

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**EFFECTOS DE DIFERENTES SANITIZANTES SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS
MICROBIOLÓGICAS, COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CALIDAD SENSORIAL DE
BERROS ALMACENADOS BAJO CONDICIONES DE ATMÓSFERA MODIFICADA**

MACARENA VERDUGO GARCÉS

SANTIAGO - CHILE
2012

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**EFFECTOS DE DIFERENTES SANITIZANTES SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS
MICROBIOLÓGICAS, COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CALIDAD SENSORIAL DE
BERROS ALMACENADOS BAJO CONDICIONES DE ATMÓSFERA MODIFICADA**

**EFFECTS OF DIFFERENTS SANITIZERS ON MICROBIOLOGICAL
CHARACTERISTICS, CHEMICAL COMPOSITION AND SENSORY QUALITY OF
WATERCRESS STORED UNDER MODIFIED ATMOSPHERE**

MACARENA VERDUGO GARCÉS

SANTIAGO - CHILE
2012

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

**EFFECTOS DE DIFERENTES SANITIZANTES SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS
MICROBIOLÓGICAS, COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CALIDAD SENSORIAL DE
BERROS ALMACENADOS BAJO CONDICIONES DE ATMÓSFERA MODIFICADA**

Memoria para optar al título profesional de:
Ingeniero Agrónomo
Mención: Agroindustria

MACARENA VERDUGO GARCÉS

Profesores Guías	Calificaciones
Sr. Víctor Escalona C. Ingeniero Agrónomo. Dr.	7,0
Sr. Álvaro Peña N. Ingeniero Agrónomo Enólogo, Dr.	7,0
Profesores Evaluadores	
Sr. Eduardo Loyola M. Ingeniero Agrónomo Enólogo, Dr.	6,5
Sr. Jaime Rodríguez M. Ingeniero Agrónomo M. Sc.	6,4
Colaboradores	
Sr. Javier Obando U. Ingeniero Agroindustrial. Dr.	
Srta. Alejandra Hinojosa M. Bioquímica M. Sc.	

Santiago, Chile
2012

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mis más sinceros agradecimientos al proyecto “Technology Innovations Applied to Novel Fresh-cut Leaf Vegetables: Quality and Food Safety” (N°1090059, FONDECYTCONICYT, Chile) por permitir el desarrollo y financiamiento esta memoria de título.

Al Centro de Estudios Postcosecha (CEPOC), de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile por proporcionarme los equipos e implementos necesarios para llevar a cabo este trabajo.

A Andrea Hinojosa, Daniela Cárdenas y Alejandra Machuca, por su incondicional apoyo y disposición en la realización de esta memoria.

A Javier Obando por su dedicación y compromiso en este trabajo.

A mis profesores guías Víctor Escalona y Álvaro Peña, por su valiosa orientación, por sus consejos y dedicación que sin duda enriquecieron enormemente mi formación profesional y posibilitaron el logro este trabajo.

Al laboratorio Análisis Microbiológicos al Laboratorio de Evaluación Sensorial del Departamento de Agroindustria y Enología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, especialmente a Rosita por su apoyo y ayuda incondicional.

A mis padres y hermanos por darme la oportunidad de tener una formación profesional, por su cariño y comprensión en todo momento. Gracias por permitirme llegar a esta instancia tan importante en mi vida.

A mis amigos y compañeros de universidad Carolina, Belén, Daniela, Myriam, Eduardo, Ismael, Mauricio y Hernán por la linda y estrecha amistad durante todos estos años.

A María Luisa, Mónica y Manuel por todas esas tardes en el laboratorio de incondicional apoyo y por la linda amistad que se nació de este estudio.

Y finalmente a todos los que de alguna manera estuvieron involucrados en este trabajo brindándome su apoyo incondicional.

INDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCION	3
Objetivos.....	6
MATERIALES Y METODO	7
Lugar de estudio	7
Materia prima	7
Metodología.....	8
Parámetros evaluados ensayo I.....	11
Determinaciones de actividad metabólica	11
Tasa respiratoria (TR)	11
Atmósfera modificada pasiva (EAM)	11
Determinaciones físicas	12
Color:.....	12
Análisis microbiológico	13
Calidad sensorial	14
Parámetros evaluados ensayo II	14
Determinaciones químicas	14
Contenido de compuestos fenólicos totales	14
Actividad antioxidante total	14
Diseño de un envase para hojas de berros mínimamente procesados bajo atmósfera modificada pasiva	16
DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANALISIS ESTADISTICO	19
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
Ensayo I.....	20
Tasa respiratoria (TR).....	20
Envasado en atmósfera modificada pasiva (EAM)	21
Color	22
Análisis microbiológico.....	25

Calidad sensorial.....	32
Ensayo II	36
Envasado atmósfera modificada pasiva (EAM)	36
Color	37
Compuestos funcionales	39
2.1.1 Contenido compuestos fenólicos totales	39
2.1.2 Actividad antioxidante total	42
CONCLUSIONES	45
BIBLIOGRAFIA	46
ANEXO I	53
ANEXO II.....	54
ANEXO III.....	55

RESUMEN

Actualmente en la industria de ensaladas frescas, el berro se muestra como una alternativa a la oferta de productos gourmet, reconociéndosele un elevado contenido de compuestos promotores de la salud de carácter antioxidantes. Adicionalmente, la industria busca nuevas alternativas seguras y efectivas para la reducción de la carga microbiana durante el lavado. El objetivo de esta investigación fue evaluar diferentes agentes sanitizantes alternativos al hipoclorito de sodio (HS, 100 mg L⁻¹), tales como dióxido de cloro (DC, 10 mg L⁻¹), clorito de sodio acidificado (CSA, 500 mg L⁻¹) y ácido peroxiacético (APA, 90 mg L⁻¹) en el lavado de hojas de berros envasados bajo atmósfera modificada pasiva y conservados 13 días a 5° C. Se evaluó la tasa respiratoria, color, composición de la atmósfera interna del envase, análisis microbiológico y sensorial, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante.

La composición de los gases dentro de la bolsa alcanzó el equilibrio entre los días 5 y 6. Se lograron bajas concentraciones de O₂ (< 7%) y altas de CO₂ (> 10%) manteniendo los atributos de calidad como apariencia y turgencia, además de disminuir la pérdida de color. Respecto de la composición química, las hojas de berros presentaron 3,5 meq EAG g_{PF}⁻¹ en compuestos fenólicos totales con una actividad antioxidante de 1,547 meqT g_{PF}⁻¹ los cuales no se vieron afectados por el uso de sanitizantes. La calidad sensorial disminuyó con el tiempo, siendo el DC el tratamiento que fue el mejor calificado (9,9 unidades) en cuanto a color y apariencia al final del almacenamiento. Dentro del estudio microbiológico, la materia prima presentó una carga inicial entre 6,1 y 6,5 log UFC·g⁻¹ para aerobios mesófilos, psicrófilos y enterobacterias. Tras el lavado, el HS y el CSA lograron las mayores reducciones entre 1,3-1,5 y 1,8-2,1 log UFC·g⁻¹, respectivamente. Hasta el día 9, los menores recuentos se alcanzaron con CSA, siendo este tratamiento el más recomendable frente a HS. Después de 13 días, los recuentos de todos los tratamientos superaron los 7 log UFC·g⁻¹, por tanto, para garantizar la calidad microbiológica de los berros éstos deben entrar al procesamiento con bajos recuentos desde la materia prima.

Palabras clave: mínimo proceso, hipoclorito de sodio, compuestos funcionales, hortalizas.

ABSTRACT

Nowadays, watercress is shown as an alternative to be recognized as gourmet product in the industry of fresh salads, offering a high content of health promoting compounds such as antioxidants. Additionally, the industry is interested in new safe and effective alternatives for reducing the microbial load during washing. The objective of this research was to evaluate different alternative to sodium hypochlorite (HS, 100 mg L⁻¹), as sanitizing agents, such as chlorine dioxide (DC, 10 mg L⁻¹), acidified sodium chlorite (CSA, 500 mg L⁻¹) and peroxyacetic acid (APA, 90 mg L⁻¹), during the washing of watercress leaves packaged in passive modified atmosphere for 13 days at 5 ° C. Respiration rate, color, internal atmosphere composition, microbiological analysis, sensory analysis, and total phenolic compounds and antioxidant capacity were evaluated. A completely randomized design with three replications was applied. The experimental unit was the bag with 50 g of watercress leaves.

The composition of gases in the bag reached equilibrium between 5 and 6 days after processing. Low O₂ (<7%) and high CO₂ (> 10%) levels were reached and allowed the attributes of quality to be preserved and reduced fading. Regarding the chemical composition, watercress leaves showed 3.47 meq EAG g_{FW}⁻¹ in total phenolic compounds with antioxidant activity of 1.47 meqT g_{FW}⁻¹, which were not affected by the use of sanitizers. Sensory quality decreased over time. DC treatment was scored with a high color and appearance (9.9 units) at the end of storage (day 13). According to the microbiological quality, raw material showed an initial load between 6.1 and 6.5 log CFU g⁻¹ for aerobic mesophiles, psychrophiles and enterobacteria. After washing, HS and CSA achieved the largest reductions between 1.3 to 1.5 and 1.8-2.1 log CFU g⁻¹, respectively. Until day 9, the lowest counts were achieved by CSA, so this sanitizer is the most recommended treatment as an alternative to HS. After 13 days, counts of all treatments exceeded 7 log CFU g⁻¹. Therefore, to ensure the microbiological quality of watercress, raw material should enter the process with low microbiological counts.

Keywords: minimal processing, sodium hypochlorite, functional compounds, vegetables.

INTRODUCCION

Diversos estudios han puesto de manifiesto que una dieta adecuada, rica en frutas y hortalizas, conlleva a una mejor salud y a la prevención de ciertas enfermedades degenerativas tales como el cáncer (Martínez-Sánchez, 2008).

La OMS recomienda consumir al menos 400 g de hortalizas y frutas al día que se traducen en 5 porciones de 80 g cada una. Es por esto que en 1991 nació el programa “5 al día” como una alianza entre las industrias y el gobierno de Estados Unidos, para promover el consumo de estas porciones. En 2006 un grupo de investigadores logró instaurar esta iniciativa en Chile, con lo cual se creó la “corporación 5 al día Chile” (Zacarías *et al.*, 2009), que al parecer, ha logrado resultados favorables. Según la encuesta nacional de salud del año 2009-2010 realizada por el Ministerio de Salud de Chile, el 60,8% de la población chilena consume hortalizas diariamente (MINSAL, 2009b).

La primera fuerza en el mercado de los alimentos es el consumidor, del cual se desprenden tendencias globales que determinan las decisiones respecto al consumo de hortalizas, ya que debido al escaso tiempo y actual ritmo de vida, se buscan productos que se adapten a sus necesidades, que sean atractivos e innovadores, pero que a la vez tengan un alto valor nutritivo, que no generen daños a la salud y sean fáciles de consumir (Dastres, 2006; Urala y Lähteenmäki, 2007; Ferrato, 2008).

Debido a esta demanda, se ha creado un mercado emergente de productos de origen vegetal mínimamente procesados en fresco (MPF), o también denominados alimentos de “Cuarta Gama”. Los productos MPF hacen referencia a las frutas y hortalizas frescas, lavadas, cortadas, rayadas, picadas, y envasadas para ser inmediatamente consumidas. Además, pueden recibir una higienización previa y ocasionalmente un tratamiento de preservación para ser comercializados bajo refrigeración (Escalona y Luchsinger, 2008).

Las etapas y procesos por las cuales deben pasar estas hortalizas generan cambios fisiológicos producto de las lesiones en los tejidos que disminuyen la vida útil del producto en comparación con el análogo entero del cual proceden. Además, estas heridas aumentan la probabilidad de deterioro microbiano y posibles contaminaciones, por lo que se les debe mantener constantemente bajo refrigeración y envasado en atmósferas modificadas que protejan al producto de posibles alteraciones mecánicas, microbiológicas y biológicas (Rico *et al.*, 2007; Aguayo, 2003; Zagory, 1999).

De acuerdo a Rico *et al.*, (2007) una de las técnicas de preservación muy utilizada en la industria del mínimo proceso es el envasado en atmósfera modificada (EAM) que se basa en la modificación de la atmósfera interna del envase, buscando atmósferas con bajas concentraciones de O₂ y altas de CO₂, resultado de la propia respiración del producto. Se ha estudiado que esta alteración en los gases puede potencialmente reducir la tasa respiratoria, lo que se traduce en un retraso en la senescencia (Salveit, 1997) y en la proliferación de microorganismos, ya que bajas concentraciones de O₂ combinadas con altas de CO₂ a 5 °C disminuyen entre 10 a 100 veces los recuentos bacteriológicos comparados con aquellos a condiciones atmosféricas (Escalona *et al.*, 2006). Allende *et al.* (2004) observaron que en brotes de espinaca, los microorganismos aerobios

mesófilos y enterobacterias presentaron poblaciones menores al ser envasados en EAM respecto de los testigos envasados en aire, mientras que las bacterias lácticas no se vieron afectadas por el uso de esta tecnología. Por otro lado, se ha observado que en atmósferas enriquecidas con CO₂ retrasan el amarillamiento en vegetales de hoja (Oms-Oliu *et al.*, 2009). Kader (2002b) afirma que el potencial del beneficio o riesgo del uso de las atmósferas modificadas pasivas depende del producto, variedad, edad fisiológica composición atmosférica, así como de la temperatura y duración del almacenamiento, por lo que el uso de esta tecnología requiere ser cuidadosamente estudiado.

La inocuidad microbiológica, el valor nutricional y la aceptación sensorial pertenecen a un conjunto de características de calidad indispensables en la comercialización de productos mínimamente procesados (Díaz-Sobac y Vernon-Carter, 1999). Para maximizar la inocuidad es importante que la contaminación desde el campo sea baja. Sin embargo, se ha visto que la microflora natural de las hortalizas suele ser elevado, incluyendo bacterias aeróbicas, entéricas, hongos y levaduras (Raybaudi-Massilia y Mosqueta-Melgar, 2009). Además, las probabilidades de contaminación en este tipo de alimento aumentan debido a la excesiva manipulación durante la recolección, corte, envasado, almacenamiento, distribución e incluso en el consumo final (Rico *et al.*, 2007). Debido a que son alimentos crudos, se deben aplicar estrategias que disminuyan y retrasen el crecimiento microbiano, como la aplicación de buenas prácticas sanitarias y de manufactura, el uso de EAM y la implementación de una etapa de lavado con sanitizantes (Vandekinderen *et al.*, 2009a), ya que la fase del lavado es uno de los pasos más críticos de elaboración de hortalizas mínimamente procesadas, y el uso de sanitizantes en esta etapa garantiza de mejor manera la calidad, seguridad y vida útil del producto final (Gil *et al.*, 2009).

Los sanitizantes que se usan en la industria de productos MPF son usualmente agregados al agua de lavado para reducir los microorganismos presentes en las hortalizas y prevenir contaminaciones cruzadas (Sánchez-Martínez *et al.*, 2006a). Tradicionalmente el cloro, en la forma de hipoclorito de sodio, ha sido el más utilizado por varias décadas (Vandekinderen *et al.*, 2009a), pero algunos estudios cuestionan su efectividad en la destrucción de la microflora presente en productos tales como lechuga, zanahoria y cilantro (Gil *et al.*, 2009). Adicionalmente, algunos estudios han puesto de manifiesto la posible formación de compuestos clorados, como los trihalometanos y cloraminas con acción cancerígena sobre el cuerpo humano, lo que ha promovido la búsqueda de nuevas alternativas sanitizantes que aseguren una alta eficacia en el tratamiento microbiológico de las hortalizas (Rico *et al.*, 2007; Das y Kim, 2010).

El dióxido de cloro (DC), clorito de sodio acidificado (CSA) y ácido peroxiacético (APA) son algunos de los agentes sanitizantes que se han propuesto como alternativas eficientes al lavado con hipoclorito de sodio (Ölmez y Kretschmar, 2009). El dióxido de cloro presenta gran solubilidad en el agua, un gran poder oxidante, incluso 2,5 veces más alto que el cloro (Kim *et al.*, 2008), es un fuerte bactericida, ya que destruye los microorganismos a través de la interrupción del transporte de nutrientes por la membrana sin generar sustancias nocivas (Artés *et al.*, 2009; Lee y Baek, 2008; Vandekinderen *et al.*, 2009b). Este sanitizante ha sido utilizado en concentraciones que varían entre 5 y 50 mg L⁻¹ controlando bacterias aerófilas y entéricas en habas, zanahorias baby, lechuga y espinaca mínimamente procesada (Chen *et al.*, 2010, Gómez-López *et al.*, 2007; Artés *et al.*, 2009).

El ácido peroxiacético resulta de la mezcla de ácido acético con peróxido de hidrogeno y agua. Este ácido es un fuerte desinfectante que se caracteriza por un alto poder oxidante, bajo pH (< 3), olor pungente y muy soluble en agua, pero bastante inestable, ya que las purezas mayores al 15% son explosivas. Su alta eficiencia se debe a que penetra la membrana de los microorganismos con mayor facilidad que otros sanitizantes destruye la molécula de ADN, interrumpe la membrana e inhibe el transporte y la acción de enzimas de procesos esenciales, matando bacterias, virus, esporas y protozoos (Artés *et al.*, 2009; Vandekinderen *et al.*, 2009c; Kitis, 2003). Estudios de lavados con este ácido en concentraciones de 20, 250 y 300 mg L⁻¹ redujeron entre 0,5 y 1,5 log UFC•g⁻¹ permitiendo un adecuado control de bacterias aerobias, psicrófilas y enterobacterias en repollo, puerro, rúcula, papa y lechuga conservados entre 4 y 8 °C (Vandekinderen *et al.*, 2009a,b,c; Martínez-Sánchez *et al.*, 2006a; Beltrán *et al.*, 2005b).

El clorito de sodio acidificado es un efectivo sanitizante muy utilizado en la industria del mínimo proceso, debido a su bajo pH entre 2 y 3 reduciendo poblaciones de aerobiosmesófilos de 1 a 2 log UFC•g⁻¹ en rúcula (250 mg L⁻¹) (Martínez-Sánchez *et al.*, 2006a) y 2 log UFC•g⁻¹ en cilantro (250 - 500 mg L⁻¹) (Allende *et al.*, 2009).

Aunque la literatura es escasa respecto al efecto que presentan estos sanitizantes sobre los compuestos funcionales (vitaminas, carotenos, fenoles, clorofilas etc.) de las hortalizas, se ha observado que en lechuga, rúcula y repollo MPF y lavados con HS (20,100, 200 mg L⁻¹), CSA (250 mg L⁻¹), APA (80, 250, 300 mg L⁻¹), ácido láctico (20 mL L⁻¹) y agua ozonizada (10 mg L⁻¹), estos compuestos no son afectados significativamente (Beltrán *et al.*, 2005a; Martínez-Sánchez *et al.*, 2006a; Vandekinderen *et al.*, 2009a; Vandekinderen *et al.*, 2009e). No obstante, en hojas de puerros lavados con HS (20 – 200 mg L⁻¹) a mayores dosis, los compuestos fenólicos aumentaron, mientras que, los lavados en altas concentraciones de APA (80 – 250 mg L⁻¹) generaron disminuciones en repollo blanco MPF en comparación con las dosis más bajas (Vandekinderen *et al.*, 2009a,b).

Estas tendencias y el aumento en el consumo de alimentos de origen vegetal, han diversificado el gusto y preferencia del consumidor por nuevas variedades de lechugas e introducción de otras especies como la mizuna, la rúcula y el berro (Sánchez-Martínez, 2008).

El berro (*Nasturtium officinale*) es una planta acuática perenne perteneciente a la familia de las *Brassicaceas*, nativa de Europa y muy consumida en Oriente y América, con amplias aplicaciones en la cocina, principalmente en ensaladas (Gonçalves *et al.*, 2009). En Chile hace algunas décadas esta hortaliza era recolectada en bordes de acequias y esteros, lo que llevó a que se discontinuara su consumo debido a la contaminación por *Fasciola hepática*. Sin embargo, el cultivo de berros ha experimentado un incremento durante los últimos años insertándose en la oferta de productos hortícolas hidropónicos, ya que su producción y cosecha es posible durante de todo el año. Actualmente, se comercializa gracias a la utilización de técnicas hidropónicas, que si bien disminuyen la contaminación de esta hortaliza, no garantizan su inocuidad (Espina, 2008).

Diversos experimentos han demostrado que el berro presenta principios activos como fenoles, glucosinolatos, vitaminas A, B₂, y E; minerales como sodio, yodo, hierro, fósforo y manganeso que, al ser hidrolizados en la digestión, originan productos con actividad biológica antioxidante

muy beneficiosa para la salud (Cruz *et al.*, 2006; Engelen-Eigles *et al.*, 2006). Por otro lado, otros estudios independientes han confirmado la presencia de isopropenoides como el β -caroteno y derivados de los flavonoles como la quercetina y el kaempferol (Sánchez-Martínez, 2008; Navarro *et al.*, 2008; Justesen y Knuthsen, 2001) lo que se traduce en niveles entre 1,68 y 2,36 meq EAG $\text{g}_{\text{PF}}^{-1}$ de compuestos fenólicos totales (Hassimotto *et al.*, 2005; Isabelle *et al.*, 2010; Gil *et al.*, 2007) y en una capacidad antioxidante de 2,44 meqT $\text{g}_{\text{PF}}^{-1}$ (Sánchez-Martínez, 2008). Por la acción de estos compuestos benéficos para la salud, las hojas de berro han sido utilizadas en la medicina doméstica debido a sus efectos diuréticos depurativos, expectorantes e hipoglicemiantes (Yazdanparast *et al.*, 2008). También se le han atribuido efectos antimicóticos y anticancerígenos (Potter y Steinmetz, 1996). Gill *et al.*, (2007) afirman que el suplemento de la dieta humana con esta hortaliza disminuye el daño y degeneraciones en el ADN y mejora los niveles de compuestos antioxidantes sanguíneos en adultos, mientras que otros estudios demostraron un efecto beneficioso con la aplicación de extractos de berro en la actividad de enzimas antioxidantes en el hígado de ratas alimentadas con una dieta alta en grasa (Yazdanparast *et al.*, 2008).

