, Cuadro 3.35).

El día 6, el testigo obtuvo una capacidad antioxidante significativamente superior de 0,8 mg Trolox·g⁻¹ p.f., respecto a los demás tratamientos que alcanzaron de 0,5 a 0,6 mg Trolox·g⁻¹ p.f. El día 10, el testigo presentó 0,8 mg Trolox·g⁻¹ p.f., significativamente superior a los demás tratamientos que promediaron 0,5 mg Trolox·g⁻¹ p.f.

Después del día 6, los factores dosis y atmósfera tuvieron efecto significativo sobre la capacidad antioxidante, con valores menores que el testigo. Esta respuesta podría deberse a que las hojas tratadas con UV-C y procesadas, sufren de estrés oxidativo, por daños en su membrana celular que alteran el contenido de compuestos antioxidantes, lo que conlleva a cambios de la actividad antioxidante total (Rivera *et al.*, 2007; Artés-Hernández *et al.*, 2008). Artés-Hernández *et al.* (2008), en hojas de espinaca almacenadas a 5 °C, envasados en atmósfera modificada, tratadas con UV-C y un testigo sin tratar, encontraron un valor inicial de 7,4 a 8,8 mg Eq ácido ascórbico (EAA)·g⁻¹, sin diferencias significativas entre tratamientos. En este mismo estudio, la tendencia general en el tiempo fue una disminución; después de 13 días, las muestras tratadas presentaron valores significativamente menores, respecto al testigo.

Según Costa *et al.* (2006), en floretes de brócoli, encontraron que la capacidad antioxidante en dosis de 10 KJ·m⁻² se mantuvo constante hasta el día 6 a 20 °C, con respecto al testigo sin UV-C que presentó una disminución significativa el día 4 y 6. Ruiz *et al.* (2010), en hojas de repollo tratadas con UV-C, obtuvo una actividad antioxidante significativamente mayor, respecto al testigo sin UV-C, después de 2 y 9 días a 6 °C.

b) Ensayo FRAP: El día de proceso, se obtuvieron valores de 1,1 a 1,2 mg Trolox·g⁻¹ p.f., sin diferencias significativas entre tratamientos (Figura 4.19B). El día 2 y 10, se observaron diferencias significativas entre los niveles del factor dosis (Apéndice 3, Cuadro 3.37). El día 2, la dosis 15 kJ·m⁻² presentó el mayor valor de 1,11 mg Trolox·g⁻¹ p.f., mientras 10 kJ·m⁻² obtuvo 1,08 mg Trolox·g⁻¹ p.f. El día 10, la dosis 10 kJ·m⁻² presentó un valor significativamente mayor de 1,0 mg Trolox·g⁻¹ p.f., comparado con la dosis 15 kJ·m⁻² que alcanzó 0,9 mg Trolox·g⁻¹ p.f.

El día 2, el testigo presentó un valor significativamente menor de 1,1 mg Trolox·g⁻¹ p.f., mientras el tratamiento 15+Ar obtuvo 1,3 mg Trolox·g⁻¹ p.f. (Apéndice 3, Cuadro 3.38). El día 6, la capacidad antioxidante fue de 1,0 a 1,1 mg Trolox·g⁻¹ p.f. sin

diferencias significativas entre tratamientos. Para el día 10, se obtuvieron valores de 0,8 a 1,0 mg Trolox·g⁻¹ p.f., sin diferencias significativas.

Se observó una tendencia decreciente en el tiempo respecto al inicio, lo que se debería a la acción de la radiación UV-C, al estimular la formación radicales libres de oxígeno. Estos radicales comenzarían un proceso destructivo de los compuestos antioxidantes del producto; lo que influiría directamente en la reducción de la actividad antioxidante (Pokorny, 2005).

Costa *et al.* (2006), demostró que la radiación UV-C aplicados en floretes de brócoli, aumentó la capacidad antioxidante, el contenido fenoles totales y flavonoides, en comparación al testigo sin UV-C, tras 4 y 6 días a 20 °C.

Char *et al.* (2012), en hojas de rúcula conservados a 5 °C, encontraron que después de 7 días atmósferas ricas en He y N₂ mostraron un aumento significativo en su capacidad antioxidante del 50% respecto al día 1, mientras que los demás tratamientos mantuvieron sus cantidades iniciales. Esta respuesta podría deberse a que la actividad antioxidante se ve afectada significativamente por el procesamiento y el almacenamiento.

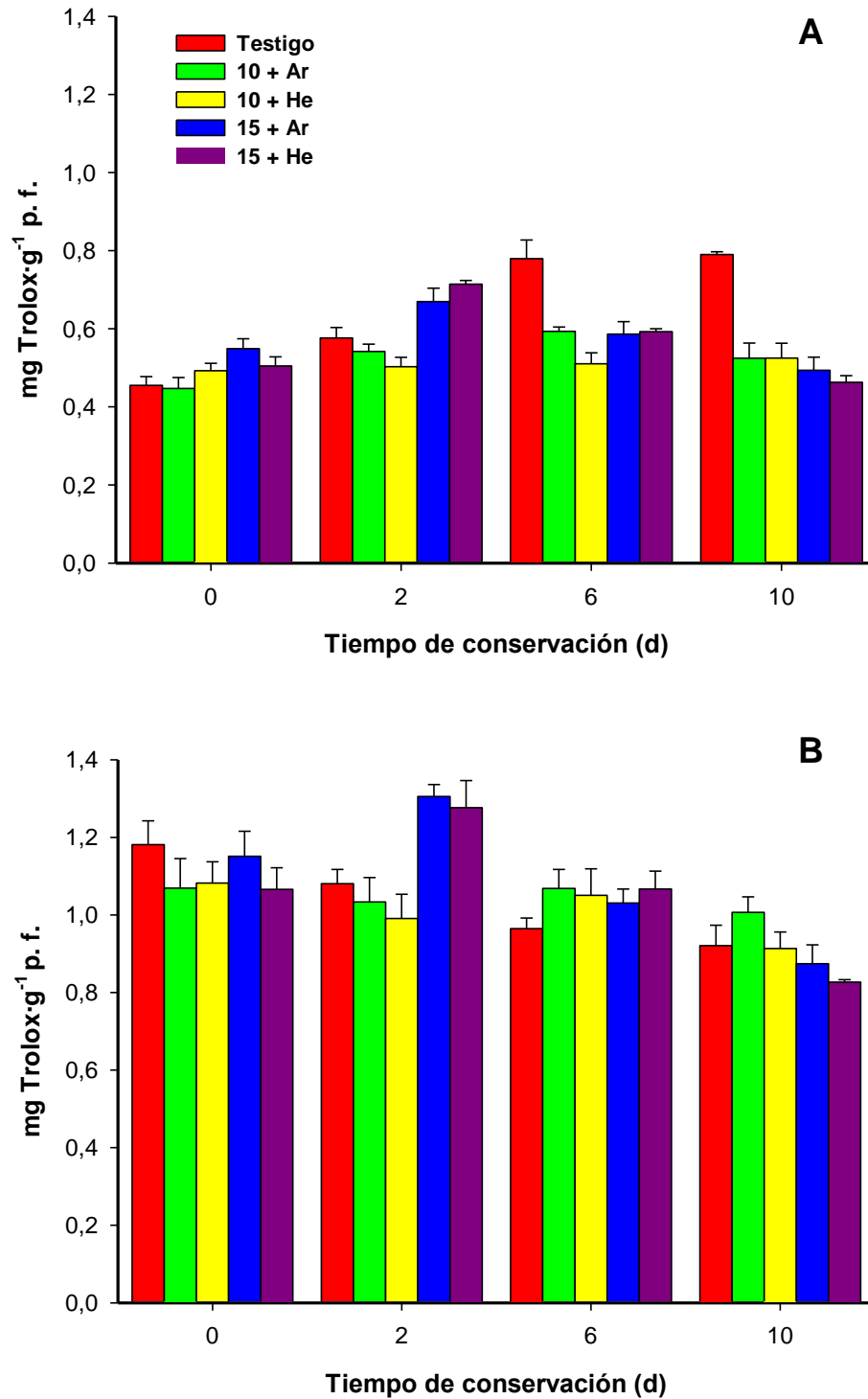


Figura 4.19. Evolución de la capacidad antioxidante mediante ensayo DPPH* (A) y ensayo FRAP (B) de las hojas de rúcula tratadas con UV-C y atmósferas modificadas activas durante 10 días a 5 °C. Las barras indican el error estándar (n=3).

El ensayo DPPH*, mide la captación de este radical a través de la disminución de la absorbancia a 515 nm, que se produce por reducción de posibles antioxidantes presentes en el extracto; mientras el ensayo FRAP mide la capacidad de reducir el Fe⁺³ a Fe⁺² (Pokorny, 2005; Pérez y Saura, 2007).

En los ensayos tanto DPPH* y FRAP, en general se puede observar que durante los dos primeros días de almacenamiento hubo una tendencia al aumento de la capacidad antioxidante, especialmente en las dosis de 15 kJ·m⁻². Sin embargo, después de 6 días este parámetro disminuyó, excepto en el testigo del ensayo DPPH*; estos resultados podrían ser explicados debido a las pérdidas de compuesto antioxidantes durante la conservación (Martínez, 2008; Char *et al.*, 2012).

Al comparar los resultados de ambos ensayos, durante la conservación, se observó que con el ensayo DPPH* se obtuvieron menores valores de capacidad antioxidante de 0,5 a 0,8 mg Trolox·g⁻¹ p.f., respecto al FRAP con 0,9 a 1,3 mg Trolox·g⁻¹ p.f. Resultados similares obtuvo Martínez *et al.* (2006), en hojas de rúcula almacenadas a 4 °C, al sexto día encontraron que en DPPH* obtuvo menores valores de 0,40 a 0,56 mg Trolox·g⁻¹ p.f., comparado con FRAP que alcanzó de 0,88 a 1,05 mg Trolox·g⁻¹ p.f.

IV.8. CONCLUSIONES

La radiación UV-C combinada con atmósferas enriquecidas en Ar y He, aplicadas en hojas de rúcula conservadas a 5 °C, no afectó la tasa respiratoria y disminuyó la producción de etileno.

La radiación UV-C redujo los recuentos iniciales de la mayoría de microorganismos estudiados, en hojas de rúcula conservadas a 5 °C.

La radiación UV-C combinada con atmósferas enriquecidas con Ar y He, no tuvo un efecto significativo sobre el color y la calidad sensorial. Además, aumentó la concentración de glucosa, mantuvo el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante de las hojas de rúcula durante la conservación a 5 °C.

