



Biblioteca Central
Fac. Cs. Exactas
U.N.L.P.

Universidad Nacional de La Plata (UNLP)
Facultad de Ciencias Exactas
Departamento de Química

**EFECTO DEL ALMACENAMIENTO SOBRE LA
CALIDAD DE APIO TROZADO.
ASPECTOS QUIMICOS DE LOS MECANISMOS DE
DEFENSA.**

-Trabajo de Tesis Doctoral-

Autor: Ing. Agr. Sonia Zulma Viña
Directora: Dra. Alicia Raquel Chaves

*TESIS
201038*

Lugar de Trabajo:

CIDCA

**Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de
Alimentos. Facultad de Ciencias Exactas. UNLP**

Calle 47 y 116 s/nº

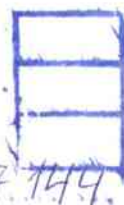
La Plata (1900), Buenos Aires, Argentina

Tel/fax (0221) 424-9287 / 425-4853

E-mail: soniavia@quimica.unlp.edu.ar

Marzo de 2004

REGISTRACION.....
Fecha *03-09-04*
Inv. #..... Inv..... *57744*





El presente trabajo de *Tesis Doctoral*,
para optar al título de *Doctor de la Facultad de Ciencias Exactas
de la Universidad Nacional de La Plata*,
fue realizado en el
Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de
Alimentos
-CIDCA-, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP,
bajo la dirección de la Dra. Alicia Raquel Chaves.

La Plata, Marzo de 2004

A Ignacio y Adrián

*"Los obstáculos son esas cosas que las personas ven
cuando dejan de mirar sus metas".*

E. Joseph Cossman

Mi más profundo agradecimiento:

- A mi Directora, Alicia R. Chaves, por las oportunidades que me ha brindado, por su apoyo, su guía, su estímulo y su comprensión, tanto en el aspecto laboral como en lo humano.
 - A quienes tuvieron a su cargo la Dirección del CIDCA durante los años en que se desarrolló el presente trabajo: Dra. María Cristina Añón, Dra. Noemí E. Zaritzky y Dr. Rodolfo H. Mascheroni.
 - A la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC-PBA) y a la Fundación Antorchas, por las distintas becas y subsidios que me permitieron concretar mi trabajo de tesis.
 - A María Alejandra García, una amiga a quien quiero mucho y una persona fuera de serie.
 - A Alicia Mugridge, con quien he compartido muy de cerca todos estos años, por su apoyo y su ayuda tanto en lo laboral como en lo personal.
 - A Analía Concellón y Lorenza Costa, por su excelente predisposición, sus palabras de estímulo y su compañerismo.
 - A Nora Bértola, por brindarme su ayuda y compartir su experiencia.
 - A Viviana Salvadori, por estar siempre cerca y dispuesta a dar su mano.
 - A Ariel Vicente, por las horas de estudio y los esfuerzos compartidos.
 - A Ricardo Ferreyra, por su valiosísima colaboración.
 - A Alejandro Gorretta.
 - A Aldo Campana, por su ayuda y porque charlas de por medio hizo más llevaderas las horas de trabajo en el HPLC.
 - A Mercedes López Osornio, por haberse iniciado en el camino de los "mínimamente procesados" como temática dentro del equipo, y todo lo que ello significa.
 - A Marcos Civello y Gustavo Martínez, por sus aportes y el intercambio generado dentro del grupo.
 - A Jerónimo, Exequiel, Laura, Mario, Néstor por haber hecho más ameno el trabajo de todos los días.
 - A Eduardo "El Ruso" Denisienia, por su capacidad y buena predisposición para resolver los problemas urgentes.
-

- A Luis Roche.
 - A Vicente Valenti, Pablo Mulán, José Luis Alonso y Luis Caffarena.
 - A Diana Velazco, por su asistencia en las búsquedas bibliográficas y su excelente predisposición.
 - A todos los compañeros del CIDCA, que de distintas maneras me ayudaron en mi trabajo, por su solidaridad y por todo lo compartido en estos años juntos...
 - A mis compañeros de Cátedra, Ings. Agrs. Jorge Ringuelet, Elsa Cerimele, Cynthia Henning, Cielo Ré, Cecilia Arango, Santiago Ghedini, Mariel Yordáz y al Sr. Rafael Duba, por su apoyo y su estímulo.
 - A los Ings. Agrs. Roberto Balbuena y Elisa Miceli, por su preocupación por que mi trabajo no perdiera continuidad y por las oportunidades brindadas.
 - A los Ings. Agrs. Luis Balcaza y Carlos Pineda. A los Sres. Productores Ricardo Placenti, Jorge Paladini, Hernán Marsianesi y Eduardo Bártola.
-
- ♡ *A Alicia, mi mamá, por ser un ejemplo de alegría, por mostrarme que se puede ser capaz de sobreponerse a todo y seguir adelante sin perder la fe. A Carla y Mauricio, mis hermanos, por estar siempre presentes y darme su amor.*
 - ♡ *A Chela y Mario, mis suegros, por el enorme cariño que sienten por mi hijo y por el apoyo y comprensión brindados.*
 - ♡ *A Adrián, mi esposo, por todos estos años juntos y por lo que nos resta por compartir, por su nobleza, sus sentimientos puros, su comprensión y su amor inmenso, por darme fuerzas y sostenerme en todo momento.*
 - ♡ *A Ignacio, mi hijo, por las alegrías de todos los días, por cada gesto de amor y por haberme convertido en la mujer más feliz del mundo.*

A todos... ¡GRACIAS!

Durante la ejecución del presente Trabajo de Tesis se realizaron las siguientes publicaciones y/o presentaciones a Congresos:

- ✓ Viña, S. Z., Chaves, A. R. 2003. Texture changes in fresh cut celery during refrigerated storage. *J. Sci. Food Agric.* 83: 1308-1314.
 - ✓ Viña, S. Z., Chaves, A. R. 1999. Conservación refrigerada de apio trozado. Actas del VIII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Asociación Argentina de Tecnólogos Alimentarios (AATA). 13 al 15 de Mayo de 1999. Rafaela. Santa Fe. Argentina.
 - ✓ Viña, S. Z., Chaves, A. R. 1999. Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la calidad de apio trozado. Actas del XXII Congreso Argentino de Horticultura, Asociación Argentina de Horticultura (ASAHO). 28 de Setiembre al 1 de Octubre de 1999. San Miguel de Tucumán. Tucumán. Argentina.
 - ✓ Viña, S. Z., Bifaretti, A. E. 1999. Calidad comercial y estrategias empresariales en la distribución y venta de hortalizas mínimamente procesadas. Actas de la XXX Reunión de Economía Agraria, Asociación Argentina de Economía Agraria (AAEA). 13 al 14 de Octubre de 1999. Bahía Blanca. Buenos Aires. Argentina.
 - ✓ Viña, S. Z., Chaves, A. R. 2000. Efecto de la temperatura sobre la variación de textura, azúcares y fenoles en apio trozado. Actas del X Congreso Nacional Mexicano y Latinoamericano de Ingeniería Agrícola (CLIA 2000). 6 al 8 de Noviembre del 2000. Guanajuato. México.
 - ✓ Viña, S. Z., Chaves, A. R. 2000. Quality changes in minimally processed celery under refrigerated storage. Proceedings of the International Conference of the International Institute of Refrigeration (IIR). 19 al 21 de Octubre del 2000. Murcia. España.
 - ✓ Viña, Sonia Z. 2000. Producción de Hortalizas Mínimamente Procesadas. Resumen de la Conferencia dictada durante la Jornada de Capacitación "Gestión de la Calidad en la Cosecha y Poscosecha de Hortalizas", organizada
-

por la Estación Experimental Agropecuaria INTA San Pedro. Octubre de 2000. San Pedro. Buenos Aires. Argentina.

✓ Viña, S. Z., Chaves, A. R. 2001. Variaciones del color, contenido de clorofilas y azúcares durante la conservación de apio mínimamente procesado. Actas del Congreso Internacional de Ingeniería Agrícola (CIACH 2001). 9 al 11 de Mayo de 2001. Chillán. Chile.

✓ Viña, S. Z., Chaves, A. R. 2001. Incidencia de la temperatura de conservación sobre la vida de estante en apio IV Gama. Actas del VI Congreso Iberoamericano de Aire Acondicionado y Refrigeración (CIAR 2001). 15 al 17 de Agosto de 2001. Capital Federal. Buenos Aires. Argentina.

✓ Viña, S. Z. 2001. Hortalizas Mínimamente Procesadas: Producción y Conservación. Boletín Hortícola Año 9 N° 28: 12-19.

✓ Viña, S. Z., Chaves, A. R. 2002. Compuestos antioxidantes en apio precortado: vitamina C y fenoles. XXV Congreso Argentino de Horticultura, Primer Encuentro Virtual de las Ciencias Hortícolas. Asociación Argentina de Horticultura (ASAHO). 25 de Noviembre al 6 de Diciembre de 2002. Argentina.

✓ Viña, S. Z., Chaves, A. R. Variación de la actividad antioxidante y del contenido de compuestos fenólicos durante la conservación de apio trozado. Tercer Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones. 3 al 6 de Diciembre de 2002. Santiago de Chile. Chile.

✓ Viña, S. Z., Chaves, A. R. Actividad antioxidante de apio IV Gama. I Jornadas Regionales de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 5 y 6 de Diciembre de 2002. Balcarce. Buenos Aires. Argentina.

✓ Viña, S. Z., Chaves, A. R. Incidencia del cortado en el contenido de fenoles solubles y flavonas presentes en pecíolos de apio. 9º Congreso Nacional de Horticultura. Sociedad Uruguaya de Horticultura (SUH). 1 al 4 de Abril de 2003. Montevideo. Uruguay.

- ✓ Viña, S. Z., Chaves, A. R. Variaciones de la calidad nutricional durante el almacenamiento de apio mínimamente procesado. Primeras Jornadas de Biología y Tecnología Postcosecha. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA), Facultad Ciencias Exactas UNLP. 1º y 2 de Septiembre de 2003. La Plata. Buenos Aires. Argentina.

 - ✓ Viña, Sonia Z., Chaves, Alicia R. 2003. IV Gama. Tecnologías aptas para la conservación de hortalizas. IDIA XXI. Revista de Información sobre Investigación y Desarrollo Agropecuario - Horticultura y Floricultura - Ediciones INTA Año III N° 4: 37-41.

 - ✓ Viña, S. Z., Chaves, A. R. Respuestas defensivas frente al daño por corte en apio mínimamente procesado. XI Jornadas de Jóvenes Investigadores de la Asociación de Universidades Grupo Montevideo, Universidad Nacional de La Plata (UNLP). 10 al 12 de Septiembre de 2003. La Plata. Buenos Aires. Argentina.

 - ✓ Viña, S. Z., Chaves, A. R. Efecto de la temperatura y el tiempo de almacenamiento sobre el contenido de compuestos fenólicos vinculados al pardeamiento de apio mínimamente procesado. CIBIA IV (IV Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos). 5 al 8 de Octubre de 2003. Valparaíso. Chile.
-

RESUMEN

En el presente Trabajo de Tesis se analizaron las variaciones de la calidad sensorial y de los principales aspectos físicoquímicos que la determinan, en apio mínimamente procesado almacenado durante 27 días a 0 ó 10°C. Se estudiaron las modificaciones ocurridas en la textura de los trozos y se investigó el contenido de lignina.

Se identificaron los principales tipos de daño (amarilleamiento, desarrollo de apariencia blanco translúcida en los sectores de corte, pardeamiento de los haces vasculares expuestos, olores no característicos, podredumbres y ahuecado). A 10°C varios de estos daños fueron evidentes en la primera semana, mientras que a 0°C, el producto mantuvo niveles aceptables de calidad aún luego de 27 días en cámara.

Tanto a 0 como a 10°C se verificaron incrementos en la textura de los trozos, a través de un ligero aumento en la fuerza máxima necesaria para cortar transversalmente los mismos. Dichos incrementos se produjeron anticipadamente a 10°C, con relación a lo ocurrido a 0°C.

El contenido de lignina aumentó en el producto almacenado a ambas temperaturas, no existiendo deposición en la zona de cortes a modo de mecanismo de cicatrización de las heridas.

Posteriormente se analizó la incidencia de la temperatura de conservación (0, 4 ó 10°C) en la concentración de compuestos fenólicos, ácido ascórbico y poder antioxidante, por sus relaciones con la respuesta de las plantas frente al estrés. Asimismo se estudió la evolución de fenoles totales y flavonas durante las primeras 24 horas posteriores al procesamiento del producto.

Se determinó que durante períodos prolongados de almacenamiento, los trozos conservados a 0°C mostraron valores más bajos de potencial de pardeamiento y de fenoles totales que los mantenidos a 4 ó 10°C. Dicha

temperatura reprimió también el incremento de fenoles solubles verificado durante las primeras horas posteriores al corte.

En cambio el contenido de ácido clorogénico de apio trozado disminuyó a las tres temperaturas ensayadas, aunque lo hizo en mayor proporción a medida que aumentó la temperatura.

Se observó que las concentraciones de las flavonas apigenina y luteolina se incrementaron durante las primeras 2-6 horas posteriores al corte, en trozos almacenados a 0, 10 ó 20°C, pero que al prolongarse el tiempo de almacenamiento, los flavonoides totales mostraron tendencia a disminuir.

El tenor de ácido ascórbico, inicialmente muy bajo, se incrementó hacia los 7-14 días de permanencia en cámara y lo hizo en mayor medida cuanto más elevada fue la temperatura. Ello podría relacionarse con el grado de avance en la senescencia de los tejidos.

El poder antioxidante de apio trozado, resultante de interacciones complejas entre compuestos con capacidad reductora, cayó durante la primera semana a 0, 4 y 10°C, pero se recuperó luego hacia el día 14.

Finalmente se aplicaron diferentes tratamientos físicos postprocesamiento (radiación UV, envasado en atmósferas modificadas –EAM-, tratamientos térmicos) y se analizó la evolución de los daños, el color y la textura del producto tratado, a fin de seleccionar la/s tecnología/s que mejor mantuvieran la calidad original de los pecíolos trozados. Los tratamientos más efectivos fueron el EAM utilizando PVC como película de empaque, el tratamiento térmico de inmersión (TTI) a 50°C durante 90 segundos y el tratamiento térmico con aire seco (TTE) a 48°C durante 1 hora.

Se estudió la incidencia de los tratamientos seleccionados en los mecanismos de defensa analizados previamente y se determinó que el EAM empleando PVC como recubrimiento de las bandejas resultó el método más adecuado, bajo las condiciones ensayadas.

Abreviaturas

4-CL: 4-cumaril-CoA ligasa	IR: Infrarrojo
AA: Acido L-ascórbico	LDL: Lipoproteínas de baja densidad
AIR: Sólidos insolubles en alcohol	LDP: Polietileno de baja densidad
ALA: Acido δ -aminolevulínico	LSD _{0,05} : Diferencia mínima significativa (grado de significación $p=0,05$)
ANOVA: Análisis de varianza	mRNA: Acido ribonucleico mensajero
APX: Ascorbato peroxidasa	NADPH: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (forma reducida)
CAD: Cinamil alcohol deshidrogenasa	PA: Poder antioxidante
CAT: Catalasa	PAL: Fenilalanina amonio liasa
CCR: Cinamoil-CoA reductasa	PMP: Productos Mínimamente Procesados
CIE: Commission Internationale de L'Eclairage	POD: Peroxidasa
CoA: Coenzima A	PP: Pérdida de peso
CHS: Chalcona sintasa	PP: Polipropileno
DHA: Acido L- dehidroascórbico	ppm: partes por millón
DNA/ADN: Acido desoxirribonucleico	PPO: Polifenoloxidasa
DPPH•: 2,2-difenil-1-picrilhidracil	PVC: Cloruro de polivinilo
EAM: Envasado en atmósfera modificada	RNA/ARN: Acido ribonucleico
EC ₅₀ : Concentración efectiva media	SAGPyA: Secretaría de agricultura, ganadería, pesca y alimentación
ERÖs: Especies reactivas de oxígeno	SOD: Superóxido dismutasa
FMC: Fuerza máxima de corte	TT: Tratamientos térmicos
GC: Cromatografía gaseosa	TTE: Tratamiento térmico en estufa (aire seco)
GSH: Glutatión reducido	TTI: Tratamiento térmico de inmersión
HACCP: Análisis de Riesgos y Control de Puntos Críticos	UA: Unidades de absorbancia
HPLC: Cromatografía líquida de alta performance	UDP: Uridin difosfato
HR: Humedad relativa	UV: Ultravioleta
HSP: Proteínas de estrés térmico	UV-VIS: Ultravioleta-Visible

INDICE**INTRODUCCION GENERAL**

- 1. PRODUCTOS MINIMAMENTE PROCESADOS **pág. 2**
 - 1.1. POSTCOSECHA DE FRUTAS Y HORTALIZAS **pág. 2**
 - 1.2. PROCESAMIENTO DE PRODUCTOS HORTIFRUTICOLAS **pág. 3**
 - 1.3. PRODUCTOS MINIMAMENTE PROCESADOS: DEFINICIONES **pág. 5**
 - 1.4. ETAPAS EN LA PRODUCCION DE HORTALIZAS MINIMAMENTE PROCESADAS **pág. 7**
 - 1.5. PRINCIPALES FACTORES QUE REDUCEN LA CALIDAD **pág. 10**
 - 1.6. IMPORTANCIA Y PERSPECTIVAS DE CRECIMIENTO EN LA COMERCIALIZACION DE VEGETALES MINIMAMENTE PROCESADOS **pág. 18**
- 2. APIO ENTERO Y TROZADO **pág. 22**
 - 2.1. EL CULTIVO DEL APIO **pág. 22**
 - 2.1.1. ORIGEN Y CARACTERISTICAS DE LA PLANTA **pág. 22**
 - 2.1.2. CLIMA Y SUELO **pág. 23**
 - 2.1.3. FACTORES ADVERSOS **pág. 25**
 - 2.1.4. VARIEDADES DE CULTIVO **pág. 26**
 - 2.1.5. MANEJO DEL CULTIVO **pág. 27**
 - 2.1.6. COSECHA Y POSTCOSECHA **pág. 28**
 - 2.1.7. ZONAS PRODUCTORAS Y ESTADISTICAS DE PRODUCCION **pág. 29**
 - 2.2. SISTEMA SELECCIONADO: APIO TROZADO **pág. 30**
 - 2.2.1. FUNDAMENTOS DE LA ELECCION DEL PRODUCTO **pág. 30**
 - 2.2.2. ANTECEDENTES **pág. 31**
 - 2.2.3. ELECCION DE LA VARIEDAD **pág. 31**

OBJETIVOS

- OBJETIVO GENERAL **pág. 33**
- OBJETIVOS ESPECIFICOS **pág. 33**

CAPITULO I: INCIDENCIA DE LA TEMPERATURA SOBRE LA CALIDAD DE APIO TROZADO. ASPECTOS FISICOQUIMICOS

- 1.1. INTRODUCCION
 - 1.1.1. ¿Qué se entiende por *calidad* de un alimento de origen vegetal? **pág. 35**
 - 1.1.2. El color como componente de la calidad **pág. 36**
 - 1.1.3. El color y su medida **pág. 37**
 - 1.1.4. Las clorofilas y el color verde **pág. 41**
- 1.2. MATERIALES Y METODOS
 - 1.2.1. Material vegetal **pág. 47**
 - 1.2.2. Procesamiento **pág. 47**
 - 1.2.3. Almacenamiento **pág. 49**
 - 1.2.4. Determinaciones **pág. 49**
 - 1.2.4.1. Evaluación de características sensoriales **pág. 50**
 - 1.2.4.2. Medición de la actividad respiratoria **pág. 50**
 - 1.2.4.3. Composición de la atmósfera en el interior de los envases **pág. 51**
 - 1.2.4.4. Pérdida de peso **pág. 51**
 - 1.2.4.5. Color superficial **pág. 51**
 - 1.2.4.6. Contenido de clorofilas **pág. 52**
 - 1.2.4.7. Contenido de azúcares **pág. 53**
 - a) Cuantificación de azúcares reductores y totales por colorimetría **pág. 53**
 - b) Identificación y cuantificación de azúcares reductores mediante HPLC **pág. 54**
 - 1.2.5. Diseño experimental y análisis de resultados **pág. 54**
- 1.3. RESULTADOS Y DISCUSION
 - 1.3.1. Evaluación de características sensoriales **pág. 55**
 - 1.3.2. Actividad respiratoria **pág. 57**

- I.3.3. Composición de la atmósfera en el interior de los envases **pág. 60**
- I.3.4. Pérdida de peso **pág. 62**
- I.3.5. Color superficial **pág. 65**
- I.3.6. Contenido de clorofilas **pág. 70**
- I.3.7. Contenido de azúcares simples y manitol **pág. 74**
 - A) Cuantificación de azúcares reductores y totales por colorimetría **pág. 74**
 - B) Identificación y cuantificación de azúcares reductores mediante HPLC **pág. 74**
- I.4. CONCLUSIONES
 - Conclusiones **pág. 79**

CAPITULO II: INCIDENCIA DE LA TEMPERATURA SOBRE LA TEXTURA Y CONTENIDO DE LIGNINA

II.1. INTRODUCCION

- II.1.1. La textura como componente de la calidad de productos hortofrutícolas **pág. 81**
- II.1.2. Bases estructurales de la textura de alimentos de origen vegetal **pág. 82**
- II.1.3. Métodos para la medición de la textura **pág. 88**
- II.1.4. Consideraciones acerca de la textura de apio **pág. 90**
- II.1.5. Las ligninas como constituyentes de las paredes celulares **pág. 91**
- II.1.6. La lignificación como mecanismo de defensa **pág. 94**

II.2. MATERIALES Y METODOS

- II.2.1. Material vegetal **pág. 96**
- II.2.2. Procesamiento **pág. 96**
- II.2.3. Almacenamiento **pág. 96**
- II.2.4. Determinaciones **pág. 96**
 - II.2.4.1. Textura **pág. 96**
 - II.2.4.1.1. Ensayos de corte **pág. 96**
 - a) Cortes transversales **pág. 96**
 - b) Cortes longitudinales **97**
 - II.2.4.1.2. Ensayos de compresión **pág. 97**
 - II.2.4.2. Contenido de sólidos insolubles en alcohol **pág. 98**
 - II.2.4.3. Contenido de lignina **pág. 98**
 - II.2.4.4. Pruebas histoquímicas **pág. 99**
- II.2.5. Diseño experimental y análisis de resultados **pág. 99**

II.3. RESULTADOS Y DISCUSION

- II.3.1. Textura **pág. 101**
 - II.3.1.1. Ensayos de corte
 - a) Cortes transversales **pág. 101**
 - b) Cortes longitudinales **pág. 104**
 - II.3.1.2. Ensayos de compresión **pág. 104**
- II.3.2. Sólidos insolubles en alcohol **pág. 105**
- II.3.3. Contenido de lignina **pág. 106**
- II.3.4. Pruebas histoquímicas **pág. 108**

II.4. CONCLUSIONES

- Conclusiones **pág. 110**

CAPITULO III: INCIDENCIA DE LA TEMPERATURA SOBRE LOS MECANISMOS DE DEFENSA. COMPUESTOS FENOLICOS

III.1. INTRODUCCION

- III.1.1. El rol de los compuestos fenólicos en los mecanismos de defensa vegetales **pág. 111**
- III.1.2. Biosíntesis de fenilpropanoides inducidos por estrés **pág. 114**
- III.1.3. El fenómeno de pardeamiento enzimático **pág. 118**
- III.1.4. Los compuestos flavonoides **pág. 119**

III.2. MATERIALES Y METODOS

- III.2.1. Material vegetal **pág. 123**
- III.2.2. Procesamiento **pág. 123**

III.2.3. Almacenamiento	pág. 123
III.2.4. Determinaciones	pág. 124
III.2.4.1. Potencial de pardeamiento	pág. 124
III.2.4.2. Contenido de fenoles totales	pág. 125
III.2.4.3. Concentración de ácido clorogénico	pág. 125
III.2.4.4. Identificación y cuantificación de compuestos flavonoides	pág. 126
a) Determinación colorimétrica de flavonoides totales	pág. 126
b) Identificación y cuantificación de flavonoides por HPLC	pág. 127
III.2.5. Diseño experimental y análisis de resultados	pág. 128
III.3. RESULTADOS Y DISCUSION	
III.3.1. Potencial de pardeamiento	pág. 129
III.3.2. Contenido de fenoles totales	pág. 131
a) Ensayos Tiempos Cortos	pág. 131
b) Ensayos Tiempos Prolongados	pág. 132
III.3.3. Contenido de ácido clorogénico	pág. 134
III.3.4. Flavonoides	pág. 139
a) Cuantificación de flavonoides totales por colorimetría	pág. 137
b) Identificación y cuantificación de flavonoides totales por HPLC	pág. 138
III.4. CONCLUSIONES	
Conclusiones	pág. 143

CAPITULO IV: INCIDENCIA DE LA TEMPERATURA SOBRE LOS MECANISMOS DE DEFENSA. VITAMINA C Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

IV.1. INTRODUCCION

IV.1.1. Estrés oxidativo y antioxidantes en plantas	pág. 144
IV.1.2. Contribución de los compuestos fenólicos a la actividad antioxidante de tejidos vegetales	pág. 145
IV.1.3. Importancia del contenido de vitamina C	pág. 147
IV.2. MATERIALES Y METODOS	
IV.2.1. Material vegetal	pág. 151
IV.2.2. Procesamiento	pág. 151
IV.2.3. Almacenamiento	pág. 151
IV.2.4. Determinaciones	pág. 151
IV.2.4.1. Contenido de ácido ascórbico	pág. 151
IV.2.4.2. Actividad antioxidante	pág. 152
IV.2.5. Diseño experimental y análisis de resultados	pág. 153
IV.3. RESULTADOS Y DISCUSION	
IV.3.1. Contenido de ácido ascórbico	pág. 154
IV.3.2. Actividad antioxidante	pág. 157
IV.4. CONCLUSIONES	
Conclusiones	pág. 163

CAPITULO V: EFECTO DE TRATAMIENTOS FISICOS POSTPROCESAMIENTO SOBRE LA CONSERVACION DE APIO TROZADO

SECCION V.1: SELECCIÓN DE TRATAMIENTOS

V.1.1. INTRODUCCION

V.1.1.1. Tecnologías aptas para la conservación de productos mínimamente procesados	pág. 164
V.1.1.2. Envasado en atmósfera modificada	pág. 167
V.1.1.3. Tratamientos térmicos	pág. 171
V.1.1.4. Empleo de radiación ultravioleta	pág. 174
V.1.2. MATERIALES Y METODOS	
V.1.2.1. Material vegetal	pág. 178

V.1.2.2. Procesamiento	pág. 178
V.1.2.3. Tratamientos aplicados y condiciones de almacenamiento ensayadas	pág. 178
V.1.2.3.1. Tratamientos con radiación UV	pág. 178
V.1.2.3.2. Empleo de atmósferas modificadas	pág. 180
V.1.2.3.3. Tratamientos térmicos por inmersión en agua	pág. 180
a) Con almacenamiento a 20°C	pág. 180
b) Con almacenamiento a 0°C	pág. 181
V.1.2.3.4. Tratamientos térmicos con aire seco	pág. 182
V.1.2.4. Determinaciones	pág. 183
V.1.2.4.1. Evaluación de características sensoriales	pág. 183
V.1.2.4.2. Composición de la atmósfera en el interior de los envases	pág. 183
V.1.2.4.3. Pérdida de peso	pág. 183
V.1.2.4.4. Color superficial	pág. 183
V.1.2.4.5. Textura	pág. 183
V.1.2.5. Diseño experimental y análisis de resultados	pág. 184
V.1.3. RESULTADOS Y DISCUSION	
V.1.3.1. Tratamientos UV	pág. 187
V.1.3.1.1. Evaluación de características sensoriales	pág. 187
V.1.3.1.2. Pérdida de peso	pág. 190
V.1.3.1.3. Color superficial	pág. 191
V.1.3.2. Envasado en atmósfera modificada (EAM)	pág. 194
V.1.3.2.1. Evaluación de características sensoriales	pág. 194
V.1.3.2.2. Composición de la atmósfera	pág. 194
V.1.3.2.3. Pérdida de peso	pág. 196
V.1.3.2.4. Color superficial	pág. 197
V.1.3.2.5. Textura	pág. 200
V.1.3.3. Tratamientos térmicos por inmersión en agua (TTI)	pág. 202
V.1.3.3.a. TTI con almacenamiento a 20°C	pág. 202
V.1.3.3.a.1. Evaluación de características sensoriales	pág. 202
V.1.3.3.a.2. Pérdida de peso	pág. 204
V.1.3.3.a.3. Color superficial	pág. 205
V.1.3.3.b. TTI con almacenamiento a 0°C	pág. 206
V.1.3.3.b.1. Evaluación de características sensoriales	pág. 207
V.1.3.3.b.2. Pérdida de peso	pág. 207
V.1.3.3.b.3. Color superficial	pág. 208
V.1.3.3.b.4. Textura	pág. 209
V.1.3.4. Tratamientos térmicos con aire seco (Tratamientos en estufa, TTE)	pág. 211
V.1.3.4.1. Evaluación de características sensoriales	pág. 211
V.1.3.4.2. Color superficial	pág. 212
V.1.3.4.3. Textura	pág. 213
V.1.4. CONCLUSIONES	
Conclusiones	pág. 215

SECCION V.2: EFECTO DE TRATAMIENTOS TERMICOS SOBRE LA CALIDAD DE APIO TROZADO. MECANISMOS DE DEFENSA

V.2.1. INTRODUCCION	
V.2.1.1. Aplicaciones de los tratamientos térmicos postcosecha	pág. 216
V.2.1.2. Respuestas al tratamiento térmico	pág. 217
V.2.2. MATERIALES Y METODOS	
V.2.2.1. Material vegetal	pág. 221
V.2.2.2. Procesamiento	pág. 221
V.2.2.3. Tratamientos aplicados y condiciones de almacenamiento ensayadas	pág. 221
V.2.2.4. Determinaciones	pág. 222
V.2.2.4.1. Evaluación de características sensoriales	pág. 222
V.2.2.4.2. Pérdida de peso	pág. 223
V.2.2.4.3. Color superficial	pág. 223
V.2.2.4.4. Textura	pág. 223

V.2.2.4.5. Potencial de pardeamiento **pág. 223**
V.2.2.4.6. Contenido de Fenoles Totales **pág. 223**
V.2.2.4.7. Concentración de ácido clorogénico **pág. 223**
V.2.2.4.8. Concentración de Flavonoides Totales **pág. 224**
V.2.2.4.9. Acido ascórbico **pág. 224**
V.2.2.4.10. Poder antioxidante **pág. 224**
V.2.2.5. Diseño experimental y análisis de resultados **pág. 224**
V.2.3. RESULTADOS Y DISCUSION
V.2.3.1. Evaluación de características sensoriales **pág. 225**
V.2.3.2. Pérdida de peso **pág. 229**
V.2.3.3. Color superficial **pág. 229**
V.2.3.4. Textura **pág. 231**
V.2.3.5. Potencial de pardeamiento **pág. 234**
V.2.3.6. Contenido de Fenoles Totales **pág. 236**
V.2.3.7. Concentración de ácido clorogénico **pág. 237**
V.2.3.8. Concentración de Flavonoides Totales **pág. 239**
V.2.3.9. Contenido de ácido ascórbico **pág. 241**
V.2.3.10. Poder antioxidante **pág. 243**
V.2.4. CONCLUSIONES
 Conclusiones **pág. 246**

DISCUSION GENERAL

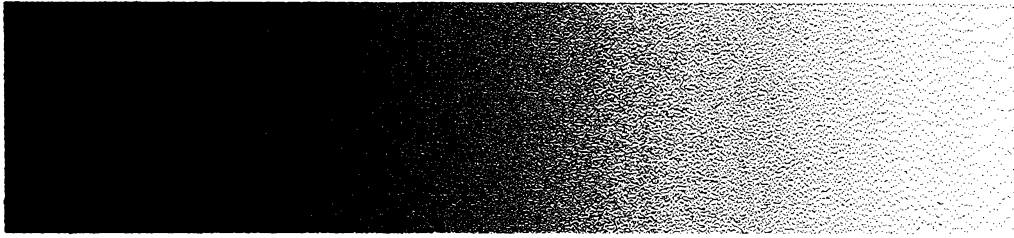
Discusión general **pág. 247**

CONCLUSIONES GENERALES

Conclusiones generales **pág. 253**

REFERENCIAS

Referencias **pág. 256**



INTRODUCCION GENERAL

1. PRODUCTOS MINIMAMENTE PROCESADOS

1. 1. Postcosecha de frutas y hortalizas

El estudio de la fisiología postcosecha de frutas y hortalizas reviste gran importancia, dado que las tecnologías disponibles y a desarrollar se fundamentan en el conocimiento de las funciones vitales del vegetal y cómo éstas son afectadas por las condiciones ambientales.

Las pérdidas postcosecha de frutas y hortalizas son difíciles de predecir y pueden ser muy relevantes, tanto cuali como cuantitativamente. Flores Gutiérrez (2000) señaló que dichas mermas incluyen a aquéllas de origen tecnológico, al deterioro debido a agentes biológicos o microbiológicos y al daño mecánico. Las pérdidas de origen tecnológico comprenderían a las ocasionadas por prácticas culturales inadecuadas, almacenamiento deficiente y manipuleo inapropiado durante el transporte.

El deterioro fisiológico de frutas y hortalizas se refiere al envejecimiento de los productos durante el almacenamiento y es debido a reacciones naturales. Las pérdidas causadas por agentes químicos o bioquímicos devienen de reacciones cuyos productos intermediarios o finales son indeseables. Ello puede resultar en disminuciones significativas del valor nutricional y en muchos casos puede perderse la totalidad de los productos (Barbosa-Cánovas et al., 2003).

El daño debido a agentes biológicos o microbiológicos engloba el causado por insectos, bacterias, hongos, levaduras, virus, roedores y demás animales. Cuando las frutas y hortalizas son almacenadas pueden estar sujetas a contaminaciones cruzadas con microorganismos provenientes de otros productos o de los mismos contenedores (Barbosa-Cánovas et al., 2003).

La mayoría de los microorganismos presentes en hortalizas frescas son saprófitos, tales como *coryneformes*, bacterias ácido lácticas, formadores de

esporas, coliformes, micrococos y *Pseudomonas*, provenientes del suelo, el aire y el agua. *Pseudomonas* y el grupo *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* de las *Enterobacteriaceae* son las más frecuentes. También suelen aparecer hongos, incluyendo *Aureobasidium*, *Fusarium* y *Alternaria*, pero en proporción relativamente menor que las bacterias (Alzamora et al., 2000).

La existencia de bacterias patógenas en productos hortifrutícolas frescos ha sido informada por Alzamora et al. (2000), incluyendo *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila* y *Escherichia coli* O15:H7. Dichas bacterias pueden encontrarse también en productos mínimamente procesados.

El daño mecánico es causado por métodos inapropiados durante la cosecha, empaquetado y transporte, que pueden conducir a lesiones de los tejidos, a la abrasión y a la ruptura de los órganos vegetales. Asimismo puede incrementar la susceptibilidad al decaimiento y al crecimiento de microorganismos.

En general, se estima que entre un 49 y un 80% de la producción de frutas y hortalizas llega hasta los consumidores, mientras que la diferencia se pierde durante las diversas etapas que van desde la cosecha hasta el consumo. Como es de esperar, los mayores porcentajes de pérdida corresponden a países en vías de desarrollo (Barbosa-Cánovas et al., 2003).

1.2. Procesamiento de productos hortifrutícolas

Además de su comercialización como productos frescos, existen variadas alternativas para el procesamiento y la transformación de frutas y hortalizas, tanto a escala industrial como artesanal. Ellas comprenden a la elaboración de enlatados o conservas, el congelado, la deshidratación, la producción de encurtidos (conservación con sal y/o vinagre), procesos fermentativos, etc.

Dentro de las diversas opciones debemos incluir a las *frutas y hortalizas mínimamente procesadas*.

Como se muestra en la Tabla 1, las principales diferencias entre productos no procesados y productos sometidos a un procesamiento mínimo o avanzado residen en los pasos específicos de transformación y preservación que se llevan a cabo en estos últimos (Wiley, 1994).

Tabla 1. Espectro de los sistemas de preservación de alimentos, relacionado a frutas y hortalizas mínimamente procesadas (Adaptado de Wiley, 1994).

<i>Categoría de Preservación</i>	<i>No Preservado (Producto Fresco)</i>	<i>Mínimamente Procesado</i>	<i>Preservación por Bajas Temperaturas</i>	<i>Irradiado</i>	<i>Deshidratado</i>	<i>Preservación por Calor</i>
<i>Calidad del Producto (frescura)</i>	Fresco	"Como fresco" (like-fresh)	Ligeramente modificado	Ligeramente modificado	Ligeramente a completamente modificado	Completamente modificado
<i>Método de Procesamiento y Preservación</i>	Usualmente no requiere procesamiento o métodos de preservación	Requiere procesamiento mínimo y métodos de preservación	Requiere procesamiento, preservación por frío (congelamiento o refrigeración)	Requiere procesamiento e irradiación, pasteurización, preservación	Requiere procesamiento y deshidratación	Requiere procesamiento y preservación por calor
<i>Almacenamiento</i>	Puede o no ser refrigerado	Requiere temperaturas de refrigeración	Requiere congelamiento o temperaturas de refrigeración	Requiere refrigeración o puede ser estable a temperatura ambiente	Usualmente estable a temperatura ambiente	Estable a temperatura ambiente
<i>Envasado</i>	Puede o no ser envasado	Requiere envasado	Requiere envasado	Requiere envasado	Requiere envasado	Requiere envasado hermético

A diferencia de los congelados que deben ser transportados y almacenados a temperaturas de -10°C o inferiores, los productos mínimamente procesados (PMP) requieren cadena de frío, pero bajo temperaturas de refrigeración ($0-8^{\circ}\text{C}$), dependiendo del producto en cuestión. Asimismo la calidad general y particularmente la textura de los productos congelados difieren en gran medida de los PMP, que conservan su carácter de "productos frescos" (Wiley, 1994).

Los PMP pueden ser contrastados con las frutas y hortalizas irradiadas, aunque este método de preservación puede utilizarse como una barrera más para su tratamiento.

Asimismo son evidentes las diferencias entre los PMP y los vegetales deshidratados, en términos de textura y actividad agua (a_w).

Una importante distinción entre los PMP y los tratados térmicamente es que aquéllos no exhiben la "esterilidad comercial" que define a estos últimos (Wiley, 1994).

Una consideración a realizar es que a diferencia de la mayoría de los sistemas de procesamiento de alimentos, en los cuales se mejora la preservación de los mismos por medio de diferentes tratamientos, los PMP resultan altamente perecederos, aún más que los materiales de partida no procesados (Huxsoll y Bolin, 1989).

1. 3. Productos mínimamente procesados: definiciones

Las frutas y hortalizas mínimamente procesadas y refrigeradas constituyen una clase muy importante y con un rápido crecimiento dentro de los alimentos mínimamente procesados, particularmente en los países desarrollados.

Según King Jr. y Bolin (1989), son aquéllas convenientemente preparadas para su distribución y consumo, por medio de algún tipo de elaboración, más reducida que en los métodos de conservación tradicionales tales como el congelado o enlatado, pero que les permite incorporar cierto valor agregado. Además del lavado y desinfección, los procedimientos realizados pueden incluir pelado, trozado, cubeteado, rallado, rebanado, etc., siendo el producto resultante envasado en bolsas o, más comúnmente, en bandejas recubiertas por películas plásticas.

Rolle y Chism (1987) señalaron que el procesamiento mínimo incluye todas las operaciones unitarias que podrían realizarse antes del escaldado (blanching), en una línea de procesamiento convencional.

Las definiciones que proporcionan el USDA (United States Department of Agriculture) y la USFDA (United States Food and Drug Administration) para frutas y hortalizas mínimamente procesadas implican que dichos productos hayan sido cortados cuando frescos, lavados, envasados y mantenidos bajo refrigeración (Beaulieu y Gorny, 2002).

La IFPA (International Fresh-cut Produce Association) los define como frutas y hortalizas que han sido acondicionadas, peladas y/o cortadas, obteniendo un producto utilizable en un 100%, que ha sido embolsado o preenvasado para ofrecer a los consumidores alta calidad nutricional, conveniencia y sabor, manteniendo aún su frescura (Beaulieu y Gorny, 2002).

Otras denominaciones comunes son las de productos IV Gama, precortados (fresh-cut, pre-cut), listos para usar (ready-to-eat, ready-to-use), etc.

El término IV Gama surgió en Francia, refiriéndose a la cronología del desarrollo en la conservación de los productos hortifrutícolas. De hecho, la I Gama corresponde al producto fresco, la II Gama a los productos appertizados o conservas y la III Gama a los congelados. La V Gama hace referencia a productos precocidos (Sierra Pereiro, 2003).

Los artículos más difundidos dentro de la IV Gama son zanahoria y remolacha ralladas, lechuga, repollo, pimiento y zapallo trozados, hojas de acelga y espinaca enteras o cortadas, inflorescencias de brócoli y coliflor, mezclas de hortalizas de hoja para ensaladas, trozos de verduras para preparar sopas, papas en bastones, rebanadas o rejillas, champiñones fileteados, brotes de soja y alfalfa, etc. A ellos se suma el apio trozado, destinado a su consumo en fresco o cocido.

1.4. Etapas en la producción de hortalizas mínimamente procesadas

La obtención de hortalizas mínimamente procesadas puede representarse a través de un diagrama de flujo simplificado (Figura 1).



Figura 1. Diagrama de flujo señalando las principales etapas en la producción de hortalizas mínimamente procesadas (Viña, 2001).

A lo largo del proceso, varios son los puntos críticos que deben ser estrictamente controlados, a fin de asegurar un producto de alta calidad higiénico-sanitaria y comercial.

Con respecto a la selección de materias primas, y aunque parezca obvio, es importante establecer claramente y de antemano con los proveedores cuáles son los estándares de calidad con que cada empresa manejará sus compras y los cronogramas correspondientes (Viña, 2001).

Varias son las empresas locales que se han volcado a la producción de hortalizas para procesarlas en sus propias plantas elaboradoras. Es el caso particular de establecimientos dedicados a la comercialización de los llamados "productos tipo asiático", como ser brotes de soja o alfalfa, o de empresas que han incorporado como ingredientes a sus mezclas ciertas especies con escasa difusión en nuestro país hasta hace algún tiempo, como lo eran el radiccio, la endivia, la rúcula o algunas variedades de lechuga (Viña, 2001).

Una alternativa con buenas expectativas, orientada hacia la producción de IV Gama, es la aparición de ciertos tipos de lechugas denominados genéricamente como "baby-leaf", de hojas muy pequeñas, que permiten eliminar el cortado, reduciendo así el daño y prolongando la vida de estante. Resulta también atractiva la incorporación de especies y variedades de diverso y vistoso colorido, que mejoran en gran medida la presentación.

Siguiendo el diagrama de flujo de la Figura 1, los tratamientos más importantes realizados en el establecimiento productor son aquéllos tendientes a reducir rápidamente el llamado "calor de campo". Las alternativas disponibles son el enfriamiento por aire, el hidrogenfriado (hydrocooling) y el enfriamiento al vacío (vacuum-cooling). La elección de una u otra opción dependerá del producto en particular, de los costos de aplicación y de la infraestructura disponible. En nuestro país la práctica más difundida es el enfriamiento con agua.

Tanto la manipulación en el campo como durante el traslado a planta de procesamiento debe realizarse cuidadosamente, evitando el daño mecánico de los productos, especialmente cuando ellos son altamente perecederos. Es necesario que dicho traslado se efectúe lo más rápidamente posible.

Durante el procesamiento propiamente dicho es importante prestar atención tanto a la limpieza como al estado de conservación de todos los utensilios, dispositivos y/o maquinarias empleadas. En el caso particular de los elementos de corte es fundamental que se ejerza una acción de corte neto, reduciendo el golpeado del material que causa daños mayores.

El lavado y desinfección de los productos debe ser realizado con agua fría, preferentemente a 4°C. Se recomienda utilizar entre 5 y 10 litros de agua por kilogramo de material procesado (Gómez, 1998). Como elemento desinfectante se emplea mayoritariamente el hipoclorito de sodio de forma tal que se alcance una concentración de 100-150 ppm de cloro activo en la solución de lavado.

Otro aspecto muy importante a considerar es la calidad del agua utilizada en la planta de procesamiento. La misma debe ser controlada periódicamente a fin de asegurar que sea apta para el uso a que está destinada.

Debido a que el agua libre y los exudados celulares sobre la superficie de los productos estimulan el crecimiento de levaduras, mohos y bacterias, es necesario proceder al secado, luego del lavado (Yildiz, 1994).

Si dicha operación se realiza por centrifugación, debe efectuarse de forma tal que la combinación entre tiempo y velocidad resulte adecuada para cada producto. Si el exceso de humedad no se elimina completamente se estimula el desarrollo de microorganismos, pero si el tiempo o la velocidad de secado son excesivos, existe el riesgo de dañar mecánicamente el material (Viña, 2001).

En resumen, y según Brody (1998), los problemas más frecuentes en productos mínimamente procesados son los siguientes: deficiente control de calidad de las materias primas; lenta reducción de la temperatura del producto; temperaturas elevadas durante las operaciones de procesamiento; higiene deficiente durante la elaboración, lo que resulta en contaminación microbiana; envasado en ambientes "sucios"; sellado defectuoso de los envases;

temperaturas elevadas durante la distribución (vehículos de transporte, almacenes de recepción, góndolas de exhibición, vehículos y heladeras de los consumidores, etc.); tiempos prolongados durante la distribución o en alguna otra etapa de la cadena; ausencia o falta de efectividad en la implementación de programas de Análisis de Riesgos y Control de Puntos Críticos (HACCP, de sus siglas en inglés); combinaciones de los anteriores.

1.5. Principales factores que reducen la calidad

Cabe recordar que los órganos vegetales, y sus partes, continúan metabólicamente activos aún después de cosechados. De esta forma, el enorme conjunto de reacciones bioquímicas que se llevan a cabo en la planta entera permanece desarrollándose en los productos que llegan frescos a nuestra mesa.

Los cambios físicos y químicos ocurridos son inducidos en su mayor parte por acción de las enzimas y conducen, generalmente, al deterioro y a las pérdidas cuali y cuantitativas que afectan los resultados económicos.

Las frutas y hortalizas mínimamente procesadas resultan ser aún más perecederas que los productos de origen, por haber sido dañadas mecánicamente (Huxsoll y Bolin, 1989). Esto altera la integridad de los tejidos, induce la pérdida de la compartimentalización celular y provoca una interacción directa entre enzimas y sustratos. Asimismo incrementa la susceptibilidad al ataque microbiano.

Es posible enumerar los problemas básicos a enfrentar cuando se busca prolongar el período de comercialización de estos productos y retener la calidad de los mismos:

- a) Cambios fisiológicos
- b) Actividad bioquímica:
 - b.1) Variaciones texturales

b.2) Cambios en la composición química

b. 3) Modificaciones en la apariencia del producto

c) Alteraciones provocadas por microorganismos

En lo que respecta a los denominados *cambios fisiológicos*, hemos señalado ya que el daño mecánico efectuado induce una activación del metabolismo. Los fenómenos más importantes observados son el *incremento de la actividad respiratoria* y, en ciertos casos, el *aumento de la producción de etileno*.

La *respiración* consiste en la degradación oxidativa de constituyentes celulares relativamente complejos (almidón, azúcares, ácidos orgánicos) a moléculas simples como dióxido de carbono y agua, con liberación de energía y formación de precursores sencillos que se utilizarán en las reacciones metabólicas de biosíntesis (Wills et al., 1981).

Trae como consecuencia un consumo de materia seca que puede ser más o menos relevante, pero fundamentalmente produce un aumento de la temperatura. Este incremento de calor atenta contra la conservación del producto y de ahí la importancia de aplicar frío rápidamente. Asimismo, y dado que la respiración comprende una serie de reacciones metabólicas catalizadas enzimáticamente, la reducción de temperatura retarda el desarrollo de las mismas.

A medida que la actividad respiratoria de los productos cosechados y/o procesados continúa, los sustratos de la misma ya no son provistos por la planta, que los obtenía originariamente a partir de su propia función fotosintética. Esto lleva a una pérdida más o menos considerable de sustancia seca durante el almacenamiento de productos vegetales. La velocidad con que ocurre este proceso determina en parte la duración de la vida comercial de un producto (Wills et al., 1981), y la mayoría de las tecnologías disponibles para la conservación apuntan a crear las "barreras" necesarias para lograr que el mismo se produzca más lentamente.

Si comparamos los productos mínimamente procesados con sus respectivas materias primas, veremos que existe un aumento de la actividad respiratoria de los materiales elaborados con relación a los intactos (Tabla 2).

Tabla 2. Relación entre la velocidad de consumo de O₂ de hortalizas mínimamente procesadas y los respectivos productos sin elaborar. (Adaptado de Varoquaux y Wiley, 1994).

<i>Producto</i>	<i>Relación</i>
Endivia	1,2
Brócoli	1,4
Lechuga	2,0
Zanahoria	4,0 -7,0

Puede observarse que cuanto más dañado resulte el tejido, mayor será el incremento en la tasa respiratoria, como ocurre en el caso de zanahoria rallada (Varoquaux y Wiley, 1994), donde un órgano de reserva, con baja actividad metabólica, resulta desprovisto de su epidermis protectora y se lo procesa de forma tal que la superficie final expuesta aumenta enormemente.

El *etileno* es una hormona vegetal cuya función está asociada principalmente a procesos de maduración y senescencia. Algunos trabajos señalan que en tomate rebanado se registró un aumento de 20 veces en la producción de etileno con respecto a tomate entero (Watada et al., 1990), mientras que en kiwi dicho incremento fue del orden de 7-16 veces (Varoquaux et al., 1990; Watada et al., 1990). Sin embargo este comportamiento no puede considerarse generalizado para todas las frutas y hortalizas.

Las *variaciones texturales* observadas en alimentos vegetales dependen de los productos que consideremos.

Los tejidos en crecimiento, con alta proporción de células meristemáticas y parenquimáticas, presentan elevadas tasas respiratorias y constituyen materiales altamente perecederos. Entre los principales factores que limitan la vida postcosecha de los mismos figuran los cambios texturales, que incluyen incrementos en la dureza y fibrosidad, asociados con la

continuación del crecimiento, la maduración y con la lignificación de los tejidos vasculares.

Un ejemplo característico de esta situación es el de los turiones de espárrago, que manifiestan en general un incremento de la fuerza requerida para el corte a medida que transcurre el tiempo de almacenamiento (Everson et al., 1992).

La lignificación constituye el proceso de incrustación (introducción de sustancias adicionales en la pared celular, sustituyendo en parte a la matriz en que el almacén de celulosa se embebe) más importante en plantas superiores. Sin embargo, las paredes de muchas células pueden incrustarse de sustancias tales como suberina, cutina, ceras, quinonas, taninos y otros compuestos orgánicos o minerales (Fahn, 1982).

El daño mecánico que experimentan los productos vegetales puede inducir el aumento del contenido de lignina, estimular en general el metabolismo fenólico y la actividad de ciertas enzimas involucradas en estos fenómenos, tales como la fenilalanina amonio liasa (PAL) y la peroxidasa (POD) (Ketsa y Atantee, 1998). Las frutas y hortalizas mínimamente procesadas son, por lo tanto, susceptibles a sufrir estos procesos.

Al considerar en cambio aquellos tejidos que ya han prácticamente completado su crecimiento y desarrollo, los principales cambios texturales están asociados con el ablandamiento y la pérdida de firmeza, resultando en productos cuya vida de estante se ve reducida, además de experimentar elevadas pérdidas por manipuleo. Es el caso de frutos tales como tomate, frutilla, melón, durazno, etc.

Las reacciones bioquímicas involucradas aquí son las relativas a la degradación de los polisacáridos constituyentes de las paredes celulares, en particular aquéllos que desempeñan funciones cementantes, como serían las sustancias pécticas y las hemicelulosas. Estos cambios ocurren

espontáneamente en este tipo de productos, dado que constituyen uno de los fenómenos naturalmente asociados con el proceso de maduración.

Los *cambios composicionales* involucran un gran número de compuestos y muchos revisten importancia desde el punto de vista nutricional y de la conservación del material.

La mayor fuente de energía respiratoria la constituyen los *glúcidos* (almidón y principalmente azúcares simples). Los azúcares libres más frecuentes en tejidos vegetales son sacarosa, glucosa y fructosa, con predominio de uno u otro según la especie considerada (Wills et al., 1981).

Asimismo en frutas y hortalizas existe cierta acumulación de *ácidos orgánicos* que pueden almacenarse en las vacuolas. Los más comunes son los ácidos cítrico y málico (Wills et al., 1981).

Las frutas y hortalizas no realizan un aporte importante de *proteínas* y *lípidos* (salvo excepciones) a nuestra dieta. Sí, en cambio, suministran *fibra* y *vitaminas* en proporciones considerables.

Gran interés ha despertado el aumento de los niveles de fibra en la ingesta. Las denominadas *fibras dietarias* no constituyen un grupo químicamente definido, sino que son una combinación de sustancias diversas tales como celulosa, hemicelulosas, pectinas y lignina, entre las principales (Thebaudin et al., 1997). Su característica común es que no pueden ser digeridas a lo largo del tracto gastrointestinal.

Algunos componentes de la fibra dietaria son clasificados como *insolubles* (celulosa, lignina, algunas hemicelulosas) y otros como *solubles* (pectinas, gomas, mucílagos). Se considera que las fibras insolubles tienen una mayor capacidad higroscópica y esto está en relación con su uso en el tratamiento y prevención de la constipación.

Muchos investigadores se han referido al rol de los componentes fibrosos en la prevención del cáncer de colon, si bien resta aún mucho por

dilucidar (Marlett et al., 2002; Key et al., 2002; Lupton, 2000). Otros han señalado también que las fibras dietarias presentan propiedades potenciales para reducir los niveles de colesterol total en ratas (Martín-Carrón et al., 1999), como así también ciertos efectos sobre los lípidos y parámetros de peroxidación (Aprikian et al., 2001).

Las *vitaminas* son sustancias orgánicas cuya deficiencia da lugar a estados carenciales en el organismo (Vollmer et al., 1999). Se trata de componentes esenciales de los alimentos y algunas están contenidas en los mismos bajo la forma de precursores (provitaminas). El organismo no puede sintetizarlas (o al menos no en cantidades suficientes). Las vitaminas posibilitan la degradación de los macronutrientes, la regulación del metabolismo y la formación de sustancias propias del organismo, al intervenir en múltiples procesos enzimáticos (Vollmer et al., 1999).

La *vitamina C* (ácido ascórbico) es sólo un constituyente minoritario de frutas y hortalizas, pero de extraordinaria importancia en la prevención del escorbuto. Prácticamente la totalidad de la vitamina C contenida en la dieta humana (aproximadamente el 90%) procede de frutas y hortalizas. Las necesidades de esta vitamina se estiman en unos 50 mg diarios y muchos productos de este grupo contienen una cifra de este orden en sólo 100 gramos (Wills et al., 1981).

Las frutas y hortalizas pueden ser también excelentes fuentes de *vitamina A* (bajo la forma de provitamina A) y *ácido fólico* (perteneciente a las vitaminas del grupo B), suministrando ordinariamente alrededor de un 40% de las necesidades dietéticas diarias (Wills et al., 1981).

Otros cambios composicionales relacionados con el deterioro de la calidad son las alteraciones en los *pigmentos* presentes en el material vegetal. Entre las principales sustancias responsables del color de los diferentes órganos y tejidos, figuran las clorofilas, los carotenoides y los pigmentos flavonoides. Dentro de estos últimos, algunos de los más abundantes son las antocianinas.

Las *clorofilas*, responsables del color verde de los vegetales, son compuestos relativamente lábiles, sujetos a degradación tanto química como enzimática. La conversión de clorofilas en feofitinas, por ejemplo, puede ser causada por acidificación del citoplasma celular, tal como ocurre en brócoli (Ballantyne et al., 1988). La destrucción de clorofilas también es inducida por el etileno, a expensas de una mayor actividad clorofilasa y por la pérdida de la integridad de las membranas (Varoquaux y Wiley, 1994). También son responsables de la degradación de clorofilas diversos procesos oxidativos (Wills et al., 1981).

En lo que respecta a los *carotenoides*, éstos son pigmentos liposolubles de color rojo, naranja o amarillo; algunos de ellos son convertidos a vitamina A luego de su ingestión. Los duraznos de pulpa amarilla y los caquis constituyen buenas fuentes de carotenoides provitamina A, entre los que podemos mencionar α y β - carotenos, β - criptoxantina, etc. (Wright y Kader, 1997).

Gran parte del color rojo violáceo de ciertas frutas y hortalizas se debe a la presencia de *antocianinas*, sustancias hidrosolubles que se encuentran fundamentalmente en las vacuolas celulares, frecuentemente en las capas superficiales (Wills et al., 1981).

Otros fenómenos observados, que implican una consecuencia directa sobre la pérdida de calidad de los artículos IV Gama, particularmente por alterar la *apariencia del producto* expuesto en góndola, son el pardeamiento enzimático, la deshidratación y la decoloración. En ciertos casos, y bajo condiciones inadecuadas de conservación, puede verificarse el desarrollo de olores extraños o anormales.

El *pardeamiento enzimático* consiste en la transformación, enzimática en sus primeras etapas, de compuestos fenólicos en polímeros coloreados, frecuentemente pardos o negros (Cheftel y Cheftel, 1976). Estos pigmentos oscuros, amarronados disminuyen apreciablemente la calidad visual. Es muy común en algunas frutas y legumbres, en particular cuando se alteran los

tejidos de estos vegetales o se dañan mecánicamente durante el procesamiento. Es frecuente observarlo en manzanas, peras, bananas, paltas peladas y cortadas, así como en papas y champiñones. Generalmente su incidencia se reduce aplicando sustancias antioxidantes tales como ácido ascórbico, eritórbito o sulfitos o provocando un descenso del pH, por ejemplo mediante la adición de ácido cítrico (Godfrey, 1997).

La *deshidratación* también ejerce una influencia negativa sobre la calidad de los productos IV Gama por ocasionar la pérdida de turgencia, producir marchitamiento, arrugamiento, etc., además de reducir el peso del producto. Cuando la misma se produce en los sectores de corte, brinda una apariencia blanco translúcida a los tejidos que en muchos casos es erróneamente asociada con el desarrollo de hongos por parte del consumidor final, quién puede desistir así de la decisión de compra. En la medida que la superficie de corte pierde agua, los restos celulares adheridos pueden impartir una apariencia blanquecina a la superficie que enmascara el color característico; por ejemplo, este fenómeno, común en zanahorias "baby" disminuye la intensidad del color naranja subyacente (Barth et al., 2002).

Como ya se ha hecho referencia anteriormente, el *crecimiento microbiano* que puede afectar a los productos hortifrutícolas reviste importancia por dos motivos fundamentales:

a) Varios microorganismos provocan el deterioro de los tejidos vegetales por elaborar enzimas que ocasionan la ruptura de los mismos. Las más importantes son las enzimas que degradan la celulosa y las sustancias pécticas (King Jr. y Bolin, 1989).

Asimismo algunas bacterias y hongos originan, como productos finales de su metabolismo, gomas (*Bacillus spp.*, *Leuconostoc*), compuestos coloreados (*Serratia*, *Xanthomonas*) o sustancias que confieren olores (levaduras), resultando su presencia indeseable en el alimento (King Jr. y Bolin, 1989).

b) Otros microorganismos que pueden estar presentes son responsables de la producción de toxinas o bien representan un riesgo para la salud por causar desórdenes o enfermedades en el ser humano (*Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum*, etc).

Las medidas más importantes en lo que atañe a este punto son asegurar la calidad higiénico sanitaria del material de partida, manteniendo la misma a lo largo del procesamiento, descartando productos enfermos para prevenir propagación y, obviamente, garantizando el correcto funcionamiento de la cadena de frío.

La sanitización del producto y todas las superficies de contacto, tales como los equipos de procesamiento y empaçado, reducirá además el potencial desarrollo microbiano (King Jr. y Bolin, 1989).

La calificación y capacitación de los operarios involucrados en el proceso de producción y distribución también resulta un aspecto de relevancia, apuntando a lograr que la manipulación del producto se realice de forma tal que se reduzcan los riesgos de contaminación cruzada.

1.6. Importancia y perspectivas de crecimiento en la comercialización de vegetales mínimamente procesados

Observando los cambios producidos en las décadas recientes, en lo que concierne a las modalidades de venta de productos hortifrutícolas (avance del supermercadismo, desarrollo de tecnologías para el procesamiento mínimo y el envasado de este tipo de alimentos, etc.) surge el interrogante acerca de cuáles han sido los factores determinantes del rumbo elegido.

Existe un sector de la población que ha experimentado, entre otros fenómenos socioeconómicos, la reducción del número de integrantes de la familia, el incremento en la proporción de personas que viven solas y el

aumento del porcentaje de hogares donde los ingresos son provistos por ambos integrantes de la pareja.

Esto resulta en cambios manifiestos en el estilo de vida y en las preferencias alimentarias de los consumidores.

El ritmo de vida actual, para este sector, se caracteriza por un nivel de actividad y ocupación más alto y por una menor disponibilidad de tiempo para las tareas domésticas, incluyendo entre ellas la de cocinar. Surge así la necesidad de recurrir al uso de alimentos preparados, pre-cocidos, adaptados a la cocción con microondas, etc.

También han contribuido otros factores, como el desarrollo de nuevos materiales poliméricos con propiedades de barrera, aptos para el envasado de alimentos. De igual manera han incidido los costos crecientes de la energía. Se estima que el envasado en atmósfera modificada (EAM) es una tecnología 18-20% menos "energía intensiva" comparada con el congelado, para la conservación de productos de panadería (Wiley, 1992).

Las frutas y hortalizas mínimamente procesadas surgieron en USA en los años '70 y llegaron a Europa 10 años más tarde (Sierra Pereiro, 2003).

Actualmente el sector de la IV Gama y las siguientes son señaladas por los expertos de mercado como una de las áreas con mayor perspectiva de crecimiento, dado que estos productos están en sintonía con las tendencias ya mencionadas: envejecimiento medio de la población, disminución de componentes del núcleo familiar, mayor ocupación de la mujer, aumento de las comidas fuera de casa e incremento de las ocasiones de consumo (Sierra Pereiro, 2003).

La industria alimentaria busca responder a esas nuevas exigencias con un aumento del servicio, proponiendo productos caracterizados por una elevada practicidad de uso y aumentando la calidad nutricional con artículos más similares al fresco (Sierra Pereiro, 2003).

Este último aspecto es de gran importancia puesto que gran parte de los consumidores busca cada vez más acceder a una dieta equilibrada, rica en nutrientes y saludable.

Tomas (1998) ha señalado las principales ventajas de los productos IV Gama:

- Reducción del tiempo de preparación de las comidas.
- Calidad uniforme y constante de los productos durante todo el año.
- Facilidad de acceso a productos livianos, saludables, ricos en nutrientes.
- Facilidad de almacenamiento, ya que al ser porciones requieren menos espacio.
- Mayor aprovechamiento, reduciendo las pérdidas.
- Posibilidad de inspeccionar la calidad en la recepción y antes del uso.

Durante el 2002, en USA el mercado total de vegetales mínimamente procesados alcanzó la cifra de 16.000 millones de dólares, con un incremento del 14% respecto al 2001 y una previsión de ventas para el 2003 de 19.000 millones de dólares (Sierra Pereiro, 2003).

En lo que se refiere a Europa, Francia ronda los 350 millones de euros, Reino Unido los 500 millones e Italia los 100-150 millones de euros. Los mercados de IV Gama más maduros en el Viejo Continente son el británico y el francés (Sierra Pereiro, 2003).

En nuestro país la comercialización de hortalizas mínimamente procesadas se encuentra asociada a los grandes centros de consumo y al circuito de la Gran Distribución (super e hipermercados) (Viña y Bifaretti, 1999).

Hasta hace unos años el mercado en Capital Federal y Gran Buenos Aires estaba circunscripto a unas ocho empresas de relevancia, con volúmenes de producción comprendidos entre 3.000 y 20.000 bandejas por día según la

magnitud de la firma y abasteciendo cada una desde 22 a 100 bocas de la Gran Distribución (Viña y Bifaretti, 1999).

Si bien la actual coyuntura postdevaluación ha modificado la situación descrita, las perspectivas de desarrollo de este tipo de productos sigue fundamentándose en sus características de conveniencia y asociado a los grandes centros de consumo, donde se concentran los sectores poblacionales de mayor nivel de ocupación e ingresos.

2. APIO ENTERO Y TROZADO

2.1. El cultivo de apio

2.1.1 Origen y características de la planta

El apio (*Apium graveolens L.*) es una especie perteneciente a la Familia Umbelliferae (Apiaceae). Es originario de la Cuenca del Mediterráneo. Las formas silvestres se encuentran en zonas de suelos pantanosos. Italia fue el país precursor en la producción de apio comestible en el siglo XVI (Vigliola, 1998).