En resumen, el berro es una hortaliza de interés nutricional-funcional dado su posible aporte de constituyentes beneficiosos para la salud, por lo que el estudio de su óptima conservación de postcosecha y el uso de un sanitizante que sea efectivo para reducir los microorganismos patógenos, sin afectar su calidad nutricional ni sensorial es de vital importancia.

Objetivos

- Evaluar el efecto de diferentes sanitizantes alternativos al hipoclorito de sodio sobre la carga microbiana en hojas de berro conservadas bajo atmósfera modificada.
- Cuantificar la composición fenólica, capacidad antioxidante y calidad sensorial de hojas de berro tratadas con diversos sanitizantes conservadas bajo atmósfera modificada.

MATERIALES Y METODO

Lugar de estudio

Los análisis de la tasa respiratoria, composición de la atmósfera interna (concentraciones de gases bajo atmósfera modificada) y, calidad física (color) y química (contenido de compuestos fenólicos totales y la capacidad antioxidante total) de las hojas de berro fueron realizados en el Centro de Estudios Postcosecha (CEPOC) de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

Las evaluaciones de la calidad microbiológica y sensorial se realizaron en el laboratorio de Análisis Microbiológicos y en el Laboratorio de Evaluación Sensorial del Departamento de Agroindustria y Enología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

Esta memoria de título fue financiada por el proyecto FONDECYT N° 1090059 “Technological Innovations Applied to Novel Minimally Fresh Processed Leaf Vegetables: Quality and Food Safety”

Materia prima

Para la realización de este estudio se utilizaron hojas de berro (*Nasturtium officinale*) provenientes del huerto comercial Hidrohuerta Tango Ltda., ubicado en la Parcela 15 San Agustín, Comuna de Calera de Tango, Región Metropolitana.

Esta hortaliza fue cultivada en un sistema hidropónico de raíz flotante bajo sombra, con una densidad de 3 a 5 semillas por alvéolo. Los plantines fueron transplantados junto con el sustrato al sistema hidropónico a los 25 días posteriores a la germinación y fueron cosechados manualmente y sin cuchillo cuando las plantas presentaron una altura promedio de 8 cm, aproximadamente 30 días después del transplante.

Los sanitizantes evaluados sobre las hojas de berros se obtuvieron en el comercio regular, y se detallan a continuación:

- 1 Hipoclorito de sodio (NaClO) (Cloro, Clorox, Santiago, Chile), concentración 50 g L⁻¹ al envasar, acidificado con ácido cítrico anhidro (RZBC, Rizhao, China), pureza 99,97%.
- 2 Dióxido de cloro (ClO₂) (Winzaclor-5, Winkler, Santiago, Chile), pureza 5%.
- 3 Clorito de sodio (Sigma-Aldrich, St. Louis, EE.UU.), pureza 80% y acidificado con ácido cítrico anhidro (RZBC, Rizhao, China), pureza 99,97%.
- 4 Ácido peroxiacético (Tsunami100, Ecolab, Barueri, Brazil), pureza 15%.

Las hojas de berros se envasaron en bolsas plásticas, modelo BB4L, dimensiones de 20 × 17 cm, permeabilidad de 3-6 mL m⁻² d⁻¹ para O₂ y de 50-150 mL m⁻² d⁻¹ para CO₂ a 23 °C y a 1 atm (CRYOVAC, Sealed Air Corporation, Chile).

Metodología

Posterior a la cosecha, las hojas de berros fueron transportadas en un contenedor aislante a aproximadamente 7 °C hasta el laboratorio del Centro de Estudios Poscosecha (35 km), donde fueron almacenadas 24 h en oscuridad y en bolsas macroperforadas a 0 °C y 90 % HR hasta su procesamiento.

El día del procesamiento, las hojas de berros se sacaron de la cámara de almacenamiento, y se llevaron a la sala de manipulación acondicionada a 8 – 9 °C, previamente limpia y sanitizada, donde las hojas de berros fueron seleccionadas, eliminándose todas aquellas que presentaron un color amarillamiento u otro, tamaño no característico, poca turgencia (pérdida de agua), daño físico (ruptura, o daño por insecto) y podredumbres. Posteriormente, a las hojas seleccionadas se les eliminaron los tallos lignificados mediante un corte manual con cuchillos de filo liso.

Seguidamente, las hojas fueron lavadas por inmersión con agua potable (pH: 7,2; 0% Cl libre) a 5 °C durante 5 min para retirar cualquier material extraño en ellas y luego se sometieron a un segundo lavado por inmersión durante 3 min en las diferentes soluciones sanitizantes (Cuadro 1, Fig. 1).

Previo a cada lavado, se determinó la calidad del agua utilizada pH y conductividad eléctrica mediante un pHmetro (Hanna Instruments, ph 21, Rhode Island, EE.UU.), cloro libre del agua y de cada solución sanitizante con un medidor fotométrico de cloro (Hanna Instruments, HI 95771C, Rhode Island, EE.UU.).

Ensayo I:

Cada sanitizante fue aplicado en distintas dosis o concentraciones (Cuadro 1). El tratamiento testigo se realizó con HS (100 mg L⁻¹). Tras finalizar cada lavado con cada uno de los sanitizantes, las hojas de berros fueron escurridas sobre una malla de acero inoxidable durante 3 min y fueron sometidos a una centrifugación manual para eliminar el agua restante. Posteriormente, 40,3 ± 0,3 g de hojas de berros fueron envasadas en las bolsas BB4L y selladas con una máquina termoselladora (Impulse Sealer Tew Equipment Co. Taiwán), generando una atmósfera modificada pasiva. Adicionalmente, se realizó un segundo tratamiento con HS, siguiendo la misma metodología descrita anteriormente. Sin embargo, las hojas de berros se envasaron en bolsas perforadas (BP) (7 perforaciones de 0,7 mm de diámetro) para simular las concentraciones de gases de una atmósfera de aire (CO₂ <1%, O₂ >19%) y alta humedad relativa (Cuadro 1). Todos los tratamientos se almacenaron 13 d a 5 °C y su calidad se analizó cada 4 d (Fig. 1).

Ensayo II:

Las hojas de berros fueron sometidas a los mismos procedimientos de atmósfera modificada y color que en el ensayo I, adicionalmente se realizaron mediciones de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante y su calidad se analizó cada 6 días durante 13 días a 5 °C.

Cuadro 1. Tratamientos sanitizantes, dosis de aplicación y tipo de envasado en hojas de berros.

Sanitizante	Concentración (mg L ⁻¹)	Envasado	pH	Cl libre (mg L ⁻¹)
Hipoclorito de sodio (HS)	100	BP	7,3	98
Hipoclorito de sodio (HS)	100	EAM	7,3	98
Dióxido de cloro (DC)	10	EAM	7,8	15
Clorito de sodio acidificado (CSA)	500	EAM	2,9	500
Ácido peroxiacético (APA)	90	EAM	4,5	---

BP: Bolsa perforada.

EAM: Envasado en atmósfera modificada pasiva.

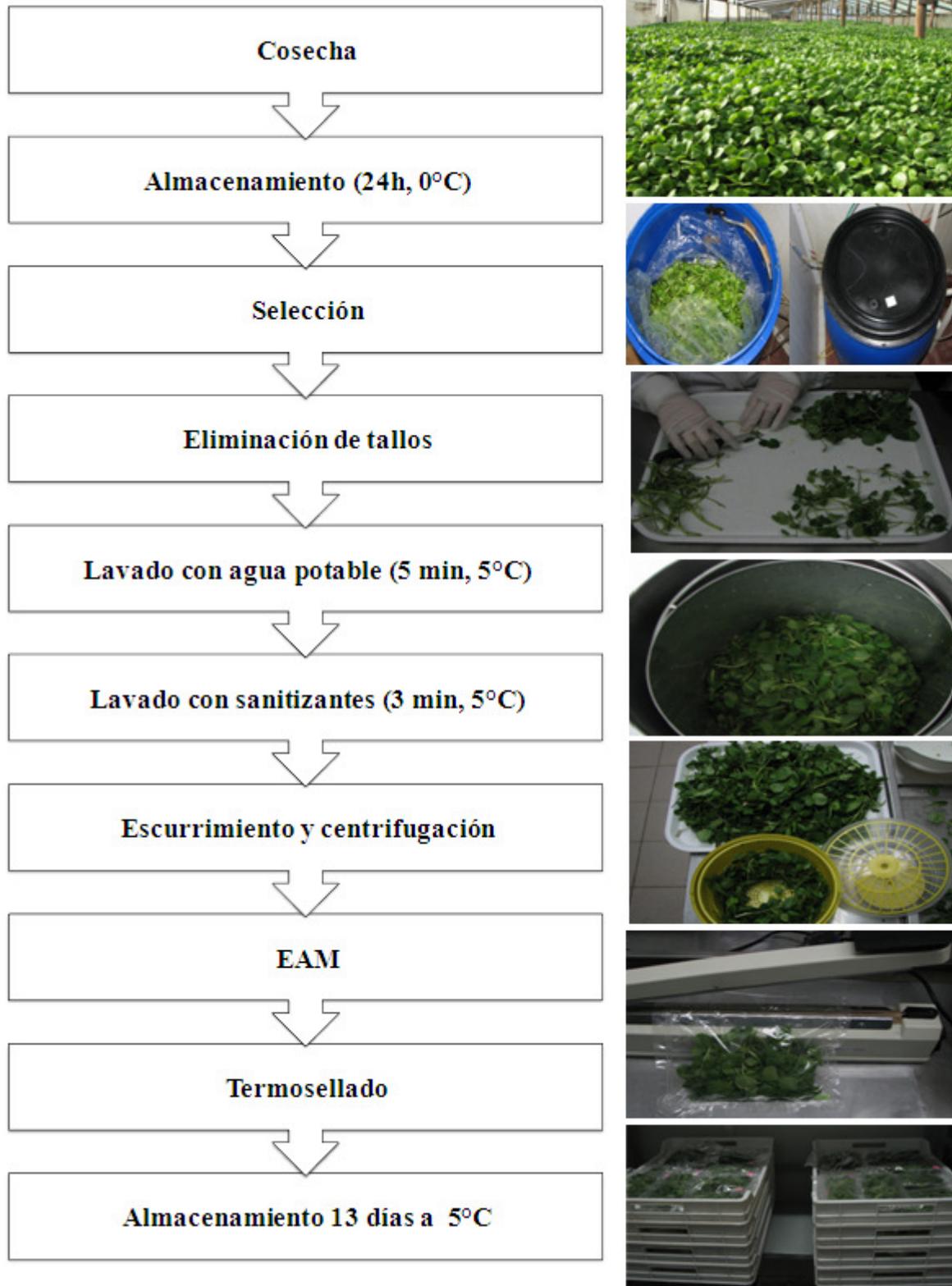


Figura 1. Diagrama de flujo para el procesamiento de hojas de berros tratadas con diferentes soluciones sanitizantes y almacenadas 13 d a 5 °C.

Parámetros evaluados ensayo I

Determinaciones de actividad metabólica

Tasa respiratoria (TR): La tasa respiratoria fue determinada a través del modelo estático (Kader, 2002a), para el cual se colocaron $50,2 \pm 0,2$ g de hojas de berros tratadas en recipientes de vidrio de $0,99 \pm 0,07$ L de volumen, previamente sanitizados con el fin de minimizar errores (Fig. 2). Los frascos fueron cerrados herméticamente por $1,8 \pm 0,2$ horas, tiempo necesario que tardan las hojas de berro cortado en acumular concentraciones interiores ($> 0,5\%$ CO_2). Tras finalizar este período, se tomaron 10 mL de muestra gaseosa del espacio de cabeza con una jeringuilla de plástico del mismo volumen (Nitro, Argentina) y se inyectaron en un cromatógrafo de gases (CG Hewlett Packard, 5890 serie II, Palo Alto, CA, EEUU) equipado con un detector de conductividad térmica (TCS) y una columna Porapak Q (80/100 mesh 6 ft, Hewlett Packard, EE.UU.). La temperatura del inyector, horno y detector fue de 50, 50 y 200 °C, respectivamente. Se utilizó gas helio como gas transportador, a una presión de 50 psi. Diariamente, el CG se calibró con una mezcla estándar (Indura, Chile) 1% de CO_2 . La tasa respiratoria se midió durante 13 días a 5°C, y fue expresada como la producción de CO_2 en $\text{mL kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ (Kader, 2002).

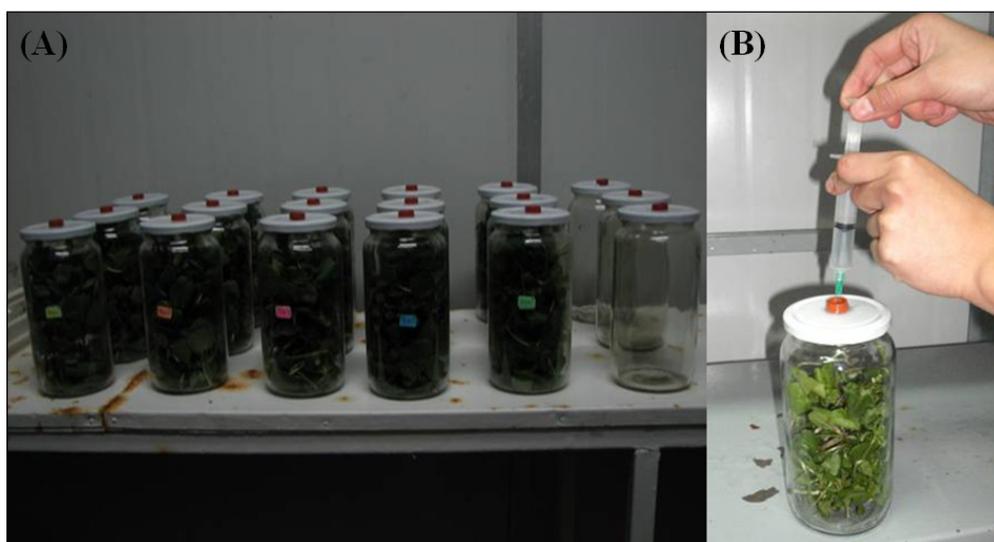


Figura 2. Recipientes de vidrio con hojas de berros (A) y toma de la muestra gaseosa del espacio de cabeza (B).

Atmósfera modificada pasiva (EAM): Muestras de $40,3 \pm 0,3$ g de hojas de berro fueron envasadas en bolsas de polipropileno BB4L de 20×17 cm (Sealed Air, CRYOVAC, Chile). Las concentraciones de CO_2 y O_2 de la atmósfera interna de las bolsas fueron monitoreadas durante el almacenamiento tomando 10 mL de muestra con una jeringa de plástico a través de la película plástica. El orificio a través del cual se tomó la muestra, se selló con cinta adhesiva para no alterar la concentración de gases al interior de la bolsa. Estas muestras se analizaron en el CG descrito anteriormente. La concentración de la atmósfera modificada interna se monitoreó durante 13 días a 5 °C y se expresó como porcentaje de CO_2 y O_2 .

Determinaciones físicas

Color: Durante el almacenamiento se evaluó el color por la cara adaxial de 10 hojas por bolsa, sobre una superficie negra para evitar interferencias de color, con colorímetro compacto triestímulo (Minolta Chroma meter CR-300, Tokio, Japón) y diámetro de apertura de 11 mm, previamente calibrado con un plato de superficie blanca ($Y = 92,6$; $x = 0,3161$; $y = 0,3325$) con fuente iluminante D65 (Fig. 3). Los valores se expresaron en los parámetros de color del sistema CIElab donde L indica la luminosidad del color (0 = negro, 100 = blanco), a^* ($-a =$ verde; $a =$ rojo) y b^* ($-b =$ amarillo; $b =$ azul). Además se determinó el tono ($\text{Hue} = \tan^{-1}(b/a)$) y saturación del color ($C^* = [(a^2 + b^2)^{1/2}]$) (Mc Guire, 1992, Oms-Oliu *et al.*, 2006).



Figura 3. Medición de color en hojas de berros.

Para evaluar el grado de amarillamiento en las hojas de berros se realizó una escala de color (Figura 4) con valores de 5-1 (5 = verde oscuro, 4 = verde claro, 3 = verde amarillento, 2 = amarillo verdoso y 1 = amarillo) por medio de la medición del color de de 10 hojas representativas, cuyo valores medios representan a cada puntuación de la escala. Aquellas hojas con valores por debajo de la categoría 3 fueron consideradas como no aceptables para el consumidor.

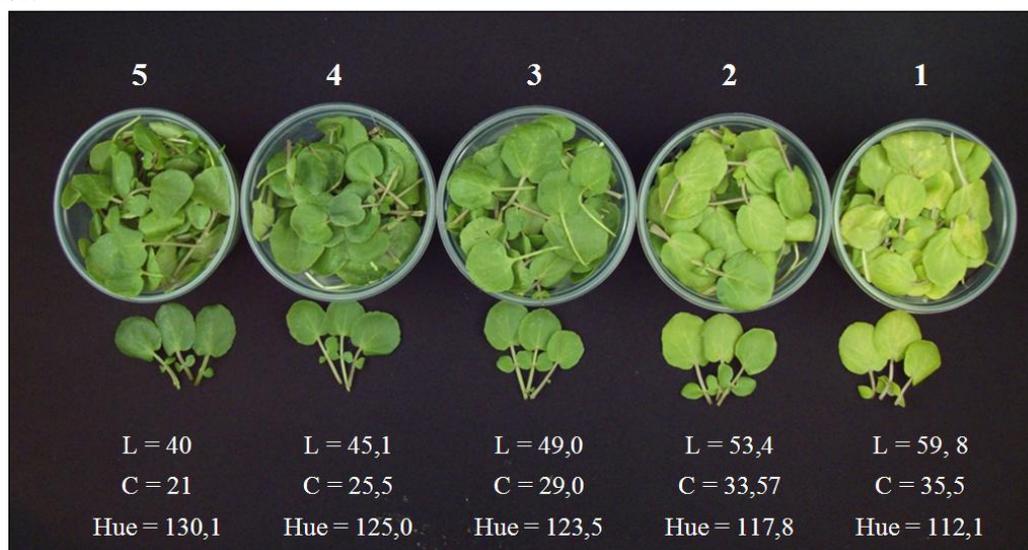


Figura 4. Escala de color para hojas de berros.

Análisis microbiológico: Muestras de 10 g de hojas de berros fueron homogenizadas 30 s en 90 mL de agua peptonada estéril pH 7 (Merck, Alemania) en un masticador (IUL Instruments, España). Luego se realizaron diluciones seriadas en agua peptonada según lo requerido para cada recuento. Adicionalmente, el día del procesamiento se tomaron tres muestras de la materia prima, sin procesar para evaluar su calidad microbiológica. Los medios de cultivos, temperaturas y tiempo de incubación utilizados se detallan en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Detalle de los microorganismos analizados, cultivos y condiciones de incubación

Microorganismo	Condiciones de incubación		Medio de Cultivo ¹
	Temperatura (°C)	Tiempo (días)	
Aerobios mesófilos	37	2	Agar conteo de placa (PCA) pH 7
Aerobios psicrófilos	7	7	Agar conteo de placa (PCA) pH 7
Enterobacterias	37	2	Agar azul de metileno (EMB) pH 10
Levaduras y hongos	22	3 y 5	Agar papa dextrosa (PD) [*] pH 3,5
Lactobacillus	37	2	Agar Man, Rogosa y Sharpe (MRS) ^{**} pH 5

¹ Medios de cultivo (Merck, Alemania)

^{*} Medio acidificado con ácido láctico.

^{**} Incubado en cámara anaeróbica.

Los recuentos microbiológicos totales fueron expresados en unidades logarítmicas de la unidad formadora de colonia por gramo de producto ($\log \text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$). Todos los tratamientos fueron analizados por triplicado. La calidad microbiológica se comparó con la Legislación chilena para frutas y vegetales comestibles pre-elaborados listos para el consumo (Reglamento Sanitario de los Alimentos DTO N° 977/96, 2010) (Anexo I, Cuadro 1).

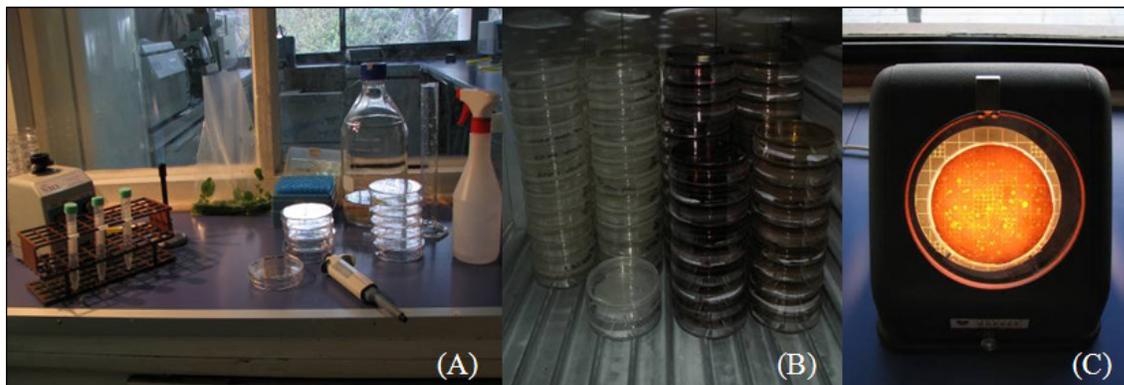


Figura 5. Cultivo (A), incubación (B) y conteo de placas (C) para evaluar la calidad microbiológica de hojas de berros.

Calidad sensorial: Se utilizó el método de análisis descriptivo-cuantitativo, aplicado a un panel de 12 jueces no entrenados, usando una pauta no estructurada de 0 a 15 cm (Anexo II), donde se evaluó apariencia, color, turgencia y sabores extraños en las hojas de berros (Espinosa, 2007). Las muestras fueron codificadas con números de tres dígitos elegidos al azar para ocultar la identidad real de cada tratamiento con el objetivo de minimizar la subjetividad y asegurar la exactitud de la prueba (Kim *et al.*, 2007). Se consideró una puntuación sobre 7,5 como la media mínima aceptable.