BIBLIOGRAFÍA

- Asociación Española de Frutas y Hortalizas Lavadas. 2010. Actualidad: Las jornadas de fruit attraction se amplían a la IV gama. Disponible en: http://www.afhorla.com/noticias_ver.php?noticia=17. Leído el 18 de octubre de 2012.
- Aguayo, E., V.H. Escalona, P. Gómez, F. Artés - Hernández y F. Artés. 2007. Técnicas emergentes y sostenibles para la desinfección de frutas y hortalizas mínimamente procesadas. 17° Symposium Internacional, Tecnologías y sanidad de las frutas y hortalizas en postcosecha. PHYTOMA España N° 189. 138 – 142.
- Allende, A., E. Padilla, F. Artés-Hernández and F. Artés. 2002. Changes in microbial and sensory quality of fresh processed UV-C treated 'Lollo Rosso' lettuce. *Acta Horticultural* 628: 753 – 760.
- Allende, A. and F. Artés. 2003. Combined ultraviolet-C and modified atmosphere packaging treatments for reducing microbial growth of fresh processed lettuce. *Food Science Technology* 36: 739 – 746.
- Allende, A., Y. Luo, J. McEvoy, F. Artés and C. Wang. 2004. Microbial and quality changes in minimally processed baby spinach leaves stored under super atmospheric oxygen and modified atmosphere conditions. *Postharvest Biology and Technology* 33: 51 – 59.
- Allende, A., J.L. McEvoy, Y. Luo, F. Artés and C.Y. 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: 241 – 249.
- Alonso, G. y A. Chiesa. 2009. Hortalizas mínimamente procesadas en los supermercados de Buenos Aires. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo, Argentina* 41 (2): 45 – 57.

- Araneda, C.A. 2012. Efecto de gases no convencionales sobre la calidad de berros (*Nasturtium officinale* R. Br.) bajo atmósfera modificada activa. Memoria para optar el título de Ingeniera Agrónoma. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Santiago, Chile. 59p.
- Arroyo, D.H. 2010. Estudio del uso combinado de radiación UV-C y empaçado al vacío para aumentar la vida poscosecha de carambola (*Averrhoa carambola* L.) mínimamente procesada. Tesis Ingeniero de alimentos. Universidad Tecnológica Equinoccial, Facultad de Ciencia de la Ingeniería. Quito, Ecuador. 115p.
- Artés, F. 2006. El envasado en atmósfera modificada mejora la calidad de consumo de los productos hortofrutícolas intactos y mínimamente procesados en fresco. *Revista Iberoamericana Tecnología Postcosecha* 7 (2): 61 – 85.
- Artés, F. and A. Allende. 2005. Processing lines and alternative preservation techniques to prolong the shelf-life of minimally fresh processed leafy vegetables. *European Journal of Horticultural Science* 70 (5): 231 – 245.
- Artés-Hernández, F., V.H. Escalona, P.A. Robles, G.B. Martínez-Hernández and F. Artés. 2008. Effect of UV-C radiation on quality of minimally processed spinach leaves. *Journal Science Food Agriculture* 89: 414 – 421.
- Artés-Hernández, F., E. Aguayo, P. Gómez, y F. Artés. 2009. Productos vegetales mínimamente procesados o de la “cuarta gama”. *Revista Horticultura Internacional* 69: 52 – 67.
- Artés, F., P. Gómez, E. Aguayo, V.H. Escalona and Artés-Hernández. 2009. Sustainable sanitation techniques for keeping quality and safety of fresh-cut plant commodities. *Review. Postharvest Biology and Technology* 51: 287 – 296.
- Barillari, J., D. Canistro, M. Paolini, F. Ferrono, G.F. Pedullini, 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 Agricultural Food Chemistry* 53: 2475 – 2482.

- Benkeblia, N and P. Varoquaux. 2003. Effect of nitrous oxide (N₂O) on respiration rate, soluble sugars and quality attributes of onion bulbs *Allium cepa* cv. Rouge Amposta during storage. *Postharvest Biology and Technology* 30: 161 – 168.
- Bintsis, T., E. Litopoulou-Tzanetaki and R.K. Robinson. 2000. Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry. Review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 637 – 645.
- Borrero, J.D. 2010. Panorámica actual de la postcosecha hortofrutícola y de los productos vegetales mínimamente procesados en fresco (MPF). Presentado en el encuentro “Frutas de IV y V gama: Una oportunidad para la agricultura Onubense”, Universidad Internacional de Andalucía, julio 2010. Andalucía, España. 35p.
- Brady, C.J. 1987. Fruit ripening. *Annual Reviews Plant Physiology Unit, Division of Food Research and School of Biological Science, Macquarie University, Australia* 38: 155 – 178.
- Cantwell, M.I. y R.F. Kasmire. 2002. Sistemas de manejo postcosecha: Hortalizas de hoja, tallo y flor. pp. 475-486. In: Kader, A. A. (Ed). *Tecnología postcosecha de cultivos hortofrutícolas*. 3^{ra} edición, Publicación 3311. Universidad de California, Filadelfia, EE.UU. 580p.
- Cantwell, M. I. y T. V. Suslow. 2002. Sistemas de manejo, postcosecha: Frutas y hortalizas precortadas (Mínimamente procesadas). pp. 497 – 518. In: Kader, A. A. (Ed). *Tecnología postcosecha de cultivos hortofrutícolas*. 3^{ra} edición, Publicación 3311. Universidad de California, Filadelfia, EE.UU. 580p.
- Carrasco, G y P. Manríquez. 2009. Olericultura en Chile: Hortalizas chilenas con gran potencial de desarrollo en mercados internacionales. *Horticultura Internacional* 72: 24 – 27.
- Char C., A.C. Silveira, C. Inestroza-Lizardo, A. Hinojosa, A. Machuca and V.H. 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.

- Cisneros-Zevallos L. 2003. The use of controlled postharvest abiotic stresses as a tool for enhancing the nutraceutical content and adding value of fresh fruit and vegetables. *Journal Food Science* 68: 1560 – 1565.
- Clifford, M.N. 1999. Chlorogenic acids and other cinnamates. Nature, occurrence and dietary burden. Review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79: 362 – 372.
- Conesa, A., F. Artés-Hernández, S. Geysen, B. Nicolaï and F. Artés. 2007. High oxygen combined with high carbon dioxide improves microbial and sensory quality of fresh-cut peppers. *Postharvest Biology and Technology* 43: 230 – 237.
- Costa, L., A.R. Vicente, P.M. Civello, A.R. Chaves and G.A. Martínez. 2006. UV-C treatments delay postharvest senescence in broccoli florets. *Postharvest Biology and Technology* 39: 204 – 210.
- Davey, M.W., M. Van Montagu, D. Inzé, M. Sanmartin, A. Kanellis, N. Smirnoff, I.J.J. Benzie, J.J. Strain, D. Favell and J. Fletcher, 2000. Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. Review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 825 – 860.
- Day, B. 1998. Novel MAP. A brand new approach. *Food manufacture* 73 (11): 22 – 25.
- Díaz, F. y L. Serrano. s.a. Desinfección de agua con luz ultravioleta. Disponible en: <http://www.agualatinoamerica.com/docs/pdf/3-4-02diaz.pdf>. Leído el 06 de noviembre de 2011.
- Drago, M.E., M. López y T.R. Sainz. 2006. Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 37 (4): 58 – 68.
- Erkan, M., C.Y. Wang and D.T. Krizek. 2001. UV-C radiation reduces microbial populations and deterioration in Cucurbita pepo fruit tissue. *Environmental and Experimental Botany* 45: 1–9.

- Escalona, V.H., S. Geysen, B. Verlinden and B. Nicolaï. 2007. Microbial quality and browning of fresh-cut butter lettuce under superatmospheric oxygen condition. *European Journal of Horticultural Science* 72 (3): 130 – 137.
- Escalona, V. y L. Luchsinger. 2008. Una revisión sobre frutas y hortalizas mínimamente procesadas en fresco. *Revista Aconex* 99: 23 – 28.
- Escalona, V., L. Luchsinger y A. Lizana. 2008. Efecto del envasado en atmósfera modificada sobre la calidad y la conservación de frutas y hortalizas. *Revista Aconex* 98:16 – 24.
- Escalona, V.H., E. Aguayo, G.B. Martínez and F. Artes. 2010. UV-C doses to reduce pathogen and spoilage bacterial growth in vitro and in baby spinach. *Postharvest Biology and Technology* 56: 223 – 231.
- Garrett, E.H. 2002. Fresh-cut Produce: Tracks and Trends. pp. 11–20. In: Lamikanra, O (Ed). Fresh-cut fruits and vegetables: science, technology, and market. Florida, EE.UU. 452p.
- Gorny J. and I. Agar. 1998. Are argon-enriched atmospheres beneficial?. *Perishables Handling News* 94: 7 – 8.
- Gouble, B., D. Fath and P. Soudain. 1995. Nitrous oxide inhibition of ethylene production in ripening and senescing climateric fruits. *Postharvest Biology and Technology* 5: 311 – 321.
- Guerrero, J.A. and G.V. Barbosa. 2004. Advantages and limitations on processing foods by UV light. *Food Science and Technology International* 10(3): 137 – 147.
- Havsteen, B.H. 2002. The biochemistry and medicinal significance of the flavonoids. *Pharmacology and Therapeutics* 96: 67 – 202.
- Inestroza, C.O. 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.

Jamie, P. and M. Saltveit. 2002. Postharvest changes in broccoli and lettuce during storage in argon, helium, and nitrogen atmospheres containing 2% oxygen. *Postharvest Biology and Technology* 26: 113 – 116.

Kader, A. A., D. Zagory and E.L. Kerbel. 1989. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 28: 1 – 30.

Kader, A.A. 2002a. Quality Parameters of Fresh-cut Fruit and Vegetable Products. pp. 21–30. In: Lamikanra, O. (Ed). Fresh-cut fruits and vegetables: science, technology, and market. Florida, EE.UU. 452p.

Kader, A.A. 2002b. Atmósferas modificadas en el transporte y almacenamiento. pp. 157–168. In: Kader, A. A. (Ed). Tecnología postcosecha de cultivos hortofrutícolas. 3^{ra} edición, Publicación 3311. Universidad de California, Filadelfia, EE.UU. 580p.

Kader, A.A. 2002c. Biología y tecnología postcosecha: un panorama. pp. 43–53. In: Kader, A. A. (Ed). Tecnología postcosecha de cultivos hortofrutícolas. 3^{ra} edición, Publicación 3311. Universidad de California, Filadelfia, EE.UU. 580p.

Kader, A.A. and S. Ben-Yehoshua. 2000. Effects of superatmospheric oxygen levels on postharvest physiology and quality of fresh fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology* 20: 1 – 13.

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

Liu, R.H. 2004. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *Journal of Nutrition* 134: 3479 – 3485.