Es una planta bianual, que completa su ciclo de vida y produce semillas al cabo de dos estaciones. Durante el primer año de su ciclo crece vegetativamente y produce una roseta de hojas que constituye la parte comestible. Al termoinducirse, el tallo principal corto se elonga 60-90 cm, desarrollan los tallos florales muy ramificados y la planta deja de ser comercializable. Sin embargo, suele producirse un problema a nivel de producción, dado por la floración prematura (bolting) durante la misma temporada de cultivo. Ello es ocasionado por la exposición durante un período vernalizante a bajas temperaturas (Andreau, 1996).

La planta de apio, antes de florecer, está compuesta por raíces, un tallo corto que puede tener 2,5 cm de largo y una roseta de hojas. Cada hoja se une al tallo por un pecíolo muy largo (entre 16 y 40 cm) que, como ya se señaló, es la parte comestible de la planta. Las hojas centrales, agrupadas en torno al meristema caulinar de crecimiento, tienen las pencas poco desarrolladas y constituyen, junto a las formaciones caulinares que las sustentan, el llamado "corazón de apio" (Andreau, 1996).

El pecíolo de las hojas es carnoso, ligeramente ensanchado en la base y en su parte dorsal se observan una serie de cordones longitudinales de consistencia más dura que el resto del pecíolo y que surcan de arriba hacia abajo las pencas.

Las hojas son bipinnadas y tripinnadas, pudiendo ser de color verde claro u oscuro (Andreau, 1996).

El apio tiene una raíz pivotante muy marcada y un sistema radicular secundario adventicio muy abundante y superficial (7,5 a 15 cm). Cuando se transplanta a raíz desnuda, la raíz principal es reemplazada por un sistema radical fibroso relativamente profundo, pudiendo llegar a 60-70 cm de profundidad .

La inflorescencia es una umbela compuesta. El fruto es un esquizocarpo que a la madurez se divide en dos aquenios uniseminados de 1 mm de longitud (Vigliola, 1998).

El apio es una planta de polinización cruzada, pero autocompatible. La autopolinización en flores individuales no ocurre.

Las variedades botánicas existentes son: *dulce* (apio de cabeza y apio de cortar), *rapaceum* (apio-nabo) y *secalinum* (apio de hoja).

Entre los objetivos del mejoramiento genético se puede mencionar el desarrollo de cultivares con necesidad de frío prolongado para inducir la floración, la obtención de plantas con mayor longitud de pecíolos, erectas, resistentes a enfermedades y la producción de pencas tiernas, menos fibrosas (Vigliola, 1998).

2.1.2. Clima y suelo

En general se lo considera un cultivo de clima fresco y húmedo. Las temperaturas medias óptimas son de 15-18°C, la máxima de 24°C y la mínima de 7°C. Las plantas pequeñas son sensibles al calor (Vigliola, 1998).

Las heladas provocan necrosis en el cuello de la plántula. En plantas desarrolladas las heladas ligeras provocan un desprendimiento de la epidermis, mientras que durante las de alta intensidad se produce el ahuecado de las pencas (Andreau, 1996).

El apio es poco exigente en cuanto a luminosidad, pero sí lo es respecto a la humedad relativa, donde el óptimo se encuentra por encima del 80% (Andreau, 1996).

Si las plantas son sometidas durante 15 días a temperaturas entre 5-14°C se induce la floración. El porcentaje de plantas que florecen es proporcional a la cantidad de frío recibida. La floración prematura está influenciada genéticamente, por lo tanto existen variedades más o menos susceptibles a preflorecer. La temperatura límite de vernalización está entre los 14-16°C (Andreau, 1996).

El alargamiento del escapo floral y la floración son dependientes del fotoperíodo y de la calidad e intensidad de la luz. Una planta vernalizada no emite su escapo floral hasta que el fotoperíodo no sea lo suficientemente largo (12 horas) (Andreau, 1996).

En cuanto a las condiciones edáficas, las más propicias son suelos con un pH que ronde 6-7,2 y una conductividad óptima de 1 mmho/cm. Es una planta medianamente resistente a la salinidad, salvo cuando es pequeña (Andreau, 1996).

El apio requiere suelos con muy buena provisión de materia orgánica en relación a sus requerimientos hídricos elevados (cerca de la capacidad de campo), por lo que se recurre a estercoladuras abundantes (Vigliola, 1998).

Más del 45% de los nutrientes totales son absorbidos 28 días antes de la cosecha. Es muy importante mantener altos niveles de humedad en el suelo y de nitrógeno disponible en las últimas semanas del cultivo. Se recomienda una baja fertilización en los dos primeros tercios del cultivo, seguida por una elevada fertilización hasta la cosecha, para lograr producciones de alta calidad (Andreau, 1996). La fertilización se realiza a base de productos nitrogenados como sulfato de amonio.

El apio es exigente en cuanto a contenido de agua en el suelo pero no admite el encharcamiento, por lo tanto se comporta muy bien en cultivos con riego por goteo y suelos con buen drenaje. Se estima que el requisito mínimo de agua es una lámina de 800 mm con una demanda baja al comienzo del ciclo, salvo luego del trasplante (Balcaza, 1996).

En cuanto a su inclusión en las rotaciones, presenta problemas al alternar con otras Umbelíferas y con las Cucurbitáceas, por la transmisión de enfermedades. No hay mayores inconvenientes en las rotaciones con Leguminosas, Liliáceas, Crucíferas y Solanáceas (Andreau, 1996). En la zona platense, el apio entra en rotación con cultivos de tomate, pimiento y alcaucil (Vigliola, 1998).

2.1.3. Factores adversos

Diversas enfermedades de origen parasitario y fisiogénico pueden afectar el rendimiento de apio y/o su calidad comercial (Ronco et al., 1996).

Entre las enfermedades de origen fúngico figuran el *tizón temprano* (*Cercospora apii*) cuyos síntomas se presentan en las hojas y pecíolos, bajo la forma de manchas características. Esta enfermedad se produce bajo condiciones de mayor temperatura que el *tizón tardío* o *viruela* (Ronco et al., 1996). Este último es causado por *Septoria apiicola* y afecta los mismos órganos que el anterior, presentándose en estaciones húmedas y frescas.

Entre las enfermedades ocasionadas por bacterias puede mencionarse a la *podredumbre blanda bacteriana* o *podredumbre húmeda*, importante tanto a campo como en tránsito y en almacenamiento. En esta última instancia puede presentarse como una podredumbre blanda y pulposa de los pecíolos carnosos (Ronco et al., 1996). El agente causal es *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, bacteria que produce podredumbres en todo tipo de órganos carnosos (frutos, tubérculos, tallos suculentos, etc.) ocasionando daños totales (Ronco et al., 1996).

La *mancha bacteriana del apio* se manifiesta principalmente sobre las hojas, en forma de pequeñas manchas de color pardo y bordes angulosos que, cuando las lesiones son más viejas, toman aspecto seco y color castaño oscuro a rojizo. Es causada por *Pseudomonas cichorii*, bacteria citada en la Argentina, sobre el cultivar Golden Boy, en la zona hortícola de La Plata. Esta bacteriosis puede ocasionar otro tipo de síntoma que se conoce como amarronamiento del pecíolo y consiste en grandes bandas necróticas que se extienden a lo largo del mismo, provocando daños más evidentes en la zona del corazón (Ronco et al., 1996).

El apio es asimismo atacado por numerosos *virus* específicos y por otros que atacan a otras especies de la Familia Umbelíferas. Los virus que se pueden encontrar afectando al apio en nuestro país son fundamentalmente dos: el *tomato spotted wilt virus* y el *celery mosaic virus*.

Entre las *fisiopatías* podemos mencionar a las deficiencias de calcio, magnesio y boro, que provocan daños considerables en la planta. La más común es la ocasionada por carencia de calcio y se conoce como *corazón negro*. Se manifiesta en principio como una lesión húmeda en el extremo o borde de las hojas jóvenes, en el centro de la planta. Posteriormente se ennegrecen y se afectan todas las hojas y pecíolos del corazón (Ronco et al., 1996).

Con respecto a las malezas, la planta de apio es en general de lento crecimiento inicial, por eso se defiende mal de las malezas al comienzo del cultivo. Esto motiva que la mayoría de los productores efectúen la siembra en almácigo y luego realicen el transplante. El uso de herbicidas y las labores continuas son prácticas comunes, lo que hace que las malezas en general no se conviertan en un problema serio (Vigliola, 1998).

2.1.4. Variedades de cultivo

En general se dividen en cultivares verdes y amarillos. Los primeros son los más cultivados en nuestro país, son de ciclo más largo (120-135 días),

necesitan ser blanqueados, son más susceptibles a la floración prematura pero resultan más resistentes a las enfermedades comunes del apio (Andreau, 1996).

Las variedades amarillas o de autoblanqueo no necesitan, como su nombre lo indica, de la operación de blanqueado, son más resistentes a la floración anticipada y por ello se las utiliza en cultivos protegidos. Resultan más sensibles a ataques fúngicos y virósicos y son de ciclo más corto (80-100 días) (Andreau, 1996).

Entre los cultivares más difundidos podemos mencionar:

- Apios verdes: variedades locales, Pascal Gigante, Early Green, Tall Utah 52-70, Florida 683.
- Apios amarillos: Golden Self-Blanching, Golden Boy, Spartan Golden Boy, Lathom Self-Blanching, Blancato, Easy Blanching.

2.1.5. Manejo del cultivo

El cultivo se inicia por semillas. La germinación se caracteriza por ser lenta y débil. Se pueden realizar siembras directas, pero la mayoría de los productores realizan almácigo y posteriormente efectúan el transplante.

Para los cultivos protegidos la época de siembra en la zona de La Plata abarca desde Diciembre hasta Abril, siendo Mayo el mes crítico para la aparición de floración prematura. La cosecha se realiza desde Abril hasta Septiembre. La otra tanda de siembras se efectúa desde Junio hasta Agosto y se cosecha desde Noviembre hasta Diciembre (Andreau, 1996).

Dada su rusticidad y adaptación al transplante, la reposición de las plantas de apio se puede efectuar durante la primera semana posterior al mismo. Las pérdidas que ocurren son escasas.

El blanqueo era una práctica común en la zona platense y consistía en fajar los pecíolos hasta dos tercios de su altura, utilizando por ejemplo

polietileno de color. La operación se realizaba en momentos variables, generalmente 15 días antes de la cosecha en invierno y 8 días en verano. En zonas secas, como en Mendoza, esta práctica se reemplazaba por un aporque alto.

Con respecto a la aplicación de giberelinas, su objetivo es adelantar el ciclo sin que haya problemas de floración prematura. Se aplican desde un mes a dos semanas antes de la cosecha a razón de 25 a 50 ppm. Produce el alargamiento de los pecíolos y disminuye la intensidad del color verde.

2.1.6. Cosecha y postcosecha

El momento de cosecha está determinado esencialmente por el tamaño de la planta y por su precio en el mercado. Se cosechan las rosetas de hojas cuyo tamaño sea comercializable (superior a 0,5 kg y en general entre 0,8 a 1 kg de peso). Se acondicionan en bandejas de 6 plantas cada una. Si las mismas son chicas, se disponen en grupos de 9-12 unidades (Vigliola, 1998).

Luo et al. (2002) coinciden en señalar como referencia para la cosecha el tamaño de las plantas, indicando que la misma se realiza cuando la generalidad del cultivo ha alcanzado 35 a 41 cm en el tamaño de los pecíolos y antes de que los más externos comiencen a ahuecarse.

Dichos autores mencionan que el apio debería ser almacenado a 0°C con una humedad relativa superior al 95%. En condiciones óptimas el apio puede ser conservado durante 5 a 7 semanas manteniendo una buena calidad. A 5°C, en cambio, dicho período se reduce a menos de dos semanas. Los pecíolos internos pueden continuar creciendo durante el almacenamiento a más de 0°C, resultando en pérdidas de calidad (Luo et al., 2002). El apio no es sensible al daño por frío y debería ser conservado a una temperatura lo más baja posible, sin llegar al punto de congelación, que corresponde a -0,5°C (Luo et al., 2002).

Salunkhe y Desai (1984) recomendaron que las plantas enteras de apio fueran almacenadas a 0°C, mientras que Pantastico et al. (1975) indicaron temperaturas entre -0.6 y 0°C y humedad relativa cercana al 92-95% para extender la vida de estante a 8 semanas, aproximadamente.

Cabe señalar que el almacenamiento postcosecha de apio no es una práctica difundida en nuestro país.

2.1.7. Zonas productoras y estadísticas de producción

A nivel mundial, el cultivo reviste importancia relativa en los Estados Unidos, suministrando California el 75% de la producción de ese país. Florida y Michigan proveen una cantidad significativa con relación al total (Luo et al., 2002).

Si bien en Argentina no figura entre los cultivos de mayor importancia, el apio tiene alta representación en el Cinturón Verde de Buenos Aires, en la zona de Los Hornos y en las localidades de Etcheverry y Abasto (Partido de La Plata).

Nuestra provincia es la más importante en cuanto al área sembrada, pero otras provincias productoras son Santa Fe, Tucumán y Mendoza (Vigliola, 1998).

La zona hortícola platense se ha caracterizado durante mucho tiempo por ser una de las principales productoras de apio a nivel nacional, incorporando en las últimas décadas la tecnología del cultivo protegido que implica, entre otras ventajas, la prolongación del período de oferta a lo largo del año y la obtención de un producto de mejor calidad y más uniforme.

Según el Censo Hortícola 1998 (SAGPyA, 1998) del Cinturón Verde del Gran Buenos Aires, la producción de apio bajo cobertura en los Partidos de La Plata, Florencio Varela y Berazategui fue de unas 4.400 toneladas, distribuidas

en 117 hectáreas (21% de la superficie hortícola destinada al cultivo en invernáculos de la región) (Tabla 3).

Tabla 3. Superficie y Producción del Cultivo de apio en el Cinturón Verde del Gran Buenos Aires. SAGPyA (1998). Censo Hortícola del Cinturón Verde del Gran Buenos Aires.

Partido	Superficie sembrada o plantada (ha)			Producción (t)		
	A campo	Bajo cubierta	Total	A campo	Bajo cubierta	Total
LA PLATA	123.34	111.81	235.15	1,467.60	4,215.35	5,682.95
FLORENCIO VARELA	0.78	0.71	1.49	12.33	22.89	35.22
BERAZATEGUI	2.78	4.79	7.57	58.50	159.73	218.23
Total ZONA 1	126.90	117.31	244.21	1,538.43	4,397.97	5,936.40
CANUELAS	0.17	0.06	0.23	6.98	4.00	10.98
E. ECHEVERRIA	0.50	0.02	0.52	6.00	0.50	6.50
EZEIZA	0.50	-	0.50	1.80	-	1.80
GRAL. RODRIGUEZ	0.27	-	0.27	20.90	-	20.90
LUJAN	0.02	-	0.02	0.35	-	0.35
MARCOS PAZ	1.76	-	1.76	14.62	-	14.62
MERLO	3.31	-	3.31	95.18	-	95.18
ZARATE	0.10	0.13	0.23	2.80	3.60	6.40
Total ZONA 2	6.66	0.21	6.87	148.79	8.10	156.89
TOTAL	133.56	117.52	251.08	1,687.21	4,406.07	6,093.28

(*) Incluye "apio chino"

2.2. Sistema seleccionado: apio trozado

2.2.1. Fundamentos de la elección del producto

La elección del material de trabajo ha sido motivada por la alta representatividad que tiene el apio en la región hortícola platense. Se trata de un cultivo tradicional, particularmente dentro de la colectividad italiana y sus descendientes, que se han dedicado desde mucho tiempo a la producción de hortalizas en la zona.

Asimismo el apio trozado ha cobrado relativa difusión dentro de los productos IV Gama, ya que se adapta al procesamiento mínimo tanto para su consumo en fresco, como ensalada, o bien para la preparación de sopas.

En el primer caso puede comercializarse solo, con diferentes tamaños de corte (desde 0,5 cm hasta pecíolos enteros) o bien acompañando otros productos, principalmente zanahoria rallada.

Se encuentran radicadas en la zona algunas empresas dedicadas a la comercialización de hortalizas mínimamente procesadas y el apio trozado figura entre las variantes ofrecidas al consumidor.

2.2.2. Antecedentes

Luo et al. (2002) señalan que la mayoría del apio precortado se comercializa en forma de "bastones" (pecíolos cortados). Puede ser envasado sólo o en combinación con otras hortalizas, tales como zanahoria o brócoli. Según los autores la vida de estante de apio mínimamente procesado es usualmente de 12 a 14 días a temperaturas comprendidas entre 0 y 5°C. Destacan como principales factores limitantes el cambio de color del tejido vascular, el resquebrajamiento de las superficies de corte y el decaimiento bacteriano.

Robbs et al. (1996) señalaron que el apio precortado debería ser normalmente almacenado a temperaturas comprendidas entre 1 y 5°C.

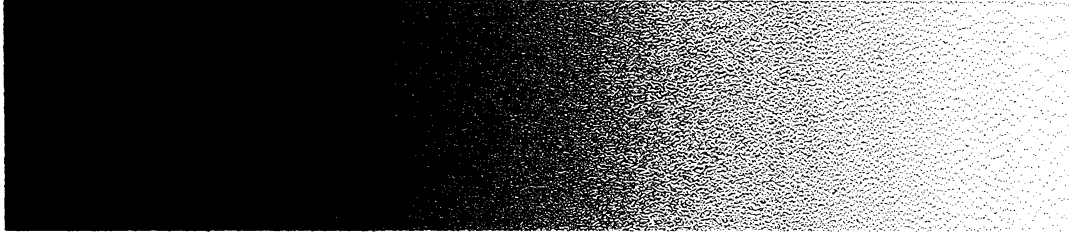
A pesar de lo mencionado anteriormente y particularmente en nuestras condiciones productivas, es común que durante la cadena de distribución, y con bastante frecuencia, los productos listos para usar permanezcan a temperaturas superiores a la óptima. Las bandejas o bolsas son a menudo exhibidas en góndolas que operan cerca de 10°C, particularmente cuando hay diversos productos con un diferente grado de sensibilidad al daño por frío compartiendo un mismo anaquel.

2.2.3. Elección de la variedad

La variedad de apio Golden Boy, en particular, se encuentra ampliamente difundida en esta zona de producción y se caracteriza por

producir plantas compactas, de 60-70 cm de altura, con pecíolos largos, de color blanco amarillento. Puede ser clasificada dentro de las variedades de autoblanqueado. Es una variedad precoz, con resistencia a la floración temprana, adaptada para la producción en invernaderos y la cosecha en verano.

Resulta apta para el procesamiento mínimo ya que el tamaño, forma y color de los pecíolos es más uniforme que en otras variedades.



OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL

✓ El *Objetivo General* del presente trabajo de tesis fue estudiar el efecto del daño mecánico y la baja temperatura sobre determinados compuestos químicos de defensa y la evolución de la calidad de apio mínimamente procesado, optimizando su conservación.

2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

Los *Objetivos Específicos* planteados fueron los siguientes:

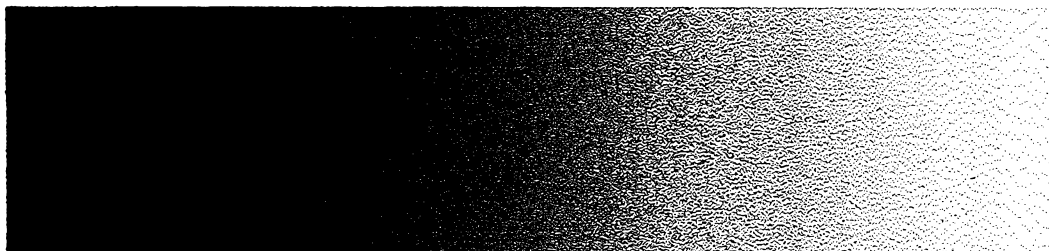
✓ Analizar la incidencia de la temperatura de conservación sobre los principales componentes físico-químicos que determinan la calidad de apio trozado: pérdida de peso, color superficial, contenido de clorofilas y azúcares simples. Determinar el efecto de la temperatura sobre la actividad respiratoria del producto y caracterizar la composición gaseosa de la atmósfera generada en un sistema de envasado de uso corriente en el mercado.

✓ Determinar la incidencia de la temperatura de conservación sobre la textura de apio trozado y el contenido de lignina, tanto por su relación con la fibrosidad del producto, como por su eventual participación en mecanismos de cicatrización de heridas.

✓ Investigar acerca de los compuestos fenólicos de defensa que pueden sintetizarse y/o acumularse durante el procesamiento y la conservación del producto.

✓ Estudiar las variaciones en el contenido de vitamina C y la capacidad antioxidante de apio mínimamente procesado, como posible respuesta al daño mecánico y oxidativo. Establecer la relación entre la actividad antioxidante, los niveles de ácido ascórbico y los compuestos fenólicos analizados.

- ✓ Estudiar el efecto de diferentes tratamientos físicos aplicados luego del procesamiento, a fin de optimizar la conservación de apio trozado.
- ✓ Seleccionar el o los tratamiento/s que mejor conserven la calidad de apio mínimamente procesado e investigar su incidencia sobre los mecanismos de defensa de índole química.



CAPITULO I

**INCIDENCIA DE LA TEMPERATURA
SOBRE LA CALIDAD DE APIO
TROZADO.
ASPECTOS FISICOQUIMICOS.**

I.1 INTRODUCCION

I.1.1 ¿Qué se entiende por *calidad* de un alimento de origen vegetal?

El término *calidad* implica el grado de adecuación de un producto a un uso particular. La calidad es una construcción humana que abarca muchas características de un objeto (Abbott, 1999).

En el caso de alimentos, comprende las propiedades sensoriales (apariencia, textura, sabor y aroma), el valor nutritivo, los constituyentes químicos, las propiedades mecánicas y funcionales y los defectos que puedan presentar los mismos (Abbott, 1999).

Cada individuo cuenta con un conjunto de criterios de calidad o aceptabilidad para cada producto destinado a un determinado fin, e incluso los atributos deseados pueden variar con el contexto. En ciertas circunstancias es necesario estandarizar y establecer grados de calidad, por lo tanto las definiciones deben ser formalizadas e institucionalizadas a fin de que guarden un mismo significado para un grupo grande de personas.

La *apariencia* es uno de los principales componentes de la calidad, pero es un término abarcativo que involucra al tamaño, forma, textura, masa, brillo, color y otros atributos de los alimentos (Francis, 1995).

En el momento de evaluar la calidad de un producto vegetal, los consumidores consideran la apariencia del mismo como un criterio primario, y el color es probablemente el principal factor puesto en juego (Kays, 1999).

Cabe recordar que los atributos más atractivos de las hortalizas mínimamente procesadas son su apariencia, sabor y aroma (similares a la del producto fresco) además de su conveniencia. Obviamente, cualquier alimento debe ser seguro desde el punto de vista higiénico sanitario. Entre los factores que

reducen la vida de estante de los productos listos para usar figuran el daño microbiano, la deshidratación, el pardeamiento, la pérdida del color, los cambios texturales y el desarrollo de sabores y olores extraños. (García y Barrett, 2000).

Las personas usan todos sus sentidos para evaluar la calidad: vista, olfato, gusto, tacto e incluso el oído. El consumidor integra todos esos estímulos sensoriales (aparición, aroma, sabor, sensación al tacto y en la boca y sonidos durante la masticación) en un juicio sobre la aceptabilidad de una determinada fruta u hortaliza (Abbott, 1999).

Las mediciones instrumentales son preferidas sobre las evaluaciones sensoriales en muchas investigaciones y aplicaciones comerciales, por reducir las variaciones entre individuos, ser más precisas y proveer un lenguaje común entre los investigadores, la industria y los consumidores. Sin embargo, deben ser consideradas las relaciones entre las mediciones instrumentales y los atributos sensoriales (por ejemplo, análisis descriptivos) y entre éstos y la aceptabilidad por los adquirentes finales (Shewfelt, 1999).

Los instrumentos pueden ser diseñados para imitar los métodos de prueba humanos o pueden ser estadísticamente relacionados a las percepciones y juicios de los individuos, para predecir categorías de calidad (Abbott, 1999).

Esencialmente, la apariencia es detectada instrumentalmente mediante la medición de las propiedades electromagnéticas (usualmente ópticas); la textura, a través de las propiedades mecánicas y el sabor y aroma (flavor) a partir de las propiedades químicas (Abbott, 1999).

1.1.2. El color como componente de la calidad

La preservación del color de los productos mínimamente procesados es, luego de su inocuidad, el atributo más importante a ser tenido en cuenta, dado que frecuentemente los mismos son seleccionados por su apariencia, particularmente por su color (García y Barrett, 2000).

Se considera que dicha característica cumple un rol fundamental en la elección del alimento, la preferencia y aceptabilidad del mismo, pudiendo aún influenciar la percepción del sabor y el dulzor (Clydesdale, 1993).

Las frutas y hortalizas son visualmente atractivas debido en gran parte a la diversidad de pigmentos que contienen.

La preservación de las clorofilas, de las antocianinas rojo-violáceas y de los carotenoides amarillos, naranjas y rojos, tanto en frutas como hortalizas, es de vital importancia para mantener la calidad (García y Barrett, 2000).

Los cambios de color en vegetales IV Gama pueden tener diferentes orígenes. Por ejemplo, la disminución del verde en lechuga pre-cortada puede deberse a la senescencia del tejido, a la exposición al calor o a la acidificación; la decoloración o pardeamiento de champiñones, peras o manzanas rebanados es causado por acción de enzimas polifenoloxidasas; el desarrollo de apariencia blanco translúcida en zanahorias es inicialmente debido a la desecación (García y Barrett, 2000).

La degradación de los pigmentos verdes y consecuente manifestación de colores amarillos es un proceso normal durante la maduración y senescencia de muchas frutas y hortalizas. En productos mínimamente procesados, el estrés impartido por el daño mecánico puede desencadenar un incremento en la respiración, en la producción de etileno y otras alteraciones. De hecho, el amarilleamiento tiene incidencia durante el almacenamiento de verduras de hoja y otras hortalizas verdes listas para usar (García y Barrett, 2000).

1.1.3. El color y su medida

El color puede ser definido como el impacto sobre la retina humana de las longitudes de onda luminosas comprendidas en el rango del espectro visible, desde 390 a 760 nm. Las células en la retina envían una señal a través del nervio óptico al cerebro, el cual interpreta las respuestas en términos de lo que

denominamos color. Las células de la retina pueden ser sensibles sólo al blanco y negro (bastones) o a las longitudes de onda roja, verde y azul de la luz (conos) (Francis, 1995).

Percibimos la coloración cuando la luz reflejada fuera de la superficie del fruto u hortaliza cae sobre la retina del ojo. Dicha percepción depende del tipo e intensidad de luz, de las características físicas y químicas del producto y de la capacidad de la persona para caracterizar el color (Mitcham et al., 1996).

Las propiedades ópticas se basan en la reflectancia, transmitancia, absorbanza o dispersión de la luz por el objeto. Cuando una fruta u hortaliza es iluminada, cerca del 4% de la luz incidente es reflejada en la superficie externa, causando reflectancia especular o brillo, y el 96% remanente de la energía incidente es transmitida a través de la superficie dentro de la estructura celular del producto, donde es dispersada por las pequeñas interfaces dentro del tejido o absorbida por los constituyentes celulares (Birth, 1976). La mayoría de la energía luminosa penetra sólo una corta distancia y vuelve a salir cerca del punto de entrada; esta es la base del color (Abbott, 1999).

La evaluación del color puede ser subjetiva u objetiva. En el primer caso el ojo humano es utilizado para determinarlo. Se trata de una manera más rápida y sencilla comparada con las mediciones objetivas y no requiere instrumentos especiales. Diferentes cartas pueden ser usadas como referencia para clasificar y describir colores, como en bananas, nectarinas y tomates. Las desventajas residen en que los resultados pueden variar considerablemente debido a diferencias en la percepción y a errores humanos, y a que la calidad y cantidad de luz disponible pueden influenciar la evaluación (Mitcham et al., 1996).

En las determinaciones objetivas se emplea un instrumento para proveer un valor específico de color, basado en la cantidad de luz reflejada fuera de la superficie del producto o de la luz transmitida a través del mismo. Exhiben menor variabilidad que las apreciaciones subjetivas, pueden medir con exactitud

pequeñas diferencias en color, ser automatizadas en una línea de empaque o procesamiento e incluso existen instrumentos portátiles para realizarlas. Como contrapartida, el equipamiento especial requerido tiene un costo significativo y puede ser un método más lento que en el caso anterior (Mitcham et al., 1996).

Los colorímetros (Figura I.1.1) miden la luz en términos de un espacio de color triestímulo que se relaciona con la visión humana. Están restringidos a la región de luz visible (Abbott, 1999).



Figura I.1.1. Colorímetro Minolta CR300 y platos de calibración utilizados para la medición del color superficial.

El color de un objeto puede ser descrito mediante varios sistemas de coordenadas. Algunos de los más difundidos son el Hunter L a b, CIE (Commission Internationale de L'Eclairage) L* a* b*, CIE XYZ, CIE L* u* v*, CIE Yxy y CIE LCH (Abbott, 1999).

Los mismos difieren en la simetría del espacio de color y el sistema de coordenadas usado para definir puntos dentro de ese espacio. De gran importancia para las mediciones instrumentales son los métodos triestímulo de la CIE y el sistema Hunter.

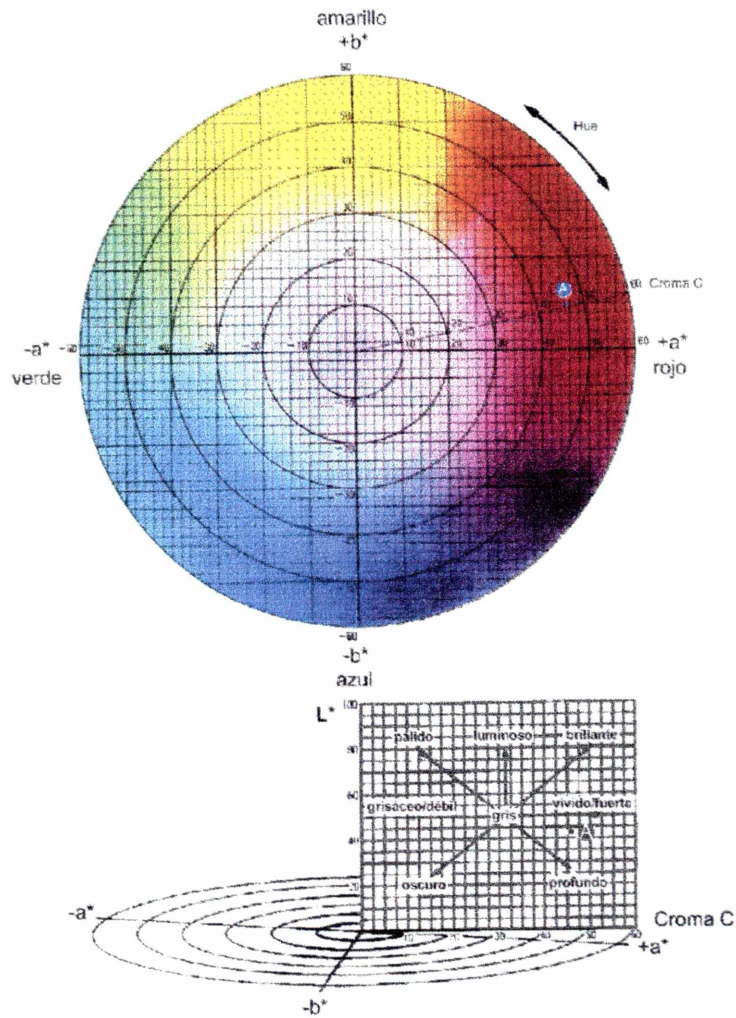


Figura I.1.2. Representación del espacio de color según la escala CIE L*, a*, b*.

Entre las notaciones más comúnmente usadas figura la $L^* a^* b^*$ de la CIE, desarrollada en 1976 para proveer diferencias de color más uniformes en relación con la percepción humana de las mismas (Abbott, 1999).

Según dicha escala L^* indica la *Luminosidad*, variando desde el blanco (100) al negro (0); a^* y b^* son las coordenadas XY indicando las direcciones del color; a^* corresponde al eje rojo-verde, b^* al eje amarillo-azul; el centro es el gris acromático. El *ángulo de color* (hue, h°) determina la localización alrededor de la circunferencia y corresponde al *Tinte Básico* del color (Figura I.1.2). El *Croma* (C) o *Saturación* es la distancia a partir del centro (Abbott, 1999).

El valor de Luminosidad corresponde al grado en que se considera que un objeto refleja más o menos luz que otro, mientras que la Saturación de un color denota el grado de distanciamiento del valor gris que guarda la misma luminosidad (Mitcham et al., 1996).

El ángulo hue se calcula de la siguiente manera:

$$h^\circ = \tan^{-1} (b^*/a^*)$$

Mientras que el Croma se obtiene mediante la fórmula:

$$C = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

Estos parámetros son usados frecuentemente para describir los cambios en la coloración de la epidermis de frutas y hortalizas (Lancaster et al., 1997).

I.1.4. Las clorofilas y el color verde

Si bien el color constituye la base para la clasificación de muchos productos en diferentes grados comerciales, la concentración de pigmentos u otros constituyentes específicos puede suministrar un mejor indicio de la calidad (Lancaster et al., 1997). El color se asocia más directamente con la percepción de la

aparición por parte del consumidor mientras que la concentración de pigmentos puede estar relacionada con el grado de madurez (Abbott, 1999).

Los enlaces químicos absorben energía luminosa a longitudes de onda específicas, por lo tanto cierta información composicional puede ser determinada a partir de los espectros de absorción. Dentro del rango visible los principales compuestos que absorben energía son los pigmentos: clorofilas, carotenoides, antocianinas y otros compuestos coloreados (Abbott, 1999).

La amplia mayoría de los organismos fotosintetizadores contienen alguna forma del pigmento capaz de absorber luz denominado *clorofila*. Las plantas, algas y cianobacterias sintetizan clorofila, mientras que las bacterias anaeróbicas fotosintetizadoras producen una variante molecular llamada *bacterioclorofila* (Malkin y Nigoyi, 2000).

Las moléculas de clorofila contienen la estructura de un anillo tetrapirrólico (porfirina), similar al encontrado en el grupo prostético hemo de la hemoglobina y citocromos (Figura 1.1.3). Sin embargo la clorofila contiene un átomo de magnesio en el centro de su anillo tetrapirrólico, mientras que el grupo hemo tiene unido un átomo de hierro (Malkin y Nigoyi, 2000).

Una larga cadena lateral hidrofóbica (C_{20}), el *fitol*, se encuentra unida a la estructura de la clorofila y es la responsable de la baja polaridad de la molécula en su conjunto (Malkin y Nigoyi, 2000).

El primer precursor en la biosíntesis de clorofila es el *ácido δ -aminolevulínico* (ALA), que en plantas y cianobacterias es producido a partir del *glutamato*. Aunque la síntesis de ALA difiere en plantas y animales, las reacciones que lo convierten en el intermediario *protoporfirina IX*, que constituye un punto de ramificación, son comunes para ambos grupos de organismos.

En la síntesis de clorofila, la enzima Mg-quelatasa inserta un átomo de magnesio en el centro del anillo. Reacciones subsecuentes convierten la *Mg-protoporfirina IX* en *protoclorofilida*, la cual es reducida para generar *clorofilida*. En Angiospermas, la reducción de la protoclorofilida es estrictamente dependiente de la luz. El paso final en la síntesis de clorofila *a* involucra la esterificación con la cadena lateral hidrofóbica del fitol (Malkin y Nigoyi, 2000).

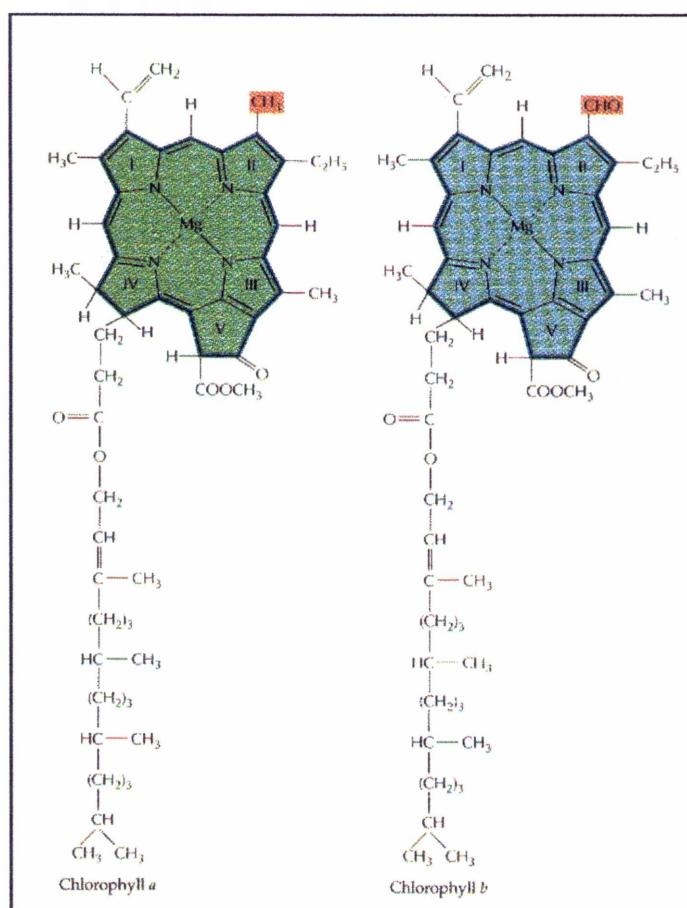


Figura I.1.3. Estructuras químicas de las moléculas de clorofila a y b (Malkin y Nigoyi, 2000).

Las distintas formas de la clorofila están determinadas por diferentes cadenas laterales sobre el anillo o diversos grados de saturación del sistema. Por ejemplo, la clorofila *b* es sintetizada a partir de la clorofila *a* por acción de una enzima oxigenasa recientemente identificada, que convierte un grupo metilo lateral en un grupo formilo. Estos pequeños cambios en la estructura química alteran sustancialmente las propiedades de absorción de las diferentes especies de clorofila (Malkin y Nigoyi, 2000) (Figura I.1.4). La absorción es afectada además por la interacción no covalente de la clorofila con proteínas de la membrana fotosintética.

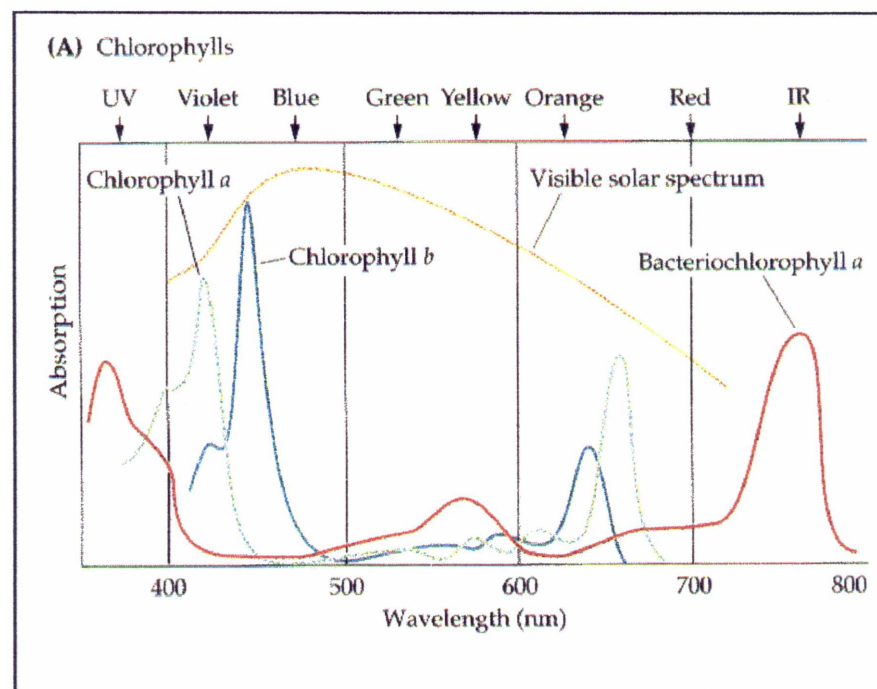


Figura I.1.4. Espectros de absorción de las clorofilas disueltas en solventes no polares (Malkin y Nigoyi, 2000).

La clorofila es verde debido a que absorbe luz más efectivamente en las longitudes de onda correspondientes a los 430 nm (azul) y 680 nm (rojo) del

espectro visible, que lo que absorbe en la zona del verde. La luz verde no absorbida es reflejada y la clorofila es percibida así de ese color por el observador (Malkin y Nigoyi, 2000).

La degradación de clorofilas ocurre durante la senescencia y muerte celular causada por factores externos a la planta, tales como el daño ocasionado por bajas o altas temperaturas o por el ataque de patógenos (Hendry et al., 1987).

En los procesos de senescencia, la rápida degradación de la clorofila libre o de sus derivados coloreados es necesaria para impedir el daño celular mediante su acción fotodinámica (Takamiya et al., 2000).

La ruta de degradación de clorofila generalmente aceptada comprende dos etapas, antes y después de la ruptura del anillo macrocíclico tetrapirrólico, denominadas *estadío temprano* y *tardío* respectivamente.

Los productos de la primera etapa son de color verdoso, mientras que los del estadío tardío son incoloros. El estadío temprano incluye modificaciones de la cadena lateral del macrociclo, la hidrólisis de un residuo de fitol en el anillo IV (defitilación), la liberación de Mg^{2+} del centro del anillo mediante un desplazamiento por $2H^+$ (dequelación) y algunas modificaciones del macrociclo que son probablemente específicas para determinadas plantas (Takamiya et al., 2000).

El estadío tardío comprende la ruptura del macrociclo tetrapirrólico mediante una oxigenasa y las reacciones subsiguientes que producen catabolitos incoloros, fluorescentes o no (Takamiya et al., 2000). Esta segunda etapa es la que determina la pérdida de color verde de los tejidos y la degradación del pigmento durante la senescencia foliar y la maduración de frutos (Takamiya et al., 2000).

El presente Capítulo trata sobre la evolución de los principales componentes sensoriales y físico-químicos de la calidad de apio mínimamente procesado, en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento.

Se analizan fundamentalmente los atributos que hacen a la apariencia del producto: deshidratación, cambios en el color característico, caracteres organolépticos diversos (desarrollo de pardeamiento, apariencia blanco translúcida en sectores de corte, ahuecado, producción de olores extraños, manifestación de síntomas de enfermedades, etc.) y el contenido de azúcares simples, por la contribución de los mismos al sabor.

I.2. MATERIALES Y METODOS

I.2.1. Material vegetal

Se emplearon plantas de apio (*Apium graveolens L.*) variedad Golden Boy cosechadas entre los meses de Mayo a Noviembre de cada año (1999 – 2003), una vez que las mismas habían adquirido el tamaño comercial (aproximadamente dos meses después del trasplante).

Se trabajó preferentemente con pocos establecimientos productores a fin de mantener relativamente controladas las variables referidas a la modalidad de cultivo (almácigo, trasplante, densidad de plantación, riegos, fertilizaciones, tratamientos fitosanitarios), características del suelo (propiedades edáficas, relieve) y manejo de los invernáculos.

Los mismos se encuentran ubicados en las localidades de Abasto y Lisandro Olmos (Partido de La Plata, Provincia de Buenos Aires).

Una vez efectuada la cosecha, preferiblemente a primera hora de la mañana, las plantas se trasladaron inmediatamente al laboratorio, para ser procesadas en el momento de su arribo.

I.2.2. Procesamiento

La Figura I.2.1 muestra un esquema del sistema de procesamiento implementado y los pasos comprendidos.

Se descartaron aquellos pecíolos que pudieran estar dañados o mostraran síntomas de enfermedades, y se lavaron las plantas enteras con agua corriente, hasta total remoción de tierra y partículas extrañas. Se eliminaron las ramificaciones, las hojas y los cuatro centímetros basales de la roseta.

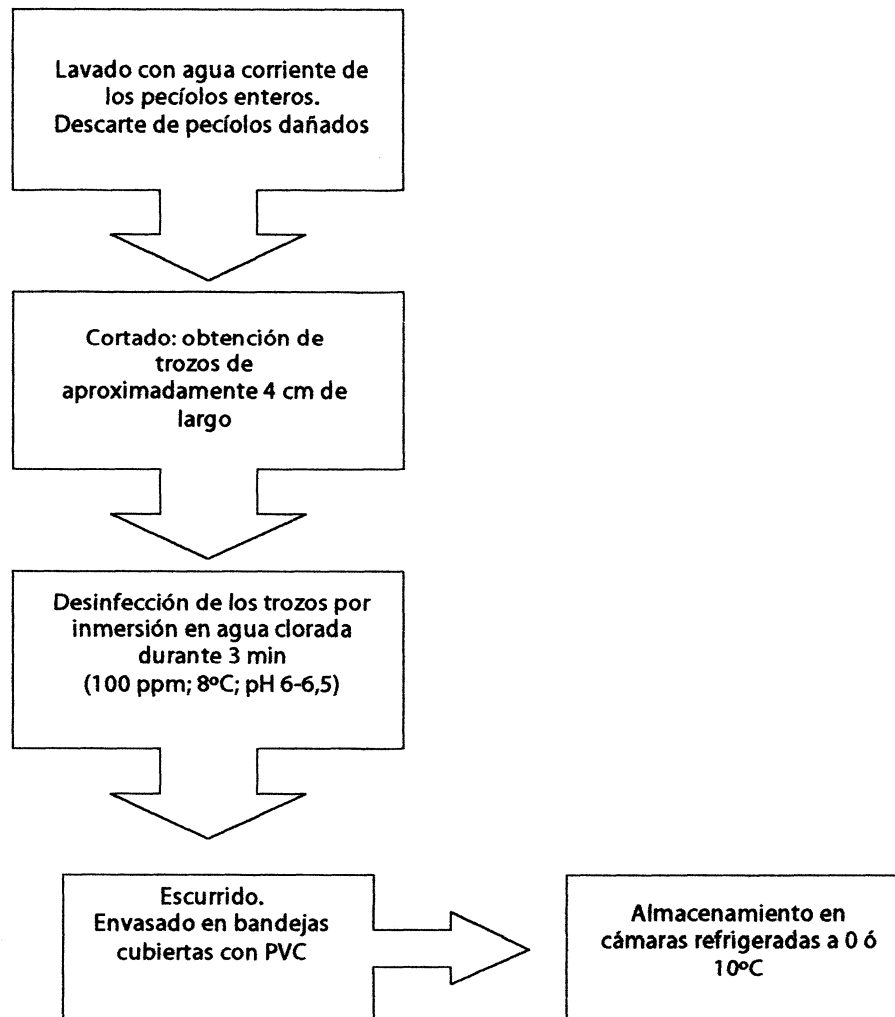


Figura 1.2.1 Diagrama de flujo mostrando los principales pasos del sistema de procesamiento seleccionado para la obtención de apio trozado.

Una vez limpios, se cortaron los pecíolos con una cuchilla de buen filo tratando de efectuar un corte neto, minimizando en lo posible el daño. Se obtuvieron trozos de aproximadamente 4 cm de largo.

Para su desinfección, se sumergieron en agua clorada fría (100 ppm de cloro activo, 8°C, pH 6 - 6,5) durante tres minutos.

Seguidamente se escurrieron en una centrifuga manual de cocina a fin de eliminar el exceso de agua y prevenir el desarrollo de podredumbres durante la conservación.

Para el envasado se emplearon bandejas de polietileno cristal (15 x 10 x 5 cm) conteniendo alrededor de 175 g del producto. Las mismas fueron cubiertas con film de cloruro de polivinilo (PVC) autoadherente de 10 μm de espesor (permeabilidad al O_2 11.232 $\text{cm}^3 \text{m}^{-2} \text{atm}^{-1} \text{día}^{-1}$, permeabilidad al CO_2 48.552 $\text{cm}^3 \text{m}^{-2} \text{atm}^{-1} \text{día}^{-1}$, permeabilidad al vapor de H_2O 40 $\text{g m}^{-2} \text{día}^{-1}$).

1.2.3. Almacenamiento

Las bandejas fueron colocadas en cámaras refrigeradas a 0 ó 10°C, con una humedad relativa (HR) del 85%, por un período máximo de 27 días. Las muestras fueron tomadas a intervalos regulares, a los 0, 7, 14, 21 y 27 días de almacenamiento.

1.2.4. Determinaciones

Se seleccionaron como parámetros más representativos de la calidad sensorial al grado de deshidratación experimentado por las muestras, medido a partir de la pérdida de peso; a la evolución del color externo de los trozos de apio, evaluado a partir del color superficial y del contenido de clorofilas, y a la concentración de azúcares simples, por la contribución que ellos realizan al sabor del producto. Se realizó asimismo la evaluación global de caracteres sensoriales.

Adicionalmente, se midió la actividad respiratoria de apio trozado en función de la temperatura y se determinó la composición de la atmósfera en el interior de los envases para diferentes tiempos y condiciones de almacenamiento.

I.2.4.1. Evaluación de características sensoriales

La calidad sensorial del producto fue evaluada por inspección informal de las muestras almacenadas. Se realizó un análisis descriptivo de las mismas.

Se tuvo en cuenta: la deshidratación observada, la decoloración de los trozos, la producción de olores extraños, la manifestación de pardeamiento enzimático, la apariencia blanco-translúcida en los sectores de corte, el ahuecado de los pecíolos (pithiness), la incidencia de podredumbres, la condensación de agua en el interior de los envases, etc.

I.2.4.2. Medición de la actividad respiratoria

Se determinó la actividad respiratoria de los trozos de apio, analizando la cantidad de CO₂ producido en el interior de recipientes herméticamente cerrados. Se colocaron las muestras en frascos de vidrio de capacidad conocida, perfectamente sellados y provistos de un septum en la tapa, a través del cual se tomó la muestra gaseosa (500 µL).

Para ello se pesaron 200 g del producto inmediatamente después de procesado. A fin de calcular el volumen libre dentro de los recipientes se midió el ocupado por los trozos, a partir del volumen de agua destilada desplazado por la completa inmersión de los mismos en una probeta graduada.

Los recipientes conteniendo los trozos de apio fueron almacenados a 0, 10 ó 20°C durante cuatro horas, tomando las muestras correspondientes al cabo de dicho tiempo.

Los niveles de CO₂ se determinaron empleando un cromatógrafo gaseoso Shimadzu equipado con un detector de conductividad térmica.

Se utilizó una columna CTR1 Alltech. El gas transportador fue helio, con un caudal de 30 mL min⁻¹. La temperatura del inyector y el detector fue 120°C y la de la columna, 30°C.

Se efectuó una curva de calibración en base a distintas concentraciones de CO₂.

Los resultados finales fueron expresados como mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹.

I.2.4.3. Composición de la atmósfera en el interior de los envases

Las concentraciones de CO₂ y O₂ se midieron tomando muestras, con una jeringa, de la atmósfera generada en el interior de las bandejas e inyectándolas en un cromatógrafo gaseoso Shimadzu equipado con un detector de conductividad térmica. Las condiciones de las corridas cromatográficas fueron las descritas en la Sección I.2.4.2.

Se efectuó una curva de calibración en base a distintas concentraciones de CO₂ y O₂.

Los resultados finales fueron expresados en mL L⁻¹.

I.2.4.4. Pérdida de Peso (PP)

La misma se midió con balanza granataria ($\pm 0,01$ g), por diferencia entre el peso de las bandejas a la entrada y salida de la cámara. Los datos se expresaron como porcentaje (%) referido al peso inicial.

I.2.4.5. Color superficial

Para las descripciones de color se consideraron representativos los parámetros L*, Croma (C) y hue (h°) de la escala CIE.

Las mediciones fueron efectuadas sobre 20 trozos diferentes para cada combinación de tiempo y temperatura, con un colorímetro de superficie Minolta CR 300 (área de medición: 8 mm de diámetro), calibrado con un plato estándar blanco. Las mismas se realizaron aplicando directamente la cabeza del aparato sobre la superficie convexa de los trozos de apio.

1.2.4.6. Contenido de clorofila

Preparación de la muestra. Se congeló en forma conjunta, con N₂ líquido, el material procedente de un total de tres bandejas para cada combinación de tiempo y temperatura. Una vez homogeneizado, se trituró una parte en un molinillo Janke & Kunkel Ika Labortechnik A10. Se tomaron dos muestras de tejido triturado exactamente pesadas (5 g cada una).

Extracción y cuantificación. Cada muestra fue tres veces extraída con 7 mL de acetona a -20°C. Se mantuvo en contacto con agitación ocasional durante 10 minutos. Los extractos sucesivos fueron centrifugados a 11.000g durante 20 minutos a 0°C y se reunieron los sobrenadantes de cada extracción. Se completó el volumen final a 25 mL en matraz aforado.

Sobre una alícuota se determinó por espectrofotometría el contenido de clorofila total y clorofilas *a* y *b*, (Bruinsma, 1963). Las lecturas de absorbancia se efectuaron a 645, 652 y 663 nm en un espectrofotómetro Beckman DU 650.

Las concentraciones de clorofila total y clorofilas *a* y *b* se calcularon por medio de las siguientes expresiones:

$$Ca = 12,7 A_{663} - 2,7 A_{645}$$

$$Cb = 22,9 A_{645} - 4,7 A_{663}$$

$$Ct = 27,8 A_{652}$$

Donde:

Ca: Concentración de clorofila *a* (mg L^{-1}).

Cb: Concentración de clorofila *b* (mg L^{-1}).

Ct: Concentración de clorofila total (mg L^{-1}).

A_{645} : Absorbancia a 645 nm.

A_{652} : Absorbancia a 652 nm.

A_{663} : Absorbancia a 663 nm.

Los resultados se expresaron como μg de clorofila g^{-1} de tejido fresco.

1.2.4.7. Contenido de azúcares

a) Cuantificación de azúcares reductores y totales por colorimetría

Las muestras congeladas en N_2 líquido fueron trituradas en un molinillo Janke & Kunkel Ika Labortechnik A10. Porciones de tejido exactamente pesadas (5 g) se extrajeron con alcohol etílico 96° a 50°C, permaneciendo en contacto con agitación ocasional durante dos horas. Se filtraron y lavaron los residuos correspondientes, reuniendo los extractos sucesivos y llevando a un volumen final de 25 mL en matraz aforado.

Sobre alícuotas de los extractos etanólicos se determinó espectrofotométricamente el contenido de azúcares reductores por el método de Somogyi-Nelson, realizando una curva patrón en base a distintas concentraciones de glucosa. Las lecturas de absorbancia se efectuaron a 520 nm y los resultados finales se expresaron como mg de glucosa g^{-1} de tejido fresco.

Para la cuantificación de azúcares totales se procedió de la misma forma, pero realizando previamente un tratamiento de hidrólisis sobre el extracto, empleando para ello HCl 10% p/v y calentamiento a Baño María. Los resultados se expresaron como mg de glucosa g^{-1} de tejido fresco.

En todos los casos, las determinaciones se efectuaron por triplicado.

b) Identificación y cuantificación de azúcares reductores mediante Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC)

Preparación de la muestra. Del material congelado y homogeneizado tal como se describió en la sección 1.2.4.6, se trituró una porción y se tomaron dos muestras de 15 g cada una, exactamente pesadas.

Extracción, identificación y cuantificación. De cada muestra se extrajeron los azúcares libres según se mencionó en el apartado a) de esta Sección.

Alícuotas (20 mL) de los extractos obtenidos fueron concentradas a presión reducida (50 mm de mercurio) y 40°C en un evaporador rotatorio. Los residuos fueron resuspendidos en agua bidestilada.

Las muestras fueron analizadas en un Cromatógrafo Waters, equipado con un detector de índice de refracción. Se empleó una columna Accubond Amino 5µm y el solvente de corrida fue una mezcla de acetonitrilo : agua en proporción 89 : 11. El caudal utilizado fue 2 mL min⁻¹.

Tanto para la identificación como para la cuantificación de los azúcares presentes se emplearon soluciones patrón de fructosa, glucosa y manitol en concentraciones de 7 mg mL⁻¹ cada una.

Los resultados se expresaron como mg g⁻¹ de tejido fresco.

1.2.5. Diseño experimental y análisis de resultados

Las experiencias fueron realizadas según un diseño factorial, con dos factores: tiempo de almacenamiento (5 niveles) y temperatura (2 niveles).

Los datos fueron sometidos al análisis de varianza (ANOVA) correspondiente. La comparación de las medias se efectuó con el test de la Diferencia Mínima Significativa (LSD) utilizando un grado de significación $p = 0,05$.

I.3. RESULTADOS Y DISCUSION

I.3.1. Evaluación de características sensoriales

La calidad del producto se mantuvo en niveles aceptables durante todo el período ensayado a 0°C.

A 10°C en cambio, hubo considerables pérdidas por decoloración ya que los trozos adquirieron un tinte fuertemente amarillo al cabo de los siete días iniciales.

Un efecto detrimental observado fue el desarrollo rápido, dentro de la primera semana de almacenamiento, de una apariencia blanco translúcida en los sectores de corte de aquellos trozos almacenados a 10°C. La misma fue agravándose con el transcurso del tiempo (Figura I.3.1).

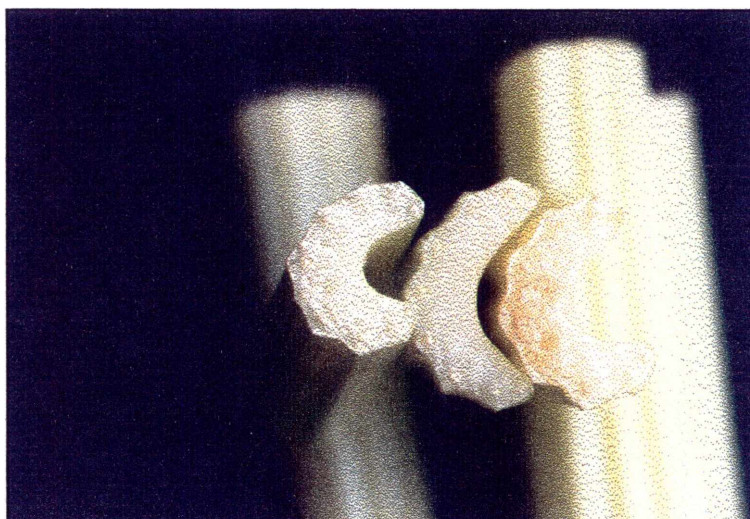


Figura I.3.1. Desarrollo de apariencia blanco-translúcida y pardeamiento enzimático en apio mínimamente procesado almacenado a 10°C durante 7 días.

Este fenómeno fue anteriormente observado en zanahorias mínimamente procesadas (Tatsumi et al., 1991; Howard y Griffin, 1993) y remolacha rallada (López Osornio y Chaves, 1998). El factor determinante de este proceso sería la deshidratación estimulada por el corte y la ruptura de células ocasionada (Tatsumi et al., 1991).

También ha sido mencionado en apio trozado (Viña y Chaves, 2003; Loaiza-Velarde et al., 2003).

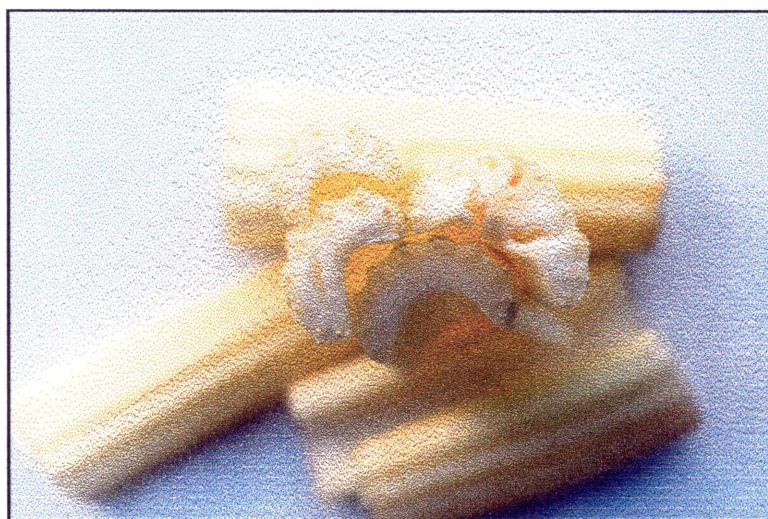


Figura 1.3.2. Incidencia de ahuecado en apio mínimamente procesado, almacenado a 10°C durante 21 días.

A 10°C, cuando los trozos fueron almacenados por más de 21 días, se percibió un olor no característico, casi en correspondencia con la manifestación de síntomas de podredumbres ocasionadas por patógenos. Probablemente sea debido a la síntesis de furanocumarinas o derivados de las mismas, puesto que se sabe que el apio y otras especies de la familia Apiaceae (Umbelliferae) producen este tipo de fitoalexinas (Nigg et al., 1997). La síntesis de las mismas es desencadenada por diferentes factores ambientales que causan estrés, incluyendo

la radiación UV, iones metálicos, cambios en temperatura e infecciones fúngicas y bacterianas (Chaudhary et al., 1985).

Hubo también incidencia de pardeamiento enzimático en trozos almacenados a 10°C y hacia el final de las experiencias, particularmente en las secciones expuestas. La manifestación del pardeamiento consistió en puntuaciones de color anaranjado oscuro en concordancia con los haces vasculares de los pecíolos (Figura I.3.1).

Adicionalmente, hacia el día 21 y exclusivamente en las bandejas conservadas a 10°C se observó incidencia de ahuecado. (Figura I.3.2).

No se produjo condensación de agua en el interior de los envases en ninguna de las condiciones ensayadas.

I.3.2. Actividad respiratoria

La temperatura es el principal factor que afecta la calidad general de los productos mínimamente procesados. Cuando la misma se incrementa desde 0 a 10°C, la tasa respiratoria aumenta sustancialmente (Watada et al., 1996).

En zucchinis, tomates y kiwis IV Gama se observó un valor Q_{10} aproximadamente igual a 3,5 mientras que en pimientos y melones listos para usar, fue cercano a 8,3 (Watada et al., 1996). El Q_{10} (cociente de temperatura o de van't Hoff) corresponde a la siguiente relación:

$$Q_{10} = (R_2/R_1)^{10/(t_2-t_1)} = \text{constante (aproximadamente 2)}$$

Donde R_1 y R_2 son las velocidades respiratorias a las temperaturas t_1 y t_2 (en °C), respectivamente (Ryall y Lipton, 1979).

Con el aumento en la actividad respiratoria, deviene la aceleración del deterioro a velocidades comparables (Watada y Qi, 1999).

Para plantas enteras de apio (pecíolos + hojas) se ha informado que la actividad respiratoria fue de 7 mg de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ a 0°C y de 27 mg de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ a 10°C (Ryall y Lipton, 1979). Sabiendo que 1,9 mg de CO₂ corresponden a 1mL, los valores proporcionados en la bibliografía resultan equivalentes a 3,7 y 14,2 mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ respectivamente.

Los resultados obtenidos en nuestras experiencias con relación a la actividad respiratoria de apio recién procesado se presentan en la Tabla I.3.1. Asimismo se muestran los valores del calor producido por respiración a las temperaturas ensayadas.

Los mismos se calcularon según la siguiente expresión (Ryall y Lipton, 1979):

$$\text{Calor producido (kcal Ton}^{-1} \text{ día}^{-1}) = \text{mL de CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1} \times 1,9 \times 61,2$$

Tabla I.3.1. Actividad respiratoria de apio mínimamente procesado (mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹) y Calor Producido (kcal Ton⁻¹ día⁻¹) en función de la temperatura de almacenamiento (LSD_{0,05} Actividad Respiratoria =1,72).

	<i>Temperatura</i>		
	<i>0°C</i>	<i>10°C</i>	<i>20°C</i>
<i>Actividad respiratoria (mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹)</i>	3,16	7,44	17,11
<i>Calor producido (kcal Ton⁻¹ día⁻¹)</i>	367,5	865,2	1989,6

Se observó que al aumentar la temperatura de almacenamiento, la actividad respiratoria se incrementó significativamente.

La cantidad de CO₂ producido a 10°C por kg de producto y por hora fue 2,4 veces superior que la correspondiente a 0°C. Dicho valor corresponde al Q₁₀ en el rango de 0 a 10°C.

El resultado hallado a 20°C fue 5,4 veces mayor que a 0°C y 2,3 veces más alto que el registrado a 10°C. Es decir que el Q₁₀ en el rango de 10 a 20°C tuvo un valor comparable al de 0 → 10°C.

Dicho incremento respiratorio se encuentra por debajo del reportado para otros productos, tales como zucchinis, pepinos, zapallos y tomates rebanados (Watada et al., 1996).

En el rango de temperaturas analizado se observó una relación lineal ($r=0,978$ y $p<0,001$) entre la tasa respiratoria y la temperatura de almacenamiento, existiendo una velocidad de incremento en dicho proceso de aproximadamente 0,7 mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ por cada °C de aumento en la temperatura.

El logaritmo natural de la tasa de respiración aparente de los tejidos vegetales decrece linealmente con la recíproca de la temperatura absoluta (K) (Cameron et al. 1994), en un rango restringido entre 0 y 30°C, para la mayoría de frutas y hortalizas.