Para lograr una adecuada evaluación sensorial de las hojas de berros, a cada evaluador se le proporcionó una muestra fresca sin tratar y lavada con agua potable en cada medición con el fin de que pudiesen comparar y tener una mejor idea de como evolucionan las hojas de berro durante el almacenamiento tanto en los aspectos visuales como gustativos.

Parámetros evaluados ensayo II

Determinaciones químicas

Contenido de compuestos fenólicos totales: Para la preparación de los tejidos, se tomó 1 g de hojas de berros por bolsa y se homogenizó con un Ultra – Turrax IKA (T18 Basic, Alemania) en una solución hidroalcohólica de 9 mL de MeOH:H₂O (1:1, v/v) durante 2 min a 13500 rpm. Luego, el homogenizado se centrifugó en una centrífuga termorregulada (Hermle Labortechnik, Z326K, Alemania) durante 30 min a 10000 g_n a 4°C. El sobrenadante se recuperó y se filtró con papel Whatman n° 2 (Schleicher & Schuell, Inglaterra).

La determinación de fenoles totales se llevó a cabo según el método colorimétrico que utiliza el reactivo de Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965), para lo cual 500 μ L de extracto de hojas de berros fueron mezclados con una solución (1:99, v/v) de tartrato de sodio potasio 0,095 mol L⁻¹ y carbonato de sodio 0,073 mol L⁻¹. Luego, la mezcla se agitó y se incubó durante 15 min a temperatura ambiente. Posteriormente, se agregó 1 mL de solución de reactivo de Folin:H₂O (1:1, v/v) se agitó y se incubó durante 1 h en oscuridad a temperatura ambiente. Finalmente, se midió la absorbancia de la mezcla a 660 nm en un espectrofotómetro visible (T70UV-Vis, PGInstrumentsLtd, AlmaPark, Woodway Lane, Reino Unido) utilizando MeOH:H₂O (1:1) (v/v) como blanco. El contenido de fenoles totales fue calculado por medio de una curva de calibración realizada con ácido gálico en un rango de concentraciones entre 0- 0,45 mg mL⁻¹ y, con un coeficiente de correlación $R^2 = 0,9944$. Esta curva permitió expresar los resultados en miliequivalentes de ácido gálico por gramo de peso fresco (meq EAG g_{PF}^{-1}).

Actividad antioxidante total: La actividad antioxidante se evaluó sobre la capacidad reductora de las hojas de berro para reducir el Fe⁺³ hasta la forma ferrosa Fe⁺² mediante el método colorimétrico FRAP propuesto por Benzie y Strain (1996), para lo cual se tomó 1 g de hojas de berros por repetición y se congeló con nitrógeno líquido para molerlas en un mortero hasta obtener un polvo fino. Luego, se agregó 9 mL de solución hidroalcohólica de C₂H₆O:H₂O (1:1) y se centrifugó durante 30 min a 10000 g_n a 4°C. El sobrenadante se filtró con papel Whatman n° 2 (Fig. 7).

Posteriormente, se tomó una alícuota de 20 μL de extracto de hojas de berros y se colocó en una cubeta junto con 900 μL de una solución de buffer acetato 300 mmol L^{-1} (pH 3,5), solución acuosa de cloruro férrico hexohidratado 20 mmol L^{-1} y TPTZ [2, 4, 6-(tri-(2-piridil-s-triazina))] 10 mmol L^{-1} en HCl 0,2 M en una proporción 10:1:1 y se añadió 80 μL de agua miliQ (Fig. 8). Finalmente, se midió la absorbancia a 593 nm en el espectrofotómetro visible (descrito anteriormente) cada 15 s durante 4 min, utilizando un blanco de agua miliQ.

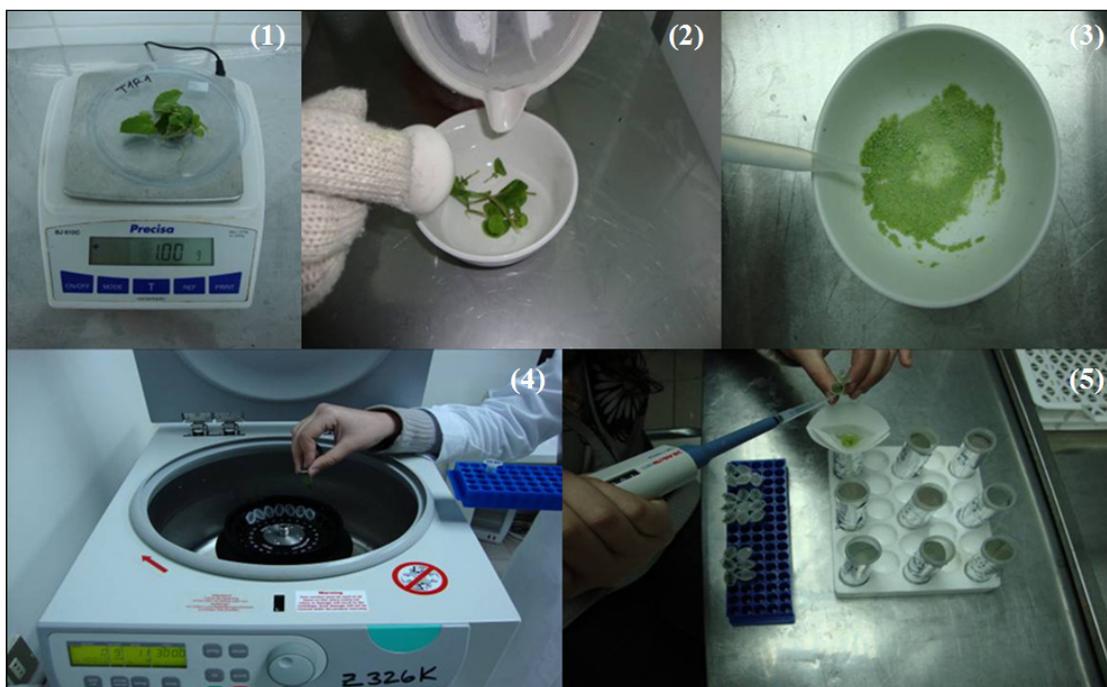


Figura 6. Preparación de extracto de hojas de berros para cuantificación de actividad antioxidante total. 1: pesado de hojas de berros; 2: congelado y molido de hojas de berro; 3: extracción con solución hidroalcohólica; 4: centrifugación de extractos; 5: filtrado de sobrenadante.

La actividad antioxidante total fue calculada por medio de una curva de calibración realizada con Trolox, en un rango de concentraciones entre 0- 0,24 mg mL^{-1} , con un coeficiente de correlación $R^2 = 0,9937$. Los resultados se expresaron en miliequivalentes de Trolox por gramo de peso fresco ($\text{meqT g}_{\text{PF}}^{-1}$).



Figura 7. Medición de la capacidad antioxidante total de hojas de berros tratadas con diferentes soluciones sanitizantes.

Diseño de un envase para hojas de berros mínimamente procesados bajo atmósfera modificada pasiva

Los cálculos de las atmósferas internas de envases sellados suponen permeabilidades constantes y tasas respiratorias del producto a una determinada temperatura (Brecht, *et al.*, 2003). La permeabilidad al gas de la película plástica debe permitir que el O₂ entre al envase a una velocidad compensada por el consumo de este gas por el producto. Así mismo se debe descargar el CO₂ para compensar la producción de este por el producto (Kader, 2002b).

Según lo anterior, para diseñar un envase apropiado y lograr una atmósfera modificada equilibrada es necesario conocer la tasa respiratoria del vegetal (Gómez-López *et al.*, 2007) expresada en CO₂ y O₂ emitidos, las concentraciones de CO₂ y O₂ esperadas dentro del envase, la superficie del envase y la masa del producto vegetal a utilizar.

Con toda la información requerida comentada anteriormente, se aplicó un modelo matemático que permitió calcular la tasa respiratoria ideal cuando es utilizado el film BB4L según la siguiente fórmula:

(1)

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

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

Donde:

RCO₂: tasa respiratoria CO₂ producido [mL kg⁻¹ h⁻¹]

M: masa del producto [kg]

S: superficie total del envase [m²]

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

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

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

(2)

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

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

Donde:

RO₂: tasa respiratoria O₂ consumido [mL kg⁻¹ h⁻¹]

M: masa del producto [kg]

S: superficie total del envase [m²]

0,21: concentración de O₂ atmosférico [%]

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

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

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

Existe poca información sobre la conservación de berros bajo EAM. Las concentraciones de gases recomendadas son muy diversas y varían según la especie y formato, por ejemplo para lechuga entera se recomiendan concentraciones de 2 a 5% de O₂ y 0% de CO₂, por el contrario la lechuga precortada se debe mantener en 1 a 5 % O₂ y 5 a 20% de CO₂ ; el cilantro y el repollo requieren de 3 a 5% de O₂ y 4 a 8% de CO₂, mientras que el eneldo, espinaca y perejil se les recomienda niveles de 5 a 10 % para O₂ y CO₂ (Kader, 2002b).

Según Kader (2002b), el berro es una hortaliza que de acuerdo a los niveles que alcanza su tasa respiratoria se clasifica como “muy alta”, con valores que se comprenden entre 40 a 60 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ a 5 °C.

En este modelo se asumió un cuociente respiratorio (CR) igual a uno, es decir, el volumen de CO₂ emitido es igual al O₂ consumido. Se consideró como una concentración adecuada para mantener la calidad de las hojas de berros mayor a 10 % de CO₂ y no menor a 5% de O₂ (Aharoni, 1989).

Para los cálculos de tasa respiratoria se utilizó una película plástica BB4L de permeabilidades de 3-6 y 50-150 (mL m⁻² d⁻¹ 23°C 1 atm) para O₂ y CO₂ respectivamente. Para convertir los mL de CO₂ a mg se multiplicaron por 1,94 mg mL⁻¹ CO₂ a 5°C factor de conversión que varía según la temperatura (Kader, 2002b).

Se confeccionaron bolsas de 20 x 17 cm (0,034 m²) en las cuales se envasaron 40 g de hojas de berros por bolsa.

Cálculo de la permeabilidad al CO₂ de la película plástica (z):

- Concentración esperada CO₂: 10%
- Concentración esperada O₂: 5%
- RCO₂: 40 mL kg⁻¹ h⁻¹
- Masa (M): 0,040 kg
- Superficie envase (S): 0,034 m²

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

$$z = \frac{0,040 \text{ (kg)} \times 40 \text{ (mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1})}{0,034 \text{ (m}^2\text{)} \times 0,1 \times 1/24 \text{ (d h}^{-1}\text{)}}$$

$$z = 11294,1 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$$

Luego, sustituyendo los datos en la fórmula (2) se obtiene:

$$y = \frac{0,040 \text{ (kg)} \times 40 \text{ (mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1})}{0,034 \text{ (m}^2\text{)} \times 0,16 \times 1/24}$$

$$y = 7058,8 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$$

Según los resultados se puede ver que las permeabilidades de la bolsa utilizada BB4L (3-6 mL m⁻² d⁻¹ para O₂ y de 50-150 mL m⁻² d⁻¹ para CO₂) fueron bastante inferiores a las que esta especie requería debido a su alta tasa respiratoria, por lo que para próximos estudios es recomendable utilizar films con permeabilidades en los rangos de 12000 mL kg⁻¹ h⁻¹ para CO₂ y de 7000 mL kg⁻¹ h⁻¹ para O₂ para esta especie en este tipo de conservación.

DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANALISIS ESTADISTICO

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con cinco tratamientos y tres repeticiones para el primer y segundo ensayo. La unidad experimental fue una bolsa con 50 g de hojas de berros.

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

Todos los resultados se analizaron mediante el programa de software estadístico Minitab 15 © 2006 Minitab Inc. ISBN 978-0925636-54-6.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayo I

Tasa respiratoria (TR)

Posterior al procesamiento, la TR varió en un rango de 51 a 27 mg CO₂ kg h⁻¹, siendo más alta en los tratamientos con CSA y APA (51,8 y 48,9 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹, respectivamente), mientras que el tratamiento DC presentó los valores más bajos (27,3 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹). Sin embargo, tras 1 día a 5°C todos los tratamientos aumentaron la TR en rangos de 2 a 55 % [<10% CSA y APA; 10 -30 % HS; > 30% DC] en comparación con los valores iniciales (día 0)

Luego, la TR de todos los tratamientos disminuyó a lo largo del período de almacenamiento, llegando a tasas en un rango de 20 a 30 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ el día 13. Los berros tratados con APA presentaron la reducción más alta (57%) con respecto del día 1 en comparación con el resto de tratamientos, mientras que los tratados con CSA presentaron la TR más alta (25%) con respecto del resto durante los días 5 y 9 (Figura 8, Anexo III, Cuadro1).

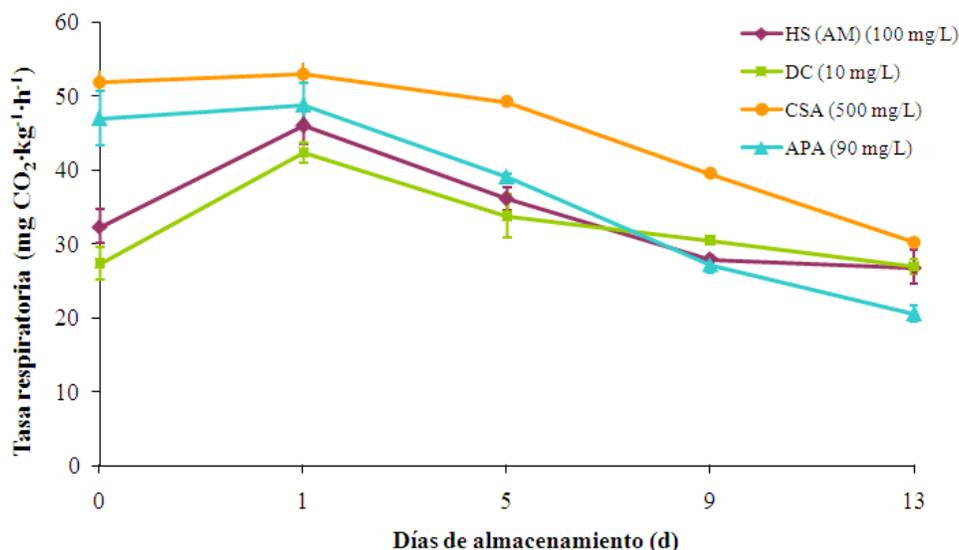


Figura 8. Tasa respiratoria de las hojas de berros lavados con diferentes sanitizantes conservados 13 días a 5 °C. Los valores representan a la media (n=3) ± ES.

En la industria del mínimo proceso la alta manipulación, las operaciones de corte y la aplicación de sanitizantes tienen un alto impacto en la aceleración de los cambios fisiológicos que conducen a la senescencia y a una menor vida útil debido a aumentos en la tasa respiratoria (Allende *et al.*, 2006; Kader, 2002b). Martínez-Sánchez *et al.*, (2008) observaron en hojas de cuatro *Brassicaceas* que la aplicación de sanitizantes provoca un estrés fisiológico lo que se traduce en

variaciones de la tasa respiratoria. Contrariamente a la literatura, las tasas respiratorias más altas durante los 13 días de almacenamiento de todos los sanitizantes fueron registradas el día 1 y no inmediatamente después del procesamiento como ha sido reportado por estudios en rúcula, mizuna, berros e hinojo mínimamente procesados. Los autores han respaldado esto en base a que la respiración fue estimulada temporalmente producto de los cortes y de la manipulación durante el procesamiento (Martínez-Sánchez *et al.*, 2008; Escalona *et al.*, 2006).

Es sabido que en la industria del mínimo proceso la alta manipulación, las operaciones de corte y la aplicación de sanitizantes promueven la calidad e inocuidad del producto, pero por otro lado tienen un alto impacto en la aceleración de los cambios fisiológicos que conducen a la senescencia y a una menor vida útil debido a aumentos en la tasa respiratoria (Allende *et al.*, 2006; Kader, 2002b).

El lavado de las hojas de berros con diferentes sanitizantes generaron diferencias entre tratamientos, lo cual concuerda con lo expuesto por Martínez-Sánchez *et al.*, (2008), quienes en un estudio en hojas de cuatro *Brassicaceas* sugirieron que debido a la aplicación de sanitizantes se provocó un estrés fisiológico en el tejido traducido en variaciones de la tasa respiratoria.

Según lo anterior lo que se busca en un sanitizante es que mantenga baja, o reduzca al mínimo la tasa respiratoria, por lo que el tratamiento con APA sería el más indicado.

Envasado en atmósfera modificada pasiva (EAM)

Las bolsas con berros tratados con HS y envasados en bolsa perforada (BP) presentaron concentraciones mayores al 18% de O₂ y menores al 1% de CO₂ en su atmósfera interna durante todo el período de almacenamiento, alcanzan el equilibrio. En el resto de los tratamientos se evidenció un aumento de la concentración de CO₂ y una disminución en la concentración de O₂ a lo largo del período de almacenamiento y alcanzando el equilibrio entre el día 5 y 6 de almacenamiento (Fig. 9).

Todos los tratamientos presentaron una concentración interna de CO₂ sin diferencias significativas durante los primeros 5 días de almacenamiento (Fig. 9); sin embargo, al final del almacenamiento, los berros lavados con CSA (500 mg L⁻¹) presentaron una concentración de CO₂ un 15,60% mayor con respecto de HS (AM) (Anexo IV, Cuadro 2).

Para el O₂, no se evidenciaron diferencias significativas entre tratamientos durante los 13 días de almacenamiento.

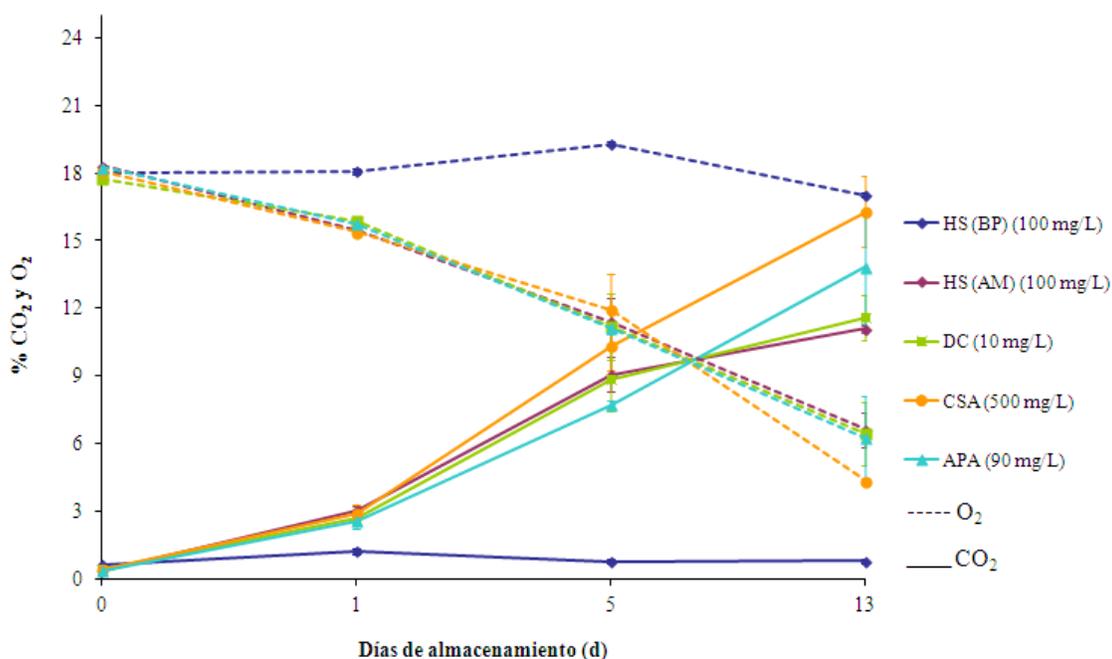


Figura 9. Evolución de la composición de la atmósfera interna (% CO₂ y O₂) en las bolsas de berros lavados con diferentes sanitizantes y conservados 13 días a 5° C. Los valores corresponden a la media (n=3) ± ES.

Las hojas tratadas con CSA, debido al efecto estimulante de este sanitizante sobre la tasa respiratoria, logró mayores concentraciones de CO₂ y los menores de O₂ en un menor tiempo que el resto de los tratamientos, lo que sugiere que bajo su uso se pueden conseguir los niveles y estabilidad de los gases deseados en un menor tiempo de almacenamiento.

Color

- **Luminosidad:** Al primer día de conservación la luminosidad varió en un rango de 43 a 45 la cual sufrió un aumento significativo promedio de 4,7 unidades llegando al día 13 de almacenamiento a valores entre 47 y 51 (Cuadro 3, Fig. 10). Este parámetro va desde 0 (negro) a 100 (blanco) (Vandekinderen *et al.*, 2009a), lo cual según Rico *et al.*, (2007) significa que un aumento del parámetro L corresponde a un producto más claro, que en berros refleja hojas más amarillas como fue observado.

De acuerdo con la escala de color (Fig. 4), los berros almacenados en bolsa perforada presentaron un color bajo el límite de aceptabilidad (categoría 3 y 2) al final del almacenamiento (día 13), mientras que en el resto de los tratamientos presentaron un color que varía desde un color oscuro a uno más claro (5 a 3 puntos), manteniéndose dentro de los rangos aceptables durante el almacenamiento. Este cambio evidencia un aumento del valor de la luminosidad; sin embargo, no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 3).

- **Croma:** Al día uno de almacenamiento, los valores de este parámetro variaron entre 25,8 y 27,5 unidades, experimentando un aumento promedio en todos los tratamientos de 3,2 unidades desde el inicio hasta el final del almacenamiento (día 1 al 13), generando diferencias significativas debido al tiempo de conservación. Sin embargo no se observaron mayores diferencias entre los tratamientos (Cuadro 3, Figura 10).

Al final del almacenamiento, los tratamientos que presentaron un mayor valor de croma fueron HS (BP) y CSA con 31,2 y 30,3 unidades respectivamente, lo que corresponde a un color catalogado como aceptable (categoría 2 en la escala de color); mientras que el tratamiento DC presentó menor valor de croma con 29,30 unidades ubicándose en la categoría 3 de la escala de color, límite de aceptabilidad por el consumidor.