Lobo, M. G. y M. González. 2007. Estado actual de los productos mínimamente procesados en España. Dpto. Fruticultura Tropical, Instituto Canario de Investigaciones Agrarias, Tenerife, 7p. Disponible en:

<http://www.icia.es/icia/download/postcosecha/procesado%20minimo%20en%20espa%F1a>. Leído el 03 de agosto de 2011.

- Magalhães, A.M., V. Escalona y F. Artés. 2007. Actividad respiratoria de hojas de espinaca bajo atmósferas modificadas innovadoras. pp. 677–684. En: V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones. Cartagena, Murcia, España. Mayo 29 – junio 1, 2007. Universidad Politécnica de Cartagena. Cartagena, Murcia, España.
- Martínez, A., A. Marín, R. Llorach, F. Ferreres and M. I. Gil. 2006a. Controlled atmosphere preserves quality and phytonutrients in wild rocket (*Diplotaxis tenuifolia*). *Postharvest Biology and Technology* 40: 26 – 33.
- Martínez, A., A. Allende, R. N. Bennett, F. Ferreres and M. I. Gil. 2006b. Microbial, nutritional and sensory quality of rocket leaves as affected by different sanitizers. *Postharvest Biology and Technology* 42: 86 – 97.
- 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, Departamento de Producción Vegetal. Cartagena, España. 267p.
- Martínez, J.A. 2010. Optimización del envasado en atmósfera modificada de la lechuga iceberg. Tesis doctoral. Universidad de Murcia, Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Murcia, España. 243p.
- Ministerio de Salud Pública de Chile. 1997. Reglamento sanitario de los alimentos. Diario oficial 13 de mayo 1997. Decreto supremo 977. Actualizado en junio de 2010. Dpto. de Asesoría Jurídica, Santiago. 175 p.
- Obando-Ulloa, J., E. Iban, A. J. Monforte and J. P. Fernández. 2009. Identification of QTLs related to sugar and organic acid composition in melon using near-isogenic lines. *Revista Scientia Horticulturae* 121: 425 – 433.

- Parr, A.J. and G.P. Bolwell. 2000. Phenols in the plant and in man. The potencial for posible nutricional enhancement of the diet by modifying in phenols content or profile. Review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 985 – 1012.
- Pérez, J. y F. Saura. 2007. Metodología para la evaluación de capacidad antioxidante en frutas y hortalizas. pp. 1150–1160. En: V congreso iberoamericano de tecnología postcosecha y agroexportaciones. Cartagena, Murcia, España. Mayo 29 – junio 1, 2007. Universidad Politécnica de Cartagena. Cartagena, Murcia, España.
- Pokorny, J. 2005. Funcionalidad de los antioxidantes naturales durante el procesado de los alimentos. pp. 311–334. En: Pokorny, J., N. Yanishlieva y M. Gordon (Ed). *Antioxidantes de los alimentos*. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España. 364p.
- Redagrícola, 2012. IV Gama, una alternativa rentable para la Región de Coquimbo. Sección noticias octubre 2012. Disponible en: <http://www.redagricola.com/noticias/chile/iv-gama-una-alternativa-rentable-para-la-region-de-coquimbo>. Leído el 18 de octubre de 2012.
- Rivera, D.M., A.A. Gardea, M.A. Martínez, M. Rivera y G.A. González. 2007. Efectos bioquímicos postcosecha de la irradiación UV-C en frutas y hortalizas. *Revista Fitotecnia Mexicana* 30(4): 361 – 372.
- Robles P., A. Tomás-Callejas, V.H. Escalona, F. Artés and F. Artés-Hernández. 2010. High helium controlled atmosphere storage decreases microbial growth and preserves quality on fresh-cut mizuna baby leaves. *Revista Acta Horticulturae* 877: 663 – 668.
- Rocculi, P., S. Romani and M. Dalla Rosa. 2005. Effect of MAP with argon and nitrous oxide on quality maintenance of minimally processed kiwifruit. *Postharvest Biology and Technology* 35: 319 – 328.
- Rúiz, G. A., A.G. Qüesta y S.C. 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.

- Sáenz, C., M.C. Lagos, A. Hinojosa, A. Machuca and V.H. Escalona. 2010. Effect of alternative sanitizers in rocket leaves preserved in modified atmosphere. pp. 1–4. In: International Conference on Food Innova. Universidad Politécnica de Valencia, España. Octubre 25-29, 2010. Valencia, España.
- Sliney, D.H. 2001. Radiación ultravioleta. pp. 6–11. En: Knave, B (Ed). Radiaciones no ionizantes. Tercera edición. Rochester, EE.UU. 36p.
- Steinmetz, K.A. and J.D. Potter. 1996. Vegetables, fruit, and cancer prevention. Review. *Journal of the American Dietetic Association* 96: 1027 – 1039.
- Stevens, C., V.A. Khan, J.Y. Lu, C.L. Wilson, L.P. Pusey, M.K. Kabwe, E.C. Igwegbe, E-Chalutz and S. Droby. 1998. The germicidal and hormetic effects of UV-C light on reducing brown rot disease and yeast microflora of peaches. *Crop Protection* 17: 75 – 84.
- Tardón, A., J. Obando, A. Hinojosa, L. Luchsinger y V.H. 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.
- Tawaha, K., F.Q. Alali, M. Gharaibeh, M. Mohammad and T. El-Elimat. 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Journal of Food Chemistry* 104: 1372 – 1378.
- Tomás, F.A., F. Ferreres y M.I. Gil. 2000. Antioxidant phenolic metabolites from fruit and vegetales and changes during postharvest storage and processing. pp. 739–795. In: Rahman, A (ed). *Studies in Natural Products Chemistry* Vol. 23. Murcia, España. 909p.
- Tomás-Callejas, A., M. Boluda, P. Robles, F. Artés and F. Artés-Hernández. 2011. Innovative active modified atmosphere packaging improves overall quality of fresh-cut red chard baby leaves. *Food Science and Technology* 44: 1422 – 1428.

- Van Der Steen, C., F. Devlieghere and J. Debevere. 2003. High oxygen concentration in combination with elevated carbon dioxide to affect growth of fresh-cut produce microorganisms. *Acta Horticulturae* 599: 141 – 147.
- Villatoro, M.M. 2011. Caracterización nutricional y agronómica, análisis de la actividad biológica y selección de crucíferas para uso alimentario. Tesis Doctoral en Biología. Universidad de Córdoba, Departamento de Genética. Córdoba, España. 236p.
- Wright, H.B. y W.L. Cairns. 2004. Luz ultravioleta. Londres, Reino Unido. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacg/e/fulltext/simposio/ponen10.pdf>. Leído el 06 de noviembre de 2011.
- Yaun, B.R., S.S. Sumner, J.D. Eifert and J.E. Marcy. 2004. Inhibition of pathogens on fresh produce by ultraviolet energy. *International Journal Food Microbiology* 90: 1 – 8.
- Zhaung, R.Y., L.R. Beuchat and F.J. Angulo. 1995. Fate of Salmonella Montevideo on and in raw tomatoes as affected by temperature and treatment with chlorine. *Applied and Environmental Microbiology* 61 (6): 2127 – 2131.

APÉNDICE

APÉNDICE 1. Ensayo I

Cuadro 1.1. Evolución del porcentaje de CO₂ en hojas de rúcula envasadas en atmósferas modificadas activas utilizando inyecciones de gases y almacenadas a 5 °C por 10 días.

Atmósfera inicial (AI)	Evolución CO ₂ (%)			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
Aire (21% O ₂ + 79% CO ₂)	0,3 ¹ a	0,4 a	0,5 a	0,5 a
Ar (55% + 40% O ₂ + 5% N ₂)	0,7 b	5,2 c	14,2 c	20,8 c
He (55% + 40% O ₂ + 5% N ₂)	0,4 a	3,0 b	6,9 b	10,0 b
N ₂ O (55% + 40% O ₂ + 5% N ₂)	0,8 b	5,1 c	13,9 c	21,7 c
O ₂ (80% + 20% N ₂)	0,6 b	4,7 c	15,4 c	22,9 c
Nivel de significancia				
AI	S	S	S	S

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

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey (p<0,05), para cada atmósfera inicial (AI).

S: Significativo para p<0,05.

Cuadro 1.2. Evolución del porcentaje de O₂ en hojas de rúcula envasadas en atmósferas modificadas activas utilizando inyecciones de gases y almacenadas a 5 °C por 10 días.

Atmósfera inicial (AI)	Evolución O ₂ (%)			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
Aire (21% O ₂ + 79% CO ₂)	20,9 ¹ a	20,9 a	21,0 a	20,4 a
Ar (55% + 40% O ₂ + 5% N ₂)	40,9 b	37,5 b	29,3 b	20,1 a
He (55% + 40% O ₂ + 5% N ₂)	42,1 b	40,9 c	33,6 b	26,4 a
N ₂ O (55% + 40% O ₂ + 5% N ₂)	42,1 b	38,7 bc	33,0 b	26,7 a
O ₂ (80% + 20% N ₂)	80,9 c	74,6 d	64,6 c	58,1 b
Nivel de significancia				
AI	S	S	S	S

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

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey (p<0,05), para cada atmósfera inicial (AI).

S. Significativo para p<0,05.

Cuadro1.3. Recuento de *E. coli* (log UFC·g⁻¹) en hojas de rúcula envasadas en atmósferas modificadas activas utilizando inyecciones de gases y almacenadas a 5 °C por 10 días.

Atmósfera inicial (AI)	<i>E. coli</i> (log UFC·g ⁻¹)			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
Aire (21% O ₂ + 79% CO ₂)	6,0 ¹ a	5,4 a	5,4 ab	4,8 a
Ar (55% + 40% O ₂ + 5% N ₂)	6,2 a	5,7 ab	5,3 ab	4,7 a
He (55% + 40% O ₂ + 5% N ₂)	6,1 a	5,7 abc	5,2 a	5,0 ab
N ₂ O (55% + 40% O ₂ + 5% N ₂)	6,3 a	6,0 bc	5,8 b	5,8 c
O ₂ (80% + 20% N ₂)	6,7 b	6,1 c	5,6 ab	5,5 bc
Nivel de significancia				
AI	S	S	S	S

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

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey (p<0,05), para cada atmósfera inicial (AI).

S: Significativo para p<0,05.

Cuadro1.4. Recuento de Enterobacterias (log UFC·g⁻¹) en hojas de rúcula envasadas en atmósferas modificadas activas utilizando inyecciones de gases y almacenadas a 5 °C por 10 días.