La ley de Arrhenius establece la relación entre la constante de velocidad de una reacción química y la temperatura absoluta, según la siguiente expresión:

$$k = Ae^{-E/RT} \quad (1)$$

Donde A es una constante denominada *factor preexponencial*, E es la *energía de activación* de la reacción, R es la constante universal de los gases y T es la temperatura en grados Kelvin (Laidler y Bunting, 1973).

La ecuación (1) puede ser expresada como:

$$\ln k = \ln A - E/RT \quad (2)$$

La magnitud de la energía de activación puede por lo tanto obtenerse de la pendiente de la recta resultante de graficar $\ln k$ (en nuestro caso, \ln de la velocidad de respiración aparente) contra $1/T$. El valor de A puede ser calculado a partir de la ordenada al origen (Laidler y Bunting, 1973).

Los cálculos efectuados en base a los datos obtenidos en apio precortado arrojaron un valor de energía de activación aparente para la velocidad de producción de CO_2 de $12,9 \text{ kcal mol}^{-1}$ ($53.830 \text{ J mol}^{-1}$).

Varoquaux et al., (1999) calcularon una energía de activación aparente para la tasa de consumo de O_2 en champiñones de $43.400 \text{ J mol}^{-1}$. Cabe señalar que, en general, cuanto mayor es la energía de activación menor es la velocidad de reacción. De hecho, la actividad respiratoria de champiñones resulta elevada en relación con otros productos hortifrutícolas y por lo tanto presentan mayor perecibilidad.

1.3.3. Composición de la atmósfera en el interior de los envases

Las atmósferas modificadas dentro de los envases conteniendo productos mínimamente procesados pueden ser beneficiosas para el mantenimiento de la calidad de los mismos. En general la composición gaseosa adecuada que se toma como referencia es la aconsejada para el producto entero (Saltveit, 1997).

Las condiciones recomendadas para el control de la atmósfera en plantas enteras de apio corresponden a un 3-5% de CO_2 y un 1-4% de O_2 a 0°C , para un período de almacenamiento de 1-2 meses (Cantwell, 2001).

Saltveit (1997) señaló que las atmósferas modificadas o controladas ofrecen sólo beneficios moderados en el almacenamiento de apio.

Gariépy et al. (1986) lograron conservar plantas enteras durante 128 días a 1,5°C bajo una atmósfera controlada conteniendo 2,0% de CO₂ y 12,6% de O₂, manteniendo una mejor textura que las almacenadas bajo atmósfera regular. Leshuk y Saltveit (1990) observaron que contenidos de O₂ reducidos (2-4%) y de CO₂ elevados (3-5%) retardaron la senescencia, el amarilleamiento foliar y el decaimiento de las plantas de apio.

Sin embargo, bajas concentraciones de O₂ (inferiores al 2%) y altas de CO₂ (superiores al 10%) pueden ocasionar daños, resultando en desarrollo de olores y sabores no característicos y amarilleamiento de las hojas internas (Luo et al., 2002).

En nuestras experiencias observamos que a 0°C la concentración de CO₂ aumentó durante los primeros 14 días hasta alcanzar 11 mL L⁻¹, y permaneció estable hasta el final del almacenamiento (Tabla I.3.2). A esta temperatura, la reducida producción de CO₂ a partir de la actividad respiratoria del producto envasado, sumada a la relativamente alta permeabilidad de la película empleada (PVC), no permitió una mayor acumulación de este gas en el interior de las bandejas.

Tabla I.3.2. Composición de la atmósfera en el interior de los envases conteniendo apio mínimamente procesado, para distintos tiempos y temperaturas de almacenamiento.

Tiempo (días)	CO ₂ (mL L ⁻¹)		O ₂ (mL L ⁻¹)	
	0°C	10°C	0°C	10°C
0	0,3	0,3	210,0	210,0
7	10,8	16,7	158,8	173,1
14	11,1	23,3	170,3	145,5
21	8,2	32,7	187,9	117,4
27	10,4	--	183,5	--
LSD _{0,05}	1,1		20,0	

A 10°C la velocidad de producción de CO₂ fue 1,6 veces más alta que a 0°C durante la primera semana de almacenamiento y la proporción alcanzada en este

punto llegó a 16-17 mL L⁻¹. Al finalizar el período de conservación se alcanzó una concentración de 33 mL L⁻¹.

Particularmente no se han observado síntomas específicos que puedan atribuirse a daño por CO₂ en el producto almacenado a 10°C, como podrían ser puntuaciones o algún otro tipo de manifestaciones comunes en otros productos.

En lo que respecta a la concentración de O₂ (Tabla I.3.2), a 0°C pudo observarse que la misma se redujo significativamente durante la primera semana, llegando a alcanzar un valor próximo a 160-170 mL L⁻¹. De allí en más la concentración permaneció aproximadamente constante.

A 10°C se observó una disminución progresiva en la proporción de O₂ en el interior de los envases hasta alcanzar 117 mL L⁻¹ luego de 21 días.

La atmósfera generada en el interior de las bandejas conteniendo apio mínimamente procesado, utilizando PVC como película de envasado, resultó sólo ligeramente modificada con respecto a la composición original (aire). Con respecto al contenido de CO₂ se logró un incremento final del 1% al cabo de 27 días a 0°C, mientras que a 10°C, fue ligeramente superior al 3% (día 21). En lo que respecta a la concentración de O₂, tomando como referencia un valor igual a 21% en el aire, la disminución lograda fue de un 13% tras 27 días a 0°C y de un 44% luego de 21 días a 10°C.

I.3.4. Pérdida de Peso

Los datos obtenidos con respecto a la variación de peso experimentada por las bandejas durante su permanencia en cámara se muestran en la Figura I.3.3.

Puede observarse que a 0°C la pérdida de peso aumentó ligeramente y en forma aproximadamente proporcional a medida que transcurrió el tiempo de almacenamiento, con valores máximos de 1,6%.

A 10°C también se observó un aumento de la pérdida de peso. Los incrementos observados durante el transcurso del ensayo fueron aproximadamente lineales. El valor máximo alcanzado en este caso fue 6,2%.

A 0°C la deshidratación fue marcadamente menor y, para un mismo período de almacenamiento, la pérdida de peso observada a 0°C fue significativamente inferior que la correspondiente a 10°C. Ya en la primera semana el valor hallado a esta última temperatura superó 2,6 veces al de 0°C y en el día 27 la relación llegó a 3,9 veces superior la pérdida registrada a 10°C con respecto a 0°C.

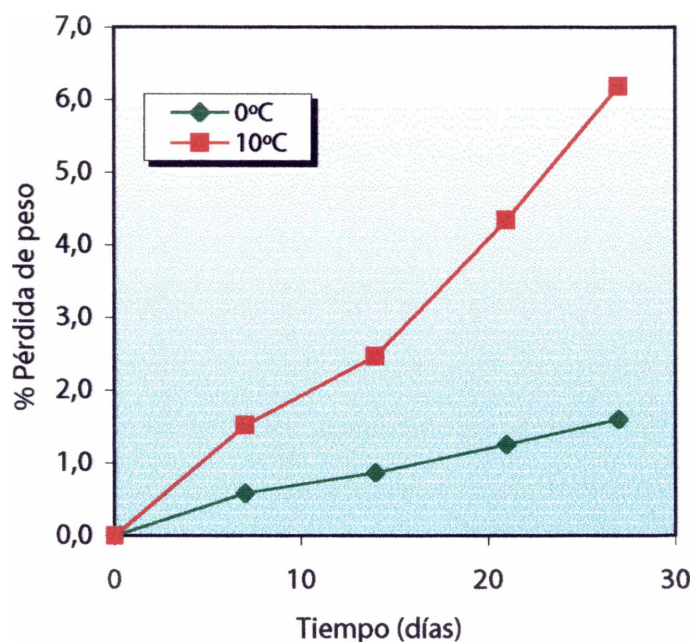


Figura I.3.3. Porcentaje (%) de Pérdida de Peso de bandejas conteniendo apio trozado, en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento ($LSD_{0,05} = 0,4$).

Al efectuar el análisis regresional de los datos se obtuvo que para 0°C, la ecuación que vincula la pérdida de peso con el tiempo fue la siguiente:

$$\text{Pérdida de peso (\%)} = 0,061 \times \text{Tiempo (días)}$$

siendo $r = 0,995$ y $p < 0,001$

De la misma forma, pero para 10°C se halló que:

$$\text{Pérdida de peso (\%)} = 0,214 \times \text{Tiempo (días)}$$

siendo $r = 0,994$ y $p < 0,001$

Ello indica que la pérdida de peso en función del tiempo fue 3,5 veces más rápida a 10 que a 0°C.

Se observó que los valores hallados tanto a los 21 como a los 27 días a 0°C no difirieron significativamente del dato correspondiente a los 7 días de permanencia a 10°C.

Luego de la cosecha, el producto depende exclusivamente de la humedad interna y la pérdida de agua por transpiración no puede ser repuesta. Aunque el agua es el principal componente de los tejidos vegetales, pequeños cambios en su contenido pueden producir gran impacto en la calidad (García y Barrett, 2000).

La característica de crujiente del producto fresco está relacionada con la presión de turgencia, cuya disminución puede contribuir también al ablandamiento. Asimismo y como consecuencia de la disminución del contenido de humedad, se producen cambios en la apariencia, tales como el marchitamiento.

La pérdida de la integridad de los tejidos hace que los productos mínimamente procesados sean más vulnerables a la deshidratación, teniendo en cuenta además que en ellos es mayor la superficie expuesta, en relación al producto intacto.

Uno de los parámetros primarios que afecta la calidad de apio es la pérdida de humedad. Considerando que para apio blanco no procesado se ha establecido como límite máximo una pérdida de peso igual al 10% (Robinson et al., 1975), los valores registrados en nuestras experiencias se hallaron por debajo de dicho valor, aún después de transcurridos 27 días a 10°C.

Sin embargo, Avena-Bustillos et al., (1997) encontraron que pequeñas reducciones en el contenido de agua en apio trozado (2,5–5%) pueden conducir a flaccidez, arrugamiento, encogimiento y ahuecado. En nuestros ensayos, esta barrera no fue sobrepasada durante el almacenamiento completo a 0°C, pero sí a partir de los 14 días a 10°C.

1.3.5. Color superficial

En lo que respecta al ángulo de color (hue, h°) (Figura 1.3.4), se observa que el valor inicial correspondió a 114,6, dado el color amarillo-verdoso propio de la variedad Golden Boy y de otras similares denominadas “de autoblanqueado”.

A 0°C dicho valor se mantuvo aproximadamente constante durante los primeros 14 días de almacenamiento. Entre los 14 y 21 días se produjo una disminución significativa del h° para llegar al cabo de este último tiempo a un valor igual a 112, aunque dicha variación no resultó perceptible durante la inspección visual de las muestras. No se verificaron variaciones significativas entre los 21 y 27 días a 0°C.

A 10°C se observó una marcada y rápida reducción del tinte básico del color, manifestándose una decoloración importante ya en los primeros 7 días, donde el h° cayó a 110,1 (casi un 4%). Hacia el día 14 se verificó otro descenso significativo (aproximadamente un 3%) alcanzando un h° igual a 106,7. A partir de este punto y hasta el final del ensayo (día 27) no se observaron variaciones significativas en los valores medidos.

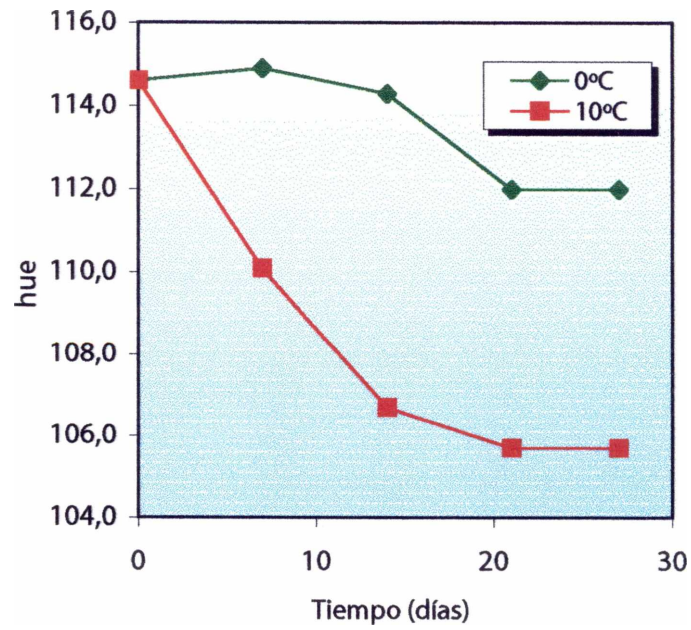


Figura I.3.4. Variación del ángulo de color (hue, h°) en apio mínimamente procesado, en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento (LSD_{0,05} = 1,2).

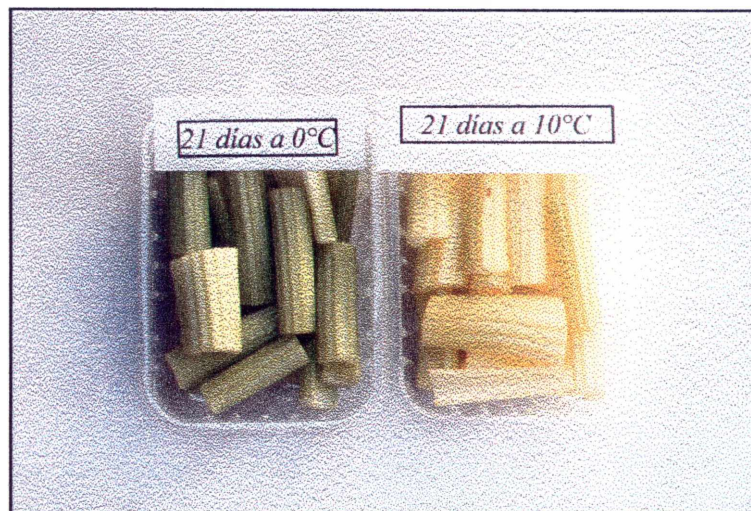


Figura I.3.5. Diferencias de color en apio mínimamente procesado almacenado durante 21 días a 0 ó 10°C.

Comparando los resultados obtenidos a 0 y 10°C se observa que existieron diferencias significativas para todos los puntos de muestreo, siendo los valores hallados a 0°C superiores a los correspondientes a 10°C. Se verificó que el h^* alcanzado tras 27 días de permanencia a 0°C resultó aún significativamente superior al correspondiente a 7 días a 10°C. Esto señala el efecto beneficioso de la conservación a temperaturas cercanas a 0°C sobre las variaciones de color, dado que el amarilleamiento a 10°C fue mucho más importante. A 0°C se retuvo un 98% del color (h^*) tras 27 días de permanencia en cámara.

La Figura I.3.5 muestra las diferencias de color del producto almacenado a 0 ó 10°C durante 21 días.

Con relación al Cromo (C) (Figura I.3.6) se observó un incremento significativo del mismo (aproximadamente 17%) durante los primeros 7 días de permanencia a 0°C. A partir de este punto y hasta el final del ensayo (día 27) el C se mantuvo constante a dicha temperatura, debido a que no existieron variaciones considerables en el color.

A 10°C no se verificó variación de C durante la primera semana, pero luego disminuyó aproximadamente un 47% hacia el día 14, llegando al final del ensayo con un C prácticamente igual a la mitad del valor inicial (13,8). Ello indicaría que el color amarillo de los trozos resultó menos saturado, es decir que se incrementó el componente gris del mismo.

Se observó que para todos los puntos de muestreo los valores de C hallados a 0°C fueron significativamente más altos que los medidos a 10°C, lo que indicaría una mayor saturación del color para la temperatura de conservación más baja.

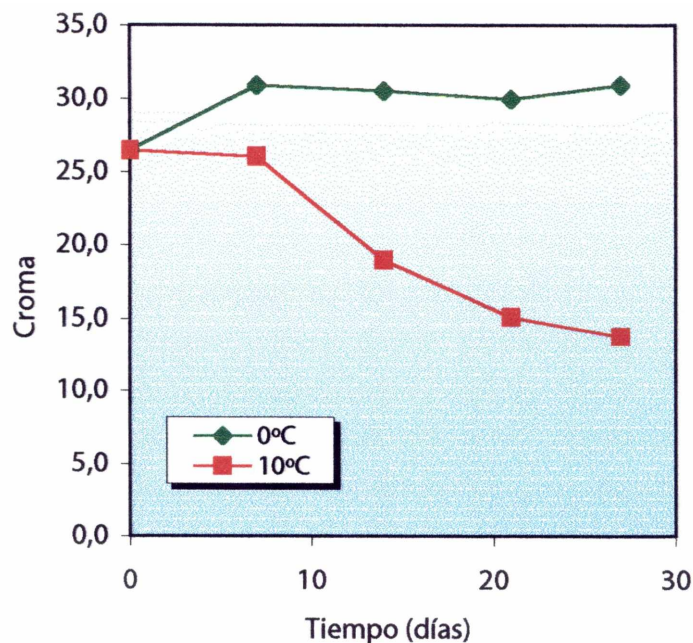


Figura I.3.6. Variación del Cromo (C) en apio mínimamente procesado, en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento ($LSD_{0,05} = 2,4$).

Al analizar la evolución del parámetro L^* (Figura I.3.7) se observa que a 0°C el mismo permaneció prácticamente constante ($p > 0,05$) con respecto al valor inicial.

A 10°C se produjo un aumento significativo de la luminosidad durante la primera semana de almacenamiento (6,5% superior a la inicial) y luego el valor L^* se mantuvo constante hasta el final de la experiencia. El incremento de L^* se relaciona con el amarilleamiento de los trozos, debido a que el color amarillo fue por sí más luminoso.

En resumen, a 0°C tanto el h° como el Cromo y L^* variaron ligeramente, indicando una buena retención del color original. A 10°C , en cambio, cayeron rápidamente el h° y el C, mientras que L^* aumentó ya en la primera semana. Ello

coincide con el rápido deterioro del color apreciado visualmente a esta última temperatura.

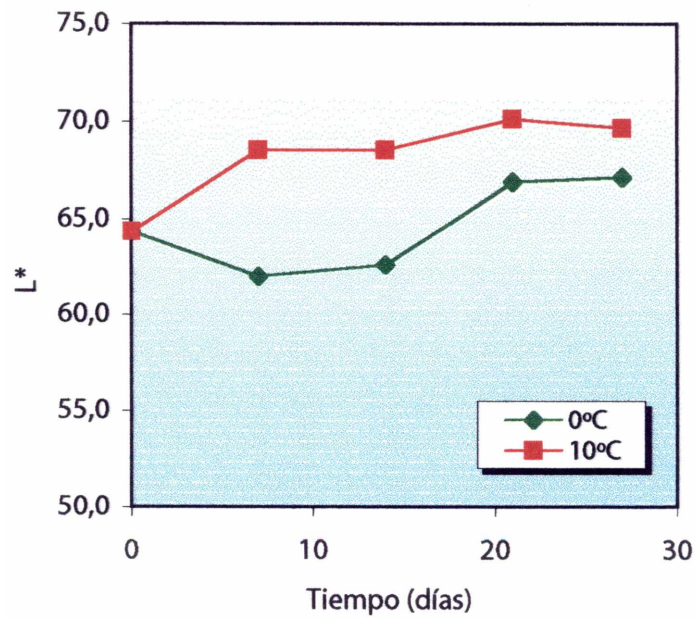


Figura I.3.7. Variación de L^* en apio mínimamente procesado, en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento ($LSD_{0,05} = 3,0$).

Bolin y Huxsoll (1991) observaron también, en lechuga Iceberg mínimamente procesada, una pérdida de la pigmentación verde y un oscurecimiento durante la conservación. Asimismo, estudiando la susceptibilidad al pardeamiento de lechugas Baby y Romaine precortadas, Castañer et al. (1999) señalaron que las muestras de tejido fotosintetizador se volvían más claras durante el almacenamiento.

Heaton et al. (1996), analizando los cambios de color producidos en ensalada de repollo, observaron que éste viraba del verde a un blanco más claro,

sugiriendo que la degradación de clorofilas daba como resultado compuestos no coloreados.

1.3.6. Contenido de clorofilas

A fin de estudiar más detalladamente las variaciones de color, se analizó la evolución del contenido de clorofilas durante el almacenamiento refrigerado.

Se observa que a 0°C (Figura 1.3.8) el contenido de clorofila total mostró tendencia a permanecer aproximadamente constante durante los primeros 14 días, con valores cercanos a 7,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ de tejido fresco. Luego, se produjo una disminución significativa a partir de este punto, llegando a alcanzar en el día 27 un contenido que representó el 38% del valor inicial. Una tendencia similar corresponde a la evolución del contenido de clorofila *a*, que se mantuvo constante (alrededor de 4,8 $\mu\text{g g}^{-1}$ de tejido fresco) durante las dos primeras semanas y descendió finalmente en forma significativa en el día 27, alcanzando un valor equivalente al 37,5% del de partida). En cambio, el contenido de clorofila *b* a 0°C disminuyó ligeramente durante el transcurso de la experiencia.

A 0°C, la relación clorofila *a* / clorofila *b* (*a/b*) aumentó significativamente desde 1,6 en el comienzo hasta 2,0 en el final del ensayo. En todos los casos, el contenido de clorofila *a* fue mayor que el de *b* a la temperatura mencionada.

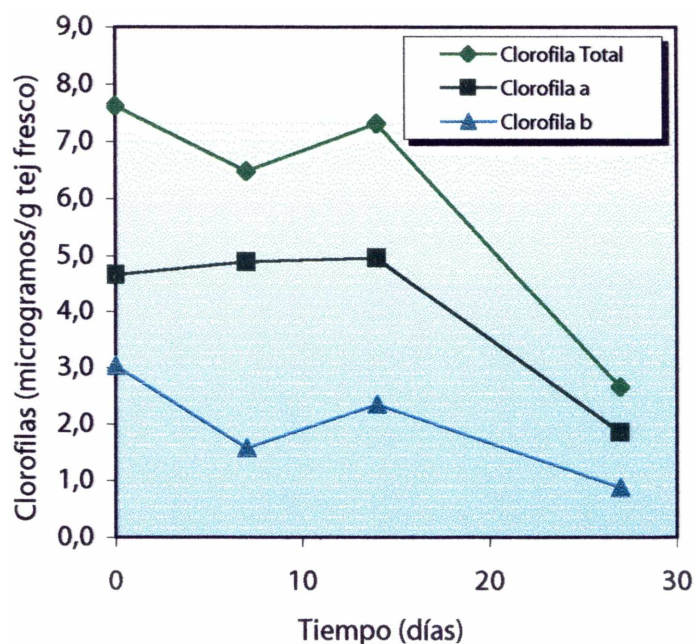


Figura I.3.8. Variación en el contenido de clorofilas durante la conservación a 0°C de apio mínimamente procesado ($LSD_{0.05}$ Clorofila Total = 0,4; $LSD_{0.05}$ Clorofila a = 0,3; $LSD_{0.05}$ Clorofila b = 0,3)

A 10°C (Figura I.3.9) se observó una disminución mayor y más rápida en el contenido de clorofila total. Ya en la primer semana de permanencia a esta temperatura los valores cayeron aproximadamente un 50%. En el día 27 el contenido de clorofila total alcanzó $0,6 \mu\text{g g}^{-1}$ de tejido fresco (92% inferior que el inicial). Una tendencia similar adoptó el contenido de clorofila *a*, que disminuyó hasta un 4% del valor de partida, tras 27 días de permanencia a esta temperatura. La concentración de clorofila *b* a 10°C descendió significativamente desde 3,0 a $0,4 \mu\text{g g}^{-1}$ de tejido fresco durante el ensayo completo.

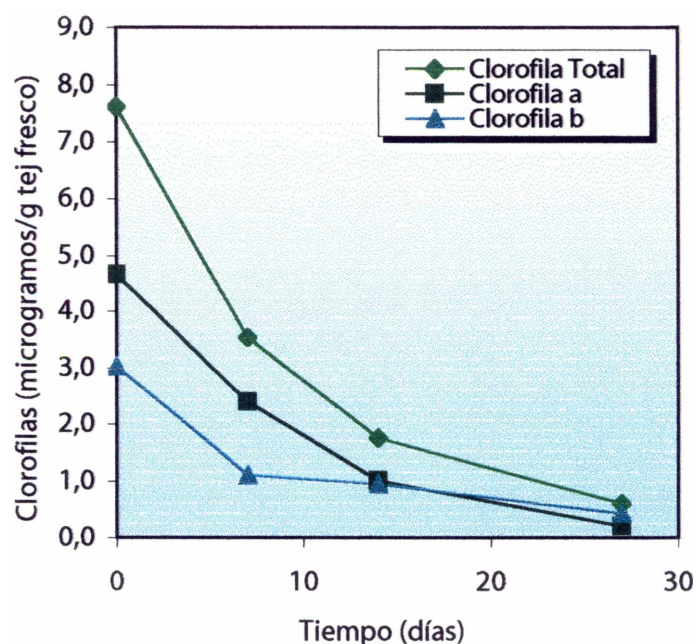


Figura I.3.9. Variación en el contenido de clorofilas durante la conservación a 10°C de apio mínimamente procesado ($LSD_{0,05}$ Clorofila Total = 0,4; $LSD_{0,05}$ Clorofila a = 0,3; $LSD_{0,05}$ Clorofila b = 0,3)

La relación a/b a 10°C varió desde 1,6 a 0,5 luego de 27 días en cámara, evidenciando que la clorofila *a* se degradó más rápido que la clorofila *b* a esta temperatura.

Comparando los datos provenientes de ambas temperaturas de almacenamiento se observa que los valores de clorofila total a 0°C fueron significativamente mayores que los correspondientes a 10°C, para un mismo período. En la primer semana el contenido de clorofila total a 0°C fue 1,8 veces superior al de 10°C, mientras que a los 14 y 27 días fue 4,2 veces superior el nivel de clorofila para la temperatura más baja. Con respecto al contenido de clorofila *a*, el mismo resultó significativamente mayor a 0°C que a 10°C, para un mismo

período de almacenamiento. El contenido de clorofila *b* también resultó significativamente superior a 0°C que a 10°C, para todos los puntos de muestreo.

La relación *a/b* fue siempre mayor a 0° que a 10°C, acentuándose las diferencias hacia el final del período, lo que indicaría que a 10°C se hace mucho más evidente la degradación de clorofila *a* con respecto a la de *b*. Mientras que a 0°C dicha relación no resultó inferior a 1 para ninguno de los períodos analizados, a 10°C la misma descendió a 0,5 a los 27 días de almacenamiento, dado que en este momento el contenido de clorofila *b* superó al de *a*.

El análisis estadístico de los datos permitió establecer que existió una correlación lineal entre el contenido de clorofila total y los valores correspondientes de h° para ambas temperaturas de almacenamiento (Para 0°C: $r=0,941$; $p<0,059$ y para 10°C: $r=0,993$; $p<0,01$). Dicha correlación fue válida para ángulos h° comprendidos entre 106° y 115°. Esto indica que el parámetro h° resultó ser un buen indicador de la evolución del contenido de clorofilas del producto, especialmente a 10°C.

Lancaster et al. (1997) puntualizaron que en sistemas simples, donde un único pigmento se encuentra presente o es claramente predominante, pueden ser significativas las relaciones lineales entre el contenido del mismo y el color. Desde este punto de vista, el apio puede ser considerado un sistema simple.

Pogson y Morris (1997) también encontraron una relación lineal entre el h° y el contenido de clorofila extraída de inflorescencias de brócoli, válida para ángulos comprendidos entre 90° y 125°.

El amarilleamiento, de igual manera que en apio, es también un factor detrimental en inflorescencias de brócoli. Barth et al. (1993) observaron una buena retención del color verde (h°) y del contenido de clorofilas mediante el envasado en atmósfera modificada y almacenamiento a 10°C, alcanzando concentraciones de CO₂ y O₂ iguales a 8 y 10%, respectivamente.

En nuestro caso, el sistema de envasado aplicado a apio trozado y la relativamente baja actividad respiratoria del producto, no generaron concentraciones de CO₂ lo suficientemente elevadas como para prevenir la degradación de clorofilas verificada a 10°C. La reducción de temperatura (0°C) resultó mucho más efectiva al respecto.

1.3.7. Contenido de azúcares simples y manitol

A) Cuantificación de azúcares reductores y totales por colorimetría

En la Tabla 1.3.3 se muestran los valores correspondientes al contenido de azúcares totales y reductores determinados por colorimetría en muestras iniciales de apio trozado.

El análisis estadístico de los datos arrojó que los valores encontrados para ambos tipos de azúcares (reductores y totales) a un mismo tiempo y temperatura de almacenamiento, no difirieron significativamente ($p > 0,05$). Ello indica que los azúcares no reductores se hallarían en muy bajas concentraciones.

Tabla 1.3.3. Contenido de azúcares totales y reductores (mg de glucosa g⁻¹ de tejido fresco) para muestras iniciales de apio trozado.

Muestra Inicial	mg de glucosa g ⁻¹ de tejido fresco	
	Azúcares totales	Azúcares reductores
	7,8	8,3
LSD _{0,05}		1,0

B) Identificación y cuantificación de azúcares reductores mediante HPLC

Los azúcares presentes fueron *fructosa*, *glucosa* y el alditol *manitol*. Este último compuesto fue investigado debido a que existen antecedentes que lo mencionan como uno de los principales carbohidratos hidrosolubles presentes en

el parénquima de los pecíolos de apio (Greutert et al., 1998). La sacarosa se encontró por debajo de los niveles detectables, confirmando los resultados obtenidos con el método de Somogyi-Nelson.

En el inicio del ensayo, las concentraciones de glucosa y manitol fueron muy similares, mientras que la de fructosa resultó ligeramente superior a ambas (1,2 veces la concentración de glucosa). Las concentraciones de partida halladas para glucosa y fructosa se corresponden con las mediciones hechas por Kwon et al. (1998) en plantas de apio. Estos autores también encontraron muy bajas concentraciones de sacarosa.

La Figura I.3.10 muestra los datos correspondientes a la concentración de los compuestos identificados en nuestras experiencias.

El patrón de consumo de *fructosa* a 0°C mostró que los niveles permanecieron constantes durante la primera semana a esta temperatura. Se observó una disminución significativa en el día 14 y luego los valores permanecieron prácticamente estables hasta el fin del ensayo. Hubo una disminución total de aproximadamente 36% durante el periodo de almacenamiento.

A 0°C, el contenido de *glucosa* mostró un comportamiento similar. El mismo disminuyó muy ligeramente durante la primera semana de almacenamiento y luego permaneció sin mayores variaciones hasta el final de la experiencia. La pérdida de glucosa a esta temperatura representó prácticamente el 22% del valor inicial.

En lo que respecta a manitol, los valores medidos a 0°C no mostraron variación durante la primera semana. Disminuyeron en los días 14 y 21 y luego permanecieron constantes hacia el día 27. La pérdida de manitol representó prácticamente el 50% de los valores de partida.

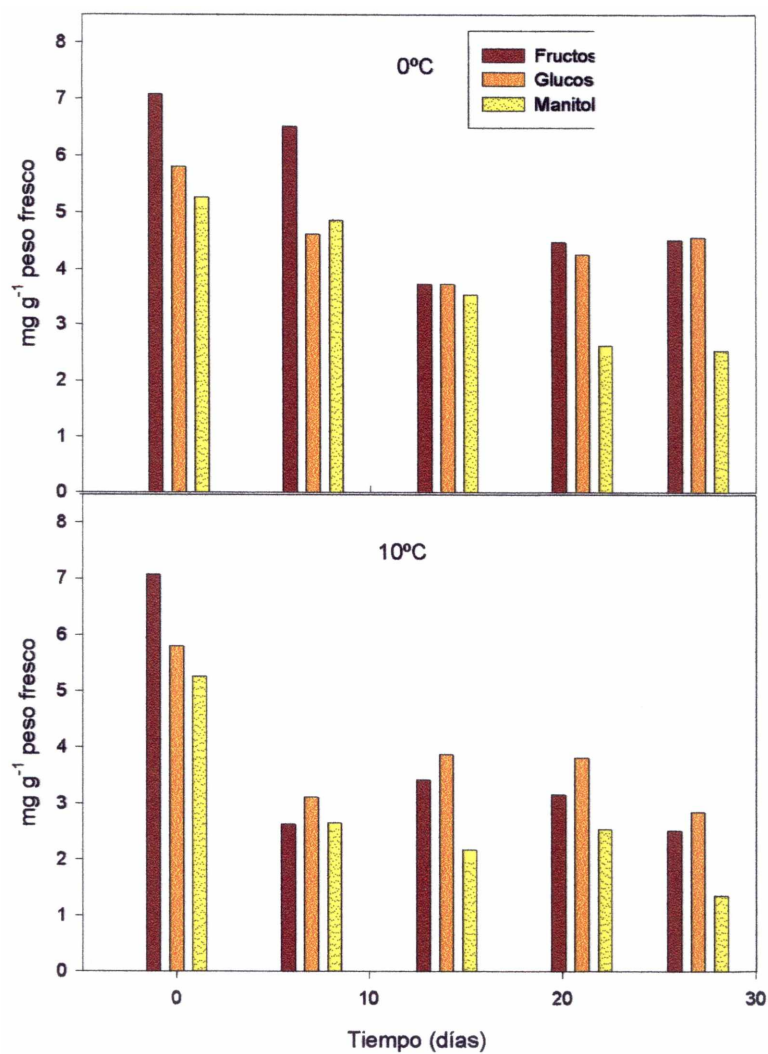


Figura I.3.10. Variación del contenido de azúcares y manitol en apio mínimamente procesado, en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento ($LSD_{0,05}$ Fructosa=1,2; $LSD_{0,05}$ Glucosa = 1,0; $LSD_{0,05}$ Manitol=0,7).

A 10°C se observó una disminución significativa en el contenido de fructosa luego de los primeros siete días en cámara. De allí en más los niveles permanecieron aproximadamente constantes, y el consumo total representó más del 64% del valor de partida, luego de 27 días.

A esta temperatura, el consumo de glucosa tras 7 días de almacenamiento fue mayor que el verificado a 0°C pero tampoco hubo disminución posterior durante el tiempo ensayado. La disminución total de glucosa en apio almacenado a 10°C fue del 50% con respecto a los valores de partida.

A 10°C, los valores correspondientes a manitol cayeron luego de 7 días, permanecieron constantes durante las dos semanas siguientes y manifestaron una nueva reducción en el día 27. El consumo total representó más del 70% del nivel inicial.

Keller (1991) señaló que el manitol es el principal carbohidrato presente en plantas de apio, representando hasta un 60% de los carbohidratos solubles totales. En nuestro caso los valores hallados para este "azúcar-alcohol" fueron muy próximos a los de glucosa y fructosa. Seguramente la proporción de azúcares presentes está altamente influenciada por la variedad y las condiciones de cultivo. Dicho autor ha señalado también que el manitol, acumulado en los tejidos parenquimáticos de los pecíolos maduros, es removilizado durante el proceso de senescencia.

Nuestras observaciones parecen indicar una mayor tendencia al consumo de manitol, tanto a 0 como a 10°C, por sobre el de glucosa y fructosa.

Keller y Matile (1989) destacaron que los roles fisiológicos propuestos para los alditoles en plantas vasculares incluyen el almacenamiento de carbono y poder reductor, la traslocación de carbono en el floema y la regulación del estrés. Stoop et al. (1996) han mencionado que el manitol y otros "azúcares alcoholes" pueden

actuar como secuestradores de especies activas de oxígeno, previniendo por lo tanto la peroxidación de lípidos y el daño celular resultante.

Smirnoff y Cumbes (1989) hallaron que, entre varios solutos compatibles investigados, el manitol fue un efectivo inactivador de radicales hidroxilo.

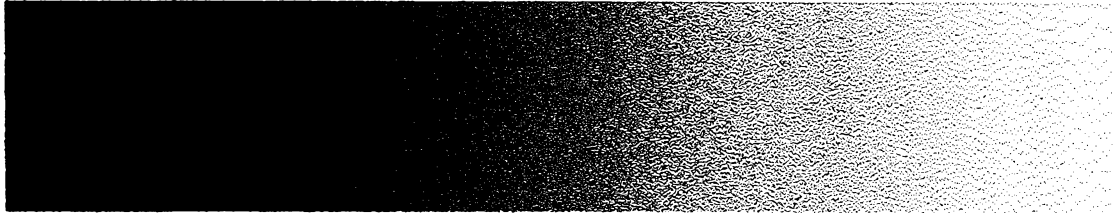
Estos antecedentes podrían explicar la mayor tendencia al consumo de manitol por sobre el de los restantes azúcares presentes, verificada tanto a 0 como a 10°C en nuestras experiencias.

I.4. CONCLUSIONES

- ✓ La calidad organoléptica de apio mínimamente procesado se mantuvo en niveles aceptables durante los 27 días a 0°C.
- ✓ A 10°C se produjo una pérdida de calidad que determinó que el producto dejara de ser comercializable a los siete días de almacenamiento, fundamentalmente por el grado de decoloración manifestado.
- ✓ Otros fenómenos de deterioro desencadenados durante el almacenamiento a 10°C fueron el desarrollo de apariencia blanco translúcida en los sectores de corte, el pardeamiento de los haces vasculares seccionados (puntuaciones color anaranjado), la producción de olores no característicos del producto fresco, la aparición de podredumbres blandas, la pérdida de la calidad de crujiente y el ahuecado o desintegración de la médula.
- ✓ Asimismo la disminución del peso de las bandejas en función del tiempo fue 3,5 veces más rápida a 10 que a 0°C.
- ✓ En cuanto a las variaciones de color superficial, a 0°C tanto el h° como el Croma y L* se modificaron ligeramente, indicando una buena retención del color original. A 10°C, en cambio, cayeron rápidamente el h° y el C, mientras que L* aumentó inicialmente, ya en la primera semana. A esta última temperatura se produjo un rápido deterioro del color.
- ✓ El contenido de clorofila a 0°C alcanzó un 38% del valor inicial al final del almacenamiento. Mientras tanto, a 10°C, la concentración de clorofila total alcanzó un nivel 92% inferior que el inicial. El parámetro h° resultó ser un buen indicador de la evolución del contenido de clorofilas del producto durante el almacenamiento.

✓ El sistema de envasado aplicado a apio trozado y la relativamente baja actividad respiratoria del producto no generaron concentraciones de CO₂ lo suficientemente elevadas como para prevenir la degradación de clorofilas verificada a 10°C. La reducción de temperatura (0°C) resultó mucho más efectiva al respecto.

✓ El almacenamiento a 0°C mantuvo las concentraciones de fructosa, glucosa y manitol en niveles más altos que a 10°C, aún después de 27 días en cámara. Existió una tendencia a un mayor consumo de manitol en relación a fructosa y glucosa, tanto a 0 como a 10°C.



CAPITULO II

INCIDENCIA DE LA TEMPERATURA SOBRE LA TEXTURA Y CONTENIDO DE LIGNINA

II.1. INTRODUCCION

II.1.1. La textura como componente de la calidad de productos hortifrutícolas

La textura constituye un atributo de calidad de relevancia en alimentos de origen vegetal, tanto frescos como procesados. Sin embargo, no es fácil de definir y está determinada por un conjunto amplio de características (Sams, 1999).

Las propiedades texturales están relacionadas con factores mecánicos (dureza, fibrosidad, etc.), geométricos (tamaño y forma de las partículas) y químicos (por ejemplo, el contenido de humedad) de los productos (Bourne, 1980).

La textura de frutas y hortalizas en particular, está influenciada por la anatomía y morfología del tejido y por los constituyentes bioquímicos, el contenido de agua o turgencia y especialmente por la composición de las paredes celulares. Cualquier factor externo que incida sobre estas características puede modificar la textura y afectar la calidad final del producto (Sams, 1999).

Las variaciones texturales ocurren normalmente durante el crecimiento y desarrollo y se considera que involucran cambios genéticamente programados en la estructura de la pared celular y otros procesos fisiológicos relativos a la función específica de los órganos vegetales. Por ejemplo, el ablandamiento de los frutos puede ocurrir para permitir que los mismos sean más fácilmente consumidos por herbívoros y/o atacables por microorganismos, posibilitando así la dispersión natural de las semillas (Sams, 1999).

Existen diversos factores que pueden afectar la textura de frutas y hortalizas en su punto de madurez comercial. Entre los ambientales, figuran la temperatura, la luz y la humedad (Sams, 1999).

Entre los factores culturales, la nutrición vegetal tiene una incidencia primordial sobre la calidad de frutas y hortalizas. Los contenidos de nitrógeno,

fósforo, potasio y particularmente el de calcio tienen efectos pronunciados en la textura (Sams, 1999).

Los reguladores de crecimiento aplicados durante la producción de los cultivos han mostrado también incidencia sobre la textura de los productos cosechados.

Existen factores de índole fisiológica que guardan relación con la textura: el tamaño de los frutos, determinado tanto por el número como por el tamaño de las células, que en general correlaciona negativamente con la firmeza; el grado de madurez, etc. (Sams, 1999).

Los factores genéticos tienen influencia directa sobre la textura de productos hortifrutícolas (Sams, 1999). Los fitotecnistas seleccionan las plantas en función del mejoramiento de la calidad, basándose en las percepciones humanas (Janick, 1991). Por ejemplo, el apio ha sido seleccionado para un menor contenido de fibra (Reeve, 1970).

II.1.2. Bases estructurales de la textura de alimentos de origen vegetal

Cómo un tejido vegetal se deforma durante la masticación depende de las fuerzas ejercidas y de las características estructurales del producto. En el caso de tejidos vegetales, las propiedades mecánicas dependerán de las contribuciones de los diferentes niveles estructurales y cómo ellos interactúan unos con otros (Waldron et al., 1997). Estos niveles son representados en la Figura II.1.1.

La textura debe comprenderse entonces como el resultado de una jerarquía estructural. Las propiedades físico-mecánicas exhibidas en cada nivel son dependientes de las propiedades de los elementos precedentes, sus concentraciones relativas, las fuerzas físicas involucradas en su interacción y las formas en que estos elementos se disponen en el espacio (Jackman y Stanley, 1995).

Las estructuras vegetales son normalmente anisotrópicas, heterogéneas y discontinuas y exhiben una considerable variabilidad en su construcción. Las caracterizaciones texturales de tales materiales son problemáticas pero la comprensión de la estructura vegetal en los diferentes niveles puede proporcionar un indicio de los métodos apropiados para la medición de la textura (Jackman y Stanley, 1995).

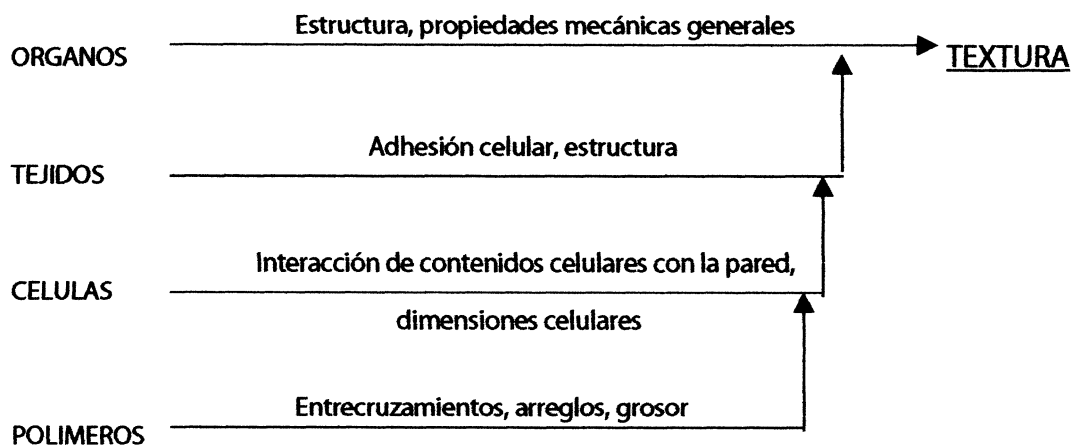


Figura II.1.1. Representación esquemática de los niveles estructurales que contribuyen a las propiedades mecánicas de los tejidos vegetales (Adaptado de Waldron et al., 1997).

Los tejidos vegetales empleados como alimentos, ya sea frutos, hojas, tallos, semillas o raíces, contienen varios tipos de tejidos (fundamentalmente, parénquima, pero también colénquima, esclerénquima y tejidos vasculares). Las células parenquimáticas son esféricas o poliédricas y miden entre 50-500 μm de diámetro. Están asociadas unas con otras debido a la presión mutua que deriva de su confinamiento dentro de una capa de epidermis que las limita (Jackman y Stanley, 1995). Los tejidos vegetales contienen asimismo una proporción

significativa (1-25%) de espacios aéreos intercelulares, los cuales pueden tener considerable impacto en la textura.

La turgencia, que confiere a las frutas y hortalizas su firmeza y succulencia, depende del agua que, retenida por ósmosis en las células, puede alcanzar hasta el 96% del peso del tejido. La ósmosis resulta de fuertes concentraciones intracelulares de sustancias solubles de bajo peso molecular; la hinchazón por absorción de agua está, sin embargo, limitada por la resistencia mecánica de la pared celular. El descenso de turgencia es muy acusado en verduras de hoja, porque el elevado número de estomas favorece la transpiración (Cheftel y Cheftel, 1976).

La permeabilidad de las membranas celulares y por consiguiente la textura, se modifican por la maduración, almacenamiento, cocción, procesamiento, etc.

Dentro de las células, componentes importantes tales como almidón, proteínas, lípidos, pueden encontrarse compartimentalizados dentro de cuerpos de inclusión. Además existe una gran vacuola central, conteniendo predominantemente una solución acuosa de sales y azúcares, varias organelas y una matriz de proteínas poliméricas, colectivamente denominadas citoesqueleto, que proveen el marco estructural para los procesos citoplasmáticos. El citoesqueleto presenta continuidad con la membrana celular o plasmalema y posiblemente también con la pared. Además de las membranas subcelulares que rodean a la vacuola, plástidos y organelas, el plasmalema controla la traslocación de agua y solutos (Jackman y Stanley, 1995) (Figura II.1.2).

Externamente a la membrana celular se encuentran la pared celular primaria y la laminilla media. Gran parte de las propiedades texturales de los alimentos de origen vegetal pueden ser atribuidas a la integridad de ambas estructuras y a la turgencia generada dentro de las células por ósmosis (Jackman y Stanley, 1995).

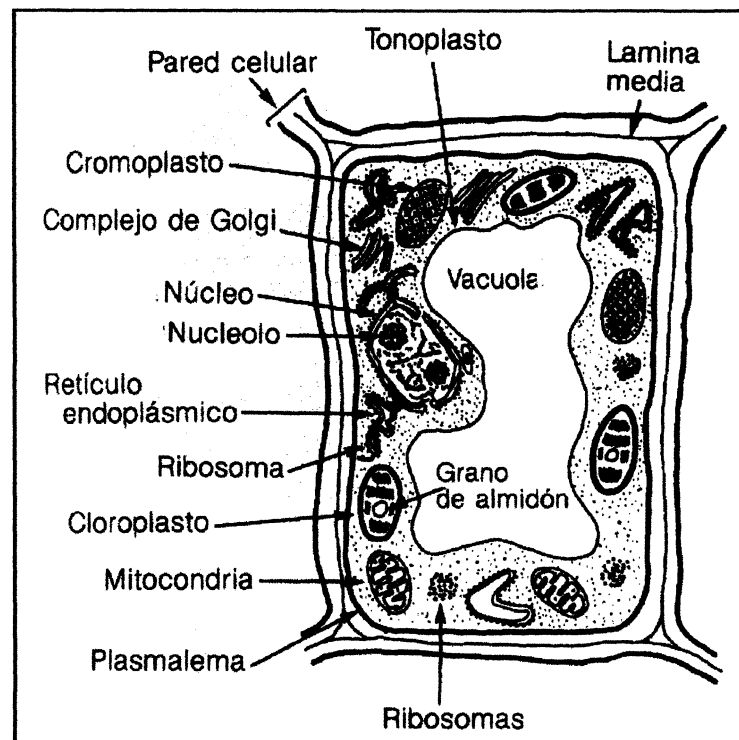


Figura II.1.2. Representación esquemática de una célula vegetal típica (Wills et al., 1981).

La textura de las frutas y hortalizas es altamente dependiente de las propiedades físicas y químicas de las paredes celulares (Figura II.1.3). Cuando se consumen estos productos, su textura está en principio determinada por la manera en que el esqueleto de la pared celular se deforma y se rompe. Existe un gran interés en el desarrollo de métodos para predecir y controlar la textura de alimentos de origen vegetal, particularmente en relación al procesamiento y/o tratamientos postcosecha (Waldron et al., 1997).

La pared de las células parenquimáticas es delgada (0,1 a 10 μm) pero resistente, limitando por lo tanto la expansión debida a la presencia del fluido

celular y generando como consecuencia presiones de turgencia de 0,3-1 MPa (Jackman y Stanley, 1995).

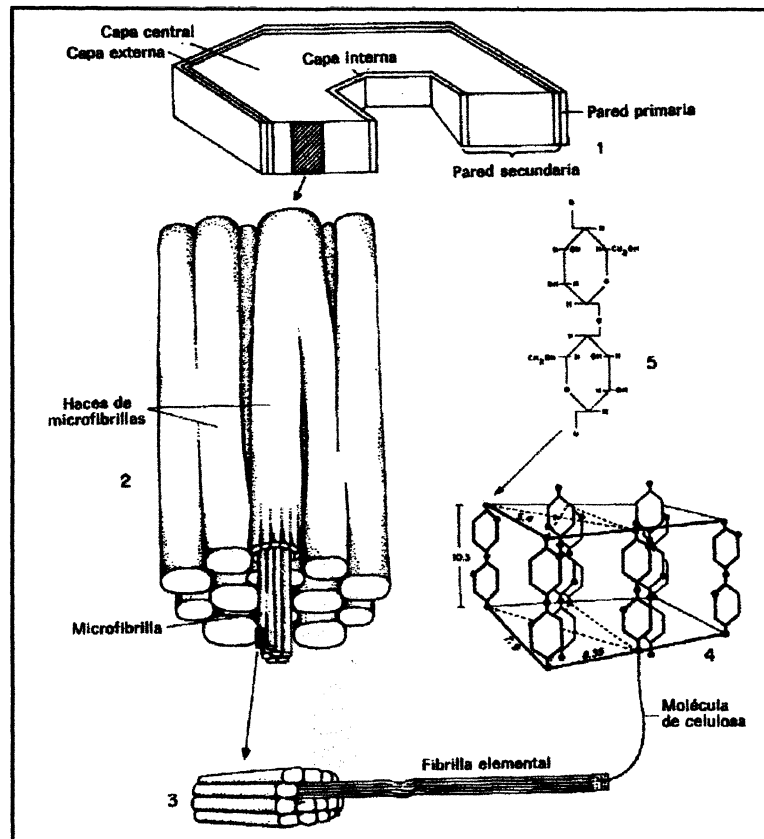


Figura II.1.3. Representación esquemática de la estructura submicroscópica de la pared celular. (1) Porción de una célula con pared primaria y secundaria; (2) Haces de microfibrillas; (3) Porción de una microfibrilla compuesta de fibrillas elementales; (4) Dos unidades de celulosa; (5) Dos unidades glucosídicas (Fahn, 1982).

La laminilla media ubicada entre células adyacentes actúa como sustancia cementante.

La pared secundaria, de estar presente, se deposita una vez que ha cesado el crecimiento celular, por fuera del plasmalema pero en la cara interna de la pared

primaria. Su presencia en tejidos vegetales está asociada con el desarrollo de fibrosidad, como ocurre en espárragos (Jackman y Stanley, 1995).

El nivel estructural más bajo a considerar es el de los polímeros que construyen la pared celular. La manera en que se disponen e interactúan, tanto física como químicamente, determina las propiedades mecánicas de las paredes (Waldron et al., 1997).

Los componentes de la pared son celulosa, hemicelulosas, pectinas y glicoproteínas (Jackman y Stanley, 1995). Desde el punto de vista nutricional, todos ellos son parte principal de la fibra dietaria (Chaple y Carpita, 1998).

La celulosa [$\beta(1\rightarrow4)$ -D-poliglucano], constituye el armazón de la pared a través de la formación de microfibrillas de 5-15 nm de diámetro y varios miles de unidades de longitud (Jackman y Stanley, 1995).

Las hemicelulosas son polímeros rígidos, altamente ramificados de azúcares neutros tales como xilanos, xiloglucanos y $\beta(1\rightarrow3)$ o $\beta(1\rightarrow4)$ glucanos mixtos, que se combinan con la celulosa, pectinas y lignina mediante uniones hidrógeno (Jackman y Stanley, 1995).

Las pectinas, componentes mayoritarios de la laminilla media, contienen sectores (homogalacturonano) formados por residuos de ácido α -galacturónico parcialmente esterificados, junto con zonas (ramnogalacturonanos) de diferentes grados de polimerización y contenido de azúcares neutros (Jackman y Stanley, 1995).

Las glicoproteínas representan un 5-10% del peso seco de las paredes celulares de las Dicotiledóneas, siendo las extensinas las más estudiadas. Son ricas en hidroxiprolina y se considera que contribuyen a la integridad físico-mecánica de la pared (Jackman y Stanley, 1995).

En células maduras debe incluirse entre los polímeros de la pared a la lignina, el segundo material más abundante sobre la Tierra luego de la celulosa. Está compuesta por unidades de fenilpropanoides, con un peso molecular variable. Su formación comienza en la pared celular primaria o en la laminilla media, pero la mayor concentración se verifica en las paredes secundarias (Jackman y Stanley, 1995).

Cuando los tejidos vegetales son sometidos a esfuerzos, el quebrantamiento de los mismos puede producirse por *separación* o por *ruptura* celular. La liberación de los contenidos celulares, y por lo tanto la jugosidad, dependerá de la ruptura de las células. Si las fuerzas que mantienen unidas a éstas son elevadas, el quebrantamiento ocurrirá a nivel de las paredes celulares. Esto sucede normalmente en hortalizas frescas, crudas y frutos inmaduros. En dichos tejidos se verifica un alto nivel de turgencia, apreciándose como frágiles, crujientes (Waldron et al., 1997).

En cambio, si la adhesión entre células es débil, éstas terminarán separándose. Procesos tales como la cocción o la maduración de los frutos producen un considerable ablandamiento de los tejidos vegetales. Ello es consecuencia de la disolución de los polímeros de la laminilla y pared (Waldron et al., 1997).

II.1.3. Métodos para la medición de la textura

Hemos señalado que las propiedades mecánicas de los productos hortifrutícolas son las que se relacionan con la textura. Los métodos objetivos de medición cuantifican alguna o varias de estas propiedades y emplean instrumentos diversos entre los que figuran los texturómetros (Figura II.1.4), que pueden estar equipados con diferentes dispositivos para la medición.

Bajo una carga mecánica, las frutas y hortalizas exhiben comportamiento viscoelástico, el cual depende tanto de la fuerza aplicada como de la velocidad de carga (Abbott, 1999).



Figura II.1.4. Texturómetro TA-XT2i (Stable Micro Systems Ltd.) utilizado en las determinaciones de textura.

Los ensayos más conocidos comprenden las pruebas de punción, compresión y cizalla. En estas últimas, una o varias cuchillas cortan por deslizamiento a través de la muestra bajo condiciones determinadas. La fuerza máxima requerida y/o el trabajo necesario para producir el corte son tomados como un índice de firmeza, resistencia o fibrosidad de la muestra. Tales ensayos son usualmente aplicados a alimentos con una estructura fibrosa como carnes y ciertas hortalizas.

Uno de los dispositivos empleados para ello es la cuchilla Warner-Bratzler (Figura II.1.5), que si bien puede ser clasificado como instrumento de corte, un

examen exhaustivo de la acción ejercida sobre la muestra revela que el patrón de fuerzas involucradas es bastante complejo (compresión en los ejes vertical y horizontal, tensión y corte). Ha sido mayormente empleada para carnes, pero también se ha aplicado a la medición de textura en espárragos, zanahorias y ruibarbo (Voisey, 1976).

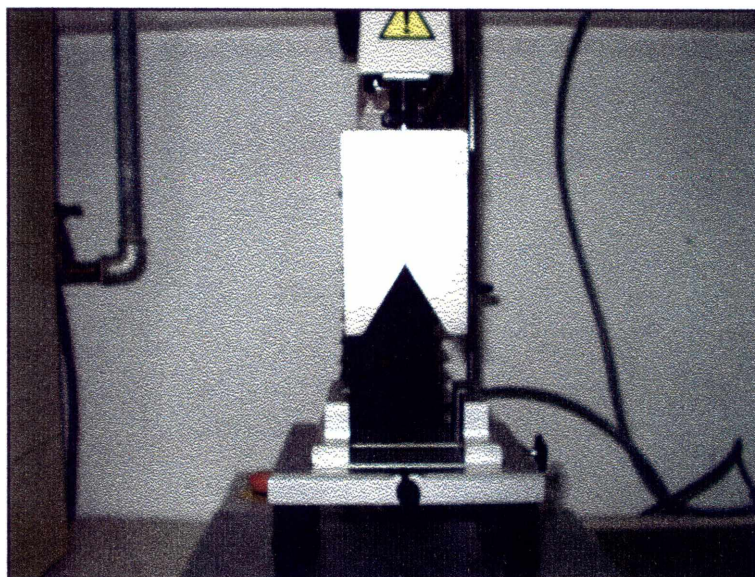


Figura II.1.5. Dispositivo Warner-Bratzler utilizado en las mediciones de textura de apio mínimamente procesado.

II.1.4. Consideraciones acerca de la textura de apio

Es importante destacar que la calidad de crujiente es uno de los atributos más apreciados en el caso de apio entero y trozado.

Las secciones transversales de los pecíolos de esta planta presentan forma de media luna, con costillas prominentes sobre la cara abaxial. Una gran banda de colénquima se encuentra presente debajo de la epidermis, en cada costilla. Dos bandas de colénquima aparecen sobre el lado adaxial, pero aquí sólo dos a tres

capas de células subepidérmicas se encuentran engrosadas como colénquima. Los haces vasculares son colaterales, presentándose el xilema sobre la cara adaxial y el floema sobre el lado abaxial de los mismos (Esau, 1937).

Por otra parte, la desorganización de los tejidos internos del pecíolo (médula) es frecuentemente denominada ahuecado (pithiness) y constituye un problema en postcosecha. El ahuecado se caracteriza por la aparición de regiones blanquecinas y espacios aéreos dentro del tejido, y es la principal causa de pérdida de calidad y reducción de la vida de estante en apio (Saltveit y Mangrich, 1996).

Se produce a partir de la lisis de las células parenquimáticas de la médula y el consecuente desarrollo de aerénquima (Saltveit y Mangrich, 1996).

Este proceso es estimulado por algunos factores pre-cosecha que desencadenan anticipadamente la senescencia, incluyendo estrés por bajas temperaturas, deficiencia de agua, oxígeno y/o minerales, inducción de la floración e infecciones radiculares. Este fenómeno se ve favorecido también por condiciones inapropiadas de conservación una vez que las plantas han sido cosechadas. El procesamiento mínimo del apio cosechado parece exacerbar el desarrollo de ahuecado y limita el uso y la vida de estante de los segmentos de pecíolos (Saltveit y Mangrich, 1996).

Por otra parte y tal como fuera mencionado, los tejidos inmaduros, con altas tasas respiratorias, se endurecen y lignifican con frecuencia durante su almacenamiento. Este proceso ha sido extensamente estudiado en espárragos (Everson et al., 1992) pero no existe información al respecto en apio.

II.1.5. Las ligninas como constituyentes de las paredes celulares

Las ligninas son polifenoles presentes en las paredes celulares vegetales. Estas complejas sustancias le otorgan resistencia a la compresión, a la degradación microbiana e impermeabilidad al agua a la matriz de polisacáridos y proteínas que componen la pared (Whetten et al., 1998).

Se trata de un polímero resistente, tridimensional, compuesto por residuos *p*-hidroxifenil, guaiacil y siringil derivados de los alcoholes (monolignoles) *p*-cumarílico, coniferílico y sinapílico, respectivamente (Figura II.1.6) (Whetten et al., 1998).

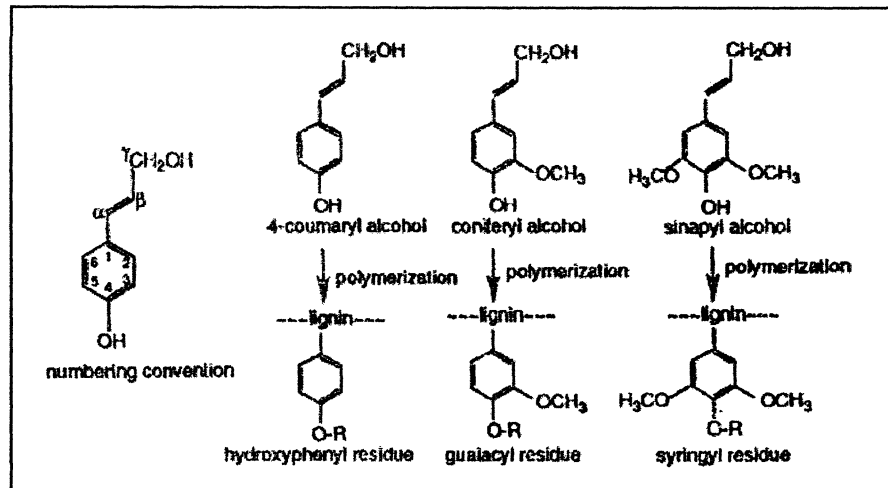


Figura II.1.6. Estructuras de los tres monolignoles y los residuos derivados de ellos. La convención empleada para la numeración se muestra a la izquierda. El grupo R unido al oxígeno en la posición 4 puede ser un protón, en el caso de que se trate de un hidroxilo fenólico libre o puede ser otro residuo monolignol (Whetten et al., 1998).

En Gimnospermas, las ligninas están constituidas principalmente por alcohol coniferílico, y en menor grado por alcohol cumarílico. En Angiospermas se encuentran como unidades constitutivas los alcoholes coniferílico y sinapílico, en proporciones aproximadamente iguales (Grisebach, 1981).

La lignina es el componente estructural principal de ciertas células especializadas (elementos del xilema y esclerénquima) y su deposición puede ser inducida por determinados tipos de estrés, tales como enfermedades y daño mecánico, indicando que los genes involucrados en la biosíntesis de lignina responden tanto a señales propias del desarrollo como vinculadas al ambiente (Whetten y Sederoff, 1995).

En lo relativo a su biosíntesis, los fenilpropanoides derivan a partir del ácido cinámico (Douglas, 1996).

Ya hemos mencionado que las unidades monoméricas de la lignina derivan de los alcoholes *p*-hidroxicumarílico, coniferílico y sinapílico. Estos se originan a su vez de los ésteres de los ácidos *p*-cumárico, ferúlico y sinápico con la coenzima A (CoA), vía un proceso de reducción en dos etapas catalizado por la cinamoil-CoA reductasa (CCR) y la cinamil alcohol deshidrogenasa (CAD) (Douglas, 1996).

A fin de generar el polímero de lignina, los monolignoles deben ser transportados a través de la membrana plasmática luego de su biosíntesis. La polimerización de estas unidades requiere un mecanismo oxidativo, que involucra como intermediarios a ciertos radicales libres (Douglas, 1996). Los mecanismos de transporte de monolignoles son aún desconocidos. Sin embargo en Coníferas, la correlación entre la acumulación del glucósido del alcohol coniferílico (coniferina), la actividad de la UDP-glucosa:alcohol coniferílico glucosiltransferasa y de la coniferina β -glucosidasa y la deposición de lignina, condujo a la hipótesis de que los monolignoles son transportados bajo la forma de los correspondientes glucósidos (Douglas, 1996).

Las enzimas involucradas en el proceso de polimerización son la lacasa y la peroxidasa. Esta última presenta varias isoenzimas, algunas de ellas unidas a la pared celular (Whetten et al., 1998).

Se sabe que el inicio de la síntesis de lignina está temporal y espacialmente asociado con la secreción de proteínas desde el aparato de Golgi y su deposición en la pared celular, incluyendo proteínas ricas en prolina (Croteau et al., 2000).

Analizando la importancia de la lignificación como proceso detrimental en la postcosecha de espárragos, Everson et al. (1992) señalaron que durante el crecimiento, los tallos de esta especie desarrollan una vaina muy resistente de esclerénquima por debajo de las capas subepidérmicas. A medida que los tallos

maduran las células de este tejido y, en menor extensión, las de los haces vasculares experimentan un engrosamiento secundario. Este proceso involucra la síntesis de polisacáridos de la pared celular (especialmente hemicelulosas compuestas por xilosa) y la lignificación, resultando en un incremento básico de la dureza y fibrosidad de los turiones.

II.1.6 La lignificación como mecanismo de defensa

Se ha señalado que la biosíntesis de lignina constituye uno de los mecanismos de defensa inducibles en las plantas frente al daño (Vance et al., 1980).

La lignina es resistente a la degradación por parte de la mayoría de los microorganismos y se considera que puede ser formada comúnmente como respuesta a la penetración microbiana y al daño mecánico. Sin embargo el rol de la lignificación en la resistencia a enfermedades ha sido investigado sólo en un número limitado de casos (Vance et al., 1980).