- **Hue:** El uso de sanitizantes no generó diferencias entre los tratamientos durante los 13 días de estudio. Respecto al tiempo de conservación se observó para todos los tratamientos un significativo descenso en el valor de hue de aproximadamente 3 unidades durante todo el período de almacenamiento, representado en una pérdida del tono verde en las hojas de berros (Cuadro 3). Los berros lavados con DC presentaron un mayor valor del ángulo hue ($122,95^\circ$), lo que se refleja en hojas con colores verdes más intensos una vez finalizado el almacenamiento.

Cuadro 3. Variación de los parámetros de color de los berros lavados con diferentes soluciones sanitizantes y conservados 13 días bajo EAM a 5° C.

Parámetro colorimétrico	Tratamiento	Tiempo de almacenamiento (días)			
		Día 1	Día 5	Día 9	Día 13
L	Materia Prima	43,4	-	-	-
	HS BP (100 mg L ⁻¹)			48,54 BC	
	HS (100 mg L ⁻¹)	43,8 A ns	47,8 B ns	ns	51,2 C ns
	DC (10 mg L ⁻¹)	43,8 A	46,1 ABC	47,0 BC	47,6 C
	CSA (500 mg L ⁻¹)	43,9 A	47,5 B	47,2 B	48,0 B
	APA (90 mg L ⁻¹)	43,7 A	47,1 B	47,9 B	48,1 B
	APA (90 mg L ⁻¹)	45,1 A	46,8 BC	47,9 C	48,8 C
Croma	Materia Prima	25,8	-	-	-
	HS BP (100 mg L ⁻¹)				
	HS (100 mg L ⁻¹)	25,7 A ns	29,4 AB ns	29,4 BC ns	31,2 C ns
	DC (10 mg L ⁻¹)	27,4 A	28,8 B	29,3 BC	29,8 C
	CSA (500 mg L ⁻¹)	27,1 A	29,5 B	28,0 B	29,3 B
	APA (90 mg L ⁻¹)	26,9 A	28,6 B	28,6 C	30,3 D
	APA (90 mg L ⁻¹)	27,1 A	28,3 AB	29,2 B	29,6 B
Hue	Materia Prima	126,0	-	-	-
	HS BP (100 mg L ⁻¹)				
	HS (100 mg L ⁻¹)	125,3 C ns	123,3 B ns	123,0 AB ns	121,7 A ns
	DC (10 mg L ⁻¹)	124,6 C	124,2 B	123,8 B	122,1 A
	CSA (500 mg L ⁻¹)	124,9 B	123,6 A	123,6 A	122,9 A
	APA (90 mg L ⁻¹)	125,4 C	124,0 B	122,9 AB	121,3 A
	APA (90 mg L ⁻¹)	124,7 B	124,4 AB	123,1 A	121,9 A

Medias señaladas con letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Letras mayúsculas comparan a lo largo del tiempo y las letras minúsculas comparan entre tratamientos; (ns: no significativo).

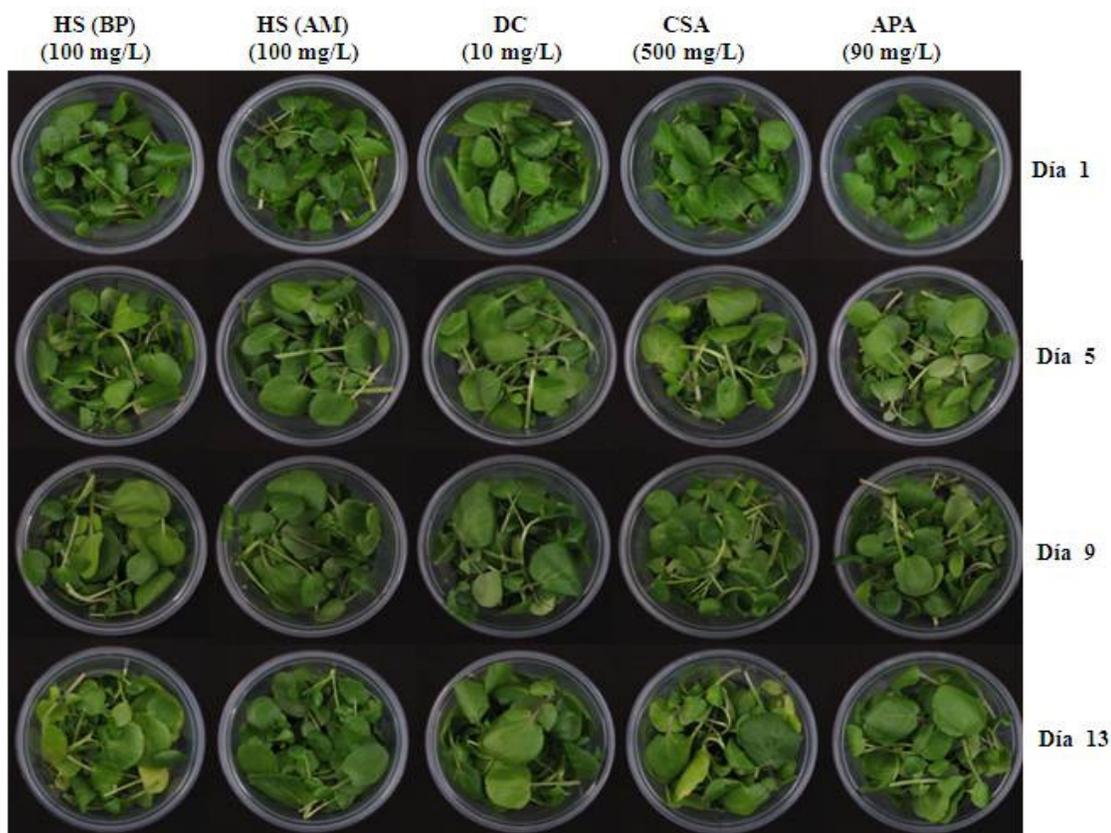


Figura 10. Variación de color para los diferentes tratamientos: HS (hipoclorito de sodio), DC (dióxido de cloro), CSA (clorito de sodio acidificado), APA (ácido peroxiacético) conservados 13 días a 5 °C.

Según los resultados expuestos, no se observó clara influencia en el color de las hojas debido al lavado con los diferentes sanitizantes. Sin embargo el tiempo de almacenamiento generó cambios desde un color verde oscuro a un verde amarillento representado por un aumento de la luminosidad (L) e índice de saturación o croma (C), y un descenso en los valores del ángulo hue, lo que concuerda con experiencias de Das y Kim (2010) en brotes de brócoli tratados con HS (100 mg L^{-1}), agua electrolizada y ozonizada ($2 \mu \text{ L L}^{-1}$). Estos autores hallaron bajas diferencias entre tratamientos, pero un ligero aumento del amarillamiento en los floretes tras 9 días de almacenamiento a 5°C. Lo mismo confirman Kim *et al.*, (2007) y Wang *et al.*, (2004), quienes reportaron leves pérdidas de color en cilantro lavados con HS (100 mg L^{-1}), CSA (100 mg L^{-1}) y agua ozonizada y electrolizada, representados en el aumento de 1 unidad en L y disminución de 4 unidades en hue luego de 14 días de almacenamiento a 0 y 5 °C.

Adicionalmente estudios en repollo tratados con HS (20 a 200 mg L^{-1}) y APA (80 a 250 mg L^{-1}) demostraron que los lavados con concentraciones más altas de ambos sanitizantes generaron una

mayor pérdida del color verde en comparación con las dosis más bajas (Vandekinderen *et al.*, 2009a). Contrariamente Chen *et al.*, 2010, observaron que las hojas de celtuce (*Lactuca sativa* var. asparagina L) lavadas con DC (10 - 40 - 100 mg L⁻¹) mantuvieron su color verde por más tiempo respecto del testigo.

Parte de lo anterior concuerda con lo expuesto en esta experiencia, ya que el DC consiguió los menores valores de croma, los mayores de hue y niveles promedios de L demostrando hojas de color verde oscuro, mientras que en el tratamiento APA logró los valores más altos de luminosidad, sin considerar el tratamiento de HS (BP), reflejando hojas más claras.

El tratamiento HS (BP) mantuvo un comportamiento similar al de los demás, pero sus valores de L y C fueron aproximadamente 2,5% y 1 % más altos respectivamente, y un 0,5% menores en hue que el resto de los tratamientos durante todo el tiempo de conservación. Esto puede estar atribuido a que atmósferas enriquecidas en CO₂ retardan la pérdida de color. Según Oms-Oliu *et al.*, (2009) atmósferas bajas en O₂ o moderadamente enriquecidas en CO₂, combinadas con bajas temperaturas de almacenamiento y alta humedad relativa retrasan el amarillamiento en vegetales de hoja, producido por la degradación de la clorofila, lo cual afecta directamente a la calidad visual de la mayoría de los vegetales de hoja verde (Das y Kim, 2010). Guevara *et al.*, (2001) en estudios en cladodios de tuna proponen que el uso de EAM (7% CO₂ y 8,5% O₂) disminuye la acción de la enzima clorofilasa (que degrada las moléculas de clorofila). Por otro lado, Martínez-Sánchez *et al.*, (2006a), observaron que el color de las hojas de rúcula tratadas con diversos sanitizantes envasadas en EAM (11-13 % CO₂ y 1-3 % O₂) se vio más afectado con un menor verdor que el testigo en aire. Sin embargo, los niveles de clorofilas en estas muestras no mostraron diferencias entre las muestras tratadas y el testigo. Lo anterior sugiere que el estudio de los niveles de clorofila y su relación con el desarrollo del color en las hojas de berros es de gran utilidad.

Por lo tanto, se puede decir que el uso de EAM y el uso de los sanitizantes DC y HS (AM) ayudan a mantener el color en las hojas de berros durante 13 días de almacenamiento en niveles aceptables.

Análisis microbiológico

- **Aerobios mesófilos:** La materia prima presentó elevados recuentos microbiológicos (6,46 log UFC·g⁻¹), los cuales disminuyeron tras el lavado con los diversos sanitizantes (entre 4,4 y 5,6 log UFC·g⁻¹) (Anexo III, Cuadro 3).

Al día 1 las hojas lavadas con CSA obtuvieron recuentos de 4,4 log UFC·g⁻¹ significativamente menores al resto de los tratamientos, seguido por los tratamientos con HS (AM) y (BP) (5,0 y 5,2 log UFC·g⁻¹ respectivamente). El APA y DC obtuvieron una menor reducción de la carga inicial (5,6 y 5,7 log UFC·g⁻¹ respectivamente) demostrando ser significativamente diferentes. Al día 5 las hojas lavadas con CSA lograron poblaciones significativamente menores al resto de los tratamientos (6,2 log UFC·g⁻¹), tendencia que se mantuvo al día 9, donde el CSA y HS (AM) demostraron recuentos más bajos (7,1 y 7,2 log UFC·g⁻¹ respectivamente) (Anexo III, Cuadro 3), sin embargo al día 13 los recuentos del CSA fueron los más altos (7,8 log UFC·g⁻¹), mientras que las hojas tratadas con HS (AM) obtuvieron los menores recuentos (7, log UFC·g⁻¹) (Fig 11.).

El tiempo de almacenamiento generó aumentos significativos de aproximadamente 2,3 log UFC·g⁻¹ en todos los tratamientos entre el día 1 y el día 13

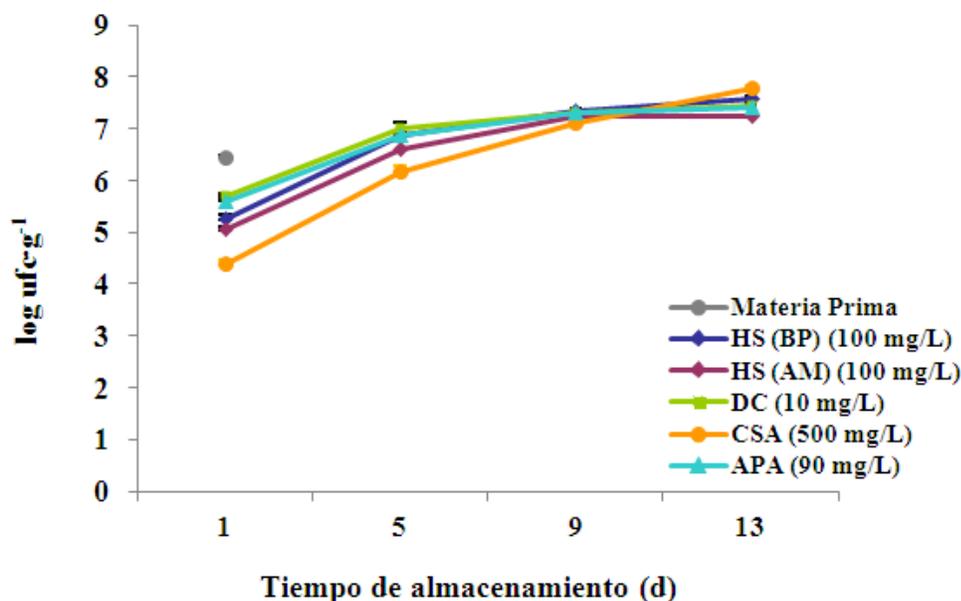


Figura 11. Evolución de los recuentos de aerobios mesófilos en hojas de berros lavadas con diferentes sanitizantes y conservadas 13 días a 5 °C bajo atmósfera modificada pasiva. Los valores son la media (n=3) ± ES.

El reglamento sanitario de los alimentos cataloga como un alimento apto para el consumo cuando sus recuentos microbiológicos de bacterias aerobias mesófilas son menores o iguales a 5,69 log UFC·g⁻¹ (Apéndice I, Cuadro 1).

Posterior al lavado, todos los tratamientos presentaron recuentos que se situaron dentro del límite normado, sin embargo las hojas tratadas con CSA fueron las únicas que se consideraría como “aceptable”, dejando al resto de los tratamientos en la categoría de “medianamente aceptable”. A partir del día 5 de almacenamiento, todos los tratamientos superaron el límite legal por lo que todos los tratamientos caen en la categoría de “rechazable”.

- **Aerobios psicrófilos:** Siguiendo la misma tendencia que en los recuentos de aerobios mesófilos, el tratamiento de CSA obtuvo conteos microbiológicos significativamente menores que el resto de los tratamientos durante los días 1, 5 y 9, ya que el día 13 logró los recuentos mas altos (8,0 log UFC·g⁻¹), siendo nuevamente el HS (AM), el tratamiento que obtuvo poblaciones menores al final del tiempo de estudio (7,1 log UFC·g⁻¹).

La materia prima presentó recuentos de 6,4 log UFC·g⁻¹ luego del lavado con los diferentes sanitizantes las hojas de berros presentaron recuentos que variaron entre 4,3 y 5,5 log UFC·g⁻¹ (Fig. 12). Tras 13 días de almacenamiento se observaron poblaciones significativamente mayores entre 7,1 y 8,0 log UFC·g⁻¹ (Anexo III, Cuadro 3).

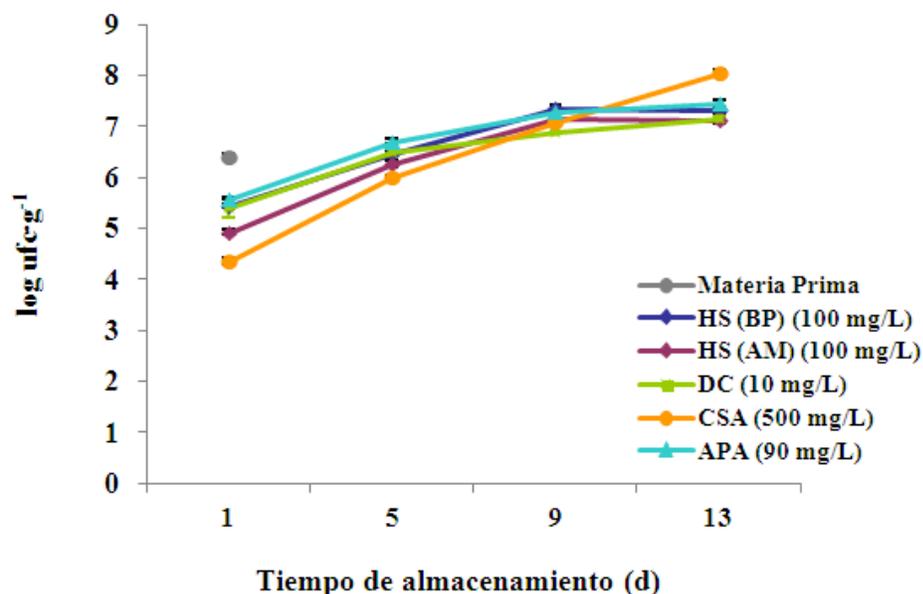


Figura 12. Evolución de los recuentos de aerobios psicrófilos en hojas de berros lavadas con diferentes sanitizantes y conservadas 13 días a 5 °C bajo atmósfera modificada pasiva. Los valores son la media (n=3) ± ES.

- **Enterobacterias:** La materia prima presentó recuentos de 6,0 log UFC•g⁻¹ superando el límite permitido. Al primer día el tratamiento CSA reportó las mayores reducciones (1,8 log UFC•g⁻¹), mientras que las hojas tratadas con DC las menores (0,5 log UFC•g⁻¹). Durante los días 5 y 9 el CSA mantuvo las poblaciones mas bajas (5,35 – 6,85 log UFC•g⁻¹), sin embargo finalizado el almacenamiento el HS (AM) obtuvo los menores recuentos (7,14 log UFC•g⁻¹) (Fig. 13).

Tras el lavado con los distintos sanitizantes se observaron recuentos entre 4,23 y 5,38 log UFC•g⁻¹. Debido al tiempo de almacenamiento se observaron aumentos entre 7,14 y 7,72 log UFC•g⁻¹ al día 13 (Anexo III, Cuadro 3).

El reglamento sanitario de los alimentos dictado por el MINSAL cataloga como un alimento seguro y apto para el consumo cuando los recuentos microbiológicos de enterobacterias son menores o iguales a 4,69 log UFC•g⁻¹ (Apéndice I, Cuadro 1).

Luego del lavado sólo los berros sanitizados con CSA fueron los únicos que se encontraron dentro de la categoría “medianamente aceptable” según la normativa chilena dejando al resto de los tratamientos en la categoría de “rechazable”. Con esto queda claro que la carga microbiológica inicial de los berros utilizados en este estudio fue demasiado alta lo que imposibilitó lograr mayores tiempos de almacenamiento dentro de las normas que establece el Ministerio de Salud ya que ni el HS, altamente utilizado en la industria por su buena eficiencia, logró reducir la carga microbiana en las hojas de berros a niveles aceptables.

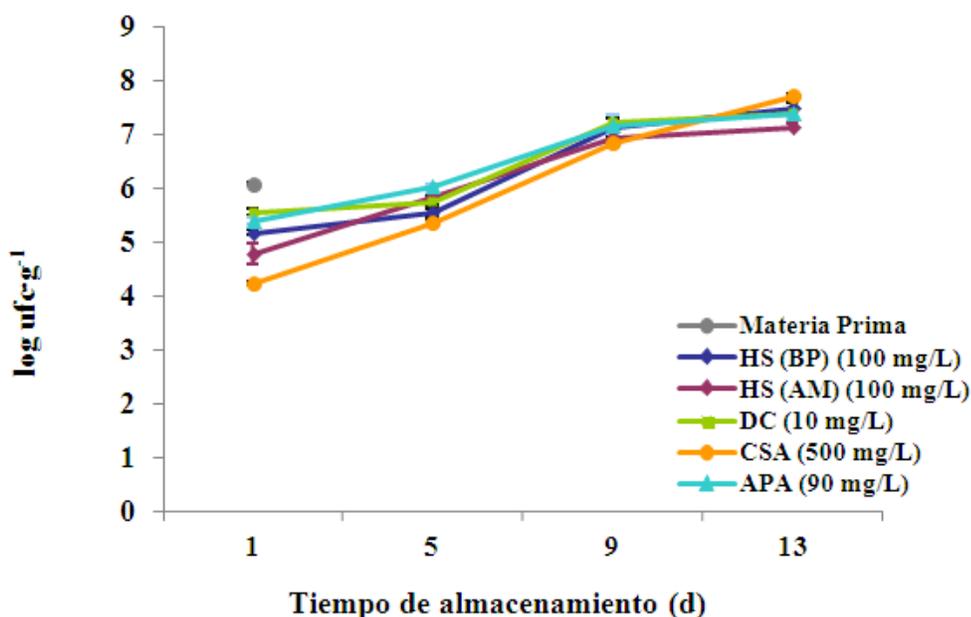


Figura 13. Evolución de los recuentos de enterobacterias en hojas de berros lavadas con diferentes sanitizantes y conservadas 13 días a 5 °C bajo atmósfera modificada pasiva. Los valores son la media ($n=3$) \pm ES.

- **Hongos y levaduras:** En esta experiencia se observaron recuentos de hongos y levaduras menores a 1 log UFC•g⁻¹.
- **Bacterias lácticas:** La materia prima presentó recuentos 2,2 log UFC•g⁻¹. Tras el lavado, los berros lavados con HS (BP), (AM) y CSA presentaron recuentos significativamente menores (1,61; 1,10 y 1,20 log UFC•g⁻¹ respectivamente) (Anexo IV, Cuadro 3), en comparación con los lavados con DC y APA, mientras que las hojas tratadas con HS (AM) demostraron los recuentos más bajos durante los trece días y presentando 3,25 log UFC•g⁻¹ al final del almacenamiento (Figura 15; Anexo III, Cuadro 3).
Tras el lavado las poblaciones de bacterias lácticas variaron entre 1,10 y 2,22 log UFC•g⁻¹ las cuales aumentaron significativamente luego de 13 días de almacenamiento llegando a niveles de 3,25 a 4,17 log UFC•g⁻¹.