Atmósfera inicial (AI)	Enterobacterias (log UFC·g ⁻¹)			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
Aire (21% O ₂ + 79% CO ₂)	6,0 ¹ b	5,4 a	6,7 b	7,1 ab
Ar (55% + 40% O ₂ + 5% N ₂)	6,2 b	5,7 ab	6,1 a	6,8 ab
He (55% + 40% O ₂ + 5% N ₂)	6,2 b	5,9 b	6,1 a	6,7 a
N ₂ O (55% + 40% O ₂ + 5% N ₂)	6,3 b	6,0 bc	6,3 ab	7,0 ab
O ₂ (80% + 20% N ₂)	6,7 c	6,2 c	6,4 ab	7,4 b
MP s/i (Materia prima procesada sin inocular)	4,8 a			
Nivel de significancia				
AI	S	S	S	S

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

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey (p<0,05), para cada atmósfera inicial (AI).

S: Significativo para p<0,05.

Cuadro 1.5. Caracterización inicial de las hojas de rúcula utilizadas en el ensayo de envasado con atmósferas modificadas con gases no convencionales y O₂.

Caracterización inicial de las hojas de rúcula		Color			Dimensiones (cm)		Peso (g)
		Luminosidad (L)	Saturación (C*)	Tono (H _{ab})	Largo	Ancho	
1	Promedio ¹	43,4	29,8	125,4	7,8	3,3	0,4
	Desv. Est. ¹	2,2	2,2	1,3	2,5	1,1	0,3
2	Promedio	43,8	29,3	125,6	7,6	3,2	0,4
	Desv. Est.	1,9	1,6	0,8	1,9	0,6	0,2
3	Promedio	44,5	31,1	125,3	7,3	3,4	0,4
	Desv. Est.	1,5	1,3	0,7	2,0	0,9	0,2
Total	Promedio Total ²	43,9	30,1	125,4	7,6	3,3	0,4
	Desv. Est. ²	1,9	1,8	0,9	2,1	0,9	0,2
Intervalo de confianza ³	Límite inferior	43,2	29,4	125,1	6,8	3,0	0,3
	Límite superior	44,6	30,8	125,8	8,3	3,6	0,5

1/ Valores de promedio y desviación estándar (n=10)

2/ Valores de promedio y desviación estándar (n=30)

3/ Intervalo de confianza obtenido con t-student ($\alpha=0,05$)

Cuadro 1.6. Caracterización de las aguas de proceso utilizadas en el lavado de hojas de rúcula del ensayo de envasado con atmósferas modificadas con gases no convencionales y O₂.

Aguas usadas en el proceso	Parámetros	Momento del proceso	
		Entrada (antes de usar)	Salida (después de usar)
Agua potable	Cloro libre (mg L ⁻¹)	1,0	1,0
	pH	7,3	7,3
	Potencial Redox (mV)	-31,0	-29,0
Agua clorada	Cloro libre (mg L ⁻¹)	95,0	83,0
	pH	6,5	6,4
	Potencial Redox (mV)	-12,0	-10,0
Agua estéril	Cloro libre (mg L ⁻¹)	0,5	1,5
	pH	7,1	6,9
	Potencial Redox (mV)	-22,0	-15,0

APÉNDICE 2. Ensayo II

Cuadro 2.1. Evolución del porcentaje de CO₂ en hojas de rúcula expuestas a diferentes dosis de radiaciones UV-C y almacenadas a 5 °C por 10 días.

Dosis de radiación UV-C (UV) en kJ·m ⁻²	Evolución CO ₂ (%)			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
0	0,2 ¹	0,1	0,2	0,2
5	0,2	0,2	0,3	0,2
10	0,3	0,2	0,1	0,2
15	0,2	0,1	0,2	0,2
20	0,3	0,2	0,2	0,3
25	0,3	0,2	0,2	0,3
Nivel de significancia				
UV	NS	NS	NS	NS

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

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey (p<0,05), para cada dosis de radiación UV-C (UV).

NS: No significativo.

Cuadro 2.2. Evolución del porcentaje de O₂ en hojas de rúcula expuestas a diferentes dosis de radiaciones UV-C y almacenadas a 5 °C por 10 días.

Dosis de radiación UV-C (UV) en kJ·m ⁻²	Evolución O ₂ (%)			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
0	20,6 ¹	20,9 d	20,7 b	20,6
5	20,6	20,8 cd	20,6 ab	20,6
10	20,6	20,8 bcd	20,6 ab	20,6
15	20,6	20,7 bc	20,5 ab	20,6
20	20,6	20,6 ab	20,5 a	20,5
25	20,6	20,6 a	20,4 a	20,5
Nivel de significancia				
UV	NS	S	S	NS

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

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey (p<0,05), para cada dosis de radiación UV-C (UV).

NS: No significativo.

S: Significativo para p<0,05.

Cuadro 2.3. Recuento de *E. coli* (log UFC·g⁻¹) en hojas de rúcula expuestas a diferentes dosis de radiaciones UV-C y almacenadas a 5 °C por 10 días.

Dosis de radiación UV-C (UV) en kJ·m ⁻²	<i>E. coli</i> (log UFC·g ⁻¹)			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
0	6,2 ¹ c	5,8 c	4,5 ab	4,8 b
5	5,6 ab	5,4 ab	4,5 ab	4,1 ab
10	5,8 b	5,4 a	4,2 a	4,0 a
15	5,4 a	5,3 a	4,7 ab	4,1 a
20	5,4 a	5,6 abc	5,2 b	4,1 ab
25	5,7 b	5,8 bc	5,1 b	4,1 ab
Nivel de significancia				
UV	S	S	S	S

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

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey (p<0,05), para cada dosis de radiación UV-C (UV).

S: Significativo para p<0,05.

Cuadro 2.4. Recuento de Enterobacterias (log UFC·g⁻¹) en hojas de rúcula expuestas a diferentes dosis de radiaciones UV-C y almacenadas a 5 °C por 10 días.

Dosis de radiación UV-C (UV) en kJ·m ⁻²	Enterobacterias (log UFC·g ⁻¹)			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
0	6,2 ¹ c	6,0 d	6,4	8,0 b
5	5,7 b	5,5 ab	6,4	7,5 a
10	5,8 bc	5,6 abc	6,4	7,7 ab
15	5,4 b	5,4 a	6,4	7,8 ab
20	5,4 b	5,8 bcd	6,4	7,9 ab
25	5,7 bc	5,9 cd	6,8	7,9 ab
MP s/i (Materia prima procesada sin inocular)	3,7 a			
Nivel de significancia				
UV	S	S	NS	S

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

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey (p<0,05), para cada dosis de radiación UV-C (UV).

NS: No significativo.

S: Significativo para p<0,05.

Cuadro 2.5. Variación de la apariencia en hojas de rúcula expuestas a diferentes dosis de radiaciones UV-C y almacenadas a 5 °C por 10 días.

Dosis de radiación UV-C (UV) en kJ·m ⁻²	Apariencia Día 10
0	8,4 ¹ ab
5	10,4 b
10	10,0 ab
15	9,7 ab
20	7,5 ab
25	6,9 a
Nivel de significancia	
UV	S

^{1/} Los valores indican el promedio (n=10).

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey (p<0,05), para cada dosis de radiación UV-C (UV).

S: Significativo para p<0,05.

Cuadro 2.6. Variación de la intensidad de color en hojas de rúcula expuestas a diferentes dosis de radiaciones UV-C y almacenadas a 5 °C por 10 días.

Dosis de radiación UV-C (UV) en kJ·m ⁻²	Intensidad de color Día 10
0	12,1 ¹ ab
5	12,2 ab
10	12,2 ab
15	12,3 b
20	10,5 ab
25	9,5 a
Nivel de significancia	
UV	S

^{1/} Los valores indican el promedio (n=10).

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey (p<0,05), para cada dosis de radiación UV-C (UV).

S: Significativo para p<0,05.

Cuadro 2.7. Caracterización inicial de las hojas de rúcula utilizadas en el ensayo de aplicación de radiación UV-C.

Caracterización inicial de las hojas de rúcula		Color			Dimensiones (cm)		Peso (g)
		Luminosidad (L)	Saturación (C*)	Tono (H _{ab})	Largo	Ancho	
1	Promedio ¹	45,5	31,3	125,0	8,4	3,1	0,4
	Desv. Est. ¹	2,0	2,8	1,7	1,7	0,8	0,2
2	Promedio	44,4	29,0	126,1	9,2	3,6	0,6
	Desv. Est.	1,7	2,5	1,3	1,9	0,8	0,2
3	Promedio	44,6	29,8	125,6	8,8	3,9	0,6
	Desv. Est.	1,5	2,3	1,5	2,6	1,3	0,5
Total	Promedio Total ²	44,8	30,0	125,6	8,8	3,6	0,5
	Desv. Est. ²	1,7	2,7	1,5	2,0	1,0	0,3
Intervalo de confianza ³	Límite inferior	44,2	29,0	125,0	8,0	3,2	0,4
	Límite superior	45,5	31,0	126,1	9,5	3,9	0,6

1/ Valores de promedio y desviación estándar (n=10)

2/ Valores de promedio y desviación estándar (n=30)

3/ Intervalo de confianza obtenido con t-student ($\alpha=0,05$)

Cuadro 2.8. Caracterización de las aguas de proceso utilizadas en el lavado de hojas de rúcula en el ensayo de radiación UV-C.

Aguas usadas en el proceso	Parámetros	Momento del proceso	
		Entrada (antes de usar)	Salida (después de usar)
Agua potable	Cloro libre (mg L ⁻¹)	1,0	0,0
	pH	7,3	7,3
	Potencial Redox (mV)	-34,0	-31,0
Agua clorada	Cloro libre (mg L ⁻¹)	100,0	88,5
	pH	6,5	6,5
	Potencial Redox (mV)	-17,0	-11,0
Agua estéril	Cloro libre (mg L ⁻¹)	0,5	1,0
	pH	7,6	7,2
	Potencial Redox (mV)	-51,0	-26,0

APÉNDICE 3. Ensayo III

Cuadro 3.1. Análisis del efecto del uso de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas sobre la tasa respiratoria de hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 11 días.

Dosis UV-C (D)	Tasa respiratoria (mg CO ₂ ·kg ⁻¹ ·h ⁻¹)		
	Día 1	Día 7	Día 11
10	20,6 ¹	22,6	8,7 a
15	19,5	18,7	20,4 b
Atmósfera (A)			
Ar	21,1	21,1	16,8 b
He	19,0	20,3	12,3 a
Interacción (D x A)			
10 + Ar	22,8	23,7	11,2
10 + He	18,5	21,6	6,2
15 + Ar	19,4	18,4	22,4
15 + He	19,6	18,9	18,3
Nivel de significancia			
D	NS	NS	S
A	NS	NS	S
D x A	NS	NS	NS

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

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey (p<0,05), para cada factor.