Se han sugerido distintas formas en que la lignina puede obstaculizar el crecimiento de hongos a través de los tejidos vegetales: otorgando a las paredes celulares mayor resistencia a la penetración mecánica, principalmente a la compresión, e impidiendo la disolución de la pared en el punto de ataque a expensas de las enzimas fúngicas (Vance et al., 1980). Asimismo la lignina podría restringir la difusión no sólo de enzimas sino también de toxinas, desde el hongo hacia el hospedante, y de agua y nutrientes en el sentido inverso. Los precursores fenólicos de bajo peso molecular de la lignina y los radicales libres producidos durante la polimerización pueden inactivar membranas, enzimas, toxinas y elicitores fúngicos. Muchos compuestos fenólicos tienen actividad antimicrobiana (Vance et al., 1980).

Bernards et al. (2000) encontraron un rápido y evidente aumento de la actividad de las enzimas fenilalanina amonio liasa (PAL) y 4-cumaril-CoA ligasa (4-

CL) en células de pino inducidas a lignificarse. La PAL canaliza los esqueletos carbonados hacia el metabolismo fenilpropanoide y la 4-CL cataliza la activación de los ácidos hidroxicinámicos, por esterificación con la coenzima A.

Por otra parte, se ha observado que los frutos de *Garcinia mangostana* (mangosteen) manifestaron un aumento en el contenido de lignina en el pericarpio dañado por impacto (Ketsa y Atantee, 1998).

Asimismo se observó un incremento de la incorporación de fenilalanina marcada a la lignina, durante la cicatrización de heridas en tubérculos de papa sometidos a radiación gamma (Ramamurthy et al., 2000).

El presente Capítulo trata sobre la incidencia de la temperatura de conservación en las propiedades texturales de apio mínimamente procesado y la evolución del contenido de lignina de los tejidos durante el almacenamiento refrigerado.

II.2. MATERIALES Y METODOS

II.2.1. Material vegetal

Corresponde al descrito en la Sección I.2.1 del Capítulo I.

II.2.2. Procesamiento

El sistema de procesamiento empleado ha sido detallado en la Sección I.2.2 del Capítulo I.

II.2.3. Almacenamiento

Las bandejas conteniendo los trozos de apio fueron colocadas en cámaras refrigeradas a 0 ó 10°C, con una humedad relativa del 85%, por un período máximo de 27 días. Las muestras fueron tomadas a intervalos regulares, a los 0, 7, 14, 21 y 27 días de almacenamiento.

II.2.4. Determinaciones

Se evaluó la variación de textura de los trozos de apio, se obtuvieron los sólidos insolubles en alcohol (AIR) y se cuantificó el contenido de lignina.

Asimismo se realizaron pruebas histoquímicas a fin de determinar si existió deposición de esta sustancia en los sectores de corte.

II.2.4.1. Textura

II.2.4.1.1. Ensayos de Corte

a) Cortes transversales

Se utilizó un Instron Model 1011 Electromechanical Testing System, operando en el modo *tensión* y equipado con una cuchilla Warner-Bratzler. La

celda de carga utilizada fue de 500 N y la velocidad de desplazamiento de la cuchilla 10 mm min^{-1} .

Para cada combinación de tiempo y temperatura, se midió la fuerza máxima requerida para producir el corte transversal sobre 20 trozos de apio diferentes.

Los resultados fueron expresados como la fuerza máxima aplicada antes de la ruptura (Fuerza Máxima de Corte, FMC), en Newtons [N].

b) Cortes longitudinales

También se evaluaron los cambios en la textura del tejido parenquimático en pecíolos pre-cortados almacenados a 0 y 10°C , empleando el dispositivo Warner-Bratzler, tal como se indicó anteriormente. La diferencia en este caso residió en que los trozos fueron cortados longitudinalmente, entre las costillas de colénquima y paralelamente a las fibras.

Los valores fueron registrados en el punto inicial y luego de 14 días de almacenamiento a 0 y 10°C . Los resultados fueron expresados como FMC [N].

II.2.4.1.2. Ensayos de Compresión

Las determinaciones se efectuaron con un TA-XT2i Texture Analyser, equipado con un programa computacional para análisis de textura (Texture Expert).

Se empleó un plato de compresión de 75 mm de diámetro. La velocidad de desplazamiento del dispositivo durante el ensayo y posteriormente al mismo fue de $0,5 \text{ mm s}^{-1}$.

Los trozos de pecíolos fueron ubicados sobre su lateral y comprimidos luego hasta un 20% de su ancho, de modo tal que se incrementara la concavidad

de la superficie adaxial. Se midió la fuerza requerida para obtener el 20% de deformación a partir de las curvas fuerza-desplazamiento.

Las mediciones se efectuaron sobre 20 trozos diferentes de apio para cada combinación de tiempo y temperatura y sobre muestras almacenadas durante 0, 7 y 14 días a 0 ó 10°C. Los resultados finales fueron expresados como Fuerza Máxima medida en Compresión, en Newtons [N].

II.2.4.2. Contenido de Sólidos Insolubles en Alcohol (AIR)

Se tomaron para su análisis las muestras procedentes de un total de tres bandejas para cada combinación de tiempo y temperatura. Luego de homogeneizadas, una fracción de las mismas fue congelada en N₂ líquido y triturada en un molinillo Janke & Kunkel Ika Labortechnik A10.

Dos porciones de tejido exactamente pesadas (5 g cada una) se extrajeron separadamente con alcohol etílico 96° a 50°C, permaneciendo en contacto con agitación ocasional, durante dos horas. Se procedió a centrifugar y lavar los residuos, que fueron recuperados, secados en estufa a 40°C hasta peso constante y cuantificados gravimétricamente ($\pm 0,0001$ g). Los datos se expresaron como porcentaje en relación al peso fresco del material.

II.2.4.3. Contenido de lignina

El mismo se determinó de acuerdo al método descrito por Bruce y West (1989), efectuando una derivatización con ácido tioglicólico (Ketsa y Atantee, 1998), a partir de los sólidos insolubles en alcohol (AIR) provenientes de la extracción con etanol.

Cuatro muestras exactamente pesadas (80 mg cada una) de AIR se trataron con 5 mL de HCl 2N y 0,5 mL de ácido tioglicólico. Las mezclas fueron calentadas a 100°C con agitación constante durante 4 horas. Luego de enfriar, los extractos fueron centrifugados a 11.000g, durante 30 minutos a temperatura ambiente. Los

sobrenadantes fueron descartados y los residuos fueron lavados con 5 mL de agua destilada.

Seguidamente, los mismos fueron resuspendidos en 5 mL de NaOH 0,5N en erlenmeyers de 10 mL de capacidad, sellados con parafilm y agitados permanentemente durante 24 horas en un baño termostático a 25°C, a fin de extraer la lignina-tioglicolato.

Las muestras fueron centrifugadas (11.000g, 15 min) y se recuperaron los sobrenadantes. Estos fueron tratados con 1mL de HCl concentrado a fin de reprecipitar el complejo lignina-tioglicolato, permaneciendo durante al menos 4 horas a 4°C. Transcurrido ese tiempo se procedió a centrifugar (11.000g, 15 min) y los residuos fueron redisueltos en 20 mL de NaOH 0,5N.

Se determinó la absorbancia a 280 nm de las soluciones obtenidas. Los resultados finales se expresaron como unidades de absorbancia (UA) a 280 nm g⁻¹ de AIR.

II.2.4.4. Pruebas histoquímicas

Se efectuó la prueba de floroglucina-HCl (Jensen, 1962). Para ello se realizaron cortes a mano alzada del material fresco y almacenado. Los mismos fueron colocados en portaobjetos, tratados con solución de floroglucina preparada al 1% p/v en alcohol 96°. Luego de flamear suavemente se agregó una gota de solución de HCl 25% p/v. Las paredes lignificadas se colorearon temporalmente de rojo violáceo. Los cortes fueron observados en una lupa binocular.

II.2.5. Diseño experimental y análisis de resultados

Las experiencias fueron realizadas según un diseño factorial, con dos factores: tiempo (5 niveles) y temperatura de almacenamiento (2 niveles).

Los datos fueron sometidos al análisis de varianza (ANOVA) correspondiente. La comparación de las medias se efectuó con el test de la Diferencia Mínima Significativa (LSD) utilizando un grado de significación $p = 0,05$.

II.3. RESULTADOS Y DISCUSION

II.3.1. Textura

II.3.1.1. Ensayos de corte

a) Cortes transversales

La Figura II.3.1 muestra una curva típica obtenida en los ensayos empleando el dispositivo Warner-Bratzler, para producir el corte transversal de los pecíolos de apio.

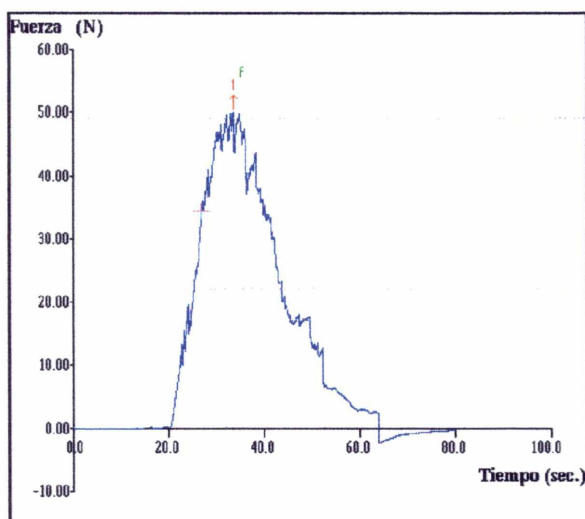


Figura II.3.1. Curva típica obtenida en las determinaciones de textura (cortes transversales) en pecíolos de apio, utilizando un TA-XT2i Texture Analyser equipado con una cuchilla Warner-Bratzler.

En ella podemos observar que no se produjo una gran deformación de la sección transversal de la muestra antes y durante el corte, a diferencia del comportamiento típico observado en otros productos, como por ejemplo en

carnes. Cuando dicha muestra contactó los bordes inferiores de la ranura, la fuerza aumentó muy pronunciadamente y prácticamente en forma lineal.

Consideramos que en apio se aplica un esfuerzo de corte durante la prueba, principalmente a nivel de las fibras (comprendiendo en ellas a los haces vasculares y las costillas de colénquima). En este tipo de ensayos, las mismas se orientaron perpendicularmente a la cuchilla, de modo tal que se midió la fuerza necesaria para cortar a través de dichos tejidos.

La Figura II.3.2 muestra la Fuerza Máxima de Corte (FMC) requerida para cortar transversalmente los trozos de apio, en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento.

El valor inicial de FMC correspondió a 40,5 N. Para las muestras almacenadas a 0°C se verificó un incremento durante las dos primeras semanas hasta alcanzar un máximo en el día 14, donde el aumento hallado representó el 18% con respecto al inicio. La disminución observada a partir de ese punto no fue significativa.

A 10°C el máximo valor de fuerza fue registrado anticipadamente con relación a 0°C, ya que correspondió a los 7 días de almacenamiento. El mismo fue de 47 N, es decir que tuvo la misma magnitud que el medido a 0°C y representó un incremento del 16% con respecto a la FMC inicial.

Comparando los valores de FMC registrados para ambas temperaturas de conservación, se observa que no existieron diferencias significativas para los datos correspondientes a un mismo período de permanencia en cámara.

Everson et al. (1992) hallaron que la fuerza requerida para cortar transversalmente turiones de espárrago envasados bajo distintas atmósferas modificadas se incrementó significativamente, luego de permanecer el producto durante 24 horas a 8°C + 48 horas a 20°C. Los incrementos registrados por los

autores variaron entre un 13% y un 46%, dependiendo de la película de envasado utilizada.

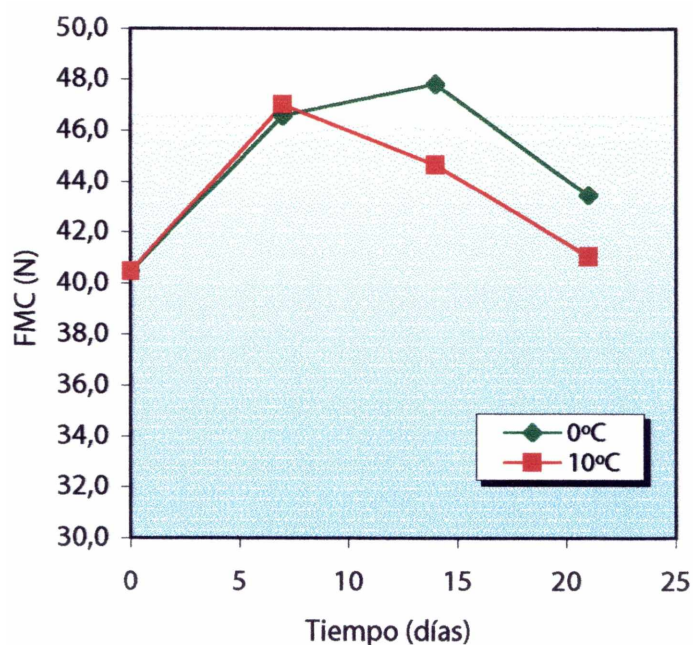


Figura II.3.2. Variaciones de la textura (Fuerza Máxima de Corte, FMC) en pecíolos de apio mínimamente procesado almacenados durante 21 días a 0 y 10°C ($LSD_{0,05} = 4,5$).

Los resultados obtenidos en nuestras experiencias con apio trozado indicarían que podría haber un incremento en el grado de lignificación de las fibras y/o vasos leñosos que conforman los haces vasculares. Este fenómeno causaría la mayor firmeza manifestada como un incremento inicial de la fuerza necesaria para cortar transversalmente los trozos, tanto a 0 como a 10°C.

Luego de 14 días a 0°C y 7 días a 10°C, la fuerza requerida para cortar los trozos presentó tendencia a disminuir, debido probablemente a efectos de ablandamiento tales como los ocasionados por la degradación de las pectinas. A

10°C otro efecto concurrente puede haberse adicionado: la desorganización de los tejidos medulares (ahuecado).

b) Cortes longitudinales

En cuanto a las determinaciones de textura en el tejido parenquimático de los pecíolos de apio, el valor inicial de FMC fue 18,2 N, apreciablemente inferior al correspondiente a los cortes transversales. Ello pone en evidencia la mayor resistencia de los haces vasculares y costillas de colénquima al corte y su consecuente incidencia en la textura de los trozos. Los registros de FMC no variaron significativamente durante el almacenamiento a 0 y 10°C por un lapso de 14 días (datos no mostrados).

II.3.1.2. Ensayos de compresión

La incidencia de la pérdida de turgencia de los trozos sobre la textura fue evaluada mediante este tipo de ensayos. En la Figura II.3.3 se muestra una curva típica *Fuerza-Tiempo* obtenida en las determinaciones realizadas sobre pecíolos de apio.

La fuerza requerida para comprimir los trozos un 20% de su ancho fue 136,6 N al inicio del almacenamiento (Tabla II.3.1).

A 0°C la fuerza máxima medida en compresión no varió significativamente, mientras que a 10°C la misma disminuyó un 32% y un 49% a los 7 y 14 días, respectivamente.

La disminución de la turgencia a 10°C se puso de manifiesto con la caída de la fuerza requerida para comprimir transversalmente los trozos de apio. Este fenómeno pudo también apreciarse durante la inspección de las muestras almacenadas a dicha temperatura, como una pérdida de la calidad de crujiente. Los trozos resultaron más fácilmente deformables, pero a la vez elásticos, con una consistencia más gomosa.

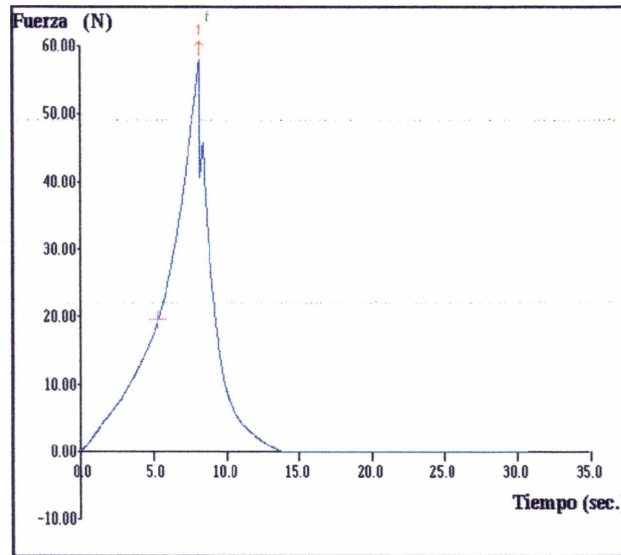


Figura II.3.3. Curva típica obtenida en las determinaciones de textura (ensayos de compresión) en pecíolos de apio, utilizando un TA-XT2i Texture Analyser equipado con un plato de compresión.

Tabla II.3.1. Fuerza Máxima medida en Compresión (N) para trozos de apio almacenados durante 14 días a 0 ó 10°C (LSD_{0,05} = 18,4)

Tiempo (días)	Fuerza Máxima (N)	
	0°C	10°C
0	136,6 N	136,6 N
7	127,1 N	92,9 N
14	130,8 N	69,7 N

II.3.2. Sólidos insolubles en alcohol (AIR)

No se observaron diferencias significativas atribuidas a la temperatura o el tiempo de almacenamiento, en el contenido de AIR de las muestras ensayadas. Los

valores hallados se encontraron comprendidos entre 1,5 y 2% referidos al peso total del producto (datos no mostrados).

II.3.3. Contenido de lignina

Los datos obtenidos con relación a este punto han sido representados en la Figura II.3.4.

A 0°C se observa que el contenido de lignina no varió durante los primeros 7 días de almacenamiento y que se incrementó considerablemente ($p < 0,05$) hacia los días 14 y 27. El valor hallado en el final del almacenamiento resultó 1,6 veces superior al inicial.

A 10°C la concentración de lignina aumentó prácticamente durante todo el período considerado. Al final del almacenamiento a 10°C dicho contenido fue 1,7 veces superior al inicial, incremento similar al observado a 0°C.

Comparando ambas temperaturas de conservación, prácticamente todos los valores de Absorbancia g^{-1} de AIR correspondientes a un mismo período de almacenamiento fueron equivalentes entre sí, con excepción de los hallados a los 7 días, donde los valores medidos a 10°C resultaron superiores a los correspondientes a 0°C.

Comparando estos resultados con los correspondientes a textura, puede observarse que, bajo las condiciones ensayadas, el aumento del contenido de lignina estaría relacionado con los incrementos de textura observados durante los primeros días de almacenamiento a 0 y 10°C (cortes transversales). Sin embargo, la concentración de lignina continuó aumentando en los días subsiguientes, mientras que la textura mostró tendencia a disminuir, lo que indicaría un mayor predominio de los procesos de degradación de la pared celular cuando el almacenamiento se prolonga por más de dos semanas.

El mayor contenido de lignina podría ser la causa del incremento en la fibrosidad del tejido si esta sustancia se depositara a nivel de los tejidos vasculares y/o de sostén o puede deberse posiblemente a un mecanismo de defensa estimulado por el daño mecánico ocasionado durante el procesamiento de apio.

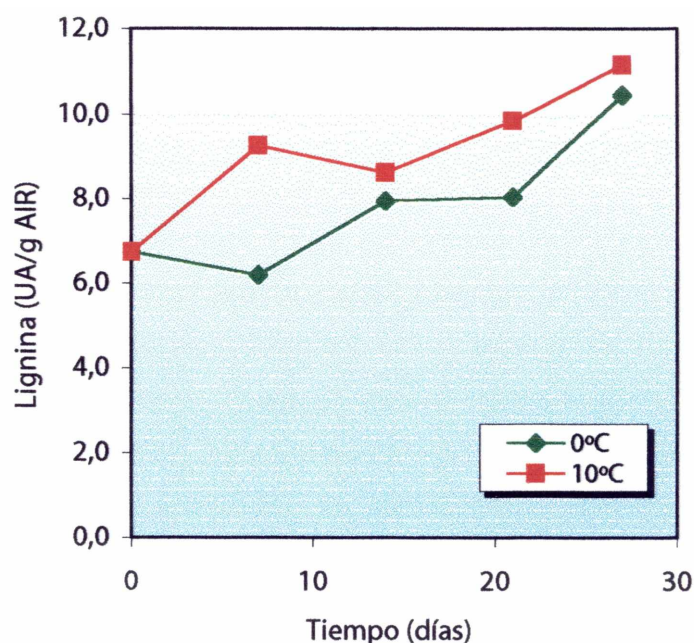


Figura II.3.4. Variaciones en el contenido de lignina, Unidades de Absorbancia (UA) g^{-1} de AIR, en apio mínimamente procesado, en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento ($LSD_{0.05}=1,3$). (AIR: Sólidos insolubles en alcohol).

Como ya se anticipó (Sección II.1.2 del presente Capítulo), las propiedades y la composición de la pared celular están relacionadas con el tipo de tejido y el estado de desarrollo de los órganos vegetales. Los cambios en la textura y las propiedades de las fracciones fibrosas se vinculan con las modificaciones en la composición y estructura de la matriz, a nivel de la pared celular (Femenia et al., 1999). La lignina actúa como sustancia de incrustación en dicha matriz.

Durante la maduración de las hortalizas se produce un crecimiento y engrosamiento continuado de las paredes celulares de muchos tejidos, que puede involucrar eventualmente la lignificación y formación de paredes secundarias de las estructuras vasculares y de sostén. Ello ocasiona la mayoría de los cambios relacionados con el endurecimiento de ciertas hortalizas, principalmente las constituidas por tallos y raíces (Northcote, 1979).

Estudios detallados sobre las modificaciones en las paredes celulares de tallos de espárrago durante la maduración y el almacenamiento, han sugerido que los estadios iniciales de la lignificación coinciden con la deposición de complejos xilanos-polisacáridos pécticos (Waldron y Selvendran, 1992). Sin embargo es limitada la información disponible sobre los cambios ocurridos en tejidos equivalentes de plantas Dicotiledóneas.

Femenia et al. (1992) analizaron las variaciones composicionales y estructurales de las paredes celulares de coliflor, durante el desarrollo y maduración de las plantas. Estos autores hallaron un incremento de lignina relacionado a la maduración, que fue debido al desarrollo de un anillo subepidérmico de la estela vascular. Las células de la estela perteneciente a tejidos maduros (tallos inferiores) sufrieron un considerable engrosamiento secundario y se colorearon de rojo en floroglucinol-HCl, indicando lignificación extensiva. Las células del interior o médula parenquimática no se encontraban lignificadas.

II.3.4. Pruebas histoquímicas

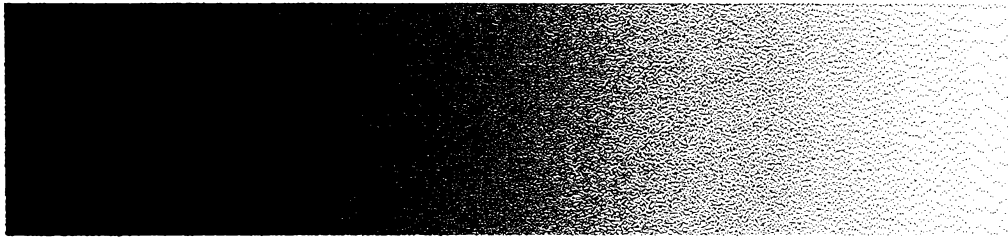
La producción en vegetales de materiales del tipo de la lignina como respuesta al daño o enfermedades ha sido extensivamente estudiada. Generalmente se la ha asociado con la resistencia a hongos y bacterias patógenas (Stange Jr. et al., 2001).

En nuestro trabajo, los ensayos de coloración realizados sobre las superficies de corte expuestas en pecíolos de apio mostraron que no existió deposición de lignina a modo de proceso directo de cicatrización de las heridas ocasionadas. Tampoco se observó lignificación de células en tejidos diferentes a los de conducción y sostén.

Por lo tanto, el aumento en los niveles de lignina no correspondería a un mecanismo localizado de cicatrización de las heridas efectuadas durante el corte. Se trataría más bien de un proceso similar el verificado en órganos y tejidos de coliflor con diferente grado de maduración (Femenia et al., 1999), según lo descrito en la Sección II.3.3.

II.4. CONCLUSIONES

- ✓ Los haces vasculares y las costillas de colénquima que actúan respectivamente como tejidos de conducción y sostén en pecíolos de apio, contribuyen notoriamente a las propiedades texturales del producto.
- ✓ La textura de apio mínimamente procesado, evaluada mediante la fuerza necesaria para producir el corte transversal de los trozos, se incrementó en proporción similar durante los primeros días de almacenamiento a 0 y 10°C. Sin embargo se observó que el valor máximo se produjo con una semana de anticipación (día 7) cuando las muestras fueron conservadas a 10°C, mientras que a 0°C el mismo fue registrado en el día 14.
- ✓ A 10°C se observó pérdida de la calidad de crujiente del producto, a partir de la inspección informal de las muestras. Ello fue corroborado por la disminución de la fuerza necesaria para producir la deformación transversal de los trozos de apio (compresión) al cabo de 7 y 14 días a dicha temperatura.
- ✓ En ambas temperaturas de conservación se produjeron incrementos en el contenido de lignina, aunque las pruebas histoquímicas no mostraron evidencia de la deposición de esta sustancia sobre las superficies de corte.



CAPITULO III

**INCIDENCIA DE LA TEMPERATURA
SOBRE LOS MECANISMOS DE
DEFENSA.
COMPUESTOS FENOLICOS**

III.1. INTRODUCCION

III.1.1. El rol de los compuestos fenólicos en los mecanismos de defensa vegetales

Los llamados metabolitos secundarios o "productos naturales" comprenden una amplia y diversa gama de compuestos orgánicos sintetizados por las plantas, que en su gran mayoría no aparecen participando directamente en los procesos de crecimiento y desarrollo (Croteau et al., 2000).

Se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos restringidos dentro del Reino Vegetal. Sus funciones se vinculan a las interacciones ecológicas y por ello guardan significancia adaptativa, como por ejemplo en la protección contra el consumo por los animales herbívoros y las infecciones microbianas, en la atracción de polinizadores y/o especies animales que dispersan las semillas, como agentes alelopáticos, etc. (Croteau et al., 2000).

Desde el punto de vista de su aprovechamiento y englobando a los diferentes grupos, presentan gran utilidad como colorantes, polímeros, fibras, adhesivos, aceites, ceras, agentes saborizantes, perfumes, drogas farmacológicas, biocidas, entre otros usos.

Los principales grupos comprenden a los *alcaloides* (alrededor de 12.000 principios activos distintos, originados principalmente a partir de aminoácidos), a los *terpenoides* (aproximadamente 25.000 compuestos secundarios derivados del isopentenilpirofosfato) y a los *fenilpropanoides* y *fenoles relacionados*, de los cuales se conocen alrededor de 8.000 compuestos cuyo origen común es la vía del ácido siquímico y la vía malonato–acetato (Croteau et al., 2000).

Aunque gran proporción de los compuestos fenólicos desempeñan roles estructurales en la pared celular (por ejemplo, las ligninas), un grupo amplio son constituyentes no estructurales, cumpliendo funciones de defensa en vegetales,

determinando el color de las flores o contribuyendo sustancialmente a los sabores y olores específicos de ciertas plantas.

Los compuestos fenólicos se caracterizan generalmente como metabolitos que poseen uno o más grupos hidroxilo ácidos unidos a un anillo aromático (grupo fenilo). Son reconocidos por su profundo impacto sobre el crecimiento vegetal, el desarrollo, la reproducción y defensa (Croteau et al., 2000).

La mayoría de las sustancias fenólicas vegetales, aunque no todas, derivan de las *rutas fenilpropanoide* y *fenilpropanoide-acetato*. Entre las más representativas agrupamos a:

- *Lignina*, que fue oportunamente tratada en la Sección II.1.5 del Capítulo II.
- *Lignanós*, compuestos estrechamente relacionados a la lignina y que pueden actuar como defensa contra patógenos o como antioxidantes en flores, semillas, tallos, cortezas, hojas y raíces.
- *Suberina*, sustancia compleja que provee una barrera protectora en ciertos tejidos, limitando la desecación y el ataque microbiano.
- *Cumarinas*, *fulanocumarinas* y *estilbenos*, compuestos que, entre otras funciones, protegen a las plantas que los sintetizan contra bacterias y hongos patógenos, constituyen disuasorios alimentarios e inhiben la germinación de ciertas semillas.
- *Flavonoides*. Estos abarcan a su vez a las *antocianinas*, *flavonas* y *flavonoles*, *isoflavonoides*, *proantocianidinas* y *chalconas* y *auronas*. Además de su participación en la pigmentación de órganos vegetales, varios de los flavonoides mencionados pueden actuar como antialimentarios (proantocianidinas), compuestos de defensa o moléculas-señal (isoflavonoides) (Croteau et al., 2000).

Entre los constituyentes generados en rutas metabólicas alternativas, figuran los *taninos hidrolizables* (copolímeros de carbohidratos y de los ácidos gálico y elágico, derivados del siquimato), que también desempeñan funciones defensivas. Asimismo los *taninos condensados*, denominados proantocianidinas, son sintetizados en la vía fenilpropanoide-acetato (Croteau et al., 2000).

Los compuestos fenilpropanoides, como surge de lo expuesto hasta aquí, abarcan un amplio rango de clases estructurales y funciones biológicas. Limitar la discusión a los fenilpropanoides vinculados al estrés sólo elimina pocos representantes del grupo, ya que muchos de ellos son componentes estructurales en determinadas especies o tejidos pero pueden ser inducidos por diversas condiciones de estrés en otras especies u otros tejidos de la misma planta (Dixon y Paiva, 1995).

Durante el procesamiento mínimo las frutas y hortalizas son sometidas a una serie de operaciones en las que las estructuras y tejidos de protección son generalmente dañados o removidos. Mediante el corte se reduce el tamaño de los diversos órganos a fin de obtener productos listos para usar, que serán convenientemente envasados en porciones pequeñas.

Durante el manipuleo, corte, lavado y escurrido del producto se produce un importante daño mecánico, acompañado por un estrés oxidativo. La desinfección por inmersión en agua clorada continúa siendo un método difundido por su simplicidad y bajo costo. Sin embargo constituye un factor adicional de daño debido a la reactividad del ácido hipocloroso (HOCl) (Wei et al., 1985).

Los factores mencionados desencadenan en las plantas una serie de respuestas vinculadas al metabolismo fenilpropanoide. Incluyen, entre otras, a la oxidación de compuestos fenólicos preformados para producir quinonas, a la síntesis de fenoles monoméricos y a la producción de compuestos fenólicos poliméricos (Rhodes y Wooltorton, 1978). Algunas consecuencias apreciables de estos fenómenos son el pardeamiento enzimático y la lignificación. Tales factores

son causa de deterioro en productos mínimamente procesados. Asimismo resultaría afectada la capacidad antioxidante de este grupo de alimentos, factor importante en relación a la calidad nutricional.

III.1.2. Biosíntesis de fenilpropanoides inducidos por estrés

Todos los fenilpropanoides derivan del *ácido cinámico*, el cual se forma a partir de la fenilalanina por acción de la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL), punto de ramificación entre el metabolismo primario (ruta del siquimato) y secundario (ruta fenilpropanoide) (Dixon y Paiva, 1995).

Varios fenilpropanoides simples (con la estructura básica C6-C3 de la fenilalanina) se producen a partir del cinamato a través de una serie de reacciones de hidroxilación, metilación y deshidratación. Ellos incluyen a los ácidos *p*-cumárico, cafeico, ferúlico, sinápico y a las cumarinas simples. Estos ácidos libres raramente se acumulan en las células vegetales; en cambio, ellos se conjugan usualmente con azúcares (por ejemplo, conjugados salicilato-glucosa), carbohidratos de la pared celular (ésteres ferulato) o ácidos orgánicos (como el ácido clorogénico) (Dixon y Paiva, 1995).

Los ácidos salicílico, benzoico y *p*-hidroxibenzoico, aunque no son estrictamente fenilpropanoides ya que carecen de la cadena lateral de tres carbonos, se originan de los fenilpropanoides cinamato y *p*-cumarato (Dixon y Paiva, 1995).

Un gran número de fenilpropanoides vinculados al estrés derivan del esqueleto C15 de los flavonoides, el cual se sintetiza vía condensación de *p*-cumaril-coenzima A y tres moléculas de malonil-CoA, reacción catalizada por la enzima chalcona sintasa (CHS) (Huang, 2001).

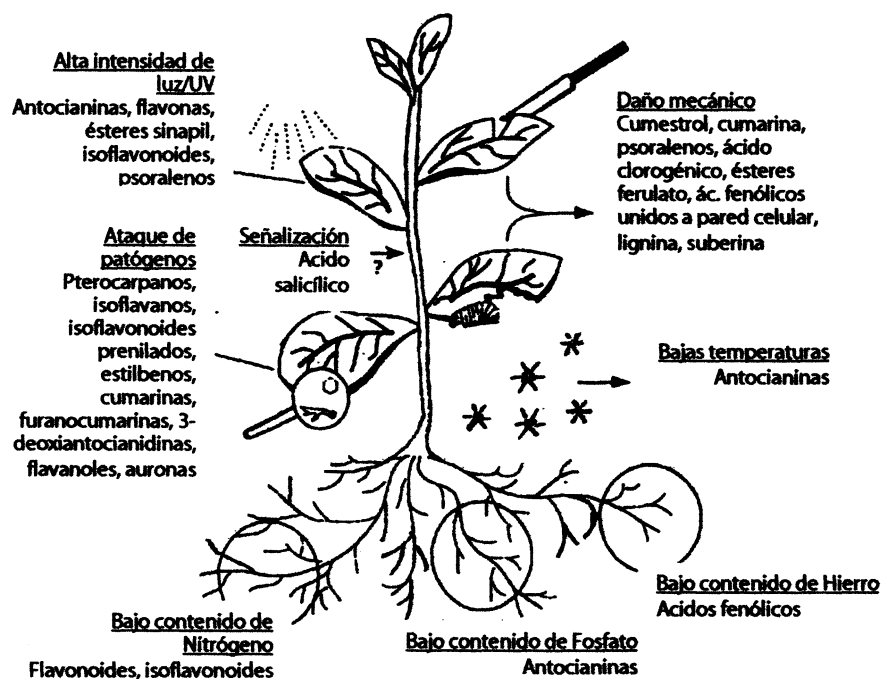


Figura III.1.1. Ejemplos de fenilpropanoides inducidos por diferentes tipos de estrés (Adaptado de Dixon y Paiva, 1995).

La Figura III.1.1 resume los tipos de compuestos fenilpropanoides inducidos en las plantas por diferentes condiciones de estrés biótico y abiótico.

Muchos de estos compuestos han sido clasificados como *fitoalexinas* (Dixon y Paiva, 1995). Las mismas son metabolitos secundarios antimicrobianos, de bajo peso molecular, sintetizados y acumulados en las plantas en respuesta al ataque de patógenos (Paxton, 1981). Las fitoalexinas fenilpropanoides incluyen a los pterocarpanos, isoflavanos, isoflavonoides prenilados, estilbenos, psoralenos, cumarinas, 3-deoxiantocianidinas, flavanoles (quercetina, kampferol) y auronas (Dixon y Paiva, 1995).

Muchos fenilpropanoides resultan también inducidos en respuesta a heridas o a la alimentación por parte de herbívoros.

A partir del ácido *p*-cumárico se origina ácido cafeico y éste se acopla con ácido quínico o tartárico para producir un número de fenilpropanoides hidrosolubles (Dixon y Paiva, 1995) que se muestran en la Figura III.1.2.

Algunas de esas sustancias, denominadas *derivados cafeoilquínicos* o *cafeoiltartáricos*, se encuentran en lechuga (Tomás-Barberán et al., 1997).

El ácido clorogénico (ácido 5-cafeoilquínico), los ésteres alquilferulato y los ésteres fenólicos ligados a pared celular, que resultan inducidos por daño, pueden actuar directamente como compuestos de defensa o servir como precursores para la síntesis de lignina, suberina y otras sustancias polifenólicas que actúan como barreras (Bernards y Lewis, 1992).

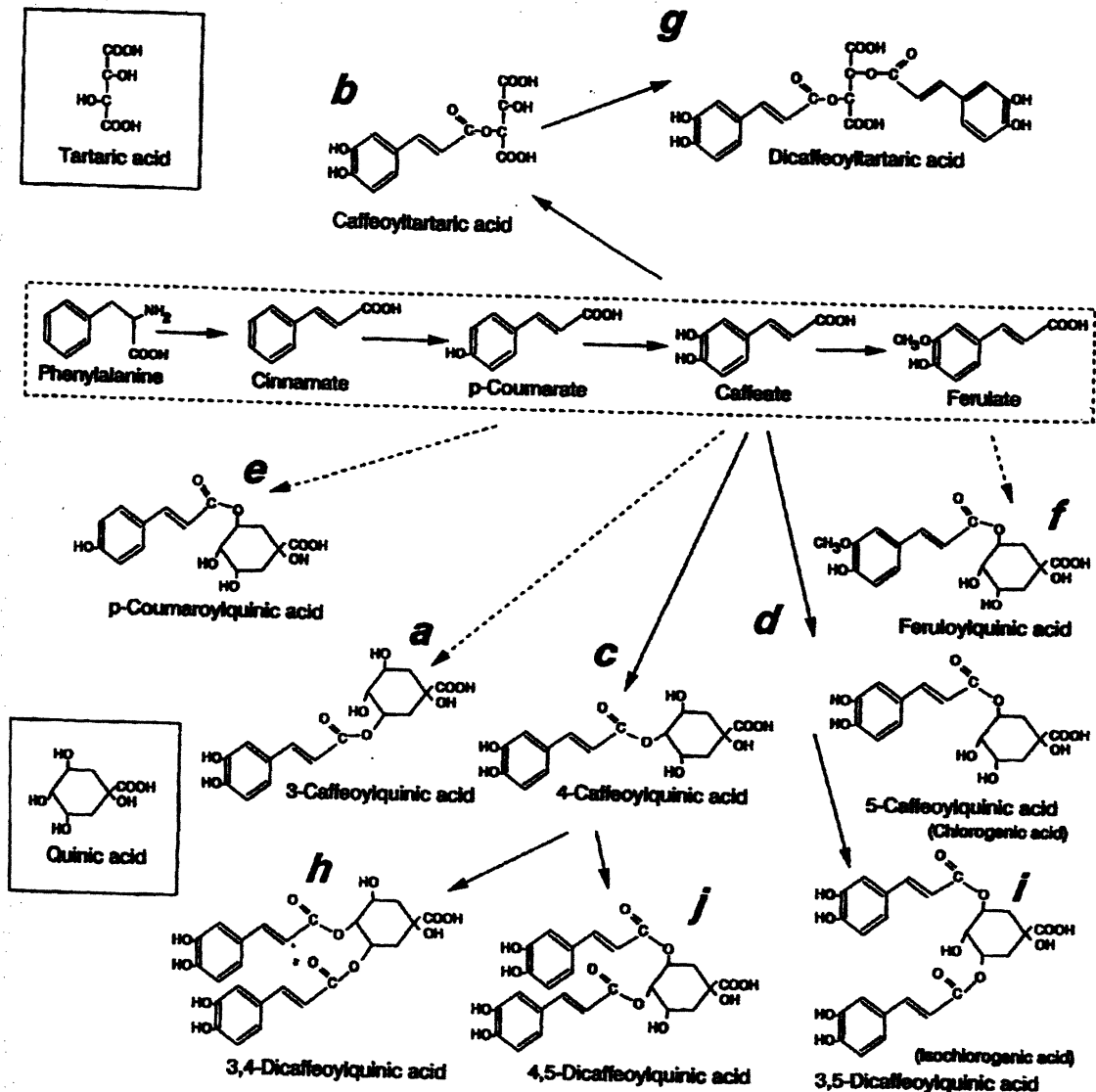


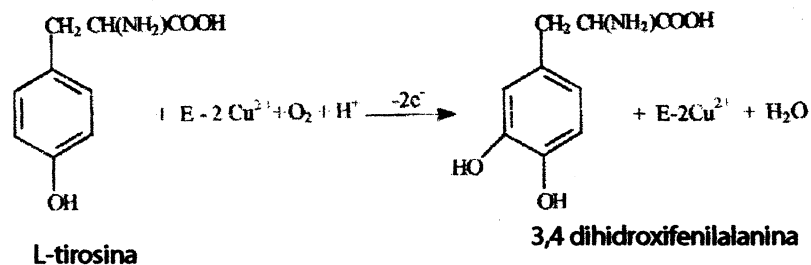
Figura III.1.2. Metabolismo fenilpropanoide en tejidos de nardadura de lechuga dañados y tratados con etileno. La ruta fenilpropanoide básica que va desde la fenilalanina al ferulato se muestra en el recuadro central. Los compuestos derivados conteniendo ácido tartárico figuran arriba del recuadro, mientras que los derivados del ácido quínico aparecen debajo del mismo (Tomás-Barberán et al., 1997).

III.1.3. El fenómeno de pardeamiento enzimático

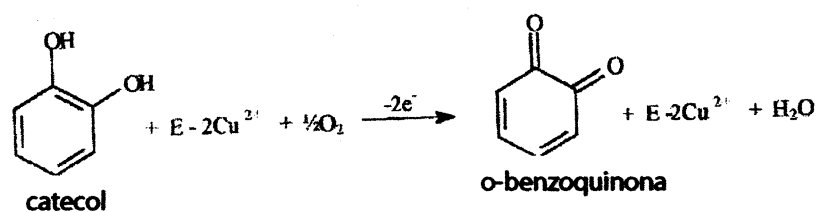
El pardeamiento de los tejidos vegetales dañados ha sido atribuido fundamentalmente a la oxidación de compuestos fenólicos catalizada por enzimas (Eskin, 1990).

Las enzimas involucradas en este proceso son la monofenol monooxigenasa (EC1.14.18.1), conocida como tirosinasa; la difenoloxidasas (EC1.10.3.2), llamada catecol oxidasas o más comúnmente polifenoloxidasas (PPO) y la lacasa (Godfrey, 1997). La PPO está ampliamente distribuida en plantas superiores y cataliza dos tipos de reacciones:

a) actividad cresolasa: conversión de monofenoles a o-difenoles. Ejemplo:



b) actividad catecolasa: conversión de o-difenoles a quinonas. Ejemplo:



Las o-quinonas son transformadas a hidroxiquinonas, que luego polimerizan y son progresivamente convertidas en pigmentos coloreados, oscuros, referidos como *melanoides* (Godfrey, 1997).

La injuria mecánica incrementa la susceptibilidad al pardeamiento, ya sea a través de la síntesis de compuestos fenólicos o del incremento en la actividad y/o solubilidad de la PPO (Weller et al., 1997). Asimismo, cuando las células son dañadas la enzima toma contacto con sus sustratos, debido a la pérdida de la compartimentalización celular.

La formación de pigmentos insolubles, bajo estas circunstancias, podría representar un mecanismo protector que las plantas han desarrollado para prevenir el daño posterior ocasionado por virus, bacterias u hongos (Godfrey, 1997).

III.1.4. Los compuestos flavonoides

Los flavonoides constituyen un grupo muy importante del cual se conocen más de 4.500 representantes diferentes. Se encuentran en la mayoría de los tejidos vegetales y pueden presentarse como monómeros, dímeros u oligómeros (Croteau et al., 2000).

Muchas interacciones entre plantas y animales están influenciadas por los flavonoides. Los colores de muchas flores y frutos, que constituyen un mecanismo de atracción de polinizadores y dispersores de semillas, son producto de las antocianinas presentes en vacuolas. Flavonoides relacionados, tales como flavonas, flavonoles, chalconas y auronas, contribuyen también a la definición del color (Croteau et al., 2000).

Se sabe también que ciertos compuestos específicos dentro de este grupo protegen a las plantas contra la radiación UV-B (por ejemplo, el kampferol), actúan como atrayentes alimentarios de insectos (isoquercetina en morera) y algunos,

como ser las proantocianidinas, son responsables de la astringencia de ciertos tejidos vegetales (Croteau et al., 2000).

Se conoce que la apigenina y luteolina sirven como moléculas-señal en la interacción *Rhizobium*-Leguminosas, facilitando la fijación del nitrógeno atmosférico. Los isoflavonoides están involucrados en ciertos mecanismos de defensa inducibles (por ejemplo, la medicarpina en alfalfa) (Croteau et al., 2000).

Varios flavonoides han sido estudiados extensivamente desde la perspectiva de su utilidad farmacológica. Han sido analizados como moduladores de las respuestas inmune e inflamatoria, por su impacto sobre la función de la musculatura lisa, como agentes anticancerígenos, antivirales, antitóxicos y hepatoprotectores. Hay actualmente un considerable interés en el uso de isoflavonoides (por ejemplo, daidzeína y genisteína) en la prevención del cáncer (Croteau et al., 2000). Los flavonoides en su conjunto son cada vez más reconocidos por sus roles potenciales en la salud, incluyendo su actividad antioxidante, pero no limitándose sólo a ella (Peterson y Dwyer, 1998).

Dentro de los Flavonoides, las clases principales abarcan a las *flavanonas*, *flavonas*, *flavonoles*, *isoflavonoides*, *antocianinas* y *flavanos*. Las diferencias entre ellas residen en las características estructurales y en los grupos unidos al anillo heterocíclico que contiene oxígeno (Peterson y Dwyer, 1998). Las estructuras químicas correspondientes se muestran en la Figura III.1.3.

Las flavonas en particular no son frecuentes en frutos, pero sí en granos e hierbas. Las más comunes son apigenina y luteolina (Figura III.1.4).

La apigenina y sus glicósidos aparecen asiduamente en granos de cereales, algunas hierbas y hortalizas. Lo mismo ocurre con la luteolina (Peterson y Dwyer, 1998).

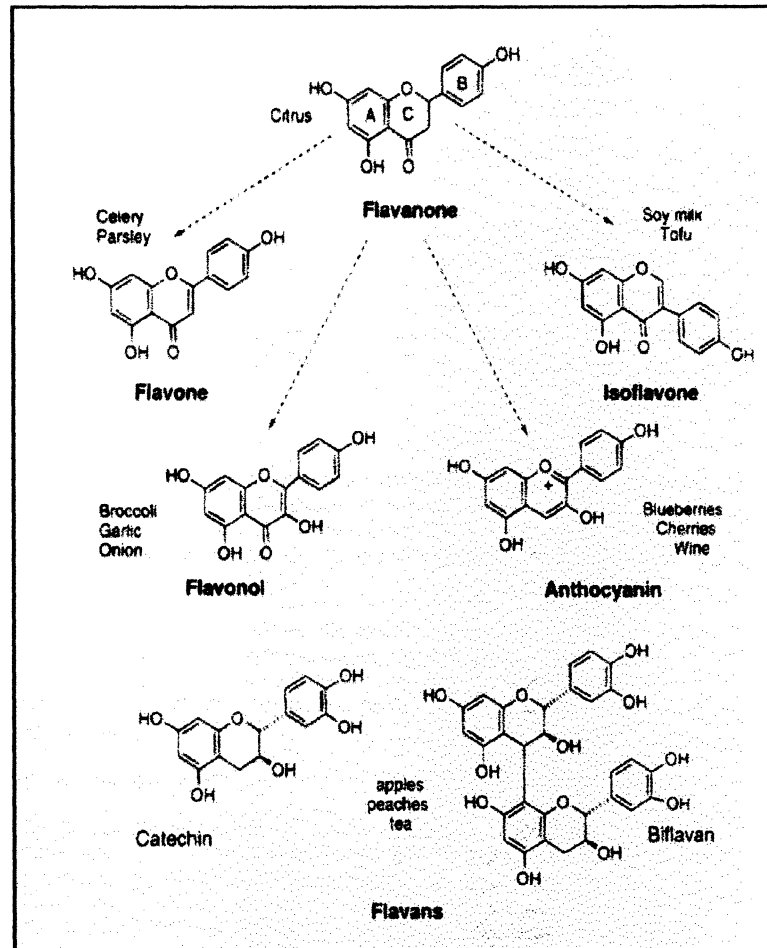


Figura III.1.3. Estructuras químicas de los Flavonoides. La estructura propanoide consiste en dos anillos fusionados. El anillo "A" es aromático, el "C" es un heterociclo conteniendo oxígeno y está unido mediante un enlace Carbono-Carbono al tercer anillo "B". Las flechas indican simplifcadamente la ruta biosintética (Adaptado de Peterson y Dwyer, 1998).

El perejil contiene apigenina y crisoeriol. Otras especies, tales como el romero y tomillo, también contienen flavonas (Peterson y Dwyer, 1998).

Estos compuestos pueden contribuir al color de los tejidos, si se encuentran en altas concentraciones o están formando complejos con iones metálicos.

Las flavonas participan también en el sabor. La nobiletina, sinensetina y tangeretina son compuestos amargos, altamente metoxilados, no glicosídicos, presentes en los cítricos (Peterson y Dwyer, 1998).

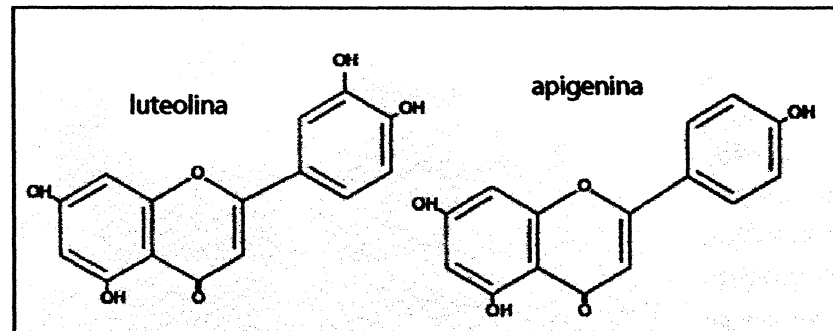


Figura III.1.4. Estructuras químicas correspondientes a las flavonas apigenina y luteolina, presentes en plantas de apio (Adaptado de Rice-Evans et al., 1996).

El presente Capítulo abarca el análisis de compuestos fenólicos durante el almacenamiento de apio mínimamente procesado, debido a su función en la respuesta al daño. Se estudió la evolución sufrida por los mismos durante períodos cortos posteriores al procesamiento, como así también durante lapsos prolongados de conservación refrigerada.

III.2. MATERIALES Y METODOS

III.2.1. Material vegetal

Corresponde al descrito en la Sección I.2.1 del Capítulo I.

III.2.2. Procesamiento

Se realizó tal como fue mencionado en la Sección I.2.2 del Capítulo I.

En algunas experiencias, destinadas a evaluar la incidencia del nivel de daño mecánico ejercido sobre el producto, se realizaron dos variantes en cuanto a la presentación del producto:

- a) Trozos de alrededor de 4 cm de largo, obtenidos mediante el corte habitual ya señalado (Sección I.2.2, Capítulo I).
- b) Trozos de 0,5 - 1 cm de espesor, a fin de provocar un mayor grado de estrés mecánico (muestras referidas como *Mayor Daño*).

III.2.3. Almacenamiento

En el análisis de los mecanismos de defensa desencadenados tras el procesamiento y durante la conservación de apio mínimamente procesado se siguieron dos esquemas de almacenamiento:

- a) Una vez obtenidas las bandejas se colocaron en cámaras refrigeradas a 0, 4 ó 10°C. Se tomaron muestras para efectuar las distintas determinaciones a los 0, 7, 14, 21 y 28 días de almacenamiento → referidos como *Ensayos Tiempos Prolongados*.
- b) Las bandejas conteniendo los trozos de pecíolos fueron colocadas a 0, 10 ó 20°C, durante un período máximo de un (1) día. Se tomaron muestras para su

análisis a las 0, 2, 4, 6 y 24 horas de permanencia a dichas temperaturas → referidos como *Ensayos Tiempos Cortos*.

Asimismo se muestreó parte de los pecíolos enteros y lavados, previo a ser cortados (muestras referidas como *Sin Cortar*).

El material correspondiente a *Mayor Daño* se almacenó durante 6 y 24 horas a 20°C.

III.2.4. Determinaciones

A efectos de analizar los mecanismos de defensa activados, se estudiaron diferentes compuestos fenólicos y procesos relacionados con los mismos.

Para las muestras correspondientes a los *Ensayos Tiempos Prolongados*, se midieron el potencial de pardeamiento, el nivel de fenoles totales y la concentración de ácido clorogénico, en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento.

En los *Ensayos Tiempos Cortos*, se analizó el contenido de fenoles totales y se identificaron y cuantificaron los flavonoides presentes en pecíolos de apio.

III.2.4.1. Potencial de pardeamiento

Se tomó para su análisis el material procedente de un total de tres bandejas para cada combinación de tiempo y temperatura. Luego de homogeneizado, una fracción del mismo fue congelada en N₂ líquido y triturada en un molinillo Janke & Kunkel Ika Labortechnik A10.

A partir de dos muestras de tejido congelado y triturado, exactamente pesadas (10 g cada una), se realizó la extracción con 20 mL de etanol 96° a temperatura ambiente durante dos horas, con agitación ocasional. Los extractos fueron centrifugados a 11.500g durante 30 minutos a 10°C. Se recuperaron los

sobrenadantes. Se completó a un volumen final de 25 mL en matraz aforado. Sobre una alícuota de los extractos obtenidos se midió la absorbancia a 320 nm.

Los resultados finales se expresaron como Unidades de Absorbancia (UA) a 320 nm g⁻¹ de tejido fresco.

III.2.4.2. Contenido de fenoles totales

Alícuotas (20 mL) de extractos obtenidos tal como se señaló en la Sección III.2.4.1, fueron concentradas en un evaporador rotatorio (30 mm de mercurio y 40°C), hasta sequedad. Los residuos fueron resuspendidos en agua bidestilada.

Se cuantificaron los fenoles totales mediante el método colorimétrico basado en el empleo del reactivo Folin-Ciocalteu (Swain y Hillis, 1959).

Se realizó una curva patrón en base a distintas concentraciones de catequina. Las lecturas de absorbancia se efectuaron a 760 nm y los resultados finales se expresaron como µg de catequina g⁻¹ de tejido fresco.

III.2.4.3. Concentración de ácido clorogénico

Alícuotas (20 mL) de extractos obtenidos tal como se señaló en la Sección III.2.4.1, fueron concentradas a presión reducida (30 mm de mercurio) y 40°C en un evaporador rotatorio, hasta sequedad. Los residuos fueron resuspendidos en metanol grado HPLC.

Las muestras fueron analizadas por cromatografía líquida de alta presión, según el método propuesto por Tomás-Barberán et al. (1997), con modificaciones. Se utilizó un cromatógrafo Waters, equipado con un detector UV - VIS. Se empleó una columna C₁₈ (5µm de diámetro de partículas, 4,6 mm de diámetro interno y 25 cm de longitud). El solvente de corrida fue una mezcla de agua : metanol : ácido fórmico en proporción 85:10:5. El caudal utilizado fue 1 mL min⁻¹. La detección se realizó a 320 nm.

Tanto para la identificación como para la cuantificación de ácido clorogénico se empleó una solución patrón de concentración igual a $0,87 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Los resultados se expresaron como μg de ácido clorogénico g^{-1} de tejido fresco.

III.2.4.4. Identificación y cuantificación de compuestos flavonoides

a) Determinación colorimétrica de flavonoides totales

Se efectuó por la técnica descrita por Kim et al. (2003), con modificaciones.

Se congeló en forma conjunta, con N_2 líquido, el material procedente de un total de tres bandejas para cada punto de muestreo. Se homogeneizó y una porción se trituró en un molinillo Janke & Kunkel Ika Labortechnik A10.

Se tomaron dos muestras exactamente pesadas de material homogeneizado, congelado y triturado (10 g cada una) y se realizó la extracción con 20 mL de etanol 96° a temperatura ambiente. Se centrifugó ($11500g$ durante 30 minutos), y los sobrenadantes se llevaron a volumen en matraz aforado.

Alícuotas (20 mL) de cada uno de los extractos obtenidos fueron concentradas en un rotavapor (30 mm de mercurio y 40°C) hasta sequedad. Los residuos fueron retomados con 1 mL de agua bidestilada.

Para preparar las mezclas de reacción se adicionaron a un tubo de ensayo 1500 μL de agua bidestilada y 500 μL de las muestras concentradas. Al tiempo 0 se agregaron 150 μL de NaNO_2 5% p/v; luego de 5 minutos, 150 μL de AlCl_3 10% p/v y finalmente, después de transcurridos 6 minutos más, se adicionaron 500 μL de NaOH 1M. Se mezcló agitando en un vortex y se midió la absorbancia a 510 nm de las soluciones.

Se realizó una curva patrón en base a distintas concentraciones de catequina. Los niveles de flavonoides totales en las muestras fueron expresados como μg de catequina g^{-1} de tejido fresco.

b) Identificación y cuantificación de flavonoides por HPLC

Extracción y condiciones de hidrólisis. Las muestras fueron obtenidas y homogeneizadas según lo descrito en el apartado a) de la presente Sección.

Para la extracción e hidrólisis se siguieron los procedimientos señalados por Crozier et al (1997), con modificaciones.

Se tomaron dos muestras exactamente pesadas de material homogeneizado, congelado y triturado (5 g cada una). Se agregaron 15 mL de metanol 80% v/v, 1 mL de solución de dietilditiocarbamato de sodio 0,5M como antioxidante y 5mL de HCl 10M. Se calentó a reflujo a 90°C durante 4 horas. Se dejó enfriar los extractos, se centrifugó (11.500g, 30 minutos, 10°C), se recogió el sobrenadante y se midió el volumen final. Los extractos fueron guardados a -20°C hasta el momento de realizar las corridas cromatográficas.

Identificación y cuantificación. Las muestras fueron analizadas empleando un HPLC Waters equipado con un detector UV-VIS. Las separaciones en fase reversa fueron conducidas en una columna C_{18} (5 μm de diámetro de partículas, 4,6 mm de diámetro interno y 25 cm de longitud).

La fase móvil fue una mezcla de acetonitrilo : agua en proporción 27 : 73, ajustando el pH a 2,5 con ácido trifluoroacético. El caudal fue 1,5 mL min^{-1} y las fracciones fueron detectadas a 365 nm.

Se emplearon soluciones patrón de apigenina y luteolina en metanol 80% v/v, con concentraciones de 11,3 y 6,7 $\mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente, preparadas de forma idéntica que en la hidrólisis de las muestras.

Los resultados finales se expresaron como $\mu\text{g g}^{-1}$ de tejido fresco.

III.2.5. Diseño experimental y análisis de resultados

En los *Ensayos Tiempos Prolongados* las experiencias fueron realizadas según un diseño factorial, con dos factores: tiempo (5 niveles) y temperatura de almacenamiento (3 niveles).

En los *Ensayos Tiempos Cortos* se respetó el mismo diseño pero los factores fueron aquí el tiempo (5 niveles), la temperatura de conservación (3 niveles) y el grado de daño ocasionado en el tipo de corte (2 niveles).

Los datos fueron sometidos al análisis de varianza (ANOVA) correspondiente. La comparación de las medias se efectuó con el test de la Diferencia Mínima Significativa (LSD) utilizando un grado de significación $p = 0,05$.

III.3. RESULTADOS Y DISCUSION

III.3.1. Potencial de pardeamiento

El pardeamiento de los haces vasculares en la superficie de corte de pecíolos de apio ha sido mencionado como uno de los principales cambios que reducen la calidad (Loaiza-Velarde et al., 2003). La Figura III.3.1 muestra la evolución del potencial de pardeamiento en apio trozado en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento.

En nuestras experiencias el valor inicial fue igual a $5,4 \cdot 10^{-2}$ UA g⁻¹ de tejido fresco (Figura III.3.1). Este nivel es inferior al hallado por Loaiza-Velarde et al. (2003), que informaron valores de potencial de pardeamiento para pecíolos de apio superiores a 0,2 UA g⁻¹ de tejido fresco. Ello indicaría una menor susceptibilidad al pardeamiento y una mayor aptitud para el procesamiento mínimo de la variedad Golden Boy.

A 0°C el potencial de pardeamiento se mantuvo estable durante las dos primeras semanas de permanencia en cámara y hacia el día 21 experimentó un incremento significativo que representó un 20% con respecto al valor de partida. De allí en más se mantuvo constante hasta el final del período.

A 4°C, el potencial de pardeamiento se incrementó un 28% con relación al inicio en los primeros 7 días y luego permaneció aproximadamente constante.

A 10°C, no hubo variaciones significativas con respecto al origen durante la primera semana de permanencia en cámara. Luego aumentó, alcanzando en el día 21 un valor un 48% mayor que el inicial. De allí en más se mantuvo constante hasta el día 28.

Los mayores valores hallados para el potencial de pardeamiento fueron los correspondientes a los días 21 y 28 a 10°C.

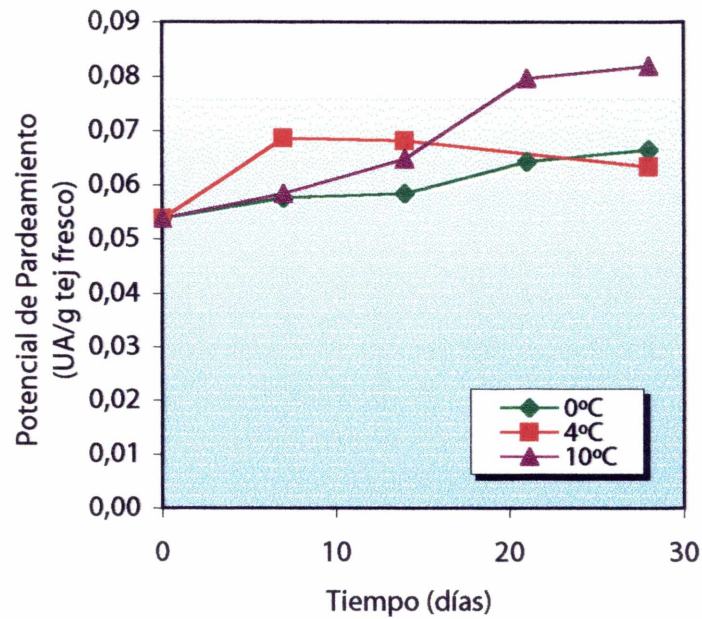


Figura III.3.1. Potencial de pardeamiento de apio mínimamente procesado, en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento ($LSD_{0,05} = 6 \times 10^{-3}$).

Cabe recordar que las manifestaciones visualmente apreciables de pardeamiento enzimático correspondieron a las superficies de corte. Se observaron como puntuaciones de color anaranjado, en correspondencia con los haces vasculares expuestos, principalmente en el producto almacenado a 10°C. Sin embargo, la incidencia de este fenómeno no constituyó el principal factor detrimental de la calidad del producto.

III.3.2. Contenido de fenoles totales

a) Ensayos Tiempos Cortos

Este tipo de ensayos fue realizado a fin de determinar si en apio mínimamente procesado los fenoles se acumulaban rápidamente luego de efectuado el daño, debido al estrés mecánico ocasionado.

En primer término, se comprobó que no existió diferencia significativa ($p > 0,05$) entre el nivel de fenoles libres de los pecíolos antes e inmediatamente después del procesamiento. En ambos casos, los valores fueron aproximadamente $62 \mu\text{g}$ de catequina g^{-1} de tejido fresco.

Los resultados obtenidos durante la conservación posterior al procesamiento se muestran en la Tabla III.3.1.

Tabla III.3.1. Contenido de fenoles totales (μg de catequina g^{-1} de tejido fresco) en apio mínimamente procesado, almacenado durante 24 horas, en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento ($\text{LSD}_{0,05} = 8,8$).

Tiempo (horas)	Fenoles Totales μg de catequina g^{-1} de tejido fresco		
	0°C	10°C	20°C
0	62,2	62,2	62,2
2	62,3	78,1	68,0
4	59,2	62,8	64,2
6	64,6	77,7	69,2
24	58,2	71,0	68,3

Se observó que a 0°C el contenido de fenoles permaneció aproximadamente constante durante todo el período ensayado.

A 10°C se verificó un incremento del nivel de fenoles libres en las dos primeras horas (26 % con respecto al inicio). De allí en más se mantuvo constante.

A 20°C hubo también una tendencia a aumentar a las dos horas de almacenamiento, si bien el valor alcanzado (9 % mayor que el de partida) no difirió significativamente de este último. En adelante, la concentración de fenoles libres a 20°C se mantuvo constante.

Según lo descrito, parecería existir un aumento en el nivel de fenoles libres durante las dos primeras horas posteriores al corte. La conservación del producto a 0°C actuaría posiblemente reprimiendo dicha respuesta al daño, de ahí la relativa constancia en los valores medidos a dicha temperatura.

Al analizar el contenido de fenoles totales en el producto sometido a un mayor nivel de daño (trozos de aproximadamente 0,5–1 cm de espesor, almacenados durante 6 y 24 horas a 20°C) no se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) con el producto cortado en trozos de 4 cm de largo conservado a la misma temperatura, durante el mismo tiempo. Para dicho material, referido como "*Mayor Daño*", las concentraciones de fenoles totales fueron de 72,3 y 75,4 μg de catequina g^{-1} de tejido fresco, a las 6 y 24 horas de permanencia a 20°C respectivamente.

b) Ensayos Tiempos Prolongados

En las sucesivas experiencias llevadas a cabo se observó alta variabilidad en el contenido inicial de fenoles totales al trabajar con plantas de diferentes épocas de cultivo, pero la evolución seguida por el mismo fue similar en todos los casos. Aquí se muestran los resultados correspondientes a una de las experiencias (Figura III.3.2), donde el valor de fenoles libres de partida fue 35,7 μg de catequina g^{-1} de tejido fresco.