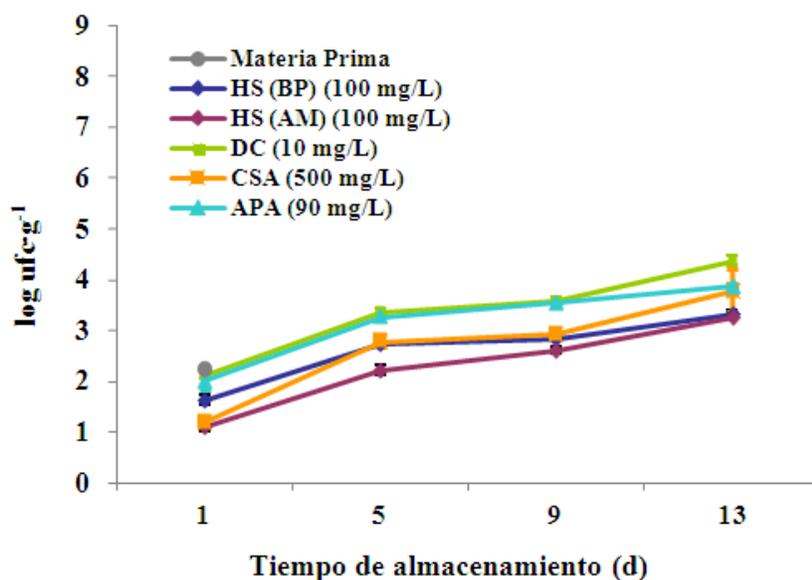


Figura 14. Evolución de los recuentos de bacterias lácticas en hojas de berros lavadas con diferentes sanitizantes y conservadas 13 días a 5 °C bajo atmósfera modificada pasiva. Los valores son la media ($n=3$) \pm ES.

Según Zagory (1999), la carga microbiana que se desarrolla en un producto hortícola es la principal causa que afecta su vida útil, por lo que una reducción microbiana inicial debido al lavado es una buena estrategia para garantizar una mejor calidad y mayor tiempo de almacenamiento.

Raybaudi-Massilia y Mosqueta-Melgar (2009), sostienen que es en el campo donde se produce la mayor contaminación microbiana en las hortalizas, la cual tiene su origen en el agua de riego, el uso de fertilizantes orgánicos, el suelo, aire, heces de animales, etc. Las hojas de berros de este estudio fueron cultivadas en un sistema hidropónico, que si bien disminuye en gran medida la contaminación de éstas no asegura su inocuidad (Espina, 2008). Por otro lado, Martínez-Sánchez (2008) afirma que la carga microbiana de hortalizas como el berro y la rúcula es generalmente superior a otras hortalizas, ya que éstas tienen todas las hojas expuestas al medio ambiente, y no están protegidas como sucede, por ejemplo, con las hojas interiores de las cabezas de lechugas. Esto hace indispensable una baja carga microbiológica desde el campo con el fin de asegurar una mayor vida útil, lo cual no fue el caso de los berros estudiados en este experimento. El primer día de almacenamiento se observaron poblaciones iniciales bastante altas con 6,5; 6,4; 6,1 y 2,2 log UFC•g⁻¹ de aerobios mesófilos y psicrófilos, enterobacterias y bacterias lácticas fueron muy similares a los encontrados por diversos autores la materia prima de brotes de brócoli (7,7 log UFC•g⁻¹ en aerobios mesófilos; 5,3 log UFC•g⁻¹ en enterobacterias), rúcula (5,3 log UFC•g⁻¹ en aerobios mesófilos), espinaca (3,5 log UFC•g⁻¹ en bacterias lácticas) y puerros (7,2 log UFC•g⁻¹ en aerobios mesófilos; 5,58 log UFC•g⁻¹ en enterobacterias) (Kim *et al.*, 2008; Martínez-Sánchez *et al.*, 2006a; Lee y Baek, 2008; Vandekinderen *et al.*, 2009b).

Como se puede ver en la Figura 15, se muestran los recuentos y las reducciones observadas en todos los microorganismos estudiados luego del lavado con los diferentes sanitizantes los cuales demostraron ser significativamente diferentes. En todos los tratamientos se obtuvo reducciones tras la aplicación de dichos sanitizantes, sin embargo éstas no se mantuvieron a lo largo del tiempo del almacenamiento ya que el efecto de los sanitizantes sobre estos microorganismos es de tipo bacteriostático, es decir, el daño celular que estos provocan durante el lavado sobre la célula bacteriana no inhibe su crecimiento, sólo lo retrasa, posibilitando posteriores multiplicaciones microbianas (Gutzmann *et al.*, 2000).

Para aerobios mesófilos, el CSA demostró ser tan o más efectivo que el HS en la reducción de estos microorganismos. Experiencias con HS (100-200 mg L⁻¹) lograron reducciones de 0,9 a 1,2 log UFC•g⁻¹ de aerobios mesófilos en lechuga mínimamente procesada conservada por 16 días a 4 °C (García *et al.*, 2003). Kim *et al.*, (2008) en estudios en brotes de brócoli sanitizados con DC obtuvieron reducciones de 1,3 y 0,63 log UFC•g⁻¹ en aerobios mesófilos y enterobacterias, respectivamente. Vandekinderen *et al.*, 2009b en experiencias en puerros lavados con APA y HS consiguieron reducciones de 1,3 y 1,0 log UFC•g⁻¹ respectivamente en bacterias mesófilas. Estudios realizados por Vandekinderen *et al.*, (2009a) en repollo lavados con APA (250 mg L⁻¹) lograron reducciones de 1,7 log UFC•g⁻¹ en bacterias mesófilas.

Luego en bacterias psicrófilas, se observó que nuevamente el CSA y el HS lograron las mayores reducciones tras el lavado (2 y 1,5 log UFC•g⁻¹ respectivamente) (Fig.15). Martínez-Sánchez *et al.*, (2006a) reportaron resultados similares, logrando reducciones de 1 y 2 log UFC•g⁻¹ de bacterias mesófilas y psicrófilas respectivamente en hojas de rúcula bajo EAM a 4 °C tratadas con HS, CSA y APA, siendo el CSA el sanitizante que en general obtuvo menores recuentos microbiológicos durante los 15 días de almacenamiento.

Las enterobacterias siguieron la misma tendencia que los aerobios mesófilos y psicrófilos con reducciones de 1,8 y 1,3 log UFC•g⁻¹ respectivamente (Fig.15). Estudios con cilantro lavado con HS (100 mg L⁻¹) y CSA (100 mg L⁻¹) mostraron resultados similares, reduciendo eficientemente bacterias mesófilas y enterobacterias siendo el CSA el tratamiento más eficiente (Kim *et al.*, 2007).

Respecto a las bacterias lácticas, el CSA y HS lograron reducciones similares (1 y 1,1 log UFC•g⁻¹ respectivamente) (Fig.15). Cabe mencionar que la carga inicial, y el posterior desarrollo de microorganismos luego del lavado no fue tan alto como los otros microorganismos estudiados. Las reducciones de éstas bacterias debidas al uso de DC fueron del orden de 0,1 log UFC•g⁻¹ al día 1, tras 13 días de almacenamiento logró recuentos de 4,37 log UFC•g⁻¹ superando al resto de los tratamientos. Estos valores son similares a los reportados por Chen *et al.*, (2010) quien en estudios en celtuce (lechuga de origen chino) mínimamente procesada lavada con DC observó poblaciones de 4,6 log UFC•g⁻¹ luego de 14 días a 4 °C.

El efecto del uso de EAM no fue visible en las reducciones iniciales, ya que luego del lavado las concentraciones de CO₂ no eran lo suficientemente altas como para retrasar el crecimiento microbiano. El beneficio de esta tecnología logró apreciarse luego de los 5 días cuando las concentraciones de CO₂ y O₂ eran de 9,6%, 11,3% respectivamente en las hojas tratadas con HS (EAM), ya que en contraste con las que fueron conservadas en bolsa perforada (condición de

aire), mantuvieron recuentos significativamente menores hasta el término del estudio (Anexo III, Cuadro 3). Estas diferencias pueden ser atribuidas a los altos niveles de CO₂ y bajos niveles de O₂ al interior de las bolsas de los berros envasados bajo AM. Existe amplia evidencia de que en elevados niveles de CO₂ se retarda el crecimiento y la propagación bacteriana (Zagory, 1999). La literatura ha reportado resultados similares a los obtenidos en este estudio, como es el caso de hojas de espinacas almacenadas en AC con 0,8% O₂ combinado con 0 a 10% CO₂ a 5 °C presentando recuentos de bacterias aerófilas y psicrofílicas menores en comparación con las envasadas en aire, ya que bajos niveles O₂ combinados con altos niveles de CO₂ a 5 °C disminuyen los recuentos bacteriológicos entre 10 a 100 veces comparados a los conservados en condiciones atmosféricas (Babic y Watada, 1996, citado por Escalona *et al.*, 2006). Confirmando lo anterior, trabajos en endivias cortadas almacenadas en 0, 10, 30 y 50% de CO₂ combinado con 10% O₂ a 3 °C demostraron menores poblaciones de bacterias mesófilas conforme aumentaron las concentraciones de CO₂ respecto del testigo en aire (Carlin *et al.*, 1996, citado por Zagory, 1999). Allende *et al.*, (2004), trabajaron con brotes de espinaca y observaron que aerobios mesófilos y enterobacterias mostraban diferencias entre el EAM respecto de los testigos en aire, mientras que bacterias lácticas no fueron afectadas por el uso de esta tecnología. Sin embargo, otros autores en trabajos similares, reportan resultados contrarios a los obtenidos en este estudio, Beuchat y Brackett (1991), en una de sus experiencias concluyeron que la calidad microbiológica de tomates enteros y cortados no fue afectada por el uso de HS y EAM. Asimismo, Abdul-Raouf *et al.*, (1993), observaron que el uso de EAM (3% O₂ y 97% N₂) no tuvo efectos en la reducción de *E.coli* O157:H7 en lechuga cortada y melón.

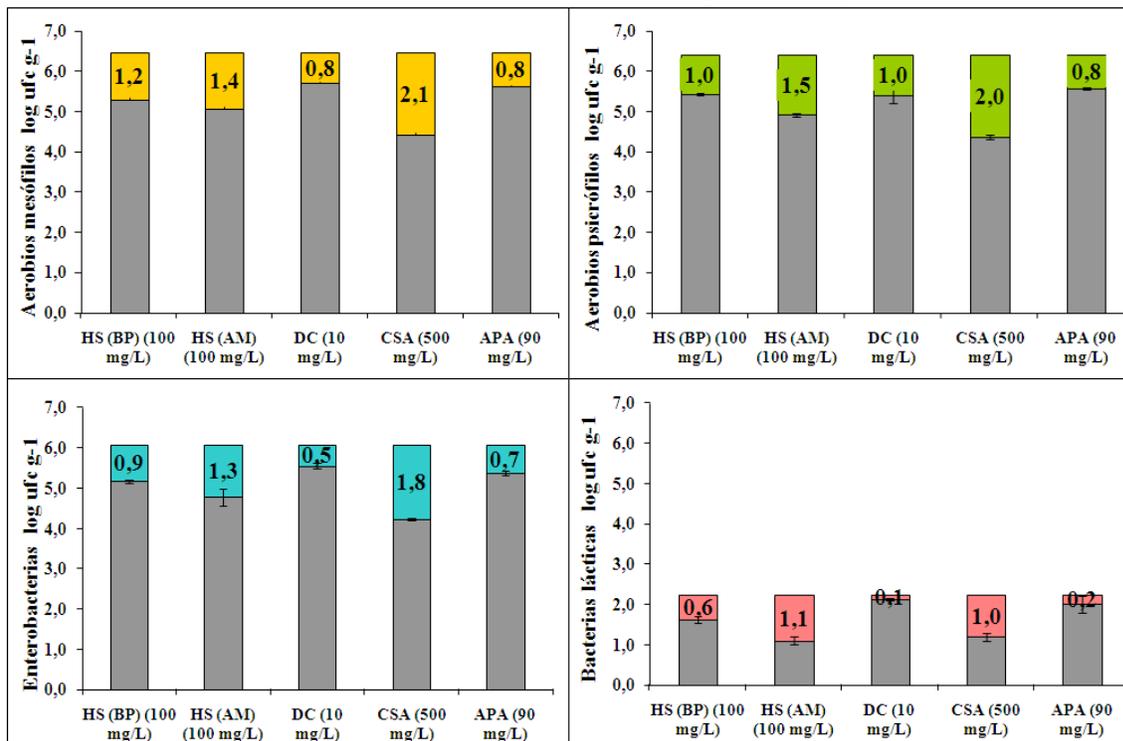


Figura 15. Efecto de sanitizantes y reducciones logarítmicas en las poblaciones de aerobios mesófilos, aerobios psicrofílicos, enterobacterias y bacterias lácticas en hojas de berros luego de ser lavados con diferentes sanitizantes (día 1). Los valores son la media(n=3) ± ES.

Luego de transcurridos los 13 días de almacenamiento, todos los tratamientos mostraron altas poblaciones para todos los microorganismos estudiados, llegando a recuentos sobre 7 log UFC•g⁻¹ en aerobios mesófilos, psicrófilos y enterobacterias, y sobre 3,2 log UFC•g⁻¹ en bacterias lácticas indistintamente del tratamiento aplicado. Park y Lee (1995, citado por Zagory 1999), reportaron que al final del almacenamiento los recuentos en hojas de berros lavadas con HS (100 mg L⁻¹) fueron bastante similares a los conseguidos por aquellos lavados sólo con agua. Esto se relaciona con que, las disminuciones en los recuentos debidos al uso de sanitizantes luego del lavado tienden a igualarse a las poblaciones de muestras sin lavar durante el tiempo de conservación. Adicionalmente, en ocasiones los sanitizantes no lograron ser lo suficientemente efectivos en reducir las poblaciones microbianas de la superficie de los vegetales lo que sugiere la posibilidad de que los microorganismos se alojen en lugares protegidos en la superficie, interior o zonas de corte del vegetal (Beuchat *et al.*, 2004; Velásquez *et al.*, 2009, Ölmez y Kretzschmar, 2009).

La aplicación de sanitizantes sobre las hojas de berros generó reducciones sobre las cargas microbianas iniciales de la materia prima; sin embargo, no fueron suficientes para prolongar la vida útil acorde con los tiempos necesarios del mercado, ni para mantener la calidad microbiológica dentro de los límites legales que dicta la norma chilena. Sobre esto recae la importancia de los factores que aseguran una mayor vida útil del producto. Uno de ellos es la buena calidad en la materia prima, y el segundo es una carga inicial microbiana baja, ya que cualquier daño físico y/o fisiológico compromete a los tejidos los cuales se deteriorarán rápidamente y proveerán de un buen sustrato para el crecimiento microbiano limitando la vida útil del producto (Zagory, 1999; Martínez-Sánchez *et al.*, 2006a). Según lo anterior, si se hubiese trabajado con una materia prima con una menor carga microbiológica inicial se habría logrado una mejor calidad microbiana con recuentos dentro de la norma por un mayor tiempo de almacenamiento.

Calidad sensorial

- **Apariencia:** Tras 1 día de almacenamiento, la apariencia de los berros lavados con HS (AM) logró una puntuación de 11,1 unidades; mientras que los berros lavados con CSA presentaron la peor apariencia (9,7) según el panel de jueces. Al final del almacenamiento, los berros lavados con HS (BP) presentaron la peor apariencia (5,8), mientras que los berros lavados con DC fueron evaluados con la apariencia (9,9).
Se pudo observar en todos los tratamientos una disminución en la apariencia a lo largo del período de almacenamiento. Sin embargo, sólo los tratamientos HS (BP), HS (AM) y CSA mostraron diferencias significativas a lo largo del período de almacenamiento (Anexo III, Cuadro 4). La mayoría de los berros, excepto aquellos lavados con HS (BP) y CSA, lograron mantenerse sobre la línea de aceptabilidad luego de 13 días de almacenamiento (Figura 16 A).
- **Intensidad de Color:** La intensidad de color de todos los tratamientos tras 1 día de almacenamiento fue evaluada entre 10,9 y 9,5 (Anexo III, Cuadro 4). Al final del almacenamiento, los tratamientos HS (BP) y APA presentaron la intensidad de color más baja (4,9 y 6,9 respectivamente) y por debajo del límite de aceptabilidad, mientras la intensidad de color de los berros tratados con HS (AM) y DC fue la mejor evaluada (9,3 y 8,9

respectivamente). Estos resultados concuerdan con las mediciones de color que se realizaron a las hojas de berros donde los tratamientos HS (AM) y DC presentaron los valores de L y C más bajos y los mayores valores de hue, lo que se según la escala de color se traduce en hojas más verdes y oscuras, lo que se asocia con una buena apariencia.

Los berros tratados con HS y almacenadas en bolsas perforadas, resultaron ser los peor evaluados tanto en apariencia como en intensidad de color, lo cual coincide con una alta L y C* y los menor hue (hojas verde amarillentas, según la escala de color).

Algunos estudios demuestran que las operaciones de corte, el uso de sanitizante y la alta manipulación en las hortalizas mínimamente procesadas puede afectar negativamente los atributos sensoriales como el sabor, textura, color y apariencia (Vandekinderen *et al.*, 2009b), características esenciales al momento de la elección y preferencia de un producto por sobre otro al momento de la compra (Dastres, 2006). La apariencia y el color de las hortalizas de hoja son aspectos muy importantes debido a su función de atracción hacia los consumidores (Bolin & Huxsoll, 1991; citado por Ferrante *et al.*, 2009). Adicionalmente, un producto que muestra una calidad visual poco atractiva, no será preferido por el consumidor al momento de la compra, y éste nunca logrará experimentar el resto de sus atributos como el sabor, olor, textura entre otros (Martínez-Sánchez *et al.*, 2006a). De esto se desprende la gran importancia de las cualidades visuales de un producto.

Según los resultados expuestos, se pudo observar que el EAM (8-11% CO₂ y 6-11% O₂) ayudó a prolongar la apariencia y la intensidad del color verde en las hojas de berros por más tiempo comparado con el tratamiento de HS en condiciones de aire. Esto puede estar atribuido a las altas concentraciones de O₂ y bajas concentraciones de CO₂ que se generaron dentro de los envases, que como fue explicado en los resultados de las mediciones de color, el uso adecuado de EAM retarda el amarillamiento de las hojas de hortalizas y por lo tanto prolonga la calidad visual.

Estos resultados contrastan con los observados por Martínez-Sánchez *et al.*, (2006a) en hojas de rúcula lavadas con diversos sanitizantes conservados a 4 °C, donde el uso de EAM disminuyó la vida útil de las hojas lavadas a una semana, en comparación con las muestras en aire que prolongaron su almacenamiento sobre el límite de aceptabilidad por casi 12 días, debido a los niveles extremos a los que llegaron los gases dentro de los envases, lo que generó condiciones anóxicas y deterioro en la calidad sensorial.

Por otro lado, la aplicación de sanitizantes generó diferencias entre tratamientos en el aspecto visual, sugiriendo que los tratamientos en base a HS (AM) y DC son los que preservaron de mejor manera las características visuales de apariencia e intensidad de color, manteniendo ambas cualidades sobre el límite de aceptación durante los 13 días de almacenamiento.

Cabe destacar que el berro al igual que otras hortalizas como la rúcula y la espinaca no presentan un significativo pardeamiento enzimático, lo que limita la vida útil y la comercialización de los productos recién cortados (Bottino *et al.*, 2009).

- **Turgencia:** Tras 1 día de almacenamiento, la turgencia de los berros lavados con APA, HS (AM) y CSA fue calificada con 8,3; 8,0 y 8,0 unidades respectivamente. A partir del día 5, la turgencia de todos los tratamientos estuvo por debajo del límite de aceptación (entre 7,3 a 6,3

unidades) (Figura 17C). Sin presentar diferencias significativas entre tratamientos, ni durante el tiempo de almacenamiento (Anexo III, Cuadro 4).

En este estudio, la aplicación de sanitizantes y el tiempo de almacenamiento no generaron diferencias significativas sobre la turgencia de las hojas de berros, lo cual concuerda con Wang *et al.*, (2004), quien no observó diferencias significativas en la turgencia de las hojas de cilantro lavadas con diferentes sanitizantes y almacenadas 14 días a 0 °C.

- **Sabores extraños:** Los sabores extraños de los berros lavados con HS (AM), DC, CSAy APA se mantuvieron dentro del límite de aceptabilidad durante el almacenamiento, (Fig. 17 D), sin diferencias significativas entre ellos. Sólo los berros lavados con HS (BP) mostraron diferencias significativas durante el tiempo de almacenamiento, ya que este parámetro fue evaluado con 5,7 unidades tras 1 día a 5°C, y luego con 2,7 unidades al final del almacenamiento (Anexo III, Cuadro 4).

Todos los tratamientos se mantuvieron dentro del límite de aceptabilidad durante el almacenamiento, lo cual para este atributo es positivo. (Fig. 17 D)

La evolución de la presencia de sabores extraños no fue clara, lo cual puede estar relacionado con la pungencia de las hojas de berros, la cual es una característica poco agradable entre los panelistas y pudo haber interferido en la degustación y evaluación de este atributo, por lo que no se pudo observar con claridad si la aplicación de los sanitizantes afectó el desarrollo o enmascaramiento de sabores extraños en las hojas de berros. Los resultados obtenidos en esta experiencia concuerdan con Vandekinderen *et al.*, (2009a), quien en repollo lavado con APA (80 – 250 mg L⁻¹) no observó diferencias en el sabor respecto del testigo lavado en agua cuando este sanitizante fue utilizado en bajas concentraciones.

A pesar de mantenerse dentro del límite de aceptabilidad, el aumento de los sabores extraños en los lavados con CSA pudieron estar asociados a condiciones de bajos niveles de O₂ debido a la alta tasa respiratoria que se observó en éstos, ya que es sabido que el envasado de vegetales con una alta tasa respiratoria da como resultado altos niveles de CO₂ y desarrollo de sabores y olores desagradables, cambios de color, rupturas en los tejidos, entre otros (Guevara *et al.*, 2009, Wang *et al.*, 2004).