NS: No significativo.

S: Significativo para p<0,05.

Cuadro 3.2. Análisis comparativo entre los tratamientos con diferentes dosis de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas, y el testigo (sin radiación y aire) según la tasa respiratoria de hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 11 días.

Tratamiento (T)	Tasa respiratoria (mg CO ₂ ·kg ⁻¹ ·h ⁻¹)		
	Día 1	Día 7	Día 11
Testigo ¹	17,3 ²	14,2	14,4
10 + Ar	22,8	23,7 *	11,2
10 + He	18,5	21,6	6,2 *
15 + Ar	19,4	18,4	22,4 *
15 + He	19,6	18,9	18,3
Nivel de significancia			
T	NS	S	S

1/ Testigo: sin radiación UV-C y almacenada en bolsa perforada (aire).

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

*/ Indica los tratamientos estadísticamente diferentes al testigo cada día de evaluación, según la prueba Dunnett (p < 0,05).

NS: No significativo.

S: Significativo para p<0,05.

Cuadro 3.3. Análisis del efecto del uso de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas sobre la producción etileno de hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 11 días.

Dosis UV-C (D)	Producción etileno ($\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)			
	Día 1	Día 4	Día 7	Día 11
10	0,63 ¹	0,09	0,05 a	0,05
15	0,68	0,10	0,11 b	0,06
Atmósfera (A)				
Ar	0,63	0,09	0,08	0,06
He	0,67	0,10	0,08	0,06
Interacción (D x A)				
10 + Ar	0,62	0,09	0,05	0,05
10 + He	0,63	0,10	0,05	0,05
15 + Ar	0,64	0,10	0,12	0,06
15 + He	0,71	0,10	0,10	0,06
Nivel de significancia				
D	NS	NS	S	NS
A	NS	NS	NS	NS
D x A	NS	NS	NS	NS

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

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey ($p < 0,05$), para cada factor.

NS: No significativo.

S: Significativo para $p < 0,05$.

Cuadro 3.4. Análisis comparativo entre los tratamientos con diferentes dosis de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas, y el testigo (sin radiación y aire) según la producción de etileno de hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 11 días.

Tratamiento (T)	Producción etileno ($\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)			
	Día 1	Día 4	Día 7	Día 11
Testigo ¹	0,93 ²	0,26	0,16	0,09
10 + Ar	0,62 *	0,09 *	0,05 *	0,05
10 + He	0,63 *	0,10 *	0,05 *	0,05
15 + Ar	0,64 *	0,10 *	0,12	0,06
15 + He	0,71 *	0,10 *	0,10 *	0,06
Nivel de significancia				
T	S	S	S	NS

1/ Testigo: sin radiación UV-C y almacenada en bolsa perforada (aire).

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

*/ Indica los tratamientos estadísticamente diferentes al testigo cada día de evaluación, según la prueba Dunnett ($p < 0,05$).

NS: No significativo.

S: Significativo para $p < 0,05$.

Cuadro 3.5. Análisis del efecto del uso de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas sobre la evolución del porcentaje de CO₂ de hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Dosis UV-C (D)	Evolución de CO ₂ (%)				
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10	
10	0,7 ¹ b	3,8	10,1	15,7 b	
15	0,4 a	3,5	10,9	13,6 a	
Atmósfera (A)					
Ar	0,6	3,9 b	10,5	14,9	
He	0,5	3,4 a	10,5	14,4	
Interacción (D x A)					
10 + Ar	0,6	3,8 b	9,6	15,4	
10 + He	0,7	3,8 b	10,6	16,0	
15 + Ar	0,5	4,0 b	11,3	14,5	
15 + He	0,3	3,1 a	10,4	12,8	
Nivel de significancia					
D	S	NS	NS	S	
A	NS	S	NS	NS	
D x A	NS	S	NS	NS	

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

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey (p<0,05), para cada factor.

NS: No significativo.

S: Significativo para p<0,05.

Cuadro 3.6. Análisis de la interacción entre el uso de dos dosis de radiación UV-C y dos tipos de atmósferas modificadas activas sobre la evolución del porcentaje de CO₂ de hojas de rúcula almacenadas a 5 °C, durante el día 2.

Atmósfera (A)	CO ₂ (%) - Día 2					
	Dosis UV-C (D)					
	10		15		Promedio (D)	
Ar	3,8 ¹ a	A	4,0 b	A	3,9	
He	3,8 a	B	3,1 a	A	3,4	
Promedio (A)	3,8		3,5			

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

Letras minúsculas diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa entre las atmósferas, según la prueba Tukey (p<0,05).

Letras mayúsculas diferentes en sentido horizontal, indican diferencias estadísticamente significativa entre las dosis de UV-C, según la prueba Tukey (p<0,05).

Cuadro 3.7. Análisis comparativo entre los tratamientos con diferentes dosis de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas, y el testigo (sin radiación y aire) según la evolución del porcentaje de CO₂ de hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Tratamiento (T)	Evolución de CO ₂ (%)			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
Testigo ¹	0,2 ²	0,5	0,4	0,6
10 + Ar	0,6 *	3,8 *	9,6 *	15,4 *
10 + He	0,7 *	3,8 *	10,6 *	16,0 *
15 + Ar	0,5	4,0 *	11,3 *	14,5 *
15 + He	0,3	3,1 *	10,4 *	12,8 *
Nivel de significancia				
T	S	S	S	S

1/ Testigo: sin radiación UV-C y almacenada en bolsa perforada (aire).

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

*/ Indica los tratamientos estadísticamente diferentes al testigo cada día de evaluación, según la prueba Dunnett (p < 0,05).

S: Significativo para p<0,05.

Cuadro 3.8. Análisis del efecto del uso de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas sobre la evolución del porcentaje de O₂ de hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Dosis UV-C (D)	Evolución de O ₂ (%)			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
10	41,7 ¹	36,7	29,4	23,9
15	42,4	36,8	29,7	24,7
Atmósfera (A)				
Ar	42,3	36,8	28,9 a	22,6 a
He	41,8	36,7	30,2 b	26,1 b
Interacción (D x A)				
10 + Ar	41,7	36,7	28,5	22,5
10 + He	41,7	36,8	30,3	25,4
15 + Ar	42,9	37,0	29,3	22,7
15 + He	41,8	36,6	30,1	26,7
Nivel de significancia				
D	NS	NS	NS	NS
A	NS	NS	S	S
D x A	NS	NS	NS	NS

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

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey (p<0,05), para cada factor.

NS: No significativo.

S: Significativo para p<0,05.

Cuadro 3.9. Análisis comparativo entre los tratamientos con diferentes dosis de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas, y el testigo (sin UV-C y aire) según la evolución del porcentaje de O₂ de hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Tratamiento (T)	Evolución de O ₂ (%)			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
Testigo ¹	20,8 ²	20,3	20,4	20,3
10 + Ar	41,7 *	36,7 *	28,5 *	22,5 *
10 + He	41,7 *	36,8 *	30,3 *	25,4 *
15 + Ar	42,9 *	37,0 *	29,3 *	22,7 *
15 + He	41,8 *	36,6 *	30,1 *	26,7 *
Nivel de significancia				
T	S	S	S	S

1/ Testigo: sin radiación UV-C y almacenada en bolsa perforada (aire).

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

*/ Indica los tratamientos estadísticamente diferentes al testigo cada día de evaluación, según la prueba Dunnett (p < 0,05).

S: Significativo para p<0,05.

Cuadro 3.10. Análisis del efecto del uso de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas sobre el recuento de *E. coli* (log UFC·g⁻¹) en hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Dosis UV-C (D)	<i>E. coli</i> (Log UFC·g ⁻¹)			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
10	3,3 ¹	4,3	4,5	4,5
15	3,1	4,6	4,4	4,5
Atmósfera (A)				
Ar	3,4	4,5	4,4	4,8
He	3,0	4,4	4,5	4,3
Interacción (D x A)				
10 + Ar	3,6	4,5	4,6	4,9
10 + He	3,0	4,1	4,4	4,1
15 + Ar	3,2	4,5	4,1	4,6
15 + He	3,0	4,8	4,7	4,4
Nivel de significancia				
D	NS	NS	NS	NS
A	NS	NS	NS	NS
D x A	NS	NS	NS	NS

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

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey (p<0,05), para cada factor.

NS: No significativo.

Cuadro 3.11. Análisis comparativo entre los tratamientos con diferentes dosis de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas, y el testigo (sin radiación y aire) según el recuento de *E. coli* (log UFC·g⁻¹) en hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Tratamiento (T)	<i>E. coli</i> (Log UFC·g ⁻¹)			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
Testigo ¹	3,8 ²	4,4	5,0	5,7
10 + Ar	3,6	4,5	4,6	4,9
10 + He	3,0	4,1	4,4	4,1 *
15 + Ar	3,2	4,5	4,1 *	4,6
15 + He	3,0	4,8	4,7	4,4
MP s/p (Materia prima sin procesar)	4,2			
Nivel de significancia				
T	NS	NS	S	S

1/ Testigo: sin radiación UV-C y almacenada en bolsa perforada (aire).

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

*/ Indica los tratamientos estadísticamente diferentes al testigo cada día de evaluación, según la prueba Dunnett (p < 0,05).

NS: No significativo.

S: Significativo para p<0,05.

Cuadro 3.12. Análisis del efecto del uso de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas sobre el recuento de enterobacterias (log UFC·g⁻¹) en hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Dosis UV-C (D)	Enterobacterias (Log UFC·g ⁻¹)			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
10	5,1 ¹ a	5,8 a	6,7 a	7,4 a
15	5,8 b	6,1 b	7,0 b	7,7 b
Atmósfera (A)				
Ar	5,4	5,9	6,9	7,5
He	5,4	6,0	6,8	7,6
Interacción (D x A)				
10 + Ar	5,0	5,7	6,7	7,3
10 + He	5,2	5,9	6,8	7,5
15 + Ar	5,9	6,1	7,2	7,7
15 + He	5,7	6,2	6,9	7,8
Nivel de significancia				
D	S	S	S	S
A	NS	NS	NS	NS
D x A	NS	NS	NS	NS

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

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey (p<0,05), para cada factor.

NS: No significativo.

S: Significativo para p<0,05.

Cuadro 3.13. Análisis comparativo entre los tratamientos con diferentes dosis de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas, y el testigo (sin radiación y aire) según el recuento de enterobacterias ($\log \text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$) en hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Tratamiento (T)	Enterobacterias ($\text{Log UFC}\cdot\text{g}^{-1}$)			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
Testigo ¹	5,4 ²	6,6	6,9	7,9
10 + Ar	5,0	5,7 *	6,7	7,3 *
10 + He	5,2	5,9 *	6,8	7,5 *
15 + Ar	5,9	6,1	7,2	7,7
15 + He	5,7	6,2	6,9	7,8
MP s/p (Materia prima sin procesar)	6,1			
Nivel de significancia				
T	NS	S	NS	S

1/ Testigo: sin radiación UV-C y almacenada en bolsa perforada (aire).