A 0°C el tenor de fenoles permaneció constante durante el transcurso del tiempo.

A 4°C no se produjeron variaciones significativas durante los primeros 7 días de almacenamiento. Hacia el día 14 se produjo una elevación del nivel de fenoles totales, que representó un incremento del 24% con respecto al valor inicial. Luego el contenido disminuyó.

A 10°C, no hubo variaciones significativas en el tenor de fenoles durante las dos primeras semanas de permanencia a esta temperatura. Se produjo un aumento significativo del contenido en el día 21. Dicho incremento resultó un 19% superior que el nivel de partida. En el día 28 el contenido de fenoles totales descendió hasta alcanzar nuevamente el correspondiente al inicio.

Tanto a 4 como a 10°C los valores máximos alcanzados resultaron similares (44,2 y 42,6 μg de catequina g^{-1} de tejido fresco, respectivamente).

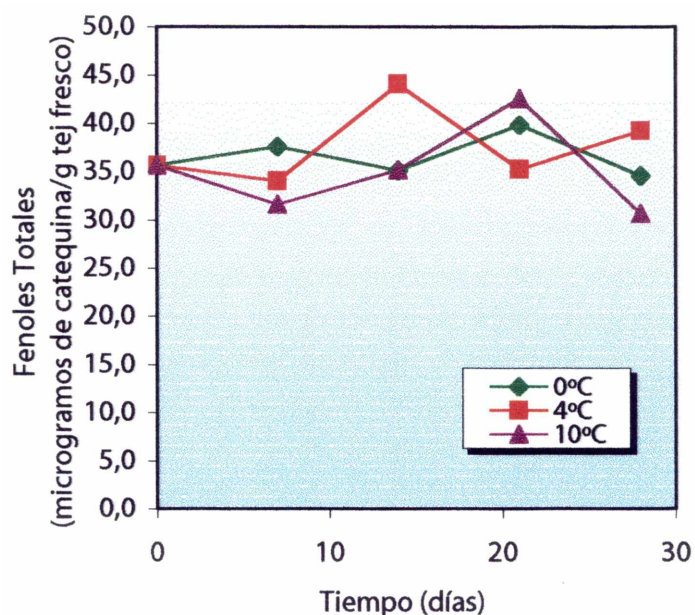


Figura III.3.2. Contenido de fenoles totales (μg de catequina g^{-1} de tejido fresco) en apio mínimamente procesado, almacenado durante 28 días, en función del tiempo y la temperatura de conservación ($\text{LSD}_{0,05} = 6,2$).

Babic et al. (1993a) hallaron un incremento de fenoles en zanahoria rallada lista para usar, como respuesta al daño ocasionado por el procesamiento.

Amanatidou et al., (2000) encontraron un aumento de aproximadamente 8 veces en la concentración de fenoles totales en discos de zanahoria almacenados en aire, durante 12 días a 8°C. Los autores señalaron que la acumulación de fenoles en dicho producto constituyó una respuesta fisiológica a infecciones y daño.

En el caso de apio mínimamente procesado conservado durante tiempos prolongados parecería existir una influencia del estrés mecánico ocasionado por el corte y/o del tiempo de almacenamiento, que condujo al incremento en la concentración de fenoles tanto a 4 como a 10°C. Una temperatura de 0°C frenaría dicha manifestación, tal como sucedió durante tiempos de conservación más cortos.

III.3.3. Contenido de ácido clorogénico

Los resultados obtenidos con relación a este punto se representan en la Figura III.3.3.

La concentración inicial de ácido clorogénico fue igual a 4,6 $\mu\text{g g}^{-1}$ de tejido fresco y representó un 10,5% de los fenoles totales.

A 0°C disminuyó significativamente hasta los 14 días de almacenamiento, alcanzando un valor igual al 33% del inicial, para mantenerse luego aproximadamente estable.

Cuando las bandejas fueron conservadas a 4°C, se produjo un descenso marcado en el contenido de ácido clorogénico hasta llegar en la primera semana a un 28% del valor de partida. Dicha disminución fue similar a la verificada a 0°C considerando el período de almacenamiento completo. El contenido de ácido clorogénico correspondiente al día 28 a 4°C representó un 18% del de partida.

A 10°C se produjo un descenso notorio en los primeros 7 días de permanencia en cámara, llegando a un valor que representó el 7,5% del inicial. De allí en más el contenido de ácido clorogénico permaneció constante.

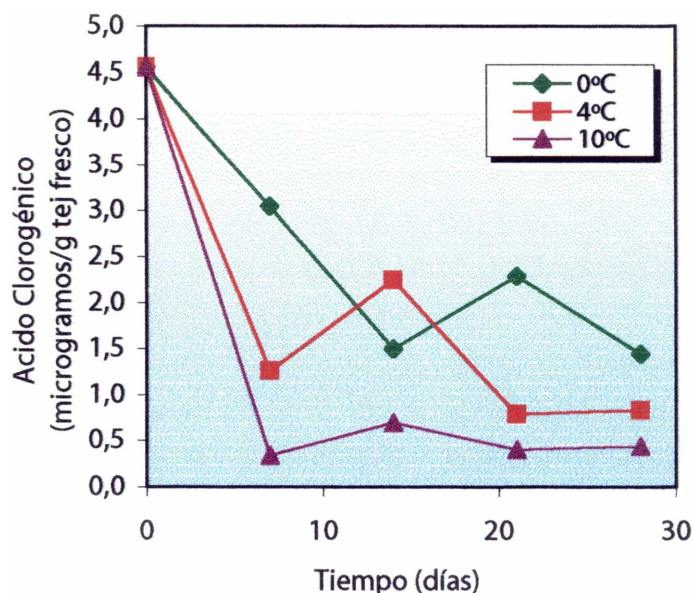


Figura III.3.3. Contenido de ácido clorogénico ($\mu\text{g g}^{-1}$ de tejido fresco) en apio mínimamente procesado en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento ($\text{LSD}_{0,05} = 1,1$).

Ke y Saltveit (1988) observaron un marcado incremento en el contenido de fenoles solubles totales en lechuga iceberg sometida a distintos tipos de estrés (enfermedades, tratamientos con etileno etc.), mientras que no registraron variaciones significativas en la concentración correspondiente a las muestras controles. Dentro de los compuestos fenólicos no-flavonoides identificados por los autores, el de mayor concentración fue el ácido clorogénico.

En apio mínimamente procesado, no habría correspondencia directa entre el aumento del nivel de fenoles solubles totales verificado a 4 y 10°C y la evolución

del contenido de ácido clorogénico. Esta sustancia se redujo durante la conservación refrigerada según la siguiente ecuación:

$$\text{Concentración de ácido clorogénico} = a - bt^n$$

Donde "a" representa la concentración inicial de ácido clorogénico, "b" corresponde a la velocidad de disminución de la concentración y "t" es el tiempo (días).

Los valores de b y n hallados para las diferentes temperaturas de almacenamiento fueron los siguientes:

Temperatura (°C)	0	4	10
b	0,917	2,194	4,115
n	0,37	0,16	0,01

Se observó una mayor velocidad de disminución de la concentración de ácido clorogénico cuanto más alta fue la temperatura ensayada. La velocidad de descenso a 10°C fue 4 veces mayor que a 0°C y 2 veces superior a la correspondiente a 4°C.

La evolución del contenido de ácido clorogénico durante el almacenamiento parecería depender de la especie vegetal y de las variedades de cultivo consideradas.

Al respecto, Gil-Izquierdo et al. (2001) encontraron que la concentración de esta sustancia se incrementó en alcauciles almacenados a 0, 2, 5 y 7°C durante 14 días, siendo más marcado el aumento en las brácteas internas que en las externas. Contrariamente, no hallaron variaciones en la concentración de ácido clorogénico de las brácteas internas cuando las cabezas fueron almacenadas a 10°C y, más aún, detectaron sólo trazas de este compuesto en las brácteas externas de alcauciles

almacenados a esta última temperatura. La diferencia la atribuyen a la degradación de ácido clorogénico a expensas del proceso de pardeamiento.

Por otra parte, Babic et al. (1993b) hallaron que el contenido de ácido clorogénico se incrementó o disminuyó en zanahorias mínimamente procesadas luego de 1-3 días de almacenamiento a 4°C, dependiendo de las variedades ensayadas.

III.3.4. Flavonoides

a) Cuantificación de flavonoides totales por colorimetría

La misma se realizó para muestras de apio mínimamente procesado almacenado durante tiempos prolongados (21 días) a una temperatura de 0°C.

Los valores hallados se muestran en la Tabla III.3.2.

Tabla III.3.2. Contenido de Flavonoides Totales (μg de catequina g^{-1} de tejido fresco) en apio mínimamente procesado almacenado durante 21 días a 0°C ($\text{LSD}_{0,05} = 1,3$).

<i>Tiempo (días)</i>	<i>Flavonoides Totales (μg de catequina g^{-1} de tejido fresco)</i>
0	13,3
7	7,3
14	6,3
21	7,0

El valor inicial hallado para flavonoides totales representó un 25% del correspondiente a fenoles totales para este grupo de experiencias.

En la Tabla puede observarse que hubo una disminución significativa de la concentración de flavonoides totales al cabo de 7 días de almacenamiento. El descenso registrado representó un 45% con relación al nivel inicial. De allí en más los valores se mantuvieron aproximadamente constantes.

b) Identificación y cuantificación de flavonoides por HPLC

En la Figura III.3.4 se muestra un cromatograma típico obtenido en el estudio de los flavonoides presentes en extractos de apio mínimamente procesado.

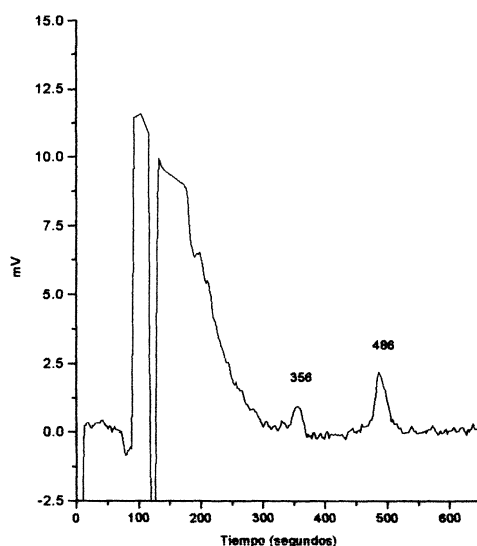


Figura III.3.4. Cromatograma típico correspondiente a la separación por HPLC de flavonas (luteolina y apigenina) presentes en apio mínimamente procesado.

Los picos observados pertenecen a las flavonas luteolina y apigenina. Crozier et al. (1997) también hallaron estos compuestos en apio perteneciente a las variedades Greensleeves, Ista, Celebrity y Victoria. Trabajaron en ese caso con plantas enteras (hojas + pecíolos) e indicaron que los extractos hidrolizados de

apio contenían cantidades significativas de ambas sustancias (en promedio, 38 y 97 μg de luteolina y apigenina respectivamente por gramo de tejido fresco, para las variedades blancas). Señalaron asimismo que los flavonoles quercetina y kampferol no se hallaron presentes en cantidades detectables.

En nuestras experiencias los valores hallados para luteolina y apigenina en el inicio fueron 0,88 y 4,61 $\mu\text{g g}^{-1}$ de tejido fresco, respectivamente. La concentración de luteolina representó el 1,5% con respecto a la de fenoles totales, mientras que la de apigenina correspondió al 8% de los fenoles. Dichas concentraciones resultaron inferiores a las referidas por Crozier et al. (1997), trabajando con plantas enteras de apio. Ello podría indicar que el contenido de flavonoides en los pecíolos es marcadamente menor que en hojas.

En la Figuras III.3.5 y III.3.6 se muestra la evolución del contenido de flavonas presentes en apio trozado, en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento (*Ensayos Tiempos Cortos*). La evolución de luteolina y apigenina sólo se determinó durante las primeras 24 horas, ya que los flavonoides figuran entre los compuestos fenólicos inducidos por estrés (Dixon y Paiva, 1995).

En lo que respecta a *luteolina* (Figura III.3.5), se observó que a 0°C la concentración aumentó en las primeras dos horas a un valor aproximadamente el doble que el inicial y luego se mantuvo prácticamente constante hasta las 24 horas.

A 10°C la concentración de luteolina aumentó 2,5 veces con respecto al inicio hasta las 6 horas posteriores al procesamiento, tendiendo luego a disminuir.

A 20°C el contenido de luteolina se incrementó significativa y rápidamente (2,6 veces en dos horas) pero luego se redujo a las cuatro horas de almacenamiento. No se registraron variaciones posteriores en la concentración de luteolina.

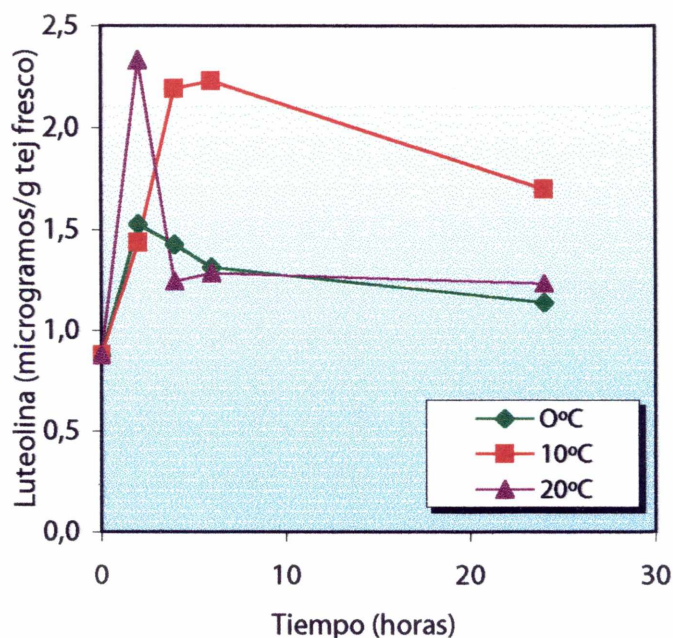


Figura III.3.5. Contenido de luteolina ($\mu\text{g g}^{-1}$ de tejido fresco) en apio mínimamente procesado, almacenado durante períodos cortos, en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento ($\text{LSD}_{0.05} = 0,6$).

En lo que respecta a *apigenina*, a 0°C su concentración se incrementó significativamente en las cuatro primeras horas. En este punto se alcanzó un valor equivalente al doble del inicial. Entre las cuatro y seis horas de permanencia a 0°C se produjo una disminución significativa, recuperándose el nivel de partida y permaneciendo luego constante hasta el final del período.

A 10°C existió un ligero aunque significativo aumento de la concentración de apigenina al alcanzarse las seis horas de almacenamiento, representando un incremento de 1,6 veces con respecto al valor inicial. Dicho valor fue significativamente menor que el máximo observado a 0°C ($p < 0,05$).

A 20°C los valores de partida de apigenina casi se duplicaron en tan sólo dos horas después del procesamiento. A las cuatro horas se produjo una reducción significativa, llegando a valores muy próximos a los iniciales.

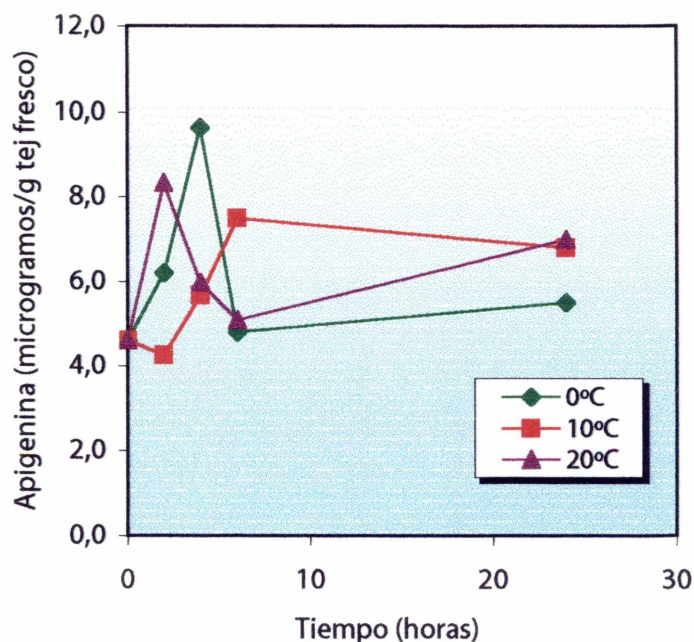


Figura III.3.5. Contenido de apigenina ($\mu\text{g g}^{-1}$ de tejido fresco) en apio mínimamente procesado, almacenado durante períodos cortos, en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento ($\text{LSD}_{0,05}=1,4$).

Tanto luteolina como apigenina presentaron aproximadamente el mismo comportamiento a las tres temperaturas ensayadas.

Del análisis surge que se produciría en principio un incremento en el contenido de flavonas en apio, como respuesta al daño efectuado durante el procesamiento. Dicho aumento se observa muy rápidamente (a las dos horas). Mientras que en muestras almacenadas a 0 ó 20°C el efecto desaparece entre las 4

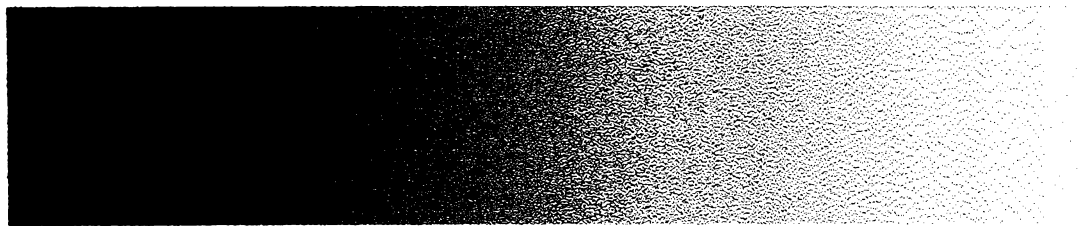
y 6 horas, a 10°C el comportamiento es diferente, ya que no se recuperan los niveles iniciales en forma tan inmediata.

El efecto que ejerce la temperatura de conservación sobre los contenidos de luteolina y apigenina es diferente del que se observó para los fenoles totales en muestras almacenadas durante períodos cortos.

Tanto la concentración de fenoles totales como la de flavonas se incrementaron hacia las dos horas posteriores al procesamiento. Sin embargo, el aumento de fenoles no se produjo en las muestras conservadas a 0°C, mientras que luteolina y apigenina aumentaron a las tres temperaturas ensayadas.

III.4. CONCLUSIONES

- ✓ Existiría en apio mínimamente procesado una respuesta al daño que se manifestó al poco tiempo de aplicado el estrés, fundamentalmente a las dos horas posteriores al procesamiento. Abarcando al conjunto de fenoles analizados, las bajas temperaturas (0°C) atenuaron dicha manifestación, mientras que la misma fue más notoria a 10°C. Analizando en particular a las flavonas luteolina y apigenina, cuyos contenidos también aumentaron hacia las dos horas de efectuado el daño, los mecanismos accionados no resultaron inhibidos por la baja temperatura. Ello surge del incremento medido tanto a 0, como a 10 y 20°C.
- ✓ Centrando el análisis en el efecto específico del almacenamiento a largo plazo sobre los compuestos fenólicos, puede señalarse que el potencial de pardeamiento, si bien fue inicialmente bajo, sufrió mayores incrementos cuando se empleó una temperatura de conservación relativamente elevada (10°C) y la permanencia en cámara superó los 14 días. A pesar de ello las manifestaciones visuales de este fenómeno no determinaron pérdidas de calidad severas ni que las muestras pudieran catalogarse como no comercializables.
- ✓ Los fenoles totales aumentaron principalmente a 4 y 10°C y a partir de los 14-21 días. La magnitud del incremento fue similar en ambas temperaturas. Cuando las bandejas fueron conservadas a 0°C, se atenuó este efecto. Cabe recordar que muchos compuestos fenólicos actúan como sustrato de las reacciones de pardeamiento. Un incremento en el contenido de fenoles resultaría en un mayor potencial de pardeamiento.
- ✓ Sin embargo, dentro de los compuestos fenólicos analizados tanto el ácido clorogénico como los flavonoides totales disminuyeron su concentración a partir de la primera semana en cámara. El ácido clorogénico sufrió una reducción más rápida cuanto mayor fue la temperatura de conservación.



CAPITULO IV

**INCIDENCIA DE LA TEMPERATURA
SOBRE LOS MECANISMOS DE
DEFENSA.
VITAMINA C Y ACTIVIDAD
ANTIOXIDANTE.**

IV.1.INTRODUCCION

IV.1.1. Estrés oxidativo y antioxidantes en plantas

Las denominadas especies reactivas de oxígeno (EROs) son formas parcialmente reducidas del O₂ atmosférico, que resultan de la excitación de esta molécula, para formar oxígeno singlete (¹O₂^{*}) o a partir de la transferencia de uno, dos o tres electrones al O₂ para originar, respectivamente, un radical superóxido (O₂⁻), peróxido de hidrógeno (H₂O₂) o un radical hidroxilo (^{*}OH) (Mittler, 2002). Esta última especie puede generarse también por la interacción del radical superóxido y el peróxido de hidrógeno, en presencia de iones metálicos (Scandalios, 2002).

Las EROs son capaces de provocar la oxidación irrestricta de varios componentes celulares y pueden conducir a la destrucción oxidativa de la célula (Mittler, 2002).

Existen muchas fuentes potenciales de EROs en las plantas, como ser algunas de las reacciones normales del metabolismo, tales como la fotosíntesis y la respiración. Otras fuentes abarcan rutas estimuladas por factores abióticos de estrés, tales como la ruta glicolato oxidasa en peroxisomas, durante la fotorrespiración.

Sin embargo, nuevas fuentes de EROs han sido recientemente identificadas en vegetales, incluyendo NADPH-oxidasas, aminooxidasas y peroxidasas unidas a la pared celular. Las mismas están fuertemente reguladas y participan en la producción de EROs durante procesos tales como la muerte celular programada y la defensa contra patógenos (Mittler, 2002).

Mientras que en condiciones normales de crecimiento, la producción de EROs en las células es baja, diferentes factores de daño pueden alterar la homeostasis celular y estimular notoriamente la generación de dichas especies. Tales factores incluyen estrés por sequía y desecación, altas concentraciones salinas, daño por frío, estrés térmico, presencia de metales pesados, radiación

ultravioleta, polutantes ambientales tales como el ozono y el SO₂, injuria mecánica, carencia de nutrientes, ataques de patógenos y altas intensidades luminosas (Mittler, 2002).

Hallazgos recientes muestran que las EROs actúan como moléculas transductoras de señales, cumpliendo roles significativos en la activación de factores de transcripción que conducen a la expresión de determinados genes (Scandalios, 2002). Estas moléculas podrían actuar como desencadenantes de la activación de las respuestas frente al estrés y los mecanismos defensivos, a modo de indicadores celulares del daño (Mittler, 2002).

Cuando se produce un incremento incontrolado en la concentración de EROs, puede devenir la muerte celular, resultante de procesos oxidativos tales como la peroxidación de lípidos de las membranas, oxidación de proteínas, inhibición enzimática y daño de las moléculas de DNA y RNA.

Las plantas han desarrollado un complejo sistema antioxidante para prevenir los efectos nocivos de las EROs, el cual juega un papel primordial en la tolerancia al estrés. El mismo está compuesto por elementos tanto *enzimáticos* como *no enzimáticos* (Lascano et al., 2003).

Los primeros comprenden mayoritariamente a las enzimas superóxido dismutasa (SOD), ascorbato peroxidasa (APX) y catalasa (CAT) (Mittler, 2002).

Los *componentes no enzimáticos* del sistema antioxidante vegetal están representados principalmente por el *ascorbato*, el *glutatión* y los *compuestos fenólicos* (Tewari et al., 2002).

IV.1.2. Contribución de los compuestos fenólicos a la actividad antioxidante de tejidos vegetales

La presencia de compuestos fenólicos en tejidos vegetales está determinada por factores genéticos y ambientales, pero puede ser modificada por reacciones oxidativas durante el procesamiento y almacenamiento. Dos fenómenos importantes que los involucran son su contribución a la capacidad antioxidante y su relación con el pardeamiento oxidativo. Muchos compuestos

fenólicos (ésteres cafeicos, catequinas, etc.) son, simultáneamente, sustratos de las reacciones de pardeamiento y efectivos antioxidantes. Funcionan como agentes reductores a concentraciones relativamente bajas, mientras que a elevados niveles pueden comportarse como prooxidantes (Robards et al., 1999).

El actual interés en estos compuestos se relaciona además con su rol en el crecimiento y metabolismo vegetal, su impacto sobre la calidad organoléptica y nutricional de frutas y hortalizas y, más recientemente, con su demostrada actividad fisiológica en humanos.

En todos los casos citados, el proceso clave es la *oxidación*. La presencia de los compuestos fenólicos resulta beneficiosa, tanto en los alimentos como en el cuerpo, ya que los mismos son oxidados preferentemente por sobre otros constituyentes de las células o tejidos (Robards et al., 1999).

Por otra parte, su rol como sustratos del pardeamiento en los alimentos es invariablemente detrimental, aunque en algunas instancias (elaboración de té, cacao, dátiles, pasas sultanas) es intencional y esencial para las características finales del producto.

Los compuestos fenólicos vegetales, ya discutidos en el Capítulo III, son el grupo más importante de antioxidantes naturales, debido a su diversidad y amplia distribución. Poseen varias propiedades químicas y biológicas comunes: su poder reductor, la capacidad de secuestrar EROs y diversos electrófilos y de quelar iones metálicos, el potencial para autooxidarse y la propiedad de modular la actividad de ciertas enzimas celulares (Robards et al., 1999; Hamilton et al., 1997). Otros posibles mecanismos *in vivo* involucrarían la protección contra la oxidación del α -tocoferol y su regeneración (Robards et al., 1999).

Refiriéndose a la capacidad antioxidante de ciertos grupos que nos interesan particularmente, puede señalarse que tanto los ácidos cinámicos como los flavonoides actúan como aceptores de radicales libres, pudiendo

frenar en parte ciertas reacciones en cadena que se desarrollan incontroladamente (Robards et al., 1999).

Refiriéndose a la actividad antioxidante de los principales grupos de compuestos fenólicos, puede señalarse que los *ácidos cinámicos hidroxilados* resultan más efectivos que el ácido benzoico y que la actividad se hace más marcada en los ácidos cafeico y clorogénico (Hudson y Mahgoub, 1980). Este último ha sido ampliamente reconocido como un antioxidante para las lipoproteínas de baja densidad (LDL) humanas (Rice-Evans et al., 1996).

La actividad antioxidante de los *flavonoides* está estrechamente relacionada con el grado de hidroxilación y la posición de los grupos funcionales en la molécula. Los radicales fenoxi derivados de los flavonoides exhiben potenciales de reducción en el rango de 540-700 mV y se considera que los flavonoides correspondientes inactivarían eficientemente varias EROs, con potenciales más elevados (Robards et al., 1999).

En relación a la actividad fisiológica que deriva de la capacidad antioxidante de estos compuestos, existe evidencia de que muchas enfermedades crónicas que afectan a los humanos tienen una distribución geográfica irregular. Estudios epidemiológicos globales relacionan la prevalencia de algunas de ellas con los patrones alimentarios y muestran una relación inversa entre el consumo de frutas y hortalizas y su ocurrencia, particularmente en el caso de enfermedades cardiovasculares y cáncer (Robards et al., 1999).

IV.1.3. Importancia del contenido de vitamina C

El término genérico *vitamina C* comprende todos los compuestos que exhiben la actividad biológica del *ácido L-ascórbico* (AA). El *ácido L-dehidroascórbico* (DHA), uno de sus productos de oxidación del AA, presenta también actividad en organismos vivos (Lee y Kader, 2000). El DHA puede ser reducido a AA o irreversiblemente oxidado a *ácido dicetogulónico*, que no presenta actividad vitamínica (Figura IV.1.1). La ascorbato oxidasa sería la principal enzima responsable de esta degradación (Lee y Kader, 2000).

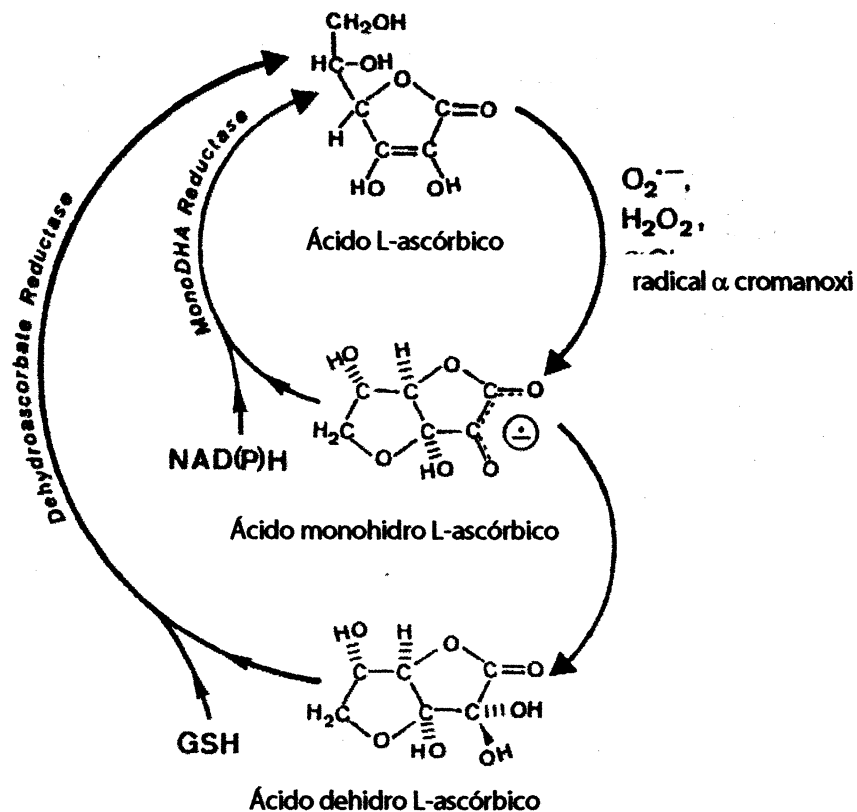


Figura IV.1.1. Interconversiones entre el ácido L-ascórbico y sus formas oxidadas, ácido monohidroascórbico y dehidroascorbato (mono DHA: monodehidroascorbato; GSH: glutatión reducido) (Adaptado de Foyer, 1993).

La vitamina C es requerida en el hombre para la prevención del escorbuto y el mantenimiento de la piel y los vasos sanguíneos. Participa en la formación de colágeno, la absorción del hierro inorgánico, la reducción de los niveles plasmáticos del colesterol, la inhibición de la formación de nitrosamina, el mejoramiento del sistema inmune y las reacciones con el oxígeno singlete y otros radicales libres (Harris, 1996).

El AA es una sustancia antioxidante que secuestra directa o indirectamente los radicales libres nocivos comúnmente presentes en células vivas. Juega un rol primordial en la captura de peróxido de hidrógeno y

protege de la oxidación a los grupos tiol de las enzimas y proteínas (Foyer, 1993). En las plantas, actúa también en la síntesis de proteínas ricas en hidroxiprolina (rol análogo al de la formación de colágeno), las cuales son componentes de la pared celular vegetal (Horemans et al., 2000).

La función mejor estudiada del AA en células vegetales es sin duda la protección de cloroplastos contra el daño oxidativo. La inactivación de O_2^- y H_2O_2 producidos en dichos orgánulos es catalizada por las SOD y APX. El monodehidroascorbato formado por acción de esta última enzima puede ser reducido directamente por la ferredoxina. Asimismo, un segundo sistema enzimático conocido como ascorbato-glutatión es importante en la regeneración del AA a partir de DHA (Horemans et al., 2000).

El AA no sólo actúa como antioxidante en la fase soluble de las células sino que además interacciona con los antioxidantes asociados a membranas (carotenoides y α -tocoferol) (Horemans et al., 2000).

Se ha informado que la vitamina C, como antioxidante, reduce el riesgo de aterosclerosis, enfermedades cardiovasculares y algunas formas de cáncer (Harris, 1996).

Con respecto a la *degradación* del AA, ya se ha mencionado que este compuesto actúa generalmente como un dador de electrones en dos etapas secuenciales. La primera resulta de la formación de un radical libre ascorbato (monodehidroascorbato) y la segunda de la oxidación completa a dehidroascorbato. Ambos productos de oxidación son relativamente inestables en solución acuosa. El monodehidroascorbato no interactúa rápidamente con otras moléculas como los lípidos y es por lo tanto relativamente inofensivo. El dehidroascorbato sufre una hidrólisis irreversible y espontánea para producir ácido 2,3-dicetogulónico (Horemans et al. 2000).

El contenido de vitamina C resulta variable entre diferentes especies vegetales y aún entre cultivares y tejidos distintos. Usualmente las capas epidérmicas presentan una concentración más elevada, a fin de proteger al

órgano en cuestión del estrés externo ocasionado por la luz y la oxidación (Lee y Kader, 2000).

Entre los principales factores precosecha que inciden en la concentración de vitamina C figuran la cantidad e intensidad de luz durante la estación de crecimiento, la temperatura, las prácticas culturales tales como fertilizaciones nitrogenadas y raleos, y la disponibilidad de agua del cultivo (Lee y Kader, 2000).

Luego de la cosecha es importante considerar la temperatura y la humedad relativa durante la conservación. Generalmente las frutas y hortalizas muestran una disminución gradual en el contenido de AA a medida que la temperatura y la duración del almacenamiento aumentan (Adisa, 1986).

McCarthy y Matthews (1994) han señalado que el procesamiento mínimo de frutas y hortalizas reduciría el contenido de AA de los tejidos. Sin embargo se ha mencionado también que la síntesis de ascorbato es frecuentemente incrementada bajo condiciones de estrés y que la variación de su concentración sería un buen indicador del nivel de daño experimentado por los tejidos vegetales (Stegmann et al., 1991).

El presente Capítulo trata sobre la variación del contenido de ácido ascórbico y de la capacidad antioxidante de apio trozado, en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento. Se analiza la relación entre ambos, como así también la vinculación con la evolución de los compuestos fenólicos, referida en el Capítulo III.

IV.2. MATERIALES Y METODOS

IV.2.1. Material vegetal

Corresponde al descrito en la Sección I.2.1 del Capítulo I.

IV.2.2. Procesamiento

El esquema de procesamiento efectuado responde al señalado en la Sección I.2.2 del Capítulo I.

IV.2.3. Almacenamiento

Las bandejas conteniendo los trozos de apio fueron colocadas en cámaras refrigeradas a 0, 4 ó 10°C, con una humedad relativa del 85%, por un período máximo de 28 días. Las muestras fueron tomadas a intervalos regulares, a los 0, 7, 14, 21 y 28 días de almacenamiento.

IV.2.4. Determinaciones

IV.2.4.1. Contenido de ácido ascórbico

Se tomaron para su análisis las muestras procedentes de un total de tres bandejas para cada combinación de tiempo y temperatura. Luego de homogeneizadas, una fracción de las mismas fue congelada en N₂ líquido y triturada en un molinillo Janke & Kunkel Ika Labortechnik A10.

Del material homogeneizado, congelado y triturado se tomaron dos muestras exactamente pesadas (3 g) que fueron extraídas con 5 mL de solución acuosa de ácido cítrico 3% p/v. Al cabo de 10 minutos fueron centrifugadas (11.500g) a 5°C durante 5 minutos. Alícuotas (1 mL) de cada uno de los extractos fueron nuevamente centrifugados en una centrífuga Eppendorf 5415C durante dos minutos a 14.000 rpm.

Para el análisis se utilizó la técnica propuesta por Wimalasiri y Wills (1983), con modificaciones.

Se empleó un HPLC Waters equipado con un detector UV-VIS. Las separaciones fueron conducidas en una columna C_{18} ($5\mu\text{m}$ de diámetro de partículas, $4,6\text{ mm}$ de diámetro interno y 25 cm de longitud). La fase móvil fue una mezcla de acetonitrilo:agua en proporción 70:30 con $0,01\text{ M}$ de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ y pH ajustado a 4,3 con ácido ortofosfórico. El caudal fue 2 mL min^{-1} . La detección fue realizada a 254 nm .

Para la identificación y cuantificación se empleó una solución patrón de ácido ascórbico ($3,5\text{ mg}/100\text{ mL}$).

Los resultados finales fueron expresados como de mg de ácido ascórbico / 100 g de tejido fresco.

IV.2.4.2 Actividad antioxidante

Se determinó mediante la reacción con el radical estable 2,2-difenil-1-picrilhidracil (DPPH•) en una solución de metanol, utilizando el método de Brand-Williams et al. (1995) con modificaciones.

Del material homogeneizado, congelado y triturado (Sección IV.2.4.1) se tomaron dos muestras exactamente pesadas ($2,5\text{ g}$ tejido cada una) y se extrajeron con 5 mL de metanol.

En las mezclas de reacción, se varió la concentración de extractos, adicionando $0, 200, 400, 600, 800$ y $1000\ \mu\text{L}$ de cada uno de ellos, a $3,9\text{ mL}$ de solución metanólica de DPPH• (25 ppm) y se completó a un volumen final de $4,9\text{ mL}$ con metanol.

Se dejó transcurrir la reacción y se midió la absorbancia a 515 nm , cuando se alcanzó un valor constante (aproximadamente a las dos horas de iniciada la reacción). Se calculó luego la concentración de DPPH• remanente a través de una recta patrón obtenida con diferentes concentraciones de DPPH•.

Finalmente se graficó la concentración de DPPH• remanente contra el volumen de extracto en la mezcla de reacción y se calculó la EC_{50}

(concentración efectiva media) correspondiente a cada punto de muestreo. La EC_{50} se definió como la cantidad (gramos) de tejido fresco necesaria para reducir en un 50% la concentración inicial de DPPH• en la mezcla de reacción.

Los resultados finales se expresaron como Poder Antioxidante (PA), que corresponde a la inversa de la EC_{50} ($PA = 1/EC_{50}$), expresado en g^{-1} .

IV.2.5. Diseño experimental y análisis de resultados

Las experiencias fueron realizadas según un diseño factorial, con dos factores: tiempo de almacenamiento (5 niveles) y temperatura (3 niveles).

Los datos fueron sometidos al análisis de varianza (ANOVA) correspondiente. La comparación de las medias se efectuó con el test de la Diferencia Mínima Significativa (LSD) utilizando un grado de significación $p=0,05$.

IV.3. RESULTADOS Y DISCUSION

IV.3.1. Contenido de ácido ascórbico

El contenido inicial de ácido ascórbico en apio mínimamente procesado fue 5,6 mg 100 g⁻¹ de tejido fresco. Dicha concentración fue 2,6 veces inferior a la informada por Kwon et al., (1998) para plantas enteras de apio (hojas + pecíolos). Sin embargo resultó 9 veces mayor a los 0,62 mg / 100 g de la "porción comestible" de apio señalados por Salunkhe y Desai (1984).

La Tabla IV.3.1 muestra la evolución de la concentración de ácido ascórbico en apio precortado, en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento.

Tabla IV.3.1. Contenido de ácido ascórbico (mg / 100 g de tejido fresco) en apio mínimamente procesado, en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento (LSD_{0,05} = 1,7)

Tiempo (días)	Vitamina C (mg / 100 g tejido fresco)		
	0°C	4°C	10°C
0	5,6	5,6	5,6
7	5,7	4,9	5,0
14	6,6	7,7	9,2
21	5,8	5,9	6,4
28	5,2	6,6	5,5

A 0°C no se observaron variaciones significativas en el contenido de AA durante el almacenamiento, si bien hubo una tendencia a aumentar hacia los 14 días. A 4°C resultó significativo el incremento correspondiente a las dos semanas ($p < 0,05$), que representó un aumento del 38% con respecto al inicio. Entre los días 14 y 28, la concentración de AA se redujo, alcanzando valores comparables a los iniciales.

A 10°C el comportamiento fue similar al verificado a 4°C. Hubo un aumento significativo al promediar el tiempo de almacenamiento (día 14), que representó el 64% del nivel inicial. Seguidamente se produjo una disminución del contenido de AA, recuperando los valores de partida.

El incremento de AA observado en el producto almacenado a 10°C fue 1,7 veces superior al registrado a 4°C.

La vitamina C ha sido muchas veces señalada como uno de los componentes más lábiles en los alimentos y es frecuente que se produzcan pérdidas más o menos considerables de su contenido durante el procesamiento y almacenamiento de productos vegetales. Por ejemplo, Gilzquierdo et al. (2001) analizaron el efecto de la temperatura de almacenamiento sobre el contenido de vitamina C en alcauciles. Señalaron una pérdida significativa de AA durante 14 días de conservación a temperaturas comprendidas entre 0 y 10°C, con respecto al inicio.

Sin embargo en determinados productos hortifrutícolas almacenados se ha registrado un mantenimiento o aún un aumento en la concentración de esta sustancia. Así Eheart (1970) halló que el contenido de AA en brócoli se incrementó durante el almacenamiento a 3°C. En un estudio posterior, Eheart y Odland (1972) no encontraron pérdidas significativas de AA en brócoli, durante una semana de permanencia a 2°C, registrando asimismo un aumento del 36% en una de las variedades ensayadas. Los autores lo atribuyeron a la síntesis de AA a partir de monosacáridos, durante la conservación del producto.

Más recientemente, Paradis et al. (1995) observaron que, durante 21 días de almacenamiento a 4°C, el tenor de vitamina C en brócoli entero y cortado no varió de forma significativa para la mayor parte de las condiciones estudiadas.

Por otra parte, durante el almacenamiento postcosecha a 8°C de plantas enteras de espinaca, se verificó a los 24 días una recuperación del 19% en el contenido de AA de hojas jóvenes, tenor que había disminuido en los primeros 16 días (Toledo et al., 2003).

Asimismo, Palmer Wright y Kader (1997) mostraron una recuperación significativa de la pérdida inicial de AA verificada en frutillas rebanadas y conservadas a 5°C, en aire o distintas atmósferas controladas. Al respecto, Lee y Kader (2000) han mencionado que el AA es más estable en medios ácidos, lo que constituiría una ventaja de los frutos por sobre las hortalizas.

En nuestras experiencias con apio mínimamente procesado, no se observaron disminuciones iniciales en el contenido de AA que pudieran ser atribuidas al daño producido durante el trozado.

Durante el almacenamiento se observaron incrementos de distinta magnitud, que fueron mayores cuanto más elevada fue la temperatura de conservación. Podría postularse una relación entre el grado de senescencia del producto o el daño que ocasiona dicho envejecimiento y la regeneración o síntesis de AA.

El tamaño y el grado de reducción del reservorio (pool) de ascorbato reflejaría el estado de los tejidos vegetales en términos de su capacidad antioxidante, y podría proveer una aproximación de los efectos del estrés sobre el aparato fotosintético (Foyer, 1993). El funcionamiento del ascorbato como antioxidante está asegurado por la acción del ciclo ascorbato-glutatión, que provee un mecanismo eficiente para reciclar el ascorbato oxidado y mantener el reservorio de AA en su forma reducida (Foyer, 1993).

Las distintas posibilidades de interconversión entre el AA y sus productos derivados fueron mostradas en la Figura IV.1.1.

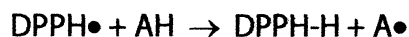
El radical monodehidroascorbato, además de ser el producto primario de la reacción de reducción del H_2O_2 a H_2O a expensas del ascorbato (reacción catalizada por la ascorbato peroxidasa), es además generado por la oxidación univalente del ascorbato mediante superóxidos, radicales hidroxilo y por el radical tocoferoxil (o α -cromanoxi) (Figura IV.1.1). Esta última especie se origina por la reacción entre los radicales peroxi de los lípidos con el α -tocoferol (Foyer, 1993).

En situaciones donde existe un daño considerable a las membranas, como ocurre durante la senescencia avanzada de los tejidos, podría subyacer la necesidad de incrementar la concentración de sustancias antioxidantes en la célula (entre ellas el AA), a fin de reparar o compensar los efectos de dicho daño. La regeneración o síntesis de AA permitiría, al menos por un corto plazo, contrarrestar la producción creciente de EROs y demás radicales libres que conducirían a la lesión y/o muerte celular.

Si en apio mínimamente procesado se diera efectivamente la situación descrita y si la respuesta planteada como posible fuera un mecanismo válido, el proceso de daño que estamos evaluando está relacionado con el transcurso del tiempo de almacenamiento (y consecuentemente con la senescencia). Las temperaturas más bajas (0°C) sólo podrían atenuar dicha respuesta, no diferirla.

IV.3.2. Actividad antioxidante

Se analizó la cinética de la reacción entre los compuestos antioxidantes (AH) del extracto y el DPPH• para la muestra inicial (día 0), representada por la siguiente ecuación:



Una curva característica se muestra en la Figura IV.3.1.

Brand-Williams et al. (1995) analizaron la actividad antioxidante de varios compuestos fenólicos individuales y del AA empleando el método del DPPH•. Dichos autores describieron los comportamientos cinéticos básicos, según la naturaleza del antioxidante en cuestión. El ácido ascórbico respondió con una cinética rápida, alcanzando la reacción el estado estacionario en menos de un minuto. En el otro extremo se ubicaron compuestos tales como fenol, ácido cumárico, ferúlico, cafeico, eugenol, etc., con una cinética lenta representada por curvas hiperbólicas, donde alcanzar el estado estacionario requirió entre 1 y 6 horas.

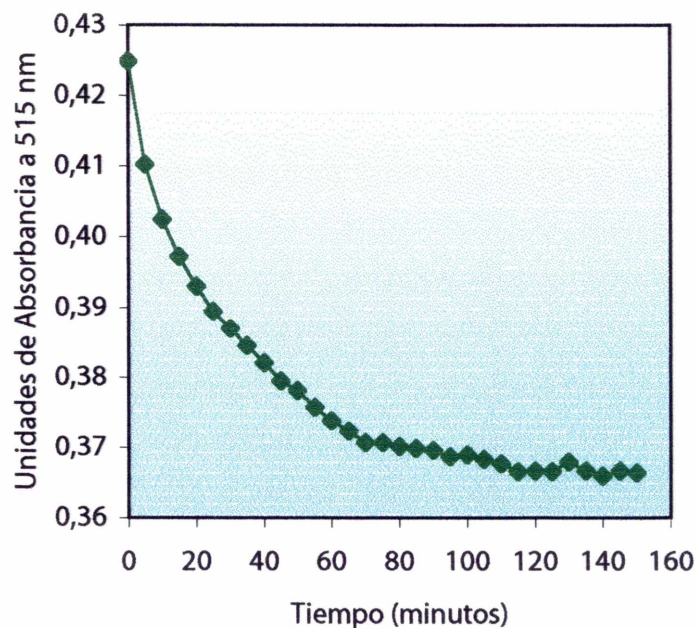


Figura IV.3.1. Disminución de la concentración de DPPH• (Absorbancia a 515 nm) en función del tiempo de reacción, para extractos de apio mínimamente procesado (día 0).

En nuestro trabajo, la cinética observada para extractos de apio, conteniendo una mezcla compleja de sustancias antioxidantes, se asimiló más a la última situación descrita, ya que el estado estacionario, para una concentración de 0,05 g de tejido / mL de mezcla de reacción, se alcanzó a partir de las dos horas.

La Figura IV.3.2 muestra la variación en el Poder Antioxidante (PA) de apio trozado en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento.

El valor inicial correspondió a $3,1 \text{ g}^{-1}$ de tejido fresco.

Se observó que las variaciones en el PA fueron similares durante los 21 días de almacenamiento a las tres temperaturas ensayadas.

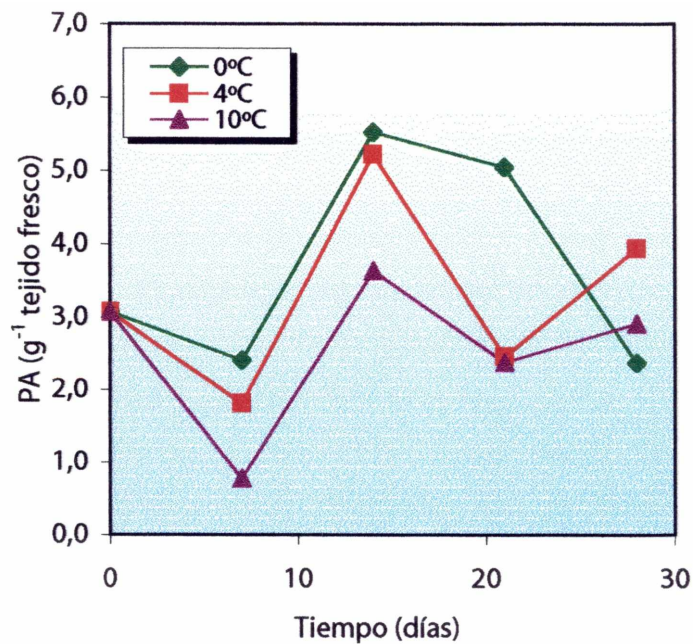


Figura IV.3.1. Poder antioxidante ($PA = 1/EC_{50}$) de apio mínimamente procesado, en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento ($LSD_{0,05} = 0,3$) (EC_{50} : Concentración Efectiva Media)

A 0°C se produjo una disminución ($p < 0,05$) del PA de las muestras en los primeros 7 días, alcanzando aproximadamente el 80% del valor inicial. En el día 14 se verificó un incremento en el PA, hasta alcanzar niveles 80% superiores a los de partida. Luego el PA descendió, alcanzando en el final del almacenamiento (día 28) un valor inferior al inicial.

Cuando las bandejas fueron conservadas a 4°C, también se observó una reducción en el PA durante los primeros 7 días, pero en este caso la misma fue mayor que la correspondiente a 0°C, alcanzando un nivel aproximadamente igual al 60% del inicial. Coincidiendo con lo ocurrido a 0°C, a 4°C los niveles de PA aumentaron significativamente ($p < 0,05$) a las dos semanas, siendo el incremento producido del 70% con relación al valor de partida. De allí en más el PA a esta temperatura disminuyó.

Cuando el producto fue conservado a 10°C, la disminución correspondiente al día 7 fue la más marcada en relación con las otras temperaturas, ya que los valores alcanzaron un 25% del inicial. A partir de la segunda semana a esta temperatura, el PA de apio trozado disminuyó. En el final del almacenamiento (día 28), el valor medido representó el 95% del inicial.

Es sabido que a la capacidad antioxidante de los productos vegetales contribuyen un sinnúmero de sustancias. Chu et al. (2000) señalaron que varios compuestos fitoquímicos, tales como flavonoides, ácidos fenólicos, aminoácidos, ácido ascórbico, tocoferoles y pigmentos pueden aportar a la capacidad antioxidante total.

Según lo analizado en cuanto a la evolución del contenido de fenoles totales (Sección III.3.2 del Capítulo III), la misma no explicaría por sí sola la disminución del PA verificada a los 7 días ni el incremento ocurrido en el día 14 del almacenamiento.

Por otra parte, la concentración de ácido clorogénico (Sección III.3.3 del Capítulo III) disminuyó inicialmente (día 7) a las tres temperaturas ensayadas y el descenso fue mayor cuanto más alta fue la temperatura de conservación.

En el caso de los flavonoides totales, también se verificó una disminución en la primera semana en cámara (Sección III.3.4 del Capítulo III).

Consecuentemente, tanto el contenido de ácido clorogénico como el de flavonoides podrían haber inducido la disminución inicial del PA.

Ya se ha hecho referencia (Sección I.3.7, Capítulo I) a la capacidad de secuestrar radicales hidroxilo que presenta el manitol (Smirnoff y Cumbes, 1989) y a su capacidad reductora (Keller y Matile, 1989).

Como se discutió en la Sección I.3.7 del Capítulo I, durante la conservación a 0 y 10°C se produjo una disminución del contenido de manitol. La caída producida a los 7 días de almacenamiento a dichas temperaturas fue del 8 y 50% del valor de partida, respectivamente. Este comportamiento podría

también contribuir a la disminución de la capacidad antioxidante observada en la primera semana para pecíolos de apio almacenados a 0 y 10°C.

Con respecto a la concentración de ácido ascórbico, y tal como fuera mencionado, se verificó un incremento en el día 14 a las tres temperaturas ensayadas. Al analizar la correlación existente entre la evolución del PA durante el almacenamiento refrigerado con el contenido de vitamina C, se hallaron los valores de coeficiente de correlación lineal ($p < 0,05$) que se muestran en la Tabla IV.3.2.

Tabla IV.3.2. Coeficientes de correlación lineal (Pearson) hallados entre las determinaciones de Poder Antioxidante y Acido ascórbico en apio trozado, almacenado a 0, 4 ó 10°C durante 28 días.

<i>Temperatura</i>	0°C	4°C	10°C
	<i>Acido ascórbico</i>		
Poder Antioxidante	0,764	0,959	0,652

La correlación existente deriva principalmente de los incrementos verificados tanto en el PA como en el contenido de ácido ascórbico a los 14 días de almacenamiento refrigerado.

Miller y Rice-Evans (1997) investigaron comparativamente el potencial antioxidante de jugos de manzana, naranja y arándanos y su relación con la composición de los mismos. Sugieren que los antioxidantes fenólicos presentes protegerían a la vitamina C de la degradación oxidativa. Señalaron particularmente que la actividad antioxidante del jugo de manzanas derivaría esencialmente del contenido de ácido clorogénico del mismo.

En nuestras experiencias con apio trozado, el valor del coeficiente de correlación lineal hallado entre el PA y el contenido de ácido clorogénico a 0°C (-0,774, $p < 0,05$) resultaría concordante con la observación anterior. A 4 y 10°C,

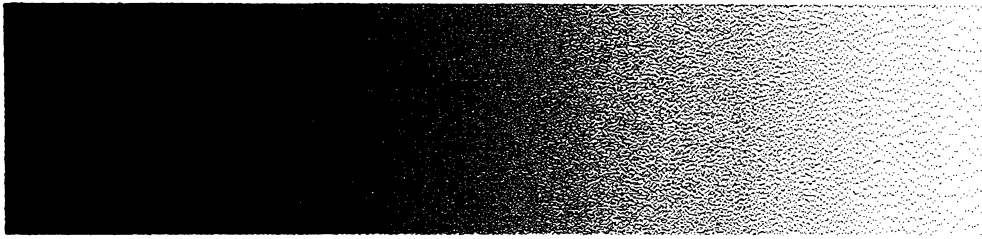
si bien existió buena correlación entre la evolución del PA y el contenido de ácido ascórbico, no se verificó la alta correlación negativa observada a 0°C entre la actividad antioxidante y los niveles de ácido clorogénico.

IV.4. CONCLUSIONES

- ✓ El contenido de vitamina C en apio trozado fue relativamente bajo (5-6 mg / 100 g de tejido fresco) en el inicio del almacenamiento. Su concentración se incrementó hacia los 14 días en cámara, tanto a 0, como a 4 y 10°C. El aumento fue mayor a medida que la temperatura fue más elevada y por ello podría considerarse como un indicio del grado de avance de la senescencia de los tejidos.

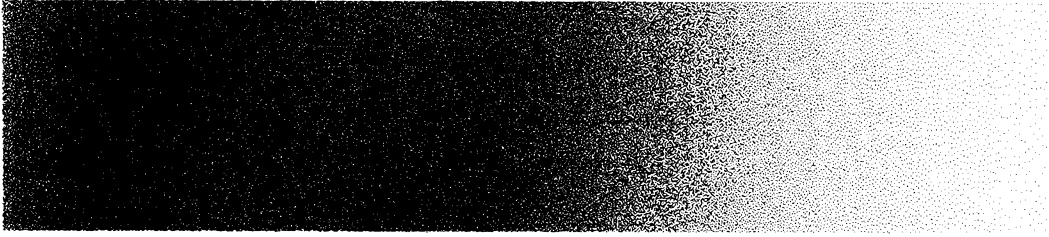
- ✓ La cinética de la reacción de inactivación del radical DPPH• a expensas de las sustancias antioxidantes del producto recién procesado correspondió a la curva típica de los compuestos fenólicos. En ella se produjeron disminuciones graduales en la concentración de dicho radical cromogénico, alcanzándose el estado estacionario luego de dos horas de iniciada la reacción.

- ✓ El Poder Antioxidante de apio trozado disminuyó inicialmente, a los 7 días de almacenamiento y se incrementó a las dos semanas de permanencia en cámara a las tres temperaturas ensayadas. Su evolución sería el resultado de interacciones complejas entre los diferentes grupos de compuestos fenólicos (ácido clorogénico, flavonoides, lignina, etc), el ácido ascórbico, el manitol y otros antioxidantes presentes.



CAPITULO V

EFFECTO DE TRATAMIENTOS FISICOS POSTPROCESAMIENTO SOBRE LA CONSERVACION DE APIO TROZADO



SECCION V.1

SELECCION DE TRATAMIENTOS

V.1.1 INTRODUCCION

V.1.1.1. Tecnologías aptas para la conservación de productos mínimamente procesados (PMP)

El término *preservación*, muy frecuentemente empleado en ciencias de los alimentos, describe en un sentido amplio los procedimientos utilizados para reducir la carga de algunas especies de microorganismos, como así también para inactivar parcial o totalmente determinados sistemas enzimáticos. Tales tratamientos pueden ser aplicados antes o después del envasado (Wiley, 1994). En el caso de hortalizas mínimamente procesadas, su finalidad es proveer la máxima seguridad alimentaria, mantener una calidad similar a la del producto fresco e incrementar sustancialmente la vida de estante (Wiley, 1994).

Muchas veces se ha discutido si el *envasado* es de por sí un método de preservación. Los envases juegan un papel fundamental en la conservación, distribución y comercialización de los alimentos. *Envase* es, según la Directiva Europea 94/62/CE, todo producto fabricado con cualquier material, de cualquier naturaleza, que se utilice para contener, proteger, manipular, distribuir y presentar mercaderías, desde materias primas hasta artículos acabados, y desde el fabricante hasta el usuario o consumidor (Cerdán de la Fuente et al., 2001).

Tal como surge de la definición anterior los envases cumplen las siguientes funciones: contener el alimento, protegerlo de las acciones físicas, químicas y microbiológicas, conservar la calidad y salubridad del mismo, evitar fraudes, acondicionar el producto para la manipulación comercial, presentarlo e identificarlo, informar al consumidor de las características del alimento, su vida útil, etc. (Catalá, 1997). Los productos hortifrutícolas mínimamente procesados son necesariamente manipulados en envases, independientemente de la creación ex profeso de una atmósfera modificada en su interior. El envasado constituye una barrera que protege estos productos de la contaminación externa y mantiene alta

humedad relativa en el interior, contribuyendo por ende a conservar la turgencia de los mismos (Viña, 2001).

Además del papel que cumple el envasado, existen diferentes alternativas para la conservación adecuada de vegetales mínimamente procesados. Es recomendable, en general, combinar dos o más tratamientos cuyos efectos sean sinérgicos (Huxsoll y Bolin, 1989). Los tratamientos comerciales postcosecha y los sistemas de preservación de alimentos aúnan frecuentemente la acción de varios métodos, enfoque que ha sido denominado “de vallas u obstáculos” (Hoover, 1997).

Tal como se mencionó con referencia al envasado, la *refrigeración* resulta ser una tecnología ineludible para PMP, tanto durante su obtención como en las etapas de distribución y venta. En la mayoría de los casos, cuanto más baja es la temperatura (sin descender por debajo del punto de congelación), mayor es la prolongación del período de conservación, excepto en aquéllos productos susceptibles al daño por frío. Para aquéllas frutas y hortalizas que no son afectadas por bajas temperaturas, se considera que el rango óptimo está comprendido entre 0 y 4°C, pero es frecuente que los productos resulten expuestos a temperaturas muy superiores durante su distribución, debido a un mal manejo de los mismos (Viña, 2001).

El uso del calor como alternativa para la preservación de productos que conservan su carácter de frescos, tales como los PMP, implica el empleo de temperaturas más bajas y tiempos más reducidos que en el caso de los tratamientos tradicionales de blanqueado, pasteurización, cocción o esterilización utilizados en otros tipos de alimentos (Hoover, 1997). Ello es debido a la necesidad de no alterar profundamente la calidad sensorial y nutricional de los PMP.

De esta forma se han desarrollado para productos hortifrutícolas *tratamientos térmicos* que, en un principio, se clasificaron en *cortos* (hasta 60 minutos en agua a 45-60°C) y *largos* (12 horas a 4 días en aire a 38-46°C) (Schirra et al., 2000).

Actualmente se han multiplicado las combinaciones de tiempo y temperaturas empleadas, según los productos considerados y los objetivos perseguidos.

Otras tecnologías comprenden el *envasado en atmósfera modificada*, la *irradiación*, el uso de *recubrimientos y películas comestibles*, *envases activos* y distintos tipos de *preservantes* (sustancias químicas antioxidantes, acidulantes, bacteriocinas, enzimas antimicrobianas), etc. (Hoover, 1997).

Entre las tecnologías postcosecha disponibles para prolongar la vida de estante y reducir los efectos del daño en productos mínimamente procesados es importante destacar el beneficio de los llamados *tratamientos físicos*, ya que los mismos son considerados *tecnologías limpias*. Entendemos como tales a aquéllas que implican la reducción del uso de aditivos y preservantes químicos en los alimentos, que normalmente poseen algún efecto residual y/o secundario.

Los *tratamientos físicos* tradicionales comprenden principalmente a la *modificación de la atmósfera* y a los *tratamientos térmicos*. Asimismo engloban una serie de tecnologías alternativas no térmicas que han sido investigadas intensivamente en los últimos 30 años, en la búsqueda de nuevas herramientas que conduzcan a la inactivación de microorganismos. Según Lado y Yousef (2002) estas tecnologías emergentes abarcan a:

- *Tratamientos de alta presión*: los alimentos son expuestos a elevadas presiones hidrostáticas (hasta 1.000 MPa) durante pocos minutos.
- *Aplicación de pulsos eléctricos*: se basa en suministrar pulsos a altas intensidades de campo eléctrico ($5-55 \text{ kV cm}^{-1}$) durante algunos milisegundos. Cabe aclarar que el diseño actual de las cámaras para tratamientos de este tipo no permite el procesamiento de alimentos sólidos (Lado y Yousef, 2002), pero los mismos han sido aplicados en jugos de frutas.
- *Radiaciones ionizantes*: reúnen mayormente a las radiaciones gamma y a los haces electrónicos, que generan dosis comprendidas entre 2 y 10 kGy.

- *Empleo de energía ultravioleta (UV)*: se trata de radiación no ionizante con propiedades germicidas, trabajando a longitudes de onda en el rango de 200-280 nm.

Las mayores ventajas, desde un punto de vista operativo y por una menor estructura de costos, las reúnen el envasado en atmósfera modificada y los tratamientos térmicos, siempre utilizados como complementos de la refrigeración.

V.1.1.2. Envasado en atmósfera modificada

El fundamento de envasar y/o almacenar frutas y hortalizas en atmósferas modificadas reside en crear, por distintos medios, una composición gaseosa en el ambiente que rodea al producto diferente de la normal. Generalmente dicha atmósfera resulta enriquecida en CO₂ y presenta un nivel inferior de O₂. Esto reduce la tasa respiratoria del material vegetal y de los microorganismos presentes, con efectos positivos sobre la conservación y el retardo de la senescencia.

Cuando nos referimos al *envasado en atmósfera modificada (EAM)* hablamos de un procedimiento que permite prolongar la vida comercial de un producto, variando las concentraciones de CO₂ y O₂ en la atmósfera circundante, lo cual se logra a través del empleo de películas plásticas con permeabilidad selectiva a los gases. Ello resulta en un balance entre el CO₂ y el O₂ involucrados en la actividad respiratoria del propio producto, la permeabilidad del film empleado, el peso del vegetal colocado en el interior y la superficie de intercambio, dada por el tamaño y forma del envase. A este mecanismo se lo conoce como *atmósfera modificada pasiva* y es evidente su factibilidad de aplicación al envasado de productos IV Gama.

En la Figura V.1.1.1 se esquematizan los procesos que acontecen en el EAM de productos mínimamente procesados.

Virtualmente todos los productos listos para usar son necesariamente manipulados bajo sistemas de EAM, a fin de conseguir el lapso de vida postcosecha necesario (Brecht et al., 2003).

En el diseño de un sistema de EAM es necesario considerar las características de fabricación de cada película (composición del polímero, grosor, relación de capas, facilidad de impresión, etc.) y factores inherentes al producto tales como la atmósfera óptima que se desea alcanzar, la velocidad de consumo de O_2 , la temperatura de almacenamiento, la relación entre volumen de producto y área superficial, etc. (Lange, 2000).