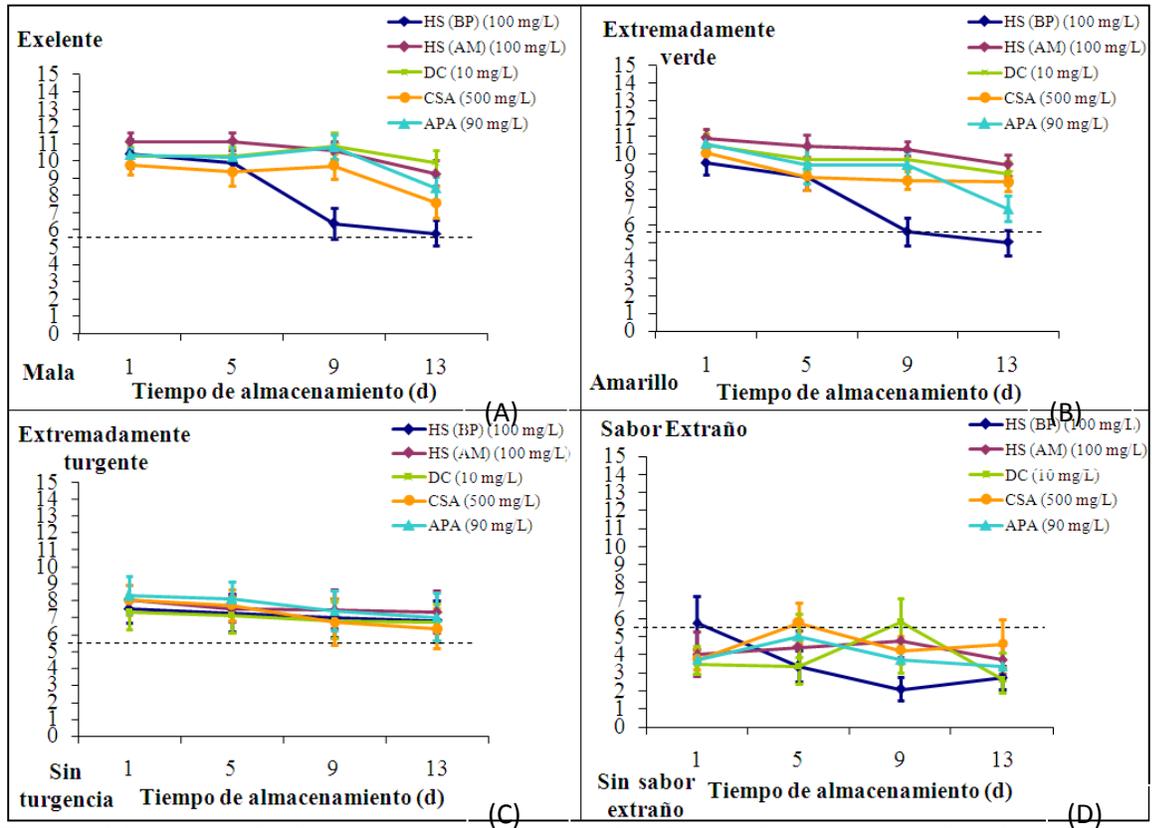


Figura 16. Efecto de diferentes sanitizantes sobre los atributos sensoriales de (A) Apariencia, (B) Intensiidad de Color, (C) Turgencia y (D) de hojas de berros conservadas bajo atnósfera modificada pasiva por 13 días a 5 °C. Los valores representan a la media \pm ES (n=12). (Línea punteada grafica el límite de aceptabilidad establecido, 7,5).

Ensayo II

Envasado atmósfera modificada pasiva (EAM)

En todos los tratamientos se observó un aumento progresivo del CO₂ de un 67% y un descenso en el O₂ de 61% entre el día 1 y el día 13 de conservación alcanzando el equilibrio entre el día 7 y 8 (Figura 17; Anexo III, Cuadro 5).

La concentración de CO₂ tras el procesamiento (día 0) y el día 1 se mostró homogénea entre los tratamientos. Sin embargo al día 7, los lavados en base a CSA lograron la concentración más alta de CO₂ (10,3%), mientras que el APA obtuvo la menor (8,2%). Al término del almacenamiento, CSA (16,10%) se mantuvo por sobre el resto de los tratamientos, siendo esta vez el DC el tratamiento que logró la menor concentración de este gas (12,5%) (Anexo III, Cuadro 5).

Al día 7 de almacenamiento, los tratamientos con HS (AM) y APA presentaron la concentración más alta de O₂ (11,8% y 11,7% respectivamente), mientras que las hojas lavadas con CSA presentaron la menor (9,8%) tendencia que se mantuvo hasta el día 13 (3,3%). Sin embargo las hojas lavadas con DC mostraron los mayores niveles (7,4%), ambos coincidentes con los mayores y menores niveles de CO₂ respectivamente como fue comentado anteriormente.

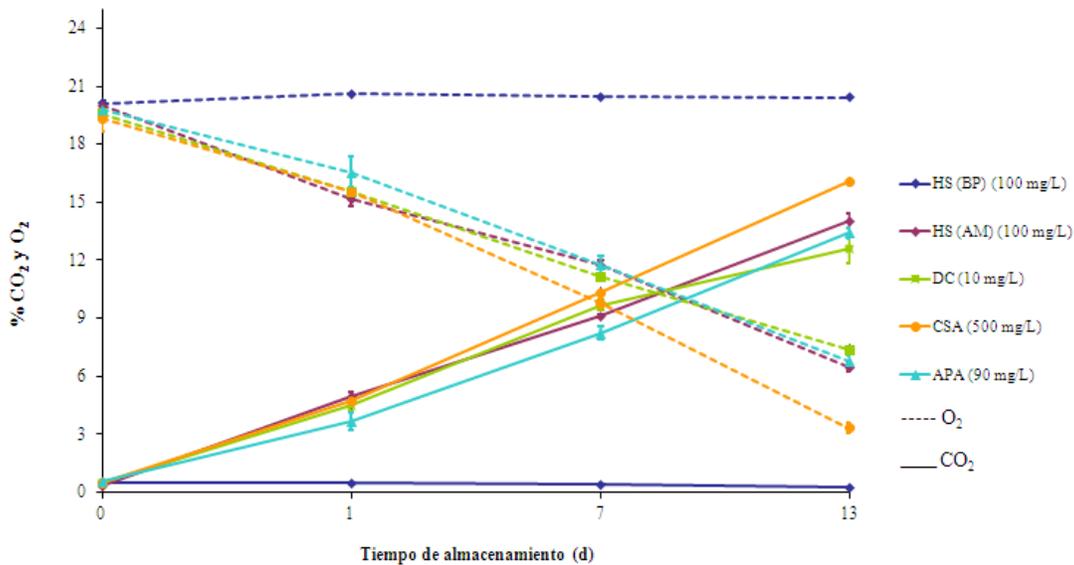


Figura 17. Evolución de la concentración (%) CO₂ (—) y O₂ (----) en las bolsas de berros lavados con diferentes sanitizantes conservados bajo atmósfera modificada pasiva por 13 días a 5 °C. Los valores son la media (n=3) ± ES.

El uso de esta tecnología involucra el aumento de los niveles de CO₂ y la disminución de los de O₂ mediante la propia respiración del producto con el fin de prolongar su vida útil. Esencialmente se busca que estos gases logren el equilibrio lo más rápido posible cuidando de no

llegar a atmósferas anóxicas o muy bajas en O₂ (Zagory, 1999). Respecto a las composiciones de gases recomendables para los berros la literatura es pobre y escasa. No obstante, Kader (2002b), ha expuesto que la mínima concentración de O₂ tolerada por los las hortalizas mínimamente procesadas es de un 1%. Por otro lado, el mismo autor, recomienda concentraciones de 5 a 10% para O₂ y CO₂ en hortalizas de hojas como eneldo, espinaca y perejil.

En este estudio, el equilibrio de las concentraciones de gases se consiguió entre los días 5 y 8, por lo que la película BB4L utilizada cumplió el objetivo de la modificación pasiva de la atmósfera mediante la respiración de las hojas de berros. Al igual que en la primera experiencia, el consumo de O₂ y producción de CO₂ lograron el equilibrio dentro de las bolsas, por lo que se puede confirmar que el diseño de estos envases demostró mantener la calidad de las hojas de berros durante los 13 días de almacenamiento.

Coincidente con el primer ensayo, las hojas tratadas con CSA lograron mayores niveles de CO₂ y los menores de O₂ en un menor tiempo respecto del resto de los tratamientos lo que se debió a la alta tasa respiratoria que estas hojas experimentaron como consecuencia del procesamiento y lavado con sanitizantes, lo que sugiere que bajo su uso se pueden conseguir los niveles de gases deseados en un menor tiempo de almacenamiento cumpliendo de mejor manera el objetivo esencial del uso de EAM.

Color

- **Luminosidad:** Debido al tiempo de conservación, sólo se observaron diferencias en los berros lavados con HS (BP) con un aumento de este parámetro de un 10% entre el inicio (día 1) y el término del estudio (día 13) (Fig. 18, Anexo III Cuadro 6).

El tratamiento de HS (BP) logró los mayores valores de luminosidad en las hojas de berros al día 7 con una puntuación de 47,0, finalizando el estudio con 50,3 unidades cayendo bajo el nivel de aceptación según la escala de color, mientras que los tratamientos de HS y DC generaron bajas variaciones de la luminosidad culminando la conservación con 46,0 y 47,2 unidades respectivamente que según la escala de color estarían por sobre el nivel de aceptación entre las categorías 3 y 4.

- **Croma:** La aplicación de sanitizantes afectó sólo a las hojas lavadas con HS (BP) y (AM) pues presentaron mayores valores de croma en los días 7 y 13. De la misma manera, el tiempo de conservación afectó en este parámetro sólo a los tratamientos con HS (BP) y (AM) los cuales experimentaron aumentos significativos entre el inicio y el término del almacenamiento (2,78 y 2,66 unidades respectivamente), destacando que las hojas tratadas con este sanitizante almacenadas en EAM mantuvieron un comportamiento similar al del resto sólo hasta el día 7, ya que al término de la conservación aumentó significativamente hasta las 30,3 unidades muy cercanas a las 30,7 unidades obtenidas por HS (BP) (Fig. 18, Anexo III, Cuadro 6).

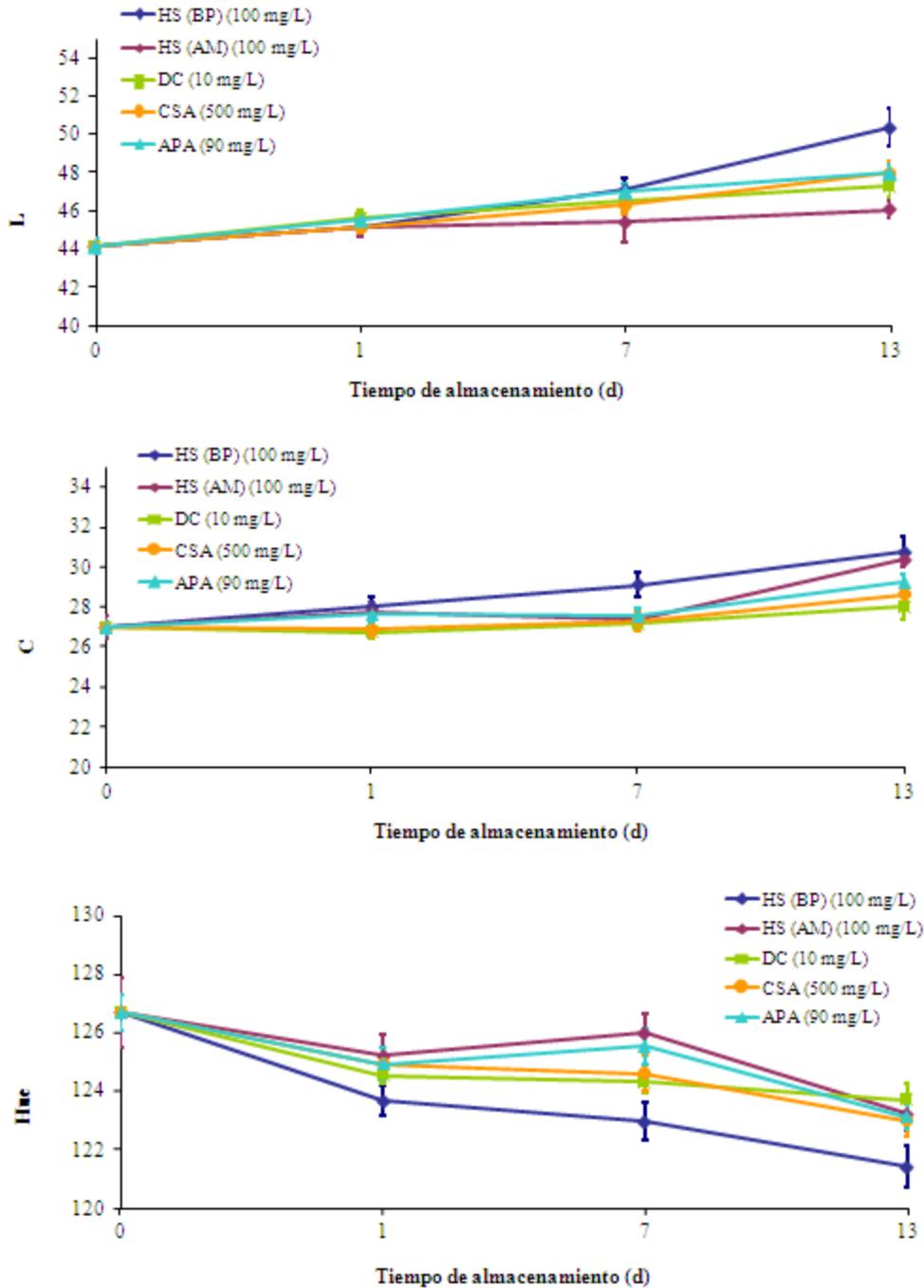


Figura 18. Variación de los parámetros de color de los berros lavados con diferentes soluciones sanitizantes y conservados 13 días bajo EAM a 5° C. Los valores representan a la media \pm ES (n=10).

- **Hue:** Debido al tiempo de conservación se observaron descensos del parámetro hue en un 1,5% para HS (AM), CSA y APA y de un 0,5%, en hojas tratadas con DC entre el día 1 y 13 de conservación (Anexo III, Cuadro 6).

Al inicio de la conservación los valores variaron entre 123,6 y 125,1 unidades (Fig. 18). Se observaron diferencias significativas entre los tratamientos los días 7 y 13 de almacenamiento siendo el HS (BP) el más bajo con 122,9 y 121,4 unidades respectivamente cayendo en la categoría 2 según la escala de color (Fig. 4). Los tratamientos de HS (AM) y APA mantuvieron un comportamiento similar durante el estudio entre siendo mayores entre en 0,5 y 1 unidad por sobre el resto de los tratamientos.

A simple vista, se pudo observar en ambos ensayos que el uso de sanitizantes no afectó el color de las hojas de berros, y que el tiempo de almacenamiento fue el responsable de las leves pérdidas de color en las hojas.

Al igual que en la primera experiencia de este estudio, durante todo el almacenamiento, y acentuándose en el día 13, se pudo observar que los berros conservados en bolsa perforada, simulando condición de aire, presentaron los mayores valores de L y C y los menores valores de hue reflejando hojas más claras y verdes amarillentas. Adicionalmente, el comportamiento de los tratamientos HS (AM) y DC también fue confirmado en esta segunda experiencia, ya que obtuvieron los mayores valores de L y C y menores del ángulo hue, incluso presentando variaciones mínimas, aunque significativas, durante el tiempo de almacenamiento.

Los resultados de ambos ensayos sugieren que el uso de AM y tratamientos en base a HS (AM) y DC ayudaron a prolongar el color de las hojas de berros durante 13 días a 5 °C.

Compuestos funcionales

- **Contenido compuestos fenólicos totales:** El contenido de compuestos fenólicos totales de los berros tratados con los diferentes sanitizantes no presentó diferencias significativas entre tratamientos (Cuadro 4, Figura 19).

Se pudo observar que HS (BP) y CSA experimentaron una leve y no significativa disminución de sus compuestos fenólicos tras el lavado y procesamiento. Al día 7 de conservación todos los tratamientos envasados en EAM disminuyeron sus niveles de compuestos fenólicos, siendo significativo sólo para DC, CSA y APA (Cuadro 4).

Al término de la conservación todos los tratamientos aumentaron los niveles de fenoles totales siendo el HS (BP) el sanitizante que logró los mayores aumentos (3,8 meq EAG g_{PF}^{-1}), mientras que el APA, CSA y DC presentaron menores niveles, todos muy similares promediando 3,2 meq EAG g_{PF}^{-1} .

Cuadro 4. Variación de los compuestos fenólicos totales en hojas de berros lavados con sanitizantes y conservados bajo atmósfera modificada pasiva 13 días a 5° C.

Fenoles totales	Tratamiento	Tiempo de almacenamiento (días)		
		Día 1	Día 7	Día 13
meq EAG g _{PF} ⁻¹	Materia Prima	3,4	-	-
	HS BP (100 mg L ⁻¹)	3,2 A ns	3,3 A ns	3,8 A ns
	HS (100 mg L ⁻¹)	3,4 A	3,1 A	3,4 A
	DC (10 mg L ⁻¹)	3,4 B	2,5 A	3,2 AB
	CSA (500 mg L ⁻¹)	3,38 B	2,85 A	3,28 B
	APA (90 mg L ⁻¹)	3,49 B	2,65 A	3,25 AB

Medias señaladas con letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Letras mayúsculas comparan a lo largo del tiempo y las letras minúsculas comparan entre tratamientos. (ns: no significativo)

Los niveles de fenoles totales de esta hortaliza cuantificados en este experimento ($3,4 \pm 0,2$ meq EAG g_{PF}⁻¹) son ligeramente más altos que los obtenidos por otros autores los cuales varían entre 2,3 meq EAG g_{PF}⁻¹ y 1,6 meq EAG g_{PF}⁻¹ (Hassimotto *et al.*, 2005; Isabelle *et al.*, 2010; Gil *et al.*, 2007). Estas diferencias pueden deberse a que el contenido de estos compuestos en una hortaliza puede ser alterado por una gran cantidad de factores externos, como el manejo agronómico, variedad, color, intensidad de luz y clima a los que esta expuesto el cultivo, condiciones de postcosecha, entre otros (Heimler *et al.*, 2007; Gil *et al.*, 2007; Llorach *et al.*, 2008).

El comportamiento del tratamiento bajo EAM muestra una disminución en los compuestos fenólicos al día 7, y un posterior aumento de estos al culminar la conservación, situación que también fue observada por Martínez-Sánchez *et al.*, (2006b) en rúcula conservada a diferentes atmósferas controladas de (5% CO₂ y 5% O₂), donde éstos disminuyeron en 0,07 meq EAG g_{PF}⁻¹ al día 10 de almacenamiento para luego aumentar 0,36 meq EAG g_{PF}⁻¹ al final del estudio de 14 días.

Los resultados sugieren que la aplicación de los sanitizantes no afectó significativamente los niveles de fenoles en las hojas de berros. Muy similar a lo observado en lechuga, rúcula y repollo mínimamente procesados lavados con HS, DC, CSA, APA, ácido láctico y agua ozonizada donde no se encontraron diferencias en los contenidos fenólicos luego del uso de los diversos sanitizantes (Beltrán *et al.*, 2005a; Martínez-Sánchez *et al.*, 2006a; Vandekinderen *et al.*, 2009a; Vandekinderen *et al.*, 2009e). Sin embargo, experiencias en hojas de puerros lavados con HS (20 a 200 mg L⁻¹) demostraron que con mayores dosis de sanitizante los compuestos fenólicos aumentaron (Vandekinderen *et al.*, 2009b). Por otro lado lavados en altas concentraciones de APA (80 a 250 mg L⁻¹) generaron disminuciones de estos compuestos en repollo blanco mínimamente procesados respecto de las dosis más bajas (Vandekinderen *et al.*, 2009a). Lo anterior indica que podría haber una incidencia en los compuestos fenólicos según el tipo y concentración del sanitizante utilizado lo cual no fue reflejado en este estudio.

Las operaciones que comprenden el mínimo proceso y el tiempo de almacenamiento conducen a una destrucción de los compuestos fenólicos (Gil *et al.*, 1999). Estudios demostraron pérdidas significativas entre 6 y 36% de estos compuestos en ocho variedades de lechuga mínimamente procesada (DuPont *et al.*, 2000). Contrariamente otros autores reportan una acumulación simultánea de compuestos fenólicos para reducir la pérdida de agua o ataque de patógenos inducidos por los cortes a través de la activación de la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL) (Bottino *et al.*, 2009; Reyes *et al.*, 2007; Rojas – Graü *et al.*, 2009).

Reyes *et al.*, (2007) estudiaron el comportamiento de la enzima PAL luego del corte y almacenamiento, y su relación con el nivel fenólico en varias hortalizas, donde observó incrementos de 81% y 30% en compuestos fenólicos en acelga y lechuga respectivamente. Sin embargo éstos disminuyeron en un 9% en repollo, lo que da una clara idea de que no ocurre lo mismo en todas las especies. Por su parte la actividad de la PAL aumentó en los tejidos, lo que indicó que la ruta biosintética de los compuestos fenólicos se activó luego del corte.

En el presente estudio se cuantificó el nivel de fenoles totales en las hojas de berros, pero es importante mencionar que hay dos tipos de estos, solubles e insolubles. Desde que los fenoles son sintetizados, las cantidades reales que se logran medir experimentalmente son el resultado de un equilibrio entre la tasa de síntesis (K_s) y la de su utilización (K_d), por lo tanto cuando se verifica un aumento en el contenido total de fenoles ($K_s > K_d$), se asocia a un incremento en los fenoles de tipo soluble utilizados como mecanismos de defensa como las fitoalexinas, o para la supresión de radicales libres (Dixon y Pavia, 1995), mientras que un descenso en los fenoles totales ($K_s < K_d$), sugiere que la ruta biosintética se desvía hacia la formación de compuestos fenólicos del tipo insoluble como mecanismo de protección como la lignina y la suberina (Razem y Bernardo, 2002; citado por Reyes *et al.*, 2007).

Probablemente, esta podría ser una de las razones para la disminución de compuestos fenólicos que se observaron tras el lavado y procesamiento y luego al día 7 en las hojas de berros.