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

*/ Indica los tratamientos estadísticamente diferentes al testigo cada día de evaluación, según la prueba Dunnett ($p < 0,05$).

NS: No significativo.

S: Significativo para $p < 0,05$.

Cuadro 3.14. Análisis del efecto del uso de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas sobre el recuento de aerobios mesófilos (RAM) ($\log \text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$) en hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Dosis UV-C (D)	RAM ($\text{Log UFC}\cdot\text{g}^{-1}$)			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
10	5,8 ¹ a	6,2	7,7	8,6
15	5,9 b	6,5	7,7	8,6
Atmósfera (A)				
Ar	5,9	6,3	7,8	8,6
He	5,8	6,3	7,5	8,5
Interacción (D x A)				
10 + Ar	5,8	6,1	7,8	8,5
10 + He	5,8	6,2	7,6	8,6
15 + Ar	5,9	6,6	7,9	8,7
15 + He	5,9	6,3	7,5	8,5
Nivel de significancia				
D	S	NS	NS	NS
A	NS	NS	NS	NS
D x A	NS	NS	NS	NS

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

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey ($p < 0,05$), para cada factor.

NS: No significativo.

S: Significativo para $p < 0,05$.

Cuadro 3.15. Análisis comparativo entre los tratamientos con diferentes dosis de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas, y el testigo (sin radiación y aire) según el recuento de aerobios mesófilos (RAM) ($\log \text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$) en hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Tratamiento (T)	RAM ($\log \text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$)			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
Testigo ¹	6,0 ²	6,8	8,0	9,1
10 + Ar	5,8 *	6,1 *	7,8	8,5 *
10 + He	5,8 *	6,2 *	7,6	8,6 *
15 + Ar	5,9	6,6	7,9	8,7 *
15 + He	5,9 *	6,3	7,5 *	8,5 *
MP s/p (Materia prima sin procesar)	6,9 *			
Nivel de significancia				
T	S	S	S	S

¹/ Testigo: sin radiación UV-C y almacenada en bolsa perforada (aire).

²/ Los valores indican el promedio (n=3).

*/ Indica los tratamientos estadísticamente diferentes al testigo cada día de evaluación, según la prueba Dunnett ($p < 0,05$).

S: Significativo para $p < 0,05$.

Cuadro 3.16. Análisis del efecto del uso de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas sobre el recuento de aerobios psicrótrofos (log UFC·g⁻¹) en hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Dosis UV-C (D)	Recuento de aerobios psicrótrofos (Log UFC·g ⁻¹)				
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10	
10	5,9 ¹ a	6,4	8,1	9,2	
15	6,0 b	6,6	8,2	9,2	
Atmósfera (A)					
Ar	6,0	6,5	8,3 b	9,2	
He	6,0	6,5	8,0 a	9,2	
Interacción (D x A)					
10 + Ar	5,9	6,4	8,2	9,1	
10 + He	5,9	6,5	8,1	9,2	
15 + Ar	6,1	6,7	8,4	9,3	
15 + He	6,0	6,6	8,0	9,2	
Nivel de significancia					
D	S	NS	NS	NS	
A	NS	NS	S	NS	
D x A	NS	NS	NS	NS	

^{1/} Los valores indican el promedio (n=3)

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey (p<0,05), para cada factor.

NS: No significativo.

S: Significativo para p<0,05.

Cuadro 3.17. Análisis comparativo entre los tratamientos con diferentes dosis de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas, y el testigo (sin radiación y aire) según el recuento de aerobios psicrótrofos (log UFC·g⁻¹) en hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Tratamiento (T)	Recuento de aerobios psicrótrofos (Log UFC·g ⁻¹)			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
Testigo ¹	6,2 ²	7,1	8,5	9,7
10 + Ar	5,9 *	6,4 *	8,2 *	9,1 *
10 + He	5,9 *	6,5 *	8,1 *	9,2 *
15 + Ar	6,1	6,7	8,4	9,3 *
15 + He	6,0 *	6,6	8,0 *	9,2 *
MP s/p (Materia prima sin procesar)	7,1 *			
Nivel de significancia				
T	S	S	S	S

1/ Testigo: sin radiación UV-C y almacenada en bolsa perforada (aire).

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

*/ Indica los tratamientos estadísticamente diferentes al testigo cada día de evaluación, según la prueba Dunnett ($p < 0,05$).

S: Significativo para $p < 0,05$.

Cuadro 3.18. Análisis del efecto del uso de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas sobre el recuento de hongos y levaduras (log UFC·g⁻¹) en hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Dosis UV-C (D)	Recuento de hongos y levaduras (Log UFC·g ⁻¹)				
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10	
10	2,4 ¹	2,8	2,4	2,3	
15	2,6	2,4	2,2	2,4	
Atmósfera (A)					
Ar	2,5	2,2	2,2	2,3	
He	2,5	2,9	2,5	2,5	
Interacción (D x A)					
10 + Ar	2,2	a	2,6	2,5	2,3
10 + He	2,6	a	3,0	2,3	2,4
15 + Ar	2,8	a	1,8	1,8	2,3
15 + He	2,4	a	2,9	2,7	2,6
Nivel de significancia					
D	NS	NS	NS	NS	
A	NS	NS	NS	NS	
D x A	S	NS	NS	NS	

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

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey ($p < 0,05$), para cada factor.

NS: No significativo.

S: Significativo para $p < 0,05$.

Cuadro 3.19. Análisis de la interacción entre el uso de dos dosis de radiación UV-C y dos tipos de atmósferas modificadas activas sobre el recuento de hongos y levaduras ($\log \text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$) en hojas de rúcula almacenadas a 5 °C, durante el día 0.

Hongos y levaduras ($\log \text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$) - Día 0					
Atmósfera (A)	Dosis UV-C (D)				
	10		15		Promedio (D)
Ar	2,2 ¹ a	A	2,8 a	B	2,5
He	2,6 a	A	2,4 a	A	2,5
Promedio (A)	2,4		2,6		

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

Letras minúsculas diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa entre las atmósferas, según la prueba Tukey ($p < 0,05$).

Letras mayúsculas diferentes en sentido horizontal, indican diferencias estadísticamente significativa entre las dosis de UV-C, según la prueba Tukey ($p < 0,05$).

Cuadro 3.20. Análisis comparativo entre los tratamientos con diferentes dosis de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas, y el testigo (sin radiación y aire) según el recuento de hongos y levaduras ($\log \text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$) en hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Tratamiento (T)	Recuento de hongos y levaduras ($\log \text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$)			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
Testigo ¹	2,6 ²	2,9	2,9	2,8
10 + Ar	2,2	2,6	2,5	2,3
10 + He	2,6	3,0	2,3	2,4
15 + Ar	2,8	1,8	1,8	2,3
15 + He	2,4	2,9	2,7	2,6
MP s/p (Materia prima sin procesar)	3,2			
Nivel de significancia				
T	NS	NS	NS	NS

1/ Testigo: sin radiación UV-C y almacenada en bolsa perforada (aire).

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

NS: No significativo.

Cuadro 3.21. Análisis del efecto del uso de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas sobre la luminosidad de hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Dosis UV-C (D)	Luminosidad (L)		
	Día 0	Día 2	Día 10
10	42,4 ¹	43,0	41,8
15	41,7	42,9	42,0
Atmósfera (A)			
Ar	42,1	42,8	41,8
He	42,0	43,1	42,1
Interacción (D x A)			
10 + Ar	42,8	43,1	42,0
10 + He	42,0	42,9	41,7
15 + Ar	41,4	42,4	41,6
15 + He	42,0	43,3	42,4
Nivel de significancia			
D	NS	NS	NS
A	NS	NS	NS
D x A	NS	NS	NS

^{1/} Los valores indican el promedio (n=3)

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey ($p < 0,05$), para cada factor.

NS: No significativo.

Cuadro 3.22. Análisis comparativo entre los tratamientos con diferentes dosis de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas, y el testigo (sin radiación y aire) según la luminosidad en hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Tratamiento (T)	Luminosidad (L)		
	Día 0	Día 2	Día 10
Testigo ¹	43,7 ²	43,2	44,2
10 + Ar	42,8	43,1	42,0 *
10 + He	42,0	42,9	41,7 *
15 + Ar	41,4 *	42,4	41,6 *
15 + He	42,0	43,3	42,4
Nivel de significancia			
T	S	NS	S

^{1/} Testigo: sin radiación UV-C y almacenada en bolsa perforada (aire).

^{2/} Los valores indican el promedio (n=3).

*/ Indica los tratamientos estadísticamente diferentes al testigo cada día de evaluación, según la prueba Dunnett ($p < 0,05$).

NS: No significativo.

S: Significativo para $p < 0,05$.

Cuadro 3.23. Análisis del efecto del uso de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas sobre la saturación de hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Dosis UV-C (D)	Saturación (C*)		
	Día 0	Día 2	Día 10
10	27,0 ¹	27,8	26,1
15	27,0	27,7	25,8
Atmósfera (A)			
Ar	27,1	27,7	26,0
He	26,9	27,7	25,9
Interacción (D x A)			
10 + Ar	27,2	28,0	26,4
10 + He	26,9	27,6	25,8
15 + Ar	27,0	27,4	25,7
15 + He	27,0	27,9	26,0
Nivel de significancia			
D	NS	NS	NS
A	NS	NS	NS
D x A	NS	NS	NS

^{1/} Los valores indican el promedio (n=3)

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey ($p < 0,05$), para cada factor.

NS: No significativo.

Cuadro 3.24. Análisis comparativo entre los tratamientos con diferentes dosis de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas, y el testigo (sin radiación y aire) según la saturación en hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Tratamiento (T)	Saturación (C*)		
	Día 0	Día 2	Día 10
Testigo ¹	27,5 ²	27,9	28,7
10 + Ar	27,2	28,0	26,4
10 + He	26,9	27,6	25,8
15 + Ar	27,0	27,4	25,7 *
15 + He	27,0	27,9	26,0
Nivel de significancia			
T	NS	NS	S

^{1/} Testigo: sin radiación UV-C y almacenada en bolsa perforada (aire).

^{2/} Los valores indican el promedio (n=3).

*/ Indica los tratamientos estadísticamente diferentes al testigo cada día de evaluación, según la prueba Dunnett ($p < 0,05$).

NS: No significativo.

S: Significativo para $p < 0,05$.