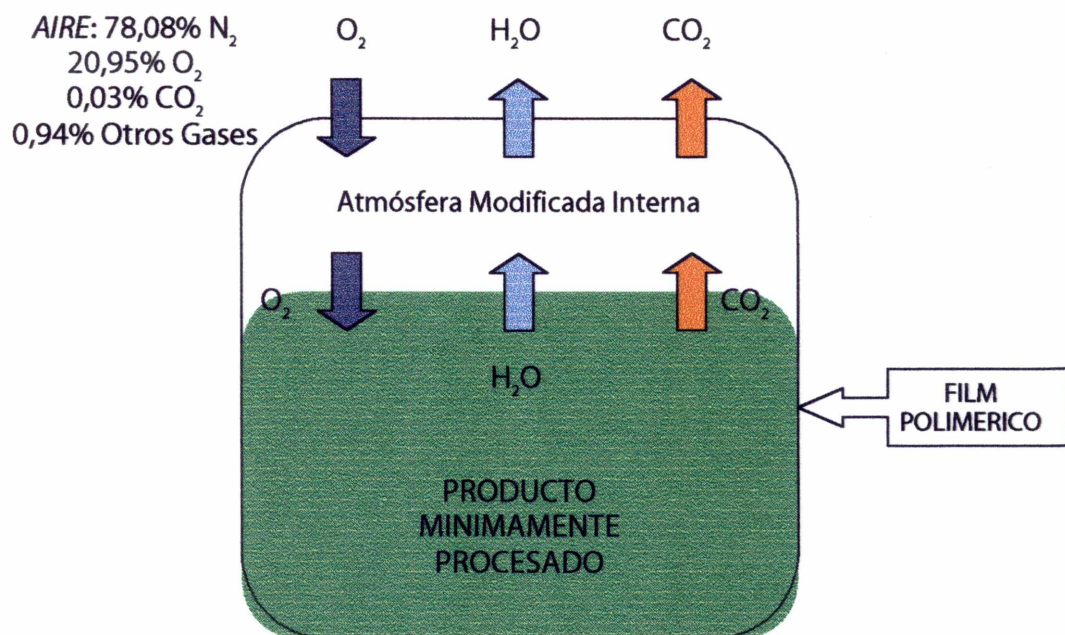


Figura V.1.1.1. Diagrama mostrando el intercambio gaseoso producido durante el establecimiento de un sistema de envasado en atmósfera modificada pasiva para productos mínimamente procesados.

Otra alternativa para el EAM es la llamada *atmósfera modificada activa*, que consiste en aplicar vacío en el interior de los envases, a fin de remover la atmósfera

preexistente e inyectar luego directamente la mezcla con las concentraciones gaseosas deseadas. Aunque el establecimiento activo de una atmósfera implica un costo adicional, su principal ventaja es que asegura la rápida consecución de la misma (Kader y Watkins, 2000).

Además de los gases constituyentes de la mezcla (CO_2 , O_2 , N_2) pueden agregarse, dentro del mismo envase, sustancias absorbentes o adsorbentes que capturen O_2 , CO_2 y/o etileno (C_2H_4).

Los absorbedores de C_2H_4 contribuyen a retardar el aumento climatérico en la respiración asociado con la maduración de ciertos frutos. Los absorbedores de CO_2 impiden que este gas se incremente hasta niveles causantes de daño, situación que puede producirse con algunos productos durante la modificación pasiva de la atmósfera de envasado (Kader y Watkins, 2000).

Asimismo pueden emplearse niveles de O_2 superatmosféricos (por encima del 21%) junto con concentraciones fungistáticas de CO_2 (mayores al 15%), para un grupo restringido de frutas y hortalizas que no toleran atmósferas con alta proporción de CO_2 cuando se las combina con aire o concentraciones bajas de O_2 (Kader y Watkins, 2000).

Existen algunos antecedentes donde se ha planteado el reemplazo de N_2 por argón, helio u otros gases nobles (Kader y Watkins, 2000).

Con respecto a las películas plásticas empleadas, diversos tipos se encuentran disponibles para el envasado, pero relativamente pocas han sido utilizadas para el caso de productos frescos.

Debido a que el contenido de O_2 en el EAM se puede reducir desde un 21% en el ambiente hasta un 2-5% dentro del envase, existe el peligro de que el CO_2 se incremente desde un 0,03% (concentración correspondiente al aire) hasta un 16-19% en el espacio interior. Esto es así ya que, normalmente, la relación entre el CO_2 producido y el O_2 consumido es igual a 1. Dado que estos niveles de CO_2 pueden

causar lesiones a los tejidos y/o efectos indeseables, las películas empleadas deberán ser entre 3-5 veces más permeables al CO₂ que al O₂, dependiendo de la atmósfera buscada. En la Tabla V.1.1.1 se muestran los valores de permeabilidad de las películas empleadas comúnmente para el EAM de productos hortifrutícolas.

El polietileno de baja densidad (LDP) el cloruro de polivinilo (PVC) y el polipropileno (PP) son los materiales usados principalmente para el envasado de frutas y hortalizas (Kader y Watkins, 2000). El poliestireno, el polivinilideno y el poliéster presentan permeabilidades a los gases tan reducidas que sólo serían adecuados para productos con tasas respiratorias muy bajas. Sin embargo, la perforación de estas películas puede expandir sus aplicaciones (Kader y Watkins, 2000).

Además de la creación de atmósferas modificadas, otros beneficios del envasado con películas plásticas incluyen el mantenimiento de altas humedades relativas y la reducción de la pérdida de agua, la protección contra la contaminación durante la manipulación de los productos, la minimización del efecto de abrasión por contacto, la reducción de la dispersión de enfermedades entre un producto y otro, el uso de las películas como portadores de fungicidas, absorbedores de etileno u otros productos químicos, etc. (Kader y Watkins, 2000).

En contraste, los efectos negativos incluyen el retardo en el enfriamiento de productos envasados y el aumento de la condensación de agua en el interior, estimulando el desarrollo microbiano (Kader y Watkins, 2000).

En todos los casos resulta fundamental investigar para cada producto en particular, cuáles son las concentraciones óptimas y cuáles son los valores límites de las mismas, ya que un aumento excesivo del nivel de CO₂ puede ocasionar daño fisiológico y otros efectos indeseables. Se ha postulado que la disolución de CO₂ aumentaría la acidez del medio celular, derivando en alteraciones fisiológicas. Las altas concentraciones de este gas inhiben también varias enzimas del ciclo de Krebs, incluyendo a la succinato deshidrogenasa. Ello estimularía la respiración

anaeróbica y llevaría a la acumulación de ácido succínico, sustancia potencialmente tóxica para determinados tejidos (Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2003).

Tabla V.1.1.1 Valores de permeabilidad a los gases de las películas disponibles para el envasado de productos frescos (Adaptado de Zagory y Kader, 1988).

Tipo de película	Permeabilidades		Relación de permeabilidades $CO_2: O_2$
	$cm^3 m^{-2} día^{-1} a 1 atm$		
	CO_2	O_2	
Polietileno baja densidad	7.700 – 77.000	3.900 – 13.000	2,0 – 5,9
Cloruro de polivinilo	4.263 – 8.138	620 – 2.248	3,6 – 6,9
Polipropileno	7.700 – 21.000	1.300 – 6400	3,3 – 5,9
Poliestireno	10.000 – 26.000	2.600 – 7.700	3,4 – 3,8
Polivinilideno	52 -150	8 -26	5,8 – 6,5
Poliéster	180 - 390	52 - 130	3,0 – 3,5

Asimismo un descenso exagerado de la proporción de O_2 implica los riesgos de incrementar la respiración anaeróbica, del desarrollo de aromas no característicos y de la estimulación del crecimiento de microorganismos con bajos requerimientos de O_2 (Zagory y Kader, 1988).

V.1.1.3. Tratamientos térmicos

Durante las décadas pasadas ha habido un interés creciente en el uso de tratamientos térmicos postcosecha para controlar insectos, prevenir podredumbres causadas por hongos y afectar la maduración o la respuesta a temperaturas extremas de productos no procesados (Lurie, 1998).

Existen básicamente tres métodos para la aplicación de estos tratamientos: *inmersión en agua caliente, calentamiento por vapor y uso de aire caliente* (Lurie, 1998).

La *inmersión en agua* es efectiva para el control de hongos patógenos, debido a que las esporas e infecciones latentes se encuentran usualmente en la superficie o en las primeras capas de células adyacentes a la epidermis de frutas y hortalizas (Lurie, 1998).

Muchos productos hortifrutícolas toleran temperaturas del agua de 50-60°C hasta 10 minutos, pero exposiciones más breves a estas temperaturas pueden controlar diversos patógenos vegetales durante la postcosecha (Lurie, 1998). La *inmersión en agua caliente* ha sido usada también para el control de insectos en frutos, pero en general se requieren tratamientos de mayor duración (una hora o más) y temperaturas inferiores a 50°C. La ventaja de esta alternativa es que el agua es un medio de transferencia de calor más eficiente que el aire (Lurie, 1998).

El *calentamiento con vapor* ha sido empleado principalmente en frutos y consiste en aplicar aire saturado con vapor de agua a temperaturas entre 40 y 50°C para matar huevos y larvas de insectos, a modo de tratamiento cuarentenario previo al ingreso de ciertos productos al mercado (Lurie, 1998). Su uso está siendo reconsiderado a partir de la progresiva eliminación del bromuro de metilo como fumigante.

Cuando se realizan tratamientos con *aire caliente*, éstos pueden ser aplicados ubicando el producto en una estufa a temperatura controlada o mediante circulación forzada de aire, a velocidades controladas. Se han utilizado para prevenir invasiones causadas por insectos y hongos. El aire calienta más lentamente que el agua o el vapor, por lo tanto los procedimientos en ese caso son más prolongados (1-3 e incluso 12 horas), a temperaturas comprendidas entre 38-46°C, dependiendo del producto considerado (Lurie, 1998).

El mecanismo mediante el cual un tratamiento térmico induce cambios fisiológicos en los tejidos, tales como la inhibición de la síntesis de etileno o de las enzimas que degradan las paredes celulares, estaría asociado a modificaciones en la expresión de genes y en la síntesis de proteínas. Por acción de las altas temperaturas el mRNA de los genes involucrados (por ejemplo) en la maduración de frutos desaparece, mientras que se acumula el relacionado a la síntesis de proteínas de estrés térmico (heat shock proteins, HSP).

Una de las respuestas inmediatas a temperaturas por encima de 35°C es la disociación y reorganización de polirribosomas existentes, originando estructuras que traducen preferencialmente el mRNA de las HSP. La síntesis de estas proteínas forma parte de las respuestas de los organismos al estrés térmico. Estudios llevados a cabo en diversos organismos han demostrado que la exposición a temperaturas elevadas pero no letales induce *termotolerancia*, implicando la protección contra una segunda exposición a temperaturas normalmente letales. Asimismo se ha comprobado que un estrés térmico puede acondicionar a los tejidos vegetales para tolerar con posterioridad la exposición a bajas temperaturas (Lurie, 1998).

La capacidad de una célula para sintetizar proteínas, si bien presenta cierta plasticidad, es finita y cualquier proceso que la ocupe preferencialmente prevendría, necesariamente, la síntesis de otras proteínas. Afortunadamente, parece existir un orden jerárquico en la respuesta de las células vegetales a ciertos tipos de estrés abiótico, siendo la réplica a determinado estímulo expresada preferencialmente en relación a otros (Saltveit, 2000).

Es decir que el fundamento de utilizar los tratamientos térmicos reside en someter los tejidos vegetales a un estrés controlado que los preparará o acondicionará para tolerar otros tipos de estrés, entre ellos el ocasionado por el corte y/o por las bajas temperaturas durante la conservación posterior.

Como contrapartida a las respuestas positivas frente al tratamiento térmico existe siempre el peligro de ocasionar daños tisulares. Por ello es complicado hallar la combinación óptima entre temperatura y tiempo de exposición para cada producto en particular, de acuerdo con los objetivos perseguidos (desinfestación, control de hongos, etc.).

Frente a procedimientos inadecuados, las lesiones pueden ser tanto externas como internas. En el primer caso puede producirse pardeamiento de la epidermis, punteado y/o amarilleamiento de hortalizas verdes como zucchinis o pepinos. Los daños causados por la temperatura pueden resultar incluso en un mayor desarrollo de enfermedades (Lurie, 1998).

Cuando los tejidos resultan afectados internamente, puede observarse un deficiente desarrollo de color, ablandamiento anormal y desarrollo de cavidades, como ocurre en mango y papaya (Lurie, 1998).

Loaiza-Velarde et al. (2003) han mencionado que en hortalizas con niveles inicialmente bajos de compuestos fenólicos preformados, tales como apio o lechuga, el pardeamiento resultaría de la síntesis inducida y la subsecuente acumulación de compuestos fenólicos. Señalaron asimismo que un tratamiento térmico que reduzca el pardeamiento en estos productos pre-cortados podría actuar redireccionando la síntesis de proteínas desde la producción de enzimas del metabolismo fenólico, inducidas por el daño, hacia la síntesis de HSP, que resultan inocuas para el organismo.

V.1.1.4. Empleo de radiación ultravioleta

La radiación ultravioleta (UV) es una parte de la región no ionizante del espectro electromagnético que comprende aproximadamente el 8-9% del total de la radiación solar. Se la divide tradicionalmente en tres rangos de longitud de onda: UV-C (200-280 nm), que es extremadamente nociva para los organismos, pero no relevante bajo condiciones naturales de irradiación solar; UV-B (280-320

nm), de interés particular debido a que representa sólo aproximadamente el 1,5% del total del espectro, pero puede inducir diversos efectos de daño en las plantas; y UV-A (320-400 nm), correspondiendo al 6,3% de la radiación solar recibida, es la porción menos peligrosa de la radiación UV (Hollósy, 2002).

Ha sido reiteradamente informado que la radiación UV-C afecta varios procesos fisiológicos en tejidos vegetales, y que más relevante aún es el hecho de que ocasiona daños en el ADN microbiano (Allende y Artés, 2003).

Por ello, la radiación UV ha sido empleada principalmente debido a sus efectos germicidas, induciendo modificaciones en diversas biomoléculas.

Los fotones UV presentan energía suficiente para destruir enlaces químicos causando reacciones fotoquímicas. Su efecto biológico es debido a estos procesos (Kovács y Keresztes, 2002).

La radiación UV-C es usada principalmente como un tratamiento de superficie debido a que penetra sólo 50-300 nm dentro de los tejidos (Maharaj et al., 1999).

El ADN es uno de los componentes celulares más afectado por la radiación UV. Tanto las regiones UV-B como UV-C pueden generar una multitud de fotoproductos derivados del ADN, capaces de producir mutaciones durante la replicación (Hollósy, 2002).

Asimismo, las proteínas presentan una fuerte absorción a 280 nm, como así también a longitudes de onda mayores en la región UV-B, debida a la presencia de los aminoácidos aromáticos fenilalanina, triptofano y tirosina, además de histidina, y cisteína. Por tal razón las moléculas proteicas pueden ser sitios de acción de la radiación UV. Los puentes disulfuro son importantes en el mantenimiento de la estructura terciaria de muchas proteínas y los efectos del UV-B sobre estos enlaces puede influenciar fuertemente la estructura y función de las mismas (Hollósy, 2002).

Los lípidos con dobles ligaduras aisladas o conjugadas pueden ser también modificados fotoquímicamente mediante absorción de radiación UV. La misma afecta especialmente a los fosfo y glicolípidos, que son los principales componentes de las membranas celulares y contienen ácidos grasos insaturados que pueden ser destruídos por la radiación UV en presencia de oxígeno (Hollósy, 2002).

La luz UV puede además estar involucrada en reacciones de fotooxidación en plantas a través de la producción de radicales libres, con efectos deletéreos. Dichos radicales, junto con los superóxidos pueden atacar las membranas celulares, ácidos nucleicos, paredes celulares y enzimas, ocasionando la aceleración de la senescencia (Maharaj et al., 1999).

Por otra parte, diversos estudios han señalado que la luz UV-C es un elicitador de fitoalexinas, compuestos importantes en la resistencia a enfermedades en muchas especies vegetales, incluyendo resveratrol en uvas, hidroxifaseolina en hipocótilos de soja, etc. (Langcake y Pryce, 1977; Bridge y Klarman, 1973).

Las plantas cuentan con diversos medios de defensa contra la radiación UV, incluyendo estructuras protectoras tales como pelos y ceras, mecanismos enzimáticos para la reparación del daño al ADN o al aparato fotosintético y para la eliminación de radicales activos. Asimismo existen varios procesos no enzimáticos con funciones de protección, entre los que puede mencionarse a la acción de la vitamina E (α -tocoferol), glutatión, flavonoides y poliaminas (Hollósy, 2002).

Como se ha visto, la radiación UV-C es normalmente nociva para los tejidos vegetales. Sin embargo, a dosis bajas puede producir efectos beneficiosos en productos hortícolas. Este fenómeno es conocido como *hormesis* (estimulación de respuestas positivas mediante niveles bajos o controlados de factores de estrés, que de otra forma serían perjudiciales) (Calabrese et al., 1987).

Este sería el fundamento de la aplicación de radiación UV-C como tratamiento fotoquímico postcosecha para reducir la pérdida de calidad o prolongar la vida de almacenamiento en productos hortifrutícolas.

La presente Sección trata sobre la selección de tratamientos físicos aplicados luego del procesamiento de apio trozado, en base a su incidencia en ciertos aspectos considerados relevantes para la calidad del producto, básicamente en la evaluación global de características sensoriales, el color superficial y la textura.

V.1.2. MATERIALES Y METODOS

V.1.2.1. Material vegetal

El material vegetal utilizado en la conducción de las experiencias corresponde al descrito en la Sección I.2.1 del Capítulo I.

V.1.2.2. Procesamiento

El procesamiento de las plantas se realizó según lo indicado en la Sección I.2.2 del Capítulo I.

V.1.2.3. Tratamientos aplicados y condiciones de almacenamiento ensayadas

Entre los tratamientos ensayados figuran la aplicación de *radiación UV*, el *envasado en atmósferas modificadas* y la utilización de *tratamientos térmicos*, mediante dos variantes: *inmersión en agua* y *calentamiento con aire seco (en estufa)*.

V.1.2.3.1. Tratamientos con radiación UV

Una vez procesado el material (Sección I.2.2, Capítulo I), se distribuyó el mismo en bandejas de polietileno cristal (15 x 10 x 5 cm), conteniendo cada una alrededor de 85 g de producto. Se redujo el peso de material contenido en cada bandeja, ya que se tomó la precaución de distribuir los trozos en una sola capa, a fin de lograr la mayor efectividad de los tratamientos UV.

Se realizaron los siguientes tratamientos:

- *Testigo sin inmersión en agua clorada (T)*: se realizó el procesamiento tradicional ya descrito (Sección I.2.2, Capítulo I), pero no se procedió a la desinfección por inmersión en agua clorada.
- *Testigo con inmersión en agua clorada (TCC)*: se realizó el procesamiento tradicional ya descrito (Sección I.2.2, Capítulo I), incluyendo la desinfección por

inmersión en agua clorada (100 ppm de cloro activo, 8°C, pH 6-6,5) durante tres minutos.

- *Tratamiento UV5*: se aplicó una dosis de 5 kJ m^{-2} sobre la cara cóncava de los trozos de apio contenidos en las bandejas, lo que implicó un tiempo de exposición de 5 min 20 seg. Una vez finalizado el tratamiento, se procedió a girar los trozos y repetir la aplicación, pero esta vez sobre la cara convexa de los mismos.

- *Tratamiento UV10*: se aplicó una dosis de 10 kJ m^{-2} sobre la cara cóncava de los trozos de apio contenidos en las bandejas, lo que implicó un tiempo de exposición de 10 min 40 seg. Una vez finalizado el tratamiento, se procedió a girar los trozos y repetir la aplicación, pero esta vez sobre la cara convexa de los mismos.

- *Tratamiento UV15*: se aplicó una dosis de 15 kJ m^{-2} sobre la cara cóncava de los trozos de apio contenidos en las bandejas, lo que implicó un tiempo de exposición de 15 min 30 seg. Una vez finalizado el tratamiento, se procedió a girar los trozos y repetir la aplicación, pero esta vez sobre la cara convexa de los mismos.

Todos los tratamientos con radiación UV fueron efectuados a una longitud de onda de 254 nm, colocando las bandejas a aproximadamente 30 cm de la fuente UV. El nivel de radiación aplicado se midió con un radiómetro. Se utilizaron un total de 10 bandejas para cada uno de los tratamientos ensayados.

Luego de aplicadas las dosis descritas las bandejas se recubrieron con una película de PVC autoadherente (10 μm de espesor; permeabilidad al O_2 $11.232 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ atm}^{-1} \text{ día}^{-1}$; permeabilidad al CO_2 $48.552 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ atm}^{-1} \text{ día}^{-1}$; permeabilidad al vapor de H_2O $40 \text{ g m}^{-2} \text{ día}^{-1}$).

En este caso las muestras fueron almacenadas a 20°C durante 0, 3 y 6 días, a fin de acelerar la manifestación de daños.

V.1.2.3.2. Empleo de atmósferas modificadas

Una vez procesado el material (Sección I.2.2, Capítulo I), se procedió a envasarlo en bandejas de polietileno cristal (15 x 10 x 5 cm), conteniendo cada una alrededor de 175 g de producto. Se utilizaron tres películas diferentes: PVC (testigo), PD941 (Cryovac®) y PD961 (Cryovac®). Las características de las mismas fueron las siguientes:

- PVC: 10 μm de espesor; permeabilidad al O_2 11.232 $\text{cm}^3 \text{m}^{-2} \text{atm}^{-1} \text{día}^{-1}$; permeabilidad al CO_2 48.552 $\text{cm}^3 \text{m}^{-2} \text{atm}^{-1} \text{día}^{-1}$; permeabilidad al vapor de H_2O 40 $\text{g m}^{-2} \text{día}^{-1}$. Los valores de permeabilidad corresponden a una temperatura de 23°C.

- PD941(Cryovac®): 18 μm de espesor; permeabilidad al O_2 16.500 $\text{cm}^3 \text{m}^{-2} \text{atm}^{-1} \text{día}^{-1}$; permeabilidad al CO_2 30.000 $\text{cm}^3 \text{m}^{-2} \text{atm}^{-1} \text{día}^{-1}$; permeabilidad al vapor de H_2O 77,52 $\text{g m}^{-2} \text{día}^{-1}$. Los valores de permeabilidad corresponden a una temperatura de 23°C.

- PD961(Cryovac®): 18 μm de espesor; permeabilidad al O_2 7.000 $\text{cm}^3 \text{m}^{-2} \text{atm}^{-1} \text{día}^{-1}$; permeabilidad al CO_2 21.000 $\text{cm}^3 \text{m}^{-2} \text{atm}^{-1} \text{día}^{-1}$; permeabilidad al vapor de H_2O 14-17 $\text{g m}^{-2} \text{día}^{-1}$ (100%HR). Los valores de permeabilidad corresponden a una temperatura de 23°C.

Se trabajó con un total de 15 bandejas para cada uno de los tratamientos señalados. Las mismas fueron almacenadas en cámaras refrigeradas a 0°C durante 28 días, tomando muestras para su análisis a intervalos semanales.

V.1.2.3.3. Tratamientos térmicos por inmersión en agua

a) Con almacenamiento a 20°C

Las plantas de apio fueron procesadas según se describió en la Sección I.2.2 del Capítulo I. Previo a efectuar la desinfección con agua clorada, se realizaron los tratamientos térmicos por inmersión en agua caliente, según el siguiente detalle:

- *Testigo (T): sin tratamiento térmico.*
- *Tratamiento térmico por inmersión en agua a 45°C durante 120 segundos (TTI 1).*
- *Tratamiento térmico por inmersión en agua a 50°C durante 90 segundos (TTI 2).*
- *Tratamiento térmico por inmersión en agua a 55°C durante 60 segundos (TTI 3).*

Para estos tratamientos se utilizó un baño termostático con agitación permanente, empleando agua destilada como medio de calentamiento. Los trozos de apio fueron colocados en una canastilla plástica y permanecieron inmersos durante los tiempos establecidos. Seguidamente se sumergieron en agua clorada fría (100 ppm de cloro activo, 8°C, pH 6-6,5) durante tres minutos, a efectos de su enfriamiento y desinfección.

Luego de eliminar el agua en exceso, escurriendo los trozos sobre toallas de papel absorbente, se procedió a envasar el producto en bandejas de polietileno cristal (15 x 10 x 5 cm), conteniendo cada una alrededor de 85 g de producto. Se redujo el peso de material contenido en cada bandeja, a fin de mantener condiciones de envasado similares a las utilizadas para los tratamientos UV. La película de envasado utilizada fue PVC autoadherente (10 μm de espesor; permeabilidad al O_2 11.232 $\text{cm}^3 \text{m}^{-2} \text{atm}^{-1} \text{día}^{-1}$; permeabilidad al CO_2 48.552 $\text{cm}^3 \text{m}^{-2} \text{atm}^{-1} \text{día}^{-1}$; permeabilidad al vapor de H_2O 40 $\text{g m}^{-2} \text{día}^{-1}$).

Se utilizó un total de 10 bandejas para cada uno de los tratamientos ensayados. El almacenamiento se efectuó a 20°C durante 0, 3 y 6 días, a fin de acelerar la manifestación de daños.

b) Con almacenamiento a 0°C

Se realizaron experiencias de aplicación de tratamientos térmicos donde se incorporó el almacenamiento posterior de las muestras a la temperatura óptima de conservación (0°C) durante períodos prolongados.

Los tratamientos seleccionados en este caso fueron:

- *Testigo (T)*: sin tratamiento térmico.
- *Tratamiento térmico por inmersión en agua a 50°C durante 90 segundos (TTI 4)*.
- *Tratamiento térmico por inmersión en agua a 55°C durante 30 segundos (TTI 5)*.

Luego de aplicados los tratamientos térmicos, el envasado del producto se realizó según lo descrito en el apartado a) de la presente Sección.

Como ya se mencionó las bandejas fueron almacenadas durante 28 días a 0°C, tomando muestras para su análisis a intervalos semanales.

V.1.2.3.4. Tratamientos térmicos con aire seco

Las plantas de apio fueron procesadas según se describió en la Sección I.2.2 del Capítulo I. Luego de efectuar la desinfección con agua clorada, se realizaron los tratamientos térmicos mediante aire caliente en estufa, según el siguiente detalle:

- *Testigo (T)*: sin tratamiento térmico.
- *Tratamiento térmico en estufa a 48°C durante 60 minutos (TTE 1)*.
- *Tratamiento térmico en estufa a 50°C durante 20 minutos (TTE 2)*.

Una vez finalizados los tratamientos, las muestras se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se procedió a envasarlas en bandejas de polietileno cristal (15 x 10 x 5 cm), conteniendo cada una alrededor de 85 g de producto. La película de envasado empleada fue PVC autoadherente, cuyas características fueron detalladas en el apartado a) de la Sección V.1.2.3.3.

Se utilizó un total de 15 bandejas para cada uno de los tratamientos ensayados. El almacenamiento se efectuó a 0°C durante 0, 7, 14, 21 y 28 días.

V.1.2.4. Determinaciones

V.1.2.4.1. Evaluación de características sensoriales

La misma se realizó de acuerdo con lo descrito en la Sección 1.2.4.1 del Capítulo I, elaborando un análisis descriptivo de las muestras. Esta determinación se efectuó en todos los tipos de tratamientos ensayados.

V.1.2.4.2. Composición de la atmósfera en el interior de los envases

Se efectuó según lo informado en la Sección 1.2.4.3 del Capítulo I, para los tratamientos correspondientes a *envasado en atmósfera modificada*.

V.1.2.4.3. Pérdida de Peso (PP)

Se procedió tal como consta en la Sección 1.2.4.4 del Capítulo I.

V.1.2.4.4. Color superficial

La medición del color superficial se llevó a cabo por el procedimiento descrito en la Sección 1.2.4.5 del Capítulo I. Se tomó como representativo el valor correspondiente al ángulo de color (hue, h°) de la escala CIE. Esta determinación se efectuó en todos los tipos de tratamientos ensayados.

V.1.2.4.5. Textura

Las determinaciones de textura se llevaron a cabo mediante los ensayos de cortes transversales y de compresión, de acuerdo con los procedimientos descritos en las Secciones 11.2.4.1.1.a y 11.2.4.1.2 del Capítulo II, respectivamente. El instrumental utilizado en ambos tipos de ensayo fue el TA-XT2i Texture Analyser, equipado con el programa computacional para análisis de textura Texture Expert.

Las mediciones fueron realizadas en las experiencias donde se aplicó envasado en atmósferas modificadas y tratamientos térmicos (por inmersión y por calentamiento en estufa).

V.1.2. 5. Diseño experimental y análisis de resultados

Las experiencias fueron realizadas según un diseño factorial.

En el caso de los tratamientos UV los factores fueron las dosis aplicadas (4 niveles) y el tiempo de almacenamiento a 20°C (3 niveles).

Para el envasado en atmósfera modificada los niveles fueron las películas ensayadas (3 niveles) y el tiempo de almacenamiento a 0°C (5 niveles).

Para los tratamientos térmicos por inmersión en agua caliente seguidos de almacenamiento a 20°C, los factores fueron los tratamientos realizados (4 niveles) y el tiempo de almacenamiento (3 niveles).

Para los tratamientos térmicos por inmersión en agua caliente seguidos de almacenamiento a 0°C, los factores fueron los tratamientos realizados (3 niveles) y el tiempo de almacenamiento (5 niveles).

En el caso de los tratamientos térmicos con aire seco, los factores fueron los tratamientos aplicados (3 niveles) y el tiempo de almacenamiento a 0°C (5 niveles).

Los datos fueron sometidos al análisis de varianza (ANOVA) correspondiente. La comparación de las medias se efectuó con el test de la Diferencia Mínima Significativa (LSD) utilizando un grado de significación $p=0,05$.

La Tabla V.1.2.1 resume los diferentes tratamientos y almacenamientos ensayados, con la nomenclatura que se utilizará para los mismos de aquí en adelante.

Tabla V.1.2.1. Nomenclatura utilizada para designar los distintos tratamientos y modalidades de almacenamiento ensayados.

Nomenclatura	Tratamiento aplicado	Envasado	Almacenamiento
T	Testigo procesado tradicionalmente sin desinfección con agua clorada	Bandejas de polietileno cristal (15 x 10 x 5 cm), conteniendo 85 g de producto. Película de envasado: PVC	0, 3 y 6 días a 20°C.
TCC	Testigo procesado tradicionalmente, incluyendo desinfección en agua clorada		
UV5	Radiación UV. Dosis 5 kJ m ⁻²		
UV10	Radiación UV. Dosis 10 kJ m ⁻²		
UV15	Radiación UV. Dosis 15 kJ m ⁻²		
PVC	Testigo	Bandejas de polietileno cristal (15 x 10 x 5 cm), conteniendo 175 g de producto. Película de envasado: PVC.	0, 7, 14, 21 y 28 días a 0°C
PD 941	Envasado en Atmósfera Modificada	Bandejas de polietileno cristal (15 x 10 x 5 cm), conteniendo 175 g de producto. Película de envasado: PD 941.	
PD 961	Envasado en Atmósfera Modificada	Bandejas de polietileno cristal (15 x 10 x 5 cm), conteniendo 175 g de producto. Película de envasado: PD 961.	
T	Testigo no tratado	Bandejas de polietileno cristal (15 x 10 x 5 cm), conteniendo 85 g de producto. Película de envasado: PVC	0, 3 y 6 días a 20°C.
TTI 1	Tratamiento Térmico por Inmersión en agua a 45°C, 120 segundos		
TTI 2	Tratamiento Térmico por Inmersión en agua a 50°C, 90 segundos		
TTI 3	Tratamiento Térmico por Inmersión en agua a 55°C, 60 segundos		
T	Testigo no tratado	Bandejas de polietileno cristal (15 x 10 x 5 cm), conteniendo 175 g de producto. Película de envasado: PVC	0, 7, 14, 21 y 28 días a 0°C
TTI 4	Tratamiento Térmico por Inmersión en agua a 50°C, 90 segundos		
TTI 5	Tratamiento Térmico por Inmersión en agua a 55°C, 30 segundos		

Tabla V.1.2.1 (continuación). Nomenclatura utilizada para designar los distintos tratamientos y modalidades de almacenamiento ensayados.

Nomenclatura	Tratamiento aplicado	Envasado	Almacenamiento
T	Testigo no tratado	Bandejas de polietileno cristal (15 x 10 x 5 cm), conteniendo 175 g de producto. Película de envasado: PVC	0, 7, 14, 21 y 28 días a 0°C
TTE 1	Tratamiento Térmico en Estufa a 48°C, 60 minutos		
TTE 2	Tratamiento Térmico en Estufa a 50°C, 20 minutos		

V.1.3. RESULTADOS Y DISCUSION

V.1.3.1. Tratamientos UV

Las experiencias destinadas a evaluar la aplicación de tratamientos UV se realizaron almacenando el producto a 20°C con el fin de observar el efecto de los mismos sobre el desarrollo de enfermedades y daños, principalmente.

V.1.3.1.1. Evaluación de características sensoriales

Los principales tipos de daño que se observaron en los ensayos con tratamientos UV fueron el desarrollo de pardeamiento, podredumbres, olores no característicos y amarilleamiento. El grado de afección del producto sometido a los diferentes tratamientos se muestra en la Tabla V.1.3.1.

En lo que respecta a pardeamiento, a diferencia de las manifestaciones típicas de este fenómeno observadas hasta aquí y que fueron descritas en la Sección I.3.1 del Capítulo I, toda la superficie de los trozos de las muestras irradiadas se pardearon, particularmente las caras cóncavas de los mismos. Este daño fue muy evidente ya al cabo de 24 horas después de haber aplicado los tratamientos.

Se observó que la incidencia de pardeamiento aumentó considerablemente cuanto mayor fue la dosis de radiación UV aplicada y que dicho fenómeno resultó más evidente a medida que transcurrió el tiempo de permanencia a 20°C.

Se realizaron experiencias complementarias almacenando material irradiado a 0°C y se observó que también a esta temperatura se manifestaba rápidamente el pardeamiento (dentro de las 24-48 horas en cámara).

Es sabido que los pigmentos fotosintéticos pueden ser destruidos por la radiación UV, con la pérdida concomitante de la capacidad fotosintética (Hollósy,

2002). Las clorofilas y los carotenoides resultan afectados adversamente por cantidades relativamente grandes de radiación, siendo estos últimos en general menos dañados que las clorofilas (Pfündel et al., 1992).

Tabla V.1.3.1. Incidencia de daños en apio trozado irradiado con UV y almacenado durante 6 días a 20°C.

Días a 20°C	Tipo de daño	T	TCC	UV5	UV10	UV15
3	Pardeamiento	---	---	13%	26%	44%
	Podredumbres	25%	10%	14%	12%	18%
	Olor no característico	---	---	---	+	+
	Amarilleamiento	+	+	---	---	---
6	Pardeamiento	---	---	47%	68%	100%
	Podredumbres	96%	42%	52%	39%	76%
	Olor no característico	+	---	+	+	++
	Amarilleamiento	++	++	---	---	---

T: Testigo no irradiado y no desinfectado; TCC: Testigo no irradiado, desinfectado por inmersión en agua clorada; UV5: Tratamiento UV 5 kJ m⁻²; UV10: Tratamiento UV 10 kJ m⁻²; UV15: Tratamiento UV 15 kJ m⁻²; ---: producto no afectado; +: producto medianamente afectado; ++: producto muy afectado. Nota: los valores porcentuales se calcularon en base al número de trozos afectados por el tipo de daño en cuestión y el número total de trozos inspeccionados en cada punto de muestreo.

De acuerdo con lo observado en nuestras experiencias con pecíolos de apio irradiados, el pardeamiento no sería consecuencia exclusiva de alteraciones en la estructura química de las clorofilas que originen productos de degradación de las mismas, con un color típicamente amarronado. Esto lo comprueba el hecho de que en la cara cóncava de los trozos, donde no existe acumulación de clorofilas y

los tejidos son originariamente blancos, también se desarrolló este tipo de manifestación.

Cabe destacar que el pardeamiento constituyó el más severo de los daños apreciados durante la aplicación de tratamientos UV, aún con la dosis más baja utilizada (5 kJ m^{-2}).

Maharaj et al. (1999) encontraron que la aplicación de radiación UV-C en tomates redujo la pérdida de color verde en relación a los controles, durante 28 días de almacenamiento a 16°C . Sin embargo la dosis más elevada que utilizaron ($24,4 \text{ kJ m}^{-2}$) también indujo un pardeamiento anormal de la superficie a partir de 21 días de conservación.

Volviendo a los resultados hallados en nuestras experiencias, se determinó que las enfermedades desarrolladas en apio mínimamente procesado (muestras controles y tratadas con UV) correspondieron principalmente al tipo de las podredumbres blandas o húmedas.

La mayor incidencia se produjo en las muestras que no recibieron ningún tipo de desinfección, ya sea por inmersión en agua clorada o por irradiación con UV (Tabla V.1.3.1).

La desinfección con cloro y el tratamiento UV10 mostraron un grado similar de control de las podredumbres. El tratamiento UV5 fue ligeramente menos efectivo al respecto y el UV15 no controló adecuadamente el desarrollo de patógenos. Esta última dosis podría haber inducido un mayor daño en los tejidos y particularmente en las membranas, resultando en una mayor susceptibilidad al ataque de enfermedades.

Cuando se hace referencia a la producción de olores no característicos, concuerda con lo mencionado oportunamente en la Sección I.3.1 del Capítulo I, en la descripción de las muestras conservadas por más de 21 días a 10°C . Correspondió a un aroma similar al de la cumarina, relacionándose posiblemente

con la producción de furanocumarinas lineales, sustancias que actúan como fitoalexinas en apio.

La mayor inducción la ocasionó el tratamiento UV15. Ello podría relacionarse con una estimulación de la síntesis y acumulación de este tipo de sustancias que cumplen funciones de defensa en apio y otras especies de Umbellíferas. Al respecto, Trumble et al. (1992) indicaron que entre los factores que inducen estrés y promueven incrementos en las concentraciones de furanocumarinas en apio figuran la luz UV, además de las bajas temperaturas, el daño mecánico, etc.

Con respecto al amarilleamiento, éste fue observado exclusivamente en las muestras testigo, con o sin desinfección en agua clorada, daño que resulta muy evidente aún en cortos períodos de almacenamiento a 20°C, por la rápida degradación de clorofilas ocurrida. Los trozos irradiados conservaron un tinte verde, pero no resultó ser el color típico de la clorofila, ya que por efecto del pardeamiento correspondió a un verde-amarillado. El color desarrollado en las muestras tratadas con UV distó mucho del color característico del producto fresco.

V.1.3.1.2. Pérdida de peso

En los valores registrados para la pérdida de peso de las bandejas no hubo diferencias significativas entre los diferentes tratamientos y las muestras control ($p < 0,05$).

Después de transcurridos 3 días a 20°C, la pérdida de peso sufrida estuvo comprendida entre 1,9 y 2,9%. Al cabo de 6 días, los valores medidos correspondieron al intervalo 4,1 – 5,6%.

V.1.3.1.3. Color superficial

La evolución del color superficial de apio trozado sometido a diferentes tratamientos con luz UV se muestran en la Figura V.1.3.1. La caracterización se realizó en base al ángulo de color (hue, h°), que en todos los casos disminuyó a medida que transcurrió el tiempo de permanencia a 20°C.

Se observó que no existieron diferencias significativas ($p > 0,05$) en el color de los trozos que no recibieron ningún tipo de tratamiento de desinfección (testigo, T) y los tratados por inmersión en agua clorada (TCC), tanto en el inicio como durante el almacenamiento a 20°C. Al cabo de 6 días el h° disminuyó aproximadamente un 9% con respecto al inicio, indicando el amarilleamiento de los pecíolos.

Tampoco existió diferencia apreciable en el color de los controles y las muestras irradiadas, inmediatamente después de aplicado el tratamiento.

Sin embargo la evolución del h° durante la permanencia a 20°C fue diferente al considerar los tratamientos de irradiación UV.

Con 5, 10 ó 15 kJ m^{-2} se observó que el h° fue significativamente superior al de los controles durante todo el período a 20°C, alcanzando valores 4-5% más altos con respecto a los mismos.

Estas variaciones en el h° corroboran que el amarilleamiento fue mayor tanto en las muestras que no recibieron ningún tipo de tratamiento como en las desinfectadas con agua clorada, en comparación con los tratamientos UV.

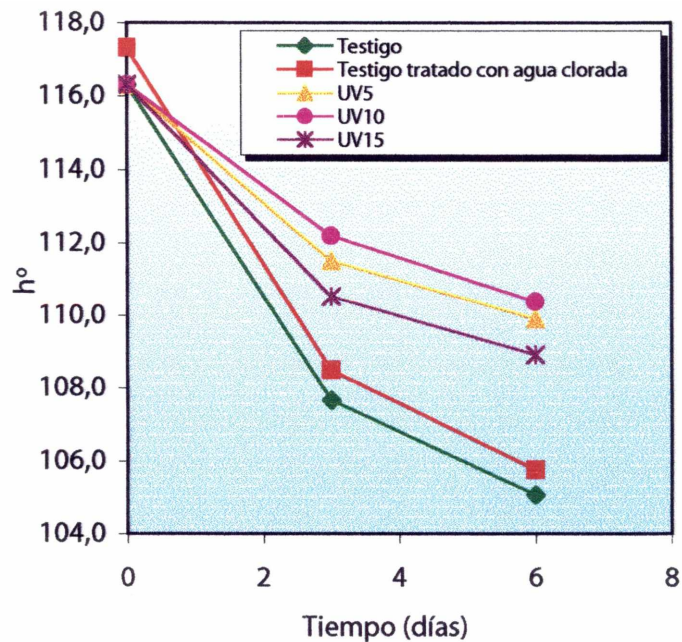


Figura V.1.3.1. Variaciones del ángulo de color (hue, h°) en apio mínimamente procesado en función del tratamiento UV aplicado y el tiempo de permanencia a 20°C ($\text{LSD}_{0,05}=1,5$) UV5: Tratamiento UV 5 kJ m^{-2} ; UV10: Tratamiento UV 10 kJ m^{-2} ; UV15: Tratamiento UV 15 kJ m^{-2}

Al efectuar el análisis de regresión de los datos se comprobó que existió una dependencia lineal del h° con respecto al tiempo de permanencia a 20°C , para todos los tratamientos considerados. Las ecuaciones correspondientes se muestran en la Tabla V.1.3.2.

A pesar de lo expuesto, es sumamente importante remarcar que el grado de pardeamiento desarrollado por efecto de la irradiación produjo un color que se apartaba en gran medida del color típico del producto, aún con la dosis más baja. Si bien la evolución del h° en los tratamientos UV no reflejó el pardeamiento sufrido y, aparentemente, permitieron una mejor conservación del color con respecto a los testigos, cabe señalar que las mediciones siempre se efectuaron

sobre la cara convexa de los trozos y el pardeamiento fue aún más evidente sobre las caras cóncavas.

Por lo tanto, la ligera conservación del h° en las muestras tratadas no resultó en ningún beneficio desde el punto de vista de la retención del color original.

Tabla V.1.3.2. Ecuaciones correspondientes a la regresión lineal " h° versus tiempo de permanencia a 20°C" para muestras controles e irradiadas con luz UV.

Tratamiento	Ecuación	r	p
T	$h^{\circ} = 115,5 - 1,9 t$	0,895	<0,01
TCC	$h^{\circ} = 116,5 - 1,9 t$	0,911	<0,01
UV5	$h^{\circ} = 115,9 - 1,1 t$	0,791	<0,01
UV10	$h^{\circ} = 116,0 - t$	0,754	<0,01
UV15	$h^{\circ} = 115,8 - 1,3 t$	0,770	<0,01

T: Testigo no irradiado y no desinfectado; TCC: Testigo no irradiado, desinfectado por inmersión en agua clorada; UV5: Tratamiento UV 5 kJ m²; UV10: Tratamiento UV 10 kJ m²; UV15: Tratamiento UV 15 kJ m²

Considerando en conjunto todas las determinaciones realizadas para los tratamientos UV se concluyó que, bajo las condiciones ensayadas, los mismos no serían los más adecuados como tecnología postcosecha en pecíolos de apio mínimamente procesado, por el pardeamiento desarrollado y por el riesgo implícito de estimular la síntesis de furanocumarinas lineales, sustancias que pueden implicar un riesgo para la salud. Se sabe que aún con bajos niveles de estas sustancias (8-12,5 µg de bergapteno, xantotoxina más psoraleno g⁻¹ de tejido) se han producido casos de dermatitis fototóxica en los operarios que cosechaban plantas de apio (Nigg et al., 1997). Asimismo Diawara et al. (1995) señalaron que las furanocumarinas son carcinógenas y mutagénicas.

V.1.3.2. Envasado en atmósfera modificada (EAM)

V.1.3.2.1. Evaluación de características sensoriales

La calidad del producto envasado tanto con PVC como con las películas PD941 y PD961 mantuvo buenos niveles aún durante 21 días de almacenamiento a 0°C.

El principal factor detrimental observado en los tratamientos de EAM fue el amarilleamiento del producto. Sin embargo, el mismo comenzó a hacerse evidente durante las inspecciones visuales, recién después de tres semanas de permanencia en cámara.

A 0°C el grado de decoloración fue muy similar tanto en el control envasado con PVC como en las muestras envasadas con PD941 y PD961.

No hubo incidencia apreciable de pardeamiento ni enfermedades en ninguno de los tratamientos ensayados, durante los 28 días de almacenamiento.

Se observó un escaso desarrollo de apariencia blanco-translúcida en los sectores de corte, hacia el final del período y con las tres películas utilizadas.

V.1.3.2.2. Composición de la atmósfera

En la Tabla V.1.3.3 se muestra la composición de la atmósfera (mL L⁻¹ de CO₂ y O₂) alcanzada en los distintos sistemas de EAM ensayados para apio trozado, y su evolución durante el almacenamiento a 0°C.

En la misma puede observarse que cuando el producto fue envasado utilizando PVC se produjo un aumento de CO₂, alcanzando una concentración aproximadamente igual a 8 mL L⁻¹ a las 24 horas de permanencia en cámara (p<0,05). Dicha concentración se mantuvo aproximadamente constante hasta el final del almacenamiento.

El contenido de O₂ en el interior de los envases recubiertos con PVC disminuyó significativamente al cabo de un día, alcanzando 196 mL L⁻¹ y permaneció aproximadamente sin variaciones de allí en más.

Tabla V.1.3.3. Composición de la atmósfera en el interior de bandejas conteniendo apio mínimamente procesado envasado con PVC, PD941 y PD961 durante 28 días de almacenamiento a 0°C. (LSD CO₂ = 4,2; LSD O₂ = 9,3).

Tiempo (días)	PVC		PD941		PD961	
	mL L ⁻¹					
	CO ₂	O ₂	CO ₂	O ₂	CO ₂	O ₂
0	0,3	210,0	0,3	210,0	0,3	210,0
1	8,6	196,1	5,0	207,8	12,2	202,9
3	9,5	186,5	8,8	203,8	16,2	187,8
7	8,8	181,6	4,4	208,8	16,2	182,0
14	6,0	199,7	3,4	211,0	10,2	183,2
21	8,0	208,0	4,0	212,0	9,6	195,7
28	5,0	201,6	4,2	202,0	9,9	189,2

Cuando las muestras fueron envasadas empleando la película PD941 el aumento de la concentración de CO₂ en el interior de las bandejas fue similar al verificado en el caso del PVC. El valor de equilibrio correspondió a 5 mL L⁻¹, no existiendo diferencias significativas con el correspondiente a PVC (p>0,05).

La concentración de O₂ con esta película no varió significativamente durante el período de almacenamiento, no produciendo por lo tanto ninguna modificación con respecto al aire en cuanto al contenido de este gas. Dado que la permeabilidad al oxígeno medida a 23°C de la película PD941 es ligeramente

superior a la del PVC (Sección V.1.2.3.2 del presente Capítulo), las modificaciones en la composición atmosférica que inducen ambos materiales son muy similares.

En las muestras envasadas con PD961 se produjo el mayor incremento dentro de los observados en la concentración de CO₂. Sin embargo el mismo no resultó muy pronunciado: La concentración de este gas aumentó hasta 12 mL L⁻¹ y se mantuvo aproximadamente constante durante el almacenamiento.

El contenido de O₂ en los sistemas de EAM con película PD961 mostró una tendencia similar a los de PVC, alcanzando el equilibrio al cabo de 24 horas. El valor correspondiente fue 190 mL L⁻¹. El mismo permaneció aproximadamente constante hasta el final del almacenamiento.

Comparando las tres películas, la mayor modificación en la atmósfera de envasado se logró utilizando PD961. Sin embargo, aún bajo dicha circunstancia, no se produjeron cambios drásticos en la composición gaseosa interna de las bandejas.

La ligera modificación inducida por PD961 en comparación con PVC y PD941 no tuvo efectos apreciables en la calidad del producto, ya que ésta mantuvo niveles aceptables con los tres materiales empleados, durante 21 días a 0°C. Inclusive el ligero amarilleamiento que comenzó a observarse a partir de dicho punto afectó en forma similar a todos los tratamientos.

V.1.3.2.3. Pérdida de peso

Los datos correspondientes a la pérdida de peso de las bandejas recubiertas con las tres películas empleadas se muestran en la Tabla V.1.3.4.

Tabla V.1.3.4. Pérdida de peso (%) de las bandejas conteniendo apio trozado, en función del tipo de película empleado y el tiempo de almacenamiento a 0°C (LSD_{0,05} = 0,1).

Tiempo (días)	Pérdida de Peso (%)		
	PVC	PD941	PD961
0	0,00	0,00	0,00
7	0,36	0,02	0,03
14	0,68	0,07	0,04
21	0,95	0,07	0,08
28	1,23	0,13	0,05

La pérdida de peso en los envases confeccionados con PVC aumentó significativamente ($p < 0,05$) a medida que transcurrió el almacenamiento a 0°C, si bien dicha pérdida de peso fue pequeña (aproximadamente 1%).

Con PD941 y PD961 prácticamente no se registró pérdida de peso durante todo el período ensayado.

En todos los puntos de muestreo la pérdida de peso hallada para PVC fue significativamente más alta que las correspondientes a PD941 y PD961, mientras que no existieron diferencias significativas entre estas dos últimas películas.

V.1.3.2.4. Color superficial

La Figura V.1.3.2 muestra la evolución del ángulo de color (hue, h°) en apio mínimamente procesado envasado bajo diferentes sistemas de atmósfera modificada.

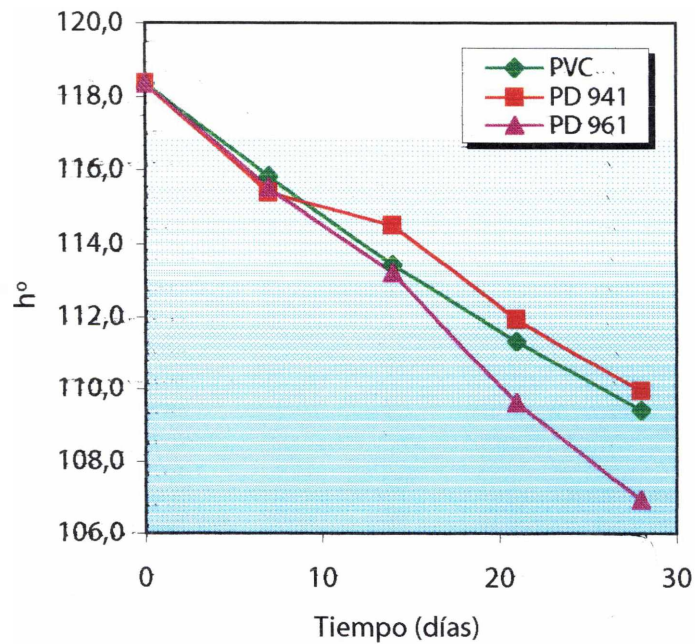


Figura V.1.3.2. Angulo de color (hue, h°) de apio mínimamente procesado envasado en atmósfera modificada y almacenado durante 28 días a 0°C ($\text{LSD}_{0,05}=1,4$).

El valor de h° inicial ($118,4^\circ$) correspondió a un tinte amarillo verdoso, propio de la variedad Golden Boy.

En la Figura V.1.3.2 se observa que dicho valor descendió prácticamente en forma lineal con las tres películas ensayadas, indicando un ligero amarilleamiento del producto durante el almacenamiento, que comenzó a percibirse visualmente sólo luego de 21 días en cámara.

No se registraron diferencias significativas entre las tres películas durante los primeros catorce días de almacenamiento a 0°C . A partir del día 21, coincidiendo con el momento en que el grado de amarilleamiento comenzó a ser perceptible por simple inspección visual de las muestras, el h° correspondiente a envases con PVC y PD941 resultó ligeramente superior a los confeccionados con PD961 ($1,8$ y $2,4^\circ$ más alto, respectivamente).

En el final del almacenamiento (día 28) el h° de las muestras envasadas con PVC y PD941 cayó un 7-8% con respecto al valor inicial, mientras que para la película PD961 lo hizo un 10%.

Al efectuar el análisis de regresión de los datos se comprobó que existió una dependencia lineal del h° con respecto al tiempo de permanencia a 0°C, para todos los tratamientos considerados. Las ecuaciones correspondientes se muestran en la Tabla V.1.3.5.

Tabla V.1.3.5. Ecuaciones correspondientes a la regresión lineal "h° versus tiempo de permanencia a 0°C" para muestras envasadas con PVC, PD941 y PD961.

Tratamiento	Ecuación	r	p
PVC	$h^{\circ} = 118,18 - 0,32 t$	0,834	<0,01
PD941	$h^{\circ} = 118,12 - 0,29 t$	0,771	<0,01
PD961	$h^{\circ} = 118,51 - 0,41 t$	0,876	<0,01

Las pendientes (velocidad de disminución de h°) de las rectas resultantes fueron equivalentes ($p > 0,05$) para las películas PVC y PD941, mientras que la correspondiente a PD961 fue significativamente más alta ($p < 0,05$).

Ello significa que la velocidad de amarilleamiento, aunque ligeramente perceptible en forma visual, fue superior para las muestras envasadas con PD961.

A pesar de que las mayores modificaciones de la atmósfera se lograron utilizando PD961 como material de recubrimiento de las bandejas, ello no incidió en una mejor conservación del color, ya que fueron precisamente esas muestras las que manifestaron una disminución más rápida del h°, especialmente a partir del día 21.

V.1.3.2.5. Textura

Los resultados obtenidos en el análisis de la textura, evaluada mediante ensayos de corte utilizando el dispositivo Warner-Bratzler y efectuando cortes transversales de los trozos, se muestran en la Tabla V.1.3.6.

Tabla V.1.3.6. Fuerza Máxima de Corte (FMC), en Newtons, para apio mínimamente procesado envasado en atmósfera modificada y almacenado durante 28 días a 0°C. ($LSD_{0,05} = 8,8$)

<i>Tiempo (días)</i>	<i>PVC</i>	<i>PD941</i>	<i>PD961</i>
	<i>Fuerza máxima de Corte (N)</i>		
0	62,8	62,8	62,8
14	71,8	70,3	73,0
28	58,2	50,0	56,9

En ella se observa que la textura de los trozos mostró la misma tendencia, independientemente del sistema de envasado utilizado.

Hubo un aumento de la Fuerza Máxima de Corte (FMC) alcanzando un máximo al cabo de los 14 días. Este comportamiento fue similar al hallado en las determinaciones de textura del producto almacenado a 0 y 10°C (Sección II.3.1.1.a del Capítulo II).

Las atmósferas obtenidas en los tres casos incidieron de forma similar en la evolución de las propiedades texturales del producto almacenado, y no existieron diferencias significativas atribuibles a los tratamientos en cuestión ($p > 0,05$).

En las determinaciones de textura por medio de ensayos de compresión, la Fuerza Máxima necesaria para producir una deformación del 20% en el ancho de los trozos correspondió a 75N en el inicio. En el día 14 los valores mostraron tendencia a disminuir independientemente del tratamiento considerado, aunque las diferencias registradas no fueron significativas ($p > 0,05$). En el día 28 la Fuerza Máxima descendió para todos los tratamientos, alcanzando en promedio los 55N.

En base a los resultados de las determinaciones realizadas para los tratamientos de EAM en su conjunto, se procedió a seleccionar una de las películas de envasado para continuar de aquí en adelante.

La evolución de la calidad general del producto y de las características sensoriales tenidas en cuenta durante la evaluación de las muestras fue muy similar con las tres películas ensayadas.

Con PD961 se produjo una velocidad de disminución del hº ligeramente superior a las de PVC y PD941, lo que determinó que dicha película no fuera seleccionada.

Si bien en bandejas envasadas con PVC se observó una pérdida de peso ligeramente superior a la correspondiente a PD941, la misma no superó los límites admisibles para productos vegetales, aún después de 28 días a 0°C.

Dado que prácticamente no existieron diferencias en la calidad del producto envasado con PVC o con PD941 y siendo la primera más económica y accesible, se optó por continuar utilizando para las experiencias siguientes la película PVC.



V.1.3.3. Tratamientos Térmicos por Inmersión en agua (TTI)

V.1.3.3.a. TTI con almacenamiento a 20°C

Estas experiencias fueron conducidas almacenando el producto a 20°C con la finalidad de seleccionar las combinaciones de tiempo y temperatura a aplicar.

V.1.3.3.a.1. Evaluación de características sensoriales

Los principales daños observados y evaluados en el testigo y las muestras tratadas térmicamente por inmersión en agua fueron la producción de enfermedades (tipo y grado de incidencia), el desarrollo de olores no característicos, el amarilleamiento y el ablandamiento de los trozos.

En los ensayos realizados hubo en general una baja incidencia de pardeamiento, que afectó en forma similar a todas las muestras, independientemente del tratamiento aplicado.

Los resultados obtenidos se representan en la Tabla V.1.3.7.

En lo que respecta a desarrollo de enfermedades y a diferencia de lo observado hasta aquí, a las podredumbres húmedas o blandas se sumó el desarrollo de hongos.

Las podredumbres se desarrollaron en el control y en el tratamiento TTI 2 (50°C, 90 segundos) en proporción similar, tanto a los 3 como a los 6 días a 20°C. La mayor incidencia de este tipo de prodredumbres se produjo en los tratamientos TTI 1 (45°C, 120 segundos) y TTI 3 (55°C, 60 segundos).

Tabla V.1.3.7 Incidencia de daños en apio trozado tratado térmicamente por inmersión en agua y almacenado durante 6 días a 20°C.

Días a 20°C	Tipo de daño		T	TTI1	TTI2	TTI3
3	Enfermedades	Podredumbres blandas	6%	11%	3%	14%
		Moho gris	-	-	-	6%
	Olor no característico, similar cumarina		-	-	-	-
	Olor no característico, similar "cocido"		-	-	-	-
	Amarilleamiento		+	-	-	-
	Ablandamiento		-	-	-	+
6	Enfermedades	Podredumbres blandas	31%	72,5%	25%	62%
		Moho gris	-	-	-	64%
	Olor no característico, similar cumarina		+	++	+	++
	Olor no característico, similar "cocido"		-	-	+	++
	Amarilleamiento		++	-	-	-
	Ablandamiento		-	-	+	++

T: Testigo no tratado; TTI 1: Tratamiento térmico por inmersión en agua a 45°C, durante 120 segundos; TTI 2: Tratamiento térmico por inmersión en agua a 50°C, durante 90 segundos; TTI 3: Tratamiento térmico por inmersión en agua a 55°C, durante 60 segundos; -: producto no afectado; +: producto medianamente afectado; ++: producto muy afectado. Nota: los valores porcentuales se calcularon en base al número de trozos afectados por el tipo de daño en cuestión y el número total de trozos inspeccionados en cada punto de muestreo.

La aparición de moho gris se verificó solamente en las muestras que habían recibido el tratamiento TTI 3 y fue muy evidente a los 6 días de permanencia a 20°C.

En cuanto al desarrollo de olores no característicos se evaluaron principalmente dos tipos: el similar a cumarina, que ya fuera oportunamente mencionado y que se señaló al referirse a tratamientos UV (Sección V.1.3.1.1 del presente Capítulo) y el olor "a cocido", que sería indicativo tanto de una temperatura demasiado elevada como de un tiempo de inmersión excesivo.

Durante los tres primeros días a 20°C no se produjeron aromas diferentes a los que caracterizan al producto, pero en el día 6 se percibió olor similar a cumarina tanto en los controles como en las muestras tratadas. La incidencia fue más baja en el testigo y el tratamiento TTI 2 y más elevada en los tratamientos TTI 1 y TTI 3.

El olor "a cocido" fue notorio en las muestras que recibieron el tratamiento TTI 3, luego de 6 días a 20°C. También afectó, aunque en menor grado a las correspondientes a TTI 2.

El amarilleamiento se produjo prácticamente en forma exclusiva en los testigos y se agravó a medida que transcurrió el tiempo de permanencia a 20°C, como es de esperar a causa de la rápida degradación de clorofilas ocurrida a esta temperatura tan elevada.

El ablandamiento de los trozos incidió mayormente en el tratamiento TTI 3 y fue mayor a medida que aumentó el tiempo de almacenamiento, adquiriendo carácter de "severo" a los 6 días.

V.1.3.3.a.2. Pérdida de peso

No hubo diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ($p > 0,05$) en los valores registrados para la pérdida de peso de las bandejas.

Después de transcurridos 3 días a 20°C, la pérdida de peso registrada estuvo comprendida entre 1 y 1,4%.

Al cabo de 6 días, los valores medidos correspondieron al intervalo 2,7 – 4,0%.

V.1.3.3.a.3. Color superficial

Los resultados obtenidos con relación al color superficial, caracterizado en base al ángulo de color (hue, h°) han sido representados en la Figura V.1.3.3.

El valor inicial (116,3°) correspondió a un color amarillo verdoso, como ya se ha señalado al referirse a los tratamientos anteriores.

En las muestras testigo hubo una rápida disminución del h°, alcanzando a los 6 días un valor 10% inferior al de partida.

La variación del h° en las muestras que recibieron el tratamiento TTI 1 no difirió de la de los pecíolos controles.

En los trozos que recibieron los tratamientos TTI 2 y 3 la disminución del h° fue pequeña, alcanzando al cabo de 6 días valores aproximadamente 4 y 3% inferiores al inicial, respectivamente.

Es decir que los tratamientos TTI 2 y TTI 3 permitieron una mejor conservación del color, a partir de una disminución más lenta del valor h°, que los controles y el tratamiento TTI 1.

Sin embargo, y dada la alta incidencia de daños detectada durante la evaluación de características sensoriales (Sección V.1.3.3.a.1 del presente Capítulo), debería reducirse la duración del tratamiento TTI 3, a fin de verificar si es factible aprovechar el retardo en el amarilleamiento del producto sin ocasionar lesiones tan severas en los tejidos, que determinaron una alta susceptibilidad al ataque de bacterias y hongos, el desarrollo de olor “a cocido” y un notorio ablandamiento.

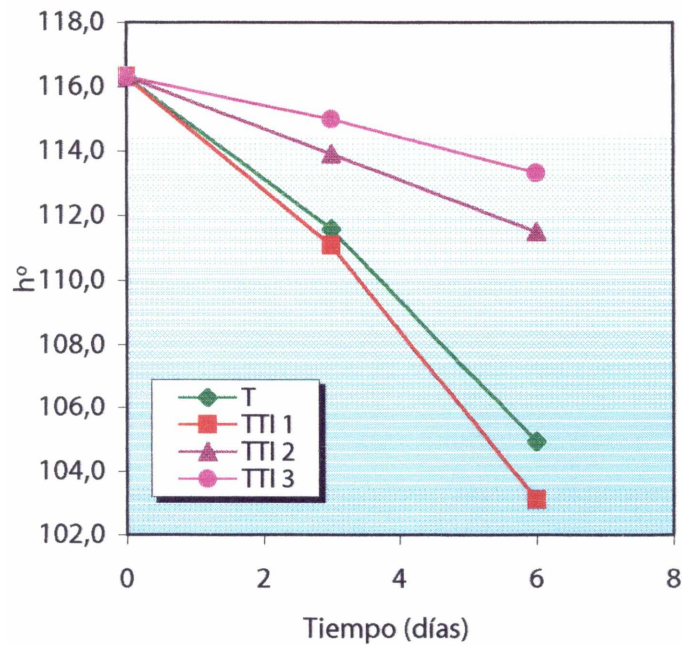


Figura V.1.3.3. Variaciones del ángulo de color (hue, h°) de apio mínimamente procesado, en función del tratamiento térmico de inmersión aplicado y el tiempo de almacenamiento a 20°C (LSD_{0,05} = 1,5) T: Testigo no tratado; TTI 1: Tratamiento térmico por inmersión en agua a 45°C, durante 120 segundos; TTI 2: Tratamiento térmico por inmersión en agua a 50°C, durante 90 segundos; TTI 3: Tratamiento térmico por inmersión en agua a 55°C, durante 60 segundos

Por tal motivo, y considerando tanto la incidencia de daños como la evolución del color superficial, se seleccionó el tratamiento TTI 2 (50°C, 90 segundos) para la continuación de las experiencias. Asimismo se optó por continuar trabajando con el tratamiento TTI 3, manteniendo la temperatura (55°C) pero reduciendo la duración del mismo.

V.1.3.3.b. TTI con almacenamiento a 0°C

Tal como fuera fundamentado en la Sección anterior, los tratamientos de inmersión seleccionados correspondieron a las siguientes combinaciones:

- ⇒ 50°C durante 90 segundos, denominado de aquí en más TTI 4.

➤ 55°C durante 30 segundos, designado en adelante TTI 5.