Por otro lado, se vió que el almacenamiento bajo EAM mostró un menor nivel de fenoles totales respecto de las hojas de berros lavadas con HS (BP) en aire. Varios autores sostienen que la composición fenólica se preserva cuando el producto es almacenado en aire, mientras que concentraciones de CO_2 superiores a 10 % conducen a una reducción de estos compuestos (Ahn *et al.*, 2005; Gil *et al.*, 1998; Baur *et al.*, 2004, citados por Martínez Sánchez *et al.*, 2006a). Es más, algunos investigadores utilizan el EAM como una herramienta contra el pardeamiento enzimático, el cual está mediado por la enzima PAL, ya que en bajos niveles de O_2 , el pH citoplasmático de las células del vegetal disminuye, reduciendo la acción de esta enzima, lo que se traduce en un menor pardeamiento y producción de compuestos fenólicos (Rojas – Graü *et al.*, 2009).

Esto concuerda con Martínez Sánchez *et al.*, (2006a) (2005a), quienes observaron que los niveles de compuestos fenólicos en rúcula y lechuga mínimamente procesadas lavadas con HS (100 y 80 mg L^{-1}) envasadas en EAM eran menores respecto de las conservadas en aire en un 36% y 46% respectivamente. Adicionalmente este mismo estudio reportó que las hojas de rúcula preservadas en aire manifestaron aumentos desde 1,13 $\text{meq EAG g}_{\text{PF}}^{-1}$ al inicio del estudio hasta 1,40 $\text{meq EAG g}_{\text{PF}}^{-1}$ luego de 15 días de almacenamiento a 4 °C, muy similar a lo ocurrido en esta experiencia en hojas de berros las cuales evolucionaron desde 3,20 hasta 3,88 $\text{meq EAG g}_{\text{PF}}^{-1}$ luego de 13 días a 4 °C.

Según lo anterior, se observó que el uso de sanitizantes no afectó cuantitativamente los compuestos fenólicos, sin embargo si lo hicieron las operaciones del procesamiento, el tiempo de almacenamiento y uso de EAM.

- **Actividad antioxidante total:** Al inicio del almacenamiento, los berros tratados con los diferentes sanitizantes presentaron una capacidad antioxidante aproximadamente 27% más alta que la materia prima (1,47 mg), sin diferencias significativas entre los tratamientos. Al final del almacenamiento, sólo los berros tratados con HS (BP) y APA presentaron una capacidad antioxidante 46% y 17%, respectivamente más baja con respecto del día 1 de almacenamiento (Cuadro 5).

Cuadro 5. Variación de la capacidad antioxidante en hojas de berros lavados con sanitizantes y conservados bajo atmósfera modificada pasiva 13 días a 5° C.

Cap. Antioxidante	Tratamiento	Tiempo de almacenamiento (días)	
		Día 1	Día 13
meq T g ^{PF} ⁻¹	Materia Prima	1,4 a	-
	HS BP (100 mg L ⁻¹)	2,2 B b	1,1 A a
	HS (100 mg L ⁻¹)	2,5 A b	2,4 A b
	DC (10 mg L ⁻¹)	2,0 A b	2,0 A ab
	CSA (500 mg L ⁻¹)	1,8 A ab	1,7 A ab
	APA (90 mg L ⁻¹)	2,2 B b	1,8 A ab

Medias señaladas con letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05).

Letras mayúsculas comparan a lo largo del tiempo y las letras minúsculas comparan entre tratamientos.

Los resultados sugieren que la aplicación de sanitizantes afectó significativamente a las hojas de berros aumentando la capacidad antioxidante de éstas, tras el lavado y procesamiento. Sin embargo la literatura es contraria, ya que en estudios de lavados con APA (80-250 mg L⁻¹) e HS (20-200 mg L⁻¹) reportaron que la aplicación de sanitizantes no afectó significativamente el potencial antioxidante de hojas de repollo y puerros, no obstante, sólo en altas dosis de APA se observaron reducciones pero no fueron significativas (Vandekinderen *et al.*, 2009a; Vandekinderen *et al.*, 2009b).

Por otro lado, varios investigadores sostienen que las operaciones del mínimo proceso genera aumentos en la capacidad antioxidante debido al estrés que produce el corte (Rojas – Graü *et al.*, 2009; Bottino *et al.*, 2009). Reyes *et al.*, (2007) observó aumentos de 442%, 233% y 17% en el potencial antioxidante de acelga, lechuga y repollo blanco tras las operaciones de mínimo proceso, mientras que en repollo rojo esta disminuyó un 9% luego del corte.

Todos los tratamientos presentaron un comportamiento similar, representado por un aumento de la capacidad antioxidante luego del lavado y procesamiento, y posterior descenso durante la conservación. Esto concuerda con un estudio realizado en berro hortelano o de jardín (*Lepidium sativum* L.) donde se determinó que la capacidad antioxidante aumentó tras la cosecha y procesamiento, para luego disminuir gradualmente promediando una reducción de un 16% luego de 5 días a 4 °C (Zhan *et al.*, 2009). Similares resultados se observaron en espinaca mínimamente procesada luego de 7 días a 4 °C (Bottino *et al.*, 2009).

Esto podría sugerir que el efecto del corte y alta manipulación durante el procesamiento son causales de estas variaciones en el potencial antioxidante como fue observado en los compuestos fenólicos.

Se observó un efecto positivo, en todos los tratamientos envasados en EAM ya que presentaron menores reducciones de la capacidad antioxidante entre el día 1 y 13 respecto de las hojas conservadas en aire. Esto concuerda con un estudio realizado por Martínez-Sánchez *et al.*, (2006b) en hojas de rúcula mínimamente procesadas donde las hojas conservadas en atmósferas de 5% de CO₂ y 5% de O₂ disminuyeron en un 31% su capacidad antioxidante, mientras que el testigo en aire bajó un 50% luego de 14 días a 4 °C. Adicionalmente, Gil *et al.* (1999), observó una disminución en la actividad antioxidante total en espinacas durante el almacenamiento, sin embargo, esta fue mayor en las muestras almacenadas en EAM.

Algunos autores hablan de una correlación positiva entre los niveles de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante (Jacobo-Velásquez y Cisneros-Zevallos, 2009). Otros postulan que según los métodos empleados (FRAP, DPPH, ORAC, ABTS) esta correlación varía, como fue observado en un experimento en 19 hortalizas, donde se concluyó que esta correlación era mayor cuando se comparaban los métodos Folin Ciocalteu/FRAP, ya que la correlación del contraste de Folin Ciocalteu/DPPH eran menores (Sreeramulu y Raghunath, 2010). En este estudio, se observó que el contenido de compuestos fenólicos no estaba altamente correlacionado con el potencial antioxidante de las hojas de berros ($r = -0,22$), muy similar a Liu *et al.*, (2007) quienes observaron una baja correlación ($r = 0,27$) entre los compuestos fenólicos totales y la capacidad antioxidante de 12 variedades de lechuga. Según los resultados obtenidos en ambas mediciones de compuestos funcionales, el uso de EAM afectaría negativamente a los compuestos fenólicos, lo que se contrapone a los mayores niveles de capacidad antioxidante en los berros almacenados bajo este tipo de envase.

Algunos autores afirman que los compuestos fenólicos son los mayores contribuyentes de la capacidad antioxidante de frutas, verduras y granos (Heo *et al.*, 2007, Queirós *et al.*, 2009). La capacidad antioxidante de cada compuesto fenólico puede ser diferente, y esto va a depender de la capacidad que este tenga para donar protones (Michalack, 2006). Sin embargo se ha visto que los compuestos fenólicos interactúan entre sí de forma sinérgica y/o antagónica en un mismo vegetal, ejemplificado en un experimento en zanahorias donde se observó que las mezclas de los compuestos fenólicos que se habían acumulado durante el almacenamiento eran cuantitativa y cualitativamente diferentes y menos eficientes en la neutralización de radicales libres que los componentes fenólicos presentes en las zanahorias antes del almacenamiento, evidenciando antagonismo y una baja correlación de estos con el potencial antioxidante. Estudios en diferentes variedades de papas, ciruelas y duraznos, reportaron tanto altas como bajas correlaciones en esta

relación las cuales variaban según especie y variedad (Jacobo-Velásquez y Cisneros-Zevallos, 2009). Reyes *et al.*, (2007), postularon que el comportamiento de los compuestos fenólicos y su correspondiente capacidad antioxidante varía según la especie y el tipo de tejido, y que el incremento o disminución de estos compuestos y sus actividades antioxidantes van a depender de la naturaleza y comportamiento del compuesto fenólico que este tejido presente. Con esto queda claro que la relación positiva y lineal entre los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante no se manifiesta en todos los casos. Finalmente, como fue mencionado, la razón más clara al aumento de la capacidad antioxidante fue el corte y manipulación de los tejidos, lo cual genera incrementos en la actividad antioxidante en los vegetales (Zhan *et al.*, 2009), pero según los resultados, estos incrementos no se correlacionan con los compuestos fenólicos presentes en estas hojas, ya que estos disminuyeron luego del procesamiento, lo cual da una señal de que la capacidad antioxidante en las hojas de berros posiblemente no se debe mayoritariamente a compuestos de origen fenólico, ya que según Martínez-Sánchez (2008), los carotenoides, la vitamina C y E son compuestos que contribuyen a la capacidad antioxidante de hortalizas como el berro la mizuna y la rucúla, por lo que sería de gran importancia el estudio cualitativo de los compuestos con actividad antioxidante en esta hortaliza.

Las hortalizas de hojas mínimamente procesadas que se ofrecen en el mercado chileno recomiendan porciones de una taza, con aproximadamente 80 g, esto se traduce en un aporte de 277,6 meq EAG $\text{g}_{\text{PF}}^{-1}$ y en 117,6 meqT $\text{g}_{\text{PF}}^{-1}$ por porción de hojas de berros sin tratar. Los niveles de compuestos y actividades funcionales que tiene esta hortaliza son bastante elevados respecto de otras del tipo, por lo que se hace imperante dar a conocer y reforzar esta hortaliza para que logre insertarse en la mesa chilena.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los objetivos planteados y a las condiciones empleadas en este estudio se concluye lo siguiente:

- La utilización de sanitizantes y atmósfera modificada pasiva en concentraciones de 8-10% de CO₂ y 6-7% de O₂ fue efectiva en la reducción y control de las poblaciones de microorganismos como aerobios mesófilos, y psicrófilos, enterobacterias y bacterias lácticas en berros conservados bajo refrigeración.
- El clorito de sodio acidificado, en dosis de 500 mg L⁻¹, generó una alta tasa respiratoria y afecta la calidad sensorial de hojas de berros almacenados a 5° C. sin embargo, es una alternativa eficiente en el control de los microorganismos estudiados.
- El dióxido de cloro, en dosis de 10 mg L⁻¹, no fue efectivo en la reducción de la carga microbiana, no obstante, preservó de buena manera el color y la calidad sensorial visual en hojas de berros almacenados a 5 °C, por lo que sería recomendable su estudio en concentraciones más elevadas.
- El ácido peroxiacético en dosis de 90 mg L⁻¹ fue efectivo en la disminución de la tasa respiratoria en hojas de berros a 5 °C.
- El uso de sanitizantes no afectó cuantitativamente el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en hojas de berros conservadas a 5 °C.
- Las operaciones del mínimo proceso afectarían el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante en hojas de berros conservadas a 5 °C.

BIBLIOGRAFIA

Abdul-Raouf, U.M., L.R. Beuchat and M.S. Ammar. 1993. Survival and Growth of *E. coli* O157:H7 on Salad Vegetables. *Applied and Environmental Microbiology* 59: 1999-2006

Aguayo, E. 2003. Innovaciones tecnológicas en la conservación de melón y tomate procesado en fresco. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Cartagena. Cartagena, España. 425 p.ç

Aharoni, N., A. Reuveni and O. Dvir. 1989. Modified atmospheres in film packages delay senescence and decay of fresh herbs. *Acta Horticulturae* 258:255-263.

Allende, A. and F. Artés. 2003. Combined ultraviolet-C and modified atmosphere packaging treatments for reducing microbial growth of fresh processed lettuce. *Lebensmittel-Wissenschaft &-Technologie* 36: 779-786.

Allende, A., Y. Luo, J.L., McEnvoy, F. Artés and C.Y. Wang. 2004. Microbial and quality changes in minimally processed baby spinach stored under super atmospheric oxygen and modified atmosphere conditions. *Postharvest Biology and Technology* 33: 51-59.

Allende, A., F. Tomás-Barberán and M.I. Gil. 2006. Minimal processing for healthy traditional foods. *Trends Food Science Technology* 17: 513-519.

Allende, A., J. Mc Evoy, Y. Tao and Y. Luo. 2009. Antimicrobial effect of acidified sodium chlorite, sodium chlorite, sodium hypochlorite, and citric acid on *Escherichia coli* O157:H7 and natural microflora of fresh-cut cilantro. *Food Control* 20: 230-234.

Araya, E. 2007. Guía de Laboratorio curso: Evaluación Sensorial de los alimentos. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas Departamento de Agroindustria y Enología. 81 p.

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

Beltrán, D., M.V. Selma, A. Marín and M.I. Gil. 2005a. Ozonated water extends the shelf life of fresh-cut lettuce. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 5654- 5663.

Beltrán, D., M.V.Selma, J.A. Tudela, M.I.Gil. 2005b. Effect of diferente sanitizers on microbial and sensory quality of fresh cut potato strips stored under modified atmosphere or vacuum packaging. *Postharvest Biology and Technology* 37: 37-46.

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

Beuchat, L.R. and R.E. Brackett. 1991. Behavior of *Listeria monocytogenes* Inoculated into Raw Tomatoes and Processed Tomato Products. *Applied and Environmental Microbiology* 57: 1367-1371.

Beuchat, L.R., B.B. Adler and M. Lang, 2004. Efficacy of chlorine and a peroxyacetic acid sanitizer in killing *Listeria monocytogenes* on iceberg and romaine lettuce using simulated commercial processing conditions. *Journal of Food Protection* 67: 1238- 1242.

Brecht, J.K., K.V. Chau, S.C. Fonseca, F.A.R. Oliveira, F.M. Silva, M.C.N. Nunes and R.J. Bender. 2003. Maintaining optimal atmospheres conditions for fruits and vegetables the postharvest handling chain. *Postharvest Biology and Technology* 27: 87- 101.

Bottino, A., E. Degl' Innocenti, L. Guidi, G. Graziani and V. Fogliano. 2009. Bioactive compounds during storage of fresh-cut spinach: the role of endogenous ascorbic acid in the improvement of product quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 2925-2931.

Cruz, R. M., M. C. Vieira and C. L. M. Silva. 2006. Effect of heat and thermosonication treatments on peroxidase inactivation kinetics in watercress (*Nasturtium officinale*). *Journal of Food Engineering* 72: 8-15.

Cryovac Chile, Sealed Air Corporation. Ficha técnica bolsas BB4L. Santiago, Chile.

Chen, Z., Ch. Zhu, Y. Zhang, D. Niu and J. Du. 2010. Effects of aqueous chlorine dioxide treatment on enzymatic browning and shelf-life of fresh-cut asparagus lettuce (*Lactuca sativa L.*). *Postharvest Biology and Technology* 58: 232-238.

Das, B.K. and J.G. Kim. 2010. Microbial Quality and Safety of Fresh-cut Broccoli with Different Sanitizers and Contact Times. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 20: 363-369.

Dastres, Raúl. 2006. Gestión Comercial en el negocio de las hortalizas procesadas. Desarrollo, Innovación y Gestión en Agronegocios. Disponible en: <http://beta1.indap.cl/Docs/Documentos/Forms/AllItems.aspx> Leído el 23 de junio del 2011.

Díaz –Sobac R. y J. Vernon-Carter. 1999. Inocuidad microbiológica de frutas frescas mínimamente procesadas. *Ciencia y Tecnología Alimentaria - Journal of Food* 3:133- 136.

Dixon R. A. and N.L. Pavia. 1995. Stress-Induced Phenylpropanoid Metabolism. *Plant cell* 7: 1085-1097.

DuPont M. S., Z. Mondin, G. Williamson and K. R. Price. 2000. Effect of variety, processing, and storage on the flavonoid glycoside content and composition of lettuce and endive. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 3957-3964.

Engelen-Eigles, G., G. Holden, J. D. Cohen and G. Gardner. 2006. The Effect of temperature, photoperiod, and light quality on gluconasturtiin concentration in watercress (*Nasturtium officinale R. Br.*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54 (2): 328-334.

Escalona, V.H., E. Aguayo and F. Artés. 2006. Quality changes if intact and sliced fennel stored under different atmospheres. *Postharvest Biology and Technology* 41: 307-316.

Escalona, V. y L. Luchsinger. 2008. Una Revisión sobre frutas y hortalizas mínimamente procesadas en fresco. *Aconex* 99: 24-27.

Espina, H. E. 2008. Evaluación económica de berros (*Nasturtium officinale*) hidropónicos a través del estudio de casos de productores de la región Metropolitana. Memoria de Título. Universidad de Talca. Talca, Chile. 45 p.

Espinosa, J. 2007. Evaluación sensorial de los alimentos. Ed. Universitaria. Ciudad de la Habana, Cuba. 116 p.

Ferrante, A., L. Martinetti, and T. Maggiore. 2009. Biochemical changes in cut vs. intact lamb's lettuce (*Valerianella olitoria*) leaves during storage. *International Journal of Food Science and Technology* 44: 1050-1056.

Ferratto, Jorge; María Cristina Mondino. 2008. Producción, consumo y comercialización de hortalizas el mundo. *Revista Agromensajes* N 24. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario. Disponible en: <http://www.fcagr.unr.edu.ar/Extension/Agromensajes/24/4AM24.htm> Leído el 24 de junio del 2011.

García, A., J.R. Mount and P.M. Davidson. 2003. Ozone and Chlorine Treatment of Minimally Processed Lettuce. *Journal of Food Microbiology and Safety* 68: 2747- 2751.

Gil, M.I., F. Ferreres, F. A. Tomás-Barberán. 1999. Effect of postharvest storage and processing on the antioxidant constituents (flavonoids and vitamin C) of fresh-cut spinach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 2213-2217.

Gil, M.I., A. Allende, y A. Martínez Sánchez. 2007. Factores que afectan al contenido de compuestos bioactivos en alimentos de IV gama. V Congreso Iberoamericano de tecnología postcosecha y agroexportaciones. 716-725.

Gil, M. I., M. V. Selma, F. López-Gálvez and A. Allende. 2009. Fresh-cut product sanitation and wash water disinfection: problems and solutions. *International Journal of Food Microbiology* 134: 37-45.

Gill, C. I. R., S. Haldar, L. A. Boyd, R. Bennett, J. Whiteford, M. Butler, J. N. Pearson, I. Bradbury and I. R. Rowland. 2007. Watercress supplementation in diet reduces lymphocyte DNA damage and alters blood antioxidant status in healthy adults. *The American Journal of Clinical Nutrition* 85: 504-510.

Guevara, J.C., E. M. Yahia and E. Brito de la Fuente. 2001. Modified Atmosphere Packaging of Prickly Pear Cactus Stems (*Opuntia* spp.). *Lebensmittel-Wissenschaft &-Technologie* 34: 445-451.

Guevara, R., R. Catalá and P. Hernández-Muñoz. 2009. Extending the shelf-life of fresh-cut produce through active packaging. *Stewart Postharvest Review* 4: 1-5.

Gómez-López, V.M., F. Devliehere, P. Ragaert and J. Debevere. 2007. Shelf-life extension of minimally processed carrots by gaseous chlorine dioxide. *Journal of Food Microbiology* 116: 221-227.

Gonçales, E. M, R. M. S. Cruz, M. Abreu, T. R. S. Brandao and C. L. M. Silva. 2009. Biochemical and colour changes of watercress (*Nasturtium officinale*) during freezing and frozen storage. *Journal of Food Engineering* 93: 32-39.

Gutzmann, T. A., J. B. Anderson, B. R. Cords, L. A. Grab, E. H. Richardson and P. R. McKay. 2000. Antimicrobial composition for cleaning and sanitizing meat products. Ecolab Inc. (St. Paul, Minnesota), United States.
Disponible en: <http://www.freepatentsonline.com/6183807.html> Leído el 07 de julio del 2011.

Hassimotto, N. M. A., M. I. Genovesse and F. M. Lajolo. 2005. Antioxidant of Dietary Fruits, Vegetables, and Commercial Frozen Pulps. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 2928-2935.

Heimler, D., L. Isolani, P. Vignolini, S. Tombelli and A. Romani. 2007. Polyphenol content and antioxidant activity in some species of freshly consumed salads. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 1724-1729.

Isabelle, M., B. L. Lee, M. T. Lim, W-P. Koy, D. Huang and Ch. N. Ong. 2010. Antioxidant activity and profiles of common vegetables in Singapore. *Food Chemistry* 120: 993-1003.

Justesen, U. and P. Knuthsen. 2001. Composition of flavonoids in fresh herbs and calculation of flavonoid intake by use of herbs in traditional Danish dishes. *Food Chemistry* 73: 245-250.

Kader A. A. 2002a. Methods of gas mixing, sampling and analysis. 3rd ed. En: *Postharvest technology of horticultural crops*. University of California. California, EE.UU. 3311: 145-148.

Kader, A. A. 2002b. *Tecnología Postcosecha de cultivos Hortofrutícolas*. Universidad de California Davis. Estados Unidos. 570 p.

Kim, J.G., Y. Luo and Y. Tao. 2007. Effect of the sequential treatment of 1 methylcyclopropene and acidified sodium chlorite on microbial growth and quality of fresh-cut cilantro. *Postharvest Biology and Technology* 46: 144-149.

Kim, Y. J., M. H. Kim and K. B. Song. 2008. Efficacy of aqueous chlorine dioxide and fumaric acid for inactivating pre-existing microorganism and *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* on broccoli prouts. *Food Control* 20: 1002-1005.

Kitis, M. 2004. Desinfection of wastewater with peracetic acid: a review. *Environment International* 30: 47 – 55.

Lee, S., and Baek S. 2008. Effect of chemical sanitizer combined with modified atmosphere packaging on inhibit *Escherichia coli* O157:H7 in commercial spinach. *Food Microbiology* 25: 582-587.