Cuadro 3.25. Análisis del efecto del uso de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas sobre el tono de hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Dosis UV-C (D)	Tono (H_{ab})		
	Día 0	Día 2	Día 10
10	126,9 ¹	126,5	127,1
15	127,2	126,5	126,9
Atmósfera (A)			
Ar	127,1	126,5	126,8
He	127,0	126,5	127,2
Interacción (D x A)			
10 + Ar	127,0	126,5	126,8
10 + He	126,9	126,4	127,4
15 + Ar	127,2	126,4	126,8
15 + He	127,2	126,6	126,9
Nivel de significancia			
D	NS	NS	NS
A	NS	NS	NS
D x A	NS	NS	NS

^{1/} Los valores indican el promedio (n=3)

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey ($p < 0,05$), para cada factor.

NS: No significativo.

S: Significativo para $p < 0,05$.

Cuadro 3.26. Análisis comparativo entre los tratamientos con diferentes dosis de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas, y el testigo (sin radiación y aire) según el tono en hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Tratamiento (T)	Tono (H_{ab})		
	Día 0	Día 2	Día 10
Testigo ¹	126,7 ²	126,1	124,9
10 + Ar	127,0	126,5	126,8 *
10 + He	126,9	126,4	127,4 *
15 + Ar	127,2	126,4	126,8 *
15 + He	127,2	126,6	126,9 *
Nivel de significancia			
T	NS	NS	S

^{1/} Testigo: sin radiación UV-C y almacenada en bolsa perforada (aire).

^{2/} Los valores indican el promedio (n=3).

*/ Indica los tratamientos estadísticamente diferentes al testigo cada día de evaluación, según la prueba Dunnett ($p < 0,05$).

NS: No significativo.

S: Significativo para $p < 0,05$.

Cuadro 3.27. Análisis del efecto del uso de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas sobre la apariencia de hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Dosis UV-C (D)	Apariencia			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
10	10,4 ¹	11,3	9,9	9,9
15	10,9	10,4	10,1	9,1
Atmósfera (A)				
Ar	10,5	10,6	9,6	9,4
He	10,8	11,1	10,4	9,6
Interacción (D x A)				
10 + Ar	10,1	10,8	9,7	9,8
10 + He	10,7	11,8	10,0	10,0
15 + Ar	10,9	10,4	9,5	9,0
15 + He	11,0	10,3	10,8	9,2
Nivel de significancia				
D	NS	NS	NS	NS
A	NS	NS	NS	NS
D x A	NS	NS	NS	NS

1/ Los valores indican el promedio (n=12)

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey ($p < 0,05$), para cada factor.

NS: No significativo.

Cuadro 3.28. Análisis comparativo entre los tratamientos con diferentes dosis de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas, y el testigo (sin radiación y aire) según la apariencia de hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Tratamiento (T)	Apariencia			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
Testigo ¹	11,3 ²	11,1	9,9	8,8
10 + Ar	10,1	10,8	9,7	9,8
10 + He	10,7	11,8	10,0	10,0
15 + Ar	10,9	10,4	9,5	9,0
15 + He	11,0	10,3	10,8	9,2
Nivel de significancia				
T	NS	NS	NS	NS

1/ Testigo: sin radiación UV-C y almacenada en bolsa perforada (aire).

2/ Los valores indican el promedio (n=12).

NS: No significativo.

Cuadro 3.29. Análisis del efecto del uso de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas sobre la intensidad de color de hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Dosis UV-C (D)	Intensidad de color			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
10	12,7 ¹	12,1	11,2	11,3
15	12,2	12,0	11,6	11,7
Atmósfera (A)				
Ar	12,5	12,3	11,5	11,6
He	12,4	11,8	11,3	11,4
Interacción (D x A)				
10 + Ar	12,6	12,1	11,7	11,2
10 + He	12,8	12,1	10,8	11,3
15 + Ar	12,4	12,4	11,4	12,0
15 + He	12,0	11,6	11,7	11,4
Nivel de significancia				
D	NS	NS	NS	NS
A	NS	NS	NS	NS
D x A	NS	NS	NS	NS

1/ Los valores indican el promedio (n=12)

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey ($p < 0,05$), para cada factor.

NS: No significativo.

Cuadro 3.30. Análisis comparativo entre los tratamientos con diferentes dosis de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas, y el testigo (sin radiación y aire) según la intensidad de color de hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Tratamiento (T)	Intensidad de color			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
Testigo ¹	12,2 ²	12,1	11,6	11,1
10 + Ar	12,6	12,1	11,7	11,2
10 + He	12,8	12,1	10,8	11,3
15 + Ar	12,4	12,4	11,4	12,0
15 + He	12,0	11,6	11,7	11,4
Nivel de significancia				
T	NS	NS	NS	NS

1/ Testigo: sin radiación UV-C y almacenada en bolsa perforada (aire).

2/ Los valores indican el promedio (n=12).

NS: No significativo.

Cuadro 3.31. Análisis del efecto del uso de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas sobre el contenido de glucosa de hojas de rúcula a 5 °C por 10 días.

Dosis UV-C (D)	Glucosa (mg·g ⁻¹ peso fresco)			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
10	10,4 ¹	12,4 b	12,3	14,3
15	10,4	10,0 a	13,3	14,1
Atmósfera (A)				
Ar	10,7	11,0	11,8 a	14,7
He	10,1	11,4	13,7 b	13,7
Interacción (D x A)				
10 + Ar	10,4	12,1	11,3	14,5
10 + He	10,4	12,7	13,3	14,2
15 + Ar	11,0	10,0	12,4	14,8
15 + He	9,8	10,1	14,2	13,3
Nivel de significancia				
D	NS	S	NS	NS
A	NS	NS	S	NS
D x A	NS	NS	NS	NS

^{1/} Los valores indican el promedio (n=3)

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey (p<0,05), para cada factor.

NS: No significativo.

S: Significativo para p<0,05.

Cuadro 3.32. Análisis comparativo entre los tratamientos con diferentes dosis de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas, y el testigo (sin radiación y aire) según el contenido de glucosa de hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Tratamiento (T)	Glucosa (mg·g ⁻¹ peso fresco)			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
Testigo ¹	8,9 ²	8,9	11,3	12,2
10 + Ar	10,4	12,1	11,3	14,5
10 + He	10,4	12,7 *	13,3	14,2
15 + Ar	11,0 *	10,0	12,4	14,8
15 + He	9,8	10,1	14,2 *	13,3
Nivel de significancia				
T	S	S	S	NS

^{1/} Testigo: sin radiación UV-C y almacenada en bolsa perforada (aire).

^{2/} Los valores indican el promedio (n=3).

*/ Indica los tratamientos estadísticamente diferentes al testigo cada día de evaluación, según la prueba Dunnett (p < 0,05).

NS: No significativo.

S: Significativo para p<0,05.

Cuadro 3.33. Análisis del efecto del uso de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas sobre el contenido de fenoles totales de hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Dosis UV-C (D)	Contenido de fenoles totales (mg EAG·g ⁻¹ peso fresco)			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
10	1,7 ¹	1,6	1,7	1,6
15	1,6	1,8	1,8	1,4
Atmósfera (A)				
Ar	1,7	1,8	1,8	1,5
He	1,6	1,7	1,7	1,5
Interacción (D x A)				
10 + Ar	1,7	1,7	1,8	1,6
10 + He	1,7	1,6	1,6	1,7
15 + Ar	1,7	1,9	1,8	1,4
15 + He	1,5	1,8	1,7	1,4
Nivel de significancia				
D	NS	NS	NS	NS
A	NS	NS	NS	NS
D x A	NS	NS	NS	NS

^{1/} Los valores indican el promedio (n=3)

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey (p<0,05), para cada factor.

NS: No significativo.

Cuadro 3.34. Análisis comparativo entre los tratamientos con diferentes dosis de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas, y el testigo (sin radiación y aire) según el contenido de fenoles totales de hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Tratamiento (T)	Contenido de fenoles totales (mg EAG·g ⁻¹ peso fresco)			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
Testigo ¹	1,9 ²	1,5	1,5	1,1
10 + Ar	1,7	1,7	1,8	1,6
10 + He	1,7	1,6	1,6	1,7 *
15 + Ar	1,7	1,9	1,8	1,4
15 + He	1,5	1,8	1,7	1,4
Nivel de significancia				
T	NS	NS	NS	S

^{1/} Testigo: sin radiación UV-C y almacenada en bolsa perforada (aire).

^{2/} Los valores indican el promedio (n=3).

*/ Indica los tratamientos estadísticamente diferentes al testigo cada día de evaluación, según la prueba Dunnett (p < 0,05).

NS: No significativo.

S: Significativo para p<0,05.

Cuadro 3.35. Análisis del efecto del uso de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas sobre la capacidad antioxidante (ensayo DPPH*) de hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Dosis UV-C (D)	Cap. antiox. – ensayo DPPH* (mg Trolox·g ⁻¹ peso fresco)				
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10	
10	0,47 ¹ a	0,5 a	0,6	0,5	
15	0,53 b	0,7 b	0,6	0,5	
Atmósfera (A)					
Ar	0,5	0,6	0,6	0,5	
He	0,5	0,6	0,6	0,5	
Interacción (D x A)					
10 + Ar	0,5	0,5	0,6	0,5	
10 + He	0,5	0,5	0,5	0,5	
15 + Ar	0,6	0,7	0,6	0,5	
15 + He	0,5	0,7	0,6	0,5	
Nivel de significancia					
D	S	S	NS	NS	
A	NS	NS	NS	NS	
D x A	NS	NS	NS	NS	

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

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey (p<0,05), para cada factor.

NS: No significativo.

S: Significativo para p<0,05.

Cuadro 3.36. Análisis comparativo entre los tratamientos con diferentes dosis de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas, y el testigo (sin radiación y aire) según la capacidad antioxidante (ensayo DPPH) de hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Tratamiento (T)	Cap. antiox. - ensayo DPPH (mg Trolox·g ⁻¹ peso fresco)			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
Testigo ¹	0,5 ²	0,6	0,8	0,8
10 + Ar	0,5	0,5	0,6 *	0,5 *
10 + He	0,5	0,5	0,5 *	0,5 *
15 + Ar	0,6	0,7	0,6 *	0,5 *
15 + He	0,5	0,7 *	0,6 *	0,5 *
Nivel de significancia				
T	NS	S	S	S

1/ Testigo: sin radiación UV-C y almacenada en bolsa perforada (aire).

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

*/ Indica los tratamientos estadísticamente diferentes al testigo cada día de evaluación, según la prueba Dunnett (p < 0,05).

NS: No significativo.

S: Significativo para p<0,05.