Los resultados que se exponen a continuación corresponden a las determinaciones realizadas sobre las muestras así tratadas, durante el almacenamiento a 0°C por un lapso de 28 días.

V.1.3.3.b.1. Evaluación de características sensoriales

Tanto los controles como las muestras tratadas térmicamente mantuvieron muy buenos niveles de calidad durante las dos primeras semanas a 0°C. No se observó hasta este punto ningún síntoma de amarilleamiento, podredumbres ni pardeamiento a nivel de los haces vasculares expuestos. Tampoco se percibieron olores no característicos.

A partir del día 21 comenzaron a manifestarse algunas podredumbres, del tipo de las descritas hasta el momento. Prácticamente no incidieron en las muestras controles y en el tratamiento TTI 4 fueron de aparición esporádica. Sin embargo la mayor proporción afectó a las muestras que recibieron el TTI 5 (4 veces más que en el TTI 4).

En el día 28 los controles continuaron sin síntomas apreciables de enfermedades. El grado de afección de las muestras tratadas térmicamente fue mayor en este punto, donde la incidencia fue similar tanto para TTI 4 como para TTI 5.

No se comprobó el desarrollo de ningún otro tipo de daño, a excepción del amarilleamiento y el desarrollo de apariencia blanco translúcida en los sectores de corte, que afectó sólo a los controles y a partir del día 21 en cámara.

V.1.3.3.b.2. Pérdida de Peso (PP)

La pérdida de peso de los controles y de los tratamientos térmicos aumentó significativamente a medida que aumentó el tiempo de almacenamiento a 0°C.

Comparando el testigo con los distintos tratamientos aplicados se observó que en cada punto de muestreo la pérdida de peso que experimentaron las muestras no tratadas fue ligeramente inferior ($p < 0,05$) a las que recibieron los tratamientos térmicos. Así por ejemplo a los 28 días, la PP del testigo fue 1,2%, mientras que la correspondiente a TTI 4 y TTI 5 fue 1,7%.

No existieron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre la PP correspondiente a los dos tratamientos térmicos ensayados, en ninguno de los puntos de muestreo.

V.1.3.3.b.3. Color superficial

Los datos correspondientes a las mediciones de color superficial se muestran en la Figura V.1.3.4.

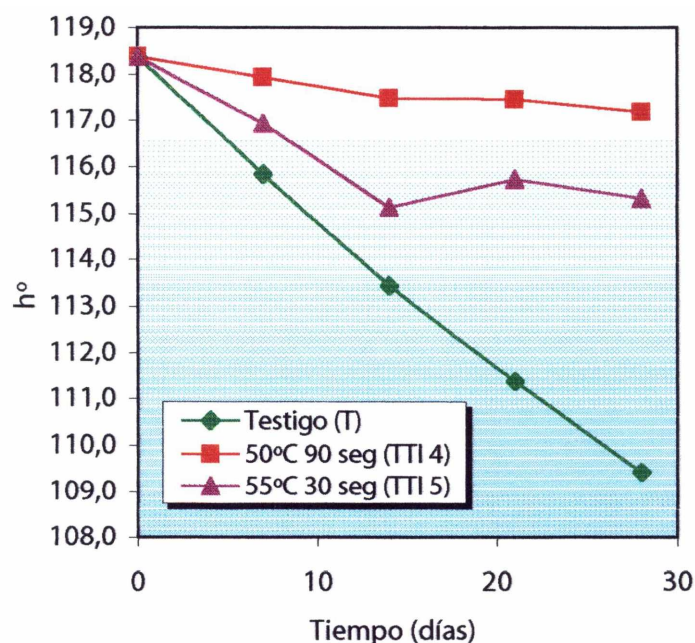


Figura V.1.3.4. Variaciones del ángulo de color (hue, h°) de apio mínimamente procesado, en función del tratamiento térmico de inmersión aplicado y el tiempo de almacenamiento a 0°C ($\text{LSD}_{0,05} = 1,3$) T: Testigo no tratado; TTI 4: Tratamiento térmico por inmersión en agua a 50°C , durante 90 segundos; TTI 5: Tratamiento térmico por inmersión en agua a 55°C , durante 30 segundos.

Para las muestras testigo se verificó una rápida disminución del h° , siendo significativas ($p < 0,05$) las reducciones correspondientes a cada uno de los puntos de muestreo. Al cabo de 28 días el h° alcanzado resultó ser 8% inferior al inicial.

En el tratamiento TTI 4 (50°C, 90 segundos) el h° se mantuvo prácticamente constante durante los 28 días de permanencia a 0°C.

Para las muestras que recibieron el tratamiento TTI 5 (55°C, 30 segundos) se registró una ligera aunque significativa disminución del h° al cabo de una semana a 0°C ($p < 0,05$). Luego permaneció prácticamente constante, alcanzando un valor sólo 3% inferior al inicial.

De lo expuesto surge que la mejor conservación del color de los trozos de apio se obtuvo aplicando el tratamiento TTI 4.

V.1.3.3.b.4. Textura

Los resultados obtenidos en el análisis de la textura, evaluada mediante ensayos de corte utilizando el dispositivo Warner-Bratzler y efectuando cortes transversales de los trozos, se muestran en la Tabla V.1.3.8.

En ella se observa que la textura de los trozos mostró un comportamiento similar, independientemente del tratamiento considerado.

Tanto en el testigo como en TTI 4 y TTI 5 hubo una tendencia al aumento de la Fuerza Máxima de Corte (FMC) al cabo de los 14 días de permanencia a 0°C, aunque las diferencias con respecto al inicio no fueron significativas en ningún caso ($p > 0,05$).

Al cabo de 28 días en cámara la FMC disminuyó muy ligeramente en el testigo, con relación al valor alcanzado en el día 14. Las muestras que recibieron los tratamientos térmicos también manifestaron una pequeña disminución en la

FMC al finalizar el período de permanencia en cámara, sin embargo las mismas no resultaron significativas con relación a la FMC de partida ($p>0,05$).

Tabla V.1.3.8 Fuerza Máxima de Corte (FMC), en Newtons, para apio mínimamente procesado tratado térmicamente por inmersión agua y almacenado durante 28 días a 0°C. ($LSD_{0,05} = 8,6$)

Tiempo (días)	T	TTI 4	TTI 5
	Fuerza máxima de Corte (N)		
0	62,8	59,5	59,5
14	69,7	64,3	65,9
28	58,2	63,7	60,2

T: Testigo no tratado; TTI 4: Tratamiento térmico por inmersión en agua a 50°C, durante 90 segundos; TTI 5: Tratamiento térmico por inmersión en agua a 55°C, durante 30 segundos.

En las determinaciones de textura por medio de ensayos de compresión, la Fuerza Máxima necesaria para producir una deformación del 20% en el ancho de los trozos correspondió a 71,3N en el inicio (día 0).

La aplicación de los tratamientos térmicos no indujo ninguna variación inmediata en dicho valor.

En el día 14 los valores mostraron tendencia a disminuir independientemente del tratamiento considerado, aunque las diferencias registradas no fueron significativas ($p>0,05$). En el día 28 la Fuerza Máxima descendió para todos los tratamientos, alcanzando en promedio los 62,2 N.

Considerando en forma conjunta los resultados de las diferentes determinaciones se optó por seleccionar uno de los tratamientos térmicos de inmersión ensayados, a fin de continuar las experiencias.

La incidencia de enfermedades en las muestras tratadas a 50°C durante 90 segundos (TTI 4) fue menor que la observada con el tratamiento TTI 5.

Asimismo el tratamiento TTI 4 fue el que determinó la mejor conservación del color superficial de las muestras, permitiendo retener el h° en valores equivalentes a los de partida, aún después de 28 días de permanencia en cámara.

En base a lo expuesto se optó por seleccionar al tratamiento TTI 4 (50°C, 90 segundos) para la continuación de los ensayos.

V.1.3.4. Tratamientos Térmicos con Aire Seco (Tratamientos en Estufa, TTE)

V.1.3.4.1. Evaluación de características sensoriales

No hubo incidencia de daños en las muestras controles ni en las que recibieron tratamientos térmicos (TTE 1: 48°C 1 hora y TTE 2: 50°C 20 minutos) durante la primera semana de almacenamiento a 0°C.

Hacia el día 14 comenzaron a manifestarse los primeros síntomas de enfermedades (podredumbres blandas), afectando al testigo y al tratamiento TTE 2. El número de trozos afectados del control fue el doble que el de los tratados térmicamente.

A los 21 días de permanencia en cámara se observaron podredumbres en todos los tratamientos. El testigo y TTE 2 se vieron afectados en la misma medida y ambos presentaron el doble de trozos infectados con relación a TTE 1. En este punto los controles comenzaron a evidenciar ahuecado (desorganización de los tejidos internos de la médula), amarilleamiento y pardeamiento en la zona de los cortes, coincidiendo con los haces vasculares expuestos.

En el día 28 los controles se encontraron totalmente deteriorados, presentando podredumbres, amarilleamiento, ahuecado, pardeamiento y apariencia blanco translúcida en las secciones expuestas.

En ese momento las muestras que recibieron el tratamiento TTE 1 mostraron en comparación un menor grado de amarilleamiento y menor incidencia de ahuecado.

En el caso de TTE 2 el amarilleamiento fue mayor que el correspondiente a TTE 1.

En dicho tratamiento (TTE 2) apareció un nuevo tipo de daño, no observado hasta este punto, que fue el desprendimiento de la epidermis, a modo de "ampollado".

V.1.3.4.2. Color superficial

Los resultados correspondientes a la evolución del color superficial se representan en la Figura V.1.3.5.

En ella se observa que la disminución de h° en el control y las muestras tratadas a 50°C durante 20 minutos, fue muy similar a lo largo del almacenamiento refrigerado. La caída observada al cabo de 21 días representó en ambos casos un 6% con respecto al valor de partida. Ello significa que el grado de amarilleamiento experimentado fue muy parecido en las dos situaciones.

El tratamiento TTE 1 (48°C, 1 hora) mostró un comportamiento diferente. Aquí no se produjeron variaciones significativas en el h° durante la primera semana a 0°C ($p>0,05$). El ángulo de color se redujo ligera pero significativamente hacia el día 14, alcanzando un valor 2% inferior al de partida. En la semana siguiente (día 21) no se observaron variaciones significativas ($p>0,05$) del h° .

De esta forma, el tratamiento TTE 1 permitió una mejor conservación del color original comparándolo con el testigo y el tratamiento TTE 2.

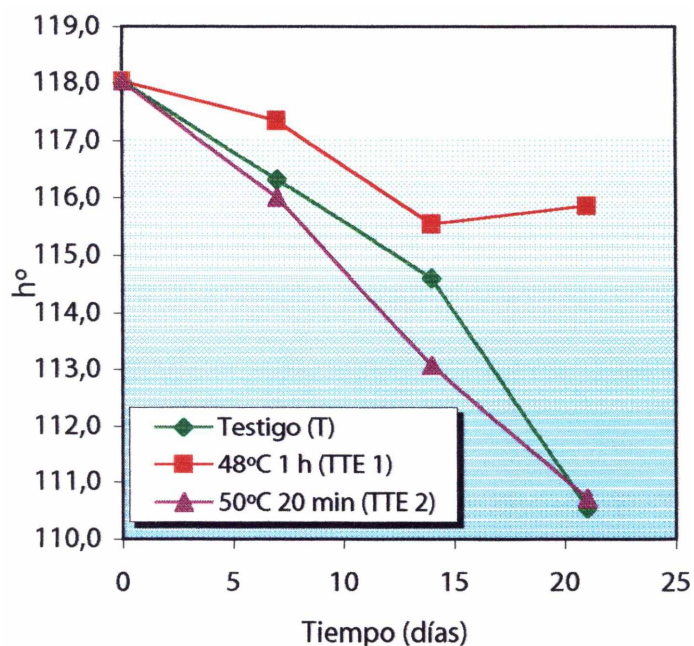


Figura V.1.3.5. Variaciones del ángulo de color (hue, h°) de apio mínimamente procesado, en función del tratamiento térmico con aires seco aplicado y el tiempo de almacenamiento a 0°C ($\text{LSD}_{0,05} = 1,1$) T: Testigo no tratado; TTE 1: Tratamiento térmico con aire seco a 48°C durante 1 hora; TTE 2: Tratamiento térmico con aire seco a 50°C durante 20 minutos.

V.1.3.4.3. Textura

En las determinaciones de textura realizadas mediante ensayos de corte y empleando el dispositivo Warner-Bratzler, se halló que la Fuerza Máxima de Corte (FMC) inicial fue de 55,6 N.

Se observó que para las muestras control existió una tendencia a aumentar en los valores de FMC hacia los 14 días, si bien la diferencia hallada no fue significativa ($p > 0,05$). En lo que respecta a los tratamientos térmicos ensayados no se observaron diferencias significativas en la FMC con respecto al valor inicial, estando los valores hallados comprendidos en el rango de los 47-55 N.

Los ensayos de compresión arrojaron valores de Fuerza Máxima iniciales de 35N, necesarios para producir un 20% de deformación en la sección transversal de los trozos. Los mismos se mantuvieron sin cambios durante 21 días de permanencia a 0°C, tanto para los controles como para las muestras tratadas térmicamente (datos no mostrados).

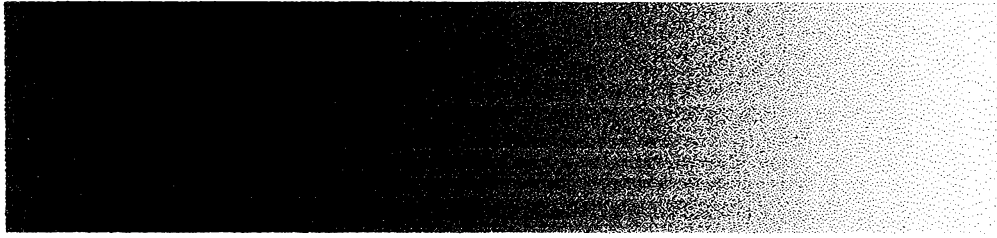
En base a las características analizadas, y principalmente en función de los daños observados y la evolución del color de las muestras, se optó por seleccionar el tratamiento térmico con aire seco en estufa a 48°C durante 1 hora, para la continuación de las experiencias. Dicho tratamiento mostró un menor desarrollo de enfermedades y un menor grado de amarilleamiento durante la conservación refrigerada.

V.1.4. CONCLUSIONES

- ✓ Bajo las condiciones ensayadas, la aplicación de tratamientos UV no constituyó una buena alternativa para la conservación de apio trozado, puesto que el producto irradiado resultó dañado

- ✓ En base a los ensayos en que se evaluó la aplicación de diferentes películas plásticas para el EAM, se concluyó que la utilización de PVC resultó la alternativa más adecuada. La película PD961 fue descartada por evidenciar una velocidad de amarilleamiento ligeramente superior a las películas restantes. Por otra parte, los niveles de calidad durante el almacenamiento fueron muy similares tanto con PVC como con PD941. La disponibilidad, el costo y la simplicidad en la operación de sellado de los envases fueron factores que llevaron a continuar con el empleo de PVC como material de envasado.

- ✓ De los tratamientos térmicos de inmersión ensayados, la combinación tiempo-temperatura que resultó más adecuada fue la de 50°C durante 90 segundos, por permitir una mejor conservación del color e infringir un menor daño al producto. De los tratamientos en estufa, el que produjo los mejores resultados fue el realizado a 48°C durante 1 hora, por los mismos motivos. Ambos fueron seleccionados a fin de evaluar su incidencia sobre los mecanismos de defensa desencadenados en apio mínimamente procesado.



SECCION V.2

**EFFECTO DE TRATAMIENTOS
TERMICOS SOBRE LA CALIDAD DE
APIO TROZADO.
MECANISMOS DE DEFENSA.**

V.2.1. INTRODUCCION

V.2.1.1. Aplicaciones de los tratamientos térmicos postcosecha

Los tratamientos térmicos (TT) también denominados “termoterapias”, han sido empleados durante más de un siglo para controlar patógenos en materiales vegetales, habiéndose determinado empíricamente la temperatura y duración de la exposición, en la mayoría de los casos (Paull y Jung Chen, 2000).

Cuando este tipo de tratamientos se aplica en frutos, sus objetivos pueden ser la desinfestación de insectos, el control de enfermedades, la modificación de las respuestas del órgano o tejido a otros tipos de estrés y el mantenimiento de la calidad del producto durante el almacenamiento (Paull y Jung Chen, 2000).

Estas mismas metas son las que se persiguen durante la postcosecha de hortalizas, pero en este tipo de productos deberían ensayarse diferentes combinaciones de tiempo y temperatura, dado que nos encontramos frente a una mayor diversidad en cuanto al origen botánico de las partes comestibles (raíces, tallos, hojas, yemas, inflorescencias, pecíolos, etc.). Asimismo el método de aplicación utilizado (calentamiento en agua, con vapor, aire seco, etc.) podría presentar limitantes según el producto en cuestión.

Dentro de los objetivos enumerados, el control de enfermedades sería un punto importante a tener en cuenta. Normalmente las hortalizas, a diferencia de las frutas, crecen teniendo un mayor contacto con el suelo y ello constituye una considerable fuente de inóculo.

Adicionalmente una gran parte de estos materiales presentan pH cercano a la neutralidad (con excepciones tales como los frutos de tomate), mientras que las frutas, en general, desarrollan un mayor grado de acidez. Ello hace que en las hortalizas sea alta la incidencia de bacterias.

Uno de los objetivos primordiales de cualquier tecnología postcosecha es retardar la senescencia de los órganos y tejidos.

En vegetales verdes, como es el caso de apio, resulta importante atenuar los procesos de degradación de clorofilas. Al respecto parecería crítico el establecimiento de las temperaturas y tiempos de exposición necesarios para lograr una mayor retención de estos pigmentos, dado que se trata de compuestos sumamente lábiles. Así Jacobi et al. (1996) aplicaron TT de desinfestación en zucchinis, utilizando aire caliente con alto contenido de humedad, pero observaron incrementos significativos en el amarilleamiento de la piel de los frutos tratados, con relación al control.

La aplicación de TT en productos mínimamente procesados (PMP) tendría, además de los objetivos ya mencionados, la finalidad de interferir con las alteraciones en los procesos fisiológicos normales de la planta ocasionadas por el daño mecánico, oxidativo, etc., como así también en las respuestas asociadas con la cicatrización o protección de heridas.

Cabe recordar que las modificaciones en el metabolismo fenólico y en la capacidad antioxidante de los tejidos forman parte de los mecanismos de defensa en plantas.

Algunos de los cambios desencadenados pueden representar un beneficio desde el punto de vista nutricional, por ejemplo un incremento en la actividad antioxidante. Sin embargo otros pueden ser detrimentales, como en el caso de un aumento exacerbado en el contenido de fenoles que constituyen sustratos de las reacciones de pardeamiento enzimático.

V.2.1.2. Respuestas al tratamiento térmico

La respuesta al tratamiento térmico ocurre cuando las células vivas son expuestas a temperaturas aproximadamente 10°C superiores a su temperatura normal de crecimiento, durante un tiempo relativamente corto (Vierling, 1991). Esta respuesta al estrés térmico acontece en todos los sistemas biológicos e induce la transcripción y traducción selectiva de un determinado grupo de

genes. La síntesis inducida de las proteínas de estrés térmico (heat shock proteins, HSP) se correlaciona con la adquisición de tolerancia a un número más amplio de factores de estrés abiótico (Loaiza-Velarde et al., 1997).

En muchos tejidos la producción de HSP ocurre paralelamente a la cesación de la síntesis de otras proteínas.

La biosíntesis proteica es altamente termosensible y cualquier cambio en la temperatura puede afectar la cantidad y el tipo de polipéptidos producidos (Loaiza-Velarde et al., 1997). Por ejemplo, los TT pudieron inhibir la maduración de frutos de tomate, reprimiendo la síntesis de las enzimas responsables de la producción de etileno, el desarrollo de color y el ablandamiento (Lurie et al., 1996).

La síntesis de HSP se encuentra notoriamente favorecida sobre la producción de la mayoría de las otras proteínas (Vierling, 1991). La recuperación luego del TT de la capacidad normal para construir proteínas por parte de las células, dependerá de la severidad (temperatura y tiempo de exposición) del mismo.

Además de reprimir la expresión normal de los genes, los TT pueden también afectar la manifestación de genes asociados específicamente a otros tipos de estrés. Así, la síntesis inducida de proteínas de la pared celular (extensina y otras) en zanahorias procesadas cesó luego de la aplicación de TT a 40°C (Brodí y Ho, 1992).

Muchas de las investigaciones sobre los efectos de los TT en tejidos vegetales han sido realizadas trabajando con frutos.

Entre las manifestaciones producidas a nivel celular, y refiriéndonos a temperaturas que no ocasionan daños severos a los tejidos, se han mencionado cambios en la estructura de la cutícula en manzanas, reduciendo el número de grietas; variaciones en la permeabilidad de dicha cutícula en duraznos; estimulación de la pérdida de agua en toronjas; modificaciones en la

integridad de las membranas celulares en diversos frutos, etc. (Paull y Jung Chen, 2000).

Dentro de las consecuencias fisiológicas de los TT se ha mencionado el incremento inicial de la tasa respiratoria de frutos en proceso de maduración, mediante exposición a temperaturas ligeramente más altas que las normales (Paull y Jung Chen, 2000). La respuesta a la temperatura varió con la edad y el estado de desarrollo del tejido.

Sin embargo, en manzanas se ha observado que la respiración fue menor luego de restituir a temperatura ambiente frutos tratados térmicamente, en comparación con los no tratados (Klein y Lurie, 1990).

La síntesis de etileno (C_2H_4) es otro proceso fisiológico afectado por los TT. Se ha comprobado que algunos frutos expuestos durante largos períodos a alta temperatura (superior a 30-40°C) manifestaron una inhibición de la producción de C_2H_4 , pero que se trataba de un proceso reversible (Paull y Jung Chen, 2000). Tal fue el caso de papayas, pepinos, manzanas, melones y mangos.

Sin embargo parecería que el aumento de los niveles de C_2H_4 inducido por daño mecánico es menos sensible a la inactivación mediante TT que el relacionado con el climaterio (Biggs et al., 1988).

Otro proceso susceptible de ser afectado es el metabolismo normal de la pared celular. En manzanas por ejemplo, fue posible disminuir el ablandamiento de la pulpa luego de una exposición a 38-40°C, aún si el tratamiento era aplicado durante un lapso extenso (4 días) antes del almacenamiento (Klein y Lurie, 1990, 1992; Lurie y Nussinovitch, 1996). En cambio, luego de la aplicación de temperaturas de desinfestación (45-50°C), el ablandamiento fue más rápido (Paull y Jung Chen, 2000).

Ciertas enzimas asociadas con la degradación de la pared celular (endomannasa y galactosidasa) perdieron rápidamente su actividad y la recuperaron a los 4 y 14 días respectivamente, luego del calentamiento de tomates a 40°C durante dos días (Sozzi et al., 1996).

Los TT afectan también otros procesos metabólicos, como ser los relacionados con la biosíntesis y el catabolismo de los diversos pigmentos vegetales.

Dependiendo de la temperatura y el tiempo de exposición puede acelerarse o retardarse la degradación de clorofilas. Así con temperaturas mayores a 25°C se detuvo el desverdizado de bananas (Paull y Jung Chen, 2000), mientras que el mismo resultó acelerado en manzanas con TT de 35-40°C durante 4 días (Lurie y Klein, 1990).

Por otra parte en hojas de soja, el calentamiento durante un minuto a 53°C no ocasionó ningún daño, mientras que a 54°C se produjo clorosis y por encima de 55°C los tejidos se necrosaron (Coleman et al., 1988). Esto indica que a veces las temperaturas límites adoptan valores puntuales, en lugar de estar comprendidas dentro de un rango, dificultando la aplicación del método.

En la presente Sección se analiza el efecto que produjeron los tratamientos térmicos seleccionados previamente (inmersión en agua a 50°C, 90 segundos y calentamiento con aire seco, a 48°C durante 1 hora) sobre la calidad y los mecanismos de defensa accionados en apio trozado, luego del procesamiento y durante la conservación refrigerada del mismo. Dichos tratamientos fueron comparados con el envasado en atmósfera modificada, empleando la película PVC.

V.2. MATERIALES Y METODOS

V.2.2.1. Material vegetal

El material vegetal utilizado en la conducción de las experiencias correspondió al descrito en la Sección I.2.1 del Capítulo I.

V.2.2.2. Procesamiento

Previo a la aplicación de tratamientos, las plantas de apio fueron procesadas según se describió en la Sección I.2.2 del Capítulo I.

V.2.2.3. Tratamientos aplicados y condiciones de almacenamiento ensayadas

Tal como se especificó en la Sección V.1 del presente Capítulo, los tratamientos seleccionados fueron los siguientes:

- ☛ Envasado y almacenamiento en atmósfera modificada, utilizando PVC como material de empaque (Testigo, T).
- ☛ Tratamiento térmico por inmersión en agua a 50°C durante 90 segundos (TTI).
- ☛ Tratamiento térmico con aire seco (estufa) a 48°C durante 1 hora (TTE).

En el caso del TTI, el mismo se realizó antes de proceder a la desinfección con agua clorada de los trozos. Se utilizó para ello un baño termostático con agitación permanente, empleando agua destilada como medio de calentamiento. Los trozos de apio fueron colocados en una canastilla plástica y permanecieron inmersos durante 90 segundos. Seguidamente se sumergieron en agua clorada fría (100 ppm de cloro activo, 8°C, pH 6-6,5) durante tres minutos, a efectos de su enfriamiento y desinfección.

Luego de eliminar el agua en exceso escurriendo los trozos sobre toallas de papel absorbente, se procedió a envasar el producto en bandejas de

polietileno cristal (15 x 10 x 5 cm), conteniendo cada una alrededor de 175 g de producto.

El TTE se aplicó luego de desinfectar los trozos con agua clorada, por medio de aire seco en estufa a 48°C durante 60 minutos.

Una vez finalizado el tratamiento, las muestras se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se procedió a envasarlas en bandejas de polietileno cristal (15 x 10 x 5 cm), conteniendo cada una alrededor de 175 g de producto.

La película de envasado utilizada tanto para TTI como para TTE fue PVC autoadherente, con las siguientes características: 10 μm de espesor; permeabilidad al O_2 , 11.232 $\text{cm}^3 \text{m}^{-2} \text{atm}^{-1} \text{día}^{-1}$; permeabilidad al CO_2 , 48.552 $\text{cm}^3 \text{m}^{-2} \text{atm}^{-1} \text{día}^{-1}$; permeabilidad al vapor de H_2O 40 $\text{g m}^{-2} \text{día}^{-1}$.

Se utilizó un total de 20 bandejas para cada uno de los tratamientos ensayados.

El almacenamiento se efectuó a 0°C durante 21 días y se tomaron muestras para su análisis a los 0, 1, 7, 14 y 21 días de permanencia en cámara.

Como control (Testigo, T) se empleó el producto envasado y almacenado en atmósfera modificada, utilizando la película de empaque seleccionada (PVC), descrita precedentemente.

V.2.2.4. Determinaciones

V.2.2.4.1. Evaluación de características sensoriales

La misma se realizó de acuerdo con lo señalado en la Sección I.2.4.1 del Capítulo I, elaborando un análisis descriptivo de las muestras y haciendo hincapié en la comparación entre tratamientos, particularmente en lo que respecta a incidencia de daños.

Luego de cada inspección las muestras fueron catalogadas con un calificativo que varió entre *excelente*, *muy bueno*, *bueno*, *regular* y *malo*,

tomando como referencia que por debajo de "bueno" el producto dejaría de ser comercializable, considerando sólo la apariencia del mismo.

V.2.2.4.2. Pérdida de Peso

Se procedió tal como consta en la Sección I.2.4.4 del Capítulo I.

V.2.2.4.3. Color superficial

La medición del color superficial se llevó a cabo por el procedimiento descrito en la Sección I.2.4.5 del Capítulo I. Se tomó como representativo el valor correspondiente al ángulo de color (hue, h°) de la escala CIE.

V.2.2.4.4. Textura

Las determinaciones de textura se llevaron a cabo mediante los ensayos de cortes transversales y de compresión, de acuerdo con los procedimientos descritos en las Secciones II.2.4.1.1.a y II.2.4.1.2 del Capítulo II, respectivamente. En ambos casos se utilizó un TA-XT2i Texture Analyser, trabajando con el programa computacional para análisis de textura Texture Expert.

Las mismas se realizaron en el inicio de los ensayos, luego de aplicados los tratamientos y en las muestras que fueron almacenadas durante 21 días a 0°C.

V.2.2.4.5. Potencial de Pardeamiento

Se cuantificó según consta en la Sección III.2.4.1 del Capítulo III.

V.2.2.4.6. Contenido de Fenoles Totales

El procedimiento realizado para esta determinación ha sido descrito en la Sección III.2.4.2 del Capítulo III.

V.2.2.4.7. Concentración de ácido clorogénico

Se cuantificó según se ha señalado en la Sección III.2.4.3 del Capítulo III.

V.2.2.4.8. Concentración de Flavonoides Totales

Esta determinación fue llevada a cabo mediante la técnica descrita en la Sección III.2.4.4, apartado a) del Capítulo III.

V.2.2.4.9. Acido ascórbico

La cuantificación de vitamina C se realizó según el procedimiento detallado en la Sección IV.2.4.1 del Capítulo IV.

V.2.2.4.10. Poder antioxidante

Corresponde a la determinación referida en la Sección IV.2.4.2 del Capítulo IV.

V.2.2.5. Diseño experimental y análisis de resultados

Las experiencias fueron realizadas según un diseño factorial. Los factores fueron el tratamiento aplicado, correspondiendo a Testigo, TTI y TTE (3 niveles) y el tiempo de almacenamiento, 0, 1, 7, 14 y 21 días (5 niveles).

Los datos fueron sometidos al análisis de varianza (ANOVA) correspondiente. La comparación de las medias se efectuó con el test de la Diferencia Mínima Significativa (LSD) utilizando un grado de significación $p=0,05$.

V.2.3. RESULTADOS Y DISCUSION

V.2.3.1. Evaluación de características sensoriales

Durante la evaluación de características sensoriales se hizo hincapié en determinar cuáles eran los principales tipos de daño desarrollados en el producto almacenado y si existía un grado de incidencia distinto según el tratamiento considerado.

En general la calidad de apio trozado, tanto del control como de las muestras tratadas fue entre excelente y muy buena durante los primeros 14 días de almacenamiento, habiendo partido de niveles de calidad excelentes, para el producto recién procesado.

Los trozos tratados por inmersión (TTI) retuvieron en mayor medida el color original del producto (amarillo-verdoso). El amarilleamiento fue más evidente en el testigo y el TTE. Las diferencias entre tratamientos fueron apreciables a los 21 días de permanencia en cámara.

Otros defectos observados fueron el desarrollo de apariencia blanco-translúcida en los sectores de corte, pero su incidencia en general fue bastante baja. Afectó en mayor grado a los controles y a las muestras tratadas con aire seco, en comparación con el tratamiento térmico de inmersión.

Se observaron manifestaciones de pardeamiento enzimático a nivel de los haces vasculares expuestos, en las secciones cortadas y bajo la forma de puntuaciones de color pardo-anaranjado. No constituyó en ningún caso un daño severo. Hacia el día 21 y exclusivamente en el TTI se observaron algunos trozos aislados donde el pardeamiento afectó la cara interna (cóncava) de los mismos.

Tabla V.2.3.1. Incidencia de daños en apio trozado tratado térmicamente por inmersión en agua a 50°C durante 90 segundos (TTI) o con aire seco a 48°C durante 1 hora (TTE) y almacenado durante 21 días a 0°C.

Días a 0°C	Tipo de daño	T	TTI	TTE
7	Amarilleamiento	-	-	-
	Apariencia blanco-translúcida (incipiente)	45%	13%	32%
	Pardeamiento (muy incipiente)	10%	13%	26%
	Ahuecado	-	-	-
	Olor no característico, similar cumarina	-	-	-
	Podredumbres	-	-	-
	Calificación	Muy Bueno	Excelente	Excelente
14	Amarilleamiento	-	-	-
	Apariencia blanco-translúcida	43%	30%	50%
	Pardeamiento (incipiente)	20%	12%	20%
	Ahuecado	7%	-	-
	Olor no característico, similar cumarina	-	-	-
	Podredumbres	-	-	-
	Calificación	Muy bueno	Excelente	Excelente
21	Amarilleamiento	+	-	+
	Apariencia blanco-translúcida	43%	10%	27%
	Pardeamiento	20%	10%	17%
	Ahuecado	11%	40%	10%
	Olor no característico, similar cumarina	-	+	-
	Podredumbres	20%	47%	-
	Calificación	Regular/Bueno	Malo/Regular	Muy Bueno

T: Testigo; TTI: Tratamiento térmico por inmersión en agua a 50°C, durante 90 segundos; TTE: Tratamiento térmico con aire seco (estufa) a 48°C durante 1 hora; -: producto no afectado; +: producto ligeramente afectado; ++: producto muy afectado. Nota: los valores porcentuales se calcularon en base al número de trozos afectados por el tipo de daño en cuestión y el número total de trozos inspeccionados en cada punto de muestreo.

En algunas muestras se detectó el desarrollo de ahuecado o desintegración de la médula, formando un tejido de tipo aerénquima. Ello ocurrió en el control y a partir del día 14. La incidencia que tuvo en este caso fue de un 7% del total de trozos inspeccionados.

En las muestras tratadas térmicamente este tipo de daño se observó recién en el día 21 y afectó en un 10 y un 40% a TTE y TTI, respectivamente.

Se observó que existió una ligera deformación en las secciones de corte, dada por una mayor protuberancia de los haces vasculares, que en algunos casos se hacían mucho más notorios. Este fenómeno se observó principalmente en los controles y las muestras tratadas con aire seco, pudiendo estar asociado a una mayor deshidratación superficial en dichas muestras.

En el tratamiento TTI pudo comprobarse, al realizar las inspecciones periódicas, que los trozos liberaban una pequeña porción de exudado acuoso al ser apretados entre los dedos. Sin embargo no se lo consideró un defecto, puesto que dicho exudado no presentaba aspecto desagradable. Podría estar vinculado a un mayor contenido de agua libre, por efecto del tipo de tratamiento.

Hacia el final de la experiencia (día 21) existió desarrollo de olor no característico en las muestras tratadas térmicamente por inmersión. El mismo correspondió al descripto anteriormente como "similar a cumarina" y coincidió temporalmente con una alta incidencia de enfermedades (podredumbres) en el producto así tratado.

El grado de incidencia de las características y daños descriptos se resume en la Tabla V.2.3.1.

Las muestras tratadas térmicamente por inmersión se caracterizaron por un nivel de calidad elevado (excelente) hasta el día 14, pero a partir de este punto el desarrollo de daños se produjo en forma muy acelerada comparando con el testigo y el TTE.



Figura V.2.3.1. Apariencia de apio mínimamente procesado tratado térmicamente por inmersión en agua (50°C, 90 segundos) o con aire seco en estufa (48°C, 1 hora) y almacenado durante 24 días a 0°C.

Cuando el producto fue tratado con aire seco (TTE), se lograron niveles de calidad ligeramente superiores a los del control, con una menor incidencia de daños y dicho efecto parecería ser más prolongado durante el almacenamiento a 0°C, a diferencia de lo ocurrido con TTI. Por ello, si consideramos la evolución de las características sensoriales de las muestras durante el período completo (21 días), los niveles más altos de calidad correspondieron al tratamiento térmico con aire seco.

La Figura V.2.3.1 muestra el aspecto de las muestras testigo y tratadas térmicamente (TTI y TTE) al cabo de 24 días de almacenamiento a 0°C.

V.2.3.2. Pérdida de peso

La pérdida de peso (PP) de las bandejas aumentó significativamente ($p < 0,05$) a medida que transcurrió el tiempo de almacenamiento a 0°C , tanto para el control como para los tratamientos TTI y TTE. No hubo diferencias entre las bandejas control y las tratadas.

En el final del almacenamiento, se observó que la PP de las bandejas alcanzó valores entre 1,2 y 1,3%, para todas las situaciones ensayadas.

V.2.3.3. Color superficial

El color superficial de los trozos de apio fue caracterizado mediante la evolución del ángulo de color (hue, h°), que arrojó un valor inicial de $118,6^{\circ}$.

En la escala CIE tomada como referencia, un ángulo de 90° representa un h° amarillo (Gnanasekharan et al., 1992). Por lo tanto, como ya hemos mencionado, el h° correspondiente a nuestro material de partida denota un color amarillo-verdoso.

Los resultados obtenidos en las determinaciones de color superficial se presentan en la Figura V.2.3.2.

En la misma puede observarse que tanto para las muestras control como para las sometidas al TTE, el h° disminuyó ligeramente y prácticamente en forma lineal alcanzando al cabo de 21 días un valor equivalente al 95% del de partida. No existieron diferencias significativas entre el testigo y TTE ($p > 0,05$) en ninguno de los puntos de muestreo.

En el caso de los trozos tratados por inmersión (TTI), el h° permaneció prácticamente constante y cercano al valor de partida ($p > 0,05$) durante todo el lapso considerado.

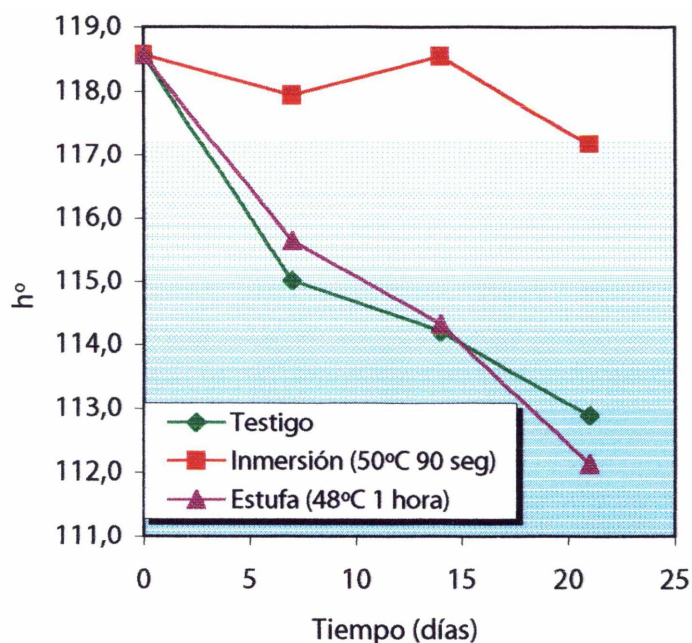


Figura V.2.3.2. Variaciones del ángulo de color (h°) en apio mínimamente procesado, tratado térmicamente y almacenado durante 21 días a 0°C ($\text{LSD}_{0,05} = 1,8$). T: Testigo; TTI: Tratamiento térmico por inmersión a 50°C , 90 segundos; TTE: Tratamiento térmico con aire seco a 48°C durante 1 hora.

Los resultados evidencian un buen efecto del calentamiento por inmersión en agua a 50°C durante 90 segundos sobre la retención del color en apio mínimamente procesado, si bien la decoloración correspondiente al testigo (T) y al TTE no fue demasiado notoria.

En forma similar, realizando inmersiones de hasta 10 minutos en agua calentada a $43\text{-}55^{\circ}\text{C}$ se retrasó el amarilleamiento de brócoli (Forney, 1995; Tian et al., 1996, 1997).

En bananas se produjo una inhibición del desverdizado por acción de diversos tratamientos térmicos y ello parecería deberse a la ausencia de actividad de la enzima oxidasa que actúa sobre la clorofila, resultanto en la retención de este pigmento (Lurie, 1998). Se desconoce si esta inhibición fue producida a nivel de la expresión génica.

V.2.3.4. Textura

Los resultados obtenidos en las mediciones de textura por medio de ensayos de corte, utilizando la cuchilla Warner-Bratzler (cortes transversales a las fibras vasculares y de colénquima) se muestran en la Figura V.2.3.3.

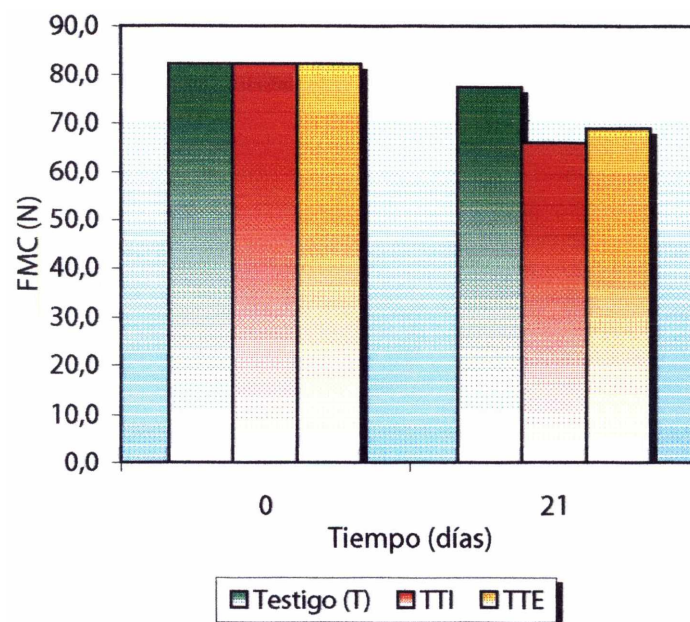


Figura V.2.3.3. Variaciones de la Fuerza Máxima de Corte (FMC), en Newtons, de apio mínimamente procesado, tratado térmicamente y almacenado durante 21 días a 0°C ($LSD_{0,05}=10,6$). T: Testigo; TTI: Tratamiento Térmico Inmersión (50°C, 90 segundos); TTE: Tratamiento Térmico con Aire Seco (Estufa) a 48°C, 1 hora.

En la Figura se observa una tendencia a disminuir en los valores de Fuerza Máxima de Corte (FMC) tanto en los controles como en las muestras

tratadas térmicamente (TTI y TTE) al cabo de 21 días de permanencia en cámara, aunque la diferencia observada para el testigo no llegó a ser significativa ($p>0,05$).

En las muestras sometidas a estrés por calentamiento, se alcanzó un valor de FMC de aproximadamente 67N, equivalente a un 82% de la inicial, no existiendo diferencias significativas entre tratamientos.

Lau et al. (2000) hallaron que el esfuerzo de corte en espárragos disminuyó con el incremento del tiempo y la temperatura de calentamiento, trabajando en un rango de 70-98°C y 5 a 120 minutos. Si bien los tratamientos fueron en ese caso mucho más energéticos, los autores atribuyeron la reducción del esfuerzo de corte a la pérdida de la resistencia mecánica y de la adhesión celular.

Los resultados hallados para las determinaciones correspondientes a los ensayos de compresión se grafican en la Figura V.2.3.4.

En este caso también se observó una tendencia a la disminución de la Fuerza Máxima luego de haber sido almacenado el producto durante 21 días a 0°C.

Para el testigo, la reducción no alcanzó a ser significativa ($p>0,05$), mientras que en el caso de TTI se registró la máxima caída, alcanzando la Fuerza al final de la permanencia en cámara un valor equivalente al 55% del inicial.

En cambio en los trozos tratados con aire seco (TTE) la Fuerza medida al cabo de 21 días a 0°C sólo cayó ligeramente con respecto al nivel de partida, y representó en ese punto el 73% con respecto al mismo.

Ello concuerda con las determinaciones de textura realizadas mediante ensayos de corte, si bien ya se ha discutido (Sección II.3.1, del Capítulo II) que los efectos evaluados indirectamente a partir de ambos tipos de ensayo (corte versus compresión) serían diferentes.

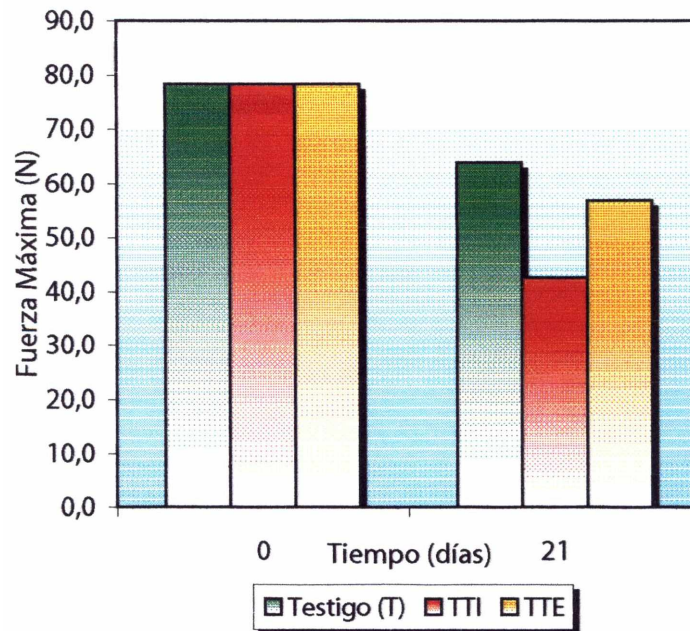


Figura V.2.3.4. Variaciones de la Fuerza Máxima medida en Compresión (en Newtons) de apio mínimamente procesado, tratado térmicamente y almacenado durante 21 días a 0°C ($LSD_{0,05}=20,5$). T: testigo; TTI: Tratamiento Térmico Inmersión (50°C, 90 segundos); TTE: Tratamiento Térmico con Aire Seco (Estufa) a 48°C, 1 hora.

Los resultados indicarían, más que una pérdida de turgencia, un ablandamiento más generalizado de los pecíolos de apio, puesto que luego de un período prolongado en cámara (21 días) sumado al efecto que puede haberse inducido por los tratamientos (especialmente por el de inmersión), nos encontraríamos en un punto donde los procesos de degradación de las paredes celulares tendrían una relativamente alta incidencia.

A pesar de ello, tanto las muestras controles como las tratadas con aire seco (TTE) conservaron aproximadamente sus propiedades texturales iniciales.

V.2.3.5. Potencial de Pardeamiento

Los resultados obtenidos en cuanto al Potencial de Pardeamiento del producto se muestran en la Figura V.2.3.5.

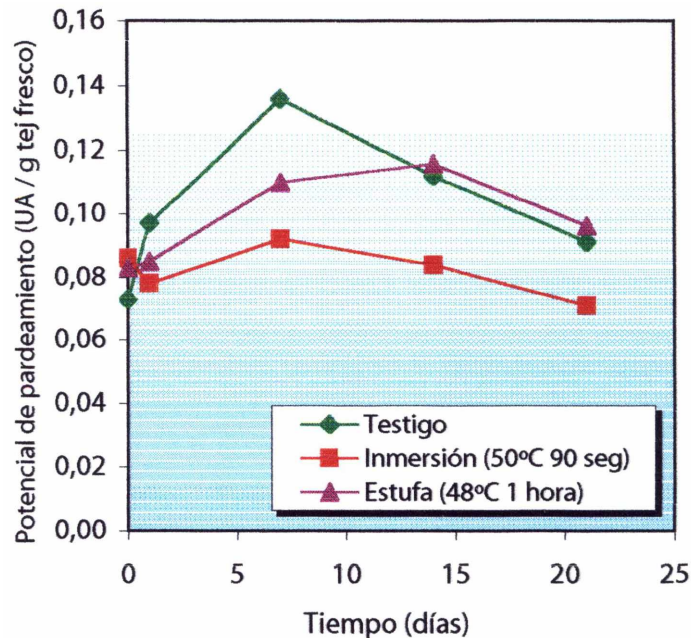


Figura V.2.3.5. Potencial de pardeamiento (Unidades de Absorbancia –UA- a 320 nm g^{-1} de tejido fresco) en apio mínimamente procesado, tratado térmicamente y almacenado durante 21 días a 0°C ($LSD_{0.05} = 6 \times 10^{-3}$). T: Testigo; TTI: Tratamiento térmico por inmersión a 50°C, 90 segundos; TTE: Tratamiento térmico con aire seco a 48°C durante 1 hora.

No se observaron diferencias significativas en el Potencial de Pardeamiento de los controles y los trozos tratados térmicamente por inmersión o con aire seco, en forma inmediata a la aplicación del estrés por calentamiento. Los valores iniciales promediaron 0,08 unidades de Absorbancia (UA) g^{-1} de tejido fresco.

En los controles se verificó un aumento pronunciado en el Potencial de Pardeamiento dentro de la primera semana de almacenamiento, alcanzando un máximo en el día 7, valor que prácticamente duplicó el correspondiente al inicio. De allí en más mostró tendencia a disminuir, pero igualmente el

Potencial de Pardeamiento del producto no tratado almacenado 21 días a 0°C, resultó significativamente más alto que el de partida.

En el tratamiento TTI se observó una relativa constancia en los niveles de Potencial de Pardeamiento durante los 14 días de permanencia en cámara, disminuyendo muy ligeramente con relación al inicio, hacia los 21 días a 0°C.

Las muestras tratadas con aire seco a 48°C durante 1 hora (TTE) experimentaron un aumento significativo ($p < 0,05$) del Potencial de Pardeamiento durante 14 días de almacenamiento. En este punto se alcanzó un valor máximo que resultó 1,4 veces mayor al inicial y similar al correspondiente al control. A partir de allí se produjo una disminución del Potencial de Pardeamiento.

En nuestras experiencias, partimos de niveles de Potencial de Pardeamiento considerablemente más bajos (2,5 veces inferiores) a los señalados por Loaiza-Velarde et al. (2003). Dichos autores informaron valores para pecíolos de apio dañados por excisión (segmentos de 5 mm) que se incrementaron desde aproximadamente 0,2 UA g⁻¹ de tejido fresco en el inicio hasta 0,6 UA g⁻¹ de tejido fresco al cabo de 5 semanas a 0°C.

Asimismo los autores indicaron que cuando los segmentos fueron tratados térmicamente por inmersión en agua a 50°C durante 90 segundos, dentro de los 10 minutos de efectuado el procesamiento, se logró retrasar durante tres semanas el incremento observado en el potencial de pardeamiento de los controles, durante el almacenamiento a 0°C.

Los resultados señalados muestran una tendencia similar a la observada en nuestro trabajo, en relación a que el TTI a 50°C durante 90 segundos redujo los incrementos observados en el Potencial de Pardeamiento de los trozos no tratados, en tanto que el TTE sólo los retardaría por 14 días.

Sin embargo, en nuestra variedad de trabajo (Golden Boy) el pardeamiento enzimático no constituye un daño que pueda ser calificado como severo, y si bien se observó desarrollo de este fenómeno en el producto

almacenado (testigo y tratados), las manifestaciones fueron muy localizadas e incluso hasta el día 14 consideradas como incipientes (Sección V.2.3.1 del presente Capítulo).

V.2.3.6. Contenido de fenoles totales

La Figura V.2.3.6 muestra la evolución de la concentración de fenoles totales en apio trozado, en función del tratamiento aplicado y del tiempo de permanencia a 0°C.

En la misma puede verse que el contenido de fenoles totales en las muestras sometidas a estrés térmico, medido inmediatamente después de aplicados los tratamientos TTI y TTE, fue ligeramente superior al del control, aunque las diferencias registradas no resultaron estadísticamente significativas. Dicho contenido promedió 57 μg de catequina g^{-1} de tejido fresco en el inicio del almacenamiento.

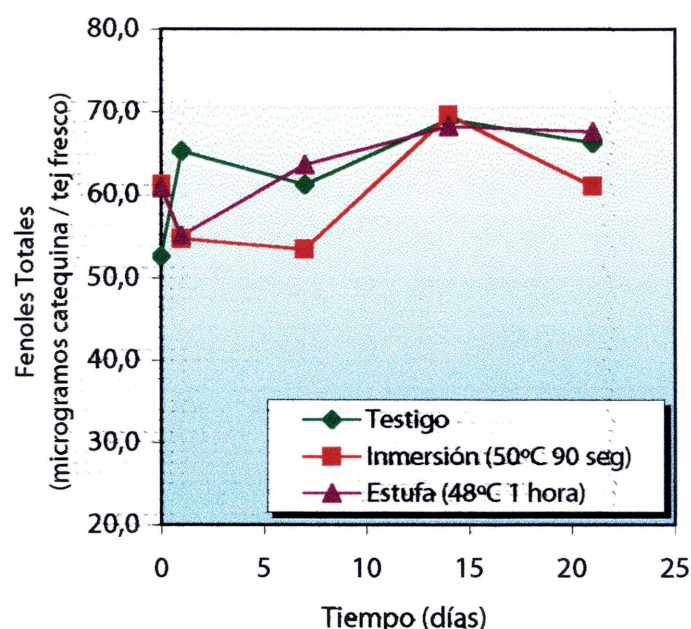


Figura V.2.3.6. Contenido de Fenoles Totales (μg de catequina g^{-1} de tejido fresco) en apio mínimamente procesado, tratado térmicamente y almacenado durante 21 días a 0°C ($\text{LSD}_{0,05}=16$). T: Testigo; TTI: Tratamiento térmico por inmersión a 50°C, 90 segundos; TTE: Tratamiento térmico con aire seco a 48°C durante 1 hora.

En los controles prácticamente no existieron diferencias significativas entre los valores medidos durante el almacenamiento ni con respecto al inicio. Lo mismo ocurrió con las muestras tratadas.

Existió en los tres casos una tendencia al aumento del contenido de fenoles totales, hacia el día 14. No existieron diferencias significativas entre los tratamientos y los controles.

Loaiza-Velarde et al. (1997), analizando la aplicación de tratamientos térmicos por inmersión en lechuga, hallaron que los niveles de fenoles totales fueron afectados significativamente por la temperatura empleada. Tanto a 50°C durante 90 segundos como a 55°C durante 60 segundos, observaron una reducción del incremento en la concentración de compuestos fenólicos, con relación al control, dentro de las 72 horas de almacenamiento a 10°C.

V.2.3.7. Concentración de ácido clorogénico

Los resultados obtenidos al analizar la evolución del contenido de ácido clorogénico se muestran en la Figura V.2.3.7.

De igual manera que en el caso de Fenoles Totales, el contenido de ácido clorogénico en apio trozado inmediatamente después de efectuados ambos tratamientos térmicos, mostró tendencia a ser ligeramente superior al de los controles, aunque las diferencias no resultaron significativas ($p > 0,05$). Los valores iniciales estuvieron comprendidos entre 5 y 7,5 $\mu\text{g g}^{-1}$ de tejido fresco.

En el producto no tratado (T) se observó un incremento rápido en los niveles de este compuesto, que prácticamente se duplicaron al cabo de 24 horas a 0°C. La concentración máxima correspondió al día 7 y fue 2,2 veces mayor a la inicial. De allí en más los valores comenzaron a disminuir gradualmente, llegando en el día 21 a niveles ligeramente menores a los de partida.

En las muestras tratadas por inmersión en agua (TTI), también se observó un incremento significativo en la concentración de ácido clorogénico, después de 24 horas en cámara, pero el mismo fue ligeramente menor en relación al del testigo, ya que el valor alcanzado en este caso fue 1,5 veces mayor al inicial. A partir de este punto, los niveles de ácido clorogénico comenzaron a disminuir paulatinamente, llegando al día 21 a una concentración equivalente a la de partida.

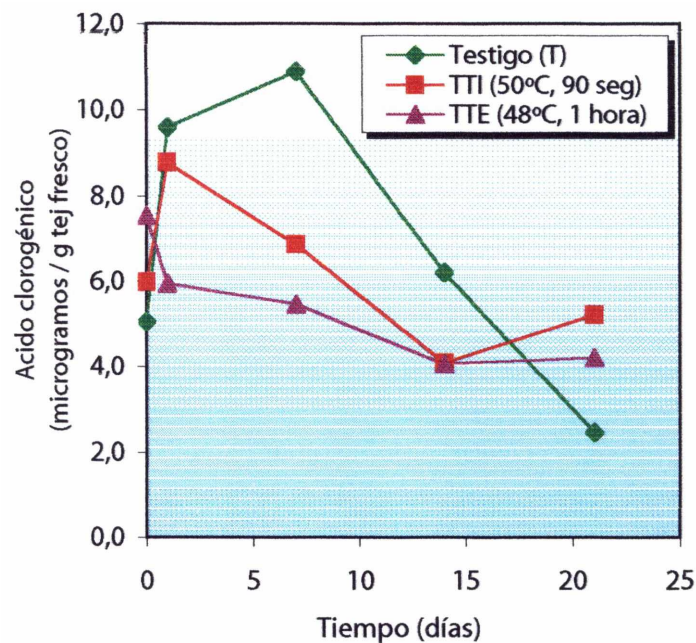


Figura V.2.3.7. Contenido de ácido clorogénico ($\mu\text{g g}^{-1}$ de tejido fresco) en apio mínimamente procesado, tratado térmicamente y almacenado durante 21 días a 0°C ($\text{LSD}_{0,05}=2,6$). T: Testigo; TTI: Tratamiento térmico por inmersión a 50°C , 90 segundos; TTE: Tratamiento térmico con aire seco a 48°C durante 1 hora.

Con respecto a lo ocurrido en las muestras tratadas con aire seco (TTE), se observó una disminución significativa en la concentración de este compuesto, considerando los primeros 14 días de permanencia a 0°C . De allí y hasta el final del período ensayado (día 21) los niveles se mantuvieron constantes.

Nuestros resultados concuerdan parcialmente con lo hallado por Loaiza-Velarde et al. (1997) en lechuga, donde se produjo una acumulación de ácido clorogénico hacia los tres días de almacenamiento a 10°C, en las muestras control. Los mismos autores hallaron que la exposición a 50°C durante 90 segundos mantuvo la concentración de ácido clorogénico en los niveles iniciales durante las 72 horas que duró la experiencia.

De existir una jerarquía en la respuesta de los tejidos a diferentes tipos de estrés abiótico, tal como lo señala Saltveit (2000), sería factible redireccionar la síntesis de proteínas en productos mínimamente procesados, desde la producción de enzimas vinculadas a la respuesta al daño hacia las proteínas relacionadas con el estrés térmico (HSP) (Loaiza-Velarde et al., 1997).

De esta forma la síntesis de enzimas que participan en el metabolismo fenilpropanoide, y que serían inducidas por las lesiones mecánicas, podrían ser parcial o totalmente reprimidas a favor de la generación de HSP (Loaiza-Velarde et al., 1997).

Una consecuencia de ello podría ser la menor acumulación de ácido clorogénico observada en los primeros días del almacenamiento en nuestras experiencias con apio mínimamente procesado, para las muestras tratadas térmicamente por inmersión y con aire seco en estufa.

Al respecto, parece haber sido mayor la eficiencia del tratamiento TTE con respecto a TTI, en controlar el incremento de ácido clorogénico observado en el testigo no tratado.

V.2.3.8. Concentración de Flavonoides Totales

Continuando con el estudio de los principales grupos de compuestos fenólicos, se analizó el contenido de flavonoides totales. Los resultados correspondientes se muestran en la Figura V.2.3.8.

En ella se observa que la aplicación de los tratamientos térmicos, tanto por inmersión como con aire seco, indujo una disminución inmediata en la

concentración de flavonoides totales, comparando los valores iniciales con los del testigo.

En las muestras no tratadas la concentración inicial de flavonoides fue 1,3 y 2,5 veces superior con relación a TTI y TTE, respectivamente. Ello indicaría que el estrés térmico indujo una disminución del contenido de flavonoides totales, que fue más marcado en el caso del tratamiento en estufa.

En las muestras control se observó que al cabo de 24 horas se produjo una disminución en el nivel de flavonoides totales, representando una caída del 38% con respecto al valor de partida. Los valores continuaron disminuyendo hasta el día 14 y permanecieron prácticamente constantes hacia el día 21, donde la concentración hallada correspondió al 53% de la inicial.

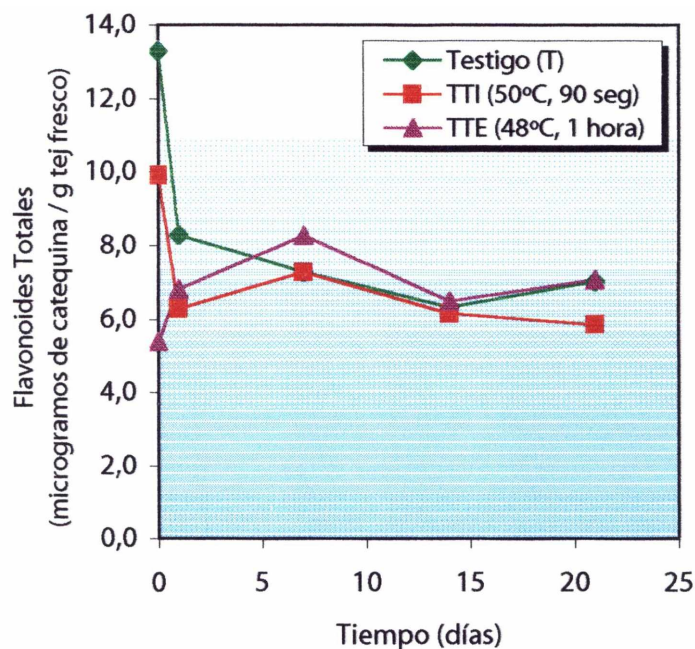


Figura V.2.3.8. Contenido de Flavonoides Totales (μg de catequina g^{-1} de tejido fresco) en apio mínimamente procesado, tratado térmicamente y almacenado durante 21 días a 0°C ($\text{LSD}_{0,05}=1,3$). T: Testigo; TTI: Tratamiento térmico por inmersión a 50°C , 90 segundos; TTE: Tratamiento térmico con aire seco a 48°C durante 1 hora.

En las muestras tratadas por inmersión en agua la evolución de flavonoides totales fue similar a la de los controles. Se produjo una disminución significativa después de 24 horas en cámara, representando una caída del 37% con respecto al valor de partida (similar a la verificada en el testigo). De allí en más la concentración de flavonoides totales permaneció prácticamente sin cambios durante el resto del almacenamiento.

Contrariamente, en las muestras que recibieron el TTE la concentración de flavonoides se incrementó ligeramente ($p < 0,05$) entre el inicio y los primeros 7 días en cámara y luego permaneció prácticamente constante hasta el final del almacenamiento.

No hubo diferencias a partir de los siete días entre los tratamientos y el testigo ($p > 0,05$)

Ewald et al. (1999) analizaron el efecto de diferentes tratamientos térmicos y métodos de procesamiento sobre el contenido de flavonoides en cebollas. Cuando el producto fue blanqueado con vapor se produjeron pérdidas del 39 y 64% en los contenidos de quercetina y kampferol, respectivamente.

Si bien el efecto observado en pecíolos de apio sometido a tratamientos térmicos fue también una pérdida en el contenido inicial de flavonoides totales, en nuestro caso la disminución ocasionada por la inmersión en agua a 50°C durante 90 segundos fue del 26% con respecto al contenido de partida en el control.

Cuando se realizó calentamiento en estufa (aire seco) a 48°C durante una hora, la disminución de flavonoides totales representó un 60% con respecto al producto no tratado, a pesar de que este tipo de tratamiento es mucho menos drástico que el escaldado con vapor.

V.2.3.9. Contenido de ácido ascórbico

Los resultados arrojados en las determinaciones de ácido ascórbico se muestran en la Tabla V.2.3.1.

Tabla V.2.3.1. Contenido de ácido ascórbico (mg / 100 g de tejido fresco) en apio mínimamente procesado, tratado térmicamente y almacenado durante 21 días a 0°C (LSD_{0,05}=0,4). T: testigo; TTI: tratamiento térmico de inmersión (50°C, 90 segundos); TTE: tratamiento térmico con aire seco, en estufa a 48°C durante 1 hora.

Tiempo (días)	Acido ascórbico (mg / 100 g tejido fresco)		
	Testigo (T)	TTI	TTE
0	3,6	3,1	3,4
7	4,9	3,6	4,2
14	3,0	3,0	3,5
21	2,9	3,1	3,3

Pudo observarse que en el tiempo inicial (día 0) la aplicación del tratamiento TTI produjo una ligera aunque significativa disminución en el contenido de ácido ascórbico (AA), con relación al control. La aplicación de calor con aire seco (TTE) no indujo cambios al respecto ($p > 0,05$).

En los testigos, se registró en la primera semana de permanencia a 0°C un incremento significativo en la concentración de AA, alcanzando así un valor 36% superior con respecto al nivel de partida. De allí en más el contenido de AA disminuyó significativamente, llegando al día 21 con una concentración 20% inferior a la inicial.

En las muestras tratadas por inmersión en agua (TTI) el comportamiento fue muy similar, sólo que las variaciones resultaron de una menor magnitud. Así en el día 7 el incremento observado, si bien fue significativo, sólo representó un 16% del valor inicial, mientras que la disminución verificada en el día 21 condujo a concentraciones de AA equivalentes a las de partida.

En el tratamiento TTE la tendencia fue la misma. A los 7 días de permanencia a 0°C, la concentración de AA aumentó significativamente hasta un valor 24% más alto que el inicial. De allí en más se verificaron disminuciones

en el contenido de AA, alcanzándose en el día 21 valores equivalentes a los de partida.

El TTE indujo una mayor retención de AA, ya que el tenor medido en el día 14 fue mayor que en el testigo y TTI.