Liu, X., S. Ardo, M. Bunning, J. Parry, K. Zhou, C. Stushnoff, F. Stoniker, L. Yu and P. Kendall. 2007. Total phenolic content and DPPH radical scavenging activity of lettuce (*Lactuca sativa* L.) grown in Colorado. *Lebensmittel-Wissenschaft &-Technologie* 40: 552-557.

Llorach, R., A. Martínez-Sánchez, F.A. Tomás-Barberán, M. I. Gil and F. Ferreres. 2008. Characterisation of polyphenols and antioxidant properties of five lettuce varieties and escarole. *Food Chemistry* 108: 1028-1038.

McGuire, R. 1992. Reporting of objective color measurements. *HortScience* 27: 1254- 1255.

Martínez-Sánchez, A., A. Allende, R. Bennett, F. Ferreres and M.I. Gil. 2006a. Microbial, nutritional and sensory quality of rocket leaves as affected by different sanitizers. *Postharvest Biology and Technology* 42: 86-97.

Martínez-Sánchez, A., A. Marín, R. Llorach, F. Ferreres and M. I. Gil. 2006b. Controlled atmospheres preserves quality and phytonutrients in wild rocket (*Diplotaxis tenuifolia*). *Postharvest Biology and Technology* 40: 26-33.

Martínez-Sánchez, A., A. Allende, Y. Cortes-Galera and M.I. Gil. 2008. Respiration rate of four baby leaf Brassica species to cutting at harvest and fresh-cut washing. *Postharvest Biology and Technology* 47: 382-388.

Martínez, S. A. 2008. Caracterización de compuestos bioactivos en crucíferas de uso en IV gama: aspectos relacionados con fisiología y tecnología postrecolección. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Cartagena. Cartagena, España. 233 p.

Michalak, A. 2006. Phenolic Compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environmental Studies* 15: 523-530.

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE. 2010a. Reglamento sanitario de los alimentos. Decreto supremo 977. Actualizado en abril del 2009. Depto. de Asesoría Jurídica. Santiago. 150 p.

MINISTERIO DE SALUD PUBLICA DE CHILE. 2010b. Encuesta Nacional de Salud ENS Chile 2009 – 2010. 804 p.

Navarro, A., A. Padilla, R. Dávila, M. Pérez y R. Sosa. 2008. Evaluación de la actividad antioxidante del berro (*Nasturtium officinale*). *Revista de la sociedad química del Perú*. Lima, Perú 74: 40-45.

Ölmez, H. and U. Kretzschmar. 2009. Potential alternative disinfection methods for organic fresh-cut industry for minimizing water consumption and environmental impact. *Lebensmittel-Wissenschaft &-Technologie - Food Science and Technology* 42: 686-693.

Oms-Oliu, G., I. Aguiló-Aguayo and O. Martín-Belloso. 2006. Inhibition of Browning on Fresh-cut Pear Wedges by Natural Compounds. *J. Food Sci.* 71: 216 – 224.

Oms-Oliu, G., M. Hertog, R., Soliva-Fortuny, O. Martín-Belloso and B.M. Nicolai. 2009. Recent developments in the use of modified atmosphere packaging for fresh cut fruits and vegetables. *Stewart Postharvest Review* 3: 1-11.

Potter J.D. and K. Steinmetz. 1996. Vegetables, fruit and phytoestrogens as preventive agents, *International Agency of Research on Cancer - Scientific Publications* 139: 61- 90.

Queirós, B., J. C. M. Barreira, A. C. Sarmento, I. C. F. R Ferreira. 2009. In search of synergistic effects in antioxidant capacity of combined edible mushrooms. 13p.

Raybaudi-Massilia R. M. and J. Mosqueta-Melgar. 2009. Factors affecting incidence of pathogenic micro-organisms in fresh-cut produce. *Stewart Postharvest Review* 4: 1- 8.

Reyes, L.F., J. E. Villarreal and L. Cisneros-Zeballos. 2007. The increase in antioxidant capacity after wounding depends on the type of fruit or vegetable tissue. *Food Chemistry* 101: 1254-1262.

Rico, D., A. Martín-Diana, J. Barat and C. Barry-Ryan. 2007. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruits and vegetables: a review. *Food Science and Technology* 18: 373-386.

Rojas-Graü, M. A., G.Oms-Oliu, R. Soliva-Fortuny and O. Martín-Belloso. 2009. The use of packaging techniques to maintain freshness in fresh-cut fruits and vegetables: a review. *International Journal of Food Science and Technology* 44: 875- 889.

Saltveit, M. E., 1997. A summary of CA and MA requirements and recommendations for harvested vegetables. In M. E. Saltveit (Ed.). *Proceedings of the 7th international controlled atmosphere research conference*. Davis, CA, USA. Vol. 4: 98-117.

Singleton, V.L. and J.A. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16:144-157.

Sreeramulu, D. and M. Raghunath. 2010. Antioxidant activity and phenolic content of roots, tubers and vegetables commonly consumed in India. *Food Research International* 43: 1017-1020.

Urala, N. and L. Lähteenmäki. 2007. Consumers' changing attitudes towards functional foods. *Food Quality and Preference* 18: 1-12.

Vandekinderen, I., J. Van Camp, F. Devlieghere, K. Veramme, N. Bernaert, Q. Denon, P. Ragaert and B. De Meulenaer. 2009a. Effect of decontamination on the microbial load, the

sensory quality and the nutrient retention of ready-to-eat white cabbage. *European Food Research and Technology* 229: 443-455.

Vandekinderen, I., J. Van Camp, F. Devlieghere, P. Ragaert, K. Veramme, N. Bernaert, Q. Denon, and B. De Meulenaer. 2009b. Evaluation of the use of decontamination agents during fresh-cut leek processing and quantification of their effect on its total quality by means of a multidisciplinary approach. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 10: 363-373.

Vandekinderen, I., F. Devlieghere, B. De Meulenaer, J. P. Ragaert and J. Van Camp. 2009c. Decontamination strategies for fresh-cut produce. *Stewart Postharvest Review* 5: 1-8.

Vandekinderen, I., F. Devlieghere, J. Van Camp, Q. Denon, S. Sánchez Alarcón, P. Ragaert and B. De Meulenaer. 2009d. Impact of a decontamination step with peroxyacetic acid on the shelf-life, sensory quality and nutrient content of grated carrots packed under equilibrium modified atmosphere and stored at 7°C. *Postharvest Biology and Technology* 54: 141-152.

Vandekinderen, I., J. Van Camp, B. De Meulenaer, K. Veramme, N. Bernaert, Q. Denon, P. Ragaert and F. Devlieghere. 2009e. Moderate and High Doses of Sodium Hypochlorite, Neutral Electrolyzed Oxidizing Water, Peroxyacetic Acid, and Gaseous Chlorine Dioxide Did Not Affect the Nutritional and Sensory Qualities of Fresh-Cut Iceberg Lettuce (*Lactuca sativa* Var. *capitata* L.) after Washing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 4195-4203.

Wang H., H. Feng and Y. Luo. 2004. Microbial reduction and storage quality of fresh-cut cilantro washed with acidic electrolyzed water and aqueous ozone. *Food Research International* 37: 949-956.

Yamauchi, N. and Watada, A. 1998. Chlorophyll and xanthophylls changes in broccoli florets stored under elevated CO₂ or ethylene-containing atmosphere. *HortScience* 33: 114-117.

Yazdanparast R., S. Bahramikia and A. Ardestani. 2008. Nasturtium officinale reduces oxidative stress and enhances antioxidant capacity in hypercholesterolaemic rats. *Chemico-Biological Interactions* 172: 176-184.

Zacarias, I., L. Rodríguez, L. Lera, R. Hill, A. Domper y D. González. 2009. Consumo de verduras y frutas en centros de salud y supermercados de la región metropolitana de Chile: programa 5 al día. *Revista Chilena de Nutrición* 36: 159-168.

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

Zhan, L. J., E. Fontana, G. Tibaldi and S. Nicola. 2009. Qualitative and physiological of minimally processed garden cress (*Lepidium sativum* L.) to harvest handling and storage conditions. *Journal of Food Agriculture and Environment* 7: 43-50.

ANEXO I

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

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

n: número de muestras a ser examinadas.

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).

ANEXO II

Evaluación de calidad panel

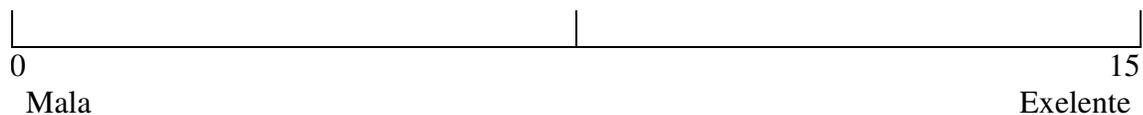
Nombre:.....Fecha:.....

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

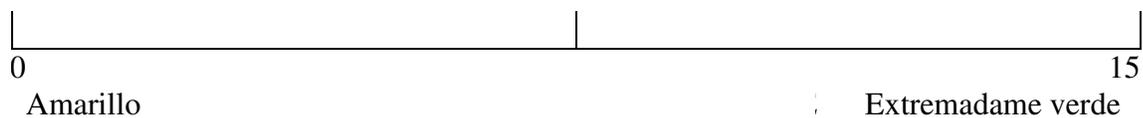
Muestra N° ____

Aspecto visual

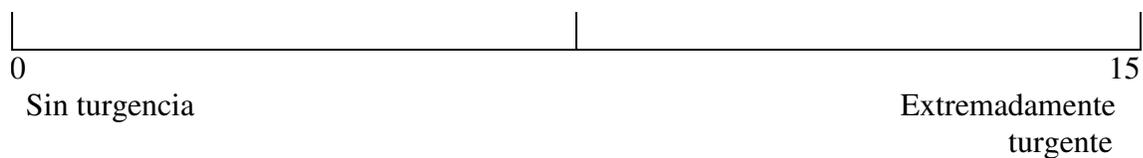
1. Apariencia



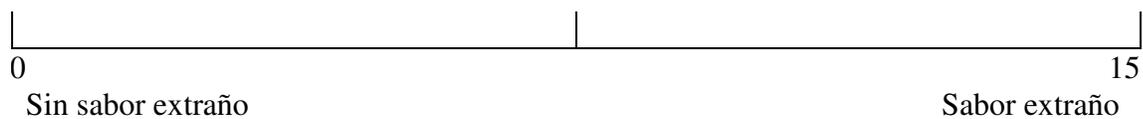
2. Intensidad color

Aspecto gustativo

1. Turgencia



2. Sabor extraño



Comentarios: _____

ANEXO III

Ensayo I

Cuadro 1. Tasa respiratoria ($\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) de hojas de berros lavados con diferentes sanitizantes conservados 13 días a 5°C .

Tasa Respiratoria	Tratamiento	Tiempo de almacenamiento (días)				
		Día 0	Día 1	Día 5	Día 9	Día 13
$\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$	HS BP (100 mg L^{-1})	35,9 AB a	43,5 B ab	39,1 AB a	28,3A a	28,1 A b
	HS (100 mg L^{-1})	33,7 A a	45,9 B ab	36,0 A a	29,7 A a	26,8 A b
	DC (10 mg L^{-1})	27,2 A a	42,2 B a	33,6 A a	30,4 A a	26,8 A b
	CSA (500 mg L^{-1})	51,8 C b	52,9 C b	48,8 C b	39,4 B b	30,1 A b
	APA (90 mg L^{-1})	46,9 C b	48,7 C ab	39,0 B a	27,1 A a	20,4 A a

Medias señaladas con letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Letras mayúsculas comparan a lo largo del tiempo y las letras minúsculas comparan entre tratamientos.

Cuadro 2. Variación de la composición (% CO_2 y O_2) de la atmósfera interna de las bolsas con berros lavados con sanitizantes y conservados 13 días a 5°C .

Componente (%)	Tratamiento	Tiempo de almacenamiento (días)			
		Día 0	Día 1	Día 5	Día 13
CO_2	HS BP (100 mg L^{-1})	0,62	1,22	0,78	0,79
	HS (100 mg L^{-1})	0,3 A ns	3,0 B ns	9,0 C ns	11,1 D a
	DC (10 mg L^{-1})	0,4 A	2,6 B	8,8 C	11,5 D ab
	CSA (500 mg L^{-1})	0,4 A	2,9 A	10,2 B	15,6 C b
	APA (90 mg L^{-1})	0,3 A	2,5 B	7,7 C	12,8 D ab
O_2	HS BP (100 mg L^{-1})	18,0 18,3 C	18,0	19,2	17,0
	HS (100 mg L^{-1})	ns	15,4 C ns	11,3 B ns	6,6A ns
	DC (10 mg L^{-1})	17,7 D	15,8 C	11,1 B	6,4 A
	CSA (500 mg L^{-1})	18,0 D	15,3 C	11,9 B	4,2 A
	APA (90 mg L^{-1})	18,2 D	15,7 C	11,1 B	6,3 A

Medias señaladas con letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Letras mayúsculas comparan a lo largo del tiempo y las letras minúsculas comparan entre tratamientos. (ns: no significativo)

Cuadro 3. Evolución de los recuentos de aerobios mesófilos en hojas de berros lavadas con diferentes sanitizantes y conservadas 13 días a 5 °C bajo atmósfera modificada pasiva.

Microorganismo (log UFC•g-1)	Tratamiento	Tiempo de almacenamiento (días)			
		Día 1	Día 5	Día 9	Día 13
Aerobios mesófilos	Materia Prima	6,4 d	-	-	-
	HS BP (100 mg L ⁻¹)	5,2 A b	6,8 C bc	7,3 D b	7,6 E c
	HS (100 mg L ⁻¹)	5,0 A b	6,6 C b	7,2 D ab	7,2 D a
	DC (10 mg L ⁻¹)	5,7 A c	7,0 C c	7,3 D b	7,4 D b
	CSA (500 mg L ⁻¹)	4,4 A a	6,2 B a	7,1 B a	7,8 C d
	APA (90 mg L ⁻¹)	5,6 A c	6,8 C bc	7,3 D b	7,4 D b
Psicrófilos	Materia Prima	6,4 d	-	-	-
	HS BP (100 mg L ⁻¹)	5,4 A c	6,4 B bc	7,3 C ns	7,3 C ab
	HS (100 mg L ⁻¹)	4,9 A b	6,2 B b	7,1 C	7,1 C a
	DC (10 mg L ⁻¹)	5,3 A c	6,5 B c	6,9 C	7,1 C ab
	CSA (500 mg L ⁻¹)	4,3 A a	6,0 B a	7,0 D	8,0 E c
	APA (90 mg L ⁻¹)	5,5 A c	6,6 C a	7,2 D	7,3 D b
Enterobacterias	Materia Prima	6,0 d	-	-	-
	HS BP (100 mg L ⁻¹)	5,1 A bc	5,5 B ab	7,1 C ab	7,4 D b
	HS (100 mg L ⁻¹)	4,7 A b	5,8 B c	6,9 C ab	7,1 D a
	DC (10 mg L ⁻¹)	5,5 A c	5,7 A bc	7,2 B b	7,4 B b
	CSA (500 mg L ⁻¹)	4,2 A a	5,3 B a	6,8 C a	7,7 D c
	APA (90 mg L ⁻¹)	5,3 A c	6,0 B c	7,1 C ab	7,3 C ab
Lactobacillus	Materia Prima	2,2 c	-	-	-
	HS BP (100 mg L ⁻¹)	1,6 A ab	2,7 C b	2,8 C ab	3,3 D a
	HS (100 mg L ⁻¹)	1,1 A a	2,2 B a	2,5 C a	3,2 D a
	DC (10 mg L ⁻¹)	2,1 A c	3,3 B b	3,4 B c	4,3 C c
	CSA (500 mg L ⁻¹)	1,2 A a	2,7 C b	2,9 C b	3,7 D b
	APA (90 mg L ⁻¹)	2,0 A bc	3,2 C b	3,5 D c	3,9 E b

Medias señaladas con letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Letras mayúsculas comparan a lo largo del tiempo y las letras minúsculas comparan entre tratamientos. (ns: no significativo)

Cuadro 4. Variación de la calidad sensorial en hojas de berros lavados con sanitizantes y conservados bajo atmósfera modificada pasiva 13 días a 5° C.

Atributo	Tratamiento	Tiempo de almacenamiento (días)			
		Día 1	Día 5	Día 9	Día 13
Apariencia	HS BP (100 mg L ⁻¹)	10,4 B ab	9,9 B ns	6,3 A a	5,8 A a
	HS (100 mg L ⁻¹)	11,1 B b	11,1 AB	10,6 AB b	9,2 A b
	DC (10 mg L ⁻¹)	10,3 A ab	10, A	10,8 A b	9,9 A b
	CSA (500 mg L ⁻¹)	9,7 A a	9,3 A	9,7 A b	7,6 A A ab
	APA (90 mg L ⁻¹)	10,3 B ab	10,2 AB	10,0 AB b	8,4 A ab
Intensidad de Color	HS BP (100 mg L ⁻¹)	9,5 B a	8,6 B ns	5,6 A a	4,9 A a
	HS (100 mg L ⁻¹)	10,9 B b	10,4 AB	10,3 AB b	9,3 A b
	DC (10 mg L ⁻¹)	10,5 A ab	9,7 A	9,7 A b	8,9 A b
	CSA (500 mg L ⁻¹)	10,0 A ab	8,7 A	8,5 A b	8,4 A b
	APA (90 mg L ⁻¹)	10,5 B ab	9,3 AB	9,4 AB b	6,9 A ab
Turgencia	HS BP (100 mg L ⁻¹)	7,4 A ns	7,2 A ns	6,9 A ns	6,7 A ns
	HS (100 mg L ⁻¹)	8,0 A	7,5 A	7,4 A	7,3 A
	DC (10 mg L ⁻¹)	7,3 A	7,1 A	6,8 A	6,7 A
	CSA (500 mg L ⁻¹)	8,0 A	7,7 A	6,7 A	6,3 A
	APA (90 mg L ⁻¹)	8,3 A	8,1 A	7,4 A	7,0 A
Sabores extraños	HS BP (100 mg L ⁻¹)	5,7 B ns	3,3 AB ns	2,0 AB a	2,7 A ns
	HS (100 mg L ⁻¹)	4,0 A	4,3 A	4,8 Ab	3,7 A
	DC (10 mg L ⁻¹)	3,4 A	3,3 A	5,8 A b	2,6 A
	CSA (500 mg L ⁻¹)	3,7 A	5,7 A	4,2 A ab	4,6 A
	APA (90 mg L ⁻¹)	3,7 A	5,0 A	3,7 A ab	3,3 A

Medias señaladas con letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Letras mayúsculas comparan a lo largo del tiempo y las letras minúsculas comparan entre tratamientos. (ns: no significativo)

Ensayo II

Cuadro 5. Variación de la composición (% CO₂ y O₂) de la atmósfera interna de las bolsas con berros lavados con sanitizantes y conservados 13 días a 5° C.

Componente (%)	Tratamiento	Tiempo de almacenamiento (días)			
		Día 0	Día 1	Día 7	Día 13
CO ₂	HS BP (100 mg L ⁻¹)	0,5	0,4	0,4	0,2
	HS (100 mg L ⁻¹)	0,4 A ns	4,9B ns	9,1 C ab	14,0 D a
	DC (10 mg L ⁻¹)	0,4 A	4,5 B	9,6 C bc	12,5 D a
	CSA (500 mg L ⁻¹)	0,4 A	4,7 B	10,3 C c	16,1 D b
	APA (90 mg L ⁻¹)	0,5 A	3,6 B	8,2 C a	13,4 D a
O ₂	HS BP (100 mg L ⁻¹)	20,1	20,6	20,5	20,4
	HS (100 mg L ⁻¹)	20,0 D ns	15,1 C ns	11,8 B b	6,4 A b
	DC (10 mg L ⁻¹)	19,6 D	15,5 C	11,1 B ab	7,4 A b
	CSA (500 mg L ⁻¹)	19,8 D	15,5 C	9,8 B a	3,3 A a
	APA (90 mg L ⁻¹)	19,3 D	16,5 C	11,7 B b	6,7 A b

Medias señaladas con letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05). Letras mayúsculas comparan a lo largo del tiempo y las letras minúsculas comparan entre tratamientos (ns: no significativo)

Cuadro 6. Variación de los parámetros de color de los berros lavados con diferentes soluciones sanitizantes y conservados 13 días bajo EAM a 5° C.

Parámetro colorimétrico	Tratamiento	Tiempo de almacenamiento (días)		
		Día 1	Día 7	Día 13
L	Materia Prima	44,1	-	-
	HS BP (100 mg L ⁻¹)	45,1 A ns	47,0 B ns	50,3 C b
	HS (100 mg L ⁻¹)	45,1 A	45,4 A	46,0 A a
	DC (10 mg L ⁻¹)	45,5A	46,4 AB	47,2 Ba
	CSA (500 mg L ⁻¹)	45,1 A	46,2 B	47,9 C a
	APA (90 mg L ⁻¹)	45,5 A	46,9 BC	47,9 C a
Croma	Materia Prima	26,9	-	-
	HS BP (100 mg L ⁻¹)	27,9 A ns	29,1 BC ns	30,7 C b
	HS (100 mg L ⁻¹)	27,7 A	27,3A	30,3 B b
	DC (10 mg L ⁻¹)	26,7 A	27,1 A	28,0 A a
	CSA (500 mg L ⁻¹)	26,9 A	27,2 A	28,6 A a
	APA (90 mg L ⁻¹)	27,6 A	27,4 A	29,2 A a
Hue	Materia Prima	125,6	-	-
	HS BP (100 mg L ⁻¹)	123,6 C ns	122,9 B a	121,4 A a

HS (100 mg L ⁻¹)	125,1 B	125,9 B b	123,2 A b
DC (10 mg L ⁻¹)	124,5 A	124,2 A ab	123,6 A b
CSA (500 mg L ⁻¹)	124,9 B	124,5 AB ab	122,9 A ab
APA (90 mg L ⁻¹)	124,9 B	125,5 AB b	123,1 A ab

Medias señaladas con letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Letras mayúsculas comparan a lo largo del tiempo y las letras minúsculas comparan entre tratamientos. (ns: no significativo)