Cuadro 3.37. Análisis del efecto del uso de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas sobre la capacidad antioxidante (ensayo FRAP) de hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Dosis UV-C (D)	Cap. antiox. - ensayo FRAP (mg Trolox·g ⁻¹ peso fresco)			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
10	1,1 ¹	1,0 a	1,1	1,0 b
15	1,1	1,3 b	1,1	0,9 a
Atmósfera (A)				
Ar	1,1	1,2	1,1	0,9
He	1,1	1,1	1,1	0,9
Interacción (D x A)				
10 + Ar	1,1	1,0	1,1	1,0
10 + He	1,1	1,0	1,1	0,9
15 + Ar	1,2	1,3	1,0	0,9
15 + He	1,1	1,3	1,1	0,8
Nivel de significancia				
D	NS	S	NS	S
A	NS	NS	NS	NS
D x A	NS	NS	NS	NS

^{1/} Los valores indican el promedio (n=3)

Letras diferentes en sentido vertical, indican diferencias estadísticamente significativa según la prueba Tukey (p<0,05), para cada factor.

NS: No significativo.

S: Significativo para p<0,05.

Cuadro 3.38. Análisis comparativo entre los tratamientos con diferentes dosis de radiación UV-C y atmósferas modificadas activas, y el testigo (sin radiación y aire) según la capacidad antioxidante (ensayo FRAP) de hojas de rúcula almacenadas a 5 °C por 10 días.

Tratamiento (T)	Cap. antiox. - ensayo FRAP (mg Trolox·g ⁻¹ peso fresco)			
	Día 0	Día 2	Día 6	Día 10
Testigo ¹	1,2 ²	1,1	1,0	0,9
10 + Ar	1,1	1,0	1,1	1,0
10 + He	1,1	1,0	1,1	0,9
15 + Ar	1,2	1,3 *	1,0	0,9
15 + He	1,1	1,3	1,1	0,8
Nivel de significancia				
T	NS	S	NS	NS

^{1/} Testigo: sin radiación UV-C y almacenada en bolsa perforada (aire).

^{2/} Los valores indican el promedio (n=3).

*/ Indica los tratamientos estadísticamente diferentes al testigo cada día de evaluación, según la prueba Dunnett (p < 0,05).

NS: No significativo.

S: Significativo para p<0,05.

Cuadro 3.39. Caracterización inicial de las hojas de rúcula utilizadas en el ensayo de envasado en atmósfera modificada activa combinado con la aplicación de radiación UV-C.

Caracterización inicial de las hojas de rúcula		Color			Dimensiones (cm)		Peso (g)
		Luminosidad (L)	Saturación (C*)	Tono (Hab)	Largo	Ancho	
1	Promedio ¹	44,1	28,9	125,8	10,6	4,6	0,9
	Desv. Est. ¹	1,6	2,6	1,3	1,8	1,2	0,4
2	Promedio	44,5	28,6	125,8	10,7	4,5	0,9
	Desv. Est.	2,0	1,4	0,8	2,0	1,2	0,5
3	Promedio	43,1	26,4	126,9	9,8	4,9	0,9
	Desv. Est.	1,6	2,8	1,9	2,0	1,4	0,6
Total	Promedio Total ²	43,9	28,0	126,1	10,4	4,7	0,9
	Desv. Est. ²	1,8	2,5	1,5	1,9	1,2	0,5
Intervalo de confianza ³	Límite inferior	43,2	27,0	125,6	9,7	4,2	0,7
	Límite superior	44,6	28,9	126,7	11,1	5,1	1,0

1/ Valores de promedio y desviación estándar (n=10)

2/ Valores de promedio y desviación estándar (n=30)

3/ Intervalo de confianza obtenido con t-student ($\alpha=0,05$)

Cuadro 3.40. Caracterización de las aguas de proceso utilizadas en el lavado de hojas de rúcula del ensayo de radiación UV-C y envasado con atmósferas modificadas con Ar y He.

Aguas usadas en el proceso	Parámetros	Momento del proceso	
		Entrada (antes de usar)	Salida (después de usar)
Agua potable	Cloro libre (mg L ⁻¹)	5,0	2,0
	pH	7,8	7,1
	Potencial Redox (mV)	-65,0	-24,0
Agua clorada	Cloro libre (mg L ⁻¹)	100,0	86,0
	pH	6,5	6,3
	Potencial Redox (mV)	-9,0	-7,0
Agua estéril	Cloro libre (mg L ⁻¹)	0,5	1,5
	pH	7,6	7,0
	Potencial Redox (mV)	-55,0	-20,0

Cuadro 3.41. Concentración de los gases en los contenedores plásticos con hojas de rúcula tratadas con UV-C durante 10 días a 5 °C

Tratamiento (T)	Gases	Días de evaluación											
		Día 1			Día 4			Día 7			Día 11		
		Tiempo después de la inyección de gases (h)			Tiempo después de la inyección de gases (h)			Tiempo después de la inyección de gases (h)			Tiempo después de la inyección de gases (h)		
		0 ¹	24	29	0	24	29	0	24	29	0	24	29
Testigo	O ₂ (%)	21,0			20,8			20,7			20,9		
	CO ₂ (%)	0,08	0,08	0,26	0,09	0,09	0,29	0,06	0,06	0,22	0,06	0,06	0,20
	N ₂ (%)	78,9			79,1			79,2			79,0		
10 + Ar	O ₂ (%)	42,0			43,0			42,0			41,0		
	CO ₂ (%)	0,08	1,03	1,26	0,09	1,10	1,48	0,06	0,75	1,03	0,06	0,87	1,01
	N ₂ (%)	5,9			3,9			3,9			4,9		
	Ar (%)	52,0			53,0			54,0			54,0		
10 + He	O ₂ (%)	42,0			43,0			44,0			42,0		
	CO ₂ (%)	0,08	1,19	1,39	0,09	1,14	1,48	0,06	0,82	1,10	0,06	0,96	1,04
	N ₂ (%)	4,9			4,9			3,9			4,9		
	He (%)	53,0			52,0			52,0			53,0		
15 + Ar	O ₂ (%)	42,0			42,0			43,0			43,0		
	CO ₂ (%)	0,08	1,20	1,40	0,09	1,18	1,57	0,06	0,82	1,05	0,06	0,80	1,07
	N ₂ (%)	5,9			3,9			3,9			4,9		
	Ar (%)	52,0			54,0			53,0			52,0		
15 + He	O ₂ (%)	42,0			42,0			43,0			42,0		
	CO ₂ (%)	0,08	1,32	1,52	0,09	1,21	1,53	0,06	0,85	1,09	0,06	0,89	1,11
	N ₂ (%)	3,9			4,9			4,9			4,9		
	He (%)	54,0			53,0			52,0			53,0		

1/ Concentración de los gases al inicio de la inyección en los contenedores plásticos de 2 L.

ANEXO I

Panelista N°:

Evaluación de calidad panel semi-entrenado

Fecha:.....

Nombre:..... Sexo:.....

Edad (años):

Menor de 20 entre 20 y 25 entre 25 y 30 entre 30 y 35 Mayor de 35

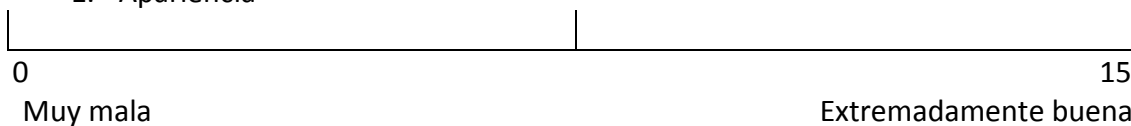
Instrucciones:

Por favor, indique con una línea vertical la intensidad de su sensación para cada una de ellas.

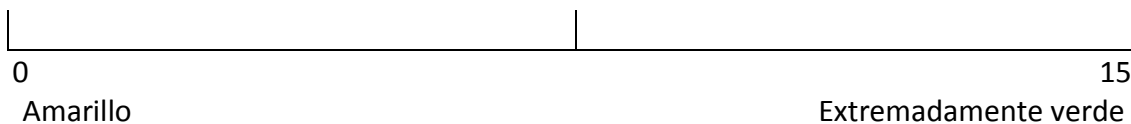
Muestra N° _____

Aspecto visual

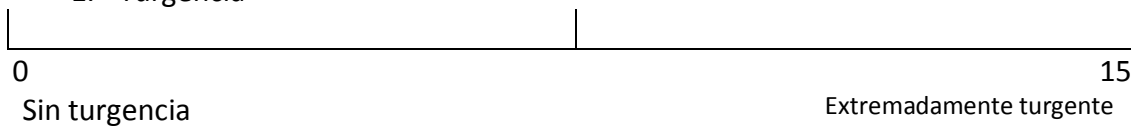
1. Apariencia



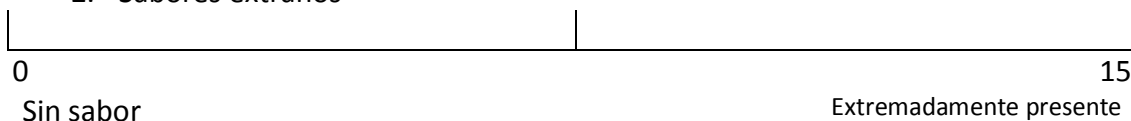
2. Intensidad color

**Aspecto gustativo**

1. Turgencia



2. Sabores extraños



Comentarios: _____

ANEXO II

Reglamento sanitario de los alimentos Ministerio de Salud (MINSAL), decreto n° 977/96, (actualizado a junio de 2010).

Especificaciones microbiológicas por grupo de alimentos.

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

Parámetro	Plan de muestreo				Límite por gramo	
	Categoría	Clase	n	c	m	M
RAM	6	3	5	1	5×10^4 (4,7 log)	5×10^5 (5,7 log)
Enterobacterias	6	3	5	1	5×10^3 (3,7 log)	5×10^4 (4,7 log)
<i>E. coli</i>	6	3	5	1	10	10^2
<i>S. aureus</i>	6	3	5	1	10	10^2
<i>Salmonella</i> en 25 g	10	2	5	0	0	-

n: número de muestras a ser examinadas.

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 para el cual o por debajo del cual el alimento no representa un riesgo para la salud

M: valor del parámetro microbiológico por encima del cual el alimento representa un riesgo para la salud.

Plan de muestreo de 3 clases y Grados de Calidad: plan de muestreo, por atributos, donde la calidad de un producto, de acuerdo con los criterios microbiológicos puede dividirse en tres grados de calidad, "aceptable" valores entre 0 y m; "medianamente aceptable": valores entre m y M; y "rechazable": valores superiores a M. (Reglamento Sanitario de los Alimentos, Ministerio de Salud Pública, Chile, 2010).