La evolución del tenor de vitamina C en apio trozado, tratado térmicamente o no, fue concordante con lo analizado en la Sección IV.3.1 del Capítulo IV, en el sentido de que también se observó un ligero incremento en la concentración de AA durante el almacenamiento refrigerado. En el caso de este grupo de experiencias, dicho incremento se verificó con cierta anticipación (una semana) en relación a lo ocurrido anteriormente, al comparar el comportamiento del AA durante la conservación a 0, 4 ó 10°C.

Parecería que, de existir una síntesis de AA en el producto, la misma podría resultar inducida por el daño ocasionado durante el procesamiento o como respuesta a la senescencia paulatina que acontece aún durante el almacenamiento a bajas temperaturas.

Dado que los incrementos observados se produjeron entre los 7 y 14 días de permanencia en cámara y que, según se vió en la Sección IV.3.1 del Capítulo IV, fueron mayores cuanto más elevada fue la temperatura de almacenamiento, ello induce a pensar que estarían más bien vinculados a un proceso previo al inicio de la senescencia de los tejidos.

De esta forma podríamos también postular que los tratamientos térmicos ensayados atenuaron en mayor o menor medida esta respuesta, incidiendo de alguna manera en los procesos normales del envejecimiento de apio trozado.

V.2.3.10. Poder antioxidante

La evolución del Poder Antioxidante (PA) de apio trozado sometido a los diferentes tratamientos térmicos se muestra en la Figura V.2.3.9.

Se observa que en el inicio de los ensayos el PA del Testigo y del tratamiento TTE no mostraron diferencias significativas, promediando $4,4 \text{ g}^{-1}$ de tejido fresco.

Luego de haber sido aplicado el tratamiento TTI, el PA de las muestras disminuyó en forma significativa, alcanzando un valor 41% inferior en relación al del control.

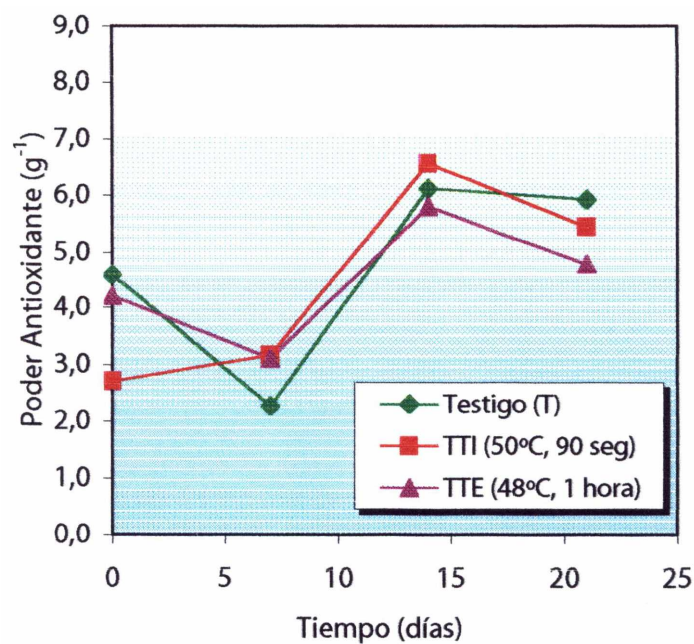


Figura V.2.3.9. Poder Antioxidante (PA) (g^{-1} de tejido fresco) en apio mínimamente procesado, tratado térmicamente y almacenado durante 21 días a 0°C ($\text{LSD}_{0,05}=0,6$). T: Testigo; TTI: Tratamiento térmico por inmersión a 50°C , 90 segundos; TTE: Tratamiento térmico con aire seco a 48°C durante 1 hora. $\text{PA} = 1/\text{EC}_{50}$ donde EC_{50} corresponde a la Concentración Efectiva Media.

Esta observación correspondiente al punto inicial, concuerda con lo hallado en la investigación de ácido ascórbico y flavonoides totales, donde el tratamiento TTI también indujo una disminución en la concentración de dichos compuestos con respecto al producto testigo.

En los controles, y a los 7 días de permanencia en cámara el PA disminuyó significativamente alcanzando un 50% del valor inicial. De allí en más se produjo una recuperación del PA que permaneció en valores aproximadamente 30% superiores a los de partida, hasta el final de la conservación. Este comportamiento fue similar a lo descrito en el Capítulo IV (Sección IV.3.2).

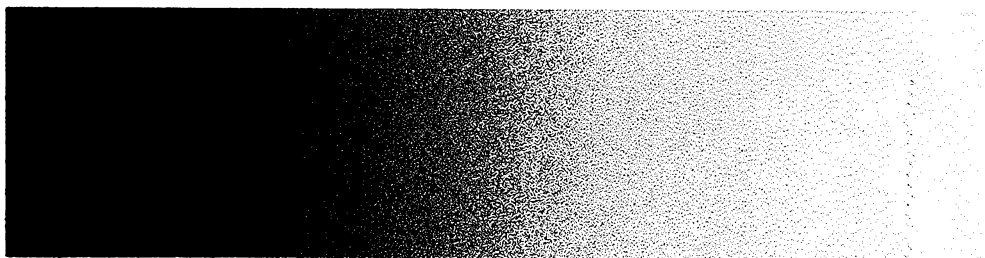
En las muestras tratadas por inmersión (TTI), el PA aumentó hacia los 14 días, alcanzando valores similares a los observados en los testigos.

Cuando se aplicó el TTE, la evolución del PA mostró una tendencia muy similar a la de los controles.

En las experiencias donde se incorporó el efecto de los tratamientos térmicos, observamos que a partir de los siete días prácticamente no existieron diferencias entre los controles y las muestras tratadas. Las únicas variaciones registradas correspondieron al tiempo 0, donde TTI arrojó valores menores de PA y en el día 7, donde dicho tratamiento no manifestó las disminuciones observadas en el testigo y en TTE.

V.2.4 CONCLUSIONES

- ✓ En el inicio del almacenamiento (día 0) el tratamiento térmico de inmersión (TTI) indujo, con relación a los controles, una disminución en el contenido de flavonoides totales y de ácido ascórbico, produciendo por lo tanto una pérdida de la capacidad antioxidante de apio trozado.
- ✓ En el mismo punto, el tratamiento térmico con aire seco (TTE) produjo, respecto al testigo, una pérdida de flavonoides totales pero no incidió sobre el tenor de ácido ascórbico. De esta forma el TTE no afectó el poder antioxidante del producto.
- ✓ El TTE permitió una mayor retención de la concentración de vitamina C durante el almacenamiento a 0°C, aunque dicho efecto no se reflejó en la variación del poder antioxidante.
- ✓ Desde el punto de vista de la evolución de caracteres organolépticos, no habría diferencias entre las muestras tratadas en estufa (TTE) y los controles. El TTI induciría un mayor ablandamiento y una mayor susceptibilidad a las podredumbres, por lo tanto su aplicación no sería beneficiosa, bajo las condiciones ensayadas.
- ✓ El producto tratado con aire seco (TTE) no se diferenció en gran medida del envasado en atmósfera modificada (EAM), si bien la menor disminución del contenido de vitamina C a partir del día 7 y el más bajo potencial de pardeamiento indicarían una mínima ventaja de TTE con respecto a EAM.
- ✓ La conservación en atmósfera modificada utilizando PVC como película de envasado sería un método adecuado de almacenamiento para pecíolos de apio mínimamente procesado, puesto que los beneficios obtenidos con la aplicación de un tratamiento térmico en estufa no justificarían el incremento de los costos derivados de su implementación.



DISCUSSION GENERAL

DISCUSION GENERAL

El apio presenta la ventaja de ser un producto relativamente poco perecedero, pero el hecho de comercializarlo como mínimamente procesado implicaría aumentar o acelerar el grado de deterioro durante el almacenamiento.

Por tal motivo se consideró relevante en el presente trabajo analizar la variación de los aspectos físico-químicos de la calidad de apio trozado, las modificaciones texturales y la evolución de diversos compuestos químicos pertenecientes al metabolismo fenólico, por relacionarse con la respuesta a diferentes tipos de estrés. Asimismo se analizó el contenido de ácido ascórbico y la capacidad antioxidante, por vincularse directamente con la defensa frente al daño oxidativo.

Así se llegaron a determinar las ventajas específicas de conservar el producto a 0°C, logrando una vida de estante prolongada al tomar como base los parámetros seleccionados como más relevantes.

Durante el almacenamiento a dicha temperatura se logró reducir la incidencia de daños tales como amarilleamiento, desarrollo de apariencia blanco-translúcida en los sectores de corte, pardeamiento de los haces vasculares seccionados, producción de olores no característicos, podredumbres, pérdida de la calidad de crujiente y ahuecado de los pecíolos. Dichos daños comenzaron a incidir a partir de los 7 días a 10°C, mientras que a 0°C el producto mantuvo niveles aceptables de calidad aún luego de 27 días en cámara.

La conservación a 0°C fue particularmente eficiente en la retención del color original de los trozos y de los niveles de clorofilas, puesto que no se detectaron variaciones significativas en los mismos, dentro de los 14 días a dicha temperatura.

Por el contrario, a 10°C se produjo una rápida y mayor disminución del ángulo de color (hue, h°) y los pigmentos verdes se degradaron rápidamente. A

los 7 días a dicha temperatura hubo una reducción del hº y una pérdida significativa de clorofilas, factores que indicarían el avance notorio de la senescencia.

El sistema de envasado en atmósfera modificada empleando PVC como película de empaque no logró atenuar el amarilleamiento observado a 10°C, si bien fue a dicha temperatura que se alcanzaron las mayores concentraciones de CO₂. El almacenamiento a 0°C fue mucho más efectivo con relación a este punto.

Esta última temperatura también contribuyó a retener niveles más elevados de fructosa, glucosa y manitol en comparación con 10°C.

En concordancia con que el manitol puede actuar como reserva de carbono y poder reductor, como regulador del estrés y secuestrador de especies reactivas de oxígeno (Keller y Matile, 1989; Stoop et al., 1996; Smirnoff y Cumbes, 1989), observamos una tendencia al mayor consumo de dicho alditol, tanto a 0 como a 10°C, en relación al de fructosa y glucosa.

Por lo expuesto podría relacionarse la disminución de manitol, más importante a 10 que a 0°C, con el grado de senescencia del producto. Así, a los 7 días a 10°C se produjo una disminución importante en el contenido de manitol, coincidiendo con la generalización del amarilleamiento.

La textura de apio fue otra de las características que se consideró relevante desde el punto de vista de los consumidores.

Tanto a 0 como a 10°C se verificó un ligero endurecimiento de los pecíolos hacia los 14 y 7 días respectivamente. El incremento de textura se produjo a nivel de los tejidos vasculares y de sostén, no afectando al parénquima.

Cuando el tiempo de almacenamiento se prolongó más allá de las dos semanas, se verificó una tendencia a la disminución en la fuerza máxima de corte, asociada posiblemente a los procesos de degradación de la pared celular y a la incidencia de ahuecado, especialmente a 10°C.

Conservando el producto a 0°C fue factible diferir una semana el incremento de textura y retrasar también la disminución posterior de la fuerza máxima de corte.

Buscando corroborar si el endurecimiento era causado por acumulación de lignina, se determinó la concentración de dicho compuesto, hallando incrementos tanto a 0 como a 10°C, desde el inicio hasta el final de la permanencia en cámara.

No hubo indicios de que la lignificación actuara como mecanismo de cicatrización de heridas. Sin embargo se ha mencionado que los precursores de la lignina y los radicales libres producidos durante su polimerización pueden inactivar membranas, enzimas, toxinas y elicitores fúngicos (Vance et al., 1980). Por ello no se descartaría que los incrementos observados en el contenido de este biopolímero se debieran a la necesidad de reforzar los mecanismos de defensa del tejido.

Con respecto a la caracterización de los demás compuestos fenólicos, parecería que el procesamiento (corte + lavado y desinfección) indujo una respuesta rápida en el nivel de fenoles totales y de las flavonas apigenina y luteolina.

Los fenoles libres se incrementaron hacia las dos horas posteriores a la elaboración del producto, pero fue posible reducir la respuesta almacenando los trozos a 0°C.

En cambio los incrementos observados en la concentración de apigenina y luteolina, verificados entre las 2 y 6 horas de efectuado el procesamiento, fueron independientes de la temperatura de conservación utilizada.

Durante la conservación a largo plazo (más allá de los 14 días), el potencial de pardeamiento se incrementó a 10°C, por encima de los valores correspondientes a 0 y 4°C.

Los fenoles totales lo hicieron tanto a 4 como a 10°C, luego de haber transcurrido 14-21 días en cámara, mientras que los contenidos de ácido clorogénico y flavonoides totales se redujeron ya en la primera semana de almacenamiento.

Podría postularse que la concentración de algunos compuestos fenólicos, entre ellos el ácido clorogénico y/o los flavonoides, sería estimulada por efecto del procesamiento, en un corto término (desde horas a pocos días) y los mismos se consumirían posteriormente, durante el almacenamiento prolongado, ya sea como sustrato del pardeamiento enzimático o bien en reacciones de óxido reducción, dependiendo de la demanda de poder antioxidante por parte de los tejidos.

Dicho indicio surge de analizar conjuntamente la evolución observada en el contenido de ácido clorogénico en apio almacenado en atmósfera modificada (EAM), con PVC como película de empaque, a 0, 4 y 10°C y la ocurrida al comparar el EAM con la aplicación adicional de tratamientos térmicos (Capítulo III y Capítulo V, Sección V.2).

Por otra parte, las determinaciones de ácido ascórbico mostraron que su concentración, si bien es inicialmente baja en apio, aumentó hacia los 14 días en cámara, tanto a 0, como a 4 y 10°C. El aumento fue mayor cuanto más alta fue la temperatura de almacenamiento. Dicho fenómeno podría asociarse al grado de senescencia, a modo de respuesta frente a daños en las membranas, generación de EROs, producción de otros radicales libres, etc. De todas formas el aumento de ácido ascórbico no representaría ninguna mejora considerable en la calidad nutricional del producto, ni compensaría el deterioro ocasionado a 10°C.

El Poder Antioxidante (PA) de apio trozado sería el resultado de interacciones complejas entre el contenido de ácido ascórbico, compuestos fenólicos (incluyendo ácido clorogénico, flavonoides, lignina, etc.), manitol y otros antioxidantes presentes en los pecíolos.

En general el PA disminuyó hacia los siete días de almacenamiento, tanto a 0, como a 4 y 10°C. Luego se incrementó a las dos semanas de permanencia en cámara, alcanzando valores similares a los de partida al final del período ensayado (28 días).

Con el objetivo de determinar la incidencia de diferentes tratamientos físicos postcosecha, primero en los atributos de calidad que se establecieron como relevantes (Capítulos I y II) y luego en los mecanismos de defensa de índole química estudiados (Capítulos III y IV) se aplicaron tratamientos UV en diferentes dosis, se introdujo la variante de ensayar dos películas plásticas más aparte del PVC (PD941 y PD961) y se implementaron tratamientos térmicos por inmersión y con aire seco bajo diferentes combinaciones de tiempo y temperatura.

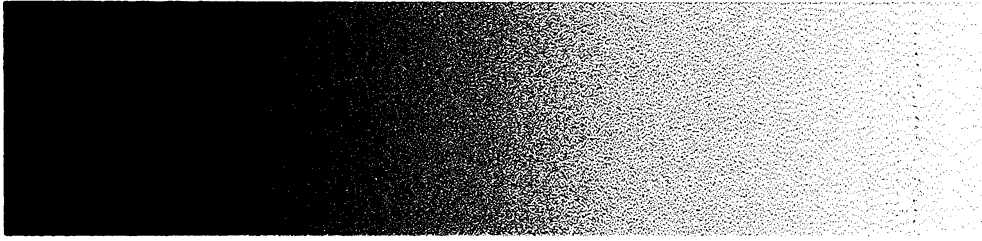
Se concluyó que, bajo las condiciones ensayadas, la irradiación UV causaría un daño notorio y por ello fue descartada como tratamiento en apio trozado.

El EAM empleando PVC como película de empaque resultó la alternativa más adecuada, puesto que si bien con PD941 se alcanzaron niveles de calidad comparables, la disponibilidad y el menor costo favorecerían el uso de PVC.

Dentro de los tratamientos térmicos (TT) se seleccionaron la combinación 50°C-90 segundos para la inmersión en agua y 48°C-1 hora para el calentamiento en estufa, respectivamente. Dicha selección se realizó principalmente en base a una ligeramente mejor retención del color original y al desarrollo de daños evidenciados con dichos tratamientos.

Luego de compararlos con el EAM utilizando PVC, en lo que respecta al análisis de los compuestos fenólicos de defensa, el contenido de vitamina C y la capacidad antioxidante, se concluyó que los TT no brindarían mayores ventajas desde el punto de vista de la calidad sensorial ni nutricional con relación al EAM.

Este último sistema, operando a una temperatura de 0°C, resultó adecuado y eficiente por lo que no se justificaría un incremento de costos a partir de la implementación de tratamientos adicionales.



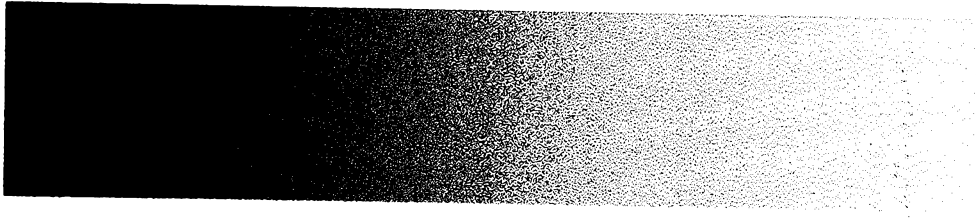
CONCLUSIONES GENERALES

CONCLUSIONES GENERALES

- ✓ La conservación de apio trozado a 0°C permitió mantener niveles aceptables de calidad aún luego de 27 días de almacenamiento. Ello estuvo determinado por la baja incidencia de daños (amarilleamiento, pardeamiento, apariencia blanco translúcida, pérdida de la calidad de crujiente, desarrollo de olores no característicos), que fueron evidentes durante la conservación a 10°C.
- ✓ Una temperatura de 0°C permitió retener un 98% el tinte básico (hue) del color externo de los trozos al cabo de 27 días de almacenamiento. En correspondencia, dicha temperatura mantuvo aproximadamente constantes los niveles de clorofila total iniciales al menos durante 14 días en cámara.
- ✓ Asimismo la conservación a 0°C posibilitó un menor consumo de fructosa, glucosa y manitol con relación a 10°C (entre un 20 y 30% más bajo, dependiendo del compuesto considerado). El manitol resultó preferentemente degradado en relación a los otros dos azúcares presentes, tanto a 0 como a 10°C y dicho fenómeno se relacionaría con su capacidad antioxidante y su propiedad de secuestrar radicales libres.
- ✓ Tanto a 0 como a 10°C, la mayor contribución a la textura de los pecíolos de apio estuvo dada por la fibrosidad de los tejidos vasculares (principalmente xilema) y de las estructuras de sostén (bandas de colénquima). A este nivel se observaron incrementos en la fuerza máxima necesaria para producir el corte de los trozos, hacia los 14 y 7 días de permanencia a 0 y 10°C, respectivamente. Es decir que el ligero endurecimiento registrado se produjo anticipadamente cuando la temperatura fue más alta.
- ✓ Tanto a 0 como a 10°C se produjeron incrementos en el contenido de lignina, considerando el período completo ensayado. La deposición de esta sustancia se produciría reforzando los elementos de conducción y sostén de los pecíolos y no a modo de proceso de cicatrización directa de las heridas ocasionadas en el corte.

- ✓ El análisis de los compuestos fenólicos (fenoles totales y flavonas) revelaría que los mismos serían estimulados por efecto del procesamiento durante las 2-6 horas posteriores al mismo. La conservación a 0°C atenuó dicho incremento en el caso de fenoles totales, no así en el de apigenina y luteolina, en relación a lo observado a 10 y 20°C.
- ✓ Durante el almacenamiento por períodos más prolongados (28 días), cuando se utilizó una temperatura de 0°C se produjo un menor incremento en el potencial de pardeamiento y en los tenores de fenoles totales, mientras que se redujo la disminución verificada en el contenido de ácido clorogénico, con relación a 4 y 10°C.
- ✓ Con respecto a vitamina C, se observaron ligeros incrementos durante la conservación refrigerada hacia los 7-14 días y tanto a 0 como a 4 y 10°C. Los mismos podrían relacionarse al grado de senescencia desarrollado en los tejidos.
- ✓ No hubo mayores diferencias en la evolución del Poder Antioxidante (PA) durante los 28 días de almacenamiento, analizando las tres temperaturas ensayadas. No se observó una correspondencia estrecha entre el PA y alguno de los compuestos analizados, aunque la tendencia fue una ligera asociación entre PA y contenido de vitamina C, cuando se ensayó el almacenamiento a 0, 4 ó 10°C. Sin embargo, la actividad antioxidante sería el resultado de interacciones complejas entre los diferentes compuestos con capacidad reductora presentes, tal como se evidenció en los resultados correspondientes al Capítulo V, Sección V.2.
- ✓ A partir de la evolución del color y de la evaluación de características sensoriales se determinó que los tratamientos UV no serían adecuados para apio trozado, al menos bajo las condiciones ensayadas, por provocar un daño considerable en el producto (principalmente pardeamiento superficial).
- ✓ Se verificó la conveniencia de utilizar PVC como película de empaque al evaluar diversos tratamientos de envasado en atmósfera modificada (EAM).

- ✓ Se seleccionaron dos modalidades diferentes de tratamientos térmicos, tanto por inmersión como con aire seco, pero su aplicación no produjo ventajas en la calidad sensorial ni nutricional que justificaran su implementación, al compararlos con el uso de EAM (PVC) como única tecnología postcosecha complementaria a la refrigeración (0°C).



REFERENCIAS

Referencias

- Abbott, J. A. 1999. Quality measurement of fruits and vegetables. *Postharv. Biol. Technol.* 15: 207-225.
- Adisa, V. A. 1986. The influence of molds and some storage factors on the ascorbic acid content of orange and pineapple fruits. *Food Chem.* 22: 139-146. Citado en: Lee, S. K., Kader, A. A. 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharv. Biol. Technol.* 20: 207-220.
- Alzamora, S. M., Tapia, M. S., López-Malo, A. 2000. Minimally Processed Fruits and Vegetables: Fundamental Aspects and Applications. Aspen Pub. Co. Inc., Maryland, USA, pp 277-286. Citado en: Barbosa-Cánovas, G. V., Fernández-Molina, J. J., Alzamora, S. M., Tapia, M. S., López-Malo, A., Welti Chanes, J. 2003. Handling and Preservation of Fruits and Vegetables by Combined Methods for Rural Areas. Technical Manual. FAO Agricultural Services Bulletin 149. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponible en <http://www.fao.org/DOCREP/005/Y4358E/Y4358E00.HTM>. Accedido el 26-12-03.
- Allende, A., Artés, F. 2003. Combined ultraviolet-C and modified atmosphere packaging treatments for reducing microbial growth of fresh processed lettuce. *Lebensm. Wiss. u. Technol.* 36: 779-786.
- Amanatidou, A., Slump, R. A., Gorris, L. G. M., Smid, E. J. 2000. High oxygen and high carbon dioxide modified atmospheres for shelf-life extension of minimally processed carrots. *J. Food Sci.* 65 (1): 61-66.
- Andreau, R. 1996. Cultivo del apio. *Boletín Hortícola*. Año 4 N°13: 7-11.

- Aprikian, O., Levrat-Verny, M., Besson, C., Busserolles, J., Rémésy, C., Demigné, C. 2001. Apple favourably affects parameters of cholesterol metabolism and of anti-oxidative protection in cholesterol-fed rats. *Food Chem.* 75 (4): 445-452.
- Avena-Bustillos, R. J., Krochta, J. M., Saltveit, M. E. 1997. Water vapor resistance of red delicious apples and celery sticks coated with edible caseinate-acetylated monoglyceride films. *J. Food Sci.* 62 (5): 351-354.
- Babic, I., Amiot, M. J., Nguyen-The, C., Aubert, S. 1993a. Changes in phenolic content in fresh ready-to-use shredded carrots during storage. *J. Food Sci.* 58 (2): 351-356.
- Babic, I., Amiot, M. J., Nguyen-The, C., Aubert, S. 1993b. Accumulation of chlorogenic acid in shredded carrots during storage in an oriented polypropilene film. *J. Food Sci.* 58 (4): 840-841.
- Balcaza, L. F. 1996. Corazón negro del apio. *Boletín Hortícola.* Año 4 N°13: 16-17.
- Ballantyne, A., Stark, R., Selman, J. D. 1988. Modified atmosphere packaging of broccoli florets. *Int. J. Food. Sci. Technol.* 23: 353-360.
- Barbosa-Cánovas, G. V., Fernández-Molina, J. J., Alzamora, S. M., Tapia, M. S., López-Malo, A., Welti Chanes, J. 2003. Handling and Preservation of Fruits and Vegetables by Combined Methods for Rural Areas. Technical Manual. FAO Agricultural Services Bulletin 149. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponible en: <http://www.fao.org/DOCREP/005/Y4358E/Y4358E00.HTM>. Accedido el 26-12-03.
- Barth, M. M., Kerbel, E. L., Perry, A. K., Schmidt, S., J. 1993. Modified atmosphere packaging affects ascorbic acid, enzyme activity and market quality of broccoli. *J. Food Sci.* 58 (1): 140-143.

-
- Barth, M. M., Zhuang, H., Saltveit, M. 2002. Fresh-cut vegetables. Disponible en <http://www.ba.ars.usda.gov/hb66/145freshcutvegetables.pdf>. Accedido el 26-12-03.
- Beaulieu, J. C., Gorny, J. R. 2002. Fresh-cut fruits. Disponible en <http://www.ba.ars.usda.gov/hb66/144freshcutfruits.pdf>. Accedido el 25-12-03.
- Bernards, M. A., Lewis, N. G. 1992. Alkyl ferulates in wound healing potato tubers. *Phytochemistry* 31: 3409-3412. Citado en: Dixon, R. A., Paiva, N. L. 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *The Plant Cell* 7: 1085-1097.
- Bernards, M. A., Susag, L. M., Bedgar, D. L., Anterola, A. M., Lewis, N. G. 2000. Induced phenylpropanoid metabolism during suberization and lignification: a comparative analysis. *J. Plant Physiol.* 157: 601-607.
- Biggs, M. S., Woodson, W. R., Handa, A. K. 1988. Biochemical basis of high temperature inhibition of ethylene biosynthesis in ripening tomato fruit. *Physiol. Plant* 72: 572-578. Citado en: Paull, R. E., Jung Chen, N. J. 2000. Heat treatment and fruit ripening. *Postharv. Biol. Technol.* 21: 21-37.
- Birth, G. S. 1976. How light interacts with foods. En: Gaffney, J. J. Jr (Ed), Quality detection in Foods. American Society for Agricultural Engineering, St. Joseph, MI, pp 6-11. Citado en: Abbott, J. A. 1999. Quality measurement of fruits and vegetables. *Postharv. Biol. Technol.* 15: 207-225.
- Bolin, H. R., Huxsoll, C. C. 1991. Effect of preparation and storage parameters on quality retention of salad-cut lettuce. *J. Food Sci.* 56: 60-62, 67.
- Bourne, M. C. 1980. Texture evaluation of horticultural crops. *HortScience* 15: 51-56. Citado en: Sams, C. E. 1999. Preharvest factors affecting postharvest texture. *Postharv. Biol. Technol.* 15: 249-254.

-
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 28: 25-30.
- Brecht, J. K., Chau, K. V., Fonseca, S. C., Oliveira, F. A. R., Silva, F. M., Nunes, M. C. N., Bender, R. J. 2003. Maintaining optimal atmosphere conditions for fruits and vegetables throughout the postharvest handling chain. *Postharv. Biol. Technol.* 27: 87-101.
- Bridge, M. A., Klarman, W. L. 1973. Soybean phytoalexin, hydroxi-phaseolin, induced by ultraviolet irradiation. *Phytopathology* 63: 606-609. Citado en: Maharaj, R., Arul, J., Nadeau, P. 1999. Effect of photochemical treatment in the preservation of fresh tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Capello) by delaying senescence. *Postharv. Biol. Technol.* 15: 13-23.
- Brodl, M. R., Ho, T. D. 1992. Heat shock in mechanically wounded carrot disks causes destabilization of stable secretory protein mRNA and dissociation of endoplasmic reticulum lamellae. *Physiol. Plant.* 86: 253-262. Citado en: Loaiza-Velarde, J. G., Tomás-Barberá, F. A., Saltveit, M. E. 1997. Effect of intensity and duration of heat-shock treatments on wound-induced phenolic metabolism in iceberg lettuce. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 122 (6): 873-877.
- Brody, A. L. 1998. Minimally Processed Foods demand maximum research and education. *Food Technol.* 52 (5) : 62-66.
- Bruce, R. J., West, C. A. 1989. Elicitation of lignin biosynthesis and isoperoxidase activity by pectic fragments in suspension cultures of castor bean. *Plant Physiol.* 91: 889-897.
- Bruinsma, J. 1963. The quantitative analysis of chlorophylls a and b in plant extracts. *Photochem. Photobiol.* 2 (2): 241-249.

- Calabrese, E. J., McCarthy, M. E., Kenyon, E. 1987. The occurrence of chemically induced hormesis. *Health Phys.* 52: 531-541. Citado en: Maharaj, R., Arul, J., Nadeau, P. 1999. Effect of photochemical treatment in the preservation of fresh tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Capello) by delaying senescence. *Postharv. Biol. Technol.* 15: 13-23.
- Cameron, A. C., Beaudry, R. M., Banks, N. H., Yelanich, M. V. 1994. Modified atmosphere packaging of blueberry fruit: modeling respiration and package oxygen partial pressures as a function of temperature. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 119: 534-539. Citado en: Varoquaux, P., Gouble, B., Barron, C., Yildiz, F. 1999. Respiratory parameters and sugar catabolism of mushroom (*Agaricus bisporus* Lange). *Postharv. Biol. Technol.* 16: 51-61.
- Cantwell, M. 2001. Properties and Recommended Conditions for Storage of Fresh Fruits and Vegetables. Disponible en: http://postharvest.ucdavis.edu/Produce/Storage/sci_a.shtml. Accedido el 29/12/03.
- Castañer, M., Gil, M. I., Ruiz, M. V., Artéz, F. 1999. Browning susceptibility of minimally processed Baby and Romaine lettuces. *Eur. Food Res. Technol.* 209: 52-56. Citado en García E., Barrett, D. M. 2000. Preservative treatments for fresh-cut fruits and vegetables. Disponible en <http://postharvest.ucdavis.edu/pubs/FinalChapterIX-Technomic-García.pdf>. Accedido el 30/12/03.
- Catalá, R. 1997. La importancia del envasado en la comercialización de frutas y hortalizas. Disponible en: <http://www.horticom.com/fitech2/ponencia/rcatala.html>. Accedido el 28/01/04.

-
- Cerdán de la Fuente, T., Marí-Vila, M. J., Vázquez Asins, R., Manzaneda López, N. 2001. Envases activos para frutas y hortalizas frescas y de IV Gama. Disponible en <http://www.poscosecha.com>. Accedido el 28/01/04.
- Clydesdale, F. M. 1993. Color as a factor in food choice. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 33 (1): 83-101. Citado en: García E., Barrett, D. M. 2000. Preservative treatments for fresh-cut fruits and vegetables. Disponible en <http://postharvest.ucdavis.edu/pubs/FinalChapterIX-Technomic-García.pdf>. Accedido el 30/12/03.
- Coleman, W. J., Govindjee, Gutowsky, H. S. 1988. The effect of chloride on the thermal inactivation of oxygen evolution. *Photosynth. Res.* 16: 261-275. Citado en: Paull, R. E., Jung Chen, N. J. 2000. Heat treatment and fruit ripening. *Postharv. Biol. Technol.* 21: 21-37.
- Croteau, R., Kutchan, T. M., Lewis, N. G. 2000. Natural Products (Secondary Metabolites). En: *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Buchanan, B. B., Gruissem, W., Jones, R. L. (Eds.). American Society of Plant Physiologists, Rockville, USA, pp 1250-1318.
- Crozier, A., Lean, M. E. J., Mc Donald, M. S., Black, Ch. 1997. Quantitative analysis of the flavonoid content of commercial tomatoes, onions, lettuce and celery. *J. Agric. Food Chem.* 45: 590-595.
- Chaple, C., Carpita, N. 1998. Plant cell walls as targets for biotechnology. *Current Opinion in Plant Biology* 1: 179-185.
- Chaudhary, S. K., Ceska, O., Warrington, P. J., Ashwood-Smith, M. J. 1985. Increased furocoumarin content of celery during storage. *J. Agric. Food Chem.* 33: 1153-1157.
- Cheftel, J. C., Cheftel, H. 1976. Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. Vol. I. Ed. Acribia, Zaragoza, España, pp 309-316.

-
- Chu, Y-H., Chang, Ch-L., Hsu, H-F. 2000. Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. *J. Sci. Food Agric.* 80: 561-566.
- Diawara, M. M., Trumble, J. T., Quiros, C. F., Hansen, R. 1995. Implications of distribution of linear furanocoumarins within celery. *J. Agric. Food Chem.* 43: 723-727.
- Dixon, R. A., Paiva, N. L. 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *The Plant Cell* 7: 1085-1097.
- Douglas, C. J. 1996. Phenylpropanoid metabolism and lignin biosynthesis: from weeds to trees. *Trends in Plant Science* 1 (6): 171-178.
- Eheart, M. S. 1970. Effect of storage and other variables on composition of frozen broccoli. *Food Technol.* 24: 1009-1011. Citado en: Erdman Jr., J. W., Klein, B. P. 1982. Harvesting, processing and cooking influences on vitamin C in foods. En: Ascorbic acid: chemistry, metabolism and uses. Seib, P. A., Tolbert, B. M. (Eds.). American Chemical Society, pp 499-532.
- Eheart, M. S., Odland, D. 1972. Storage of fresh broccoli and green beans. *J. Am. Diet. Assoc.* 60: 402-406.
- Esau, K. 1937. Ontogeny and structure of collenchyma and vascular tissues in celery petioles. *Hilgardia* 9: 397-436.
- Eskin, N. A. 1990. Biochemistry of foods. Academic Press Inc, San Diego, CA. Citado en: Weller, A., Sims, C. A., Matthews, R. F., Bates, R. P., Brecht, J. K. 1997. Browning susceptibility and changes in composition during storage of carambola slices. *J. Food Sci.* 62 (2): 256-260.
- Everson, H. P., Waldron, K. W., Geeson, J. D., Browne, K. M. 1992. Effects of modified atmospheres on textural and cell wall changes of asparagus during shelf-life. *Int. J. Food Sci. Technol.* 27 (2): 187-199.

- Ewald, C. Fjellkner-Modig, S., Johansson, K., Sjöholm, I., Akesson, B. 1999. Effect of processing on major flavonoids in processed onions, green beans and peas. *Food Chem.* 64: 231-235.
- Fahn, A. 1982. Anatomía Vegetal. Ed. Pirámide S. A, Madrid, España, pp 29-65.
- Femenia, A., Waldron, K. W., Robertson, J. A., Selvendran, R. R. 1999. Compositional and structural modification of the cell wall of cauliflower (*Brassica oleracea* L. var botrytis) during tissue development and plant maturation. *Carbohydrate Polymers* 39: 101-108.
- Flores Gutiérrez, A. A. 2000. Manejo Postcosecha de Frutas y Hortalizas en Venezuela. Experiencias y Recomendaciones. Second Edition. Unellez, San Carlos, Cojedes, Venezuela, pp 86-102. Citado en: Barbosa-Cánovas, G. V., Fernández-Molina, J. J., Alzamora, S. M., Tapia, M. S., López-Malo, A., Welti Chanes, J. 2003. Handling and Preservation of Fruits and Vegetables by Combined Methods for Rural Areas. Technical Manual. FAO Agricultural Services Bulletin 149. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponible en <http://www.fao.org/DOCREP/005/Y4358E/Y4358E00.HTM>. Accedido el 26-12-03.
- Forney, C. F. 1995. Hot water dips extend the shelf life of fresh broccoli. *HortScience* 30: 1054-1057. Citado en: Lurie, S. 1998. Postharvest heat treatments. *Postharv. Biol. Technol.* 14: 257-269.
- Foyer, C. H. 1993. Ascorbic Acid. En: Antioxidants in Higher Plants. Alscher, R. G., Hess, J. L. (Eds.). CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, pp 31-58.
- Francis, F. J. 1995. Quality as influenced by color. *Food Quality and Preference* 6: 149-155.
- García E., Barrett, D. M. 2000. Preservative treatments for fresh-cut fruits and vegetables. Disponible en

<http://postharvest.ucdavis.edu/pubs/FinalChapterIX-Technomic-García.pdf>.
Accedido el 30/12/03.

Gariépy, Y., Raghavan, G. S. V., Thériault, R. 1986. Controlled atmosphere storage of celery with the silicone membrane system. *Int. J. Refrig.* 9: 234-239.

Gil-Izquierdo, A., Gil, M. I., Conesa, M. A., Ferreres, F. 2001. The effect of storage temperatures on vitamin C and phenolics content of artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 2: 199-202.

Gnanasekharan, V., Shewfelt, R. L., Chinnan, M. S. 1992. Detection of color changes in green vegetables. *J. Food Sci.* 57 (1): 149-154.

Godfrey, T. 1997. Applications of Enzyme Technology in the Food Industry. Nottingham Trent University. Disponible en <http://science.ntu.ac.uk/research/bemet/enzymetechnology.doc>. Accedido el 13-01-04.

Gómez, P. A. 1998. Productos mínimamente procesados. *Visión Rural* VII: 51-54.

Greuter, H., Martinoia, E., Keller, F. 1998. Mannitol transport by vacuoles of storage parenchyma of celery petioles operates by facilitated diffusion. *Journal of Plant Physiology*, 153, 1-2: 91-96.

Grisebach, H. 1981. Lignins. En: *The Biochemistry of Plants, a Comprehensive Treatise*. Stumpf, P. K., Conn, E. E. (Eds.) Vol. 7. Secondary Plant Products. Academic Press Inc., New York, USA, pp 457-478.

Hamilton, R. J., Kalu, C., Prisk, E., Padley, F. B., Pierce, H. 1997. Chemistry of free radicals in lipids. *Food Chemistry* 60: 193-199. Citado en: Robards, K., Prenzler, P. D., Tucker, G., Swatsitang, P., Glover, W. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry* 66: 401-436.

-
- Harris, J. R. 1996. Subcellular biochemistry, Ascorbic acid: biochemistry and biomedical cell biology, Vol. 25, Plenum, New York. Citado en: Lee, S. K., Kader, A. A. 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharv. Biol. Technol.* 20: 207-220.
- Heaton, J. W., Yada, R. Y., Marangoni, A. G. 1996. Discoloration of coleslaw is caused by chlorophyll degradation. *J. Agric. Food Chem.* 44 (2): 395-398. Citado en: García E., Barrett, D. M. 2000. Preservative treatments for fresh-cut fruits and vegetables. Disponible en <http://postharvest.ucdavis.edu/pubs/FinalChapterIX-Technomic-García.pdf>. Accedido el 30/12/03.
- Hendry, G. A. F. et al. 1987. The degradation of chlorophyll. A biological enigma. *New Phytol.* 107: 255-302. Citado en: Takamiya, K., Tsuchiya, T., Ohta H. 2000. Degradation pathway(s) of chlorophyll: what has gene cloning revealed? *Trends in Plant Science* 5 (10): 426-431.
- Hollósy, F. 2002. Effects of ultraviolet radiation on plant cells. *Micron* 33: 179-197.
- Hoover, D. G. 1997. Minimally processed fruits and vegetables: reducing microbial load by nonthermal physical treatments. *Food Technol.* 51 (6): 66-71.
- Horemans, N., Foyer, C., Potters, G., Asard, H. 2000. Ascorbate function and associated transport systems in plants. *Plant Physiol. Biochem.* 38: 531-540.
- Howard, L. R., Griffin, L. E. 1993. Lignin formation and surface discoloration of minimally processed carrot sticks. *J. Food Sci.* 58 (5): 1065-1067, 1072.
- Huang, J. 2001. Plant pathogenesis and resistance. Biochemistry and physiology of plant-microbe interactions. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp 530-533.

- Hudson, B. J. F., Mahgoub, S. E. O. 1980. Naturally occurring antioxidants in leaf lipids. *J. Sci. Food. Agric.* 31: 646-650. Citado en: Robards, K., Prenzler, P. D., Tucker, G., Swatsitang, P., Glover, W. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry* 66: 401-436.
- Huxsoll, Ch. C., Bolin, H. R. 1989. Processing and distribution alternatives for minimally processed fruits and vegetables. *Food Technol.* 43 (2): 124-128.
- Jackman, L. R., Stanley, D. W. 1995. Perspectives in the textural evaluation of plants food. *Trends in Food Science & Technology* 6: 187-194.
- Jacobi, K. K., Wong, L. S., Giles, J. E. 1996. Postharvest quality of zucchini (*Cucurbita pepo* L.) following high humidity hot air disinfestation treatments and cool storage. *Postharv. Biol. Technol.* 7: 309-316.
- Janick, J. 1991. New fruits from old genes. *Acta Hortic.* 297: 25-42. Citado en: Sams, C. E. 1999. Preharvest factors affecting postharvest texture. *Postharv. Biol. Technol.* 15: 249-254.
- Jensen, W. A., 1962. Botanical histochemistry, WH Freeman and Co, San Francisco, USA.
- Kader, A. A., Watkins, C. B. 2000. Modified atmosphere packaging toward 2000 and beyond. *HortTechnology* 10 (3): 483-486.
- Kays, S. J. 1999. Preharvest factors affecting appearance. *Postharv. Biol. Technol.* 15: 233-247.
- Ke, D., Saltveit, M. E. 1988. Plant hormone interaction and phenolic metabolism in the regulation of russet spotting in iceberg lettuce. *Plant Physiol.* 88: 1136-1140.

-
- Keller, F. 1991. Carbohydrate transport in discs of storage parenchyma of celery petioles. 2. Uptake of mannitol. *New Phytol.* 117: 423-429.
- Keller, F., Matile, P. 1989. Storage of sugars and mannitol in petiole of celery leaves. *New Phytol.* 113: 291-299.
- Ketsa, S., Atantee, S. 1998. Phenolics, lignin, peroxidase activity and increased firmness of damaged pericarp of mangosteen fruit after impact. *Postharv. Biol. Technol.* 14: 117-124.
- Key, T. J., Allen, N. E., Spencer, E. A., Travis, R. C. 2002. The effect of diet on risk of cancer. *The Lancet* 360 (9336): 861-868.
- Kim, D-O., Jeong, S. W., Lee, C. Y. 2003. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chem.* 81: 321-326.
- King Jr., A. D., Bolin, H. R. 1989. Physiological and microbiological storage stability of minimally processed fruits and vegetables. *Food Technol.* 43 (2): 132-135.
- Klein, J. D., Lurie, S. 1990. Prestorage heat treatment as a means of improving poststorage quality of apples. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 115: 265-269. Citado en: Paull, R. E., Jung Chen, N. J. 2000. Heat treatment and fruit ripening. *Postharv. Biol. Technol.* 21: 21-37.
- Klein, J. D., Lurie, S. 1992. Prestorage heating of apple fruit for enhanced postharvest quality. Interaction of time and temperature. *HortScience* 27: 326-328. Citado en: Paull, R. E., Jung Chen, N. J. 2000. Heat treatment and fruit ripening. *Postharv. Biol. Technol.* 21: 21-37.
- Kovács, E., Keresztes, A. 2002. Effect of gamma and UV-B/C radiation on plant cells. *Micron* 33: 199-210.

-
- Kwon, H.-J., Hong, G.-P., Kong, Y.-J. 1998. Effects of precooling and films packing on shelf life in celery *RDA J. Horti. Sci.* 40 (2): 37-43.
- Lado, B. H., Yousef, A. E. 2002. Alternative food-preservation technologies: efficacy and mechanisms. *Microbes and Infection* 4: 433-440.
- Laidler, K. J., Bunting, P. S. 1973. The chemical kinetics of enzyme action. Second Edition. Clarendon Press, London, Britain, pp 42-43.
- Lancaster, J. E., Lister, C. E., Reay, P. F., Triggs, Ch. M. 1997. Influence of pigment composition on skin color in a wide range of fruits and vegetables. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 122 (4): 594-598.
- Langcake, P., Pryce, P. 1977. The production of resveratrol and viniferins by grapevines in response to ultraviolet irradiation. *Phytochemistry* 16: 1193-1196. Citado en: Maharaj, R., Arul, J., Nadeau, P. 1999. Effect of photochemical treatment in the preservation of fresh tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Capello) by delaying senescence. *Postharv. Biol. Technol.* 15: 13-23.
- Lange, D. L. 2000. New film technologies for horticultural products. *HortTechnology* 10 (3): 487-490.
- Lascano, H. R., Melchiorre, M. N., Luna, C. M., Trippi, V. S. 2003. Effect of photooxidative stress induced by paraquat in two wheat cultivars with differential tolerance to water stress. *Plant Science* 164: 841-848.
- Lau, M. H., Tang, J., Swanson, B. G. 2000. Kinetics of textural and color changes in green asparagus during thermal treatments. *Journal Food Engineering* 45: 231-236.
- Lee, S. K., Kader, A. A. 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharv. Biol. Technol.* 20: 207-220.

- Leshuk, J. A., Saltveit, M. E. 1990. Controlled atmosphere storage requirements and recommendations for vegetables. En: Calderón, M., Barkai-Golan, R. (Eds.). Food preservation by modified atmospheres. CRC Press, Boca Raton, FL, pp 315-352. Citado en: Luo, Y., Suslow, T., Cantwell, M. 2002. Celery. Disponible en <http://www.ba.ars.usda.gov/hb66/048celery.pdf>. Accedido el 25/12/03.
- Loaiza-Velarde, J. G., Mangrich, M., Campos-Vargas, R., Saltveit, M. 2003. Heat shock reduces browning of fresh-cut celery petioles. *Postharv. Biol. Technol.* 27: 305-311.
- Loaiza-Velarde, J. G., Tomás-Barberá, F. A., Saltveit, M. E. 1997. Effect of intensity and duration of heat-shock treatments on wound-induced phenolic metabolism in iceberg lettuce. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 122 (6): 873-877.
- López Osornio, M. M., Chaves, A. R. 1998. Quality changes in stored raw grated beetroots as affected by temperature and packaging film. *J. Food Sci.* 63 (2): 327-330.
- Luo, Y., Suslow, T., Cantwell, M. 2002. Celery. Disponible en <http://www.ba.ars.usda.gov/hb66/048celery.pdf>. Accedido el 25/12/03.
- Lupton, J. R. 2000. Is fiber protective against colon cancer? Where the research is leading us. *Nutrition* 16 (7-8): 558-561.
- Lurie, S. 1998. Postharvest heat treatments. *Postharv. Biol. Technol.* 14: 257-269.
- Lurie, S., Handros, A., Fallik, E., Shapira, R. 1996. Reversible inhibition of tomato fruit gene expression at high temperature. *Plant Physiol.* 110: 1207-1214. Citado en: Loaiza-Velarde, J. G., Tomás-Barberá, F. A., Saltveit, M. E. 1997. Effect of intensity and duration of heat-shock treatments on wound-induced phenolic metabolism in iceberg lettuce. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 122 (6): 873-877.

- Lurie, S., Klein, J. D. 1990. Heat treatment of ripening apples: differential effects on physiology and biochemistry. *Physiol. Plant* 78: 181-186. Citado en: Paull, R. E., Jung Chen, N. J. 2000. Heat treatment and fruit ripening. *Postharv. Biol. Technol.* 21:21-37.
- Lurie, S., Nussinovitch, A. 1996. Compression characteristic, firmness and texture perception of heated and unheated apples. *Intern. J. Food. Sci. Technol.* 31: 1-5. Citado en: Paull, R. E., Jung Chen, N. J. 2000. Heat treatment and fruit ripening. *Postharv. Biol. Technol.* 21: 21-37.
- Maharaj, R., Arul, J., Nadeau, P. 1999. Effect of photochemical treatment in the preservation of fresh tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Capello) by delaying senescence. *Postharv. Biol. Technol.* 15: 13-23.
- Malkin, R., Niyogi, K. 2000. Photosynthesis. En: Biochemistry and Molecular Biology of Plants. Buchanan, B. B., Gruissem, W., Jones, R. L. (Eds.). American Society of Plants Physiologists. Rockville, USA, pp 568-628.
- Marlett, J. A., McBurney, M. I., Slavin, J. L. 2002. Position of the American Dietetic Association. Health Implications of Dietary Fiber. *Journal of the American Dietetic Association* 102 (7): 993-1000.
- Martín-Carrón, N., Goñi, I., Larrauri, J. A., García-Alonso, A., Saura-Calixto, F. 1999. Reduction in serum total and LDL cholesterol concentrations by a dietary fiber and polyphenol-rich grape product in hypercholesterolemic rats. *Nutrition Research* 19 (9): 1371-1381.
- McCarthy, M. A., Matthews, R. H. 1994. Nutritional quality of fruits and vegetables subject to minimal processes. En: Minimally Processed Refrigerated Fruits & Vegetables, Robert C Wiley (Ed), Chapman & Hall Inc, London, Great Britain, pp 313-326.

- Miller, N. J., Rice-Evans, C. A. 1997. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink. *Food Chem.* 60 (3): 331-337.
- Mitcham, B., Cantwell, M., Kader, A. 1996. Methods for determining quality of fresh commodities. *Perishables Handling Newsletter* 85: 1-5. Disponible en http://postharvest.ucdavis.edu/pubs/PHQ_85_Methods_for.pdf. Accedido el 29/12/03.
- Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7 (9): 405-410.
- Nigg, H. N., Strandberg, J. O., Beier, R. C., Petersen, H. D., Harrison, J. M. 1997. Furanocoumarins in Florida celery varieties increased by fungicide treatment. *J. Agric. Food Chem.* 45: 1430-1436.
- Nigg, H. N., Strandberg, J. O., Beier, R. C., Petersen, H. D., Harrison, J. M. 1997. Furanocoumarins in Florida celery varieties increased by fungicide treatment. *J. Agric. Food Chem.* 45: 1430-1436.
- Northcote, D. H. 1979. En Blanshard, J. M. V., Mitchell, J. R. (Eds.). Polysaccharides in food. Butterworths. London, UK, pp 1. Citado en: Femenia, A., Waldron, K. W., Robertson, J. A., Selvendran, R. R. 1999. Compositional and structural modification of the cell wall of cauliflower (*Brassica oleracea* L. var botrytis) during tissue development and plant maturation. *Carbohydrate Polymers* 39: 101-108.
- Palmer Wright, K., Kader, A. A. 1997. Effect of slicing and controlled-atmosphere storage on the ascorbate content and quality of strawberries and persimmons. *Postharv. Biol. Technol.* 10: 39-48.
- Pantastico, E. B., Subramanyam, H., Bhatti, M. B., Ali, N. and Akamine, E. K. 1975. Postharvest physiology: harvest indices. En: *Postharvest Physiology*,

- Handling and Utilization of Tropical and Subtropical Fruits and Vegetables, Pantastico E. B. Ed. AVI Publishing, Westport, Connecticut, USA, pp 77-98.
- Paradis, C., Castaigne, F., Desrosiers, T., Willemot, C. 1995. Evolution des teneurs en vitamine C, β -carotène et chlorophylle du brocoli découpé et entier au cours d'un entreposage à l'air. *Sciences des Aliments* 15: 113-123.
- Paull, R. E., Jung Chen, N. J. 2000. Heat treatment and fruit ripening. *Postharv. Biol. Technol.* 21:21-37.
- Paxton, J. D. 1981. Phytoalexins – A new working redefinition. *Phytopathol Z* 101: 106-109. Citado por: Huang, J. 2001. Plant pathogenesis and resistance. *Biochemistry and physiology of plant-microbe interactions*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp 525-621.
- Peterson, J., Dwyer, J. 1998. Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. *Nutrition Research* 18 (12): 1995-2018.
- Pfündel, E. E., Pan, R. S., Dilley, R. A. 1992. Inhibition of violaxanthin deep oxidation by ultraviolet-B radiation in isolated chloroplasts and intact leaves. *Plant Physiol.* 98: 1372-1380. Citado en: Hollósy, F. 2002. Effects of ultraviolet radiation on plant cells. *Micron* 33: 179-197.
- Pogson, B. J., Morris, S. C. 1997. Consequences of cool storage of broccoli on physiological and biochemical changes and subsequent senescence at 20°C. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 122 (4): 553-558.
- Ramamurthy, M. S., Ussuf, K. K., Nair, P. M., Thomas, P. 2000. Lignin biosynthesis during wound healing of potato tubers in response to gamma irradiation. *Postharv. Biol. Technol.* 18: 267-272.
- Reeve, R. M. 1970. Relationships of histological structure to texture of fresh and processed fruits and vegetables. *J. Texture Stud.* 1: 247-284. Citado en: Sams,

- C. E. 1999. Preharvest factors affecting postharvest texture. *Postharv. Biol. Technol.* 15: 249-254.
- Rhodes, J. M., Wooltorton, L. S. C. 1978. The biosynthesis of phenolic compounds in wounded plant storage tissues. En: *Biochemistry of Wounded Plant Tissues*. Kahl, G. (Ed.) Walter de Gruyter & Co. Berlin, Germany, pp 243-286.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Paganga, G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology & Medicine* 20 (7): 933-956.
- Robards, K., Prenzler, P. D., Tucker, G., Swatsitang, P., Glover, W. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry* 66: 401-436.
- Robbs, P. G., Bartz, J. A., McFie, G., Hodge, N. C. 1996. Causes of decay of fresh-cut celery. *J. Food Sci.* 61: 444-448.
- Robinson, J. E., Browne, K. M., Burton, W. G. 1975. Storage characteristics of some vegetables and soft fruits. *Ann. Appl. Biol.* 81: 399-408.
- Rolle, R. S., Chism, G. W. 1987. Physiological consequences of minimally processed fruits and vegetables. *J. Food Qual.* 10: 157-177.
- Ronco, L., Dal Bó, E., Alippi, A. 1996. Principales enfermedades del apio. *Boletín Hortícola*. Año 4 N°13: 12-14.
- Ryall, A. L., Lipton, W. J. 1979. Handling, transportation and storage of fruits and vegetables. Second Edition, *Vegetables and Melons*. AVI Publishing Company Inc., Westport, Connecticut, USA, pp 1-42.
- SAGPyA. 1998. Censo hortícola del cinturón verde del Gran Buenos Aires. Disponible en <http://www.sagpya.meccon.gov.ar/>. Accedido el 29/12/03.

- Saltveit, M. E. 2000. Wound induced changes in phenolic metabolism and tissue browning are altered by heat shock. *Postharv. Biol. Technol.* 21: 61-69.
- Saltveit, M. E. Jr. 1997. A summary of CA and MA requirements and recommendations for harvested vegetables. En: Saltveit, M. E. (Ed.), Proceedings of Seventh International Controlled Atmosphere Conference, Vol. 4, Postharvest Outreach Program, University of California, Davis, CA, pp 98-117.
- Saltveit, M. E., Mangrich, M. E. 1996. Using density measurements to study the effect of excision, storage, abscisic acid and ethylene on phiteness in celery petioles. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 121 (1): 137-141.
- Salunkhe, D. K., Desai, B. B. (Eds.) 1984. Postharvest Biotechnology of Vegetables. Vol II. CRC Press. Florida. USA. pp 6
- Sams, C. E. 1999. Preharvest factors affecting postharvest texture. *Postharv. Biol. Technol.* 15: 249-254.
- Scandalios, J. G. 2002. The rise of ROS. *Trends in Biochemical Sciences* 27 (9): 483-486.
- Schirra, M., D'hallewin, G., Ben-Yehoshua, S., Fallik, E. 2000. Host-pathogen interactions modulated by heat treatment. *Postharv. Biol. Technol.* 21: 71-85.
- Shewfelt, R. L. 1999. What is quality? *Postharv. Biol. Technol.* 15: 197-200.
- Sierra Pereiro, M. O. 2003. Revista Mercados. Sevilla. España.
- Smirnoff, N., Cumbes, Q. J. 1989. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry* 28 (4): 1057-1060.

-
- Soliva-Fortuny, R. C., Martín-Belloso, O. 2003. New advances in extending the shelf-life of fresh-cut fruits: a review. *Trends in Food Science and Technology* 14: 341-353.
- Sozzi, G., Cascone O., Frascina, A. A. 1996. Effect of a high temperature stress on endo- β -mannasa y β -galactosidase activities during tomato fruit ripening. *Postharv. Biol. Technol.* 9: 49-63.
- Stange Jr, R. R., Ralph, J., Peng, J., Sims, J. J., Midland, S. L., McDonald, R. E. 2001. Acidolysis and hot water extraction provide new insights into the composition of the induced "lignin-like" material from squash fruit. *Phytochem.* 57: 1005-1011.
- Stegmann, H. B., Schuler, P., Ruff, H. J., Knollmüller, M., Loreth, W. 1991. Ascorbic acid as an indicator of damage to forest. A correlation with air quality. *Z. Naturforsch.*, 46C: 67-70.
- Stoop, J. M. H., Williamson, J. D., Pharr, D. M. 1996. Mannitol metabolism in plants: a method for coping with stress. *Trends in Plant Science* 1 (5): 139-144.
- Swain, T., Hillis, W. E. 1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica* L. The quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.* 10: 63-68.
- Takamiya, K., Tsuchiya, T., Ohta, H. 2000. Degradation pathway(s) of chlorophyll: what has gene cloning revealed? *Trends in Plant Science* 5 (10): 426-431.
- Tatsumi, Y., Watada, A. E., Wergin, W. P. 1991. Scanning electron microscopy of carrot stick surface to determine cause of white translucent appearance. *J. Food. Sci.* 56 (5): 1357-1359.
- Tewari, R. K., Kumar, P., Sharma, P. N., Bisht, S. S. 2002. Modulation of oxidative stress responsive enzymes by excess cobalt. *Plant Science* 162: 381-388.

- Thebaudin, J. Y., Lefebvre, A. C., Harrington, M., Bourgeois, C. M. 1997. Dietary fibres: nutritional and technological interest. *Trends in Food Science & Technology* 8: 41-48.
- Tian, M. S., Islam, T., Stevenson, D. G., Irving, D. E. 1997. Color, ethylene production, respiration and compositional changes in broccoli dipped in hot water. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 122: 112-116. Citado en: Lurie, S. 1998. Postharvest heat treatments. *Postharv. Biol. Technol.* 14: 257-269.
- Tian, M. S., Woolf, A. B., Bowen, J. H., Ferguson, I. B. 1996. Changes in color and chlorophyll fluorescence of broccoli florets following hot water treatment. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 121: 310-313. Citado en: Lurie, S. 1998. Postharvest heat treatments. *Postharv. Biol. Technol.* 14: 257-269.
- Toledo, M. E. A., Ueda, Y., Imahori, Y., Ayaki, M. 2003. L-ascorbic acid metabolism in spinach (*Spinacia oleracea* L.) during postharvest storage in light and dark. *Postharv. Biol. Technol.* 28: 47-57.
- Tomas, R. 1998. IV, V Gama... o simplificar la vida al consumidor. *Horticultura Internacional.* 131: 72-76.
- Tomás-Barberán, F. A., Loaiza-Velarde, J., Bonfanti, A., Saltveit, M. E. 1997. Early wound- and ethylene-induced changes in phenylpropanoid metabolism in harvested lettuce. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 122 (3): 399-404.
- Trumble, J. T., Millar, J. G., Ott, D. E., Carson, W. C. 1992. Seasonal patterns and pesticidal effects on the phototoxic linear furanocoumarins in celery, *Apium graveolens* L. *J. Agric. Food Chem.* 40: 1501-1506.
- Vance, C. P., Kirk, T. K., Sherwood, R.T. 1980. Lignification as a mechanism of disease resistance. *Ann. Rev. Phytopathol.* 18: 259-288.

- Varoquaux, P., Gouble, B., Barron, C., Yildiz, F. 1999. Respiratory parameters and sugar catabolism of mushroom (*Agaricus bisporus* Lange). *Postharv. Biol. Technol.* 16: 51-61.
- Varoquaux, P., Lecendre, I., Varoquaux, F., Souty, M. 1990. Change in firmness of kiwi fruit after slicing. *Sci. Alim.* 10: 127-139.
- Varoquaux, P., Wiley R. C., 1994. Biological and Biochemical Changes in Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables. En: *Minimally Processed Refrigerated Fruits & Vegetables*, Robert C. Wiley (Ed), Chapman & Hall Inc, London, Great Britain, pp 226-268.
- Vierling, E. 1991. The roles of heat shock proteins in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42: 579-620. Citado en: Loaiza-Velarde, J. G., Tomás-Barberá, F. A., Saltveit, M. E. 1997. Effect of intensity and duration of heat-shock treatments on wound-induced phenolic metabolism in iceberg lettuce. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 122 (6): 873-877.
- Vigliola, M. I. 1998. *Apio*. En: Manual de Horticultura. Dirigido por M. I. Vigliola. Ed. Hemisferio Sur S. A, Buenos Aires, Argentina, pp 127-132.
- Viña, S. Z. 2001. Hortalizas mínimamente procesadas: producción y conservación. *Boletín Hortícola*. Año 9 Nº28: 12-19.
- Viña, S. Z., Bifaretti, A. E. 1999. Calidad comercial y estrategias empresariales en la distribución y venta de hortalizas mínimamente procesadas. Actas de la XXX Reunión de Economía Agraria, 13-14 de Octubre de 1999, Bahía Blanca, Pcia de Buenos Aires, Argentina.
- Viña, S. Z., Chaves, A. R. 2003. Texture changes in fresh-cut celery during refrigerated storage. *J. Sci. Food Agric.* 83: 1308-1314.

-
- Voisey, P. W. 1976. Engineering assessment and critique of instruments used for meat tenderness evaluation. *J. Texture Stud.* 7: 11-48.
- Vollmer, G., Josst, G., Schenker, D., Sturm, W., Vreden, N. 1999. Elementos de Bromatología Descriptiva. Editorial Acribia S. A., Zaragoza, España, pp 24-37.
- Waldron, K. W., Selvendran, R. R. 1992. Cell wall changes in immature *Asparagus* stem tissue after excision. *Phytochem.* 31 (6): 1931-1940.
- Waldron, K. W., Smith, A. C., Parr, A. J., Ng, A., Parker, M. L. 1997. New approaches to understanding and controlling cell separation in relation to fruit and vegetable texture. *Trends in Food Science & Technology* 8: 213-221.
- Watada, A. E., Abe, K., Yamuchi, N., 1990. Physiological activities of partially processed fruits and vegetables. *Food Technol.* 44 (5): 116-122.
- Watada, A. E., Ko, N. P., Minott, D. A. 1996. Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. *Postharv. Biol. Technol.* 9: 115-125.
- Watada, A. E., Qi, L. 1999. Quality of fresh-cut produce. *Postharv. Biol. Technol.* 15: 201-205.
- Wei, C., Cook, D. L., Kirk, J. R. 1985. Use of chlorine compounds in the food industry. *Food Technol.* (1): 107-115.
- Weller, A., Sims, C. A., Matthews, R. F., Bates, R. P., Brecht, J. K. 1997. Browning susceptibility and changes in composition during storage of carambola slices. *J. Food Sci.* 62 (2): 256-260.
- Whetten, R. W., MacKay, J. J., Sederoff, R. R. 1998. Recent advances in understanding lignin biosynthesis. *Annu. Rev. Plant Mol. Biol.* 49: 585- 609.
- Whetten, R. W., Sederoff, R. R. 1995. Lignin biosynthesis. *The Plant Cell* 7: 1001-1013.

- Wiley, J. 1992. Encyclopedia of Food Science and Technology, Vol. 3. New York, USA, pp 1982-1992.
- Wiley, R. C. 1994. Introduction to Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables. En: Minimally Processed Refrigerated Fruits & Vegetables, Robert C. Wiley (Ed), Chapman & Hall Inc, London, Great Britain, pp 1-14.
- Wiley, R. C. 1994. Preservation methods for minimally processed refrigerated fruits and vegetables. En: Minimally Processed Refrigerated Fruits & Vegetables, Robert C. Wiley (Ed), Chapman & Hall Inc, London, Great Britain, pp 66-134.
- Wills, R. H. H., Lee, T. H., McGlasson, W. B., Hall, E. G., Graham, D. 1981. Fisiología y Manipulación de Frutas y Hortalizas Post-Recolección. Ed. Acribia S. A., Zaragoza, España, pp 3-17.
- Wimalasiri, P., Wills, R. B. H. 1983. Simultaneous analysis of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in fruit and vegetables by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography* 256: 368-371.
- Wright, K. P., Kader, A. A. 1997. Effect of controlled-atmosphere storage on the quality and carotenoid content of sliced persimmons and peaches. *Postharv. Biol. Technol.* 10: 89-97.
- Yildiz, F. 1994. Initial preparation, handling and distribution of minimally processed refrigerated fruits and vegetables. En: Minimally Processed Refrigerated Fruits & Vegetables, Robert C. Wiley (Ed), Chapman & Hall Inc, London, Great Britain, pp 15-65.
- Zagory, D., Kader, A. A. 1988. Modified atmosphere packaging of fresh produce. *Food Technol.* 42 (9): 70-77.